REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de Médéa Dr. Yahia Faris
Faculté de sciences
Département des sciences de la nature et de la vie

Mémoire
Présenté pour obtenir le diplôme de Master
En biologie
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Réalisés par
MERALI Fadhila
AMIR Feriel

Les exopolysaccharides de spiruline et le chitosane atténuent la phytotoxicité du chrome chez *Solanum lycopersicum* L

Soutenue publiquement le : 21/06 /2025,

Devant le jury composé de :

BOUBAKRI Kamel	**MAA**	**U. Médéa**	**Président**
AINAS Mahfoud	**MAB**	**U. Médéa**	**Examinatrice**
TOUZOUT Nabil	**MCB**	**U. Médéa**	**Encadreur**

Année universitaire : 2024/2025

Acknowledgements

First and foremost, we address our thanks to God Almighty for allowing us to go this far. We thank Him for granting us the strength, wisdom, and perseverance to complete this Master's thesis. Without His guidance and blessings, none of this would have been possible.

We would like to take a moment to sincerely thank our supervisor, Mr. TOUZOUT Nabil, for always being supportive, patient, and generous with his advice. He is a man of strong morals and deep conscience, and his guidance has truly been a light that helped us stay on the right path. His insights and encouragement allowed us to grow and improve our work step by step throughout this journey.

We also want to thank the jury members and the academic committee for taking the time to review our thesis and share their feedback. We really appreciate their effort and involvement.

A big thank you to all the professors and staff at the University of Yahia Fares. Their teaching and support have helped us grow throughout these years.

Lastly, We are very grateful to our family, friends, and classmates. Their encouragement, kindness, and company made this journey much easier and more enjoyable.

Thank you all.

Merali Fadhila

Dedication

To my beloved parents,

No words can truly express how grateful I am for everything you have done for me. Your sacrifices from my early childhood, your unconditional love and constant encouragement have been the backbone of my life. You believed in me even when no one else did, you stood by me in every step of this long journey. This thesis is a reflection of your patience, support, and the values you raised me with. Thank you for being my strength and my safe place.

To my uncle Tanca Billal,

Your strength, wisdom, and quiet support have always inspired me. You may not say much, but your actions speak volumes. Thank you for your belief in me and for the way you lead by example. Your support has been a silent force pushing me forward.

To my aunt Dr.Tanca.S,

You have been like a second mother to me. Your kind, gentle words and unwavering support have brought comfort to my heart more times than I can count. Thank you for your love and for always showing pride in my achievements, no matter how small. You have played a special role in my life, and I will always be grateful for your presence.

To my uncle Tanca Halim,

Your humor, kindness, and energy have always brought joy into our lives. Thank you for being there, for listening, and for lifting my spirits when things got hard. Your encouragement has meant more than I can put into words.

To my dear grandparents, Abdelaziz and Malika,

You are the roots of our family — strong, wise, and full of love. Your prayers, your stories, and your values have helped shape who I am today. I carry your legacy in everything I do. Thank you for being a source of inspiration and for always reminding me where I come from.

This work is not only mine.

It belongs to all of you,who helped build the path beneath my feet.

I dedicate this thesis to you, with all my heart.

“ Merali Fadhila”

Dédicace

Du profond de mon cœur je dédie ce travail :

*Avant tout je remercie **ALLAH** le très haut de nous avoir donné la force, la volonté et la patience de suivre nos études, réaliser et d'achever ce modeste travail.*

*J'ai passée des moments difficiles, plus d'une fois j'ai pensé que je ne verrai jamais le bout du tunnel. Chacun de ces moments tu étais là pour me réconforter et m'aider à trouver des solutions. Je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu as fait pour moi tous les cinq épuisantes années **« un grand merci à moi »***

A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui :

Particulièrement :

A ma très chère mère «Amina»

La bougie de ma vie, la source d'amour, la chandelle qui m'a allumé le chemin vers la réussite, qui m'a toujours guidée avec ses précieux conseils, ma source de force qui m'a encouragé a allez de l'avant, quoi que je fasse ou que je dis, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Merci pour tout ce que vous m'avez donné depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mon très cher papa «Mohamed »

L'épaule solide, l'œil compréhensif et la personne le plus digne et mon estime de mon respect. Tous les jours, vous était là pour me protéger, m'éduquer, me guider, je veux vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi et pour votre présence à mes côtés qui a toujours été me soutenir et m'encourager.

♠ ***Mes parents** nulle dédicace n'est susceptible de vous exprimer mes profondes affections et mes immenses gratitudes pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour mes éducations et mes études,*

Puisse dieu prêter bonne santé et langue vie

*A mon bras droit, mon compagnon de vie,**mon mari « Oussama »** pour sa patiance ,son soutien et son implication ,qui mont permis de poursuivre mes ambitions sereinement*

***A mon fils « oussaid »** qui ma inspiré la joie et lenergie de la vie*

*A **ma chère sœur «Aïcha »** ma source de joie et de bonheur **, à mes chers frères «Hamza ,AbdElraoof et AbdElrahman »**Vous avez toujours cherché mon plaisir et mon sourire, je vous souhaite un avenir radieux plein de réussite. Que Dieu les protèges.*

***A ma binôme " Fadhila"** que j'aime beaucoup et avec que j'ai partagé le bonheur et le malheur tout au long mon cursus d'études, merci pour tout ce que tu as fait pour la réussite de ce travail.*

***A mes enseignants** , votre savoir ma guide vers la lumière*

A toute la promotion 2021/2025

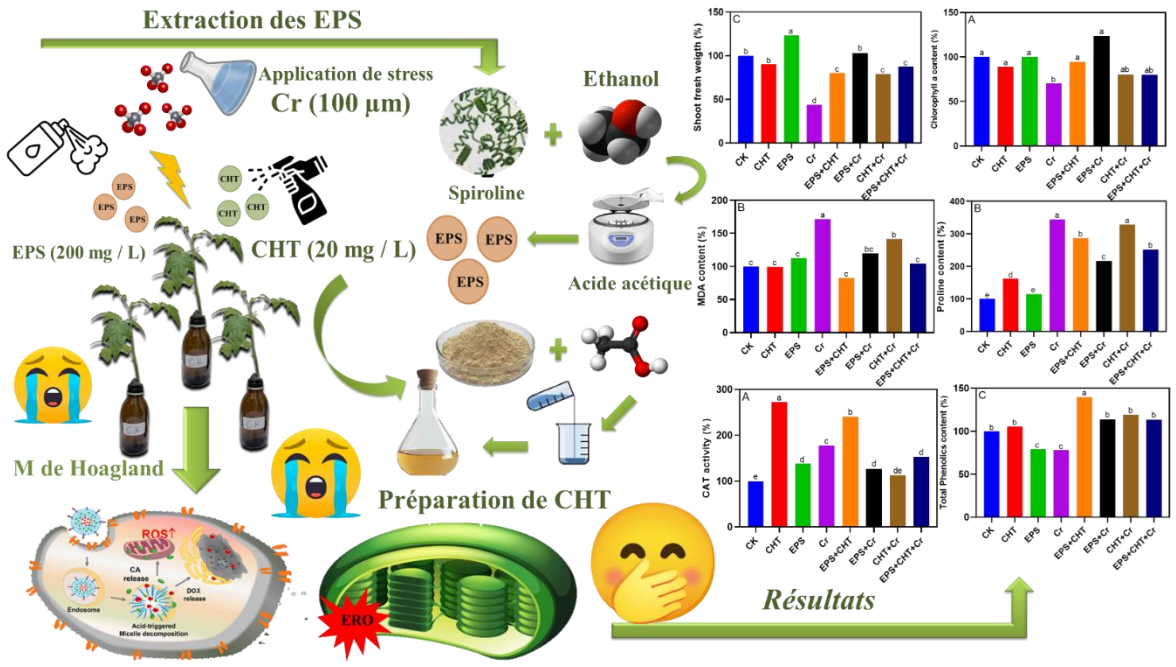
A tout personne qui a un sentiment d'amour et de respect envers moi, je vous dis « MERCI »

Amir Ferial

Points forts

- ✓ La pollution des sols par le chrome (Cr) une menace sérieuse pour la production de tomate.
- ✓ Les exopolysaccarides (EPS) et le chitosane (CHT) atténuent efficacement la toxicité de chrome (Cr) dans la tomate.
- ✓ L'EPS et le CHT réduit les dommages oxydatifs cellulaires et améliore le système de défense antioxydant des plantules.
- ✓ L'EPS et le CHT a amélioré la teneur en métabolites secondaires des plantules de tomate soumises au stress chromique.

Résumé graphique



الملخص

البوليسكاريدات الخارجية (EPS) والكيتوزون (CHT) هما منظمين متعددين للنمو النباتي، يلعبان عدة أدوار في تعزيز نمو النباتات التي تتعرض للإجهاد الناتج عن المعادن الثقيلة، الإجهاد الناتج عن الكروم (Cr) يعيق العمليات الخلوية والفسيولوجية لنباتات الطماطم، مما يؤدي إلى خسائر كبيرة في الإنتاج، خاصة في المناطق الجافة وشبه الجافة. كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثيرات المفيدة الفردية والمجمعة لـ EPS كمنشط حيوي و CHT على الخصائص المورفولوجية والفسيولوجية والبيوكيميائية لنباتات الطماطم (Solanum lycopersicum L) ، في وجود أو غياب الكروم .(Cr) تم إجراء تجربة وفق خطة عشوائية تمامًا مع ثماني تكرارات تحتوي كل منها على عشرة شتلات طماطم مزروعة في المختبر، وبعد 7 أيام من المعالجة، تم جمع الشتلات وتحليلها لمختلف المعايير المورفولوجية والفسيولوجية والبيوكيميائية. أظهرت النتائج أن الكروم يؤثر سلبًا على الكتلة الحيوية الطازجة والجافة للجزء الجذري والجزء الهوائي، وطول النبات، وأن التطبيق الخارجي لـ EPS وCHT بشكل منفصل أو مجتمعة يقلل بشكل كبير من الأضرار التي يسببها الكروم، ويزيد من محتوى الكلوروفيل ويثبط الإنتاج المفرط لمؤشرات الإجهاد التأكسدي مقارنة بالنباتات غير المعالجة. علاوة على ذلك، أظهرت الشتلات المعالجة تحسنًا في نظام الدفاع المضاد للأكسدة، يتميز بنشاط متزايد للإنزيمات المضادة للأكسدة (أسكوربات بيروكسيداز APX، بيروكسيداز POD، فينيل ألانين أمونيا-لايز PAL، كاتالاز CAT),مما يحسن تحملها لسمية الكروم. تشير النتائج إلى أن تطبيق EPS وCHT، سواء بشكل منفرد أو مشترك، يمتلكان إمكانيات كبيرة لتخفيف سمية الكروم في الطماطم، وربما في أنواع أخرى من المحاصيل. يمكن أن تفتح هذه النتائج الطريق لأبحاث متعمقة وتطبيق موسع للمنبهات البيولوجية لمساعدة النباتات على التغلب على الظروف البيئية القاسية في الفضاء.

الكلمات المفتاحية: الكيتوزون؛ المعادن الثقيلة؛ الطماطم؛ البوليمرات الحيوية؛ المحفزات الحيوية؛ الإجهاد التأكسدي؛ مضادات الأكسدة الإنزيمية.

Résumé

Les exopolysaccharides (EPS) et le chitosane (CHT) sont des régulateurs de croissance végétale polyvalents, jouant plusieurs rôles dans la promotion de la croissance des plants soumises à des stress causés par les métaux lourds, Le stress dû aux chrome (Cr) perturbe les processus cellulaires et physiologiques des plantes de tomate, entraînant des pertes de rendement substantielles, en particulier dans les régions arides et semi-arides. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet bénéfiques tant individuels que combinés des EPS comme biostimulant et de CHT sur les caractéristiques morpho-physio-biochimiques des plantules de tomates *(Solanum lycopersicum* L*)*, en présence ou en absence de Cr. Une expérience selon un plan complètement aléatoire a été conduite avec huit répétitions contenant chacune dix plantules de tomate cultivée in vitro, après 7 jours de traitement, les plantules ont été récoltés et analysés pour divers paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques. Les résultats ont montré que le Cr affectait négativement la biomasse fresh et sèche de la partie racinaire et aérienne, et la longueur végétale, et l'application exogène d'EPS et de CHT isolées ou en combinaison réduit considérablement les dommages causés par le Cr et, en augmentant la teneur en chlorophylle et en inhibant la production excessive de marqueurs de stress oxydatif comparativement aux plantules non traitées. De plus, les plantules traitées ont présenté une amélioration du système de défense antioxydant, caractérisée par une activité accrue des antioxydants enzymatiques (ascorbate peroxydase APX, peroxydase POD, Phénylalanine Ammonia-Lyase PAL, catalase CAT), d'améliorer leur tolérance à la toxicité du Cr, les résultats suggèrent que l'application d'EPS et de CHT, seules ou associées, présente un fort potentiel pour atténuer la toxicité du chrome chez la tomate, et potentiellement chez d'autres espèces cultivées. Ces résultats peuvent ouvrir la voie à des recherches approfondies et à une application élargie des stimuli biologiques afin d'aider les plantes à surmonter les conditions environnementales extrêmes de l'espace.

Mots-clés : Chitosane ; Métaux lourds ; Tomate ; Biopolymères ; Biostimulants ; Stress oxydatif ; antioxydants enzymatiques.

Abstract

Exopolysaccharides (EPS) and chitosan (CHT) are multifunctional plant growth regulators that play several roles in promoting the growth of seedlings exposed to heavy metal-induced stress. Chromium (Cr) stress disrupts the cellular and physiological processes in tomato plants, leading to substantial yield losses, particularly in arid and semi-arid regions. The aim of this study was to evaluate the individual and combined beneficial effects of EPS as a biostimulant and CHT on the morpho-physio-biochemical characteristics of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.) in the presence or absence of Cr. A completely randomized design experiment was conducted with eight replicates, each containing ten in vitro-cultivated tomato seedlings. After seven days of treatment, the seedlings were harvested and analyzed for various morphological, physiological, and biochemical parameters. The results showed that Cr negatively affected fresh and dry biomass of both root and shoot systems, plant length, and that the exogenous application of EPS and CHT, individually or in combination, significantly reduced Cr-induced damage by increasing chlorophyll content and inhibiting the excessive production of oxidative stress markers compared to untreated seedlings. Furthermore, treated seedlings exhibited an enhanced antioxidant defense system, characterized by increased activity of enzymatic antioxidants (ascorbate peroxidase APX, peroxidase POD, phenylalanine ammonia-lyase PAL, and catalase CAT), improving their tolerance to Cr toxicity. The results suggest that the application of EPS and CHT, alone or in combination, has strong potential to mitigate chromium toxicity in tomato plants, and potentially in other cultivated species. These findings may pave the way for further research and broader application of biological stimuli to help plants overcome extreme environmental conditions, including those encountered in space.

Keywords: Chitosan; Heavy metals; Tomato; Biopolymers; Biostimulants; Oxidative stress; Enzymatic antioxidants

Liste des Figure

Figure 1. Étapes impliquées dans la biosynthèse des exopolysaccharides bactériens (Bhagat et al., 2021). 12

Figure 2. Structure répétitive d'un exopolysaccharide bactérien ramifié : séquence des résidus galactose et glucose.(Feng et al., 2021) 5

Figure 3. Rôles des exopolysaccharides microbiens (EPS) dans l'atténuation des stress abiotiques et la promotion de la croissance des plantes (Bhagat et al., 2021). 8

Figure 4. Application des exopolysaccharides microalgaux dans la stimulation de la croissance végétale (Vanacore et al., 2022). 11

Figure 5.Devenir de métaux lourds dans les sols (El Hachimi et al., 2014). 13

Figure 6. Pollution aux métaux lourds, plomb, arsenic, cadmium (KONE et al., 2025) 14

Figure 7. Sources de contamination des sols agricoles et d'autres environnements par le chrome (Cr).Dans cette figure, nous avons mis en évidence à la fois les sources naturelles et anthropiques de chrome dans les sols agricoles (Ali, Mir, Tyagi, Manzar, Kashyap, Mushtaq, Raina, Park, Sharma, Mir, et al., 2023a). 16

Figure 8. Atténuation de la pollution au Cr(VI) par l'action des micro-organismesLes micro-organismes mettent en œuvre divers processus tels que la biosorption, la bioaccumulation, la biotransformation et la biolixiviation pour éliminer le chrome des sol contaminés. Ils possèdent des mécanismes de résistance remarquables, notamment la séquestration extracellulaire et intracellulaire, la formation de barrières extracellulaires, le transport actif des ions métalliques, ainsi que la détoxification enzymatique. Ces caractéristiques font des micro-organismes des outils de remédiation particulièrement efficaces pour l'épuration des métaux lourds 21

Figure 9.Représentation mécanistique de la phytoremédiation du chrome assistée par les microorganismes (Qureshi et al., 2024). 22

Figure 10. Modèle schématique illustrant l'absorption, la translocation et la détoxification du chrome chez les plantes(Dawood et al., 2025). 26

Figure 11. Représentation schématique de la séquestration du chrome (Cr) dans une cellule végétale jusqu'à la mort de la plante, en passant par une série d'événements. 27

Figure 12. Effet de la toxicité du chrome (sous forme de Cr^{6+} ou de CrO_4^{2-}) sur divers traits morphologiques, physiologiques et biochimiques chez les plantes (Ali, Mir, Tyagi, Manzar, Kashyap, Mushtaq, Raina, Park, Sharma, Mir, et al., 2023a). 28

Figure 13. Modèle hypothétique illustrant la perception du chrome (Cr) et la transduction du signal chez les plantes (Ali, Mir, Tyagi, Manzar, Kashyap, Mushtaq, Raina, Park, Sharma, Mir, et al., 2023b). 30

Figure 14. Spectre FTIR du polysaccharide exopolymère (EPS) extrait de Spirulina platensis. Le spectre présente des pics caractéristiques des groupes fonctionnels hydroxyle, carbonyle, carboxyle et glycosidique, soulignant la structure polysaccharidique et les propriétés potentielles de chélation des métaux de l'EPS 32

Figure 15. La filtration de la souche bactérienne (spiruline) 33

Figure 16. Les exopolysaccharides extrait avant et après le séchage. 33

Figure 17. Des figure indiquant les huit groupes expérimentales et l'application du stress, les plantules témoins CK, les plantules traitées uniquement à l'EPS. Les plantules traitées à CHT, des plantules traitées à l'EPS exposée au stress Cr, des plantules traitées à l'EPS exposée au stress Cr, des plantules traitées à EPS et CHT exposées au stress Cr. 36

Figure 18. La partie aérienne et la partie racinaire des plantules de tomate pour mesurés la biomasse et la longueur. 37

Figure 19. Extraction et estimation de la teneur en pigments photosynthétiques chlorophylles (Chl). 37

Figure 20. Les variations de la croissance des plantules et les caractères morphologiques des plantules de tomate (Solanum lycopersicum L) cultivées dans des conditions témoins, sous stress de chrome (Cr), ainsi qu'avec les traitements à l'exopolysaccharide (EPS) et à chitosane (CHT). 44

Figure 21. Les phénotypes des plantules de tomate, ont été observés dans des conditions témoins, bien irriguées, et soumises à un stress Cr, ainsi qu'avec traitements d'EPS et le CHT. 45

Figure 22. Les variations de chlorophylle a et b des plantules de tomate cultivées dans des conditions témoins, sous stress de chrome (Cr), ainsi qu'avec les traitements à l'exopolysaccharide (EPS) et à chitosane (CHT). 46

Figure 23.Les variations de contenu MDA et H_2O_2 des plantules de tomate cultivées dans des conditions témoins, sous stress de chrome (Cr), ainsi qu'avec les traitements à l'exopolysaccharide (EPS) et à chitosane (CHT). 47

Figure 24. Effet de l'application combinée d'EPS et de CHT sur (A) la catalase CAT, (B) ascorbate peroxydase APX, (C) peroxydase POD, et (D) Phénylalanine Ammonia-Lyase PAL, du maïs en conditions du Cr. 48

Figure 25. Effet de l'application combinée d’EPS et de CHT sur (A) sur la teneur en GSH, (B) sur la teneur en Proline, (C) sur le contenu phénolique total, et (D) sur flavonoïdes, du maïs en conditions du Cr. 50

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Les compositions du milieu nutritif de Hoagland……...32

Tableau 02 : Interprétation FTIR de l'EPS extrait de Spirulina platensis…….35

Liste des Abréviations

Acide -2-thiobarbiturique : TBA
Acide borique : H_3BO_3
Acide éthyléne diamino ctétracétique : EDTA
Acide sulfurique : H_2SO_4
Acide trichloracétique : TCA
Analysis of variance : ANOVA
Ascorbate peroxidase : APXCarbonate de sodium : Na_2CO_3
Chlorophyll : Chl
Chlorophyll a : Chl a
Chlorophyll b : Chl b
Chlorure de barium : $BaCl_2$
Chlorure de manganèse : $MnCl_2$
Chlorure de sodium : NaCl
Chlorure ferrique : $FeCl_3$
Chrome : Cr
Contenu en phénolique total : TPC
Contenu en flavonoïdes total : TFC
Control : CK
Chitosane : CHT
Catalase : CAT
Densité optique : DO
Eau ultra pure : EUP
Espèces réactives de l'oxygène : ERO
Exopolysaccharides : EPS
Gaïacol peroxydase : POD
Glutathion réductase : GSH
Glycine bétaïne : GB
Infrarouge à transformée de Fourier : FTIR
Iodure de potassium : KI
Longueur des pousses : LP
Longueur des racines :LR
Malondialdéhyde : MDA
Microlitre : µl
Micromètre : µm
Milligram : mg
Millilitre : ml
Millimole : mM
Minute : min
Molybdate de sodium : Na_2MoO_4
Nanomètre : nm
Nitrate de calcium : $(Ca(NO_3)_2)$

Nitrate de potassium : KNO_3
Peroxyde d’hydrogène : H_2O_2
Phosphate monopotassique : KH_2PO_4
Plomb : Pb
Poids frais des pousses : PFP
Poids frais des racines : PFR
Poids sec : PS
Potentiel hydrogène : pH
Pourcent : %
Proline : Pro
Phénylalanine Ammonia-Lyase : PAL
Radicaux hydroxyles : OH
Spectroscopie ultraviolet-visible : UV-VIS
Sulfate de cuivre : $CuSO_4$
Sulfate de magnésium : $MgSO_4$
Sulfate de zinc : $ZnSO_4$
Trichlorure d'aluminium : $AlCl_3$

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Points forts

Résumé graphique

ملخص

Abstract

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Table des matières

Introduction

I. INTRODUCTION GENERAL

Synthèse bibliographique

II. PARTIE 01

II.1. Première chapitre : Généralités sur les exopolysaccharide (EPS)

II.1.1. Qu'est-ce qu'une EPS…….....04

II.1.2. Composition et classification des exopolysaccharides……....05

II.1.2.1. Composition osidique……05

II.1.2.2. Classification des EPS……...06

II.1.3.Rôle physiologique des EPS…….....07

II.1.4. L'EPS comme un biostimulant……....08

II.1.4. Extraction de composés biostimulants spécifiques……...….....08

II.1.5. Activité biostimulante des extraits de microalgues……...……...09

II.1.6. Compositions chimiques des biostimulants et des biofertilisants microalgaux……...…...10

II.2. Deuxième chapitre : Stress métallique

II.2.1. Métaux lourds……..…..12

II.2.1.1. Qu'est-ce qu'un métal lourd ……..12

II.2.1.2. Sources de contamination par les métaux lourds……13

II.2.1.3. Quel est l'effet des métaux lourds sur l'environnement……..….14

II.2.2. C'est quoi un chromium…….…14

II.2.3. Sources de Chromium ……...…15

II.2.4. Le chrome dans l'environnement……. .16

II.2.4.1. Le Chrome dans l'Eau……...…...16

II.2.4.2. Le Chrome dans le Sol...……...…..17

II.2.5. Risques liés à l'exposition au chrome (Cr)…….... .17

II.2.5.1. Écotoxicité……..... 17

II.2.5.1.1. Toxicité pour les sols et les plantes …….....17

II.2.5.1.2. Toxicité pour les micro-organismes……19

II.2.5.2. Dangers de la pollution au chrome pour les humains et les animaux……....19

II.2.5.2.1 Empoisonnement par accumulation ……...…..19

II.2.5.2.2 Cancérogénicité……20

II.2.5.2.3 Génotoxicité……...…...20

II.2.6. Atténuation de la toxicité du chrome en agriculture durable……...…..21

II.2.7. Mécanismes impliqués dans la phytoremédiation du chrome assistée par les microbes ……...……22

II.3. Troisième chapitre : L'intraction entre le stress métallique et les plantes

II.3.1. Le Chrome dans les Plantes…….23

II.3.1.1. Absorption du Chrome……..……23

II.3.1.2. Accumulation et Translocation du Chrome (Cr) ……...…… ……..23

II.3.1.3. Plantes avec un potentiel de phytoremédiation de la contamination par le chrome…….24

II.3.2. Toxicité du Cr et effet sur la germination des semences……..…. .26

II.3.3. Impact de la toxicité du chrome sur différents traits des plantes……..27

II.3.4. Mécanismes moléculaires et transduction du signal dans la régulation du stress au chrome chez les plantes…….....……...29

Partie expérimentale

III. PARTIE 02

III.1. Première chapitre : Matériel et Méthode

III.1.1. Préparation des régulateurs de croissance……...….31

III.1.1.1. Extraction d'EPS produite à partir de Spirulina sp……....31

III.1.1.1.1. Analyse FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)……31

III.1.1.2. Préparation de chitosane (CHT)…….……...…34

III.1. 2. Produits chimiques et réactifs……...35

III.1. 2.1. Milieu nutritif…….……...…35

III.1.3. Dispositif expérimental et traitement……..…..35

III.1.4. Analyse de la croissance et des caractéristiques morphologiques……36

III.1.5. Analyses physiologiques……...37

III.1.5.1. Extraction et estimation de la teneur en pigments photosynthétiques : chlorophylles (Chl)…….…..37

III.1.6. Analyses biochimiques……38

III.1.6.1. Indices de dommages oxydatifs……..……...38

III.16.1.1.Malondialdéhyde (MDA)…….38

III.1.6.1.2. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)…….38

III.1.6. 2.Estimation du système de défense des antioxydants enzymatique……38

III.1.6. 2.1. Activité de catalase (CAT)…….38

III.1.6. 2.2. Activité de l'acrobate peroxydase (APX)……..39

III.1.6. 2.3. L'activité de l'enzyme de PAL……..…39

III.1.6. 2.4. Estimation de la protéine……...40

III.1.6. 2.5. Activités du gaïacol peroxydase……....40

III.1.6.3. Métabolites secondaires……41

III.1.6.3.1.Détermination de la teneur totale en composés phénoliques…...…41

III.1.6.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux……....41

III.1.6.4. Les antioxydants non enzymatiques……..41

III.1.6.4.1. Estimation de la teneur en proline……...41

III.1.6.4.2. Glutathion Réduite (GSH)…… ….42

III.1.6.5. Analyse statistique…….…..... ..42

III.2. Deuxième chapitre : Résultats

III.2.1. Paramètres liés à la croissance……..43

III.2.2. Effet Du chrome (Cr) sur le contenu en chlorophylle et le rôle des exopolysaccharides (EPS)……46

III.2.3. Effets de Cr sur les teneurs en H_2O_2 et en malondialdéhyde (MDA) et le rôle des exopolysaccharides (EPS) et de chitosane (CHT)……46

III.2.4. Effet de Chromium (Cr) sur les Antioxydants enzymatiques et le rôle des exopolysaccharides (EPS) et de chitosane (CHT)…… 47

III.2.5. L'EPS et le CHT atténuent les Contenu total en composés phénoliques (TPC), flavonoïdes (TFC) chez les plantules de tomate soumis à un stress aux Cr……48

III.2.6. L'EPS et le CHT atténuent les niveaux de glutathion (GSH) et de proline chez les plantules de tomate soumis à un stress aux Cr……..49

III.3. Troisième chapitre : Discussion

III.4. Conclusion et perspectives……..…59

III.5. Référence bibliographique……60

INTRODUCTION GENERAL

Les tomates (*Solanum lycopersicum* L) comptent parmi les cultures horticoles les plus largement cultivées à travers le monde. En raison de leur valeur nutritionnelle incluant des acides aminés essentiels, la vitamine C, des flavonoïdes, divers antioxydants ainsi que des dérivés de l'acide hydroxycinnamique — elles sont considérées comme un aliment fonctionnel jouant un rôle protecteur, capable de renforcer le système de défense de l'organisme (D. Kumar et al., 2025). La tomate constitue l'une des principales cultures légumières à l'échelle mondiale, présentant une valeur économique et nutritionnelle considérable. Toutefois, sa production est confrontée à de nombreux défis, notamment les stress abiotiques (Kaya & Uğurlar, 2024) en particulier le stress métallique. Ce dernier ne se limite pas n'accumulent pas d'acide phosphatidique (PA), produit de dégradation des galactolipides et de PC, toxique pour la plante, il perturbe également l'équilibre osmotique, le fonctionnement stomatique, la photosynthèse, induit un stress oxydatif et altère les niveaux hormonaux (Tito et al., 2011). Les stress environnementaux engendrés par l'aggravation du réchauffement climatique et des changements climatiques demeurent l'un des plus grands défis du secteur agricole, limitant de manière significative la productivité des cultures. En conséquence de ces changements environnementaux, les stress abiotiques tels que les extrêmes de température, la sécheresse, la salinité et la toxicité des métaux ont contribué à une réduction des rendements pouvant atteindre 50 % pour les principales cultures. En raison de leur nature sessile, les plantes disposent de divers mécanismes innés générant des réponses cellulaires spécifiques leur permettant d'atténuer les effets des stress abiotiques. Dans le but d'améliorer le rendement et la productivité des cultures, les altérations physiologiques, biochimiques et métaboliques induites par les stress abiotiques, ainsi que les mécanismes de réponse des plantes, ont été largement étudiés (Koh et al., 2021).

La pollution par les métaux lourds (ML) est devenue une préoccupation majeure pour l'agriculture durable en raison de ses effets néfastes sur la croissance des cultures, la santé des sols, la sécurité alimentaire et la commercialisation des produits agricoles. De nombreux métaux lourds, notamment l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le cobalt (Co), le plomb (Pb) et le mercure (Hg), provoquent une toxicité aiguë chez les plantes lorsqu'ils pénètrent dans les écosystèmes agricoles via des activités anthropiques ou naturelles. Le développement rapide des activités humaines telles que l'exploitation minière, l'industrialisation et l'usage intensif de produits chimiques en agriculture a entraîné une augmentation notable de la bioaccumulation et de la biomagnification des métaux lourds, avec des conséquences négatives sur la chaîne alimentaire et l'environnement.

Parmi ces métaux, le chrome (Cr) est particulièrement dangereux, ne remplissant aucun rôle essentiel dans le métabolisme des plantes. Il représente le deuxième polluant métallique le plus fréquent dans les sols, les eaux souterraines et les sédiments, constituant ainsi un risque environnemental majeur (Rebak, 2017) .

Les effets néfastes du chrome (Cr) sur les plantes sont largement documentés, se traduisant par divers symptômes tels qu'un retard dans la germination des graines, des dommages aux racines, une croissance réduite, une diminution de la biomasse, une hauteur réduite des plantes, une altération de la photosynthèse, des dommages aux membranes, une chlorose des feuilles, des nécroses, une faible production de grains, et pouvant conduire à la mortalité de la plante. Le chrome est un métal assez réactif qui entre facilement en interaction avec l'oxygène ambiant. On a identifié divers états d'oxydation du Cr, variant de 0 à +6. On retrouve principalement dans la nature les formes stables de chrome trivalent Cr(III) et de chrome hexavalent Cr(VI). Le Cr(VI) est plus toxique que le Cr(III), à cause de sa solubilité et mobilité supérieures dans les systèmes aqueux. Les deux états de valence du chrome, à savoir Cr(III) et Cr(VI), peuvent être absorbés par les plantes. Le Cr(VI) est activement transporté dans les cellules végétales via les transporteurs de sulfate, tandis que le Cr(III) pénètre passivement à travers les sites d'échange cationique présents dans les parois cellulaires des plantes. De plus, les acides carboxyliques présents dans les exsudats racinaires facilitent la solubilisation du chrome, favorisant ainsi son absorption par les plantes (Srivastava et al., 2021a).

On utilise les biostimulants de microalgues en conjonction avec des fertilisants inorganiques, et ce, en quantités réduites, dans le but d'optimiser la croissance et le rendement des cultures. Spirulina platensis, une microalgue photosynthétique bleu-vert, est un biostimulant hautement nutritif qui a été exploitée sur le marché en tant que biofertilisant, aliment pour bétail et source nutritionnelle (Ma et al., 2022). Dans le domaine de l'agriculture, notamment dans les systèmes biologiques et durables, l'emploi des biostimulants pour favoriser la croissance des végétaux et renforcer leur résistance aux stress abiotiques connaît une popularité croissante (Baltazar et al., 2021). Des stratégies écologiques innovantes, comme l'emploi d'exopolysaccharides (EPS) en tant que biostimulants végétaux pour optimiser et stabiliser les rendements (dans diverses situations de stress biotiques et abiotiques), peuvent s'avérer bénéfiques dans ce contexte (Rachidi et al., 2020).

Les EPS, ou les exopolysaccharides, sont des molécules glucidiques complexes qui possèdent divers substituants tels que des lipides, des acides aminés ou encore des sulfates fixés à leurs

structures linéaires ou ramifiées. Ils se forment et s'accumulent sur les surfaces des microalgues durant la phase de développement.(Rachidi et al., 2020).

Les microalgues génèrent de l'EPS pour adhérer à diverses surfaces, se défendre contre divers stress abiotiques (comme des températures extrêmes, un pH ou des conditions limitant les nutriments), et elles agissent aussi en tant que réserve d'énergie et de carbone. Ils disposent d'une vaste variété d'applications dans divers secteurs tels que les produits pharmaceutiques, alimentaires, cosmétiques et agricoles. Ceci est dû à leurs attributs structurels associés à de nombreux agents biologiques distincts (anti-inflammatoires, antibactériens, antiviraux, anticoagulants, antioxydants et cicatrisants) ainsi qu'à leurs propriétés physicochimiques (Sasikumar et al., 2017).

La chitine et le chitosane sont des composés naturels présentant un fort potentiel en agriculture pour le contrôle des maladies des plantes**.** Ils ont démontré une toxicité ainsi qu'une capacité à inhiber la croissance et le développement des champignons, et se révèlent également actifs contre les virus, les bactéries et divers agents pathogènes. Les fragments de chitine et de chitosane induisent chez les plantes des réponses de défense, telles que la production de phytoalexines, de protéines de type PR (pathogen-related), d'inhibiteurs de protéinases, ainsi que la synthèse de lignine et la formation de callose. Leur utilisation dans les systèmes agricoles vise à réduire les impacts négatifs des maladies sur le rendement et la qualité des cultures (El Hadrami et al., 2010).

La présente étude visait à évaluer l'influence potentielle de l'EPS et la CHT en tant qu'application exogène sur la croissance et la tolérance des plantules de tomate cultivé sous Cr stress.

PARTIE 01

Synthèse bibliographique

Première chapitre :

Généralités sur les exopolysaccharide (EPS)

II.1.1. Qu'est-ce qu'une exopolysaccharides (EPS)

EPS classe des polysaccharides bactériens désignés sous le nom d'exopolysaccharides (EPS) englobe une large gamme de polymères glucidiques synthétisés par des bactéries de tous les taxons et sécrétés dans l'environnement extérieur. Les EPS sont largement répandues, car ils sont produits par une grande variété de micro-organismes, y compris des pathogènes opportunistes pour l'homme ainsi que des microbes environnementaux. Les EPS sont également produits par des bactéries vivant dans l'eau de mer ainsi que dans des environnements extrêmes comme l'Antarctique. L'extraordinaire diversité de l'origine des polysaccharides se reflète dans une multitude de structures en termes de compositions, de séquences et de tailles moléculaires. Les EPS peuvent être classés selon leur composition chimique (ce qui reflète également le mécanisme biosynthétique) en homopolysaccharides et en hétéropolysaccharides. Ils peuvent être composés d'unités répétitives de 10 résidus de monosaccharides ou moins (Nwodo et al., 2012).

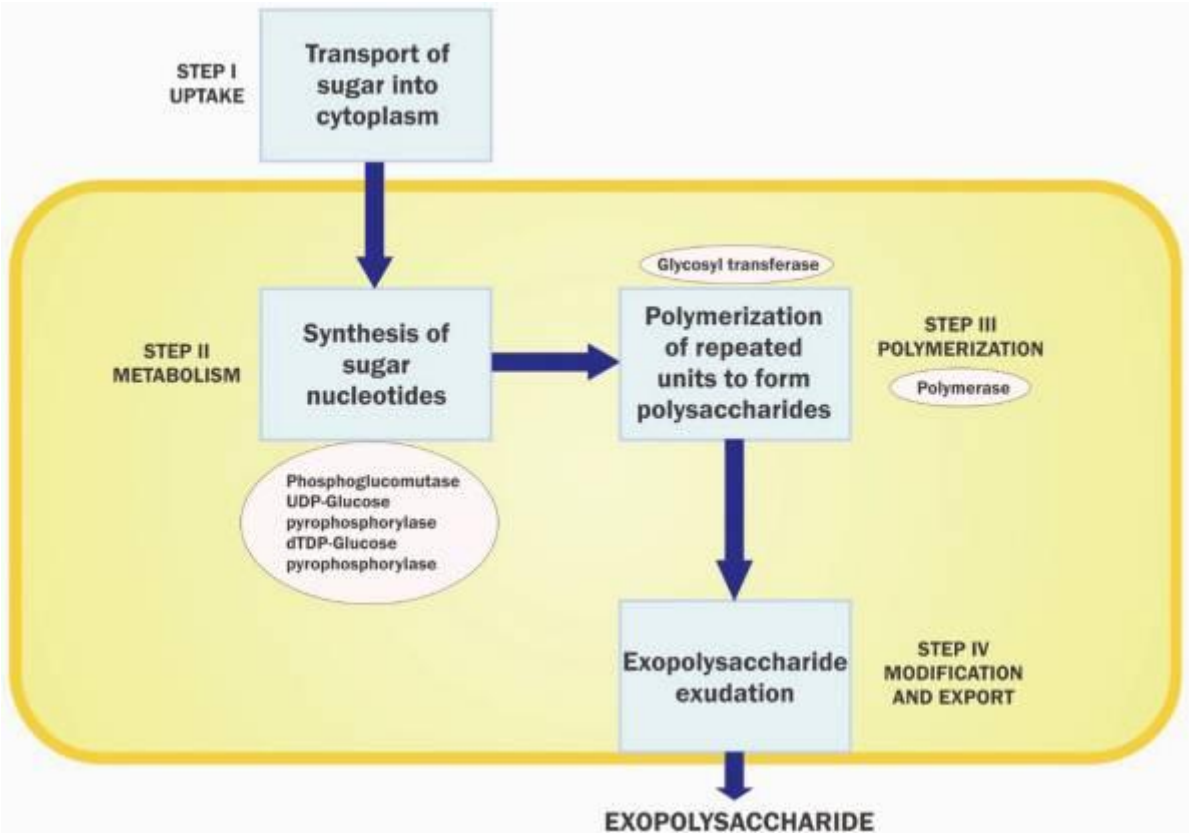


Figure 1. Étapes impliquées dans la biosynthèse des exopolysaccharides bactériens (Bhagat et al., 2021).

II.1.2 Composition et classification des exopolysaccharides

II.1.2.1. Composition osidique

Les EPS sont composées de résidus glycosidiques, qui peuvent être liés de façon covalente à des substituants organiques ou inorganiques. Les sucres que l'on peut trouver dans les EPS sont extrêmement divers. La plupart de ces résidus sont également présents chez les animaux et les végétaux. Le D-glucose, le D-galactose et le D-mannose sous forme pyranose, sont présents dans de nombreux EPS. Parmi les 6-déoxy-hexoses, le L-fucose et le L-rhamnose sont les monosaccharides les plus fréquemment rencontrés. Les EPS de cellules eucaryotes se distinguent par la production, dans certains cas, de pentoses comme le D-ribose ou le D-xylose, qui sont beaucoup moins fréquents dans les polysaccharides dérivés des procaryotes. Les cyanobactéries produisent également des EPS, plus de 70 souches ont été répertoriées, mais seulement 10 monosaccharides différents ont été rencontrés : - Des hexoses : glucose (présent dans 90 % des polymères), galactose et mannose -Des pentoses : ribose, xylose et arabinose - Des déoxy-hexoses : fucose et rhamnose – Des hexoses acides : acide glucuronique et acide galacturonique. En plus des monosaccharides les plus communes citées ci-dessus, les EPS peuvent contenir un ou plusieurs sucres rares, comme les hexoses de configuration absolue L, les hexosamines N'acétylées telles que la N-acétylglucosamine, la N-acétylgalactosamine, la N-acétylmannosamine ou des amino-sucres comme la fucosamine ou la talosamine (Nwodo et al., 2012).

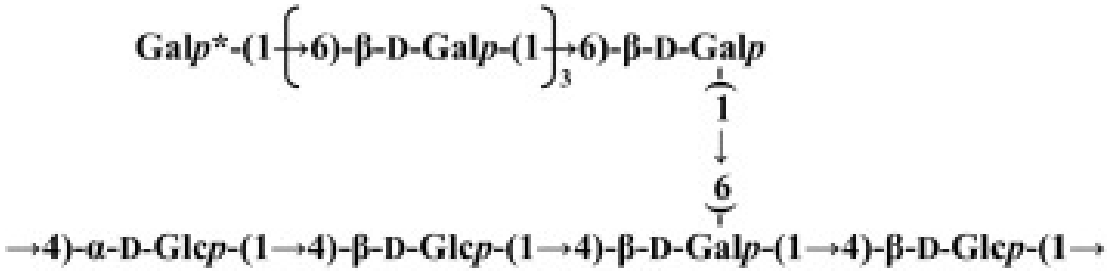


Figure 2. Structure répétitive d'un exopolysaccharide bactérien ramifié : séquence des résidus galactose et glucose.(Feng et al., 2021)

II.1.2.2. Classification

Devant la grande diversité de compositions et de structures des EPS, il difficile d'en établir une classification. La nature de leurs composants a cependant permis de les diviser en deux classes : les homopolysaccharides et les hétéropolysaccharides. Cette nomenclature proposée par Sutherland dès 1972, a été adoptée et reprise par de nombreux auteurs (Nwodo et al., 2012).

Homopolysaccharides

Les homopolysaccharides ne sont composés que de monosaccharides identiques. Ils comprennent des glucanes, uniquement constitué de D-glucose mais qui peuvent posséder des propriétés physiques très différentes. En effet, l'enchaînement de leurs résidus et la présence de ramifications modifient leurs comportements en solution. Le scléroglucane est très visqueux alors que le curdlane forme un gel en solution et la cellulose bactérienne est insoluble. Pourtant, tous les trois sont exclusivement composés de glucose. Leurs utilisations se réduisent actuellement, à quelques exceptions près, à l'exploitation de leurs propriétés rhéologiques. Les homopolysaccharides bactériens les plus utilisés sont le dextrane, le curdlane et le scléroglucane (aussi appelé pullulane). Leurs structures, leurs propriétés physico-chimiques et leurs utilisations industrielles sont décrites dans de nombreux ouvrages (Nwodo et al., 2012).

Hétéropolysaccharides

La majorité des polysaccharides bactériens est probablement constituée hétéropolysaccharides. Ils comprennent les polymères dont l'unité répétitive est constituée d'au moins deux résidus différents. Mais la souche Pseudoalteromonas HYD 721 produit un exopolysaccharide dont l'unité répétitive contient huit résidus différents et deux ramifications. Les monosaccharides les plus fréquemment rencontrés sont le glucose, le galactose et le rhamnose pour les oses neutres, l'acide glucuronique et l'acide galacturonique, pour les oses acides. Les analyses structurales des EPS de nouvelles souches permettent la mise en évidence de sucres rares comme les acides uroniques-N-acétylés ou inconnus jusqu ; alors :

Les hétéropolysaccharides comme les homopolysaccharides peuvent être ramifiés ou linéaires. Il existe donc une très grande variété de structures possibles. Cette classe de polymères représente une source de molécules dont les propriétés physico-chimiques sont très diverses (Nwodo et al., 2012).

II.1.3. Rôle physiologique des EPS

Les EPS sont présentes dans de nombreuses espèces de bactéries provenant de diverses niches écologiques. Les propriétés de cette couche hydrophile secrétée autour des bactéries semblent importantes pour leur survie en milieu naturel. Les EPS influencent la manière dont les bactéries interagissent avec le milieu extérieur, qu'il soit liquide ou solide. En milieu naturel, la majeure partie des bactéries s'adsorbe, sélectivement ou non, à des surfaces inertes ou des organismes vivants. La colonisation bactérienne nécessite la production de molécules regroupées sous le nom de glycocalyx (terme équivalent à EPS). Ces molécules sont majoritairement constituées de polysaccharides acides, extracellulaires mais comprenant également d'autres macromolécules comme des glycoprotéines et des glycolipides. Les surfaces recouvertes d'un film organique sont colonisées par des bactéries qui trouvent ainsi un substrat auquel elles peuvent adhérer même si les forces électrostatiques de la surface à coloniser tendent à repousser la paroi bactérienne. Lorsque cette surface appartient à un organisme vivant, il a Etude bibliographique 20 étés montré que les EPS jouent un rôle de protection contre les surfactants, les anticorps et les macrophages. En dehors de son intervention dans l'adhésion, le glycocalyx occupe une place importante dans l'adaptation de la bactérie aux conditions physico-chimiques d'un environnement. Les EPS permettent aux bactéries d'agréger des particules en suspension en utilisant leur caractère anionique et leur capacité à chélater les métaux et les ions. Ces propriétés les font ressembler à une résine échangeuse d'ions et favorisent l'apport en nutriments nécessaires à la croissance bactérienne. Les EPS constituent une zone d'adhésion et d'échange, ils ont un rôle de tampon et de protection. Les bactéries secrètent les EPS notamment en cas de stress (Nwodo et al., 2012).

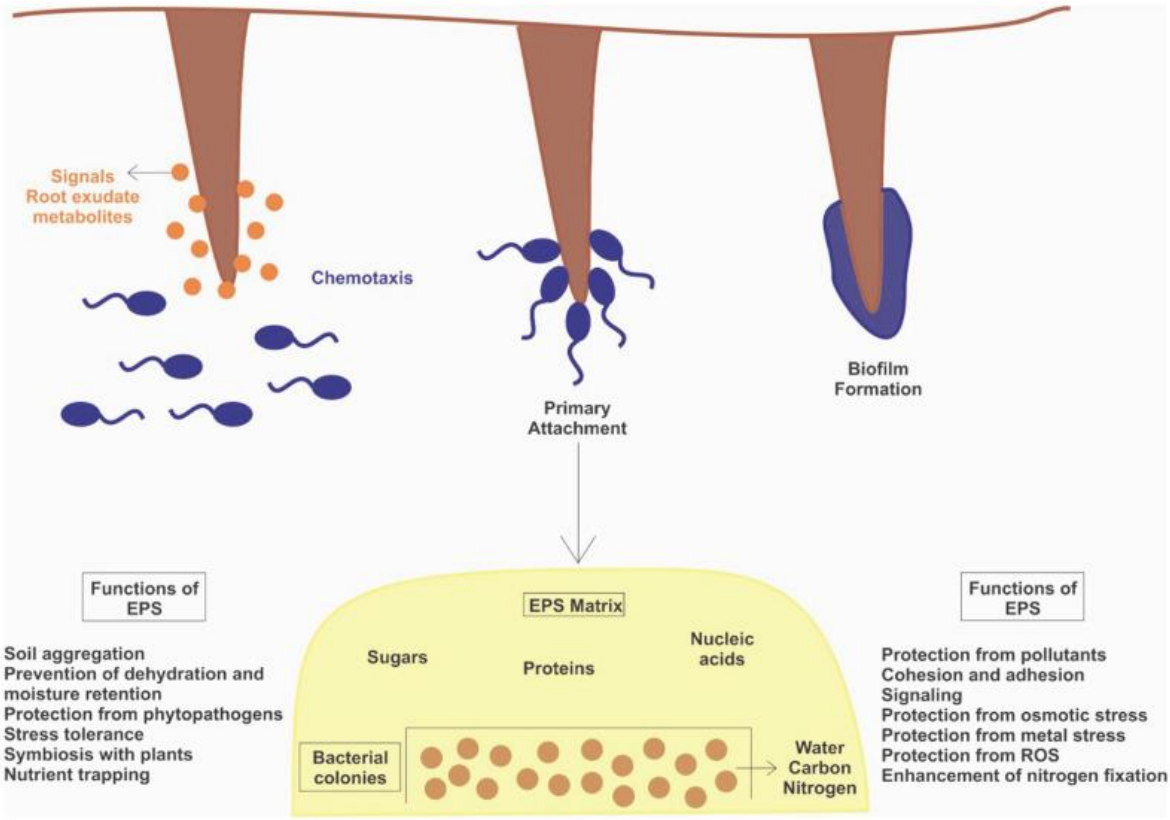


Figure 3. Rôles des exopolysaccharides microbiens (EPS) dans l'atténuation des stress abiotiques et la promotion de la croissance des plantes (Bhagat et al., 2021).

II.1.4. L'EPS comme un biostimulant

Les plantes, dans leur environnement, sont exposées à divers stress biotiques et abiotiques. Traditionnellement, les pesticides et engrais synthétiques sont presque indispensables pour le contrôle des maladies des plantes et la production agricole. L'utilisation excessive de ces produits chimiques synthétiques est une préoccupation mondiale, en raison de leurs effets nocifs sur la santé humaine et l'environnement. De plus, la surutilisation de produits chimiques est la principale cause du développement de résistances chez les agents pathogènes. Dans ce contexte, la promotion d'alternatives écologiques est apparue nécessaire pour réduire l'usage de produits chimiques en agriculture et ainsi atténuer leur impact environnemental.

Au cours des dernières décennies, l'agriculture durable a suscité un intérêt croissant dans le cadre de stratégies de gestion intégrée des cultures, qui encouragent l'utilisation d'outils alternatifs tels que la rotation des cultures, la période de plantation, le travail du sol et l'usage de produits biologiques. Une grande attention a été portée au développement de biostimulants végétaux visant à améliorer la croissance, le rendement et la qualité des cultures en renforçant

la nutrition des plantes, en réduisant l'impact des stress abiotiques et en favorisant la croissance des végétaux. Des rapports détaillés sont disponibles sur l'induction de la résistance des plantes par divers inducteurs biologiques tels que les extraits de plantes, les huiles essentielles, les bactéries et les champignons, les extraits d'algues et les polysaccharides. Ces éliciteurs n'ont pas d'effet toxique direct sur les agents pathogènes et les ravageurs, mais ils ont la capacité d'induire des signaux de défense dans les plantes.

Les plantes, dans leur environnement, sont exposées à divers stress biotiques et abiotiques. Traditionnellement, les pesticides et engrais synthétiques sont presque indispensables pour le contrôle des maladies des plantes et la production agricole. L'utilisation excessive de ces produits chimiques synthétiques est une source de préoccupation mondiale en raison de leurs effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement. De plus, l'usage abusif de ces produits chimiques est la principale cause du développement de résistances chez les agents pathogènes. Dans ce contexte, la promotion d'alternatives écologiques est devenue nécessaire afin de réduire l'utilisation de produits chimiques en agriculture et, par conséquent, d'atténuer leurs effets sur l'environnement.

Au cours des dernières décennies, l'agriculture durable a suscité un intérêt croissant en tant que stratégie de gestion intégrée des cultures, en promouvant l'usage d'outils alternatifs tels que la rotation des cultures, la date de semis, le travail du sol et l'utilisation de produits biologiques. Une grande attention a été portée au développement de biostimulants végétaux afin d'améliorer la croissance, le rendement et la qualité des cultures, en renforçant la nutrition des plantes, en réduisant l'impact des stress abiotiques et en favorisant la croissance des végétaux. Des rapports détaillés sont disponibles sur l'induction de la résistance aux maladies chez les plantes via une variété d'inducteurs biologiques tels que des extraits de plantes, des huiles essentielles, des bactéries et champignons, des extraits d'algues et des polysaccharides. Ces éliciteurs n'ont pas d'effet toxique direct sur les agents pathogènes et les ravageurs, mais ils ont la capacité d'induire des signaux de défense dans les plantes (Mutale-joan et al., 2020).

II.1.5. Compositions chimiques des biostimulants et biofertilisants à base de microalgues

Les produits issus des microalgues (MBS et MBF) sont disponibles sur le marché pour une utilisation en agriculture en tant que solutions innovantes visant à améliorer les rendements des cultures. Cependant, leurs caractéristiques chimiques constituent l'un des aspects les plus

déterminants de leur utilisation. La composition de ces produits, incluant des éléments minéraux, des acides aminés et des phytohormones, peut être très faible, parfois en dessous du seuil de détection des instruments analytiques les plus récents.

La biomasse microalgale contient des macro- et micronutriments, en particulier l'azote, le phosphore et le potassium, ce qui en fait un intrant à **libération lente**. Certaines études ont révélé l'absence de plomb (Pb) dans la biomasse d'*Arthrospira spp.*, ce qui souligne sa sécurité en tant que promoteur de croissance végétale. Les microalgues sont également utilisées dans la **biorémédiation** en raison de leur capacité à concentrer les métaux lourds.

Elles renferment diverses substances favorisant la croissance des plantes, telles que les **auxines**, **cytokinines**, **bétaines**, **acides aminés**, **vitamines** et **polyamines**. Elles contiennent aussi des **gibberellines** et **brassinostéroïdes**, ainsi que des **hydrolysats protéiques** et des **acides aminés**, reconnus comme **biostimulants efficaces** ayant des effets positifs sur la croissance des plantes et les rendements agricoles (Ronga et al., 2019).

II.1.6. Activité biostimulante des extraits de microalgues

Dans un article récent, **Ronga et son équipe** ont passé en revue l'activité biologique des extraits de microalgues ainsi que leur potentiel à atténuer les effets des stress abiotiques tels que la salinité et le stress hydrique. Ils ont identifié les principales espèces présentant des effets biostimulants, notamment *Chlorella vulgaris*, *Acutodesmus dimorphus*, *Scenedesmus platensis*, *Scenedesmus quadricauda*, *Dunaliella salina*, *Chlorella ellipsoida*, *Chlorella infusionum*, *Chlorella vulgaris*, *Spirulina maxima* et *Calothrix elenkinii*. L'activité biostimulante des microalgues est principalement attribuée à leur teneur en **métabolites primaires et secondaires**, **acides aminés essentiels**, **vitamines**, **osmolytes** et **polysaccharides**. L'identification et la sélection de microalgues contenant des phytohormones naturelles, en particulier des **auxines** et **cytokinines**, ouvrent de nouvelles perspectives pour leur valorisation.

La composition en molécules bioactives varie selon l'espèce de microalgue, les **conditions de culture** et les **techniques d'extraction** utilisées (Colla & Rouphael, 2020).

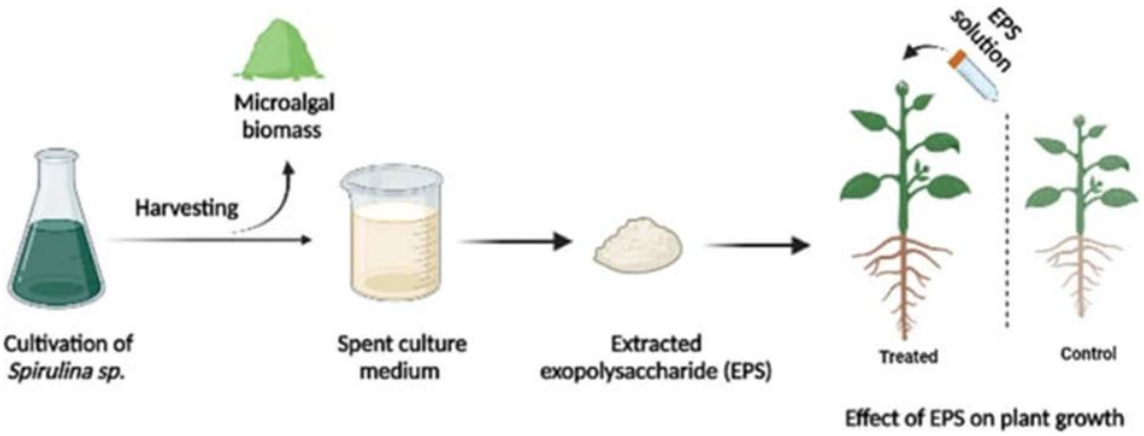


Figure 4. Application des exopolysaccharides microalgaux dans la stimulation de la croissance végétale (Vanacore et al., 2022).

Deuxième chapitre

Stress métallique

II.2.1. Qu'est-ce qu'un métal lourd :

Les composés métalliques se retrouvent constamment dans l'environnement, sous diverses formes. Dans leur forme actuelle, ils sont nécessaires, voire essentiels pour les êtres vivants. En revanche, à des niveaux de concentration élevés, ils affichent une toxicité variable. L'existence de métaux lourds dans l'environnement découle de phénomènes naturels et d'actions humaines. Elle constitue un enjeu spécifique, puisque les métaux lourds s'accumulent et ne sont pas biodégradables dans l'écosystème.

Tous ces métaux lourds ne comportent pas les mêmes dangers, du fait de leurs impacts sur les êtres vivants, ainsi que de leurs caractéristiques chimiques, physico-chimiques et biologiques. Leur toxicité varie considérablement et leur incidence sur l'environnement est très diverse (KONE et al., 2025).

II.2.1.1. Définition :

Les éléments métalliques communément appelés métaux lourds ou éléments traces métalliques (ETM) sont caractérisés par une masse volumique généralement supérieure à 5g/cm3. On les trouve de manière naturelle dans le sol, l'eau (etc.) en très petites quantités.
On retrouve l'usage des métaux lourds dans divers secteurs industriels (charbon, pétrole, cosmétiques, etc.) (Erkman, 2004). Quelques métaux lourds sont nocifs pour la santé humaine et l'environnement. Par conséquent, certaines autorités étatiques ou internationales supervisent la gestion de certains métaux lourds. On dit que ces éléments sont persistants et ont la capacité de perturber les écosystèmes (Bouguerra, 1997). Ils s'amassent dans les terres, l'eau, la végétation et aussi dans l'ensemble de la chaîne alimentaire. Il existe une dizaine de métaux lourds, auxquels s'ajoutent des métaux (non lourds) et des éléments qualifiés de métalloïdes susceptibles d'être nocifs pour l'environnement et la santé humaine (El Hachimi et al., 2014).

II.2.1.2. Sources de contamination par les métaux lourds :

Annuellement, des millions de tonnes de métaux lourds sont prélevées puis diffusées dans la biosphère. Actuellement, la progression de l'urbanisme est un facteur significatif dans la détérioration de l'environnement globalement et dans l'expansion industrielle spécifiquement.

Les facteurs globaux qui définissent la relation entre environnement et urbanisme (zone industrielle et eaux usées), ainsi que leurs conséquences sur l'existence humaine, sont étendus et compliquées. Les polluants peuvent provenir de sources naturelles ou créées par l'homme (El Hachimi et al., 2014).

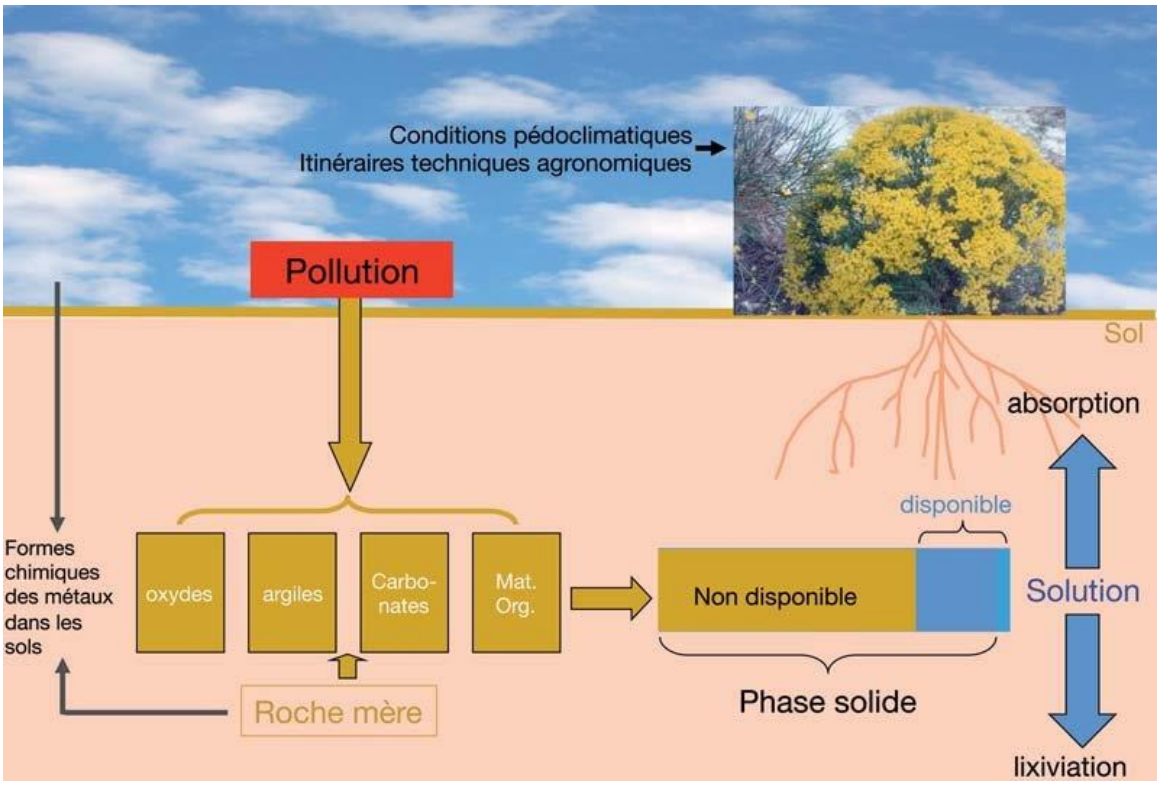


Figure 5.Devenir de métaux lourds dans les sols (El Hachimi et al., 2014).

II.2.1.3. Quel est l'effet des métaux lourds sur l'environnement ?

Les métaux exercent des impacts toxiques variables sur les organismes vivants, selon leur nature et leur volume. Des éléments métalliques tels que le cuivre ou le zinc sont indispensables, en petites quantités, aux organismes vivants. Cependant, certains comme le plomb et le mercure sont toxiques même à des doses extrêmement faibles.

Les écosystèmes et les chaînes alimentaires sont fortement contaminés par les métaux lourds. Étant non biodégradables, ces éléments s'accumulent en grande quantité chez les espèces au sommet de la chaîne alimentaire telles que les cétacés, les êtres humains et divers prédateurs. Il s'agit du processus de bioaccumulation, qui signifie l'absorption et la concentration de certaines substances chimiques présentes dans un environnement par un organisme (KONE et al., 2025).

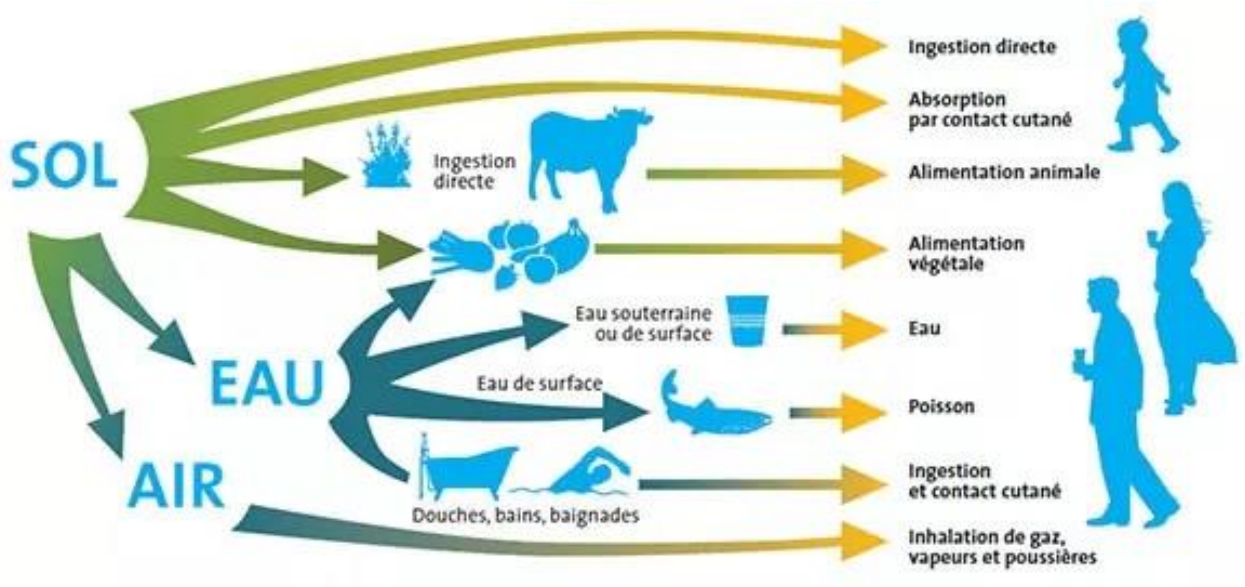


Figure 6. Pollution aux métaux lourds, plomb, arsenic, cadmium (KONE et al., 2025).

II.2.2. C'est quoi un chromium :

Le minerai de plomb rouge sibérien (crocoïte) a été le premier matériau dans lequel le chrome (Cr) a été identifié, et cette découverte revient au chimiste français Vauquelin en 1798. Cet élément de transition, qui figure dans le groupe VI-B du tableau périodique, possède une configuration électronique de l'état fondamental Ar 3d5 4s1. Les formes stables de Cr sont les espèces trivalentes Cr(III) et hexavalentes Cr(VI), même si d'autres états de valence instables et éphémères existent dans les systèmes biologiques (Hassan et al., 2024). Le Cr(VI) est reconnu comme la forme du Cr la plus nocive, se présentant habituellement en association avec l'oxygène sous la forme de chromate (CrO_4^{2-}) ou de dichromate ($Cr_2O_7^{2-}$), des oxyanions.

Le Cr(III) présente une mobilité réduite, une toxicité moindre et il est majoritairement associé à la matière organique dans les sols et les milieux aquatiques (Becquer et al., 2003). L'usage du chrome dans diverses activités humaines, qui a entraîné la pollution des sols et des nappes phréatiques, est devenu une source majeure d'inquiétude pour les chercheurs en botanique et en zoologie au cours des dix dernières années (Zulfiqar, Haider, Ahmad, Hussain, Maqsood, Ishfaq, Shahzad, Waqas, Ali, Tayyab, et al., 2023).

Contrairement à d'autres métaux traces toxiques tels que le cadmium, le plomb, le mercure et l'aluminium, le Cr n'a pas suscité beaucoup d'intérêt parmi les chercheurs en botanique. Son mécanisme de toxicité chez les plantes a été difficile à élucider en raison de la complexité de sa chimie électronique. L'effet de la pollution au chrome sur le fonctionnement physiologique des plantes est soumis à la spéciation du métal, qui détermine sa libération, son absorption ultérieure et la toxicité qui en découle dans l'organisme végétal. Chez les végétaux, la toxicité du Cr se révèle à divers stades, allant de la diminution de la productivité, des impacts sur le développement des feuilles et des racines, jusqu'à l'interruption des actions enzymatiques et à la mutation génétique (Saleem et al., 2022).

II.2.3. Sources de Chromium :

La pollution par le Cr s'est transformée en un enjeu environnemental crucial à cause de sa présence élevée dans diverses pratiques agricoles et industrielles. La concentration maximale admissible de Cr dans le sol, considérant la préservation de la santé humaine et environnementale, est approximativement de 64 mg/kg. L'élément Cr a été d'abord reconnu en 1797 comme un élément du minerai crocoïte ($PbCrO_4$) utilisé pour la production de pigments. Du fait de son intégration dans divers processus industriels et agricoles, une grande quantité de Cr est extraite ou produite chaque année, ce qui contribue aussi à sa pollution du sol et des eaux. Par exemple, des quantités notables de Cr sont libérées dans diverses parties de l'environnement par des activités industrielles comme les usines de ciment et d'acier, les tanneries, le chromage, la fabrication de peintures et teintures, le placage métallique, le travail du bois, la production de papier et les procédés de lixiviation. En outre, la chute de cendres issues de la combustion du charbon ou des déchets municipaux utilisés pour produire de l'énergie, et les industries de fertilisants, ont aussi significativement accru le niveau de Cr (VI) dans le sol et l'eau. On trouve le chrome dans la nature, notamment dans les roches, la poussière volcanique, les gaz, le sol, ainsi que chez les animaux et les végétaux. Généralement, le Cr est fortement associé aux phases dérivées des roches primaires ainsi qu'aux oxydes de fer hautement cristallisés. La chromite

(FeCr2O4) est une forme naturelle de chrome présente dans les roches ultramafiques ou serpentine, constituant un élément composant différents minéraux tels que la tarapacaïte, la crocoïte, la vauquelinite et la bentorite. En outre, du fait de la lixiviation naturelle des roches et du sol superficiel, des concentrations notables de Cr se retrouvent aussi dans les masses d'eau. Pour finir, nous avons illustré diverses origines de contamination en chrome présentes dans les sols et les cultures sur la Figure 7 (Ali et al., 2023a).

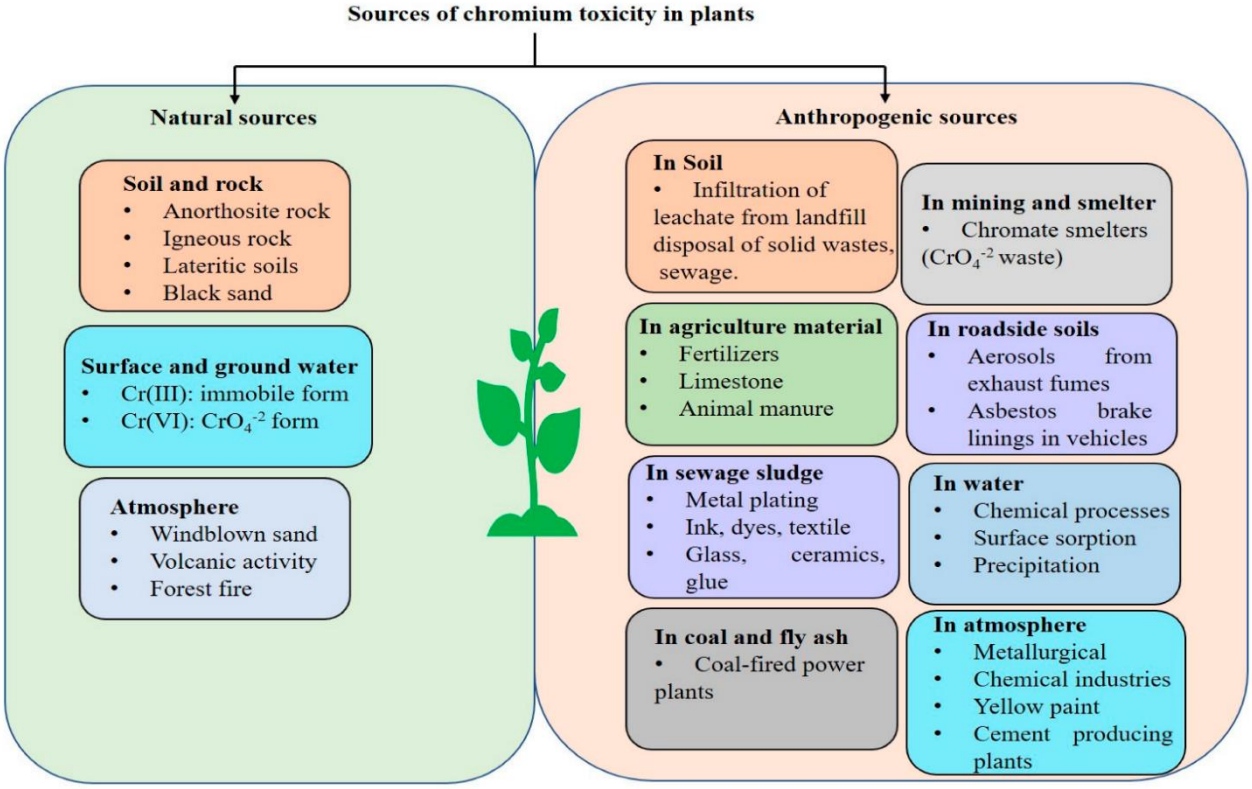


Figure 7. Sources de contamination des sols agricoles et d'autres environnements par le chrome (Cr).Dans cette figure, nous avons mis en évidence à la fois les sources naturelles et anthropiques de chrome dans les sols agricoles (Ali, Mir, Tyagi, Manzar, Kashyap, Mushtaq, Raina, Park, Sharma, Mir, et al., 2023a).

II.2.4. Le Chrome dans l'Environnement :

II.2.4.1. Le Chrome dans l'Eau :

Le chrome peut se retrouver dans les eaux naturelles suite à l'altération de roches contenant du Cr, aux rejets directs issus d'activités industrielles, à la lixiviation des sols, entre autres. Dans le milieu aquatique, le Cr est susceptible de subir des phénomènes de réduction, d'oxydation, de sorption, de désorption, de dissolution et de précipitation (V. Kumar et al., 2016). La capacité du Cr(III) à se dissoudre dans l'eau est influencée par le pH de celle-ci. En milieu neutre à basique, le Cr(III) se précipite, tandis qu'en milieu acide, il a une propension à se dissoudre. Les différentes formes de Cr(VI), telles que le chromate et le dichromate,

possèdent une solubilité remarquable dans toutes les conditions de pH. Toutefois, elles peuvent précipiter en présence de cations divalents. Il est conseillé de maintenir une concentration maximale de 8 µg/L de Cr (III) et de 1 µg/L de Cr(VI) dans l'eau. Dans les rejets proches des usines de chrome, on observe une concentration de Cr allant de 2 à 5 g/L (Oliveira, 2012).

II.2.4.2. Le Chrome dans le Sol :

La teneur en Cr dans les sols peut fluctuer de manière significative selon la composition naturelle des roches et des sédiments qui les constituent. L'accroissement des niveaux de chrome dans le sol peut être attribué principalement aux dépôts d'origine humaine, tels que les dépôts atmosphériques, mais aussi à la disparition de liquides et de résidus solides qui contiennent du chrome, comme les sous-produits du chrome, les scories de ferrochrome ou encore les bains de placage au chrome. Habituellement, la présence de Cr dans le sol correspond à un mélange de Cr(III) et de Cr(VI). Tout comme dans le milieu aquatique, une fois qu'il est présent dans le sol ou les sédiments, le Cr subit différentes transformations, comme l'oxydation, la réduction, la sorption, la précipitation et la dissolution. Dans le sol, les oxydants tels que l'oxygène dissous et le MnO_2 ont la capacité d'oxyder le Cr(III) en Cr(VI). Néanmoins, il apparaît que l'oxydation du Cr(III) par l'O_2 dissous est négligeable comparée à celle du MnO_2. En ce qui concerne les formes de Cr(VI), elles sont réduites par le fer, le vanadium, les sulfures et les substances organiques. Toutefois, si la capacité réductrice du sol est surpassée, le Cr(VI) peut demeurer dans le sol ou les dépôts pendant de nombreuses années, surtout si les sols sont sablonneux ou affichent des niveaux bas de matière organique.

López-Luna et ses collaborateurs ont évalué la toxicité du Cr(VI), du Cr(III) et des résidus de tannage, en se concentrant sur la mobilité du Cr dans le sol et l'impact toxique sur les plantules de blé, d'avoine et de sorgho. Ils ont observé que le Cr(VI) présentait une plus grande mobilité dans le sol et induisait une toxicité supérieure sur ces jeunes plants, alors que les résidus de tannérie étaient les moins toxiques (Oliveira, 2012).

II.2.5. Dangers liés à l'exposition au chrome (Cr) :

II.2.5.1. Écotoxicité :

II.2.5.1.1 Toxicité pour les sols et les plantes :

Les végétaux occupent une place cruciale dans l'écosystème global. La pollution des terres par le chrome hexavalent (Cr(VI)) peut freiner la croissance et les fonctions métaboliques

des plantes, pouvant même provoquer leur décès. Dans l'environnement naturel, le chrome trivalent (Cr(III)) se présente sous la forme de $FeOCr_2O_3$, tandis que le Cr(VI) s'associe à l'oxygène pour donner naissance aux ions CrO_4^{2-} ou $Cr_2O_7^{2-}$. Le Cr(III) est davantage stable, alors que le Cr(VI) est plus phytotoxique. L'accumulation de scories chromées entraîne une absorption significative d'anions lors des réactions rédox, ce qui provoque une élévation du pH et une alcalinisation du sol, Le chrome présent dans le sol est absorbé par les plantes vertes et s'accumule dans leurs tissus. Inhibant ainsi l'activité de la phosphatase alcaline et de la déshydrogénase du sol (Yan et al., 2023).

L'accumulation de métaux lourds dans les végétaux peut nuire à l'absorption des nutriments et à l'équilibre physiologique, ce qui peut entraver leur croissance et leur développement. Habituellement, l'absorption des métaux par les plantes se concentre dans les racines. Cependant, certaines espèces ont tendance à redistribuer une plus grande quantité de ces métaux vers les parties aériennes, notamment les feuilles. En d'autres termes, le Cr(VI) interfère avec les fonctions métaboliques et les actions enzymatiques des végétaux, provoquant un stress oxydatif, une entrave à la photosynthèse et à la respiration, un retard dans la germination, une perte de feuilles prématurée et une réduction de la productivité. Cela peut aussi provoquer une génotoxicité, pouvant même conduire à la mort des plantes. La toxicité du Cr(VI) perturbe la croissance végétale et gêne leurs processus métaboliques vitaux. Elle diminue la croissance et la productivité végétale, la concentration en pigments de photosynthèse et l'activité des enzymes antioxydantes. Le déclin de la croissance et la diminution de dimensions des feuilles suite à un traitement au dichromate de potassium peuvent être imputés aux lésions oxydatives infligées aux pigments photosynthétiques par le Cr(VI), ce qui réduit la photosynthèse. Une surexposition au Cr(VI) chez le pois altère la structure et le fonctionnement de la membrane plasmique des racines, ce qui provoque une diminution de la photosynthèse et un développement végétal insatisfaisant. Dans le cas du coton, la toxicité du Cr(VI) cause une diminution considérable de la croissance des plants, de l'allongement des racines, ainsi que du poids frais et sec des feuilles, tiges et racines. Selon Anjum et al. (2017), le stress causé par le Cr(VI) chez le maïs diminue la superficie des feuilles, l'établissement du rachis, la masse de 100 grains ainsi que la biomasse aérienne. Chez le maïs, le stress induit par le Cr(VI) réduit la surface foliaire, la formation du rachis, le poids de 100 grains et la biomasse aérienne. Ces métaux lourds accumulés dans les plantes peuvent, en fin de compte, nuire aux animaux et aux êtres humains par le biais de la chaîne alimentaire (Yan et al., 2023).

II.2.5.1.2 Toxicité pour les micro-organismes :

Les micro-organismes sont fondamentaux pour le cycle des éléments dans le sol, et la pollution du sol par le Cr(VI) freine leur développement et leurs activités métaboliques. Selon Zhang et al. (2022), les micro-organismes sont des indicateurs d'écotoxicité plus sensibles que les invertébrés du sol et les plantes lors de l'évaluation de la toxicité du Cr(VI). Généralement, la diversité alpha (la richesse spécifique et l'uniformité des espèces au sein des échantillons) des communautés microbiennes est liée à la stabilité et aux processus écosystémiques. En effet, les sols contaminés par le chrome montrent une réduction de la diversité alpha bactérienne. Les variations notables en termes d'abondance et de diversité bactériennes entre les strates de 0 à plus de 20,00 cm indiquent que la teneur en métaux lourds du sol varie selon la profondeur, ce qui affecte les communautés bactériennes en fonction de leur emplacement vertical. Des niveaux élevés de Cr(VI) peuvent être mortels pour les micro-organismes qui ne supportent pas ce composé. Toutefois, certains micro-organismes qui supportent le chrome ont la capacité de résister à sa toxicité et de transformer le Cr(VI), hautement toxique, en Cr(III), moins nocif. Par conséquent, l'emploi de souches microbiennes résistantes au chrome a été envisagé dans le but de décontaminer les sols et les eaux affectés par le Cr (Yan et al., 2023).

II.2.5.2. Danger de pollution par le chrome pour les humains et les animaux :

II.2.5.2.1. Empoisonnement par accumulation :

L'intoxication au chrome (Cr) peut être classée en deux catégories : aiguë et chronique. Le Cr(VI) et le Cr(III) peuvent tous deux entraîner des intoxications, mais le Cr(VI) est nettement plus toxique que le Cr(III). En Chine, la concentration maximale autorisée pour le Cr(III) et le Cr(VI) est de 0,50 $mg \cdot L^{-1}$. Le Cr(III) est considéré comme un oligo-élément essentiel chez les mammifères, bien que son rôle reste controversé. Une ingestion excessive de Cr(III) peut engendrer divers problèmes de santé, notamment en perturbant l'absorption des oligo-éléments dans le cerveau et le cœur, ainsi qu'en provoquant des troubles métaboliques chez le chien. Le Cr(VI), qui présente une toxicité orale plus élevée que le Cr(III), affecte de nombreux tissus de l'organisme. Son ingestion peut provoquer des troubles gastro-intestinaux, une hypotension, ainsi qu'une insuffisance hépatique et rénale. Le Cr(VI) peut également endommager le foie, les organes reproducteurs et les systèmes de reproduction. Il exerce en outre des effets immunologiques, entraînant une diminution significative du nombre de leucocytes, d'érythrocytes, de neutrophiles et de lymphocytes. Chez les poissons,

l'accumulation de chrome peut survenir par voie alimentaire, ce qui représente un risque sanitaire important. Le Cr(VI) peut aussi provoquer des effets secondaires tels que la perte de cheveux, des lésions au niveau de la tête, des diarrhées, des nausées, des vomissements et une agressivité accrue. Sa neurotoxicité est de plus en plus reconnue : des rats exposés au Cr(VI) présentent des troubles de la mémoire sociale ainsi qu'une augmentation des comportements agressifs (Yan et al., 2023).

II.2.5.2.2. Cancérogénicité :

Le chrome hexavalent (Cr(VI)) peut accroître le risque de cancer chez les animaux et chez l'être humain. L'exposition à des environnements contenant du chrome peut augmenter la probabilité de développer des cancers des ovaires, du pancréas, de la vessie et du foie. Des études menées dans la province du Liaoning, en Chine, ont révélé qu'entre 1970 et 1978, le taux de mortalité par cancer des ovaires y était plus élevé que dans les zones non contaminées. L'exposition au chrome accroît également le risque de cancers des voies respiratoires, de la cavité buccale, du système gastro-intestinal, de la prostate et des ovaires. Chez l'animal, l'exposition au chrome augmente la sensibilité des souris aux rayonnements ultraviolets, tandis que l'exposition au chrome présent dans l'eau accroît la fréquence des tumeurs cutanées (Yan et al., 2023).

II.2.5.3. Génotoxicité :

Le Cr(VI) ne peut pas traverser la membrane cellulaire, tandis que le Cr(III) peut pénétrer dans la cellule par le biais de canaux ioniques non spécifiques, avant d'être réduit en Cr(III). Ce processus de réduction génère des radicaux instables, tels que les thiols, les radicaux hydroxyles, le peroxyde d'hydrogène et les anions superoxydes, capables d'endommager l'ADN. La formation d'adduits Cr-ADN peut entraîner des fragmentations chromosomiques ainsi que des mutations. Des études antérieures ont démontré que les composés de Cr(VI) peuvent provoquer divers types de lésions de l'ADN, incluant des cassures simple brin et des sites d'instabilité des bases. Une élévation des concentrations de Cr(VI) entraîne des dommages oxydatifs, conduisant à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et à des effets biologiques irréversibles (Yan et al., 2023).

II.2.6. Atténuation de la toxicité du chrome en agriculture durable

L'augmentation des niveaux de contamination au chrome (Cr) dans les écosystèmes, due à l'urbanisation et aux activités industrielles, suscite des préoccupations croissantes à l'échelle mondiale. Pour atténuer la toxicité du Cr, diverses approches sont envisagées, notamment l'utilisation de micro-organismes comme agents dépolluants, la stimulation chimique, la stimulation à base de nanoparticules, ainsi que des outils biotechnologiques. Les micro-organismes agissent en tant qu'épurateurs de métaux, tandis que certaines substances chimiques, telles que les hormones, le monoxyde d'azote (NO), le sulfure d'hydrogène (H_2S), les polyamines et certains ions, contribuent à réduire la toxicité des métaux lourds chez les plantes. Les méthodes biotechnologiques, telles que l'édition génomique, sont de plus en plus utilisées pour la remédiation des métaux lourds, notamment pour le développement de variétés de cultures tolérantes au chrome. Ces technologies présentent un fort potentiel pour des applications in situ, tant dans les pays développés que dans les pays émergents (Ali et al., 2023b).

.

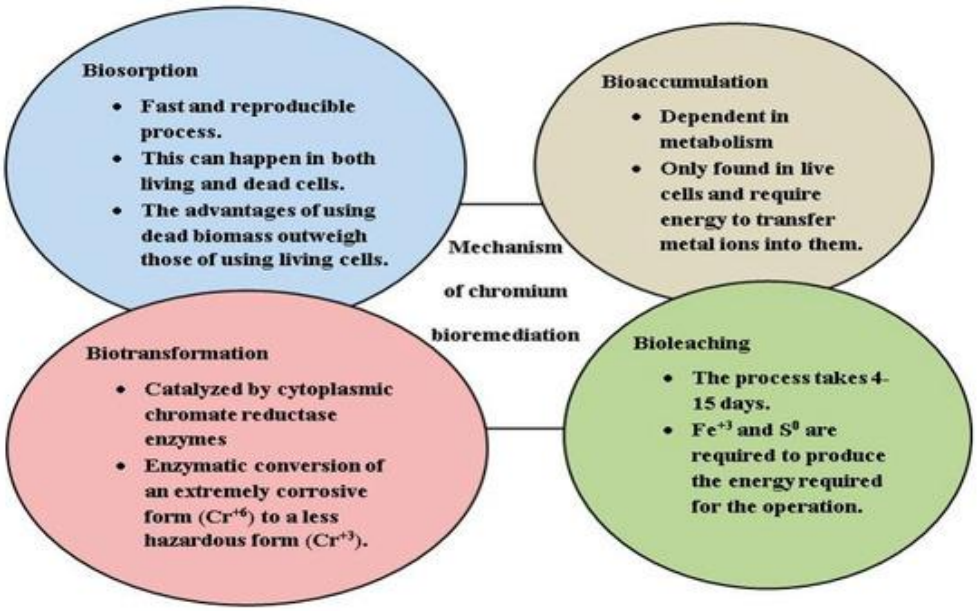


Figure 8. Atténuation de la pollution au Cr(VI) par l'action des micro-organismesLes micro-organismes mettent en œuvre divers processus tels que la biosorption, la bioaccumulation, la biotransformation et la biolixiviation pour éliminer le chrome des sol contaminés. Ils possèdent des mécanismes de résistance remarquables, notamment la séquestration extracellulaire et intracellulaire, la formation de barrières extracellulaires, le transport actif des ions métalliques, ainsi que la détoxification enzymatique. Ces caractéristiques font des micro-organismes des outils de remédiation particulièrement efficaces pour l'épuration des métaux lourds (Ali, Mir, Tyagi, Manzar, Kashyap, Mushtaq, Raina, Park, Sharma, Mir, et al., 2023b).

II.2.7. Mécanismes impliqués dans la phytoremédiation du chrome assistée par les microbes

L'emploi de microorganismes pour faciliter la phytoremédiation des métaux lourds attire une attention grandissante, grâce à leurs modes d'action directs et indirects. Les processus directs comprennent l'amélioration de la biodisponibilité, de la solubilité et de l'accumulation des métaux lourds et métalloïdes, provoquée par les microorganismes. Cependant, les méthodes indirectes comprennent l'optimisation microbienne de la croissance des plantes et duurs contre différents stress environnementaux, ce qui favorise l'accumulation de métaux lourds. Nous présentons ci-dessous une analyse détaillée de la façon dont les microorganismes améliorent les propriétés morfo-physiologiques et biochimiques des plantes pour lutter contre la toxicité du chrome (Cr) et participer à sa phytoremédiation, illustrée par la figure 9 (Qureshi et al., 2024).

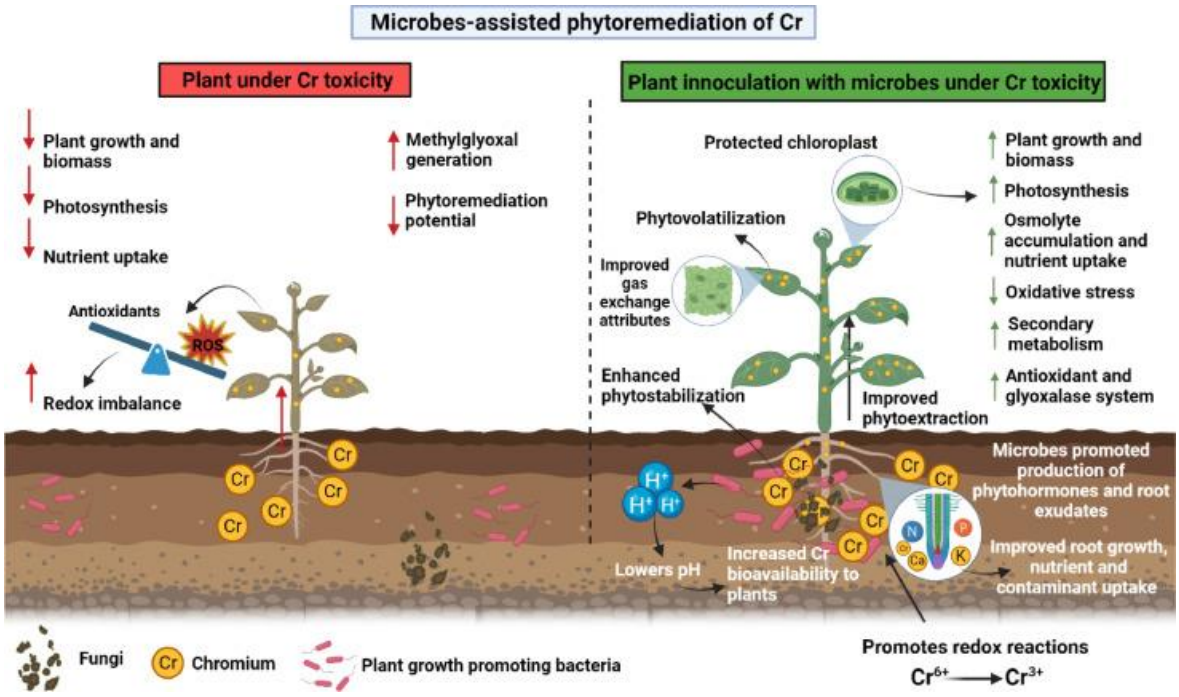


Figure 9.Représentation mécanistique de la phytoremédiation du chrome assistée par les microorganismes (Qureshi et al., 2024).

Troisième chapitre

L'interaction entre les plants et le stress métallique

II.3.1. Le Chrome dans les Plantes :

II.3.1.1. Absorption du Chrome :

L'itinéraire de l'assimilation du Cr par les plantes n'est pas encore parfaitement établi. Toutefois, en tant que composant non vital, le Cr n'a pas de processus d'absorption dédié et est également influencé par la forme chimique du Cr. L'assimilation du Cr(III) par les végétaux se fait de manière passive, c'est-à-dire qu'elle ne nécessite aucun effort énergétique de la plante. Concernant l'absorption du Cr(VI), elle est perçue comme un processus actif effectué par des transporteurs dédiés à l'absorption d'éléments essentiels comme le sulfate. Le Cr entre aussi en concurrence avec le fer (Fe), le soufre (S) et le phosphore (P) pour la liaison aux transporteurs. Le Cr(VI) présente une solubilité supérieure et, de ce fait, sa biodisponibilité est plus toxique à des concentrations moindres que le Cr(III), qui a tendance à créer des complexes stables dans le sol. Des résultats conflictuels ont été observés concernant l'absorption et la translocation du Cr(VI). Alors que certains écrivains soutiennent l'hypothèse que le Cr(VI) se transforme en Cr(III) à la surface des racines, d'autres avancent que le Cr(VI) en solution est assimilé par les végétaux sans passer par une réduction. Par conséquent, la toxicité du chrome est liée à sa spéciation qui joue un rôle crucial dans son absorption, sa translocation et son accumulation. Le Cr est nocif pour les plantes agricoles à des concentrations approximativement de 0,5 à 5,0 mg/L dans une solution nutritive et de 5 à 100 mg/g dans le sol. En conditions normales, les plantes présentent une concentration en Cr qui ne dépasse pas 1 µg/g (Oliveira, 2012).

II.3.1.2. Accumulation et Translocation du Chrome (Cr) :

Le Cr s'amasse essentiellement dans les racines et les tiges ; néanmoins, la plus grande partie est stockée dans les racines, tandis qu'une faible portion se déplace généralement vers les tiges. Sur les plants de pois exposés au Cr, une concentration croissante de Cr a été notée dans divers organes de la plante à mesure que l'approvisionnement en Cr augmente. L'accumulation de chrome dans les diverses parties de la plante s'effectue selon la séquence : racines > tige > feuilles > graine. Ces conclusions sont soutenues par diverses études, notamment celle de Huffman et Allaway [28] qui ont observé que les graines de haricot concentraient approximativement 0,1 % de Cr, alors que les racines en accumulaient 98 %. En outre, Liu et ses collaborateurs ont examiné A. viridis L. cultivé en hydroponie à différentes teneurs de Cr(VI) et ont découvert que l'accumulation du Cr se faisait principalement dans les racines. Une autre recherche réalisée par Vernay et al. Sur le Lolium perenne cultivé avec 500 µM de Cr(VI)

a démontré que les racines accumulaient dix fois plus de Cr que les feuilles. Les épinards (Spinacia oleracea L. cv. « Banarasi ») cultivés en présence de Cr(VI) ont démontré une concentration plus élevée de Cr dans les racines comparativement aux feuilles, tandis que la tige a affiché l'accumulation la plus faible. En outre, la majorité du chrome était concentrée dans les racines des jeunes plants de céleri cultivés en présence de Cr(III). Selon López-Luna et son équipe, les racines du blé, de l'avoine et du sorgho accumulent davantage de Cr que les tiges. Pourtant, malgré cette accumulation dans les racines, le Cr a été observé en translocation des racines vers les tiges chez le blé, l'avoine et le sorgho. De plus, Zayed et al. Ont réalisé des tests sur la translocation du Cr(III) et du Cr(VI) dans diverses cultures, découvrant que le transfert des deux formes de Cr des racines aux tiges était minime. Il était constaté que l'accumulation de Cr dans les racines était cent fois supérieure à celle observée dans les tiges, peu importe la forme du Cr. Toutefois, Skeffington et son équipe ont découvert que davantage de 51Cr était acheminé des racines vers les tiges lorsqu'on fournissait à la plante du Cr(VI), plutôt que du Cr(III). À des doses importantes de Cr (1 mM CrCl3), les racines ont amassé des concentrations très hautes de Cr et la migration s'est majoritairement effectuée vers les feuilles de cotylédon, avec une présence minime dans les hypocotyles. Chatterjee et Chatterjee ont aussi observé de faibles taux de déplacement du Cr des racines vers les tiges dans le chou-fleur (Brassica oleracea), cultivé sur du sable contenant 0,5 mM de Cr(III) (Oliveira, 2012).

Ces observations peuvent déduire que le Cr s'accumule principalement dans les racines, puis dans les tiges et les feuilles ; toutefois, seules de minimes quantités de Cr sont transférées aux feuilles. Il semble que ce schéma soit indépendant de la forme testée du Cr (Oliveira, 2012).

II.3.1.3. Plantes avec un potentiel de phytoremédiation de la contamination par le chrome

La phytoremédiation fait appel à des plantes hyperaccumulatrices pour l'extraction et la transformation de métaux nocifs, comme le Cr, en dérivés inoffensifs et fixes. Les plantes capables de hyperaccumulation du Cr peuvent concentrer plus de 1 000 mg de Cr par kg (en poids sec) dans leurs feuilles. Ces végétaux sont capables de résister à la présence de métaux grâce à la chélation par des ligands d'affinité élevée appropriés, la biotransformation via des réducteurs, et le compartimentage soit dans le cytoplasme, soit dans la vacuole. Par conséquent, le stockage du Cr dans les vacuoles des cellules racinaires végétales pourrait constituer un procédé essentiel de détoxification du Cr par la plante. On utilise couramment le coefficient de bioconcentration (FBC) et le coefficient de translocation (FT) pour mesurer la faculté des plantes à supporter et à concentrer les métaux lourds. Le FBC représente le ratio de la

concentration de métal dans le tissu végétal comparé au sol, tandis que le FT illustre le rapport de la concentration de métal entre les jeunes pousses et les racines. Les plantes ayant un FBC des pousses supérieures à 1 sont propices à la phytoextraction, tandis que celles ayant un FBC des racines supérieures à 1 et un FT inférieur à 1 ont la capacité d'assurer la phytostabilisation. La capacité d'absorption du Cr par divers organes de *Populus alba* et *Morus alba* a été évaluée par Rafati et son équipe. Les niveaux de Cr dans les feuilles sont supérieurs à ceux trouvés dans les tiges ou les racines. Toutefois, ni P. alba ni M. alba n'ont démontré de capacité à phytostabiliser le Cr, car elles avaient un FT > 1 et un FBC des racines < 1 ; ces végétaux ne conviennent donc pas à la phytoextraction non plus, étant donné que leur FBC était également < 1. Dans un autre travail de recherche, Gafoori et son équipe ont examiné la possible accumulation de métaux lourds, dont le Cr, dans *Dyera costulata*. Cette espèce a démontré une grande capacité à accumuler du Cr dans ses feuilles, indiquant qu'elle a un fort potentiel de phytoremédiation, étant donné qu'elle affiche un FT élevé et un faible FBC. *Pluchea* indica a également démontré une forte capacité de phytoremédiation, puisqu'elle a présenté un taux élevé d'accumulation de Cr et de déplacement vers les feuilles. Selon les recherches de Mellem et son équipe, Amaranthus dubius présente une tolérance à des niveaux élevés de Cr(VI), comme le montre un FBC supérieur à 2, ce qui indique un potentiel prometteur pour la phytoremédiation. Par ailleurs, Gardea-Torresdey et son équipe ont trouvé que *Convolvulus arvensis L.*, lorsqu'elle est exposée à une concentration de 20 mg/L de Cr(VI), Elle a démontré sa faculté à accumuler plus de 3800 mg de chrome par kilogramme de matière sèche, prouvant que cette espèce peut être employée dans la phytoremédiation des sols pollués par le chrome (VI). En outre, la teneur en Cr dans le feuillage (2100 mg/kg de matière sèche) laisse supposer que cette plante pourrait agir comme un hyperaccumulateur potentiel de Cr. *L'Ipomoea aquatica* est une plante qui absorbe énormément de chrome et ne manifeste aucun signe de toxicité lorsqu'elle est soumise à des concentrations élevées de Cr(VI). *I. aquatica* exhibe des propriétés d'absorption constantes jusqu'à 28 mg/L de Cr(VI), démontrant une réduction de plus de 75% du Cr(VI) introduit. Plus de 90% du Cr(VI) se dépose dans les tiges et les feuilles, autrement dit dans les zones aériennes (Oliveira, 2012).

Par ailleurs, Mant et son équipe ont observé que *Pennisetum purpureum* et *Brachiaria decumbens*, exposées à 20 mg/L de Cr(III), ont démontré une capacité d'élimination des métaux de 78% et 66% respectivement. Pour finir, Barbosa et son équipe ont découvert que Genipa americana a un potentiel pour la phytoremédiation du Cr(III) dans les bassins versants pollués.

En effet, ses jeunes plants peuvent absorber une grande quantité de Cr(III) à partir de la solution et possèdent une forte capacité à emprisonner et conserver le métal dans leurs racines (Oliveira, 2012).

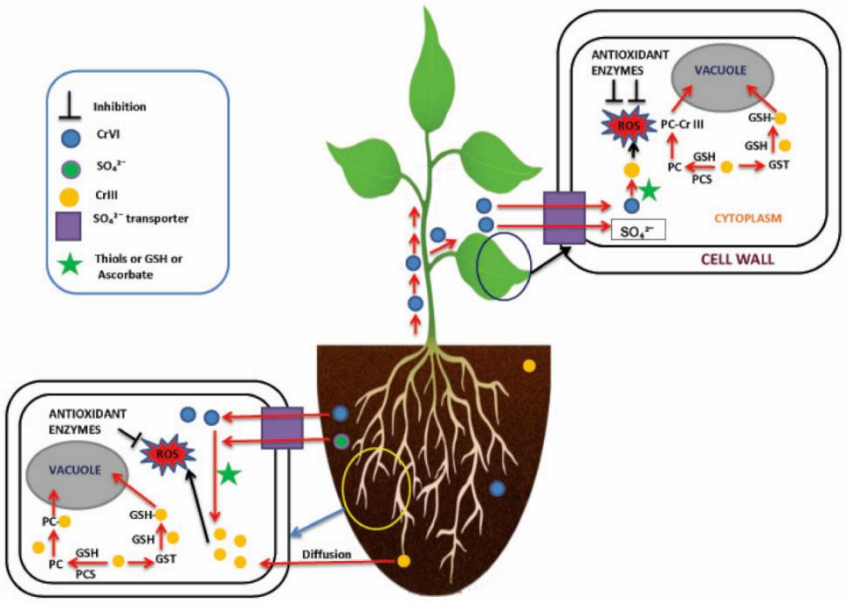


Figure 10. Modèle schématique illustrant l'absorption, la translocation et la détoxification du chrome chez les plantes (Dawood et al., 2025).

II.3.2. Toxicité du Cr et effet sur la germination des semences

Également évidents, se manifestant par des symptômes tels que le retard de la germination des graines, des racines endommagées et une réduction de la croissance racinaire, une biomasse réduite, une diminution de la hauteur des plantes, des troubles de la photosynthèse, des dommages membranaires, la chlorose des feuilles, la nécrose, un faible rendement en grains et, finalement, la mort de la plante.

Le Cr est un métal assez actif qui réagit facilement avec l'oxygène de l'environnement. Différents états d'oxydation du Cr ont été rapportés, allant de 0 à +6. Le chrome trivalent Cr(III) et le chrome hexa valent Cr(VI) sont les formes les plus stables du Cr dans la nature. De plus, le Cr(VI) présente une toxicité plus élevée que le Cr(III) en raison de sa plus grande solubilité et de sa mobilité dans le système aquatique

Les deux états de valence du Cr, c'est-à-dire Cr(III) et Cr(VI), sont absorbés par les plantes. Le Cr(VI) est activement absorbé par les cellules végétales via les transporteurs de sulfate. En revanche, le Cr(III) pénètre (Srivastava et al., 2021b).

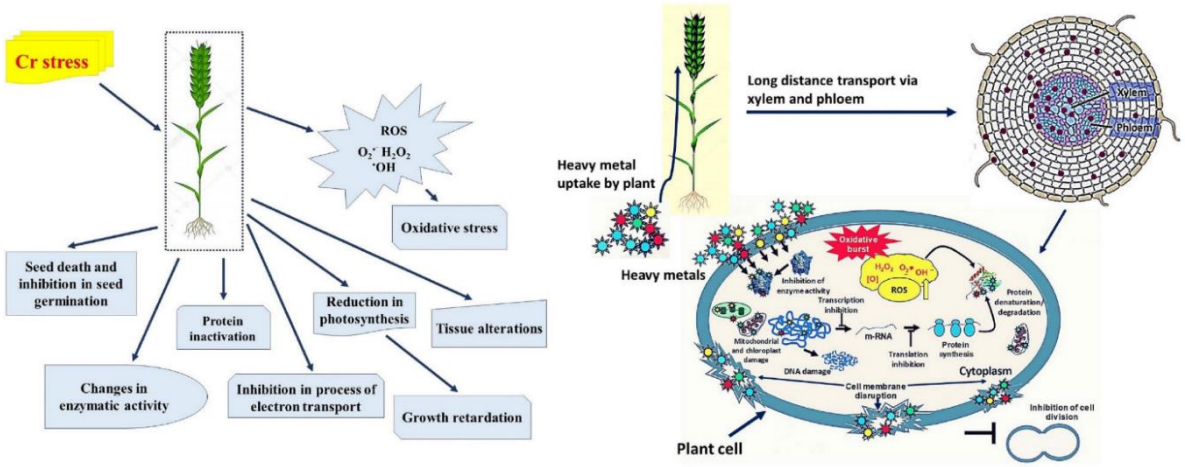


Figure 11. Représentation schématique de la séquestration du chrome (Cr) dans une cellule végétale jusqu'à la mort de la plante, en passant par une série d'événements.

La toxicité du Cr ralentit la photosynthèse en entravant l'établissement des plantules et la croissance racinaire, ce qui freine l'absorption des nutriments essentiels et de l'eau. De plus, la toxicité du Cr altère le contenu en pigments photosynthétiques dans les feuilles, entraînant généralement une chlorose et une nécrose foliaire. Par ailleurs, un stress élevé en Cr diminue l'intégrité membranaire, provoque la perte d'osmolytes et de la pression de turgescence cellulaire, ce qui conduit à la fermeture des stomates et affecte la régulation osmotique globale. En outre, la toxicité du Cr perturbe l'équilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et le système de défense antioxydant, entraînant une accumulation de ROS responsable de dommages oxydatifs aux organites cellulaires. La formation de ROS affecte l'ADN, la synthèse des protéines et des lipides, la peroxydation lipidique, l'activité enzymatique et la division cellulaire, ce qui conduit in fine à la mort des plantes (Zulfiqar, Haider, Ahmad, Hussain, Maqsood, Ishfaq, Shahzad, Waqas, Ali, & Tayyab, 2023).

II.3.3. Impact de la toxicité du chrome sur différents traits des plantes :

Le chrome (Cr) est toxique pour les plantes et engendre des répercussions néfastes sur divers aspects physiologiques, biochimiques et moléculaires, ce qui entrave leur croissance et diminue leur rendement global. D'après Dotaniya et al., une forte concentration de chrome dans les végétaux à un impact significatif sur la germination des graines et la croissance des racines et tiges, ce qui affecte par conséquent la biomasse globale et le rendement. De nombreuses recherches ont signalé qu'une accumulation importante de chrome dans les plantes à un effet délétère sur le taux de chlorophylle, entravant ainsi le processus photosynthétique. Des études antérieures ont prouvé qu'un surplus de chrome accumulé dans les tissus végétaux freine le cycle cellulaire, l'équilibre en eau et minéraux, l'activité enzymatique, l'assimilation d'azote, le système anti-oxydant ainsi que d'autres fonctions métaboliques cruciales. De plus, l'accumulation de chrome déclenche la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui sont à l'origine de dommages oxydatifs. Par exemple, l'accumulation de ROS entraîne la

peroxydation des lipides membranaires, ce qui altère la structure et le fonctionnement des membranes. Cette réaction affecte également les protéines et les acides nucléiques, provoquant des dommages aux éléments cellulaires qui mènent finalement à la mort cellulaire. De plus, l'accroissement des ROS entrave la capacité des plantes à réagir biochimiquement de manière adéquate, ce qui altère leur morphologie et leur structure. On a examiné les impacts cytotoxiques et génotoxiques du chrome sur diverses espèces végétales, y compris Vigna radiata, Nicotiana tabacum, Brassica juncea, Cicer arietinum, Brassica napus, Brassica oleracea, Sorghum bicolor et Zea mays. De plus, nous avons récapitulé les impacts du chrome sur diverses caractéristiques des cultures dans la Figure 12 (Ali et al., 2023a).

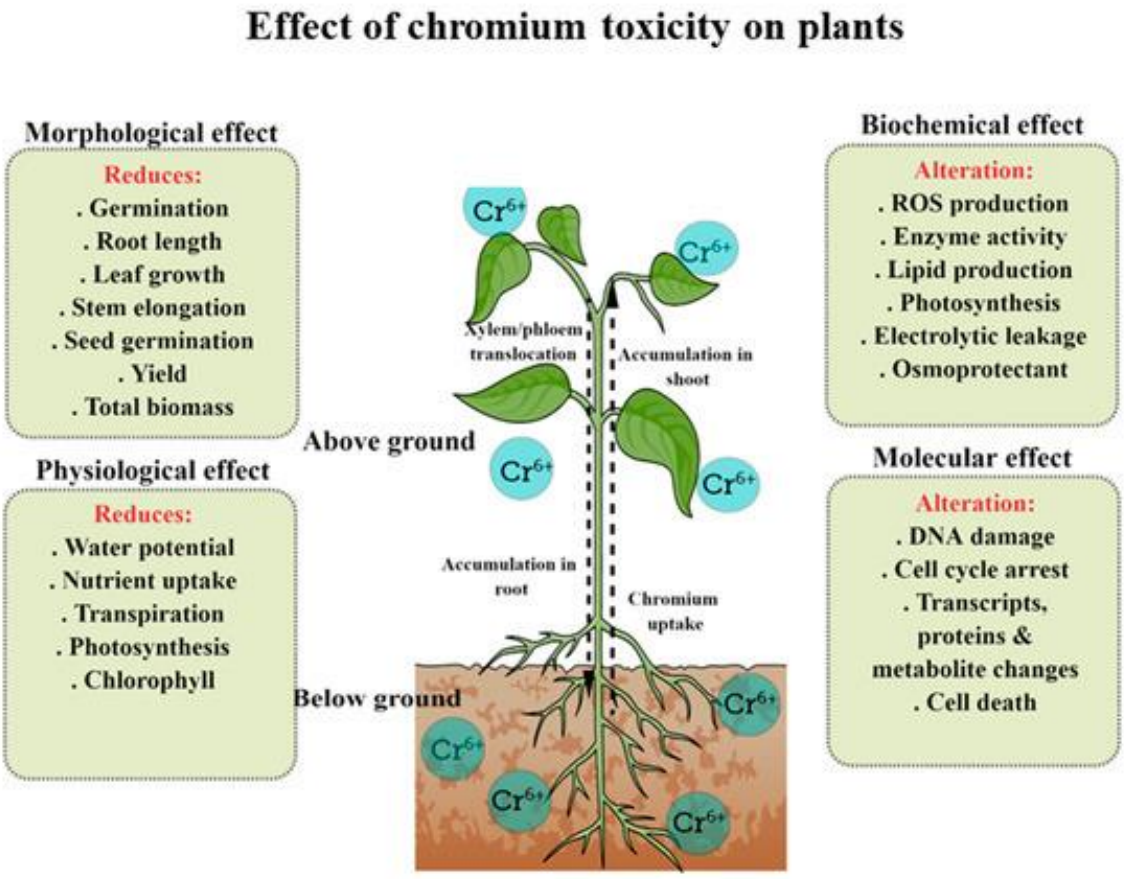


Figure 12. Effet de la toxicité du chrome (sous forme de Cr^{6+} ou de CrO_4^{2-}) sur divers traits morphologiques, physiologiques et biochimiques chez les plantes (Ali et al., 2023a).

II.3.4. Mécanismes moléculaires et transduction du signal dans la régulation du stress au chrome chez les plantes

Les plantes sont confrontées à des pressions environnementales telles que la pollution métallique, ce qui a conduit à l'évolution de mécanismes leur permettant de détecter, réagir et s'adapter. Elles déploient également des réponses de défense multidimensionnelles contre la toxicité des métaux lourds, notamment du chrome (Cr), via la complexation par des ligands organiques, la compartimentation vacuolaire et l'activation du système antioxydant. Ces réponses de défense sont modulées par une cascade de signalisations complexes impliquant divers composants cellulaires.

Cependant, les mécanismes moléculaires exacts régissant la translocation, l'accumulation, la phytotoxicité du Cr et les réponses défensives des plantes demeurent en grande partie inconnus. La perception du signal, sa transduction et la régulation post-traductionnelle sont essentielles pour permettre aux plantes de s'adapter aux stress biotiques et abiotiques. Les dynamiques moléculaires du signal lié au Cr, depuis l'extérieur de la cellule (paroi cellulaire) jusqu'à l'intérieur (membrane plasmique et cytosol), restent mal comprises et de nombreuses zones d'ombre subsistent.

Les approches multiomiques ont récemment révélé des reprogrammations transcriptionnelles, traductionnelles et métaboliques dans divers systèmes végétaux exposés au Cr, apportant ainsi de nouvelles perspectives sur la perception du Cr et la transduction du signal. Néanmoins, des études plus approfondies sont nécessaires pour comprendre pleinement les dynamiques moléculaires de la signalisation induite par le Cr chez les plantes, notamment le rôle des capteurs de la paroi cellulaire, des canaux membranaires et des cascades de signalisation intracellulaire dans différents compartiments cellulaires suite à une exposition au chrome (Ali et al., 2023b).

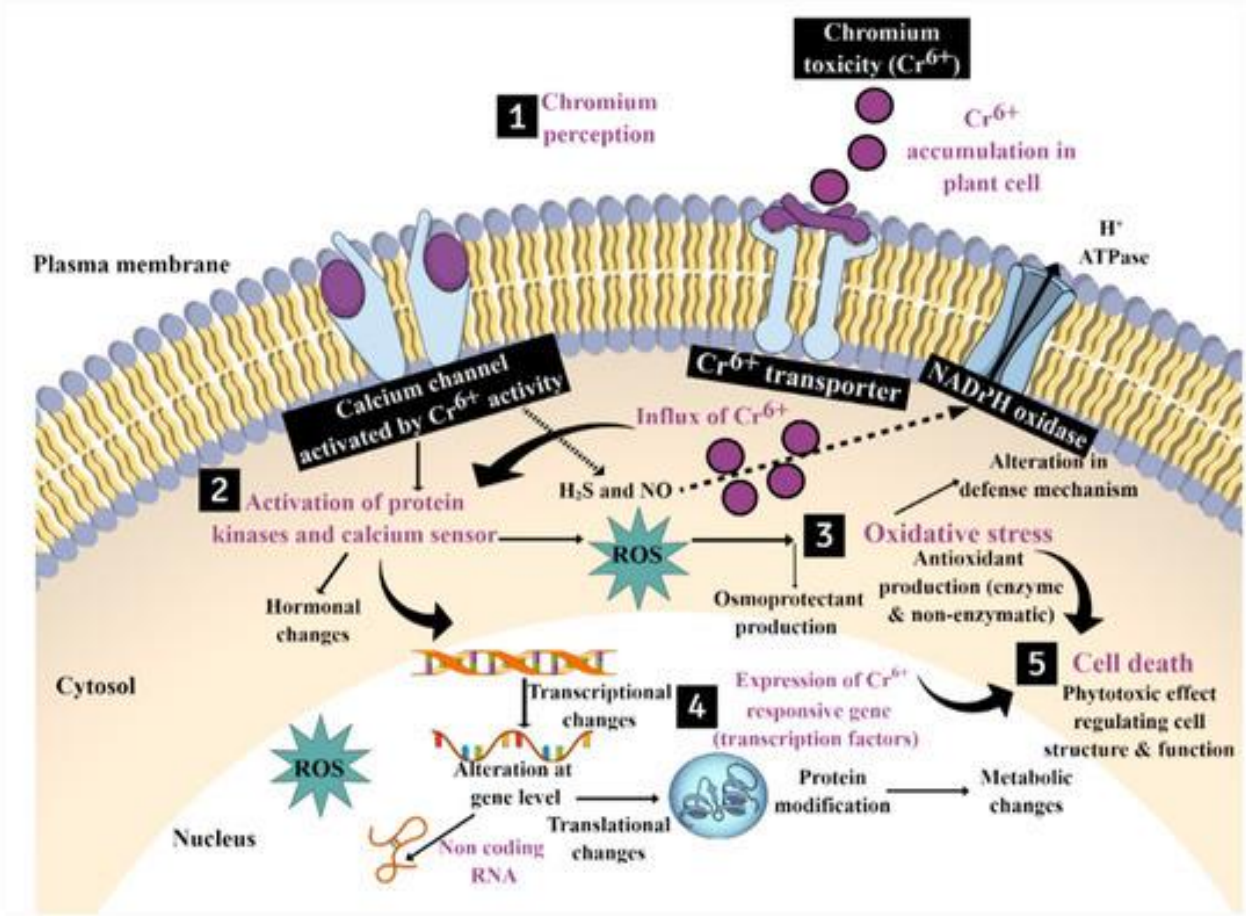


Figure 13. Modèle hypothétique illustrant la perception du chrome (Cr) et la transduction du signal chez les plantes (Ali et al., 2023b).

PARTIE 02

Partie expérimentale

CHAPITRE 01

Matériel et méthodes

Cette étude a été menée afin d'analyser les effets comparés et cumulatifs de l'application d'EPS et/ou de CHT dans l'atténuation des effets toxiques du stress induit par le Cr (VI) chez les plantules de tomate.

III.1.1. Préparation des régulateurs de croissance

III.1.1.1. Extraction d'EPS produite à partir de *Spirulina* sp.

Après 30 jours de culture, la biomasse microalgale a été récoltée en utilisant du papier filtre Whatman (grade 1). Pour l'extraction de l'EPS du milieu de culture usé, la méthode décrite par Wang et al. [27] a été suivi. En bref, le milieu de culture usé a été concentré en réduisant son volume à un dixième de l'original par A en utilisant un four à vide (modèle-126, SSSIW, Inde) à 30 ° C et l'EPS dissous a été séparé du milieu concentré en utilisant de l'éthanol glacial (95% V / V) trois fois le volume du milieu. Le mélange a ensuite été conservé dans un réfrigérateur pendant une nuit et l'EPS précipité a été récupéré par centrifugation à 8000 tr / min pendant 15 min à 4 °C. Le précipité a été redissous dans de l'eau ultra-pure suivie d'une dialyse en utilisant une membrane de 14 kDa (pour le dessalement) et de la lyophilisation. L'EPS brut ainsi obtenu a été stocké au réfrigérateur pour une utilisation future (Chaudhuri & Balasubramanian, 2023).

III.1.1.1.1. Analyse FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)

L'analyse FTIR de l'exopolysaccharide (EPS) extrait de Spirulina platensis a été réalisée pour identifier les groupes fonctionnels présents. L'échantillon d'EPS purifié a d'abord été séché à 40–50 °C pendant 24 h, puis broyé finement à l'aide d'un mortier. Environ 1 mg d'échantillon a été homogénéisé avec 100 mg de bromure de potassium (KBr) sec (qualité spectroscopique), et le mélange a été compressé en pastille transparente à l'aide d'une presse hydraulique à 10 tonnes pendant 2 à 3 minutes. L'analyse a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre FTIR (mode transmission) dans la gamme spectrale de 4000 à 400 cm^{-1}, avec une résolution de 4 cm^{-1} et 32 balayages. Un spectre de fond a été acquis avec du KBr pur. Les pics d'absorption caractéristiques ont été analysés : les bandes larges autour de 3372 cm^{-1} indiquent les vibrations d'élongation O–H, les pics vers 2924 cm^{-1} ceux des groupes C–H, un pic autour de 1650 cm^{-1} révèle la présence de groupes carbonyles (C=O) d'acides uroniques ou d'amides, et les bandes intenses entre 1000 et 1200 cm^{-1} correspondent aux liaisons C–O et C–O–C des polysaccharides. Une bande vers 554 cm^{-1} pourrait indiquer la présence de groupes sulfatés ou d'interactions métal-oxygène.

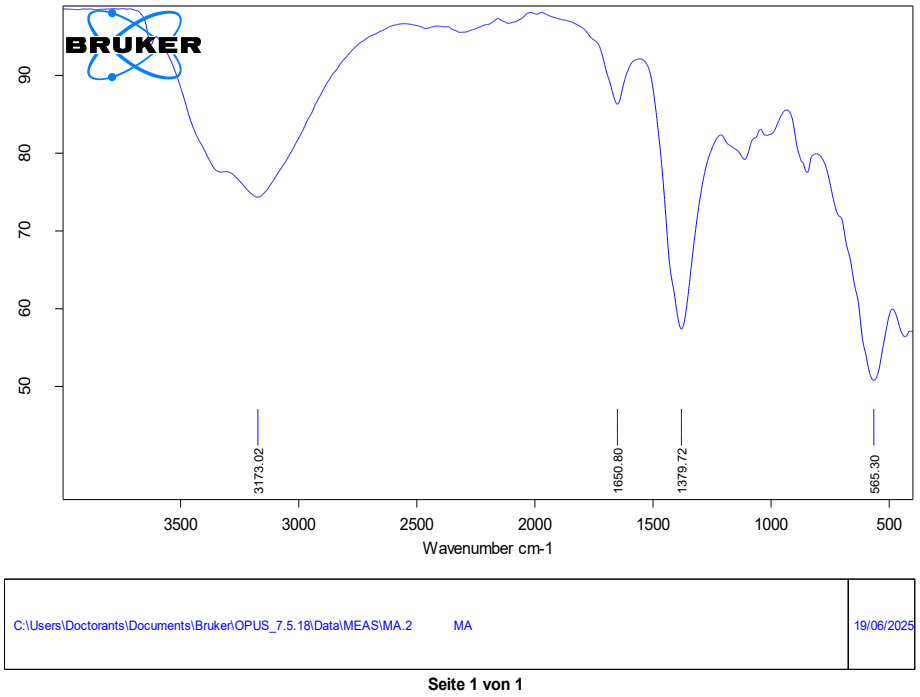


Figure 14 : Spectre FTIR du polysaccharide exopolymère (EPS) extrait de *Spirulina platensis*. Le spectre présente des pics caractéristiques des groupes fonctionnels hydroxyle, carbonyle, carboxyle et glycosidique, soulignant la structure polysaccharidique et les propriétés potentielles de chélation des métaux de l'EPS.

Tableau 02 : Interprétation FTIR de l'EPS extrait de *Spirulina platensis.*

Nombre d'onde (cm^{-1})	Attribution	Interprétation
3372,02	Élongation O–H	Large bande typique des groupes hydroxyles dans les polysaccharides (–OH des alcools et de l'eau). Indique une forte liaison hydrogène.
2924,00	Élongation C–H	Élongation asymétrique des groupes CH_2 aliphatiques — communs dans les cycles des sucres.
1650,09	Élongation C=O (amide I ou acide uronique)	Suggère la présence de structures protéiques ou de résidus d'acides uroniques, impliqués dans la chélation des métaux.
1377,12	Flexion C–H	Caractéristique des groupes $–CH_3$ ou $–CH_2$ dans les chaînes polysaccharidiques.
1055,39	Élongation C–O–C et C–O	Pic fort représentant les liaisons glycosidiques des polysaccharides (empreinte typique des unités de sucres).
554,39	Torsion S=O ou vibration métal–oxygène	Peut indiquer la présence de groupes sulfatés ou d'interactions avec des ions métalliques (par exemple, Cr^{6+}).

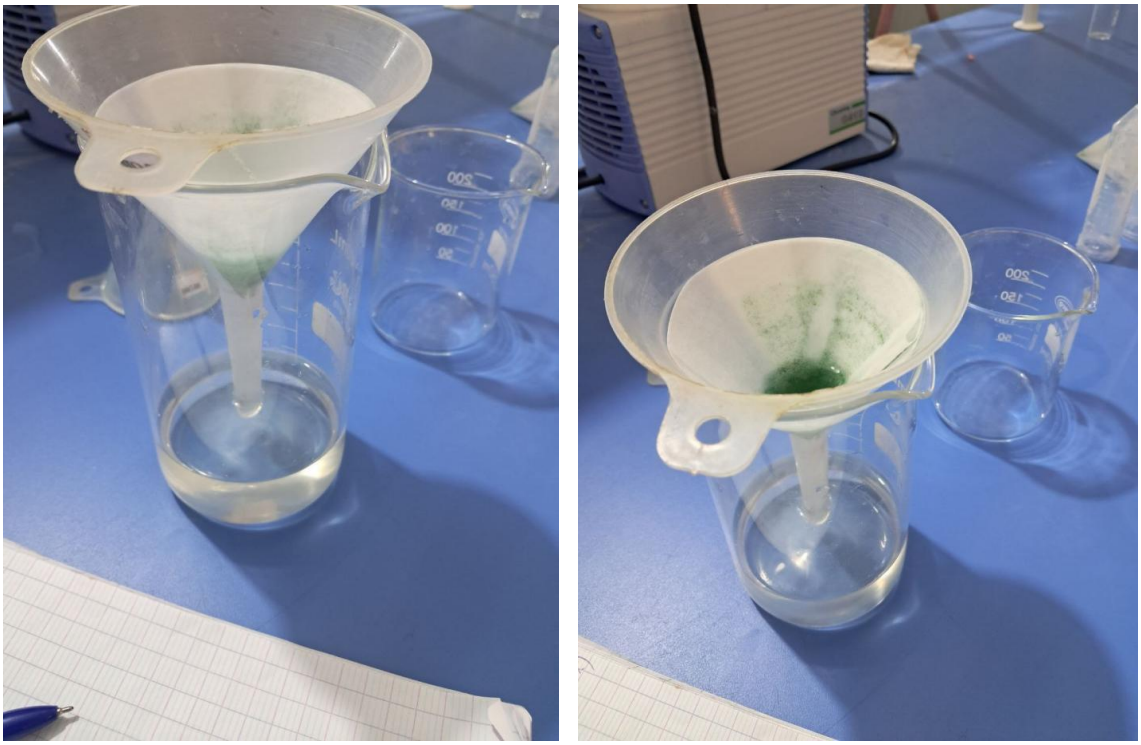


Figure 15. La filtration de la souche bactérienne (*spiruline*).



Figure 16. Les exopolysaccharides extrait avant et après le séchage.

III.1.1.2. Préparation de chitosane (CHT)

Le chitosane est un dérivé désacétylé de la chitine, dans lequel le groupe N-acétyle est remplacé par un groupe amine. Alors que la cellulose contient un groupe hydroxyle, la chitine et le chitosane possèdent respectivement un groupe acétyle et un groupe amine. Le chitosane est couramment utilisé dans de nombreux domaines, tels que l'industrie cosmétique, l'agroalimentaire, l'agriculture, les dispositifs médicaux et la pharmaceutique. Cette polyvalence s'explique par sa solubilité dans les milieux aqueux ou légèrement acides. Par ailleurs, le chitosane partage de nombreuses propriétés avec la chitine, ce qui en fait un composé largement privilégié pour des applications diverses (Arbia et al., 2024).

Les carapaces de crabe ont été soigneusement lavées à l'eau du robinet afin d'éliminer les débris et les tissus résiduels. Après séchage au soleil, elles ont été broyées puis immergées dans une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 9 %, selon un rapport de 1:14 (p/v), pendant 40 heures à température ambiante. Ensuite, les carapaces ont été traitées avec une solution de soude (NaOH) à 5 %. Les échantillons neutralisés ont été à nouveau séchés au soleil pendant deux jours, puis réduits en poudre. La chitine obtenue sous forme poudreuse a été soumise à des analyses qualitatives et quantitatives. La désacétylation a été réalisée à l'aide d'une solution de NaOH à 70 %, dans un rapport de 1:15 (p/v), pendant 72 heures à température ambiante. Le mélange a ensuite été filtré et séché au four à 80 °C pour obtenir du chitosane en poudre (Sujeetha M et al., 2015).

La solution de chitosane a été préparée en dissolvant le chitosane dans une solution d'acide acétique à 1 % (v/v). Les concentrations souhaitées pour l'application sur les pantules ont été obtenues par dilution de la solution mère avec de l'eau distillée, conformément au protocole décrit par Kheiri et al (Jamali et al., 2018).

III.1.2. Produits chimiques et réactifs

III.1.1. 2. Milieu nutritif

Les plantes ont été disposées dans un milieu nutritif de Hoagland comprenant des micronutriments (mg L^{-1}) et des macronutriments (g L^{-1}). Voici les détails de la composition du milieu nutritif à concentration maximale (Van Delden et al., 2020).

Tableau 1: Les compositions du milieu nutritif de Hoagland.

Micronutriments (produits chimiques mg L^{-1})	**Macronutriments (produits chimiques mg L^{-1})**
Acide borique (H_3BO_3) : 1.430	Nitrate de calcium ($Ca(NO_3)_2$) : 0,271
Chlorure de manganèse ($MnCl_2.4H_2O$) : 0,910	Nitrate de potassium (KNO_3) :0,126
Sulfate de zinc ($ZnSO_4.7H_2O$) : 0,110	Sulfate de magnésium ($MgSO_4.7H2O$) :0,123
Sulfate de cuivre ($CuSO_4.5H_2O$) : 0,045	Phosphate monopotassique (KH_2PO_4) :0,034
Molybdate de sodium (Na_2MoO_4) : 0,045	
Chlorure ferrique ($FeCl_3$) : 9.680	
Acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) : 30.000	

III.1.3. Dispositif expérimental et traitement

Les plantules de tomate (*S. lycopersicum* L. Cv Tomate Marmande) ont été fournis par la pépinière de ELSALEM, KARYAT HAJI, HTATBA, de la wilaya de BLIDA. Les semis de tomates de vingt jours ont été exposés à différentes concentrations d'EPS et de CHT, comme biostimulants, dans un prétest pour obtenir la concentration optimisée pour l'expérience principale. Pour évaluer l'impact des deux stimulants susmentionnés dans la réduction de l'effet négatif de la Cr sur les semis cultivés dans une demi-force Hoagland, une expérience de conception complètement randomisée (CRD) a été réalisée avec huit réplications contenant cinq semis dans chacun dans une condition in vitro. Les traitements comprenaient le contrôle (sans biostimulants et Cr), EPS (200 mg / L), CHT (20 mg / L), Cr (100 µm), EPS + Cr, EPS + CHT, CHT + Cr et EPS + CHT + Cr. Au cours de l'expérience, les semis traités et les témoins non traités au Cr ont été cultivés dans un cycle nocturne de 16 h jour / 8 h à température nocturne de 18 ± 2 ◦C et une température jour de 25 ± 2 ◦C.



Figure 17. Des figure indiquant les huit groupes expérimentales et l'application du stress, les plantules témoins CK, les plantules traitées uniquement à l'EPS. Les plantules traitées à CHT, des plantules traitées à l'EPS exposée au stress Cr, des plantules traitées à l'EPS exposée au stress Cr, des plantules traitées à EPS et CHT exposées au stress Cr.

III.1.4. Analyse de la croissance et des caractéristiques morphologiques

Cinq plantules de tomate présentant une croissance uniforme ont été sélectionnés au hasard, nous mesurons la biomasse fraîche de la partie aérienne et de la partie racinaire. Ensuite, les semis ont été mises dans une étuve à 70 °C pour mesurer le poids sec. Les poids frais et secs des plantules de chaque traitement ont été mesurés à l'aide d'une balance de précision. Les caractéristiques morphologiques telles que la hauteur des partie aérienne et la longueur des racines ont été relevées à l'aide d'un pied à coulisse (Singh et al., 2017).



Figure 18. La partie aérienne et la partie racinaire des plantules de tomate pour mesurés la biomasse et la longueur.

III.1.5. Analyses physiologiques

5.1. Extraction et estimation de la teneur en pigments photosynthétiques : chlorophylles (Chl) :

Nous pesons 0,1 g de feuilles fraîches de chaque plantule des échantillons traités et non traités ont a été découpé et fragmenté en petits morceaux, puis homogénéisé dans 5 mL d'acétone à 80 % (v/v). L'extrait obtenu a été conservé dans un tube à essai pendant 24 heures à l'obscurité. Ensuite, l'extrait a été centrifugé à 6000 tours par minute pendant 10 minutes. Le surnageant a été récupéré, et les pigments photosynthétiques (chlorophylle a, chlorophylle b) ont été quantifiés aux longueurs d'onde de 663 nm et 645 nm respectivement, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-1900 (Arnon, 1949).

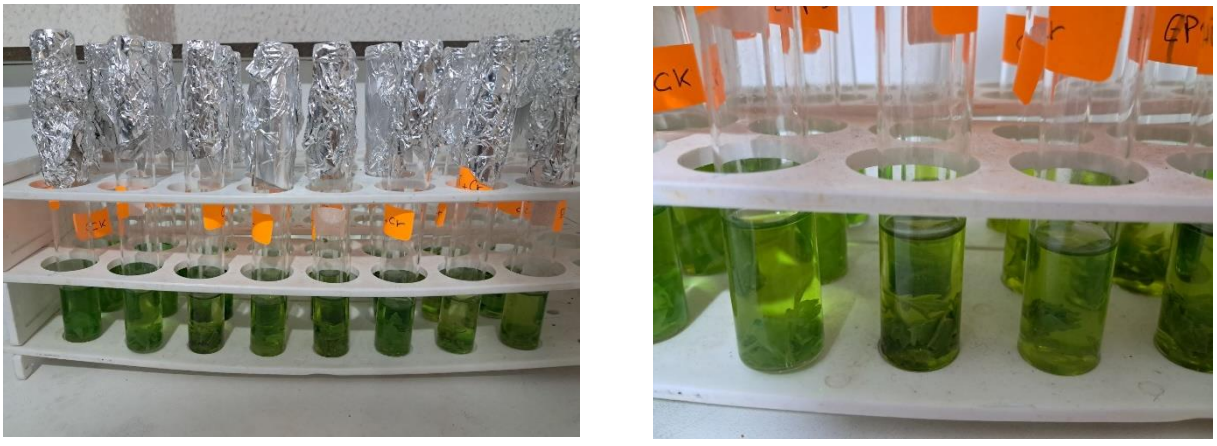


Figure 19. Extraction et estimation de la teneur en pigments photosynthétiques chlorophylles (Chl).

III.1.6. Analyses biochimiques

III.1.6.1. Indices de dommages oxydatifs

On a homogénéisé 0,1 g de feuilles fraîches dans 2 ml de TCA (0,1%) afin de mesurer la concentration en H_2O_2 et le MDA. Le mélange préparé a subi une centrifugation à 12 000 g pendant un quart d'heure à une température de 40°C.

III.1.6.1.1. Malondialdéhyde (MDA)

Le niveau de peroxydation lipidique dans les feuilles de tomate a été mesuré par la quantification du malondialdéhyde (MDA) produit par l'acide thiobarbiturique (TBA), afin d'évaluer les dommages membranaires, selon la méthode modifiée de Gupta et al. (2018). Le surnageant (500 µL) a été mélangé à 1 mL de solution aqueuse de TBA à 0,67 %, puis incubé pendant 30 minutes dans un bain-marie à 90 °C. Après incubation, le mélange a été immédiatement refroidi dans un bain de glace, puis centrifugé à 10 000 × g (4 °C) pendant 10 minutes. L'absorbance du surnageant obtenu a été mesurée à 440, 532 et 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV (Heath & Packer, 1968) .

III.1.6.1.2. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

La teneur en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) dans les feuilles de tomate a été déterminée par spectrophotométrie selon une méthode modifiée de Velikova et al. (2000). Un volume de 0,5 ml de surnageant a été mélangé avec 0,5 ml de tampon phosphate de potassium 10 mM (pH 7,0) et 1 ml d'iodure de potassium (KI) à 1 M, puis incubé à l'obscurité pendant 1 heure à température ambiante. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 390 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV (Velikova et al., 2000).

III.1.6.2. Estimation du système de défense des antioxydants enzymatique

0,1 g de tissu foliaire a été pesé, et une suspension homogène a été préparée dans un tampon PPB, puis on a procédé à une centrifugation à 12 000 g (4°C) pendant 12 minutes (Bradford, 1976).

III.1.6.2.1. Activité de catalase (CAT)

L'activité de la catalase a été mesurée selon la méthode décrite par Gupta et Datta (2003).

Réactifs

- Tampon de phosphate (pH 7.0) : 50 mM
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Procédure

Le milieu réactionnel a été préparé en utilisant 2600 µl tampon de phosphate (50 mM), 300 µl H_2O_2 (150 mM) et 100 µl de surnageant (extrait enzymatique). L'absorbance de la solution a été enregistrée à 240 nm pendant 3 minutes (Aebi, 1984).

III.1.6.2.2. Activité de l'acrobate peroxydase (APX)

L'activité de l'ascorbate peroxydase a été analysée selon la méthode de Nakano et Asada (1981).

Réactifs

- Tampon de phosphate 50Mm (7.0)
- Acide ascorbique (0.5mM)
- Peroxyde hydrogène (1mM)

Procédure

Un volume de 200 µL d'extrait enzymatique a été ajouté à un mélange réactionnel contenant : 1 ml de tampon phosphate de potassium 50 mM (pH 7,0), 200 µL d'acide ascorbique 5 mM, 200 µL d'EDTA 1 mM, et, en dernier, 200 µL de H_2O_2 1 mM pour initier la réaction. La diminution de l'absorbance a été mesurée à 290 nm pendant 3 minutes (Nakano & Asada, 1981).

III.1.6.2.3. L'activité de l'enzyme de PAL :

Mesurer l'activité de l'enzyme PAL qui catalyse la désamination de la L-phénylalanine en acide transe-cinnamique et ammoniac.

Réactifs

- Tris Hcl buffer (0.5mM)
- L-phénylalanine (165.19g /mol)
- Acide Trichloracétique TCA

Procédure

Pour préparation d'une solution de TCA à 25% en peser 2.5g de TCA pur et verser dans un bécher contenant environ 8ml d'eau distillée, mélanger jusqu'à dissolution complète après compléter avec l'eau distillée jusqu'à 10ml. Le mélange réactionnel comprenait 900ul L-phénylalanine (6mM) et 100ul surnageant, nous avons mis à incubateur à 37c pendant 1heur, une fois que nous avons récupéré on ajoute 50ul de TCA. L'absorbance de la solution préparée a été pris à 290nm (Sánchez-Rodríguez et al., 2011) .

III.1.6.2.4. Estimation de la protéine :

Procédur

Du bleu brillant de Coomassie G-250 (10 mg) a été dissous dans 5 ml (95 %) d'éthanol et 10 ml d'acide O-phosphorique (85 % p/v) ont été ajoutés, puis le volume total a été porté à 100 ml avec de l'eau distillée. La solution a été filtrée sur du papier filtre Whitman n° 1 et conservée dans un flacon sombre à température ambiante. Le mélange réactionnel comprenait 1ml réactif de Bradford et 0.2ml de surnageant et mélanger bien après mettre dans incubateur 25c pendant 5min. L'absorbance de la solution préparée a été pris à 595nm par apport à un blanc (l'eau distillée).

III.1.6.2.5. Activités du gaïacol peroxydase :

L'activité du gaïacol peroxydase dans chaque ensemble a été estimée selon (Zhang et al. 1992).

Réactif

- Tampon de phosphate (50mM)
- Pyrogallol (0.1mM)
- Peroxyde hydrogène (12.3mM)

Procédure

Le mélange réactionnel a été préparé en utilisant 500ul solution de pyrogallol (0.1mM), 500ul H_2O_2 (12.3mM), 1900ul tampon de phosphate (50mM) et 100ul extrait enzymatique après dans incubateur 5min à 25%, une récupéré en ajoute 1ml H2SO4 (2.5N). L'absorbance de la solution préparée a été pris À 420nm (Cakmak & Marschner, 1992).

III.1.6.3. Métabolites secondaires

On a homogénéisé 0,1 g de feuilles fraîches à l'aide de 2 ml d'une solution de méthanol à 80% refroidie, puis on a procédé à une centrifugation à 8 000 g (4°C) pendant 10 minutes. Le méthanoïque extrait des feuilles a servi à établir les caractéristiques phénoliques et la concentration en flavonoïde**s.**

III.1.6.3.1. Détermination de la teneur totale en composés phénoliques

La teneur totale en composés phénoliques (TPC) a été déterminée à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu, selon la méthode décrite par Singleton et al. (1999). Le protocole d'analyse a été réalisé comme suit : 250 µL du surnageant ont été mélangés à 250 µL de réactif de Folin-Ciocalteu, 2,5 mL de carbonate de sodium, et 0,5 mL d'eau déionisée. Le mélange a été incubé à l'obscurité pendant 2 heures. L'absorbance du surnageant a ensuite été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (Singleton & Rossi, 1965). L'estimation quantitative des composés phénoliques a été réalisée à l'aide de la formule suivante : Teneur en composés phénoliques = (O.D – 0,123) / 0,0095.

III.1.6.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur totale en flavonoïdes a été estimée selon la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium, telle que décrite par Zhishen et al. (1999). Une aliquote de 0,5 mL de l'extrait de feuilles a été diluée avec 2 mL d'eau distillée (H_2O), puis mélangée avec 0,15 mL de nitrite de sodium ($NaNO_2$) à 5 %. Après une incubation de 5 minutes à température ambiante, 1,5 mL de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 10 % a été ajouté au mélange, suivi d'une nouvelle incubation de 6 minutes. Ensuite, 1 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH) 1 M a été ajouté, et le mélange a été agité soigneusement. L'absorbance a été mesurée à 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Zhishen et al., 1999). La teneur totale en flavonoïdes a été calculée à l'aide de la formule suivante : (en mg d'équivalents de rutine (ER) par gramme) = (Abs_{510} + 0,0313) / (0,0033 × V × PSv).

III.1.6.4. Les antioxydants non enzymatiques

0,1 g de matière a été homogénéisé dans 2 ml d'acide sulfosalicylique aqueux à 5% (p/v), puis centrifugé à 10 000 × g pendant 10 minutes, et le surnageant a été recueilli.

III.1.6.4.1. Estimation de la teneur en proline

Un échantillon de 0,25 g de feuilles fraîches a été extrait dans 5 mL d'acide sulfosalicylique à 3 %. Les extraits ont été filtrés, puis 1 mL de filtrat a été mélangé avec : 1 mL de solution de ninhydrine acide, et 1 mL d'acide acétique glaciale, dans un tube à essai. Les échantillons ont été incubés à 100 °C pendant 1 heure, puis rapidement refroidis dans un bain de glace (Bates et al., 1973). Ensuite, 2 mL de toluène ont été ajoutés. Le mélange a été vortexé, et le chromophore ainsi formé a été utilisé pour la lecture de l'absorbance à 520 nm, selon la méthode de Bates et al. (1973).

III.1.6.4.2. Glutathion Réduite (GSH)

La teneur en GSH a été déterminée selon la méthode décrite par De Vos et al. (1992). Les thiols ont été extraits par homogénéisation de 0,2 g d'échantillon dans 2 mL d'acide sulfosalicylique à 5 %, puis centrifugés à 10 000 × g pendant 15 minutes à 4 °C. Pour la détermination de GSH, le mélange réactionnel comprenait : 0,2 mL du surnageant, 0,15 mL de 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoïque acide) (DTNB) à 10 mM, et un tampon Tris–HCl 0,2 M (pH 8,2). Après incubation du mélange réactionnel pendant 20 minutes, l'absorbance a été mesurée à 412 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Anderson, 1985).

III.1.6.5. Analyse statistique

Les résultats d'expériences qui ont été répétés au moins trois fois ont été analysés par analyse unidirectionnelle de variance (ANOVA) en utilisant SPSS 26.0, et les différences intra-groupes ont été évaluées en utilisant le test de Duncan ($P < 0,05$).

CHAPITRE 02

Résultats

III.2.1. Paramètres liés à la croissance

Dans cette étude, nous avons évalué les paramètres de croissance des plantules de tomate (*Solanum lycopersicum* L) afin de déterminer l'impact du chrome (Cr) et d'examiner les effets protecteurs potentiels de l'EPS et de la chitosane (CHT) dans un environnement in vitro. Comme le montre la figure 20 (A et B), le chrome a significativement altéré la croissance et la morphologie des plantules. Sous l'effet du Cr, on a observé une réduction de 48,17 % de la longueur de la partie aérienne et de 39,30 % de la longueur des racines par rapport au témoin.

Par ailleurs, l'application combinée d'EPS et de CHT en présence de Cr a permis d'améliorer la longueur de la partie aérienne, sans différence significative par rapport au témoin. De plus, la longueur des racines s'est améliorée sous stress au Cr avec l'utilisation de CHT et de EPS, comparativement aux plantules soumises aux Cr. Voire la (Fig.20.A).

Les résultats de cette étude ont montré que le Cr a induit une diminution du poids frais dans la partie aérienne et racinaire des plantules de tomate, respectivement de 57,63 % et 48,61%, par rapport au groupe témoin, Comme illustré à la (Fig.20.C et D).

Cette recherche a démontré que le Cr a provoqué une réduction du poids sec de la partie aérienne et des racines des plantules de tomate, qui étaient respectivement de 70,82 % et 56,88 %, en comparaison au groupe de contrôle, comme le montre la (Fig.20.E et F).

Toutefois, l'application de l'EPS a significativement atténué les effets négatifs de la Cr, en augmentant le poids frais de la partie aérienne de 23,30 % par rapport aux plantes soumises aux Cr (Fig.20.C). De même, l'application de EPS+CHT+Cr a permis de contrer significativement les effets délétères de la Cr, en augmentant le poids frais de partie racinaire à 25,21 % (Fig.20.D).

Notamment, l'application de CHT et de l'EPS a significativement augmenté le poids frais de la partie aérienne chez les plantules de tomate**,** en conditions normales par rapport aux plantules soumises aux Cr, De façon similaire ils ont minimisé les effets du chrome. (Fig.20.C).

Globalement, le traitement des plantules avec du CHT et de L'EPS a non seulement amélioré les paramètres de croissance, mais a également permis de minimiser les effets délétères de Cr.

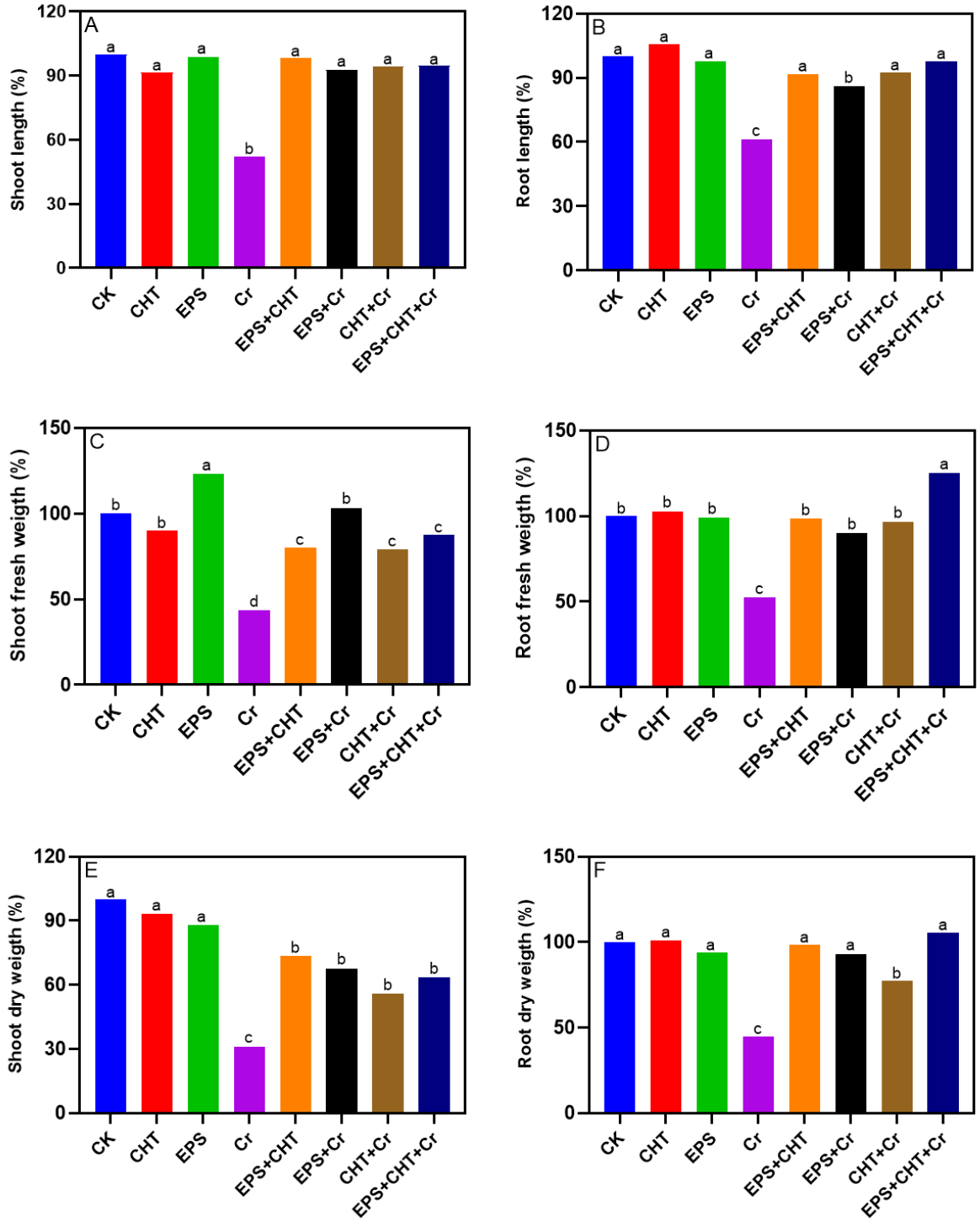
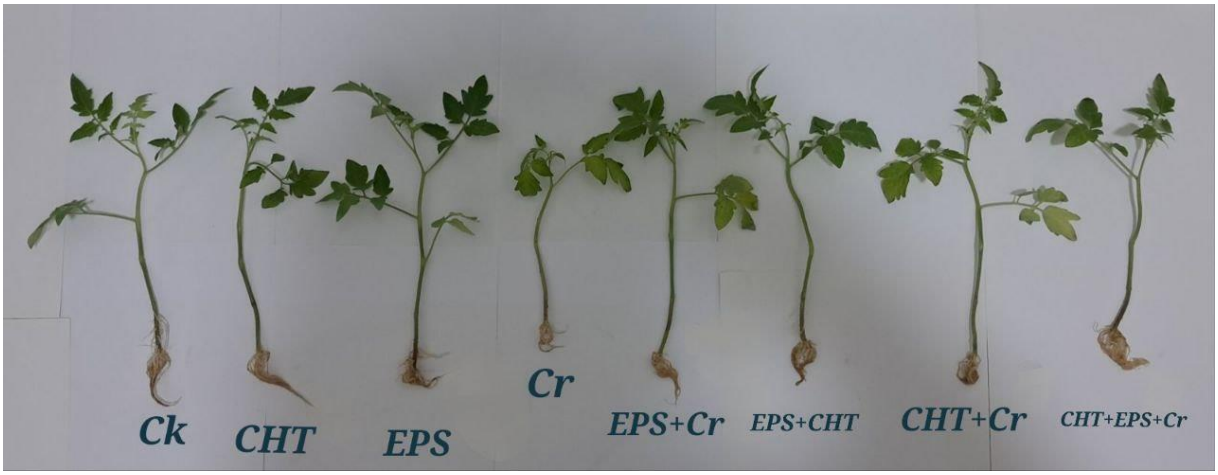


Figure 20. Les variations de la croissance des plantules et les caractères morphologiques des plantules de tomate (*Solanum lycopersicum* L) cultivées dans des conditions témoins, sous stress de chrome (Cr), ainsi qu'avec les traitements à l'exopolysaccharide (EPS) et à chitosane (CHT).





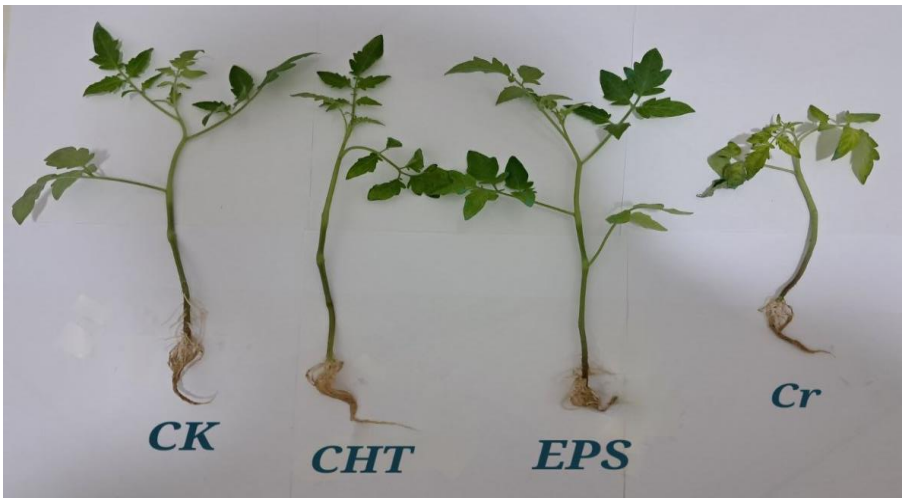


Figure 21. Les phénotypes des plantules de tomate, ont été observés dans des conditions témoins, bien irriguées, et soumises à un stress Cr, ainsi qu'avec traitements d'EPS et le CHT.

III.2.2. Effet Du chrome (Cr) sur le contenu en chlorophylle et le rôle des exopolysaccharides (EPS)

Les effets interactifs de chrome et des traitements ont exercé une influence significative sur les teneurs en chlorophylle a, chlorophylle b, (Fig.22). En conditions normales, l'application d'EPS, de CHT, ainsi que leur combinaison, a conduit à des concentrations pigmentaires maximales par rapport aux plantes non traitées. Le stress lié au Cr a entraîné une diminution significative de la teneur en Chlorophylle a de 37,51 %, et en Chlorophylle b de 30,45 %, par rapport au témoin (CK). Cependant, d'augmentation ont été observés dans les plantules traitées par EPS et CHT par rapport aux plantules soumises aux Cr (Fig.22.A et B). L'EPS et le CHT et leur combinaison a minimisé les effets délétères du chrome en EPS+Cr à 23,33 %, en CHT+Cr à 20,17 %, et en EPS+CHT+Cr à 21,87 %. (Fig.22.A), et pour la chlorophylle b, en EPS+Cr à 27,53 %, en CHT+Cr à 22,97 %, et en EPS+CHT+Cr à 22,85 %, par rapport aux plantules exposé aux Cr (Fig.22.B).

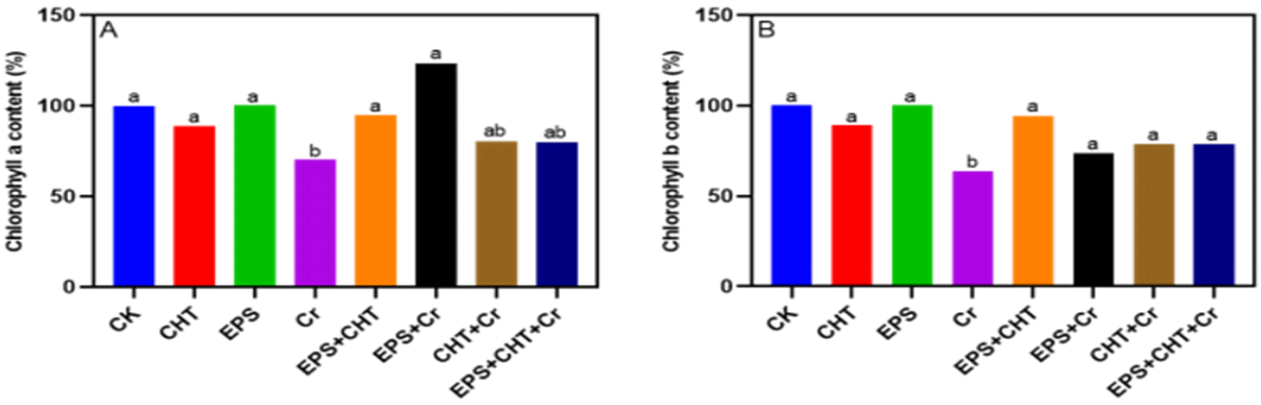


Figure 22. Les variations de chlorophylle a et b des plantules de tomate cultivées dans des conditions témoins, sous stress de chrome (Cr), ainsi qu'avec les traitements à l'exopolysaccharide (EPS) et à chitosane (CHT).

III.2.3. Effets de Cr sur les teneurs en H_2O_2 et en malondialdéhyde (MDA) et le rôle des exopolysaccharides (EPS) et de chitosane (CHT)

La phytotoxicité CR a été observée en analysant le marqueur de stress oxydatif tel que le peroxyde d'hydrogène et le contenu malondialdéhyde dans les semis de tomates. Le peroxyde d'hydrogène sert d'indicateur de la capacité de piégeage des espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans les plantules soumises à divers stress, et il est généré comme sous-produit du métabolisme cellulaire. Les résultats montrent que H_2O_2 a montré une augmentation significative substantielle de 40,99 % sous stress Cr par rapport au témoin (CK). Comme

indiqué sur la (Fig.23.A), l'atténuation des teneurs en MDA était similaire à celle de H_2O_2. Les semis de tomates exposés au stress Cr ont montré une amélioration significative des concentrations MDA et H_2O_2 par rapport au contrôle. Cependant, cette tendance a été inversée par la supplémentation en EPS et en CHT à des semis stressés par Cr. L'application ensemble de l'EPS et du CHT a considérablement abaissé le niveau de MDA et H_2O_2 de 89,02 % et 37,04, respectivement, dans les semis traités au Cr que les témoins pertinents (Fig.23. A. B).

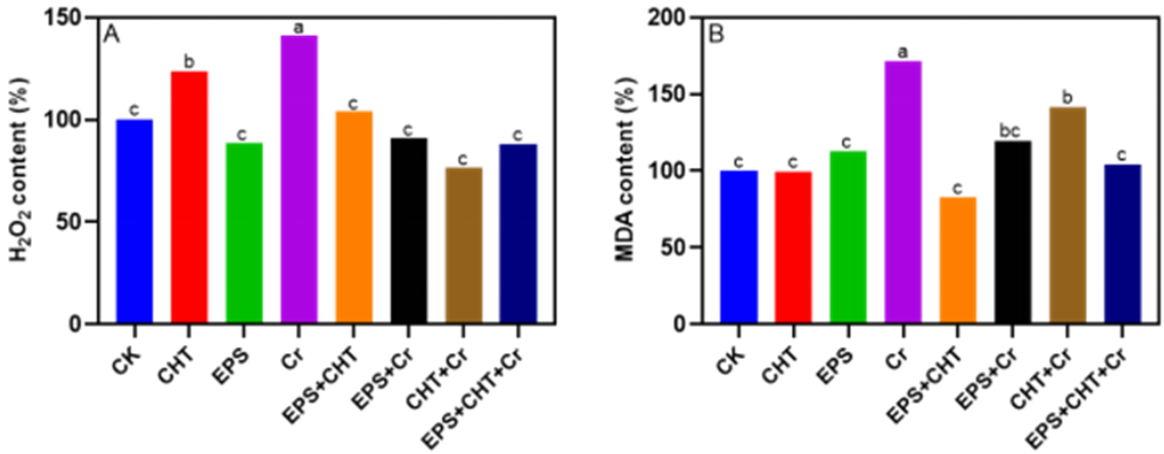


Figure 23. Les variations de contenu MDA et H_2O_2 des plantules de tomate cultivées dans des conditions témoins, sous stress de chrome (Cr), ainsi qu'avec les traitements à l'exopolysaccharide (EPS) et à chitosane (CHT).

III.2.4. Effet de Chromium (Cr) sur les Antioxydants enzymatiques et le rôle des exopolysaccharides (EPS) et de chitosane (CHT)

Afin de déterminer l'effet d'EPS et de CHT sur le système de défense antioxydant enzymatique des plantules de tomate soumis au stress Cr, l'activité des enzymes antioxydantes, incluant l'APX, la POD, la CAT, et le PAL, a été mesurée. Une augmentation de l'activité de ces enzymes antioxydantes a été observée chez les plantules traités avec l'EPS et le CHT, comparativement au groupe témoin (Fig.24. A. B). Par rapport au témoin (CK), une amélioration de 32,20 %, et 69,87 %, a été enregistrée pour les enzymes CAT, et APX respectivement, chez les plantules traitées avec l'EPS (Fig.24. A. B). Le traitement de CHT a induit une augmentation respective de 21,68 % en PAL, de 94,61 % en POD, et de 173,23 % en CAT (Fig.24. A.C. D). Le traitement combiné d'EPS et de CHT a entraîné la plus forte hausse des activités enzymatiques avec des augmentations de et 82,84 %,40 %,140,84 % en APX, POD, CAT, respectivement, par rapport aux plantules témoins (CK) (Fig.24.A.B.C). L'exposition au Cr a, quant à lui, induit une hausse des activités des enzymes antioxydantes, CAT, POD, de 76,99 %, 240 % respectivement, par rapport aux plantules témoins (CK). Une

réduction de l'activité des enzymes antioxydantes APX, PAL, de 67,58 %, 37,75 %, a été constatée chez les plantules exposé aux Cr, par rapport aux plantules CK et les plantules traitées avec l'EPS et CHT et leurs combinaisons.

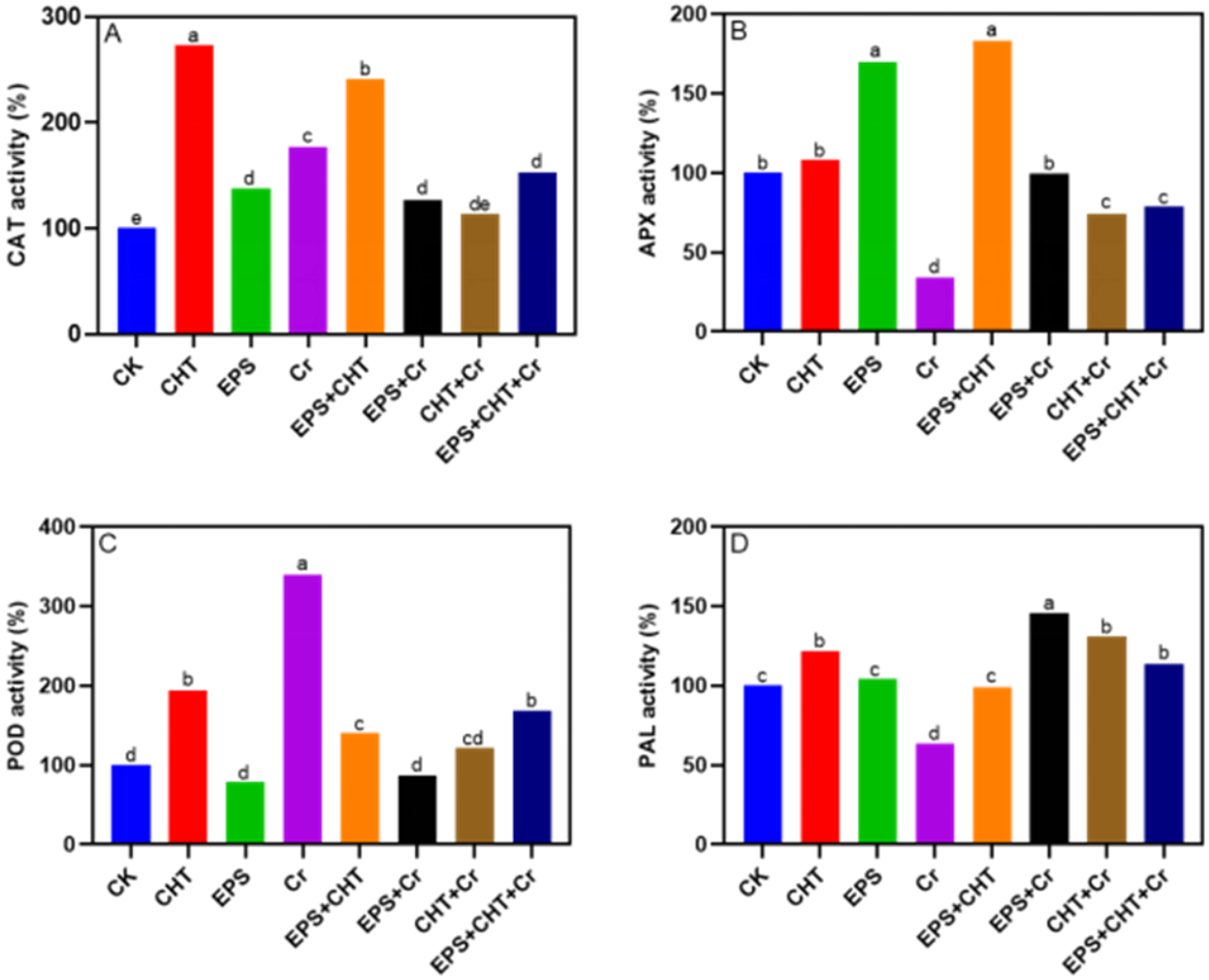


Figure 24. Effet de l'application combinée d'EPS et de CHT sur (A) la catalase CAT, (B) ascorbate peroxydase APX, (C) peroxydase POD, et (D) Phénylalanine Ammonia-Lyase PAL, du maïs en conditions du Cr.

III.2.5. L'EPS et le CHT atténuent les Contenu total en composés phénoliques (TPC), flavonoïdes (TFC) chez les plantules de tomate soumis à un stress aux Cr

L'effet d'EPS et de la CHT sur les plantules de tomate soumises aux Cr a été évalué en fonction de différents métabolites secondaires tels que la teneur en phénols totaux, et en flavonoïdes. Sous stress Cr, les métabolites secondaires, à savoir les phénols totaux, ont considérablement diminuait de 22,05 %, les métabolites secondaires, à savoir les flavonoïdes

totaux, ont considérablement augmenté de 43,51 %, par rapport au témoin (CK). Les traitements au EPS et à la CHT ont conduit à une augmentation de la teneur en métabolites secondaires par rapport au groupe témoin. Une amélioration des teneurs totales en phénols, et en flavonoïdes a été observée chez les plantules traitées avec l'EPS, de 47,95 % à TFC, par rapport au témoin (CK). Le traitement combiné au EPS et à la CHT a encore renforcé la teneur en métabolites secondaires TFC et TPC dans les plantules, avec des hausses respectives de 79,04 %, 39,61 % par rapport aux plantules témoins (CK). L'application d'EPS et de la CHT sur les plantules exposées au Cr a entraîné une augmentation supplémentaire des teneurs en flavonoïdes de 40,40 % en EPS+Cr, de 62,61 % en CHT+Cr, et de 38,18 % en EPS+CHT+Cr, en comparaison avec le groupe témoin, et en phénols totaux de 13,84 % en EPS+Cr, 19,35 % en CHT+Cr, et de 13,50 % en EPS+CHT+Cr, par rapport aux plantes inoculées non traitées. Avec le traitement au CHT, les augmentations ont été respectivement de 05,28 % en TPC, par rapport aux plantes inoculées non traitées (Cr). Toutefois, l'application combinée du EPS et de la CHT a entraîné une élévation encore plus importante des teneurs en phénols totaux 39,61%, et flavonoïdes 79,04 % chez les plantules stressées par le Cr, en comparaison avec les plantes uniquement inoculées (Cr) (Fig.25. C. D).

III.2.6. L'EPS et le CHT atténuent les niveaux de glutathion (GSH) et de proline chez les plantules de tomate soumis à un stress aux Cr

La proline et le glutathion sont considérés comme des marqueurs essentiels du stress causé par les métaux lourds. Dans la présente étude, une augmentation significative de 53,87 %, du niveau de GSH a été observée chez les plantules de tomate cultivés dans des conditions de stress aux Cr par rapport au témoin (Fig.25.A). Cependant, l'apport individuel ou combiné d'EPS et de CHT a induit la synthèse de GSH aussi bien chez les plantules stressées que non stressés (Fig.25.A). L'application conjointe d'EPS et de CHT s'est révélée plus efficace, diminue le taux de GSH de 26,29 % par rapport au plantes exposées au métal.

Les résultats de cette étude ont montré que la phytotoxicité de Cr entraînait une augmentation significative de 244,56 % du taux de proline chez les plantules de tomate cultivés dans un milieu contaminé par le Cr, comparativement au témoin (Fig.25.B). Toutefois, l'application d'EPS et de CHT a encore accru la teneur en proline chez les plantes cultivées sous stress Cr (Fig.25.B). Les groupes traités avec Cr+EPS, Cr+CHT et Cr +EPS + CHT ont présenté

respectivement une augmentation de 116,84 %, 228,42 % et 152,28 % du niveau de proline par rapport aux plantules traitées uniquement aux Cr (Fig.25.B).

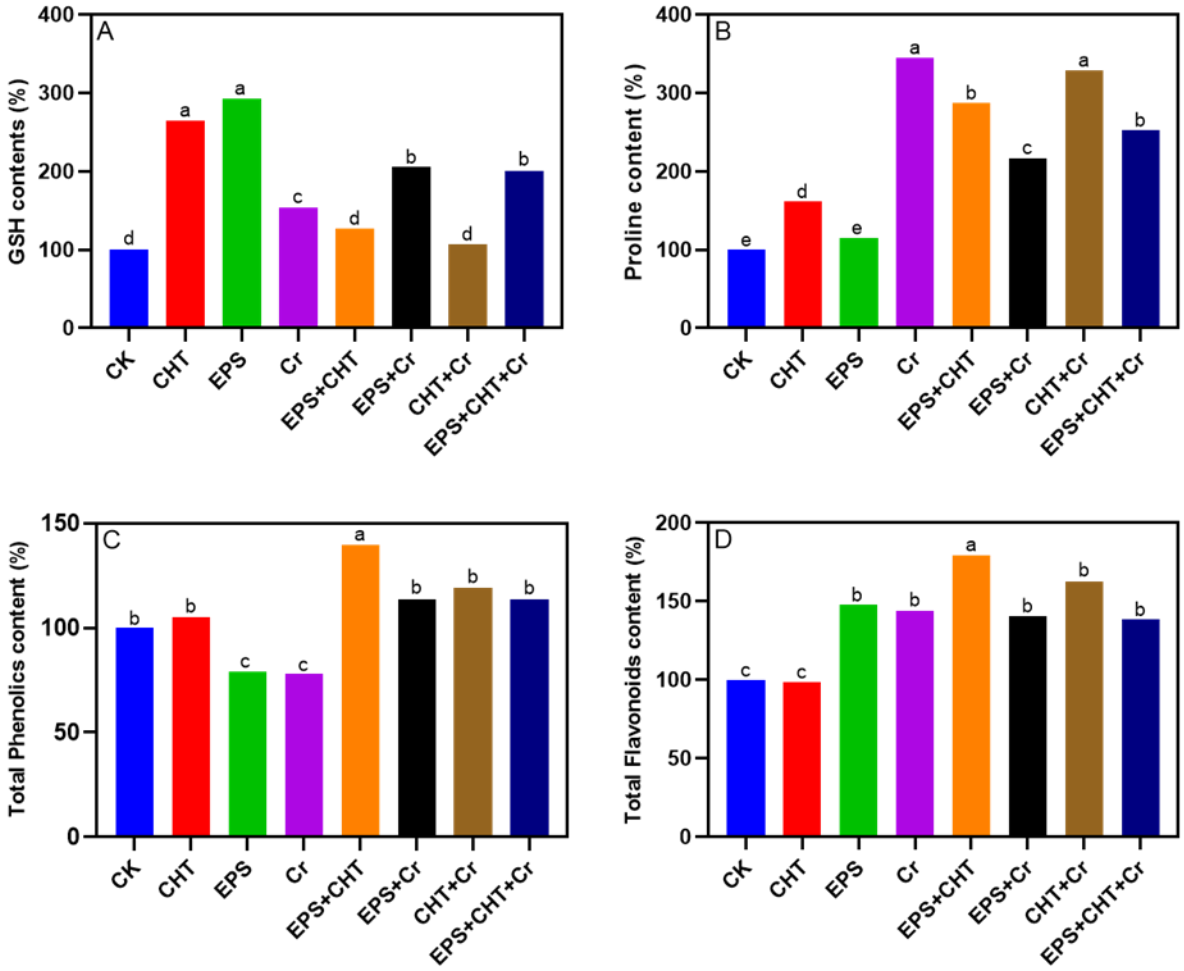


Figure 25. Effet de l'application combinée d'EPS et de CHT sur (A) sur la teneur en GSH, (B) sur la teneur en Proline, (C) sur le contenu phénolique total, et (D) sur flavonoïdes, du maïs en conditions du Cr.

CHAPITRE 03

Discussion

Le chrome est un polluant toxique qui existe sous plusieurs états d'oxydation, dont la forme hexavalente (Cr (VI)) est la plus nocive pour la santé des plantes. En raison de sa ressemblance structurelle avec les ions sulfate et phosphate, il pénètre dans les plantes via leurs transporteurs spécifiques, perturbant ainsi l'absorption de ces nutriments, ce qui entraîne une croissance végétale réduite, une activité photosynthétique affaiblie et, en fin de compte, une diminution de la productivité.

En tant que métal réactif, le Cr (VI) induit une formation excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), ce qui provoque la dénaturation des protéines, la peroxydation des lipides et, finalement, des dommages membranaires au niveau des tissus végétaux. De plus, la toxicité du Cr (VI) dégrade la qualité du sol en affectant négativement les populations microbiennes, entravant l'activité des enzymes du sol responsable de la disponibilité des nutriments dans la rhizosphère et de leur absorption par les plantes.

Les plantes activent divers mécanismes de défense tels que la synthèse d'osmolytes, les activités antioxydantes (enzymatiques et non enzymatiques), etc., pour lutter contre le stress oxydatif induit par le Cr (VI). En outre, certains métabolites soufrés comme la cystéine (Cys), le sulfure d'hydrogène (H_2S), le glutathion (GSH), etc., sont reconnus pour leur rôle dans la détoxification des métaux et la régulation redox, aidant ainsi à conférer une tolérance au stress métallique chez les plantes. Cependant, l'activation de ces mécanismes en réponse au stress au Cr (VI) dépend de la concentration et dépasse souvent le potentiel de défense des cultures. De plus, la réponse au Cr (VI) varie selon les génotypes au sein d'une même espèce végétale, certains montrant une tolérance plus élevée que d'autres.

Ces dernières années, les rôles des exopolysaccharides (EPS) et de la chitine (CHT) ont suscité un intérêt croissant en raison de leur capacité à atténuer le stress causé par les métaux lourds (HM). Les EPS, macromolécules biologiques, régulent plusieurs processus physiologiques et métaboliques chez les plantes, allant du développement des racines à la régulation de la photosynthèse et aux modifications reproductives. De plus, ils induisent une tolérance au stress métallique en agissant comme piégeurs d'ERO, en stimulant la synthèse d'antioxydants, en protégeant les structures membranaires, en favorisant la chélation des métaux, etc.

Par ailleurs, la chitine, un biopolymère, peut aider les plantes à survivre dans des environnements hostiles grâce à sa capacité à tolérer le stress métallique. Les mécanismes mis en œuvre par la CHT comprennent : a) l'amélioration de la disponibilité des nutriments (en

particulier le phosphore) par l'augmentation de la diversité microbienne du sol et de l'activité des enzymes du sol, b) l'amélioration de l'absorption des nutriments via l'augmentation de la surface absorbante des racines, c) la restriction de l'absorption des métaux par la séquestration des ions métalliques dans les hyphes fongiques, d) la sécrétion de composés chélateurs de métaux tels que la glomaline, e) la dilution de la concentration de métaux par l'augmentation de la biomasse végétale, f) l'activation de la synthèse d'osmolytes et d'antioxydants, etc.

Même en présence d'une toxicité au Cr (VI), les rôles protecteurs des EPS et/ou de la CHT ont été récemment confirmés (Wang et al., 2025). Cependant, à ce jour, aucune étude n'a été menée sur les rôles interactifs des EPS et de la CHT, ce qui nécessite des recherches approfondies. Par conséquent, cette étude a été réalisée afin d'analyser les effets comparés et cumulatifs de l'application d'EPS et de CHT dans l'atténuation des effets toxiques du stress au Cr (VI) chez les plantules de tomate.

Les résultats ont montré que l'exposition au Cr réduisait considérablement la croissance des plantules de tomate par rapport aux plantules témoins (Fig.20), la diminution des paramètres de croissance constatée dans cette recherche est également due aux dommages causés aux racines par le Cr, entravant le transport des minéraux vers les parties aériennes et perturbant ainsi la physiologie générale des plantules de tomates (Ahammed et al., 2025). La présente étude a révélé que le stress Cr avait un effet délétère sur la croissance des plantules, en particulier sur la longueur des parties aériennes, la longueur des racines et la biomasse. En appui à nos observations, une réduction similaire de la longueur de la partie aérienne, et du poids frais et sec, de la longueur des racines, ainsi que du poids frais et sec des racines, a été rapportée chez la tomate traitée avec le chrome (Sharma, Raja, Sushma, et al., 2025). Le Cr considérablement diminuer la longueur des pousses et des racines, ainsi que la biomasse globale des plantules de tomate, ce qui entrave la croissance des plantules. Cette étude confirme que le Cr a sévèrement limité la croissance et le développement de tomate.

Ces dernières années, l'application de EPS a démontré une amélioration de la croissance végétale en conditions de stress abiotique (Vanacore et al., 2022). Des études antérieures ont montré que l'application d'EPS et de CHT sur des plantes contribuait à atténuer les effets négatifs du stress Cr (Qin et al., 2024a). De même, chez la tomate, l'application d'EPS a permis d'accroître la biomasse végétale et de réduire le stress oxydatif induit par le Cr, notamment en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes (Altaf et al., 2024a). Ainsi ont également observé que l'application d'EPS peut améliorer la biomasse végétale et renforcer la réponse

antioxydant face au stress métallique (López-Bucio et al., 2022). Ces résultats sont corroborés par nos propres observations suite à l'application d'EPS sur les plantules de tomate, comparativement aux plantes témoins (Gupta & Seth, 2021) (Fig.20).

L'analyse FTIR a confirmé la présence de groupes fonctionnels impliqués dans l'activité biologique de l'EPS. Le large pic d'élongation O–H vers ~3372 cm^{-1} ainsi que les fortes vibrations C–O–C autour de 1055 cm^{-1} confirment la structure polysaccharidique. De manière significative, la présence de groupes carboxyles et/ou amides (1650 cm^{-1}) ainsi qu'une vibration à basse fréquence vers 554 cm^{-1} pourraient jouer un rôle crucial dans la séquestration du Cr^{6+}, soutenant ainsi le rôle de l'EPS dans l'atténuation du stress oxydatif induit par le chrome chez les plantules de tomate en culture hydroponique (Fig14).

Dans les présentes investigations, l'application exogène d'EPS ou de CHT a significativement amélioré la croissance des plantules, aussi bien en conditions stressées par le Cr (VI) qu'en conditions non stressées, comme en témoigne l'accumulation de biomasse sèche au niveau des racines et des tiges. Fait intéressant, l'efficacité de ces deux agents d'atténuation s'est révélée plus élevée lorsque les plantules étaient exposées au stress induit par le Cr (VI), et cette efficacité s'est encore accrue avec l'augmentation du niveau de toxicité métallique.

L'augmentation observée du poids sec des plantules de tomate traitées avec EPS et CHT pourrait être due à l'implication de l'EPS et du CHT dans la modification de l'architecture et de la croissance racinaire, par la stimulation de la biosynthèse de la lignine et de la cellulose (Raja et al., 2023a). De plus, l'EPS et le CHT pourraient avoir induit la formation de racines adventives et latérales en modulant la synthèse des hormones de croissance végétale (Qin et al., 2024b). Par ailleurs, l'EPS et le CHT peuvent également favoriser la croissance des plantes en régulant la prolifération cellulaire, la progression du cycle cellulaire et en prévenant l'arrêt du cycle cellulaire (Kaya et al., 2023).

La chlorophylle (Chl) est le principal pigment photosynthétique, et sa teneur reflète l'activité photosynthétique des plantes (Sánchez et al., 2023). Dans la présente étude, la phytotoxicité du Cr (VI) a entraîné la dégradation des pigments photosynthétiques (Chl a et b), ce qui s'est manifesté par des symptômes visuels tels que la chlorose et la nécrose des feuilles de tomate. Dans le même ordre d'idées, des recherches ont mis en évidence une diminution similaire de ces paramètres chez les plantes, principalement en raison d'une absorption entravée de nutriments essentiels tels que l'azote et le magnésium, constituants fondamentaux de la structure de la chlorophylle (Hafiz & Ma, 2021a). De plus, le rapport Fv/Fm, indicateur de

l'efficacité photochimique optimale du photosystème II (PSII), est connu pour diminuer en conditions de Cr, ce qui peut être attribué à une altération des centres réactionnels du PSII. Un tel stress peut entraîner une rupture de la connexion entre QA (plastoquinone A) et QB (plastoquinone B), les accepteurs primaires et secondaires d'électrons, respectivement, perturbant ainsi la chaîne de transport des électrons (Choudhary et al., 2024).

Les tissus végétaux et les chloroplastes peuvent être endommagés par divers types de stress. L'inhibition d'enzymes essentielles, dont l'absence compromet l'intégrité de l'appareil photosynthétique, constitue la principale cause de cette réduction des pigments chez les plantes (Hafiz & Ma, 2021b). La chlorophylle provenant de chloroplastes endommagés doit être rapidement dégradée en raison de sa forte réactivité, afin d'éviter des dommages cellulaires. Sa dégradation entraîne l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui peuvent rapidement détériorer les cellules (Fatai et al., 2024).

L'amélioration significative des paramètres de croissance des plantules de tomate supplémentées en EPS et CHT a conduit à une réduction de la dégradation des pigments photosynthétiques (Chl a et b). L'EPS et le CHT pourraient avoir préservé les pigments chlorophylliens ainsi que la structure membranaire des chloroplastes en maintenant la pression osmotique des cellules, ce qui a permis de conserver la viscosité cytoplasmique nécessaire au bon fonctionnement cellulaire (Qin et al., 2024a). Le rôle de l'EPS et du CHT dans l'atténuation des effets toxiques des métaux lourds (HM) sur la concentration en pigments et dans la promotion du taux de photosynthèse a été observé chez *Brassica juncea* (Halim et al., 2020a), *Arachis hypogaea* (Halim et al., 2020b) et les plants de tabac (Diomande et al., 2025). L'élévation de la concentration en pigments chlorophylliens chez les plantules traitées avec EPS+C0HT pourrait être liée à une absorption accrue des nutriments minéraux tels que le Mg, le P et l'N, qui sont des composants essentiels de la structure de la chlorophylle (Altaf et al., 2024b).

De son côté, l'EPS et le CHT a contribué à prévenir la perte de chlorophylle en augmentant les niveaux de magnésium. Ce mécanisme a permis de limiter le stress oxydatif et de protéger les membranes des thylakoïdes (Atta et al., 2024). Il a également été rapporté que la CHT améliore le taux de photosynthèse, régule le fonctionnement stomatique via la synthèse de l'ABA, et augmente la production de métabolites primaires et secondaires en situations de stress, par l'intermédiaire du monoxyde d'azote et du peroxyde d'hydrogène comme signaux (Amiripour et al., 2025).

Dans la présente étude, le stress au Cr a entraîné une augmentation du contenu en MDA chez les plantules de tomate (Fig.23.A). Divers chercheurs ont attribué cette élévation des niveaux de MDA à une production accrue d'ERO induite par le stress de Cr. Le MDA, sous-produit de la peroxydation des lipides, reflète directement l'ampleur des dommages causés par le stress Cr chez les plantules de tomate (Raja et al., 2023b). L'accumulation de MDA découle ainsi d'une cascade de dommages oxydatifs provoquée par un stress oxydatif accru. Cependant, l'application exogène de CHT et d'EPS a permis d'atténuer les lésions lipidiques et de préserver l'intégrité structurale des membranes, réduisant ainsi les dommages oxydatifs induits par le stress Cr.

L'augmentation de la production de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sous l'effet du stress induit par Cr entraîne principalement des dommages oxydatifs, lesquels perturbent la peroxydation des lipides membranaires en compromettant leur intégrité (Elkelish et al., 2024) Dans la présente étude, le stress oxydatif est indiqué par une augmentation des concentrations de H_2O_2 et de MDA chez les plantules traitées au Cr. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par (Sharma, Raja, Bhat, et al., 2025a). Le déséquilibre de l'homéostasie redox induit par l'application de Cr est considéré comme le principal facteur limitant la croissance chez les plantules de tomate. L'application d'EPS et de CHT atténue les effets phytotoxiques de Cr, en réduisant les niveaux de H_2O_2 et de MDA, ce qui démontre leur rôle protecteur contre le stress oxydatif causé par le Cr.

La supplémentation des plantules stressées par le Cr (VI) avec de l'EPS et/ou du CHT a significativement réduit la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ainsi que la formation de MDA dans les tissus foliaires. La réduction du stress oxydatif était directement liée à une diminution de l'accumulation de Cr (VI) dans les tissus aériens et souterrains. Diverses études ont rapporté le rôle de l'EPS et du CHT dans la réduction du stress oxydatif sous différentes conditions de toxicité métallique telles que le Cd (Ghouri et al., 2025), le Pb (Naz et al., 2025), le Ni (Rahim et al., 2025), etc. L'EPS et le CHT peuvent éliminer ces espèces réactives de l'oxygène en agissant directement comme antioxydants (Devi et al., 2024a).

Les plantes réagissent à la présence d'ERO en activant des enzymes antioxydantes telles que l'ascorbate peroxydase (APX), la peroxydase (POD), la catalase (CAT) et Phénylalanine ammonia-Lyase (PAL) afin de maintenir l'homéostasie redox en conditions de stress Cr, la Co-application d'EPS et de CHT améliore significativement les capacités antioxydantes permettant l'élimination des ERO, tout en augmentant la teneur relative en eau et en proline. Des résultats

similaires ont été observés chez les plantes. En outre, les activités des enzymes antioxydantes, notamment la peroxydase (POD), ont été significativement augmentées, renforçant ainsi la capacité des plantules à éliminer l'ERO. Ces résultats suggèrent que EPS atténue les dommages oxydatifs et améliore la tolérance à la Cr chez les plantules en stimulant l'activité des enzymes antioxydantes. Ces observations concordent avec celles rapportées par Zahir et al. et Rezazadeh et al, qui ont montré que l'application des EPS et de CHT peut renforcer la capacité antioxydantes, réduire l'accumulation des ERO et en définitive, améliorer la résilience face à la Cr. Ce résultat est en accord avec des études antérieures ayant démontré que les EPS et le CHT traiter les plantules exposées aux Cr en renforçant le système de défense antioxydant chez diverses cultures, notamment la tomate (Ma et al., 2022; Sharma, Raja, Bhat, et al., 2025). Il est bien établi que les ERO, générées en conditions de stress Cr, peuvent nuire aux plantules en induisant un stress oxydatif, les enzymes et les métabolites redox agissant de manière synergique pour détoxifiés ces ERO. Toutefois, certaines études, telles que celle de Wang et al, proposent une vision différente, suggérant que le traitement par EPS et CHT pourrait réduire la production d'ERO, comme en témoigne la diminution des activités enzymatiques de détoxification (POD, APX, PAL et CAT), ainsi qu'une réduction de l'accumulation de Cr. De manière similaire,

Dans la présente étude, l'EPS et le CHT ont pu maintenir l'équilibre des ERO en augmentant l'activité des principales enzymes antioxydantes : l'APX, la CAT et la POD. De plus, l'augmentation de l'activité de la POD a été la plus marquée parmi ces enzymes, ce qui pourrait contribuer à réduire la production de H_2O_2 en le convertissant en O_2 et H_2O grâce à l'action accrue des enzymes CAT et GPOX, conduisant ainsi à une diminution de la teneur en H_2O_2 chez les plantules traitées avec EPS + CHT. Les effets stimulants de l'EPS et du CHT sur l'activité des enzymes de détoxification des ROS mentionnées ci-dessus pourraient être dus à une acquisition améliorée de nutriments tels que l'azote (N), le fer (Fe) et le zinc (Zn), qui sont des composants structurels de ces métalloenzymes (SOD, CAT, POD) (Devi et al., 2024b) .

La proline joue un rôle important dans l'osmorégulation en conditions de stress (Deng et al., 2025). Elle réduit le potentiel osmotique latent des cellules, ce qui permet de maintenir une forte pression de turgescence, augmentant ainsi la capacité de la plante à optimiser les réserves de stockage pour soutenir le métabolisme en situation de stress, tout en préservant la croissance et le développement de la plante (Adamipour et al., 2025). L'application de Cr dans les plantules de tomate a entraîné une augmentation de la teneur en proline (Fig.25.B). Une étude antérieure a révélé une accumulation accrue d'osmolytes, tels que la proline, chez des

plantules exposées au stress Cr (Shah et al., 2024), l'accumulation de proline résulte soit d'une augmentation de la dégradation des protéines conduisant à la libération d'acides aminés, dont la proline, soit d'une augmentation de l'activité des enzymes impliquées dans la biosynthèse de la proline, soit encore d'une diminution de son oxydation. L'application d'EPS et de CHT a entraîné une réduction de l'accumulation de proline chez les plantules traitées aux Cr, comparativement aux plantules témoins. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Upadhyay et al et Vardharajula et al.

Les résultats d'autres études soutiennent également l'effet bénéfique d'EPS et de CHT sur le système antioxydant des plants soumis à un stress métallique. Une diminution de la synthèse de la cystéine a été observée chez les plantes traitées au EPS et au CHT comparées aux témoins. Xiang et Oliver (1998) ont rapporté que la cystéine est un précurseur du glutathion réduit (GSH). La teneur plus élevée en cystéine chez les plants. Les plantes exposées aux Cr indiquent une augmentation de la synthèse de GSH, comme l'ont observé d'autres chercheurs. Jozefczak et al. (2012) ont montré que le GSH protège les cellules végétales contre la phytotoxicité induite par les métaux en formant des complexes non toxiques. De même, Hasan et al. (2016) ont rapporté que la présence de GSH dans les organites végétaux agit comme un tampon pour maintenir l'équilibre rédox et atténuer le stress abiotique. Souri et Karimi (2017) ont mis en évidence l'implication du GSH dans l'atténuation de la toxicité de Cr par la modulation de la synthèse des phytochelatines (PCs) liant au Cr. Il est supposé que l'EPS et le CHT participent à la formation de complexes Cr-PCs chez les plantes supplémentées. L'acide L-glutamique est un précurseur commun du GSH et de la proline ; il existe par ailleurs une corrélation fondamentale entre le métabolisme du GSH et la synthèse de proline dans l'atténuation de la phytotoxicité induite par les métaux. En tant qu'osmorégulateur et antioxydant, la proline piège les ERO afin de prévenir la détérioration des biomolécules lors de la déshydratation et de permettre l'allocation de réducteurs, conférant ainsi aux plantes une meilleure tolérance au stress abiotique.

Nos recherches ont démontré une augmentation significative des teneurs en TFC et TPC, chez les plantules traitées par CHT et EPS, tant en conditions normales qu'en aux Cr (Fig.25.C.D). Ces résultats concordent avec des études antérieures ayant observé une augmentation substantielle du TPC chez des plantes traitées aux CHT en condition de stress Cr par (Quitadamoet al., 2021). De plus, l'application d'EPS et de CHT a permis d'augmenter les niveaux de composés antioxydants tels que les composés phénoliques et flavonoïdes chez les plantules. Des études complémentaires ont également indiqué que l'application d'EPS et la CHT

stimule la production de métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, améliorant ainsi l'état osmotique et hydrique des plantes soumises à un stress abiotique (Wang et al., 2025). Bien que l'accumulation d'antioxydants non enzymatiques puisse protéger les composants cellulaires contre les dommages causés par les radicaux libres, elle ne permet pas de neutraliser efficacement et complètement les radicaux réducteurs tels que le superoxyde ou les hydroperoxydes instables. Par conséquent, la nature a mis en place des enzymes spécifiques pour neutraliser ces composés.

Conclusion et perspective

Le Cr constitue une menace majeure pour la productivité agricole mondiale et la sécurité alimentaire. Les résultats de cette étude ont démontré que le stress chromique affecte négativement la croissance, la biomasse, le rendement et la teneur chlorophyllien des plantules de tomate, tout en induisant l'accumulation de MDA et H_2O_2 ainsi que l'augmentation des activités enzymatiques de la CAT, et de la POD. L'application exogène d'EPS et de CHT a permis d'atténuer les effets délétères de Cr des plantules de tomate, conduisant à une amélioration de la croissance et de la biomasse des plantules. L'étude conclut que l'application exogène d'EPS et de CHT favorise l'ajustement métallique, renforce le système de défense antioxydant et protège les pigments photosynthétiques en conditions de stress chromique, ce qui stimule la croissance globale des plantules de tomate. Toutefois, l'influence de l'homéostasie redox sur la réponse défensive induite par ces protecteurs reste relativement faible.

En ce qui concerne les paramètres évalués tels que la biomasse, le rendement et l'activité antioxydante, les EPS se sont révélées plus efficaces en tant de régulateurs de croissances, contre le stress chromique. Néanmoins, pour plusieurs paramètres liés au stress de Cr, la réponse des plantules traités à CHT est comparable à celle observée avec les EPS. Par ailleurs, l'application combinée d'EPS et de CHT s'est avérée plus efficace pour induire une tolérance aux Cr chez la tomate que l'utilisation individuelle de chacun de ces agents. Des recherches supplémentaires et des essais en conditions réelles sont nécessaires pour valider l'applicabilité pratique de ces résultats et formuler des recommandations fiables à l'intention des agriculteurs.

Par conséquent, la présente étude a conclu que l'utilisation combinée de l'EPS et du CHT pourrait constituer une stratégie bénéfique pour renforcer la tolérance des plantules de tomate à la toxicité du Cr (VI). Ainsi, des études complémentaires devraient être menées afin d'identifier les mécanismes précis impliqués dans le rôle de l'EPS et du CHT dans l'amélioration de la tolérance des plantes en conditions de stress induit par le Cr (VI).

Sur la base de ces résultats, les recommandations suivantes peuvent être formulées :

- La réhabilitation des sites contaminés par le chrome est fortement recommandée avant tout semis ou programme de plantation.
- La surexpression des gènes codant pour les enzymes de la voie ascorbate-glutathion chez les plantes, notamment les plantes cultivées, par des approches de génie génétique, pourrait conférer une protection endogène permettant de lutter contre le stress oxydatif induite par le chrome.

Référence bibliographique

Arbia, W., Amar, M. K., Adour, L., & Amrane, A. (n.d.). Maximizing chitin and chitosan recovery yields from fusarium verticillioides using a many-factors-at-a-time approach. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 136708. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136708ï

Adamipour, N., Nazari, F., Nalousi, A. M., & Teixeira da Silva, J. A. (2025). Evaluation of the molecular mechanism underlying proline metabolic and catabolic pathways and some morpho-physiological traits of tobacco (Nicotiana tabacum L.) plants under arsenic stress. *BMC Plant Biology*, *25*(1), 258.

Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro. In *Methods in enzymology* (Vol. 105, pp. 121–126). Elsevier.

Ahammed, G. J., Sun, S., Qu, K., Chen, J., Dong, Y., Liu, A., & Chen, S. (2025). Hydrogen peroxide signaling mediates dopamine-induced chromium stress tolerance in tomato. *Environmental Pollution*, *371*, 125949.

Ali, S., Mir, R. A., Tyagi, A., Manzar, N., Kashyap, A. S., Mushtaq, M., Raina, A., Park, S., Sharma, S., Mir, Z. A., Lone, S. A., Bhat, A. A., Baba, U., Mahmoudi, H., & Bae, H. (2023a). Chromium Toxicity in Plants: Signaling, Mitigation, and Future Perspectives. In *Plants* (Vol. 12, Issue 7). MDPI. https://doi.org/10.3390/plants12071502

Ali, S., Mir, R. A., Tyagi, A., Manzar, N., Kashyap, A. S., Mushtaq, M., Raina, A., Park, S., Sharma, S., Mir, Z. A., Lone, S. A., Bhat, A. A., Baba, U., Mahmoudi, H., & Bae, H. (2023b). Chromium Toxicity in Plants: Signaling, Mitigation, and Future Perspectives. In *Plants* (Vol. 12, Issue 7). MDPI. https://doi.org/10.3390/plants12071502

Altaf, M. M., Yi, H., Bashir, S., Abbasi, S. S., Anwar, M., Alsahli, A. A., Altaf, M. A., & Ahmad, P. (2024a). Mitigating chromium stress in tomato plants using green-silicone nanoparticles: Enhancing cellular oxidative stress management and chromium reduction. *Scientia Horticulturae*, *338*, 113635.

Altaf, M. M., Yi, H., Bashir, S., Abbasi, S. S., Anwar, M., Alsahli, A. A., Altaf, M. A., & Ahmad, P. (2024b). Mitigating chromium stress in tomato plants using green-silicone nanoparticles: Enhancing cellular oxidative stress management and chromium reduction. *Scientia Horticulturae*, *338*, 113635.

Amiripour, H., Iranbakhsh, A., Saadatmand, S., Mousavi, F., & Oraghi Ardebili, Z. (2025). Exogenous application of melatonin and chitosan mitigate simulated microgravity stress in the Rocket (Eruca sativa L.) plant. *Plant Physiology and Biochemistry*, *218*. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.109294

Anderson, M. E. (1985). [70] Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. In *Methods in enzymology* (Vol. 113, pp. 548–555). Elsevier.

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiology*, *24*(1), 1.

Atta, M. I., Zehra, S. S., Zhuo, Z., Ali, H., Abbas, M. W., Abbas, S. N., Sarwar, S., Muneer, F., Ahmad, I., & Xu, D. (2024). Nitrogen and carbohydrate metabolisms are key factors in maize (Zea mays L.) germination under chromium-induced ROS. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *131*(6), 2099–2109.

Baltazar, M., Correia, S., Guinan, K. J., Sujeeth, N., Bragança, R., & Gonçalves, B. (2021). Recent advances in the molecular effects of biostimulants in plants: An overview. In *Biomolecules* (Vol. 11, Issue 8). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/biom11081096

Bates, L. S., Waldren, R. P. A., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, *39*, 205–207.

Bouguerra, M. L. (1997). *La pollution invisible*. FeniXX.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1–2), 248–254.

Cakmak, I., & Marschner, H. (1992). Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*, *98*(4), 1222–1227.

Chaudhuri, R., & Balasubramanian, P. (2023). Evaluating the potential of exopolysaccharide extracted from the spent cultivation media of Spirulina sp. as plant biostimulant. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1–10.

Choudhary, S., Tiwari, M., & Poluri, K. M. (2024). A Biorefinery Approach Integrating Lipid and EPS Augmentation Along with Cr (III) Mitigation by Chlorella minutissima. *Cells*, *13*(24), 2047.

Colla, G., & Rouphael, Y. (2020). Microalgae: New Source of Plant Biostimulants. In *Agronomy* (Vol. 10, Issue 9). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/agronomy10091240

Dawood, M. F. A., Tahjib-Ul-Arif, M., Shirazy, B. J., & Latef, A. A. H. A. (2025). Unraveling the role of κ-carrageenan on the combined effect of drought and chromium stress in wheat (Triticum aestivium L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, *223*, 109781.

Deng, D., Gao, Q., Zeng, R., Jiang, J., Shen, Q., Ma, Y., Fang, W., & Zhu, X. (2025). The Proline Dehydrogenase Gene CsProDH1 Regulates Homeostasis of the Pro-P5C Cycle Under Drought Stress in Tea Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(7). https://doi.org/10.3390/ijms26073121

Devi, K., Sharma, S., Singh, A. D., Bhardwaj, T., Gandhi, S. G., Ohri, P., Bhardwaj, R., Alsahli, A. A., & Ahmad, P. (2024a). Plant-derived biochar and salicylic acid as biostimulants for lycopersicon esculentum under chromium toxicity conditions: insights from physiochemical attributes, antioxidants, and relative gene expression. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *12*(6), 114372.

Devi, K., Sharma, S., Singh, A. D., Bhardwaj, T., Gandhi, S. G., Ohri, P., Bhardwaj, R., Alsahli, A. A., & Ahmad, P. (2024b). Plant-derived biochar and salicylic acid as biostimulants for lycopersicon esculentum under chromium toxicity conditions: insights from physiochemical attributes, antioxidants, and relative gene expression. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *12*(6), 114372.

Diomande, M., Gandolfo, P., Hari, J. R., Laggiard, E., Djenidi, H., Costedoat, C., & Verna, É. (2025). Une méthode d'avenir-Le tartre dentaire comme témoin de la consommation de drogues. *Médecine/Sciences*, *41*(1), 100–102.

El Hachimi, M. L., Fekhaoui, M., El Abidi, A., & Rhoujatti, A. (2014). Contamination des sols par les métaux lourds à partir de mines abandonnées : le cas des mines Aouli-Mibladen-Zeïda au Maroc. *Cahiers Agricultures*, *23*(3), 213–219.

El Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I., & Daayf, F. (2010). Chitosan in plant protection. In *Marine Drugs* (Vol. 8, Issue 4, pp. 968–987). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/md8040968

Elkelish, A., Alhudhaibi, A. M., Hossain, A. S., Haouala, F., Alharbi, B. M., El-Banna, M. F., Rizk, A., Badji, A., AlJwaizea, N. I., & Sayed, A. A. S. (2024). Alleviating chromium-induced oxidative stress in Vigna radiata through exogenous trehalose application: insights into growth, photosynthetic efficiency, mineral nutrient uptake, and reactive oxygen species scavenging enzyme activity enhancement. *BMC Plant Biology*, *24*(1). https://doi.org/10.1186/s12870-024-05152-y

Erkman, S. (2004). *Vers une écologie industrielle* (Vol. 137). ECLM.

Fatai, M. I., Ibrahim, M. A., Ibrahim, M., Umoren, O. D., Saheed, M. B., Ndriza, J. B., & Okoriko, E. M. (2024). Concentration and Health Risk Assessment of Selected Heavy Metals (HMs) in African spinach (Amaranthus hybridus) and Tomato (Solanum lycopersicum) Grown around Ashaka Community, Gombe State, Nigeria. *Journal of Chemistry and Nutritional Biochemistry*, *5*(2), 16–26. https://doi.org/10.48185/jcnb.v5i2.1175

Jamali, A., Mottaghitalab, F., Abdoli, A., Dinarvand, M., Esmailie, A., Kheiri, M. T., & Atyabi, F. (2018). Inhibiting influenza virus replication and inducing protection against lethal influenza virus challenge through chitosan nanoparticles loaded by siRNA. Drug Delivery and Translational Research, 8, 12–20.

Ghouri, F., Shahid, M. J., Ali, S., Ashraf, H., Alomrani, S. O., Liu, J., Alshehri, M. A., Fahad, S., & Shahid, M. Q. (2025). Tetraploidy and Fe 2 O 3 nanoparticles: dual strategy to reduce the Cd-induced toxicity in rice plants by ameliorating the oxidative stress and downregulation of metal transporters. *Environmental Science: Nano*, *12*(1), 634–646.

Gupta, S., & Seth, C. S. (2021). Salicylic acid alleviates chromium (VI) toxicity by restricting its uptake, improving photosynthesis and augmenting antioxidant defense in Solanum lycopersicum L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *27*, 2651–2664.

Hafiz, M. F., & Ma, L. (2021a). Effect of chromium on seed germination, early seedling growth and chromium accumulation in tomato genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, *43*(7), 100.

Hafiz, M. F., & Ma, L. (2021b). Effect of chromium on seed germination, early seedling growth and chromium accumulation in tomato genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, *43*(7), 100.

Halim, M. A., Rahman, M. M., Megharaj, M., & Naidu, R. (2020a). Cadmium immobilization in the rhizosphere and plant cellular detoxification: role of plant-growth-promoting rhizobacteria as a sustainable solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *68*(47), 13497–13529.

Halim, M. A., Rahman, M. M., Megharaj, M., & Naidu, R. (2020b). Cadmium immobilization in the rhizosphere and plant cellular detoxification: role of plant-growth-promoting rhizobacteria as a sustainable solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *68*(47), 13497–13529.

Hassan, M. U., Lihong, W., Nawaz, M., Ali, B., Tang, H., Rasheed, A., Zain, M., Alqahtani, F. M., Hashem, M., & Qari, S. H. (2024). Silicon a key player to mitigate chromium toxicity in plants: mechanisms and future prospective. *Plant Physiology and Biochemistry*, 108529.

Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *125*(1), 189–198.

Kaya, C., Ashraf, M., Alyemeni, M. N., Rinklebe, J., & Ahmad, P. (2023). Citric acid and hydrogen sulfide cooperate to mitigate chromium stress in tomato plants by modulating the ascorbate-glutathione cycle, chromium sequestration, and subcellular allocation of chromium. *Environmental Pollution*, *335*, 122292.

Kaya, C., & Uğurlar, F. (2024). Hydrogen Sulfide and 5-Aminolevulinic Acid Synergistically Enhance Drought Tolerance in Tomato (Solanum lycopersicum L.). *Food and Energy Security*, *13*(5), e70007.

Koh, Y. S., Wong, S. K., Ismail, N. H., Zengin, G., Duangjai, A., Saokaew, S., Phisalprapa, P., Tan, K. W., Goh, B. H., & Tang, S. Y. (2021). Mitigation of Environmental Stress-Impacts in Plants: Role of Sole and Combinatory Exogenous Application of Glutathione. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.791205

KONE, H., YARO, F. K., LY, O., TRAORE, M. M., DJIGUIBA, D., & DOUMBIA, M. L. (2025). Contamination des sédiments par les pesticides et les métaux lourds dans le bassin du fleuve Sénégal et ses affluents, République du Mali. *Afrique SCIENCE*, *26*(4), 12–27.

Kumar, D., Manhas, R. K., & Ohri, P. (2025). Synergistic Interaction of Sodium Nitroprusside and Serratia marcescens in Mitigation of Nematode Stress in Tomato. *Nitric Oxide*.

Kumar, V., Suryakant, P., Kumar, S., & Kumar, N. (2016). Effect of chromium toxicity on plants: A review. *Agriways*, *4*(1), 107–120.

López-Bucio, J. S., Ravelo-Ortega, G., & López-Bucio, J. (2022). Chromium in plant growth and development: Toxicity, tolerance and hormesis. *Environmental Pollution*, *312*, 120084.

Ma, J., Saleem, M. H., Ali, B., Rasheed, R., Ashraf, M. A., Aziz, H., Ercisli, S., Riaz, S., Elsharkawy, M. M., Hussain, I., Alhag, S. K., Ahmed, A. E., Vodnar, D. C., Mumtaz, S., & Marc, R. A. (2022). Impact of foliar application of syringic acid on tomato (Solanum lycopersicum L.) under heavy metal stress-insights into nutrient uptake, redox homeostasis, oxidative stress, and antioxidant defense. *Frontiers in Plant Science*, *13*. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.950120

Ma, Y., Freitas, H., & Dias, M. C. (2022). Strategies and prospects for biostimulants to alleviate abiotic stress in plants. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1024243

Mutale-joan, C., Redouane, B., Najib, E., Yassine, K., Lyamlouli, K., Laila, S., Zeroual, Y., & Hicham, E. A. (2020). Screening of microalgae liquid extracts for their bio stimulant properties on plant growth, nutrient uptake and metabolite profile of Solanum lycopersicum L. *Scientific Reports*, *10*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-020-59840-4

Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, *22*(5), 867–880.

Naz, T., Iqbal, M. M., Raza, B., Mubeen, M. A., Nadeem, M. A., Al-Ghamdi, A. A., Elshikh, M. S., Rizwan, M., & Iqbal, R. (2025). Green remediation of lead (pb) from Pb-toxic soil by combined use of silicon nanomaterials and leguminous Lens culinaris L. plants. *Scientific Reports*, *15*(1), 4366.

Nwodo, U. U., Green, E., & Okoh, A. I. (2012). Bacterial exopolysaccharides: Functionality and prospects. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 13, Issue 11, pp. 14002–14015). https://doi.org/10.3390/ijms131114002

Oliveira, H. (2012). Chromium as an environmental pollutant: insights on induced plant toxicity. *Journal of Botany*, *2012*(1), 375843.

Qin, C., Lian, H., Alqahtani, F. M., & Ahanger, M. A. (2024a). Chromium mediated damaging effects on growth, nitrogen metabolism and chlorophyll synthesis in tomato can be alleviated by foliar application of melatonin and jasmonic acid priming. *Scientia Horticulturae*, *323*, 112494.

Qin, C., Lian, H., Alqahtani, F. M., & Ahanger, M. A. (2024b). Chromium mediated damaging effects on growth, nitrogen metabolism and chlorophyll synthesis in tomato can be

alleviated by foliar application of melatonin and jasmonic acid priming. *Scientia Horticulturae*, *323*, 112494.

Qureshi, F. F., Ashraf, M. A., Rasheed, R., Hussain, I., Rizwan, M., Iqbal, M., & Yong, J. W. H. (2024). Microbial-assisted alleviation of chromium toxicity in plants: A critical review. *Plant Stress*, *11*, 100394.

Rachidi, F., Benhima, R., Sbabou, L., & El Arroussi, H. (2020). Microalgae polysaccharides bio-stimulating effect on tomato plants: Growth and metabolic distribution. *Biotechnology Reports*, *25*. https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00426

Rahim, H. U., Ali, W., Uddin, M., Ahmad, S., Khan, K., Bibi, H., & Alatalo, J. M. (2025). Abiotic stresses in soils, their effects on plants, and mitigation strategies: A literature review. *Chemistry and Ecology*, *41*(4), 552–585.

Raja, V., Qadir, S. U., Kumar, N., Alsahli, A. A., Rinklebe, J., & Ahmad, P. (2023a). Melatonin and strigolactone mitigate chromium toxicity through modulation of ascorbate-glutathione pathway and gene expression in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, *201*, 107872.

Raja, V., Qadir, S. U., Kumar, N., Alsahli, A. A., Rinklebe, J., & Ahmad, P. (2023b). Melatonin and strigolactone mitigate chromium toxicity through modulation of ascorbate-glutathione pathway and gene expression in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, *201*, 107872.

Rebak, R. B. (2017). Iron-chrome-aluminum alloy cladding for increasing safety in nuclear power plants. *EPJ Nuclear Sciences & Technologies*, *3*, 34. https://doi.org/10.1051/epjn/2017029

Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E., & Tava, A. (2019). Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions. In *Agronomy* (Vol. 9, Issue 4). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/agronomy9040192

Saleem, M. H., Afzal, J., Rizwan, M., Shah, Z. U. H., Depar, N., & Usman, K. (2022). Chromium toxicity in plants: consequences on growth, chromosomal behavior and mineral nutrient status. In *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* (Vol. 46, Issue 3, pp. 371–389). Turkiye Klinikleri. https://doi.org/10.55730/1300-011X.3010

Sánchez, P., Castro-Cegrí, A., Sierra, S., Garrido, D., Llamas, I., Sampedro, I., & Palma, F. (2023). The synergy of halotolerant PGPB and mauran mitigates salt stress in tomato (Solanum lycopersicum) via osmoprotectants accumulation. *Physiologia Plantarum*, *175*(6), e14111.

Sánchez-Rodríguez, E., Moreno, D. A., Ferreres, F., del Mar Rubio-Wilhelmi, M., & Ruiz, J. M. (2011). Differential responses of five cherry tomato varieties to water stress: changes on phenolic metabolites and related enzymes. *Phytochemistry*, *72*(8), 723–729.

Sasikumar, K., Vaikkath, D. K., Devendra, L., & Nampoothiri, K. M. (2017). An exopolysaccharide (EPS) from a Lactobacillus plantarum BR2 with potential benefits for making functional foods. *Bioresource Technology*, *241*, 1152–1156.

Shah, T., Khan, Z., Alahmadi, T. A., Imran, A., Asad, M., Khan, S. R., & Ansari, M. J. (2024). Correction to: Mycorrhizosphere bacteria inhibit chromium uptake and phytotoxicity by regulating proline metabolism, antioxidant defense system, and aquaporin gene expression in tomato. *Environmental Science and Pollution Research*, *31*(17), 24851.

Sharma, S., Raja, V., Bhat, A. H., Kumar, N., Alsahli, A. A., & Ahmad, P. (2025a). Innovative strategies for alleviating chromium toxicity in tomato plants using melatonin functionalized zinc oxide nanoparticles. *Scientia Horticulturae*, *341*, 113930.

Sharma, S., Raja, V., Bhat, A. H., Kumar, N., Alsahli, A. A., & Ahmad, P. (2025b). Innovative strategies for alleviating chromium toxicity in tomato plants using melatonin functionalized zinc oxide nanoparticles. *Scientia Horticulturae*, *341*, 113930.

Sharma, S., Raja, V., Sushma, Bhat, A. H., Kumar, N., Alsahli, A. A., & Ahmad, P. (2025). Innovative strategies for alleviating chromium toxicity in tomato plants using melatonin functionalized zinc oxide nanoparticles. *Scientia Horticulturae*, *341*. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113930

Singh, M., Kushwaha, B. K., Singh, S., Kumar, V., Singh, V. P., & Prasad, S. M. (2017). Sulphur alters chromium (VI) toxicity in Solanum melongena seedlings: role of sulphur assimilation and sulphur-containing antioxidants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *112*, 183–192.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144–158.

Srivastava, D., Tiwari, M., Dutta, P., Singh, P., Chawda, K., Kumari, M., & Chakrabarty, D. (2021a). Chromium stress in plants: Toxicity, tolerance and phytoremediation. In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 13, Issue 9). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/su13094629

Srivastava, D., Tiwari, M., Dutta, P., Singh, P., Chawda, K., Kumari, M., & Chakrabarty, D. (2021b). Chromium stress in plants: Toxicity, tolerance and phytoremediation. In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 13, Issue 9). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/su13094629

Tito, A., Carola, A., Bimonte, M., Barbulova, A., Arciello, S., de Laurentiis, F., Monoli, I., Hill, J., Gibertoni, S., & Colucci, G. (2011). A tomato stem cell extract, containing antioxidant compounds and metal chelating factors, protects skin cells from heavy metal-induced damages. *International Journal of Cosmetic Science*, *33*(6), 543–552.

Van Delden, S. H., Nazarideljou, M. J., & Marcelis, L. F. M. (2020). Nutrient solutions for Arabidopsis thaliana: a study on nutrient solution composition in hydroponics systems. *Plant Methods*, *16*, 1–14.

Vanacore, A., Forgione, M. C., Cavasso, D., Nguyen, H. N. A., Molinaro, A., Saenz, J. P., D'Errico, G., Paduano, L., Marchetti, R., & Silipo, A. (2022). Role of EPS in mitigation of plant abiotic stress: The case of Methylobacterium extorquens PA1. *Carbohydrate Polymers*, *295*, 119863.

Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, *151*(1), 59–66. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1

Wang, M., Li, H., Xu, K., Fang, J., Yu, C., Zheng, W., & Ma, H. (2025). Physiological and molecular responses of tomato and citrus to chromium (III) stress at early growth stage. *BMC Plant Biology*, *25*(1). https://doi.org/10.1186/s12870-025-06567-x

Yan, G., Gao, Y., Xue, K., Qi, Y., Fan, Y., Tian, X., Wang, J., Zhao, R., Zhang, P., Liu, Y., & Liu, J. (2023). Toxicity mechanisms and remediation strategies for chromium exposure in the environment. In *Frontiers in Environmental Science* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fenvs.2023.1131204

Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, *64*(4), 555–559.

Zulfiqar, U., Haider, F. U., Ahmad, M., Hussain, S., Maqsood, M. F., Ishfaq, M., Shahzad, B., Waqas, M. M., Ali, B., & Tayyab, M. N. (2023). Chromium toxicity, speciation, and remediation strategies in soil-plant interface: A critical review. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 1081624.

Zulfiqar, U., Haider, F. U., Ahmad, M., Hussain, S., Maqsood, M. F., Ishfaq, M., Shahzad, B., Waqas, M. M., Ali, B., Tayyab, M. N., Ahmad, S. A., Khan, I., & Eldin, S. M. (2023). Chromium toxicity, speciation, and remediation strategies in soil-plant interface: A critical review. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1081624

Adamipour, N., Nazari, F., Nalousi, A. M., & Teixeira da Silva, J. A. (2025). Evaluation of the molecular mechanism underlying proline metabolic and catabolic pathways and some morpho-physiological traits of tobacco (Nicotiana tabacum L.) plants under arsenic stress. *BMC Plant Biology*, *25*(1), 258.

Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro. In *Methods in enzymology* (Vol. 105, pp. 121–126). Elsevier.

Ahammed, G. J., Sun, S., Qu, K., Chen, J., Dong, Y., Liu, A., & Chen, S. (2025). Hydrogen peroxide signaling mediates dopamine-induced chromium stress tolerance in tomato. *Environmental Pollution*, *371*, 125949.

Ali, S., Mir, R. A., Tyagi, A., Manzar, N., Kashyap, A. S., Mushtaq, M., Raina, A., Park, S., Sharma, S., Mir, Z. A., Lone, S. A., Bhat, A. A., Baba, U., Mahmoudi, H., & Bae, H. (2023a). Chromium Toxicity in Plants: Signaling, Mitigation, and Future Perspectives. In *Plants* (Vol. 12, Issue 7). MDPI. https://doi.org/10.3390/plants12071502

Ali, S., Mir, R. A., Tyagi, A., Manzar, N., Kashyap, A. S., Mushtaq, M., Raina, A., Park, S., Sharma, S., Mir, Z. A., Lone, S. A., Bhat, A. A., Baba, U., Mahmoudi, H., & Bae, H. (2023b). Chromium Toxicity in Plants: Signaling, Mitigation, and Future Perspectives. In *Plants* (Vol. 12, Issue 7). MDPI. https://doi.org/10.3390/plants12071502

Altaf, M. M., Yi, H., Bashir, S., Abbasi, S. S., Anwar, M., Alsahli, A. A., Altaf, M. A., & Ahmad, P. (2024a). Mitigating chromium stress in tomato plants using green-silicone nanoparticles: Enhancing cellular oxidative stress management and chromium reduction. *Scientia Horticulturae*, *338*, 113635.

Altaf, M. M., Yi, H., Bashir, S., Abbasi, S. S., Anwar, M., Alsahli, A. A., Altaf, M. A., & Ahmad, P. (2024b). Mitigating chromium stress in tomato plants using green-silicone nanoparticles: Enhancing cellular oxidative stress management and chromium reduction. *Scientia Horticulturae*, *338*, 113635.

Amiripour, H., Iranbakhsh, A., Saadatmand, S., Mousavi, F., & Oraghi Ardebili, Z. (2025). Exogenous application of melatonin and chitosan mitigate simulated microgravity stress in the Rocket (Eruca sativa L.) plant. *Plant Physiology and Biochemistry*, *218*. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.109294

Anderson, M. E. (1985). [70] Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. In *Methods in enzymology* (Vol. 113, pp. 548–555). Elsevier.

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiology*, *24*(1), 1.

Atta, M. I., Zehra, S. S., Zhuo, Z., Ali, H., Abbas, M. W., Abbas, S. N., Sarwar, S., Muneer, F., Ahmad, I., & Xu, D. (2024). Nitrogen and carbohydrate metabolisms are key factors in maize (Zea mays L.) germination under chromium-induced ROS. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *131*(6), 2099–2109.

Baltazar, M., Correia, S., Guinan, K. J., Sujeeth, N., Bragança, R., & Gonçalves, B. (2021). Recent advances in the molecular effects of biostimulants in plants: An overview. In *Biomolecules* (Vol. 11, Issue 8). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/biom11081096

Bates, L. S., Waldren, R. P. A., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, *39*, 205–207.

Bouguerra, M. L. (1997). *La pollution invisible*. FeniXX.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1–2), 248–254.

Cakmak, I., & Marschner, H. (1992). Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*, *98*(4), 1222–1227.

Chaudhuri, R., & Balasubramanian, P. (2023). Evaluating the potential of exopolysaccharide extracted from the spent cultivation media of Spirulina sp. as plant biostimulant. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1–10.

Choudhary, S., Tiwari, M., & Poluri, K. M. (2024). A Biorefinery Approach Integrating Lipid and EPS Augmentation Along with Cr (III) Mitigation by Chlorella minutissima. *Cells*, *13*(24), 2047.

Colla, G., & Rouphael, Y. (2020). Microalgae: New Source of Plant Biostimulants. In *Agronomy* (Vol. 10, Issue 9). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/agronomy10091240

Dawood, M. F. A., Tahjib-Ul-Arif, M., Shirazy, B. J., & Latef, A. A. H. A. (2025). Unraveling the role of κ-carrageenan on the combined effect of drought and chromium stress in wheat (Triticum aestivium L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, *223*, 109781.

Deng, D., Gao, Q., Zeng, R., Jiang, J., Shen, Q., Ma, Y., Fang, W., & Zhu, X. (2025). The Proline Dehydrogenase Gene CsProDH1 Regulates Homeostasis of the Pro-P5C Cycle Under Drought Stress in Tea Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(7). https://doi.org/10.3390/ijms26073121

Devi, K., Sharma, S., Singh, A. D., Bhardwaj, T., Gandhi, S. G., Ohri, P., Bhardwaj, R., Alsahli, A. A., & Ahmad, P. (2024a). Plant-derived biochar and salicylic acid as biostimulants for lycopersicon esculentum under chromium toxicity conditions: insights from physiochemical attributes, antioxidants, and relative gene expression. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *12*(6), 114372.

Devi, K., Sharma, S., Singh, A. D., Bhardwaj, T., Gandhi, S. G., Ohri, P., Bhardwaj, R., Alsahli, A. A., & Ahmad, P. (2024b). Plant-derived biochar and salicylic acid as biostimulants for lycopersicon esculentum under chromium toxicity conditions: insights from physiochemical attributes, antioxidants, and relative gene expression. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *12*(6), 114372.

Diomande, M., Gandolfo, P., Hari, J. R., Laggiard, E., Djenidi, H., Costedoat, C., & Verna, É. (2025). Une méthode d'avenir-Le tartre dentaire comme témoin de la consommation de drogues. *Médecine/Sciences*, *41*(1), 100–102.

El Hachimi, M. L., Fekhaoui, M., El Abidi, A., & Rhoujatti, A. (2014). Contamination des sols par les métaux lourds à partir de mines abandonnées : le cas des mines Aouli-Mibladen-Zeïda au Maroc. *Cahiers Agricultures*, *23*(3), 213–219.

El Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I., & Daayf, F. (2010). Chitosan in plant protection. In *Marine Drugs* (Vol. 8, Issue 4, pp. 968–987). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/md8040968

Elkelish, A., Alhudhaibi, A. M., Hossain, A. S., Haouala, F., Alharbi, B. M., El-Banna, M. F., Rizk, A., Badji, A., AlJwaizea, N. I., & Sayed, A. A. S. (2024). Alleviating chromium-induced oxidative stress in Vigna radiata through exogenous trehalose application: insights into growth, photosynthetic efficiency, mineral nutrient uptake, and reactive oxygen species scavenging enzyme activity enhancement. *BMC Plant Biology*, *24*(1). https://doi.org/10.1186/s12870-024-05152-y

Erkman, S. (2004). *Vers une écologie industrielle* (Vol. 137). ECLM.

Fatai, M. I., Ibrahim, M. A., Ibrahim, M., Umoren, O. D., Saheed, M. B., Ndriza, J. B., & Okoriko, E. M. (2024). Concentration and Health Risk Assessment of Selected Heavy Metals (HMs) in African spinach (Amaranthus hybridus) and Tomato (Solanum lycopersicum) Grown around Ashaka Community, Gombe State, Nigeria. *Journal of Chemistry and Nutritional Biochemistry*, *5*(2), 16–26. https://doi.org/10.48185/jcnb.v5i2.1175

Ghouri, F., Shahid, M. J., Ali, S., Ashraf, H., Alomrani, S. O., Liu, J., Alshehri, M. A., Fahad, S., & Shahid, M. Q. (2025). Tetraploidy and Fe 2 O 3 nanoparticles: dual strategy to reduce the Cd-induced toxicity in rice plants by ameliorating the oxidative stress and downregulation of metal transporters. *Environmental Science: Nano*, *12*(1), 634–646.

Gupta, S., & Seth, C. S. (2021). Salicylic acid alleviates chromium (VI) toxicity by restricting its uptake, improving photosynthesis and augmenting antioxidant defense in Solanum lycopersicum L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *27*, 2651–2664.

Hafiz, M. F., & Ma, L. (2021a). Effect of chromium on seed germination, early seedling growth and chromium accumulation in tomato genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, *43*(7), 100.

Hafiz, M. F., & Ma, L. (2021b). Effect of chromium on seed germination, early seedling growth and chromium accumulation in tomato genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, *43*(7), 100.

Halim, M. A., Rahman, M. M., Megharaj, M., & Naidu, R. (2020a). Cadmium immobilization in the rhizosphere and plant cellular detoxification: role of plant-growth-promoting rhizobacteria as a sustainable solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *68*(47), 13497–13529.

Halim, M. A., Rahman, M. M., Megharaj, M., & Naidu, R. (2020b). Cadmium immobilization in the rhizosphere and plant cellular detoxification: role of plant-growth-promoting rhizobacteria as a sustainable solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *68*(47), 13497–13529.

Hassan, M. U., Lihong, W., Nawaz, M., Ali, B., Tang, H., Rasheed, A., Zain, M., Alqahtani, F. M., Hashem, M., & Qari, S. H. (2024). Silicon a key player to mitigate chromium toxicity in plants: mechanisms and future prospective. *Plant Physiology and Biochemistry*, 108529.

Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *125*(1), 189–198.

Kaya, C., Ashraf, M., Alyemeni, M. N., Rinklebe, J., & Ahmad, P. (2023). Citric acid and hydrogen sulfide cooperate to mitigate chromium stress in tomato plants by modulating the ascorbate-glutathione cycle, chromium sequestration, and subcellular allocation of chromium. *Environmental Pollution*, *335*, 122292.

Kaya, C., & Uğurlar, F. (2024). Hydrogen Sulfide and 5-Aminolevulinic Acid Synergistically Enhance Drought Tolerance in Tomato (Solanum lycopersicum L.). *Food and Energy Security*, *13*(5), e70007.

Koh, Y. S., Wong, S. K., Ismail, N. H., Zengin, G., Duangjai, A., Saokaew, S., Phisalprapa, P., Tan, K. W., Goh, B. H., & Tang, S. Y. (2021). Mitigation of Environmental Stress-Impacts in Plants: Role of Sole and Combinatory Exogenous Application of Glutathione. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.791205

KONE, H., YARO, F. K., LY, O., TRAORE, M. M., DJIGUIBA, D., & DOUMBIA, M. L. (2025). Contamination des sédiments par les pesticides et les métaux lourds dans le bassin du fleuve Sénégal et ses affluents, République du Mali. *Afrique SCIENCE*, *26*(4), 12–27.

Kumar, D., Manhas, R. K., & Ohri, P. (2025). Synergistic Interaction of Sodium Nitroprusside and Serratia marcescens in Mitigation of Nematode Stress in Tomato. *Nitric Oxide*.

Kumar, V., Suryakant, P., Kumar, S., & Kumar, N. (2016). Effect of chromium toxicity on plants: A review. *Agriways*, *4*(1), 107–120.

López-Bucio, J. S., Ravelo-Ortega, G., & López-Bucio, J. (2022). Chromium in plant growth and development: Toxicity, tolerance and hormesis. *Environmental Pollution*, *312*, 120084.

Ma, J., Saleem, M. H., Ali, B., Rasheed, R., Ashraf, M. A., Aziz, H., Ercisli, S., Riaz, S., Elsharkawy, M. M., Hussain, I., Alhag, S. K., Ahmed, A. E., Vodnar, D. C., Mumtaz, S., & Marc, R. A. (2022). Impact of foliar application of syringic acid on tomato (Solanum lycopersicum L.) under heavy metal stress-insights into nutrient uptake, redox homeostasis, oxidative stress, and antioxidant defense. *Frontiers in Plant Science*, *13*. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.950120

Ma, Y., Freitas, H., & Dias, M. C. (2022). Strategies and prospects for biostimulants to alleviate abiotic stress in plants. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1024243

Mutale-joan, C., Redouane, B., Najib, E., Yassine, K., Lyamlouli, K., Laila, S., Zeroual, Y., & Hicham, E. A. (2020). Screening of microalgae liquid extracts for their bio stimulant

properties on plant growth, nutrient uptake and metabolite profile of Solanum lycopersicum L. *Scientific Reports*, *10*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-020-59840-4

Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, *22*(5), 867–880.

Naz, T., Iqbal, M. M., Raza, B., Mubeen, M. A., Nadeem, M. A., Al-Ghamdi, A. A., Elshikh, M. S., Rizwan, M., & Iqbal, R. (2025). Green remediation of lead (pb) from Pb-toxic soil by combined use of silicon nanomaterials and leguminous Lens culinaris L. plants. *Scientific Reports*, *15*(1), 4366.

Nwodo, U. U., Green, E., & Okoh, A. I. (2012). Bacterial exopolysaccharides: Functionality and prospects. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 13, Issue 11, pp. 14002–14015). https://doi.org/10.3390/ijms131114002

Oliveira, H. (2012). Chromium as an environmental pollutant: insights on induced plant toxicity. *Journal of Botany*, *2012*(1), 375843.

Qin, C., Lian, H., Alqahtani, F. M., & Ahanger, M. A. (2024a). Chromium mediated damaging effects on growth, nitrogen metabolism and chlorophyll synthesis in tomato can be alleviated by foliar application of melatonin and jasmonic acid priming. *Scientia Horticulturae*, *323*, 112494.

Qin, C., Lian, H., Alqahtani, F. M., & Ahanger, M. A. (2024b). Chromium mediated damaging effects on growth, nitrogen metabolism and chlorophyll synthesis in tomato can be alleviated by foliar application of melatonin and jasmonic acid priming. *Scientia Horticulturae*, *323*, 112494.

Qureshi, F. F., Ashraf, M. A., Rasheed, R., Hussain, I., Rizwan, M., Iqbal, M., & Yong, J. W. H. (2024). Microbial-assisted alleviation of chromium toxicity in plants: A critical review. *Plant Stress*, *11*, 100394.

Rachidi, F., Benhima, R., Sbabou, L., & El Arroussi, H. (2020). Microalgae polysaccharides bio-stimulating effect on tomato plants: Growth and metabolic distribution. *Biotechnology Reports*, *25*. https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00426

Rahim, H. U., Ali, W., Uddin, M., Ahmad, S., Khan, K., Bibi, H., & Alatalo, J. M. (2025). Abiotic stresses in soils, their effects on plants, and mitigation strategies: A literature review. *Chemistry and Ecology*, *41*(4), 552–585.

Raja, V., Qadir, S. U., Kumar, N., Alsahli, A. A., Rinklebe, J., & Ahmad, P. (2023a). Melatonin and strigolactone mitigate chromium toxicity through modulation of ascorbate-glutathione pathway and gene expression in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, *201*, 107872.

Raja, V., Qadir, S. U., Kumar, N., Alsahli, A. A., Rinklebe, J., & Ahmad, P. (2023b). Melatonin and strigolactone mitigate chromium toxicity through modulation of ascorbate-glutathione pathway and gene expression in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, *201*, 107872.

Rebak, R. B. (2017). Iron-chrome-aluminum alloy cladding for increasing safety in nuclear power plants. *EPJ Nuclear Sciences & Technologies*, *3*, 34. https://doi.org/10.1051/epjn/2017029

Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E., & Tava, A. (2019). Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions. In *Agronomy* (Vol. 9, Issue 4). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/agronomy9040192

Saleem, M. H., Afzal, J., Rizwan, M., Shah, Z. U. H., Depar, N., & Usman, K. (2022). Chromium toxicity in plants: consequences on growth, chromosomal behavior and mineral nutrient status. In *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* (Vol. 46, Issue 3, pp. 371–389). Turkiye Klinikleri. https://doi.org/10.55730/1300-011X.3010

Sánchez, P., Castro-Cegrí, A., Sierra, S., Garrido, D., Llamas, I., Sampedro, I., & Palma, F. (2023). The synergy of halotolerant PGPB and mauran mitigates salt stress in tomato (Solanum lycopersicum) via osmoprotectants accumulation. *Physiologia Plantarum*, *175*(6), e14111.

Sánchez-Rodríguez, E., Moreno, D. A., Ferreres, F., del Mar Rubio-Wilhelmi, M., & Ruiz, J. M. (2011). Differential responses of five cherry tomato varieties to water stress: changes on phenolic metabolites and related enzymes. *Phytochemistry*, *72*(8), 723–729.

Sasikumar, K., Vaikkath, D. K., Devendra, L., & Nampoothiri, K. M. (2017). An exopolysaccharide (EPS) from a Lactobacillus plantarum BR2 with potential benefits for making functional foods. *Bioresource Technology*, *241*, 1152–1156.

Shah, T., Khan, Z., Alahmadi, T. A., Imran, A., Asad, M., Khan, S. R., & Ansari, M. J. (2024). Correction to: Mycorrhizosphere bacteria inhibit chromium uptake and phytotoxicity by regulating proline metabolism, antioxidant defense system, and aquaporin gene expression in tomato. *Environmental Science and Pollution Research*, *31*(17), 24851.

Sharma, S., Raja, V., Bhat, A. H., Kumar, N., Alsahli, A. A., & Ahmad, P. (2025a). Innovative strategies for alleviating chromium toxicity in tomato plants using melatonin functionalized zinc oxide nanoparticles. *Scientia Horticulturae*, *341*, 113930.

Sharma, S., Raja, V., Bhat, A. H., Kumar, N., Alsahli, A. A., & Ahmad, P. (2025b). Innovative strategies for alleviating chromium toxicity in tomato plants using melatonin functionalized zinc oxide nanoparticles. *Scientia Horticulturae*, *341*, 113930.

Sharma, S., Raja, V., Sushma, Bhat, A. H., Kumar, N., Alsahli, A. A., & Ahmad, P. (2025). Innovative strategies for alleviating chromium toxicity in tomato plants using melatonin functionalized zinc oxide nanoparticles. *Scientia Horticulturae*, *341*. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113930

Singh, M., Kushwaha, B. K., Singh, S., Kumar, V., Singh, V. P., & Prasad, S. M. (2017). Sulphur alters chromium (VI) toxicity in Solanum melongena seedlings: role of sulphur

assimilation and sulphur-containing antioxidants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *112*, 183–192.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144–158.

Srivastava, D., Tiwari, M., Dutta, P., Singh, P., Chawda, K., Kumari, M., & Chakrabarty, D. (2021a). Chromium stress in plants: Toxicity, tolerance and phytoremediation. In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 13, Issue 9). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/su13094629

Srivastava, D., Tiwari, M., Dutta, P., Singh, P., Chawda, K., Kumari, M., & Chakrabarty, D. (2021b). Chromium stress in plants: Toxicity, tolerance and phytoremediation. In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 13, Issue 9). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/su13094629

Sujeetha M, Sharmila S, Jayanthi J, & Mg, R. (2015). IJPT QUANTITATIVE AND QUALITATIVE ANALYSIS OF CHITIN AND CHITOSAN FROM THE SHELL OF THE MUD CRAB, SCYLLA SERRATA (FORSKAL, 1775). International Journal of Pharmacy & Therapeutics, 6(2), 69–72. www.ijptjournal.com

Tito, A., Carola, A., Bimonte, M., Barbulova, A., Arciello, S., de Laurentiis, F., Monoli, I., Hill, J., Gibertoni, S., & Colucci, G. (2011). A tomato stem cell extract, containing antioxidant compounds and metal chelating factors, protects skin cells from heavy metal-induced damages. *International Journal of Cosmetic Science*, *33*(6), 543–552.

Van Delden, S. H., Nazarideljou, M. J., & Marcelis, L. F. M. (2020). Nutrient solutions for Arabidopsis thaliana: a study on nutrient solution composition in hydroponics systems. *Plant Methods*, *16*, 1–14.

Vanacore, A., Forgione, M. C., Cavasso, D., Nguyen, H. N. A., Molinaro, A., Saenz, J. P., D'Errico, G., Paduano, L., Marchetti, R., & Silipo, A. (2022). Role of EPS in mitigation of plant abiotic stress: The case of Methylobacterium extorquens PA1. *Carbohydrate Polymers*, *295*, 119863.

Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, *151*(1), 59–66. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1

Wang, M., Li, H., Xu, K., Fang, J., Yu, C., Zheng, W., & Ma, H. (2025). Physiological and molecular responses of tomato and citrus to chromium (III) stress at early growth stage. *BMC Plant Biology*, *25*(1). https://doi.org/10.1186/s12870-025-06567-x

Yan, G., Gao, Y., Xue, K., Qi, Y., Fan, Y., Tian, X., Wang, J., Zhao, R., Zhang, P., Liu, Y., & Liu, J. (2023). Toxicity mechanisms and remediation strategies for chromium exposure in

the environment. In *Frontiers in Environmental Science* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fenvs.2023.1131204

Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, *64*(4), 555–559.

Zulfiqar, U., Haider, F. U., Ahmad, M., Hussain, S., Maqsood, M. F., Ishfaq, M., Shahzad, B., Waqas, M. M., Ali, B., & Tayyab, M. N. (2023). Chromium toxicity, speciation, and remediation strategies in soil-plant interface: A critical review. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 1081624.

Zulfiqar, U., Haider, F. U., Ahmad, M., Hussain, S., Maqsood, M. F., Ishfaq, M., Shahzad, B., Waqas, M. M., Ali, B., Tayyab, M. N., Ahmad, S. A., Khan, I., & Eldin, S. M. (2023). Chromium toxicity, speciation, and remediation strategies in soil-plant interface: A critical review. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1081624

الملخص

البوليسكاريدات الخارجية (EPS) والكيتوزون (CHT) هما منظمين متعددين للنمو النباتي، يلعبان عدة أدوار في تعزيز نمو النباتات التي تتعرض للإجهاد الناتج عن المعادن الثقيلة، الإجهاد الناتج عن الكروم (Cr) يعيق العمليات الخلوية والفسيولوجية لنباتات الطماطم، مما يؤدي إلى خسائر كبيرة في الإنتاج، خاصة في المناطق الجافة وشبه الجافة. كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثيرات المفيدة الفردية والمجمعة لـ EPS كمنشط حيوي و CHT على الخصائص المورفولوجية والفسيولوجية والبيوكيميائية لنباتات الطماطم (Solanum lycopersicum L) ، في وجود أو غياب الكروم .(Cr) تم إجراء تجربة وفق خطة عشوائية تمامًا مع ثماني تكرارات تحتوي كل منها على عشرة شتلات طماطم مزروعة في المختبر، وبعد 7 أيام من المعالجة، تم جمع الشتلات وتحليلها لمختلف المعايير المورفولوجية والفسيولوجية والبيوكيميائية. أظهرت النتائج أن الكروم يؤثر سلبًا على الكتلة الحيوية الطازجة والجافة للجزء الجذري والجزء الهوائي، وطول النبات، وأن التطبيق الخارجي لـ EPS وCHT بشكل منفصل أو مجتمعة يقلل بشكل كبير من الأضرار التي يسببها الكروم، ويزيد من محتوى الكلوروفيل ويثبط الإنتاج المفرط لمؤشرات الإجهاد التأكسدي مقارنة بالنباتات غير المعالجة. علاوة على ذلك، أظهرت الشتلات المعالجة تحسنًا في نظام الدفاع المضاد للأكسدة، يتميز بنشاط متزايد للإنزيمات المضادة للأكسدة (أسكوربات بيروكسيداز APX، بيروكسيداز POD، فينيل ألانين أمونيا-لايز PAL، كاتالاز CAT)،مما يحسن تحملها لسمية الكروم. تشير النتائج إلى أن تطبيق EPS وCHT، سواء بشكل منفرد أو مشترك، يمتلكان إمكانيات كبيرة لتخفيف سمية الكروم في الطماطم، وربما في أنواع أخرى من المحاصيل. يمكن أن تفتح هذه النتائج الطريق لأبحاث متعمقة وتطبيق موسع للمنبهات البيولوجية لمساعدة النباتات على التغلب على الظروف البيئية القاسية في الفضاء.

الكلمات المفتاحية: الكيتوزون؛ المعادن الثقيلة؛ الطماطم؛ البوليمرات الحيوية؛ المحفزات الحيوية؛ الإجهاد التأكسدي؛ مضادات الأكسدة الإنزيمية.

Résumé

Les exopolysaccharides (EPS) et le chitosane (CHT) sont des régulateurs de croissance végétale polyvalents, jouant plusieurs rôles dans la promotion de la croissance des plants soumises à des stress causés par les métaux lourds, Le stress dû aux chrome (Cr) perturbe les processus cellulaires et physiologiques des plantes de tomate, entraînant des pertes de rendement substantielles, en particulier dans les régions arides et semi-arides. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet bénéfiques tant individuels que combinés des EPS comme biostimulant et de CHT sur les caractéristiques morpho-physio-biochimiques des plantules de tomates *(Solanum lycopersicum* L*)*, en présence ou en absence de Cr. Une expérience selon un plan complètement aléatoire a été conduite avec huit répétitions contenant chacune dix plantules de tomate cultivée in vitro, après 7 jours de traitement, les plantules ont été récoltés et analysés pour divers paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques. Les résultats ont montré que le Cr affectait négativement la biomasse fresh et sèche de la partie racinaire et aérienne, et la longueur végétale, et l'application exogène d'EPS et de CHT isolées ou en combinaison réduit considérablement les dommages causés par le Cr et, en augmentant la teneur en chlorophylle et en inhibant la production excessive de marqueurs de stress oxydatif comparativement aux plantules non traitées. De plus, les plantules traitées ont présenté une amélioration du système de défense antioxydant, caractérisée par une activité accrue des antioxydants enzymatiques (ascorbate peroxydase APX, peroxydase POD, Phénylalanine Ammonia-Lyase PAL, catalase CAT), d'améliorer leur tolérance à la toxicité du Cr, les résultats suggèrent que l'application d'EPS et de CHT, seules ou associées, présente un fort potentiel pour atténuer la toxicité du chrome chez la tomate, et potentiellement chez d'autres espèces cultivées. Ces résultats peuvent ouvrir la voie à des recherches approfondies et à une application élargie des stimuli biologiques afin d'aider les plantes à surmonter les conditions environnementales extrêmes de l'espace.

Mots-clés : Chitosane ; Métaux lourds ; Tomate ; Biopolymères ; Biostimulants ; Stress oxydatif ; antioxydants enzymatiques.

Abstract

Exopolysaccharides (EPS) and chitosan (CHT) are multifunctional plant growth regulators that play several roles in promoting the growth of seedlings exposed to heavy metal-induced stress. Chromium (Cr) stress disrupts the cellular and physiological processes in tomato plants, leading to substantial yield losses, particularly in arid and semi-arid regions. The aim of this study was to evaluate the individual and combined beneficial effects of EPS as a biostimulant and CHT on the morpho-physio-biochemical characteristics of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.) in the presence or absence of Cr. A completely randomized design experiment was conducted with eight replicates, each containing ten in vitro-cultivated tomato seedlings. After seven days of treatment, the seedlings were harvested and analyzed for various morphological, physiological, and biochemical parameters. The results showed that Cr negatively affected fresh and dry biomass of both root and shoot systems, plant length, and that the exogenous application of EPS and CHT, individually or in combination, significantly reduced Cr-induced damage by increasing chlorophyll content and inhibiting the excessive production of oxidative stress markers compared to untreated seedlings. Furthermore, treated seedlings exhibited an enhanced antioxidant defense system, characterized by increased activity of enzymatic antioxidants (ascorbate peroxidase APX, peroxidase POD, phenylalanine ammonia-lyase PAL, and catalase CAT), improving their tolerance to Cr toxicity. The results suggest that the application of EPS and CHT, alone or in combination, has strong potential to mitigate chromium toxicity in tomato plants, and potentially in other cultivated species. These findings may pave the way for further research and broader application of biological stimuli to help plants overcome extreme environmental conditions, including those encountered in space.

Keywords: Chitosan; Heavy metals; Tomato; Biopolymers; Biostimulants; Oxidative stress; Enzymatic antioxidants