REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Ecologie et environnement

Melle BOUKHEDDIMI Mahdia

Melle MOUALDIA Abir Oumaima

Thème :

Réponse physiologique et stress oxydatif du blé (*Triticum aestivum* L.) sous toxicité simple et combinée de pesticides et d'antibiotiques

Soutenue publiquement le : 19/06 /2023., Devant le jury composé de :

ATSAMNIA Djamel	**Grade : MCA**	Univ Médéa	Président
HASSEIN-BEY Amel Hind	**Grade : Docteur**	Univ Médéa	Examinateur
TOUZOUT Nabil	**Grade : Docteur**	Univ Médéa	Encadrant
AINAS Mahfoude	**Grade : MCB**	Univ Médéa	Co-Encadrant

« الحمد لله الذي هدانا لهذا وما كنا لنهتدي لولا ان هدانا الله »

*D'abord et avant tout, Je suis ici **grâce à Dieu** et pas à moi*

Quant à après..

"Il n'y a plus rien à m'offrir car mon père a tout fait"

À qui était mon soutien ... mon encouragement et mon refuge

À qui je suis fier de porter son nom ... et que je suis sa fille

A toi mon cher papa.

"Ma mère est un trésor précieux qui sait répondre à mes besoins avant même que je les exprime"

À ma héroïne, ma première professeure... ma compagne, et le puits de mes secrets.

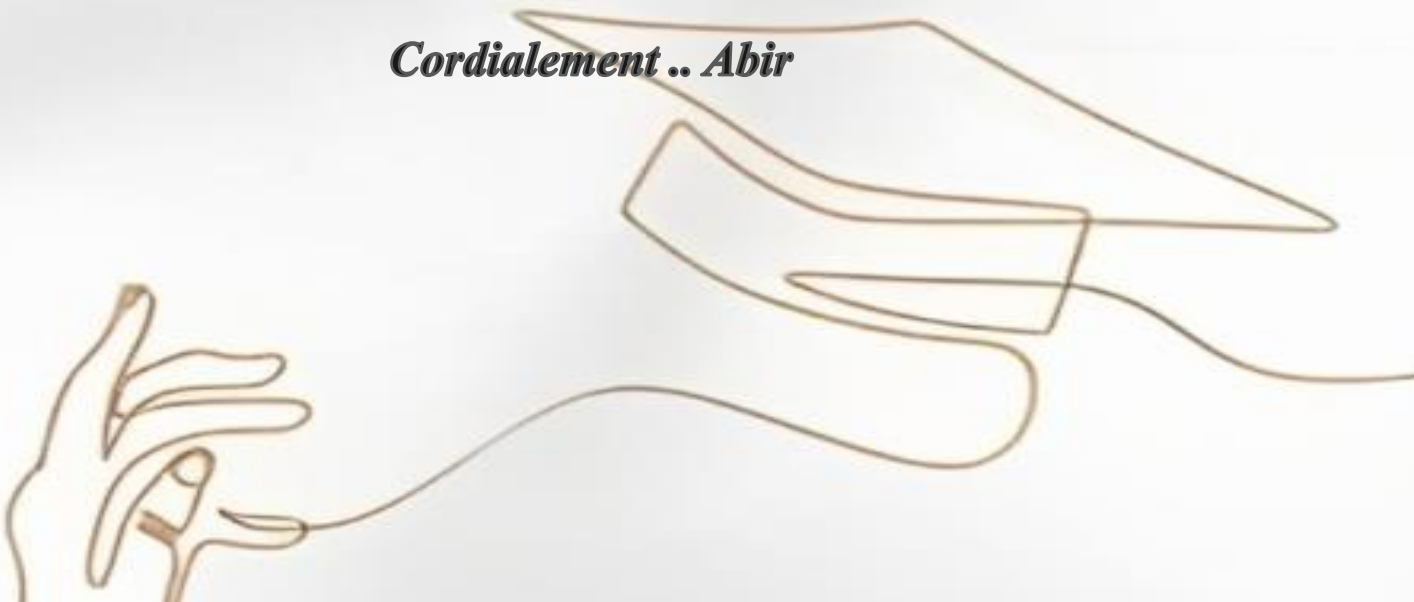
Qui m'a appris la tendresse et l'amour... le sens de la patience et de la force.

A ma belle maman.

*À **ma tante, mes oncles** et mes chers frères, **Muhammad, Abd al-Rahman** et **Imad** ... Vous êtes tout ce que le mot famille signifie pour moi, ma famille bien-aimée, qui m'a soutenu, encouragé et accompagné a toutes les étapes de ma vie.*

À mes encadrants, Dr. TOUZOUT Nabil, Dr. AINES, mon binome et ma soeur mahdia et à tous les enseignants, qui ont contribué à façonner mon parcours universitaire et m'ont aidé à atteindre ce succès ... Je vous souhaite à tous le succès et le bonheur dans votre vie, et que vous continuiez à inspirer et soutenir les autres sur leur chemin comme vous l'avez fait pour moi.

Cordialement .. Abir



Dédicace :

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la Flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, ma cher Maman.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutienmoral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père.

A ma chère sœur et au soutien dans la vie mon frère.

A toutes ma famille sans exception.

A mon chère binôme Abir

Mahdia





Remerciement :

Tout d'abord, je voudrais exprimer ma profonde gratitude à Dieu Tout-Puissant qui nous a doté de la volonté et du courage nécessaires pour réaliser ce projet.

Mes sincères remerciements et le plus grand respect à mes encadrants, ***Dr TOUZOUT*** *et* ***Dr AINES****, pour leurs encouragements et leurs précieux conseils tout au long de cette période.*

Enfin, je tiens à exprimer mes sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué à cette étude. Votre participation a été grandement appréciée.

الاستجابة الفسيولوجية والإجهاد التأكسدي للقمح (*Triticum aestivum L.*) في ظل السمية البسيطة والمجمعة لمبيدات الآفات والمضادات الحيوية

ملخص:

تُعرف المضادات الحيوية والمبيدات بالملوثات الناشئة في البيئة، بما في ذلك النباتات. أكسيد النيتريك هو جزيء متعدد الاستخدامات معروف على نطاق واسع بمساعدة النباتات لتصبح أكثر مقاومة لمجموعة متنوعة من عوامل الإجهاد. تهدف دراستنا إلى معرفة آثار المضادات الحيوية (AMP، 8 ملغ في الليتر)، والمبيدات (CON، 1.5-2 ليتر في الهكتار) وأكسيد النيتريك (NO، 100 ميكرو مول) على شتلات القمح المزروعة في وسط مائي أثناء مرحلة النمو. بعد 7 أيام من التعرض للإجهاد، لوحظت أعراض تسمم نباتي في شتلات القمح. عند استخدام AMP وCON، تم إعاقة نمو النبات بشدة، مما أدى إلى انخفاض الكتلة الحيوية وإجمالي طول الشتلات ومحتوى الكلوروفيل. بالإضافة إلى ذلك، استجاب النظام المضاد للأكسدة أيضًا بقوة. لوحظت زيادة في مستويات أكسدة الدهون الغشائية (MDA) وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2). ومع ذلك، أدت إضافة أكسيد النيتروجين لاستعادة تأخر النمو عن طريق تعديل محتويات الكلوروفيل والبرولين، بالإضافة إلى التداخل الواضح بين نشاط مضادات الأكسدة والمستقلبات الثانوية مما يؤدي إلى انخفاض داخلي في H_2O_2. توضح هذه النتائج سمية المبيدات والمضادات الحيوية على القمح، مما يجعل من الممكن تقييم المخاطر التي تشكلها هذه المركبات في البيئة. علاوة على ذلك، يوفر استخدام أكسيد النيتروجين (NO) آفاقًا واعدة للتخفيف من هذا التلوث من خلال توفير حلول محتملة.

الكلمات المفتاحية: قمح، كونسينتو، أمبيسيلين، أكسيد النيتريك، الإجهاد التأكسدي.

Réponse physiologique et stress oxydatif du blé (*Triticum aestivum* L.) sous toxicité simple et combinée de pesticides et d'antibiotiques

Résumé :

Les antibiotiques et les pesticides sont connus comme des polluants émergents dans l'environnement. L'oxyde nitrique est une molécule de signalisation polyvalente qui est largement reconnue pour aider les plantes à devenir plus résistantes à une variété de facteurs de stress. Notre étude visait à étudier les effets d'antibiotique (AMP, 8 mg L^{-1}), de pesticide (CON, 1,5-2 L Ha^{-1}) et de l'oxyde nitrique (NO,100 μM) sur les semis de blé cultivés en culture hydroponique pendant la phase de croissance. Après 7 jours d'exposition, une phytotoxicité a été observée dans les semis de blé. Lors de l'utilisation d'AMP et de CON, la croissance des plantes a été sévèrement inhibée, ce qui a entraîné une diminution de la biomasse, de la longueur totale des semis et de la teneur en pigments. De plus, le système antioxydant a également répondu avec force. Des niveaux accrus de malondialdéhyde (MDA) et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ont été observés. Cependant, Le NO a restauré le retard de croissance en modulant les teneurs en chlorophylle et en proline, ainsi qu'une interférence claire entre l'activité antioxydante et le métabolite secondaire conduisant à une réduction endogène de H_2O_2. Ces résultats démontrent la toxicité des pesticides et des antibiotiques sur le blé, permettant ainsi d'évaluer les risques posés par ces composés dans l'environnement. Par ailleurs, l'utilisation d'oxyde nitrique (NO) offre des perspectives prometteuses pour atténuer cette pollution en apportant des solutions potentielles.

Mots clés : Blé, Consento, Ampicilline, Oxyde Nitrique, Stress Oxydatif.

Physiological response and oxidative stress of wheat (*Triticum aestivum* L.) under simple and combined toxicity of pesticides and antibiotics

Abstract:

Antibiotics and pesticides are known as emerging pollutants in the environment. Nitric oxide is a versatile signaling molecule that is widely known to help plants become more resistant to a variety of stressors. Our study aimed to investigate the effects of antibiotic (AMPICILLIN, 8 mg L^{-1}), pesticide (CONSENTO, 1.5-2 L h^{-1}) and nitric oxide (NO, 100 µM) on seedlings of wheat grown in hydroponics during the growth phase. After 7 days of exposure, phytotoxicity was observed in wheat seedlings. When using AMPICILLIN and CONSENTO, plant growth was severely inhibited, resulting in decreased biomass, total seedling length and pigment content. In addition, the antioxidant system also responded strongly. Increased levels of malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H_2O_2) were observed. Nitric Oxide restored the growth retardation through modulating the chlorophyll and proline contents, along with clear crosstalk between the antioxidant activity as well as secondary metabolite leading to endogenous H_2O_2 reduction. These results demonstrate the toxicity of pesticides and antibiotics on wheat, thus making it possible to assess the risks posed by these compounds in the environment. Furthermore, the use of nitric oxide (NO) offers promising prospects for mitigating this pollution by providing potential solutions.

Keywords: Wheat, Consento, Ampicillin, Nitric oxide, Oxidative stress.

Table des matières

Introduction _____

Chapitre Ⅰ : _____ ***3***

Les Pesticides _____ ***3***

1-1 Généralités sur les pesticides : _____ **3**

1-2 L'utilisation des pesticides : _____ **3**

1-3 La dynamique des pesticides : absorption, translocation et métabolisme : _____ **4**

1-4 Impacts des pesticides : _____ **5**

1-4-1 Les effets néfastes des pesticides sur la santé : _____ 6

1-4-2 La phytotoxicité des pesticides : _____ 8

Chapitre Ⅱ : _____ ***9***

Les antibiotiques _____ ***9***

2-1 Généralité sur les antibiotiques : _____ **9**

2-2 Le mécanisme de résistance bactérienne aux antibiotiques : _____ **9**

2-3 L'impact des antibiotiques sur l'environnement : _____ **10**

Chapitre Ⅲ : _____ ***11***

Oxyde nitrique _____ ***11***

3-1 Généralité sur l'oxyde nitrique : _____ **11**

3-2 Les rôles d'oxyde nitrique : _____ **12**

Matériels et méthode _____ ***14***

4-1 Objective d'étude : _____ **14**

4-2 Morphologie et importance économique des plantes expérimentales : _____ **14**

4-2-1 Triticum aestivum L : _____ 14

4-2-2 Classification du blé : _____ 14

4-2-3 Préparation du pesticides : _____ 15

4-4 Test de croissance : protocole de stress des plantes _____ **15**

4-4-1 Conditions de croissance des plantes : _____ 15

4-4-2 Milieu nutritif : _____ 15

4-5 Verrerie et produits chimiques : _____ 16

4-6 Stérilisation : _____ 16

4-7 Comportement de croissance : _____ **17**

4-7-1 Mesures de croissance : _____ 17

4-7-2 Extraction et estimation des pigments photosynthétiques : _____ 17

4-7-4 Analyse des indices de dommages oxydatifs : _____ 18

4-7-5 Analyse des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques : _____ 19

4-7-6 Constituants biochimiques : _____ 21

4-8 Analyses statistiques : _____ **22**

Résultats et discussion _____ *23*

5-1 Résultats : _____ **23**

5-1-1 Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la Longueurs et biomasse des pousses de blé : _____ 23

5-1-2 Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en chlorophylle totale des semis de blé : _____ 25

5-1-3 Accumulation de peroxyde d'hydrogène dans les semis de blé soumis au AMP et aux CON, ainsi qu'à l'oxyde nitrique (NO) : _____ 25

5-1-4 Teneur en malondialdéhyde dans les feuilles de blé soumis au AMP et aux CON, en association avec l'oxyde nitrique (NO) : _____ 26

5-1-5-Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur les Enzymes : ____ 27

5-1-6 Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en flavonoïde des semis de blé : _____ 31

5-1-7 Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en polyphénols totaux des semis de blé : _____ 32

5-1-8 Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en glutathion des semis de blé :_____ 33

5-2Discussion : _____ **35**

*Conclusion*_____ *40*

*Références*_____ *41*

Liste des figures :

Figure 1: *Répartition des pesticides en trois catégories : herbicides, fongicides et insecticides (Centanni et al., 2023).* _____ *3*
Figure 2: *illustre les catégories de pesticides, des exemples de chaque catégorie et les méthodes de détection employées pour les détecter (Issaka et al., 2023).* _____ *4*
Figure 3: *Schéma synthétique des mécanismes influençant la dynamique des pesticides dans l'environnement (Serra, 2015)* _____ *5*
Figure 4: *Effets écologiques et toxiques des produits chimiques utilisés pour le stockage des produits agricoles en Afrique (Anaduaka et al., 2023).* _____ *6*
Figure 5: *Effets aigus et chroniques sur la santé des produits chimiques toxiques utilisés pour le stockage des produits agricoles (Anaduaka et al., 2023).* _____ *7*
Figure 6: *L'effet de pesticide, antibiotique et oxyde nitrique sur le blé dans le stade de croissance* _____ *23*
Figure 7: *Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la longueur des pousses de blé.* _____ *24*
Figure 8: *Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la biomasse des pousses de blé.* _____ *24*
Figure 9: *Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en chlorophylle totale des semis de blé.* _____ *25*
Figure 10: *Accumulation de peroxyde d'hydrogène dans les semis de blé soumis au AMP et aux CON, ainsi qu'à l'oxyde nitrique (NO).* _____ *26*
Figure 11: *Teneur en malondialdéhyde dans les feuilles de blé soumis au AMP et aux CON, en association avec l'oxyde nitrique (NO).* _____ *27*
Figure 12: *Analyses spectrophotométriques de la glutathion-s-transférase dans les semis de blé exposés à divers traitements de AMP et de CON ainsi qu'à l'oxyde nitrique (NO).* _____ *28*
Figure 13: *Analyses spectrophotométriques de la catalase dans les semis de blé exposés à divers traitements de AMP et de CON ainsi qu'à l'oxyde nitrique (NO).* _____ *29*
Figure 14: *Analyses spectrophotométriques de l'ascorbate peroxydase dans les semis de blé exposés à divers traitements de AMP et de CON ainsi qu'à l'oxyde nitrique (NO).* _____ *30*
Figure 15: *Analyses spectrophotométriques de la peroxydase dans les semis de blé exposés à divers traitements de AMP et de CON ainsi qu'à l'oxyde nitrique (NO).* _____ *31*
Figure 16: *Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en flavonoïde des semis de blé.* _____ *32*
Figure 17: *Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en polyphénols totaux des semis de blé.* _____ *33*
Figure 18: *Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en glutathion des semis de blé.* _____ *34*

Liste des tableaux :

Tableau 1*: Classification du blé* _____ *14*
Tableau 2*: index phytosanitaire de consento* _____ *15*
Tableau 3: *La composition des milieux nutritifs* _____ *16*

Liste d'abréviation :

°C	Degrés Celsius
Al	Aluminium
$AlCl_3$	Chlorure d'aluminium
AMP	Ampicilline
APX	Ascorbate peroxydase
As	Arsenic
Car	Caroténoïdes
CAT	Catalase
CDNB	Chloro dinitro benzène
Chl a	Chlorophylle a
Chl b	Chlorophylle b
CON	Consento
Cr	Chrome
Cu	Cuivre
DAR	Délai avant récolte
DDT	Dichloro diphényl trichloro éthane
EDTA	Ethylène diamine tétra acétate de di sodium
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
GSH	Glutathion
GST	Glutathion S-transférase
Ha	Hectare
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
HCH	Hexachlorocyclohexane
KI	Iodure de potassium
M	Mol
Mg	Milligramme
Min	Minute
mM	Millimole
Ml	Millilitre
µM	Micromole
N	Azote
Na_2CO_3	Carbonate de sodium
$NaNO_2$	Nitrate de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium

NO	Oxyde nitrique
NO_2	Dioxyde d'azote
NOx	Oxydes d'azote
ERN	Espèce réactive d'azote
NR	Nitrate réductase
OAIC	Office Algérien Interprofessionnel des Céréales
PCD	Mort cellulaire programmée
POD	Peroxydases
PT	Potentiel de germination
PVP	Polyvinylpyrrolidone
RAB	Résistance aux antibiotiques
SAR	Les pluies acides
S	Soufre
TBA	Acide thiobarbiturique
TCA	Acide trichloroacétique
v/v	Volume sur volume
v/w	Volume sur poids

Introduction

Le blé est la deuxième culture céréalière importante utilisée comme aliment de base majeur pour la population mondiale en croissance rapide. Chaque année, des millions de tonnes de blé sont récoltées dans le monde. Cependant, le rendement global du blé est faible en raison de plusieurs pressions environnementales (Kaya et al., 2022). Face aux besoins alimentaires croissants de la population, le secteur agricole est à la recherche d'idées innovantes pour améliorer la productivité des cultures (Chauhan et al., 2022).

Des études de surveillance ont révélé une contamination de plus en plus répandue de l'eau et du sol par les antibiotiques et les pesticides, cette contamination étant liée à leur utilisation extensive. Entre 30 et 90 % des substances consommées par les animaux sont excrétées dans les fèces et l'urine. Étant donné que le fumier de bétail non traité ou composté est largement utilisé comme engrais, un grand nombre de résidus toxiques se retrouvent dans les sols agricoles (Zhao et al., 2022).

Les pesticides sont nocifs pour les humains et l'environnement s'ils ne sont pas manipulés et utilisés en toute sécurité (Adamu & Abebe, 2022). Une exposition à long terme aux pesticides et aux antibiotiques peut influencer la qualité et le rendement des cultures (Yu et al., 2023). Ces substances sont généralement absorbées par les racines et transférées à divers tissus par transpiration et diffusion, ce qui signifie qu'elles peuvent s'accumuler dans les cultures (Zhao et al., 2022). Sous l'effet du stress antibiotique, les plantes produisent un excès d'espèces réactives d'oxygène (ERO). Parallèlement, les plantes ont développé des mécanismes de protection complexes contre les dommages oxydatifs, tels que le système antioxydant enzymatique composé de superoxyde dismutase (SOD), de peroxydase (POD), de catalase (CAT) et d'autres enzymes (Zhao et al., 2022).

L'oxyde nitrique (NO) est une molécule messagère secondaire gazeuse qui joue un rôle central dans de multiples et divers processus de développement et physiologiques chez les plantes. Le NO est généré de manière endogène dans les plantes via la conversion de l'arginine en NO par l'oxyde nitrique synthase (NOS) et par des voies dépendantes des nitrates/nitrites via l'activité de la nitrate réductase (NR). NO joue un rôle central dans la régulation des réponses de stress des plantes (Calabrese & Agathokleous, 2023). Une étude récente a également montré que le NO augmentait non seulement la productivité du blé, mais diminuait également la toxicité des pesticides et des antibiotiques dans le blé en diminuant leur accumulation dans les racines, les pousses et les grains (Huang et al., 2022).

Le risque éco toxicologique des cultures a peut-être été négligé auparavant. Par conséquent, de nouvelles études sur le mécanisme d'interaction entre les pesticides, les antibiotiques et le blé qui est la deuxième culture céréalière importante dans le monde, doivent être explorées. L'objectif de la présente étude est de mieux comprendre l'effet des pesticides, des antibiotiques et leur combinaison sur la physiologie et la croissance le blé. De plus, elles fourniront une prédiction scientifique sur le risque alimentaire et des suggestions réalisables pour contrôler la pollution causée par les pesticides et les antibiotiques dans l'eau, le sol et les cultures

Chapitre I :

Les Pesticides



1-1 Généralités sur les pesticides :

La biodiversité de sol et les services écosystémiques connexes sont menacés par l'agriculture intensive à l'échelle mondiale. L'utilisation d'intrants externes, tels que les engrais ou les pesticides, destinés à accroître le rendement ou à prévenir les pertes de récoltes, mais qui ont des effets négatifs sur la biodiversité, en est l'une des principales raisons (Blösch et al., 2023). Les pesticides sont nécessaires pour réduire la prévalence des insectes et augmenter le rendement des cultures, mais leur utilisation excessive dans les secteurs agricole et non agricole pose un grand problème. Les pesticides et leurs métabolites sont considérés comme très nocifs pour l'homme et les autres formes de vie lorsqu'ils s'accumulent dans l'eau, le sol et l'air (Lan et al., 2022).

1-2 L'utilisation des pesticides :

Les pesticides sont des produits chimiques synthétiques étrangers à l'environnement et dont la résistance à la détérioration a été prouvée. Leurs principaux objectifs sont de lutter contre les parasites et les maladies, d'améliorer les rendements et la qualité des cultures (Li et al., 2020).

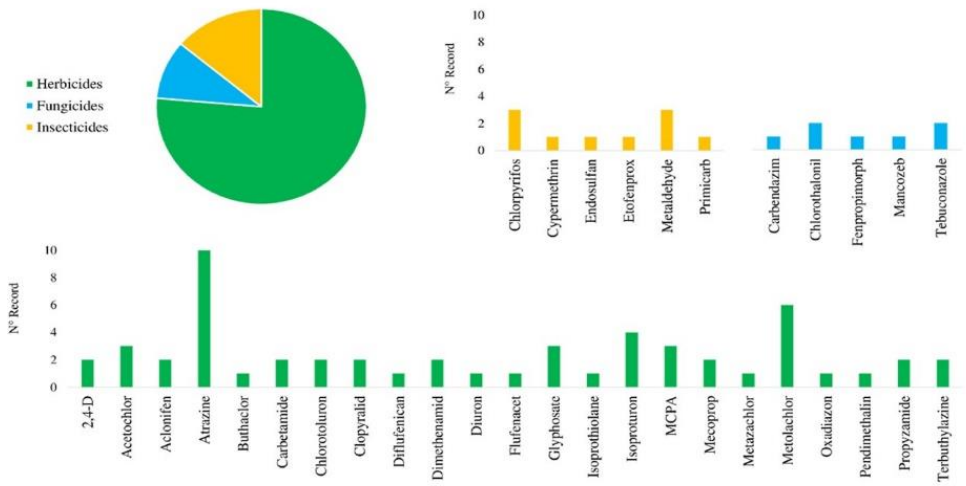


Figure 1: Répartition des pesticides en trois catégories : herbicides, fongicides et insecticides (Centanni et al., 2023).

Actuellement, les néonicotinoïdes, les imidazoles, les benzènes substitués et les pyréthroïdes synthétiques sont les principaux pesticides utilisés pour lutter contre les maladies des cultures et les épidémies (Li et al., 2020). Pour éviter des conditions inhabituelles, plusieurs composants actifs de pesticides ont été introduits sous forme de granulés, de poudre mouillable

ou de concentrations émulsionnées. Les substances sont un mélange de plusieurs composants actifs qui doivent être utilisés efficacement (Appah et al., 2020).

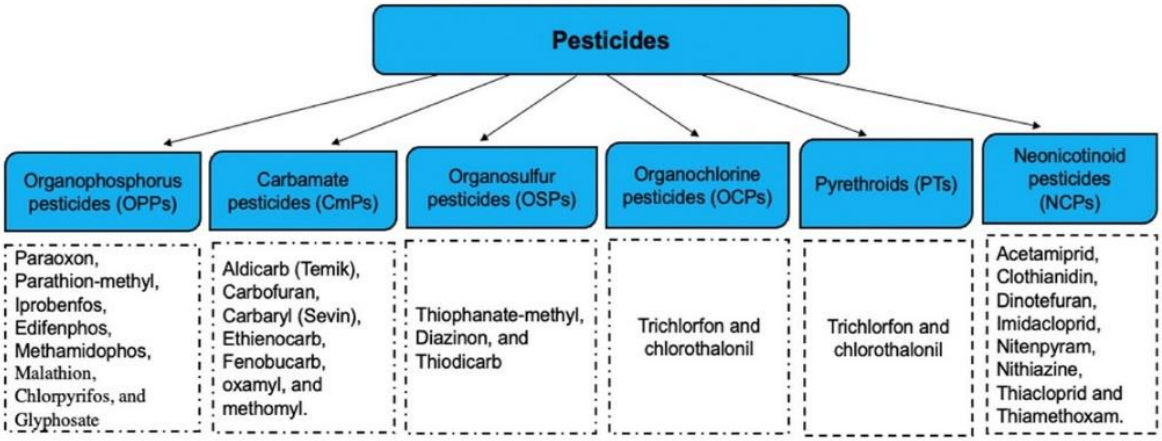


Figure 2: illustre les catégories de pesticides, des exemples de chaque catégorie et les méthodes de détection employées pour les détecter (Issaka et al., 2023).

Afin de faciliter le choix des consommateurs parmi les formulations de pesticides commerciaux, ces formulations sont souvent classées en fonction des organismes nuisibles qu'elles ciblent. Ces formulations comprennent un ou plusieurs composants actifs appartenant à des familles chimiques différentes (Serra, 2015).

1-3 La dynamique des pesticides : absorption, translocation et métabolisme :

Les pesticides peuvent être gérés soit sous forme solide, soit sous forme de gouttes fragmentées qui sont immergées dans une solution aqueuse et absorbées par le substrat pour produire un impact chimique (Appah et al., 2020). La qualité des aliments est considérablement affectée par la consommation de pesticides, car ces produits chimiques ont tendance à être instantanément nocifs, insuffisamment sélectifs et utilisés en grandes quantités sur les cultures (Pszczolińska et al., 2023).

Il est essentiel de comprendre comment les pesticides sont absorbés et transportés par les cultures afin de comprendre comment les pesticides interagissent avec elles. Après avoir été consommés par une plante, les pesticides peuvent subir des processus métaboliques qui aboutissent à des produits chimiques dérivés, qui peuvent ensuite affecter le métabolisme et la valeur nutritionnelle de la plante (Pszczolińska et al., 2023). Bien que les pesticides aient un taux de mortalité significatif lorsqu'ils sont appliqués, seuls 10% environ d'entre eux sont réellement utilisés, laissant 90% des produits chimiques dans l'environnement. En raison de la quantité de résidus de pesticides et de leur résistance à la dégradation, l'environnement est

gravement menacé, ce qui pourrait avoir un impact négatif sur l'homme et les espèces non ciblées (Li et al., 2020).

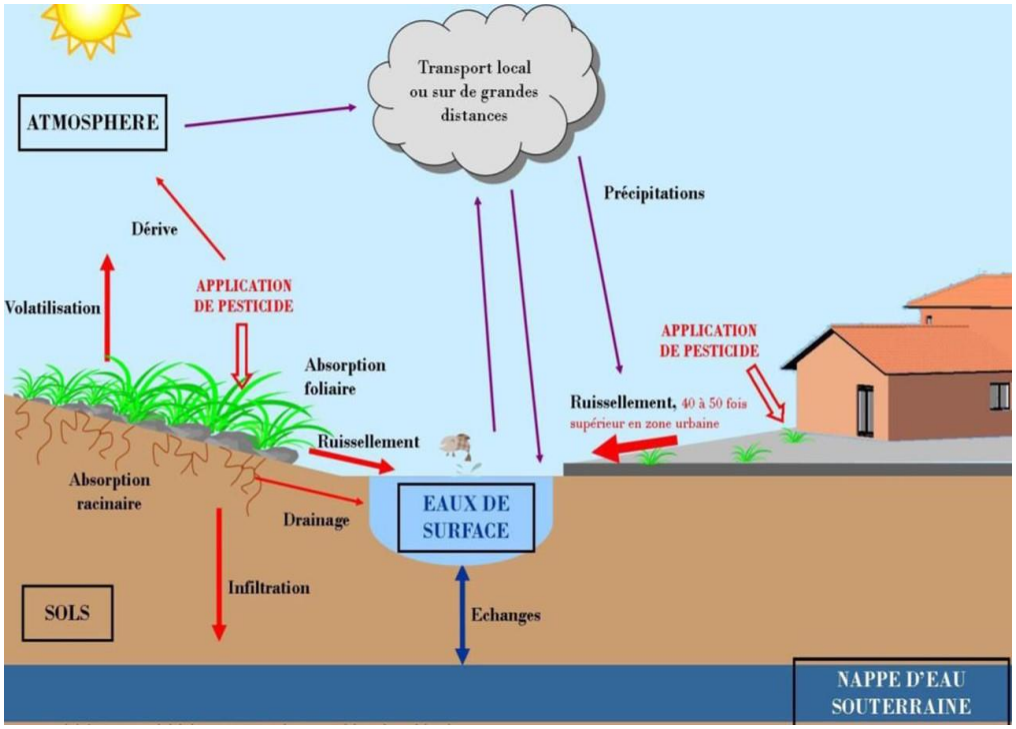


Figure 3: Schéma synthétique des mécanismes influençant la dynamique des pesticides dans l'environnement (Serra, 2015)

1-4 Impacts des pesticides :

L'utilisation des pesticides a augmenté de plus de 4 millions de tonnes par an au cours des dix dernières années. Cependant, son utilisation généralisée a eu un impact négatif sur la qualité du sol, de l'eau et de l'air, entraînant des conséquences négatives telles que la toxicité, la cancérogénicité et la mutagénicité chez les espèces non ciblées, y compris l'homme (Q. Liu et al., 2021). L'utilisation des pesticides est devenue incontrôlable au fil du temps, il y a aujourd'hui plus de résidus de pesticides dans l'environnement et les cultures que jamais auparavant (Li et al., 2020).

Actuellement, l'utilisation d'un certain nombre de pesticides hautement toxiques sur les cultures est restreinte, notamment les organophosphorés traditionnels comme le parathion et l'acéphatemet, ainsi que les pesticides organochlorés comme le DDT et le HCH (Tao et al., 2021). Ces pesticides sont interdits depuis 1972, mais en raison de leur longue demi-vie de dégradation, de leur capacité de migration et de leur potentiel de bioaccumulation, ce n'est que récemment qu'ils ont commencé à être souvent trouvés dans l'environnement et dans les bio-médias (Tao et al., 2021). En outre, compte tenu du taux d'utilisation actuel de 39,8% pour les

pesticides dans les trois principales cultures céréalières, les pesticides à faible efficacité actuellement appliqués (tels que les néonicotinoïdes et les pyréthroïdes) qui sont fréquemment évités dans les cultures pourraient pénétrer dans l'environnement à plus grande échelle (Tao et al., 2021). Avant d'être absorbés par les plantes par échange d'air, les pesticides non systémiques ont la capacité de quitter le sol et de se volatiliser. Cette voie de la chaîne alimentaire est considérée comme un mécanisme essentiel pour les humains exposés aux pesticides (Tao et al., 2021) .

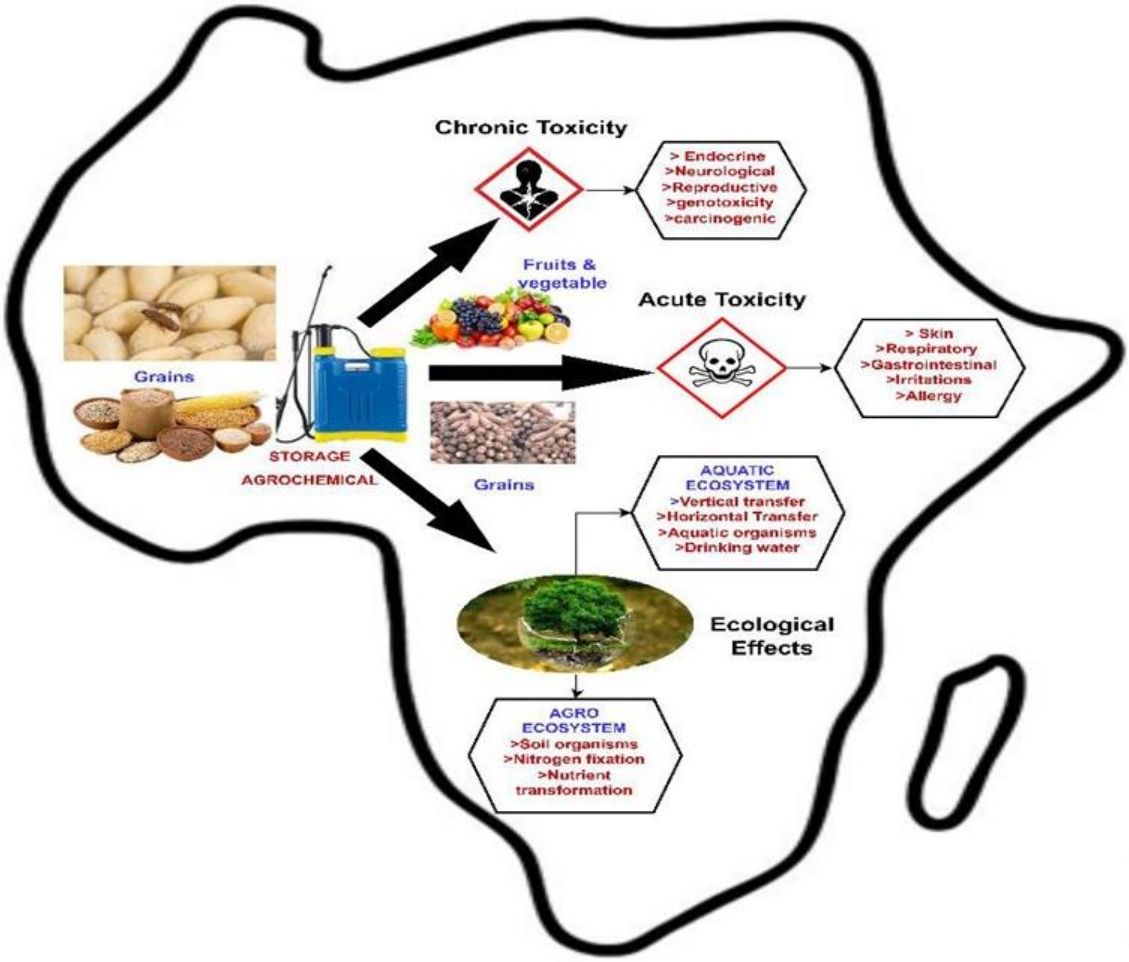


Figure 4: Effets écologiques et toxiques des produits chimiques utilisés pour le stockage des produits agricoles en Afrique (Anaduaka et al., 2023).

1-4-1 Les effets néfastes des pesticides sur la santé :

Selon la recherche épidémiologique, les personnes qui vivent ou travaillent à proximité de zones traitées aux pesticides sont plus susceptibles d'avoir des effets négatifs sur leur santé en raison de leur exposition aux pesticides (Temkin et al., 2022). Il a été prouvé que l'exposition professionnelle ou résidentielle aux pesticides, ainsi qu'une charge corporelle élevée de pesticides détectée par biosurveillance, provoquent des lésions neurologiques chez les adultes

et les enfants, ainsi qu'un risque accru de maladie de Parkinson, de symptômes de troubles du spectre autistique, d'altération des fonctions cognitives et de changements comportementaux (Temkin et al., 2022).

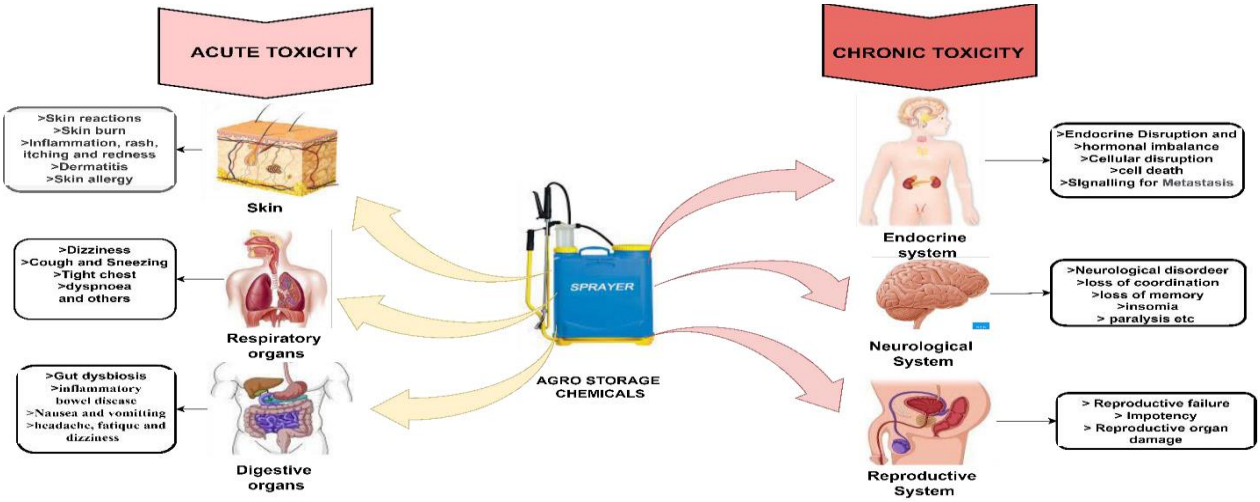


Figure 5: Effets aigus et chroniques sur la santé des produits chimiques toxiques utilisés pour le stockage des produits agricoles (Anaduaka et al., 2023).

L'exposition aux pesticides est connue pour avoir des effets néfastes sur le développement du fœtus pendant la grossesse, un risque accru d'accouchement prématuré, un faible poids à la naissance, des anomalies du tube neural et l'hypospadias, ainsi que des affections respiratoires comme l'asthme et des effets sur le système reproductif. Selon une étude de biosurveillance, les enfants des zones rurales sont plus exposés aux pesticides que l'ensemble de la population. En outre, l'exposition aux pesticides a été associée à un risque accru de cancer chez les adultes et les enfants, notamment la leucémie, les tumeurs malignes du système nerveux central et le cancer du sein (Temkin et al., 2022).

Les pesticides peuvent s'avérer nocifs pour les personnes et l'environnement s'ils ne sont pas contrôlés et appliqués de manière responsable (Adamu & Abebe, 2022). En raison de leurs éducation et formation limitées, peu d'agriculteurs des pays en développement sont en mesure de suivre les instructions figurant sur les étiquettes des pesticides, ce qui est essentiel pour manipuler correctement ces produits (Mu et al., 2022). La peau, les yeux et la bouche des agriculteurs, des ouvriers agricoles et des applicateurs de pesticides sont fréquemment exposés à des produits chimiques nocifs, soit directement, soit par ingestion par la bouche et le nez. Environ 7400 cm^2, soit 37% du corps d'un applicateur adulte, seront exposés aux pesticides s'il ne tient pas compte de son équipement de protection individuelle (EPI) tout en laissant ses mains, ses bras, ses jambes et ses pieds exposés (Adamu & Abebe, 2022).

1-4-2 La phytotoxicité des pesticides :

L'utilisation généralisée de pesticides pour entretenir les cultures de blé peut entraîner la présence des résidus des pesticides dans les grains, ce qui affecte également le développement du métabolisme des plantes, interrompant leur croissance et réduisant leur valeur nutritionnelle (Pszczolińska et al., 2023). Les pesticides résiduels dans le sol peuvent être absorbés par les plantes, contaminant ainsi les aliments et nuisant à la santé humaine et animale. Les pesticides sont principalement transportés et accumulés du sol vers la parties aérienne des plantes par l'absorption par les racines de l'eau contenue dans les pores du sol (Ju et al., 2020).

L'absorption des pesticides par les plantes est un processus critique qui affecte le passage des substances toxiques dans la chaîne alimentaire. Il est évident que la détermination des risques liés à l'accumulation de pesticides dans les résidus de culture nécessite une connaissance analytique de la manière dont les cultures absorbent et recueillent les pesticides dans leur environnement. Les racines des cultures absorbent principalement les pesticides transmis par le sol, qui sont ensuite transférés par le système vasculaire vers différentes parties de la plante (Q. Liu et al., 2021).

Chapitre Ⅱ :

Les antibiotiques

2-1 Généralité sur les antibiotiques :

La santé publique est actuellement menacée par la contamination des antibiotiques (Yeo et al., 2023). Les antibiotiques ont joué un rôle crucial dans la prolongation de la longévité humaine et l'amélioration de la qualité de vie en traitant des infections bactériennes mortelles, tandis que leur rejet incontrôlé dans les cours d'eau en raison de l'augmentation de la demande et de l'utilisation a eu de graves répercussions sur l'environnement (Cornejo et al., 2023). Les maladies infectieuses nécessitent généralement un traitement à base d'antibiotiques. Environ 75% des antibiotiques consommés par les animaux sont évacués dans l'environnement par la digestion de leur urine ou de leurs fèces, puis indirectement dispersés sur les terres agricoles sous forme d'engrais, en raison de la présence d'antibiotiques dans les boues qui les composent (L. Li et al., 2023).

2-2 Le mécanisme de résistance bactérienne aux antibiotiques :

Les antibiotiques sont une classe de médicaments utilisés pour traiter diverses infections causées par des bactéries et certains parasites. Les antibiotiques sont des substances produites par des organismes dans la nature qui détruisent ou inhibent la croissance de différents micro-organismes (Gawrońska et al., 2022). Aleksander Fleming a découvert le premier antibiotique moderne, la pénicilline G, qui a été utilisée pour la première fois dans des procédures médicales en 1943 (Gawrońska et al., 2022). Étant donné que les antibiotiques et leurs produits métaboliques les plus courants restent biologiquement actifs, il peut y avoir un risque pour l'environnement, les animaux et les humains (Li et al., 2023).

Les antibiotiques qui recouvrent les systèmes avec un cycle bêta-lactame dans leur structure moléculaire sont l'une des principales classes d'antibiotiques. L'ampicilline (AMP), le premier antibiotique à base de pénicilline à large spectre utilisé pour traiter les infections provoquées par les entérobactéries, est l'un des antibiotiques bêtalactamines les plus importants actuellement utilisés. De plus, il est utilisé pour la prévention et le traitement d'une variété d'infections bactériennes, y compris la méningite, l'endocardite, la salmonellose, les infections des voies urinaires et les infections respiratoires (Gawrońska et al., 2022). La néomycine, qui est considérée comme un antibiotique de premier choix à cette fin, peut traiter efficacement l'entérite porcine à Escherichia coli entérotoxinogène, bien qu'elle puisse être difficile à traiter (Subramani et al., 2023). L'ampicilline a également un usage médical préventif qui vise à accroître l'efficacité, le niveau de vie et la durabilité de la production animale (Gawrońska et al., 2022).

L'AMP est un puissant agent bactéricide utilisé dans divers traitements pour les personnes et les animaux. Une partie de l'AMP n'est cependant pas complètement absorbée et métabolisée, et reste donc dans le corps d'animal. La chaîne alimentaire peut s'en trouver contaminée, ce qui met en danger la santé humaine. L'AMP est partiellement excrétée dans les matières fécales, pollue les sources d'eau et le sol, s'accumule dans les plantes alimentaires et est donc partiellement consommée par l'homme (Chen et al., 2022).

2-3 L'impact des antibiotiques sur l'environnement :

En raison de leur utilisation répandue et de leur présence durable dans l'environnement, la pollution par les antibiotiques est devenue une préoccupation croissante ces dernières années, en particulier dans les pays en développement. Les gènes de résistance aux antibiotiques (ARG) peuvent être identifiés dans l'environnement, chez les animaux, les plantes et d'autres organismes à la suite de l'utilisation excessive d'antibiotiques, ce qui peut également entraîner l'accumulation de différentes bactéries résistantes aux antibiotiques (ARB) (Li et al., 2023). En raison de leur utilisation extensive, de leur rejet dans l'environnement et de leur résistance à la dégradation, les antibiotiques sont désormais reconnus comme des contaminants émergents dans les matrices environnementales (Fiaz et al., 2023).

Les antibiotiques accumulés dans le sol peuvent avoir des effets toxiques sur les micro-organismes, la flore et la faune qui s'y trouvent. Ils nuisent aux plantes en empêchant notamment la germination des graines et la croissance des plantes. En outre, les antibiotiques qui pénètrent dans le sol peuvent modifier la structure et la fonction de la communauté de micro-organismes en détruisant certains d'entre eux ou en empêchant leur croissance (Guo et al., 2022). Certains antibiotiques, comme les fluoroquinolones et les tétracyclines, ont été trouvés dans le sol à des niveaux de l'ordre du milligramme par kilogramme, bien qu'ils soient présents à des concentrations relativement faibles par rapport aux polluants typiques du sol (Fiaz et al., 2023). L'utilisation généralisée et le rejet dans l'environnement de familles d'antibiotiques telles que les fluoroquinolones et les tétracyclines, ainsi que leur prévalence dans l'écosystème du sol, pourraient avoir un impact sur les organismes terrestres, altérer l'activité et la structure de la communauté microbienne, et contribuer à la résistance aux antibiotiques (Fiaz et al., 2023).

Chapitre Ⅲ :

Oxyde nitrique

3-1 Généralité sur l'oxyde nitrique :

L'oxyde nitrique est une molécule de signalisation polyvalente qui est largement reconnue pour aider les plantes à devenir plus résistantes à une variété de facteurs de stress, y compris le sel, le cadmium et le stress hydrique (Kaya et al., 2023). Le NO, ou oxyde nitrique, est une molécule de signalisation impliquée dans plusieurs processus tels que le développement et la croissance des plantes, ainsi que dans la fourniture de résistance à la photosynthèse (International, 2013). il est synthétisé à l'intérieur des plantes par la conversion de l'arginine en NO par la nitrique oxide synthase (NOS) et par des voies dépendantes du nitrate/nitrite grâce à l'activité de la nitrate réductase (NR) (Calabrese & Agathokleous, 2023).

La molécule de signalisation diffusible connue sous le nom de NO a été initialement découverte comme étant un antidépresseur dérivé. Étant donné que le NO et le NO_2 représentent ensemble la classe des oxydes d'azote (NOx) qui ont un impact à la fois sur la croissance des plantes et sur la qualité de l'air, l'attention portée au NO a toujours été principalement axée sur sa contribution à la pollution atmosphérique. Depuis que NO a été proposé pour la première fois comme molécule de signalisation cruciale chez les animaux en 1987 et après des rapports sur son importance dans la signalisation des plantes, de nombreuses études ont été réalisées sur l'utilité de la molécule chez les plantes. La recherche sur le NO a été étendue aux cellules végétales dans les années 1990, et il a été découvert que cette molécule était impliquée dans une variété de processus au cours de la croissance et du développement des plantes, ainsi que dans le mécanisme d'interaction avec des micro-organismes avantageux, la défense contre les agents pathogènes et le stress de l'environnement. NO est généralement considéré comme un "homme à tout faire" en raison de son adaptabilité et de son importance biologique, et elle a été choisie à juste titre comme "Molécule de l'année" par Science en 1992. C'est un oxydant léger et un radical libre très réactif (Mir et al., 2022).

En tant que molécule de signalisation, le NO est un acteur polyvalent dans la croissance et le développement des plantes, interférant dans une variété de processus allant de la germination des graines au développement des fruits, y compris la sénescence et la mort cellulaire. Lors de sa découverte, cette molécule de signalisation diffuse spécifique était considérée comme un relaxant dérivé de l'endothélium (Mir et al., 2022).

La principale enzyme responsable de la production de NO dans le système végétal est la nitrate réductase (NR). En tant que molécule de signalisation, le NO est crucial pour une variété de processus physiologiques, notamment le développement des racines, la défense contre les agents pathogènes, la régulation de la croissance et la réponse aux infections par des agents

pathogènes (International, 2013). Les plantes produisent de l'oxyde nitrique (NO), une molécule de signalisation gazeuse hautement adaptable qui est essentielle à leur capacité à résister au stress abiotique (Rather et al., 2020).

La molécule de signalisation NO, omniprésente et de petite taille, est connue pour son rôle dans la réponse des plantes à plusieurs stress abiotiques en activant différentes voies de signalisation cellulaires (Ghorbani et al., 2021). En raison de cette découverte chez les mammifères, Joseph Priestley a d'abord étudié le NO dans la recherche animale, le qualifiant d'« air nitreux » ou de « gaz hilarant » de Priestley au moment de sa découverte en 1772. Mais ces dernières années, la recherche sur les plantes est devenue de plus en plus intéressé par cette molécule (Rather et al., 2020). Les premières études sur le NO dans les plantes ont commencé 19 ans après que "Klepper" ait suggéré pour la première fois que les plantes pouvaient produire cette molécule en 1975. La littérature scientifique actuellement disponible a mis en évidence l'implication du NO dans un certain nombre de processus biologiques chez les plantes ainsi que son rôle dans la régulation d'une variété de réponses aux stress abiotiques et biotiques (Rather et al., 2020). Selon plusieurs études, le système de défense antioxydant est renforcé par le NO dans les plantes exposées à divers métaux (Rather et al., 2020). NO peut être synthétisé dans les plantes à la fois par des systèmes enzymatiques et non enzymatiques. La production enzymatique de NO dépend de l'oxydation NADPH-dépendante de L'arginine par une activité similaire à la synthase de NO (NOS) (Rather et al., 2020).

3-2 Les rôles d'oxyde nitrique :

Il a été déterminé que l'oxyde nitrique (NO) joue un rôle de signalisation crucial chez les plantes qui doivent faire face à une variété de stress environnementaux, notamment la salinité, la chaleur, le froid, la sécheresse et les métaux lourds. Le NO contrôle l'activité des enzymes antioxydantes, met à jour les nutriments minéraux, équilibre les espèces réactives d'oxygène (ERO) et la tolérance osmotique en réponse aux stress provoqués par divers métaux lourds, notamment Cu, Zn, aluminium (Al), Zn, chrome (Cr) , le cadmium (Cd) et l'amiante (As) (Alamri et al., 2022).

La photosynthèse et la croissance globale des plantes sont des processus étroitement liés, de même qu'une augmentation de la photosynthèse peut entraîner une augmentation de la croissance des plantes. Des études ont démontré que l'ajout de NO aux plantes exposées à des métaux stressants peut considérablement améliorer la photosynthèse et la croissance (Rather et al., 2020). La disponibilité de NO dans des conditions stressées et non stressées affecte la germination des graines. Le NO induit efficacement la germination et rompt la dormance des

graines dans des environnements non stressants (Rather et al., 2020). Qu'une plante soit stressée ou non, la présence d'oxyde nitrique accélère la photosynthèse, la croissance, les mouvements stomatiques, la sénescence des plantes, la mort cellulaire programmée, la transduction du signal et l'activité enzymatique (Ozfidan-Konakci et al., 2020).

Matériels et méthode

4-1 Objective d'étude :

La culture du blé est l'une des cultures céréalières les plus importantes au niveau mondial. Cependant, il est crucial d'évaluer les risques éco-toxicologiques associés à cette culture. Notre recherche, qui a été menée au laboratoire de la Faculté des Sciences de l'Université Yahia Fares à Médéa, avait pour objectif d'étudier ces risques et d'analyser l'interaction entre les pesticides, les antibiotiques et le blé. L'objectif principal de cette étude était de comprendre comment les pesticides et les antibiotiques pourraient interagir avec cette culture. Les pesticides et les antibiotiques sont couramment utilisés dans l'agriculture, mais leur usage excessif peut avoir des conséquences néfastes sur l'environnement et la santé humaine.

4-2 Morphologie et importance économique des plantes expérimentales :

Les semences de blé (variété de oued el bared) ont été obtenues auprès de l'**OAIC** (Office Algérien Interprofessionnel des Céréales) en Algérie. *Triticum aestivum* L a été sélectionnée comme plante expérimentale pour la présente étude.

4-2-1 Triticum aestivum L :

Triticum aestivum L (blé tendre), membre de la famille des graminées, est une céréale largement cultivée, connue pour son utilisation polyvalente dans divers produits alimentaires. Le blé tendre est une culture de base importante, qui fournit une part significative de l'énergie alimentaire mondiale. Globalement, *Triticum aestivum* L (blé tendre) est une culture polyvalente et précieuse sur le plan nutritionnel, qui joue un rôle crucial dans la production alimentaire mondiale et la nutrition humaine.

4-2-2 Classification du blé :

Règne : Plantae
Sous-règne : Tracheobionta
Super division : Spermatophyta
Division : Magnoliophyta
Classe : Liliopsida
Sous-classe : Commelinidae
Ordre : Cyperales
Famille : Poaceae
Genre : *Triticum* L.
Espèce : *aestivum L.*

Tableau 1: Classification du blé

4-2-3 Préparation du pesticides :

Nom commerciale	CONSENTO.
Formulation	SC.
Matière active	Fenamidone + Propamocarbe.
Famille chimique	Imidazolinones+Carbamates.
Concentration	75 g/L + 375 g/L
Déprédateur	Altemaria, Mildiou
Culture	Pomme de terre
Dose d'utilisation	1,5-2 L/Ha
D.A.R	14
N° d'homologation	745161
Fimme	BAYER CROP SCIENCE AG
Représentant	BAYER ALGERIE SP

Tableau 2: index phytosanitaire de consento

4-4 Test de croissance : protocole de stress des plantes

4-4-1 Conditions de croissance des plantes :

Des graines saines, de taille uniforme de *Triticum aestivum* L ont été stérilisées en surface pendant 15 minutes avec une solution d'hypochlorite de sodium à 2% (v/v), suivie de fréquents lavages à l'eau bidistillée (DDW). Ensuite, les graines ont été trempées pendant 1 h dans l'eau distillée, puis recouvertes par un tissu de coton stérilisé et laissées à 25±1 °C pendant la nuit pour la germination. Après avoir assisté au test de germination maximale, les plantes ont été transférées sous un rayonnement photo synthétiquement actif (PAR) de 350 µmol photons m^{-2} s^{-1} dans une chambre de croissance à 16 :8 h jour-nuit et 65-70% d'humidité relative à 25±1 °C jusqu'à ce qu'elles atteignent le stade de la plantule.

4-4-2 Milieu nutritif :

Des milieux nutritifs Hoagland et Arnons (1950) ont été utilisés pour la croissance des semis. Ils contiennent des micronutriments (mg L^{-1}) et des macronutriments (g L^{-1}).

La composition des milieux nutritifs complets est indiquée ci-dessous :

Macronutriments :	**g/l**
Calcium nitrate Ca $(NO_3)_2$	0.271
Potassium nitrate KNO_3	0.126
Potassium dihydrogène phosphate KH_2PO_4	0.034
Magnésium sulfate $MgSO_4.7H_2O$	0.123
Micronutriments :	**mg/l**
Borique Acid H_3BO_3	1.430
Manganèse chlorite $MnCl_24H_2O$	0.910
Zinc sulfate $ZnSO_4.7H_2O$	0.110
Sodium molybdate Na_2MoO_4	0.045
Copper sulfate $CuSO_4.5H_2O$	0.045
Fe	9.680
Ethylene diamine tetra acetic Acid EDTA	30.00

Tableau 3: La composition des milieux nutritifs

4-5 Verrerie et produits chimiques :

Tous les articles en verre tels que les tubes à essai, les plaques de Pétri, les béchers, les pipettes, les flacons etc… utilisés dans la présente étude ont été stérilisée. Afin de garantir la fiabilité et la reproductibilité des tests, tous les réactifs et spécifications ont été préparés dans l'eau doublement distillée.

4-6 Stérilisation :

Pour garantir une stérilisation adéquate, avant chaque utilisation, les appareils en verre et le milieu nutritif Hoagland ont été stérilisés à l'autoclave pendant 15 minutes à une pression de 15 lbs $inch^{-2}$ et à une température de 121 °C.

Les gobelets en plastique ont été soigneusement lavés et correctement stérilisés à l'aide d'alcool absolu. Les graines viables de *Triticum aestivum* L ont été stérilisées en surface avec une solution d'hypochlorite de sodium à 5 % (v/v) pendant 30 minutes, puis rincées plusieurs fois avec de l'eau distillée afin d'éviter toute contamination. Les graines ont ensuite été dispersés uniformément dans 7 boîtes en plastique (chacune 8 cm × 14 cm). Chaque boîte était recouverte de papier filtre imbibé pour la germination. Chaque boîte a été placée dans un incubateur à 25°C dans l'obscurité. Après 72 h de germination, les jeunes des semis de même taille ont été sélectionnés et chaque semis a été placé dans un gobelet de 50 ml. Chaque gobelet contenait une solution nutritive Hoagland contenant d'ampicilline à une concentration de 8mg/L, fongicide consento à une concentration de (75 + 375 g/L) et d'oxyde nitrique à une

concentration de (100 µmol). Les gobelets ont été placés dans un incubateur à 23 ± 2 °C et 60% d'humidité avec une lumière de 14 h/obscurité de 10 h cycle (intensité lumineuse 4500 lx). La solution nutritive (contenant la quantité appropriée d'ampicilline et de consento pour le test) a été changé deux fois par semaine. Les plants de blé ont été récoltés pour l'analyse après 7 jours.

4-7 Comportement de croissance :

4-7-1 Mesures de croissance :

Les semis traités de chaque pot ont été analysés pour la croissance par la longueur et la masse fraîche des plantules. La longueur des plantules a été mesurée séparément à l'aide d'une règle graduée. La masse fraîche des plantules a été analysé en les pesant à l'aide d'une balance numérique.

4-7-2 Extraction et estimation des pigments photosynthétiques :

4-7-2-1 Chlorophylle et caroténoïdes :

Les feuilles du contrôle et de chaque traitement ont été pesées à 50 mg. Ils ont été écrasés dans un mortier et homogénéisées dans l'acétone à 80% (v/v). L'extrait de feuilles a été recueilli dans des tubes à essai et centrifugé. Les granulés ont été recueillis et remis en suspension dans de l'acétone à 80%. Les échantillons ont été soumis à une mesure d'absorbance à 663,2, 646,5 et 470 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les teneurs en chlorophylle totale et en caroténoïdes ont été estimées en suivant l'équation de Lichtenthaler (1987) :

- Chl a (µg/ml) = 12.25 (A663.2) — 2.79 (A646.5)
- Chl b (µg/ml) = 21.50 (A646.5) — 5.10 (A663.2)
- Car (µg/ml) = [(1000 A470 — 1.82 (Chl a) —85.02 (Chl b)]/198

Où :

- Chl a = Chlorophylle a
- Chl b = Chlorophylle b
- Car = Caroténoïdes

4-7-3 Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) :

La teneur en H_2O_2 a été analysée dans les semis témoins et traités de *Triticum aestivum* L suivant la méthode de Velikova et al. (2000).

4-7-3-1 Réactifs :

- PPB (pH 7.0) : 10.0 mM
- Potassium iodide (KI) : 1.0 M
- Trichloroacetic acid (TCA): 0.1 % (w/v)

4-7-3-2 Procédure :

Pour estimer la teneur en H_2O_2, 100 mg de feuilles fraîches ont été pesés et homogénéisés dans 3 ml de TCA (0,1%). Le mélange préparé a été centrifugé à 15000 tours/minute pendant 15 minutes à 4 °C. Le mélange réactionnel a été préparé en ajoutant 0,5 ml de PPB (10 mM, pH 7,0), 1 ml de KI (1 M) et 0,5 ml de surnageant (extrait enzymatique). L'absorbance de la solution finale a été mesurée à 390 nm par rapport au blanc. L'estimation de H_2O_2 a été réalisée à partir d'une courbe standard préparée à l'aide de H_2O_2.

4-7-4 Analyse des indices de dommages oxydatifs :

4-7-4-1 *Estimation de la peroxydation lipidique :*

Pour l'estimation de la peroxydation lipidique dans les semis traités et témoins de *Triticum aestivum* L, la teneur en équivalents MDA (malon dialdéhyde), qui se forme en raison de la peroxydation des acides gras insaturés, a été analysée. Par conséquent, la teneur en MDA a été estimée pour l'étude de la peroxydation lipidique en suivant la méthode de Heath et Packer (1968).

4-7-4-1-1 Réactifs :

- Phosphate buffer (pH 7.0): 50.0 mM
- 2-thiobarbituric acid (TBA)
- TCA: 20.0 % (w/v) in TBA solution
- TCA: 05.0 % (w/v) in DDW

4-7-4-1-2 Procédure :

Pour estimer la teneur en MDA, 100 mg de feuilles ont été sélectionnés et homogénéisés dans du TCA à 5% et centrifugés à 10 000 tours/minute pendant 10 min. pour préparer le mélange réactionnel, dans du TCA à 20% contenant du TBA à 0,5%, 0,5 ml d'extrait a été ajouté et le mélange a été chauffé à 90 °C pendant 20 min. Après chauffage, le mélange réactionnel a été laissé refroidir rapidement dans un bain de glace suivi d'une centrifugation. Ensuite, l'absorbance de la solution réactionnelle a été enregistrée à 532 et 600 nm. La valeur d'absorption non spécifique de chaque échantillon à 600 nm a été soustraite de la valeur

d'absorption à 532 nm. La teneur en MDA a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction (ε) de 155 mM^{-1} 1cm et a été exprimée en nmol g^{-1} FW.

4-7-5 Analyse des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques :

4-7-5-1 Estimation du système de défense antioxydant :

4-7-5-1-1 *Activité de la catalase (CAT) :*

L'activité de catalase dans les deux semis a été mesurée en calculant l'utilisation de H_2O_2 en suivant la méthode d'Aebi (1984).

4-7-5-1-1-1 Réactifs :

- PPB (pH 7.0): 50.0 mM (w/v; in water)
- EDTA: 1.0 mM (w/v; in water)
- H_2O_2 (pH 7.0): 40.0 mM (v/v; in PPB)

4-7-5-1-1-2 Procédure :

Pour l'estimation de l'activité CAT dans le témoin et chaque plantule traitée, 50 mg de feuilles fraîches ont été sélectionnés et homogénéisés dans 1,0 ml de PPB (50 mM) contenant 1 mM d'EDTA (pH 7,0). Les échantillons homogénéisés ont été centrifugés à 10 000 tours/minute pendant 15 min à 4 °C et les surnageants ont été collectés pour être utilisés comme extrait enzymatique. Le mélange réactionnel a été préparé en utilisant 0,5 ml de H_2O_2 (40 mM), 1,3 ml de PPB (50 mM, pH 7,0) contenant 1 mM d'EDTA et 0,2 ml d'extrait enzymatique. L'absorbance du mélange préparé a été enregistrée à 240 nm par un spectrophotomètre UV-Vis pendant 1 min à température ambiante. La dissociation de H_2O_2 a été calculée en utilisant un coefficient d'extinction de 39,4 mM^{-1} Cm^{-1}. Une unité (U) d'activité CAT est la somme de l'enzyme dissociant 1 nmol H_2O_2 min^{-1}.

4-7-5-2 *Activité Glutathion-S-transférase (GST) :*

L'activité glutathion-S-transférase a été analysée selon la méthode de Habig et al. (1974) en utilisant le CDNB (1-chloro, 2, 4-dinitro benzène) comme substrat.

4-7-5-2-1 Réactifs :

- PPB (pH 6.3): 100.0 mM
- 1-chloro, 2,4-dinitrobenzene (CDNB): 003.0 mM (w/v in PPB; pH 6.3)
- Glutathion réduite (GSH) : 120.0 mM

4-7-5-2-2 Procédure :

Pour estimer l'activité GST, 50 mg de feuilles fraîches ont été pesées à partir de plants témoins et traités de *Triticum aestivum* L et homogénéisés dans 1 ml de PPB 100 mM (pH 6,3). La solution homogénéisée a ensuite été centrifugée à 10 000 tours/minute pendant 15 min à 4°C. Les surnageants ont été recueillis pour une analyse ultérieure sous forme d'extrait enzymatique. Le mélange réactionnel a été préparé en ajoutant 5 ml de CDNB (3 mM), 0,5 ml de GSH (120 mM), 1 ml de PPB (100 mM, pH 6,3) et 0,2 ml d'extrait enzymatique pour déclencher la réaction. Le changement d'absorbance du mélange réactionnel a été enregistré à 340 nm par un spectrophotomètre UV-VIS pendant 1 min à 25 °C. La valeur d'absorbance a été augmentée en raison de la formation d'un conjugué entre le GSH et le CDNB. L'activité GST a été mesurée en utilisant un coefficient d'extinction de 9,6 mM^{-1} cm^{-1}. Une unité (U) d'activité GST a été exprimée sous la forme de nmol CDNB-conjugués formés par min^{-1}.

4-7-5-3 *Activité ascorbate peroxydase (APX) :*

L'activité de l'ascorbate peroxydase dans les semis témoins et traités a été analysée en utilisant la méthode fournie par Nakano et Asada (1981).

4-7-5-3-1 Réactifs :

- Ascorbate: 01.0 and 2.0 mM
- EDTA: 01.0 mM
- H_2O_2 : 00.4 mM
- PPB (pH 7.0) : 50.0 mM

4-7-5-3-2 Procédure :

Pour la quantification de l'activité APX, 50 mg de feuilles fraîches de plants témoins et traités de *Triticum aestivum* L ont été homogénéisés dans 1 ml de PPB glacé (50 mM, pH 7,0) contenant 1 mM d'EDTA et 1 mM d'ascorbate, et ont été centrifugé à 10 000 tours/minute pendant 15 min à 4°C. L'extrait brut extrait de la centrifugation a été utilisé pour l'analyse APX. Le mélange réactionnel final contenait 0,5 ml de H_2O_2 (0,4 mM), 0,5 ml d'ascorbate (2 mM), 0,8 ml de PPB (50 mM, pH 7,0) et 0,2 ml d'extrait brut (extrait enzymatique ajouté pour initier la réaction). L'absorbance de la solution échantillon a été prise à 290 nm par un spectrophotomètre UV-Vis pendant 1 min à 25 ° C. L'activité APX a été dosée par le coefficient d'extinction de 2,8 mM^{-1} cm^{-1}. Une unité (U) d'activité APX a été exprimée en 1 nmol d'ascorbate oxydé par min^{-1}.

4-7-5-4 *Activité gaïacol peroxydase :*

L'activité de la peroxydase de Gaïacol a été calculée selon la méthode de Zhang (1992).

4-7-5-4-1 Réactifs :

- Potassium phosphate buffer (pH 6.1) : 50 mM
- Guaiacol: 1% (v/v)
- H_2O_2: 0.4% (v/v in potassium phosphate buffer, pH 6.1)

4-7-5-4-1 Procédure :

Les feuilles fraîches (50 mg) ont été mélangées dans 2 ml de tampon phosphate (50 mM ; pH 6,1). L'extrait a été centrifugé pendant 10 min à 10 000 tours/minute et le surnageant obtenu a été utilisé pour le dosage enzymatique. L'activité de la peroxydase a été calculée dans un volume total de 3 ml composé d'un tampon de phosphate de potassium (50 mM ; pH 6.1), 0.4% de H_2O_2, 1% de gaïacol et l'extrait d'enzyme. L'augmentation de l'absorbance résultant de l'oxydation du gaïacol a été contrôlée à 470 nm. Une unité d'activité POD est la quantité d'enzyme oxydant 1 µmol de gaïacol min^{-1} à 25 °C et l'activité de l'enzyme a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction (25,5 mM^{-1} cm) et représentée en U g^{-1} FW.

4-7-6 Constituants biochimiques :

Estimation des protéines totales :

L'analyse des protéines des plants témoins et traités des différentes expériences a été quantifiée en suivant la méthode fournie par Bradford (1976).

Réactifs :

- Potassium phosphate buffer (pH 7.8) : 50 mM
- Ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA): 1 mM
- Poly vinyl pyrrolidone (PVP): 2 % (w/v)
- Coomassie brilliant blue G-250 reagents: 0.01 % (w/v)

Procédure :

Pour analyser la teneur en protéines, les protéines ont été extraites en pesant 100 mg feuilles fraîches. Les échantillons prélevés ont été homogénéisés dans 50 mM de PPB (pH 7,8) contenant 1 mM d'EDTA et 2% (w/v) de PVP à 4°C. Les échantillons du mélange préparé ont ensuite été centrifugés à 10 000 tours/minute pendant 10 minutes à 4°C et les surnageants ont été recueillis pour la quantification des protéines. 0,1 ml de surnageant a été prélevé dans un

tube à essai et mélangé à 2,5 ml (0,01 %, w/v) de réactifs de Coomassie bleu brillant G-250. Le mélange a été maintenu pendant 2 minutes à température ambiante et l'absorbance a été mesurée à 595 nm. La teneur en protéines solubles totales a été étudiée en utilisant l'albumine sérique bovine comme solution protéique standard.

4-7-6-1 ***Teneur en polyphénol totale et du flavonoïde total :***

La teneur en polyphénol totale a été déterminée à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu à l'aide selon la méthode de Otto Folin et Vintilă Ciocalteu (Ibrahim & Jaafar, 2011). Tout d'abord, 0,5 g d'un échantillon de tissu de blé a été broyé avec 4 ml d'éthanol à 70% (v/v), puis le mélange a été placé dans un bain-marie à 70 °C pendant 50 min. Le mélange est ensuite centrifugé à 6000 tours/minute pendant 20 min. Une aliquote de 0,5 ml du surnageant, 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 2 ml de $NaCO_3$ à 12 % ont été ajoutés dans un tube à essaye, puis le mélange a été laissé au repos pendant 2 h. L'absorbance de la solution à 765 nm a ensuite été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre. L'acide gallique a été utilisé comme étalon pour établir une courbe d'étalonnage.

La teneur en flavonoïdes a été déterminée à l'aide d'une méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium (Toor & Savage, 2005). Un échantillon de tissu a été homogénéisée avec 10 ml de 70% (v/v) d'éthanol, puis le mélange a été centrifugé à 6000 tours/minute pendant 20 min. Une aliquote de 2 ml du surnageant, 0,5 ml de 5 % $NaNO_2$, 0,3 ml d'$AlCl_3$ à 10 % et 2 ml de NaOH à 4% ont été ajouté dans un récipient puis dilué à 10 ml avec de l'éthanol. L'absorbance de la solution à 510 nm a été déterminée après 12 min. La rutine a été utilisée comme étalon pour établir une courbe d'étalon.

4-8 Analyses statistiques :

Chaque expérience a été réalisée en triple, et chaque résultat est présenté comme la moyenne ± écart-type. Analyses de variance ont été effectuées pour identifier statistiquement significatif différences entre les variables à $P < 0,05$. Le test Tukey a été appliqué après l'analyse de la variance à l'aide du logiciel SPSS 20.0 pour identifier les effets interactifs entre les facteurs de traitement sur la croissance et les variables physiologiques. Le logiciel de GraphPad Prisme a été utilisé pour tracer des graphiques.

Résultats et discussion

5-1 Résultats :

Considérant les fonctions protectrices de NO contre différents abiotiques stress, dans diverses espèces végétales, le travail actuel visait à étudier l'atténuation puissances de molécule potentielle enrôlée sur les semis de blé, dans termes de croissance, de biomasse et de stabilité membranaire qui sont modulés par les expositions au AMP et au CON. En outre, la teneur en Chl total, en ERO, en MDA, et en protéines totales de Semis de blé soumis au AMP et au CON, et/ou NO ont également été surveillés.

5-1-1 Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la Longueurs et biomasse des pousses de blé :

Les indices de croissance ont été influencés négativement par les traitements au CON et/ou au AMP (Fig. 7 et 8). L'exposition de plantules de blé au AMP et au CON, séparément, pendant 7 jours ont révélé une chute considérable de la longueur des pousses [28,73% et 31,83% respectivement], de la biomasse des pousses [40 % et 51,11 respectivement] par rapport à leurs témoins (Fig. 7 et 8). Cependant, ces réductions ont encore été augmentées lorsque l'AMP et le CON ont été appliqués simultanément et ont dévoilé beaucoup plus de chute de longueurs (41,69%) et biomasse (48,88%) des pousses de blé après 7 jours de traitements. Les résultats ont indiqué que l'addition combiné d'AMP et de CON était plus dommageable que leurs applications seules. Au contraire, l'addition externe de NO aux plantes stressées a augmenté la longueur de (50,15%, 37,19% et 40,29% respectivement), et la biomasse des pousses de (75,55%, 66,66% et 77,78% respectivement) (Fig. 7 et 8), par rapport au AMP et/ou aux plantes traitées au CON.

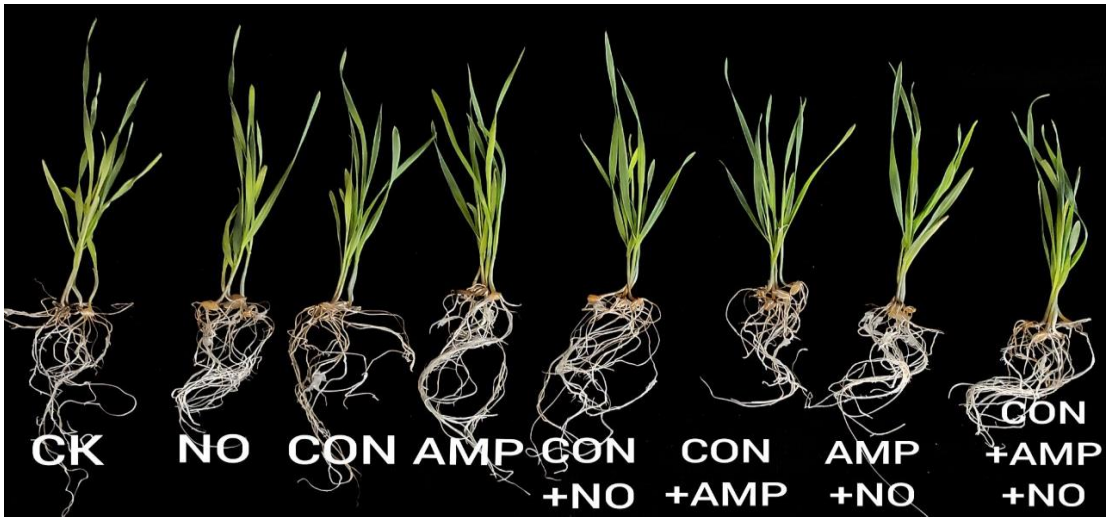


Figure 6: L'effet de pesticide, antibiotique et oxyde nitrique sur le blé dans le stade de croissance

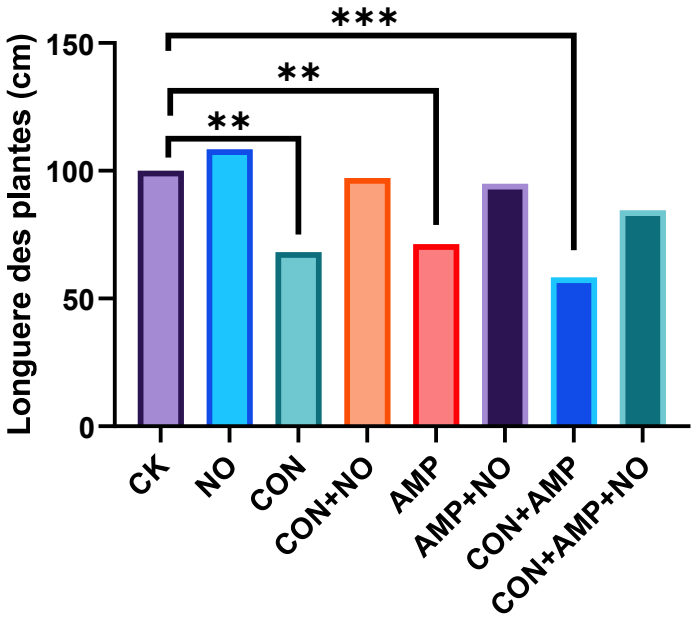


Figure 7: Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la longueur des pousses de blé.

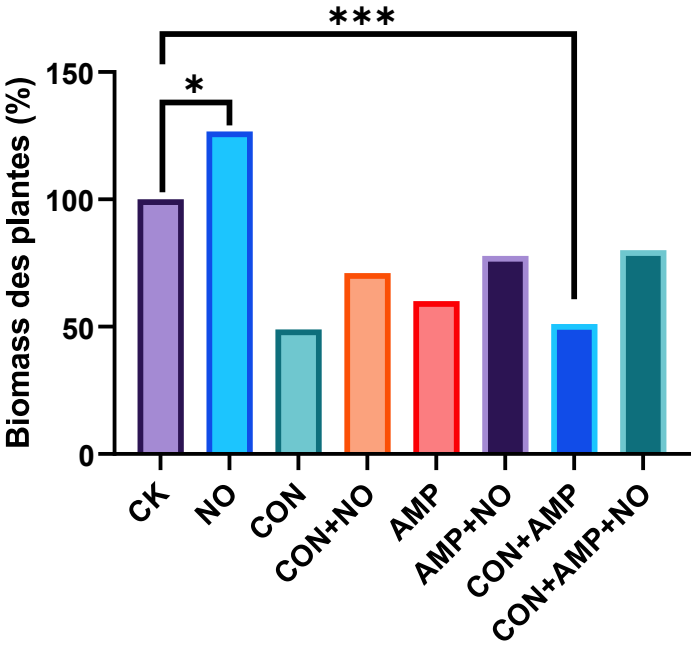


Figure 8: Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la biomasse des pousses de blé.

5-1-2 Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en chlorophylle totale des semis de blé :

Traitements d'AMP et de CON, séparément, dans les semis de blé a dévoilé une baisse remarquable (51,63% et 47,99% respectivement) de la teneur totale en Chl, par rapport à leurs témoins respectifs (Fig. 9). De plus, l'addition combinée de ces deux facteurs de stress ont entraîné une nouvelle baisse du Chl total de 40,61%, le révélant plus nocif que leurs applications individuelles. D'autre part, la supplémentation en NO avec l'AMP et/ou avec le CON, a augmenté la teneur totale en Chl de (27,88%, 38,9% et 35,26% respectivement) (Fig. 9), par rapport aux plantes traitées au AMP et au CON.

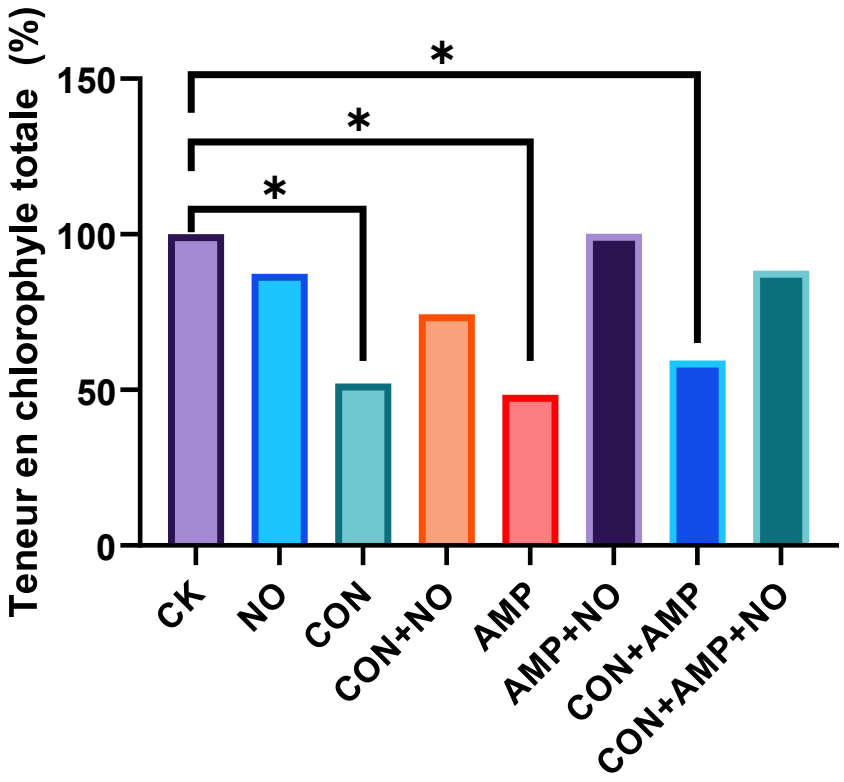


Figure 9: Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en chlorophylle totale des semis de blé.

5-1-3 Accumulation de peroxyde d'hydrogène dans les semis de blé soumis au AMP et aux CON, ainsi qu'à l'oxyde nitrique (NO) :

Une augmentation remarquable et significative de la génération de H_2O_2 a été documentée dans les Semis de Blé soumis à des traitements au AMP et/ou CON pendant 7 jours consécutifs. Le niveau de H_2O_2 mesuré lors de la seule application d'AMP et CON étaient [86,61% et 125,19% respectivement], que celle des tissus témoins (Fig. 10). Cependant, lors d'un traitement combiné du AMP et CON, la teneur en H_2O_2 a encore été augmentée de 120,47% dans les feuilles, par rapport aux tissus témoins (Fig. 10). Cependant, l'application de

NO avec l'AMP et/ou le CON a diminué l'accumulation de H_2O_2 (33,86%,62,21% et 140,94% respectivement), que celles enregistrées dans les semis traités au AMP et de CON (Fig. 10).

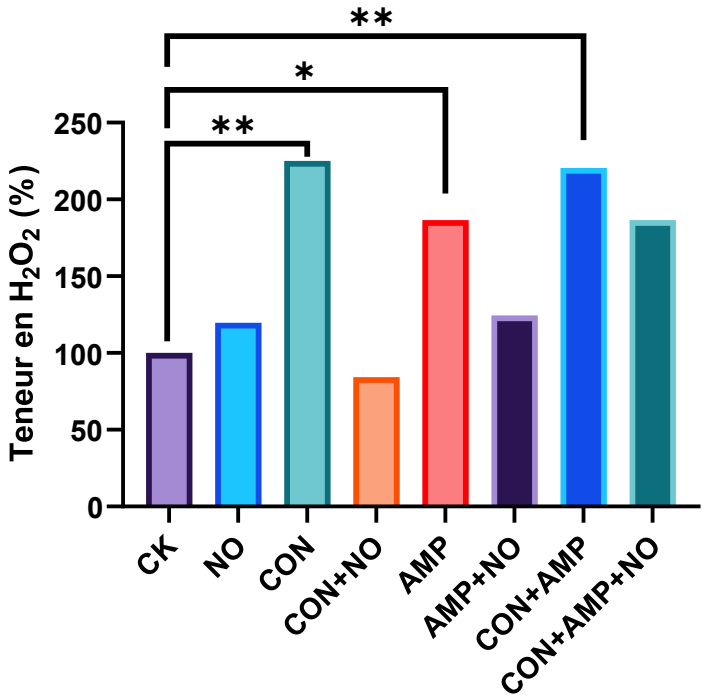


Figure 10: Accumulation de peroxyde d'hydrogène dans les semis de blé soumis au AMP et aux CON, ainsi qu'à l'oxyde nitrique (NO).

5-1-4 Teneur en malondialdéhyde dans les feuilles de blé soumis au AMP et aux CON, en association avec l'oxyde nitrique (NO) :

Le changement de la teneur en MDA a été surveillé dans des semis de blé âgés de 7 jours et s'est avéré être remarquablement augmenté par (82,65%) en réponse au AMP, tandis que le CON était considéré comme améliorant de (138,01%) que ceux mesuré dans des tissus de semis (Fig. 11). De l'autre côté, le niveau de MDA a été encore amélioré dans de (206,37%) en réponse à l'ajout conjoint d'AMP et de CON. Au contraire, la supplémentation exogène de NO avec AMP et/ou CON diminuée la teneur en MDA dans les feuilles (175%, 82,31% et 134,95% respectivement), par rapport à des semis traités d'AMP et de CON (Fig. 11).

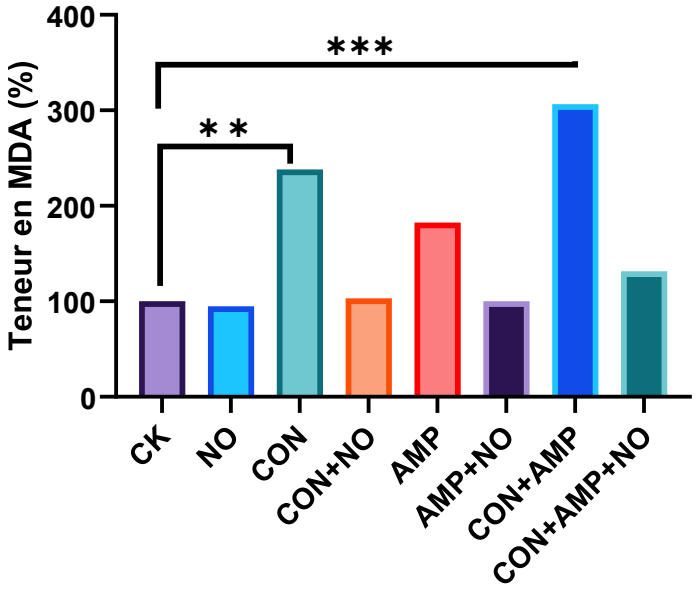


Figure 11: Teneur en malondialdéhyde dans les feuilles de blé soumis au AMP et aux CON, en association avec l'oxyde nitrique (NO).

5-1-5-Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur les Enzymes :

5-1-5-1 *Analyses spectrophotométriques du glutathion-s-transférase*

Une amplification significative d'activité de GST a été déterminée en réponse au AMP et/ou exposition au CON dans les semis de blé, en général. L'exposition des semis au AMP et au CON, séparément, l'amélioration induite dans les activités de GST (33,24% et 20,98% respectivement), par rapport aux échantillons témoins (Fig. 12). Considérant que le traitement combiné du AMP et du CON a encore augmenté l'activité de GST de (91,77%) dans les feuilles, que celle estimée dans de tissu similaire de semis témoins (Fig. 12). Cependant, une supplémentation exogène en NO avec l'AMP et le CON ont encore diminué l'activité de la GST (38,5%), comparativement à celles estimées dans des semis traités au AMP et au CON. Cependant, une supplémentation exogène en NO avec l'AMP ou le CON ont encore augmenté l'activité de GST (18,13% et 27,11% respectivement), comparativement à celles estimées dans des semis traités au AMP et au CON (Fig. 12).

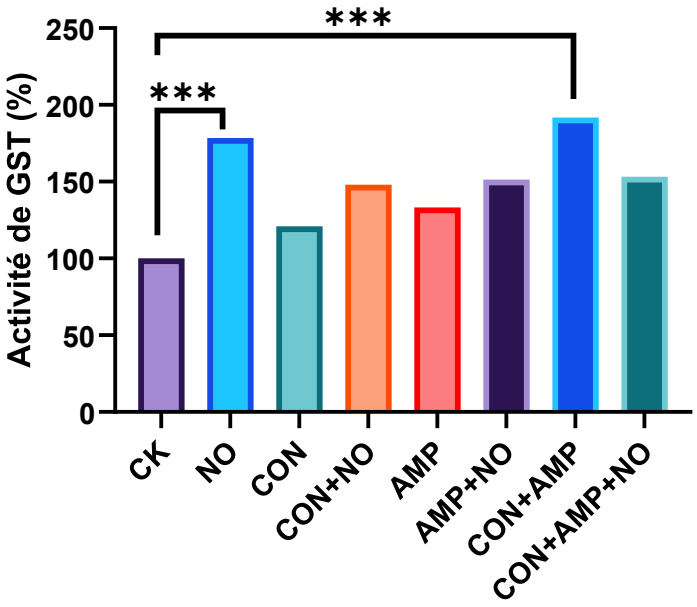


Figure 12: Analyses spectrophotométriques de la glutathion-s-transférase dans les semis de blé exposés à divers traitements de AMP et de CON ainsi qu'à l'oxyde nitrique (NO).

5-1-5-2 *Analyses spectrophotométriques de catalase*

Une diminution notable d'activité de CAT a été déterminée en réponse au AMP et/ou CON dans les semis de blé. Application du AMP et du CON, séparément, a diminué l'activité de CAT (60,77% et 48,23% respectivement), par rapport à celle estimée en tissus correspondants de semis témoins (Fig. 13). En revanche, l'ajout conjoint d'AMP et de CON a encore diminué l'activité de CAT de (53,78%) dans les feuilles, par rapport aux tissus témoins (Fig. 13). En revanche, l'ajout exogène de NO dans les semis stressés par l'AMP et/ou le CON maintenu comparativement plus élevé les enzymes antioxydant (3,33%, 30,65% et 37,29% respectivement), par rapport à des semis traités d'AMP et au CON (Fig. 13).

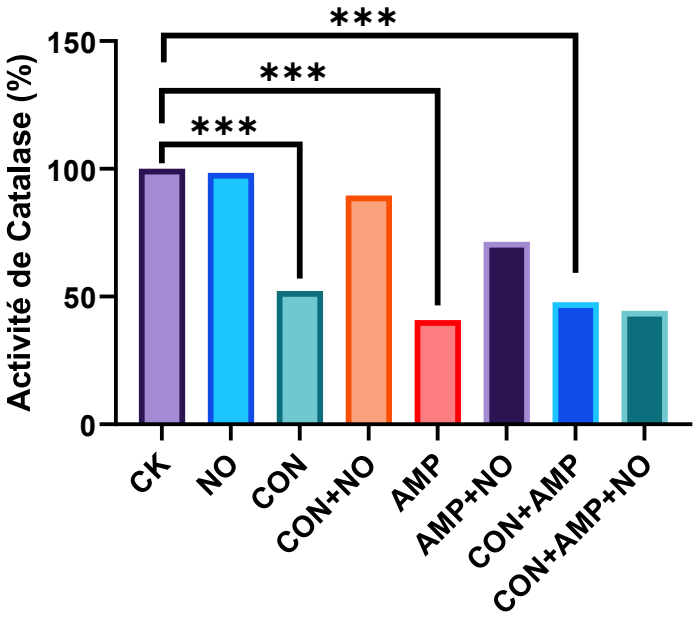


Figure 13: Analyses spectrophotométriques de la catalase dans les semis de blé exposés à divers traitements d'AMP et de CON ainsi qu'à l'oxyde nitrique (NO).

5-1-5-3 *Analyses spectrophotométriques de l'ascorbate peroxydase*

Une diminution significative d'activité d'APX a été surveillée en réponse au AMP et/ou CON dans des tissus âgés de 7 jours de blé. Le Traitements individuels du AMP et le CON ont provoqué une diminution de l'activité de l'APX (31,19% et 40,7% respectivement), par rapport aux tissus de contrôle (Fig. 14). D'un autre côté, l'application conjointe du AMP et du CON a augmenté l'activité de l'APX de (6,17%), par rapport au contrôle (Fig. 14). En revanche, l'ajout exogène de NO dans les semis stressés par l'AMP et/ou le CON maintenu comparativement plus élevé le APX (0.78%, 20,4% et 10,74% respectivement), par rapport à des semis traités d'AMP et de CON (Fig. 14).

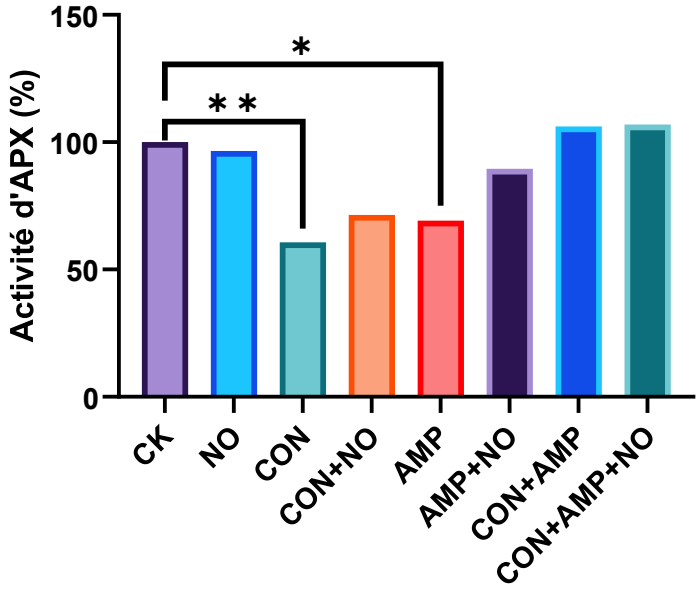


Figure 14: Analyses spectrophotométriques de l'ascorbate peroxydase dans les semis de blé exposés à divers traitements d'AMP et de CON ainsi qu'à l'oxyde nitrique (NO).

5-1-5-4 *Analyses spectrophotométriques de la peroxydase*

Une diminution significative d'activité de POD a été déterminée en réponse au AMP et/ou traitements CON dans les semis de blé. Individuel l'application d'AMP dans les semis a provoqué une amplification d'activité de POD (1,85%), l'application de CON dans les semis a provoqué une diminution de l'activité de POD (51,82%), comparé aux échantillons témoin (Fig. 15). Considérant que le traitement conjoint du AMP et du CON en outre diminué l'activité de celui-ci de (24,13%) par rapport à celle estimée dans des tissus témoins (Fig. 15). En revanche, l'ajout exogène de NO dans les semis stressés par l'AMP et/ou le CON maintenu comparativement plus élevé le POD (25,63%, 35,77% et 79,69% respectivement), par rapport à des semis traités d'AMP et de CON (Fig. 15).

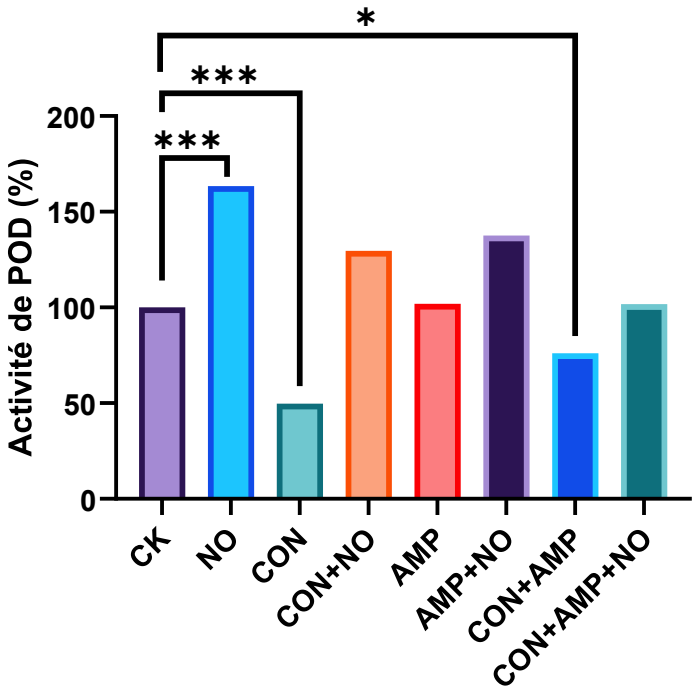


Figure 15: Analyses spectrophotométriques de la peroxydase dans les semis de blé exposés à divers traitements d'AMP et de CON ainsi qu'à l'oxyde nitrique (NO).

5-1-6 Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en flavonoïde des semis de blé :

L'Exposition des semis de blé au AMP et/ou au stress CON pendant 7 jours ont provoqué un accroissement d'accumulation de Flavonoïde, en général. L'application individuelle d'AMP et CON, le niveau de Flavonoïde estimé dans différents tissus était de (140,39% et 26,26% respectivement) qui étaient comparativement plus élevées que celles mesurées dans des feuilles de semis contrôle (Fig. 16). Cependant, le traitement combiné du AMP et du CON a entraîné considérablement plus élever, c'est-à-dire (59,48%) de synthèse de flavonoïde dans les feuilles, par rapport aux tissus témoins (Fig. 16). En revanche, l'ajout exogène de NO dans les semis stressés par l'AMP et le CON maintenu comparativement plus moins le FLAVO (41,07%) par rapport à des semis traités d'AMP et de CON (Fig. 16). L'ajout exogène de NO dans les semis stressés par l'AMP maintenu comparativement plus moins le FLAVO (14,79%), par rapport à des semis traités d'AMP et de CON (Fig. 16). L'ajout exogène de NO dans les semis stressés par le CON maintenu comparativement plus élevé le FLAVO (67,33%), par rapport à des semis traités d'AMP et de CON (Fig. 16).

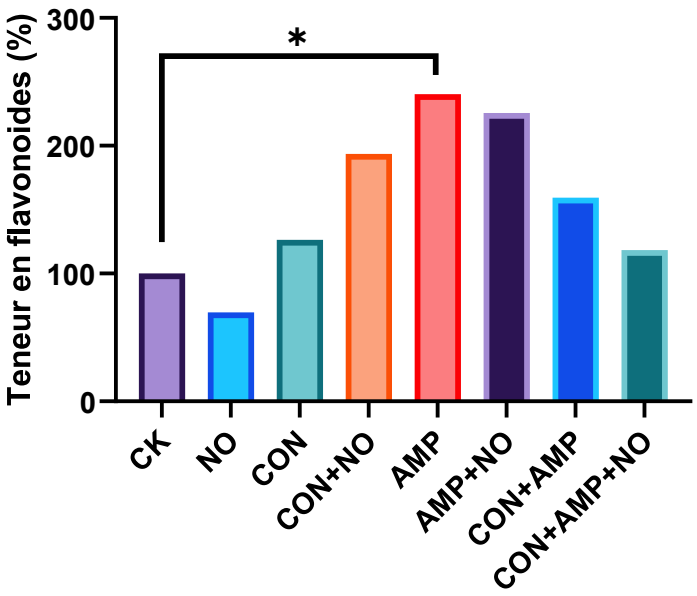


Figure 16: Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en flavonoïde des semis de blé.

5-1-7 Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en polyphénols totaux des semis de blé :

L'Exposition des semis de blé au AMP et/ou au stress CON pendant 7 jours ont provoqué un accroissement d'accumulation de PPO, en général. L'application individuelle d'AMP et CON, le niveau de PPO estimé dans différents tissus était de (9,42% et 20,75% respectivement) qui étaient comparativement plus élevées que celles mesurées dans des feuilles de semis contrôle (Fig. 17). Cependant, le traitement combiné du AMP et du CON a entraîné considérablement plus élever, c'est-à-dire (27,91%) de synthèse de PPO dans les feuilles, par rapport aux tissus témoins (Fig. 17). En revanche, l'ajout exogène de NO dans les semis stressés par l'AMP et le CON maintenu comparativement plus moins le PPO (24,85%) par rapport à des semis traités d'AMP et de CON (Fig. 17). L'ajout exogène de NO dans les semis stressés par l'AMP ou CON maintenu comparativement plus élevé le PPO (6,49% et 27,86% respectivement), par rapport à des semis traités d'AMP et de CON (Fig. 17).

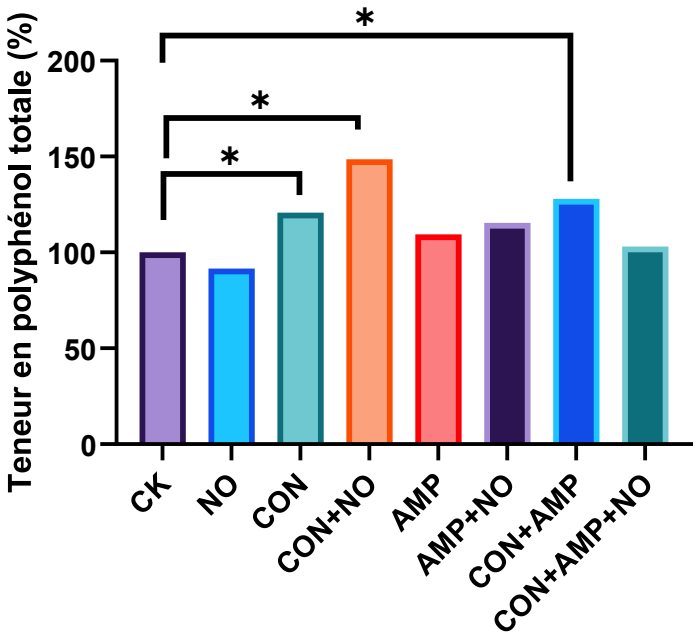


Figure 17: Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en polyphénols totaux des semis de blé.

5-1-8 Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en glutathion des semis de blé :

Des plantules de blé soumis au AMP et au CON pendant 7 jours ont montré une accumulation accrue de glutathion. Dans les semis exposés au AMP et CON, le contenu de GSH se sont avérés remarquablement améliorés dans les feuilles (65,9% et 54,42%) (Fig. 18). De plus, les niveaux de GSH ont été encore augmentés dans les feuilles (81,63%) en réponse à l'ajout conjoint d'AMP et de CON (Fig. 18). En revanche, l'ajout exogène de NO dans les semis stressés par l'AMP et/ou le CON maintenu comparativement plus diminué le GSH (88,85%, 9,51% et 53,44% respectivement), par rapport à des semis traités d'AMP et de CON (Fig. 18).

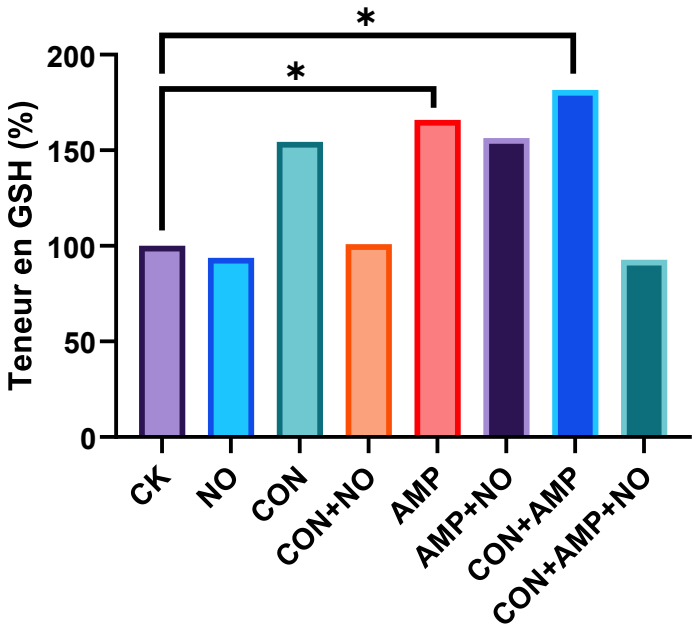


Figure 18: Effets des différents traitements du AMP, de CON et d'oxyde nitrique (NO) sur la teneur en glutathion des semis de blé.

5-2Discussion :

La combinaison de deux stress abiotiques ou plus a une influence négative sur les plantes, que chacune des contraintes, lorsqu'elles sont appliquées individuellement. La croissance et le développement sont processus indispensables à la survie et à la multiplication continues de toute espèce végétale. Les antibiotiques et les pesticides sont des stress abiotiques majeurs limitant la croissance des plantes et la biomasse (Han et al., 2021; Gennadievna et al., 2022). Le suivi du nombre de feuilles, la longueur des pousses et des racines et la biomasse de ces parties reflètent la croissance et l'état de développement de toute espèce végétale. Dans la présente enquête, après 7 jours de traitements, les semis de blé ont révélé des réductions de biomasse et la longueur des pousses en réponse aux traitements d'AMP et de CON, par rapport au contrôle. Bien que cette réduction de la croissance ait été encore élevé considérablement lorsque ces deux facteurs de stress ont été appliqués conjointement (Fig. 7 et 8). La réduction de traits morphologiques sous traitement au AMP peut être dus à la perturbation de divers processus métaboliques et transport accru d'antibiotique du sol vers les plantes (Zhao et al., 2022). En revanche, la réduction des caractères de croissance sous le stress CON peut être dû à la perturbation des chloroplastes et à la baisse du potentiel hydrique dans les cellules végétales, entraînant une fermeture des stomates et une assimilation limitée du CO_2, et enfin, inhibition de la division cellulaire. la diminution des pigments chlorophylliens est due à la fermeture des stomates et au manque de CO_2 qui sont associés à une production accentuée de ERO. Outre les dommages causés à la chlorophylle, le stress hydrique réduit également la concentration des Car (Bouchemal et al., 2023).

Dans la présente étude, l'exposition des semis de blé au AMP et au CON a montré des réductions significatives de croissance, par rapport aux contrôle (Fig. 7 et 8). La diminution de la biomasse peut éventuellement être due à la dissipation d'énergie pour contre-carrer les lésions induites par l'AMP (Bao et al., 2022). De même, le CON altère la croissance en limitant les activités des enzymes du cycle de Calvin inhibant ainsi la fixation de carbone, et en réduisant le transport des glucides des feuilles aux autre organes (Mir et al., 2022). Un changement similaire dans la croissance a également été enregistré par (Whitaker et al., 2010), (Zheng et al., 2015) et (Kinsou et al., 2021) en réponse à SAR chez *Trichilia dregeana*, *Oryza sativa* et *Lycopersicon esculentum* respectivement.

La photosynthèse est un processus physico-chimique de base pour maintenir la vie des plantes et diverses activités à partir desquelles s'effectuent les synthèses de composés organiques (glucides) par l'utilisation d'énergie lumineuse. La chlorophylle qui permet aux

plantes d'obtenir l'énergie de la lumière est vitale pour photosynthèse (Touzout et al., 2021). Les antibiotiques et les pesticides sont considérés comme de graves contraintes environnementales dues à leurs effets défavorables sur les processus bioénergétiques de la photosynthèse (Gill & Tuteja, 2010). Le niveau de Chl total est postulé comme un indicateur simple et fiable de divers stress abiotiques chez les plantes. Les résultats de la présente étude ont montré une diminution du contenu de Chl total en plantules soumis au AMP et CON. De plus, le degré de réduction a encore augmenté en réponse au traitement combiné du AMP et du CON, par rapport à leurs témoins respectifs (Fig. 9).

Il a été démontré que les antibiotiques inhibent la synthèse de Chl en altérant l'absorption des éléments essentiels comme Mg^{2+} par les plantes, et endommage l'appareil photosynthétique en raison de son affinité pour les ligands N et S des protéines clés. De plus, l'activation d'enzyme chlorophyllase, sur-accumulation de ERO, et changement dans la composition lipidique des membranes thylakoïdes ont également été tenus pour responsables de réduction de Chl dans les plantes stressées par l'AMP (Bouchemal et al., 2023). absorption perturbée de Mg^{2+} et Fe^{2+} qui sont cruciales pour la synthèse de chlorophylle (Wei et al., 2021). Un changement similaire dans la teneur en Chl a également été signalé chez *Spinacia oleracea*, *Brassica rapa* et *Brassic*a traités au antibiotiques par (Hussain et al., 2022), (Luo et al., 2008) (Cenkci et al., 2010) et (Fayyaz et al., 2014) respectivement.

Dans la présente étude, l'exposition des semis de blé au AMP et CON pendant une semaine a diminué la croissance et la teneur totale en chlorophylle. L'étude actuelle a révélé que l'application combinée d'AMP et de CON était plus dommageable pour les semis de blé que leur application seule. L'ajout externe de NO aux plantes stressées ont amélioré leur croissance et leur teneur totale en Chl (Fig. 7, 8 et 9), par rapport au semis traités au AMP et au CON.

Ces résultats suggèrent que l'application exogènes de NO s'équilibrent significativement la diminution de la croissance des plantes et a amélioré la tolérance au stress en servant des activateurs d'absorption des nutriments et atténuateurs des effets néfastes de la croissance et développement sous stress d'AMP et de CON. L'étude actuelle est en accord avec les conclusions de (Xie et al., 2018) et (Debnath et al., 2018) en plomb et SAR a souligné *Zea mays* et *Solanum lycopersicum* respectivement. Les résultats ont démontré que le NO était plus efficace dans restauration des traits de croissance des semis stressés.

Divers stress abiotiques, y compris les xénobiotiques, sont largement signalés comme favorisant production de ERO dans les plantes (Kaya et al., 2022). L'accumulation de ERO à

la suite de divers stress environnementaux est une cause majeure réduction de la productivité des cultures dans le monde (Touzout et al., 2021). Il a été démontré que les espèces réactives d'oxygène affectent diverses fonctions cellulaires en causant des effets néfastes sur les acides nucléiques, en oxydant les protéines et imposant une peroxydation des fractions lipidiques chez les plantes affectées (Li et al., 2019). L'accumulation de ERO induite par le stress est équilibrée par divers antioxydants enzymatiques (SOD, CAT, APX et POD) et des antioxydants non enzymatiques tels que Polyphénol, flavonoïdes, GSH, etc.

Les plantules de blé soumis au traitements AMP et/ou au CON, ont montré une accumulation excessive de H_2O_2, cependant, leur combinaison a induit comparativement plus de synthèses de H_2O_2 (Fig. 10). Augmentation l'accumulation de H_2O_2 sous contrainte de AMP et/ou au CON indiquait clairement que CAT n'était pas disponible en quantité suffisante pour piéger le H_2O_2 produit en excès.

Le peroxyde d'hydrogène est l'un des ERO, et une concentration accrue de celui-ci initie la signalisation qui incluent l'activation d'enzymes antioxydants, l'expression de gènes et dommages cellulaires (Fichman et al., 2019). Dans cette étude, il y a eu une augmentation du H_2O_2 contenu dans les feuilles lorsque le blé a été traité avec AMP et/ou CON pendant 7 jours successifs (Fig. 10). L'accumulation accrue de H_2O_2 en réponse à AMP et CON indiquaient clairement que CAT, APX et POD n'étaient pas disponibles dans des quantités suffisantes pour piéger l'excès de ERO produit à la suite de stress d'antibiotique et/ou fongicide (Soares et al., 2023). Un changement similaire dans la génération des radicaux libres sous stress d'antibiotique a également été observée chez *Triticum aestivum* L (Kaur et al., 2012), *Pluchea sagittalis* (Rossato et al., 2012) et *Zygophyllum fabago* (López-Orenes et al., 2018). De même, le traitement du pesticide dévoilé sur la production de ERO à *Cucumis sativus, Triticum aestivum et Oryza sativa*, comme observé par (Wyrwicka & Skłodowska, 2006), (Badridze et al., 2015) et (Hu et al., 2018) respectivement.

La réponse des enzymes (CAT, APX et POD) impliquées dans l'atténuation des ERO dépend fortement de l'espèce, de l'âge, de l'état de croissance et des conditions des plantes. NOS résultats ont montré une augmentation significative de l'activité de CAT dans les tissus de blé sous exposition au AMP et/ou CON, après 7 jours (Fig. 12). L'augmentation de l'activité CAT est généralement attribuée en raison à une augmentation de la concentration en O_2^-. Cette activité accrue est peut-être due aux synthèses de novo d'enzymes et de protéines (Couderchet et al., 2011), qui sont attribué à l'induction du gène CAT par la voie de transduction du signal

médiée par H_2O_2 (L. Li et al., 2023). Activité accrue de cette enzyme en réponse au xénobiotique a également été déterminée par (Ye et al., 2004), (Gabara et al., 2003), (Rossato et al., 2012) chez *Cucumis sativus*, *Lycopersicon esculentum*, *Pluchea sagittalis* et *Talium triangulaire* respectivement.

L'APX pourrait être responsable du réglage fin des ERO pour la signalisation, alors que le POD peut être responsable de l'élimination des ERO en excès au cours de diverses stress biotiques et abiotiques (Couderchet et al., 2011). Dans la présente étude, les activités d'APX et de POD ont été augmentée dans les tissus de blé après 30 jours de traitements. L'augmentation des activités APX et POD devrait probablement aider les plantes à surmonter l'accumulation excessive de H_2O_2 et peut également aider à tolérer les stress environnementaux y compris les antibiotiques et les pesticides. Par conséquent, une corrélation positive de H_2O_2 a été observée avec APX et POD. D'autre part, l'augmentation l'activité d'APX ou de POD n'était pas suffisante pour contrer les dommages de stress oxydatif imposées par l'AMP et le CON. Plus apparemment, une action coordonnée de toutes les antioxydants étaient essentiellement requis pour la tolérance des plantes au stress. Nos résultats sont en congruence avec les conclusions de (Wyrwicka et al., 2014), (E. U. Liu & Liu, 2011), (Rossato et al., 2012) et (Hu et al., 2018) sur *Cucumis sativus*, *Cinnamomum philippinense*, *Pluchea sagittalis* et *Oryza sativa* respectivement en réponse à la toxicité du plomb et du SAR.

Dans cette enquête, l'activité de GST a montré une amélioration significative dans les tissus de semis de blé traités au AMP et/ou au CON. Les GSTs sont également engagées dans la détoxification de polluants. Une induction similaire de l'activité GST a également été remarqué par d'autres chercheurs en réponse au insecticides (imidaclopride et deltametrine) dans divers tissus de tomate (Touzout et al., 2021).

Inversement, ajout supplémentaire de NO avec l'AMP et le CON ont réduit le taux de H_2O_2 tout en augmentant l'activité des enzymes antioxydants (Fig. 10). Ce phénomène signifie leurs rôles défensifs contre les dommages oxydatifs, dans des conditions de stress, en diminuant le rythme des générations de ERO et amélioration de la défense antioxydant (Kumar & Ohri, 2023). De plus, dans la présente étude, le NO s'est avéré plus efficace pour stabiliser l'intégrité de la membrane. Cependant, le niveau de MDA était considérablement moindre de NO ont appliqué du AMP et des semis stressés par CON. Ces réductions de MDA suggèrent que le NO pourrait être servi d'agents protecteurs contre les dommages oxydatifs ou de stimulateurs du système antioxydant ou piégeurs de radicaux libres, dans les semis stressés par l'AMP et le CON. Nos résultats sont en conformément aux conclusions de (Singh et al., 2023)

et (Hasanuzzaman et al., 2017) traités respectivement au SAR et au plomb. Cependant, une nouvelle augmentation des activités des deux antioxydants a été déterminés en réponse à l'ajout supplémentaire de NO, dans les feuilles de semis stressés, ce qui pourrait être dû au rôle de signalisation de cette molécule.

Les polyphénols totaux et les flavonoïdes agissent comme des antioxydants non enzymatiques dans les mécanismes de piégeage des ERO et partagent les rôles des enzymes antioxydants (Han et al., 2021). Le teneur des feuilles en ERO peut être tamponné par les caroténoïdes (Bouchemal et al., 2023). Dans cette étude, la teneur de métabolites secondaire a montré une amélioration significative dans les tissus de semis de blé traités au AMP et/ou au CON (Fig. 16 et 17). Arab a également constaté que les métabolites secondaires peuvent contribuer au piégeage des ERO dans les plantes exposées à l'O_3 (Bemmansour, 2004).

Conclusion

En conclusion, des traitements de CON et d'AMP ont considérablement inhibé la croissance des semis du blé. La surproduction de ERO induite par le stress d'antibiotique et de pesticide pourrait augmenter la teneur en MDA des semis de blé. Cette surproduction de ERO a également activé les systèmes de défense antioxydants en renforçant l'activité de catalase (CAT) et des peroxydases (POD). Par ailleurs, L'oxyde nitrique a augmenté la production de chlorophylle, de catalase (CAT) et de peroxydases (POD) chez le blé. En revanche, il a diminué les niveaux de glutathion (GSH) et de flavonoïdes (FLAVO). De plus, il a réduit les niveaux de malondialdéhyde (MDA) et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Tous ces effets contribuent à augmenter la tolérance des plantes. Ces résultats permettent de mettre en perspective les effets des pesticides et des antibiotiques sur le blé et d'améliorer ainsi notre compréhension des mécanismes impliqués dans leur toxicité. Cependant, des études supplémentaires seront nécessaires pour approfondir notre connaissance du rôle de l'oxyde nitrique (NO) dans la croissance des semis et l'élongation des racines des cultures sous stress.

Références

Adamu, A., & Abebe, W. (2022). Practices and challenges of wheat producer farmers on safe pesticide use in Basoliben district, East Gojjam zone, Ethiopia. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *21*(1), 43–50. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2021.06.013

Alamri, S., Siddiqui, M. H., Mukherjee, S., Kumar, R., Kalaji, H. M., Irfan, M., Minkina, T., & Rajput, V. D. (2022). Molybdenum-induced endogenous nitric oxide (NO) signaling coordinately enhances resilience through chlorophyll metabolism, osmolyte accumulation and antioxidant system in arsenate stressed-wheat (Triticum aestivum L.) seedlings. *Environmental Pollution*, *292*(PA), 118268. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118268

Anaduaka, E. G., Uchendu, N. O., Asomadu, R. O., Ezugwu, A. L., Okeke, E. S., Prince, T., & Ezeorba, C. (2023). Jo ur of. *HELIYON*, e15173. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15173

Appah, S., Jia, W., Ou, M., Wang, P., & Asante, E. A. (2020). Analysis of potential impaction and phytotoxicity of surfactant-plant surface interaction in pesticide application. *Crop Protection*, *127*(April 2019), 104961. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104961

Badridze, G., Kacharava, N., Chkhubianishvili, E., Rapava, L., Kikvidze, M., Chanishvili, S. H., & Chigladze, L. (2015). Influence of ultraviolet irradiation and acid precipitations on the content of antioxidants in wheat leaves. *Applied Ecology and Environmental Research*, *13*(4), 993–1013. https://doi.org/10.15666/aeer/1304_9931013

Bao, Y., Pan, C., Li, D., Guo, A., & Dai, F. (2022). Science of the Total Environment Stress response to oxytetracycline and microplastic-polyethylene in wheat (Triticum aestivum L .) during seed germination and seedling growth stages. *Science of the Total Environment*, *806*, 150553. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150553

Blösch, S., Albrecht, M., Jenny, M., Streit, B., & Knop, E. (2023). Rows make the field: Winter wheat fields with manipulated crop architecture show potential for ecological intensification based on higher natural pest and weed seed control. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *348*(September 2022). https://doi.org/10.1016/j.agee.2023.108404

Bouchemal, K., Bouldjadj, R., Belbekri, M. N., Ykhlef, N., & Djekoun, A. (2023). *Pigments photosynthétiques , enzymes antioxydantes et potentiel osmotique foliaire de dix génotypes de blé dur (Triticum durum) : effet du stress hydrique Photosynthetic pigments , antioxydant enzymes and leaf osmotic potential of ten durum wheat (Trit*.

Calabrese, E. J., & Agathokleous, E. (2023). Nitric oxide, hormesis and plant biology. *Science of the Total Environment*, *866*(November 2022), 161299. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161299

Cenkci, S., Yildiz, M., Ciĝerci, I. H., Bozdaĝ, A., Terzi, H., & Terzi, E. S. A. (2010). Evaluation of 2,4-D and Dicamba genotoxicity in bean seedlings using comet and RAPD assays. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *73*(7), 1558–1564. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.07.033

Centanni, M., Ricci, G. F., Girolamo, A. M. De, Romano, G., & Gentile, F. (2023). A review of modeling

pesticides in freshwaters : Current status , progress achieved and desirable improvements . ☆. *Environmental Pollution*, *316*(P2), 120553. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120553

Chauhan, P., Kumari, M., Chaudhary, S., & Ram, G. (2022). Science of the Total Environment Seed germination studies on Chickpeas , Barley , Mung beans and Wheat with natural biomass and plastic waste derived C-dots. *Science of the Total Environment*, *837*(December 2021), 155593. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155593

Chen, C., Lei, H., Liu, N., & Yan, H. (2022). An aptasensor for ampicillin detection in milk by fluorescence resonance energy transfer between upconversion nanoparticles and Au nanoparticles. *Food Chemistry: X*, *15*(September), 100439. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100439

Cornejo, O. M., Sirés, I., & Nava, J. L. (2023). Continuous H2O2 production sustained by anodic O2 for the destruction of the antibiotic ampicillin by photoelectro-Fenton process in a rotating cylinder electrode reactor. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *11*(2), 109326. https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.109326

Couderchet, M., Mench, M., Lagadic, L., & Mougin, C. (2011). Pour obtenir le grade de Docteur de l ' université de Grenoble Thèse dirigée par Patrick Ravanel et Phytoremédiation des organochlorés . Etude mécanistique et fonctionnelle des capacités épuratrices du système plante-rhizosphère. *Techniques*.

Debnath, B., Irshad, M., Mitra, S., Li, M., Rizwan, H. M., Liu, S., Pan, T., & Qiu, D. (2018). Acid Rain Deposition Modulates Photosynthesis, Enzymatic and Non-enzymatic Antioxidant Activities in Tomato. *International Journal of Environmental Research*, *12*(2), 203–214. https://doi.org/10.1007/s41742-018-0084-0

Fayyaz, L., Farhatullah, Rabbani, M. A., Iqbal, S., Kanwal, M., & Nawaz, I. (2014). Genetic diversity analysis of Brassica napus/Brassica campestris progenies using microsatellite markers. *Pakistan Journal of Botany*, *46*(3), 779–787.

Fiaz, M., Ahmed, I., Masood, S., Hassan, U., Khan, A., Fahim, M., Ansar, M., & Arshad, M. (2023). Science of the Total Environment Antibiotics induced changes in nitrogen metabolism and antioxidative enzymes in mung bean (Vigna radiata). *Science of the Total Environment*, *873*(February), 162449. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162449

Fichman, Y., Miller, G., & Mittler, R. (2019). Whole-Plant Live Imaging of Reactive Oxygen Species. *Molecular Plant*, *12*(9), 1203–1210. https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.06.003

Gabara, B., Skłodowska, M., Wyrwicka, A., Glińska, S., & Gapińska, M. (2003). Changes in the ultrastructure of chloroplasts and mitochondria and antioxidant enzyme activity in Lycopersicon esculentum Mill. leaves sprayed with acid rain. *Plant Science*, *164*(4), 507–516. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00447-8

Gawrońska, M., Kowalik, M., & Makowski, M. (2022). Recent advances in medicinal chemistry of ampicillin: Derivatives, metal complexes, and sensing approaches. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, *155*. https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116691

Gennadievna, N., Ekaterina, M., Shishatskaya, I., & Pyatina, S. A. (2022). Cytogenotoxic activity of herbicidal and fungicidal pesticides on Triticum aestivum root meristem. *Environmental Science and Pollution Research*, 87602–87612. https://doi.org/10.1007/s11356-022-21936-x

Ghorbani, A., Pishkar, L., Roodbari, N., Pehlivan, N., & Wu, C. (2021). Nitric oxide could allay arsenic phytotoxicity in tomato (Solanum lycopersicum L.) by modulating photosynthetic pigments, phytochelatin metabolism, molecular redox status and arsenic sequestration. *Plant Physiology and Biochemistry*, *167*(April), 337–348. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.08.019

Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 909–930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016

Guo, A., Pan, C., Su, X., Zhou, X., & Bao, Y. (2022). Combined effects of oxytetracycline and microplastic on wheat seedling growth and associated rhizosphere bacterial communities and soil metabolite profiles. *Environmental Pollution*, *302*(January), 119046. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119046

Han, T., Wang, B., Wu, Z., Dai, C., Zhao, J., Mi, Z., Yang, J., Zhai, W., Zheng, F., Chen, Z., & Zhang, B. (2021). Ecotoxicology and Environmental Safety Providing a view for toxicity mechanism of tetracycline by analysis of the connections between metabolites and biologic endpoints of wheat. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *212*, 111998. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111998

Hasanuzzaman, M., Nahar, K., & Anee, T. I. (2017). Glutathione in plants : biosynthesis and physiological role in environmental stress tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *23*(2), 249–268. https://doi.org/10.1007/s12298-017-0422-2

Hu, J., Chang, X., Zou, L., Tang, W., & Wu, W. (2018). Identification and fine mapping of Bph33, a new brown planthopper resistance gene in rice (Oryza sativa L.). *Rice*, *11*(1). https://doi.org/10.1186/s12284-018-0249-7

Huang, G., Zuverza-mena, N., White, J. C., & Hu, H. (2022). Science of the Total Environment Simultaneous exposure of wheat (Triticum aestivum L .) to CuO and S nanoparticles alleviates toxicity by reducing Cu accumulation and modulating antioxidant response. *Science of the Total Environment*, *839*(May), 156285. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156285

Hussain, I., Saleem, M. H., Mumtaz, S., Rasheed, R., Ashraf, M. A., Maqsood, F., Rehman, M., Yasmin, H., Ahmed, S., Ishtiaq, M., Anwar, S., & Ali, S. (2022). Choline Chloride Mediates Chromium Tolerance in Spinach (Spinacia oleracea L.) by Restricting its Uptake in Relation to Morpho-physio-biochemical Attributes. *Journal of Plant Growth Regulation*, *41*(4), 1594–1614. https://doi.org/10.1007/s00344-021-10401-7

Ibrahim, M. H., & Jaafar, H. Z. E. (2011). Involvement of carbohydrate, protein and phenylanine ammonia lyase in up-regulation of secondary metabolites in labisia pumila under various CO 2 and N2 levels. *Molecules*, *16*(5), 4172–4190. https://doi.org/10.3390/molecules16054172

International, O. (2013). *Pr oh ib id a su re pr od uc ci ón Pr oh ib id a su re pr od uc*. *10*(1), 1–15.

Issaka, E., Adumo, M., Adwoa, N., Johnson, N., & Aniagyei, O. N. (2023). Heliyon Advanced visual sensing techniques for on-site detection of pesticide residue in water environments. In *Heliyon* (Vol. 9, Issue 3). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13986

Ju, C., Dong, S., Zhang, H., Yao, S., Wang, F., Cao, D., Xu, S., Fang, H., & Yu, Y. (2020). Subcellular distribution governing accumulation and translocation of pesticides in wheat (Triticum aestivum L.). *Chemosphere*, *248*. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126024

Kaur, G., Singh, H. P., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2012). Growth, photosynthetic activity and oxidative stress in wheat (Triticum aestivum) after exposure of lead to soil. *Journal of Environmental Biology*, *33*(2), 265–269.

Kaya, C., Ugurlar, F., Ashraf, M., Alam, P., & Ahmad, P. (2023). Nitric oxide and hydrogen sulfide work together to improve tolerance to salinity stress in wheat plants by upraising the AsA-GSH cycle. *Plant Physiology and Biochemistry*, *194*(November 2022), 651–663. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.11.041

Kaya, C., Ugurlar, F., Farooq, S., & Ashraf, M. (2022). Plant Physiology and Biochemistry Combined application of asparagine and thiourea improves tolerance to lead stress in wheat by modulating AsA-GSH cycle , lead detoxification and nitrogen metabolism. *Plant Physiology and Biochemistry*, *190*(May), 119–132. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.08.014

Kinsou, E., Amoussa, A. M., Mensah, A. C. G., Kpinkoun, J. K., Komlan, F. A., Ahissou, H., Lagnika, L., & Gandonou, C. B. (2021). Effet de la salinité sur la floraison, la fructification et la qualité nutritionnelle des fruits du cultivar local Akikon de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) du Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *15*(2), 737–749. https://doi.org/10.4314/ijbcs.v15i2.27

Kumar, D., & Ohri, P. (2023). Say “NO” to plant stresses: Unravelling the role of nitric oxide under abiotic and biotic stress. *Nitric Oxide - Biology and Chemistry*, *130*(September 2022), 36–57. https://doi.org/10.1016/j.niox.2022.11.004

L, L. (2004). These de Doctorat d‘état. *Université de Tlemcen, Algerie* .

Lan, T., Cao, F., Cao, L., Wang, T., Yu, C., & Wang, F. (2022). A comparative study on the adsorption behavior and mechanism of pesticides on agricultural film microplastics and straw degradation products. *Chemosphere*, *303*(P2), 135058. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135058

Li, H., Qiu, Y., Yao, T., Ma, Y., Zhang, H., Yang, X., & Li, C. (2020). Evaluation of seven chemical pesticides by mixed microbial culture (PCS-1): Degradation ability, microbial community, and Medicago sativa phytotoxicity. *Journal of Hazardous Materials*, *389*(August 2019), 121834. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121834

Li, L., Li, T., Liu, Y., Li, L., Huang, X., & Xie, J. (2023). Effects of antibiotics stress on root development, seedling growth, antioxidant status and abscisic acid level in wheat (Triticum aestivum L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *252*(June 2022). https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114621

Li, Y., Zhou, C., Wang, S., & Lin, Q. (2019). *Phytotoxicity and oxidative effects of typical quaternary ammonium compounds on wheat (Triticum aestivum L .) seedlings*. 25985–25999.

Liu, E. U., & Liu, C. P. (2011). Effects of simulated acid rain on the antioxidative system in cinnamomum Philippinense seedlings. *Water, Air, and Soil Pollution*, *215*(1–4), 127–135. https://doi.org/10.1007/s11270-010-0464-3

Liu, Q., Liu, Y., Dong, F., Sallach, J. B., Wu, X., Liu, X., Xu, J., Zheng, Y., & Li, Y. (2021). Uptake kinetics and accumulation of pesticides in wheat (Triticum aestivum L.): Impact of chemical and plant properties. *Environmental Pollution*, *275*, 116637. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116637

López-Orenes, A., Dias, M. C., Ferrer, M. Á., Calderón, A., Moutinho-Pereira, J., Correia, C., & Santos, C. (2018). Different mechanisms of the metalliferous Zygophyllum fabago shoots and roots to cope with Pb toxicity. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*(2), 1319–1330. https://doi.org/10.1007/s11356-017-0505-1

Luo, X., Xiao, J., Wang, Z., Zhang, A., Tian, Y., & Wu, J. (2008). Overexpression of Spinacia oleracea Betaine Aldehyde Dehydrogenase (SoBADH) gene confers the salt and cold tolerant in Gossypium hirsutum L. *Shengwu Gongcheng Xuebao/Chinese Journal of Biotechnology*, *24*(8), 1464–1469.

Mir, I. R., Gautam, H., Anjum, N. A., Masood, A., & Khan, N. A. (2022). Calcium and nitric oxide signaling in plant cadmium stress tolerance: A cross talk. *South African Journal of Botany*, *150*, 387–403. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.07.039

Mu, H., Wang, K., Yang, X., Xu, W., Liu, X., Ritsema, C. J., & Geissen, V. (2022). Pesticide usage practices and the exposure risk to pollinators: A case study in the North China Plain. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *241*(April), 113713. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113713

Ozfidan-Konakci, C., Yildiztugay, E., Elbasan, F., Kucukoduk, M., & Turkan, I. (2020). Hydrogen sulfide (H2S) and nitric oxide (NO) alleviate cobalt toxicity in wheat (Triticum aestivum L.) by modulating photosynthesis, chloroplastic redox and antioxidant capacity. *Journal of Hazardous Materials*, *388*(January). https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122061

Pszczolińska, K., Perkons, I., Bartkevics, V., Drzewiecki, S., Płonka, J., Shakeel, N., & Barchanska, H. (2023). Targeted and non-targeted analysis for the investigation of pesticides influence on wheat cultivated under field conditions. *Environmental Pollution*, *316*(July 2022). https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120468

Rather, B. A., Mir, I. R., Sehar, Z., Anjum, N. A., Masood, A., & Khan, N. A. (2020). The outcomes of the functional interplay of nitric oxide and hydrogen sulfide in metal stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *155*(June), 523–534. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.005

Rossato, L. V., Nicoloso, F. T., Farias, J. G., Cargnelluti, D., Tabaldi, L. A., Antes, F. G., Dressler, V. L., Morsch, V. M., & Schetinger, M. R. C. (2012). Effects of lead on the growth, lead accumulation and physiological responses of Pluchea sagittalis. *Ecotoxicology*, *21*(1), 111–123. https://doi.org/10.1007/s10646-011-0771-5

Serra, A. (2015). *Réponses écophysiologiques et moléculaires des plantes aux stress xénobiotiques complexes de faible intensité : implications dans les capacités de protection environnementale des bandes enherbées To cite this version : HAL Id : tel-01187712 Anne-Antonella Serra Réponses écophysiologiques et moléculaires des plantes aux stress xénobiotiques complexes de faible intensité : implications dans les capacités de protection environnementale des bandes enherbées Thèse soutenue à Rennes*.

Singh, D., Debnath, P., Sane, A. P., & Sane, V. A. (2023). Tomato (Solanum lycopersicum) WRKY23 enhances salt and osmotic stress tolerance by modulating the ethylene and auxin pathways in transgenic Arabidopsis. *Plant Physiology and Biochemistry*, *195*(August 2022), 330–340. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.01.002

Soares, C., Mateus, P., Fidalgo, F., & Pereira, R. (2023). Modulation of the non-target phytotoxicity of glyphosate by soil organic matter in tomato (Solanum lycopersicum L.) plants. *Scientia Horticulturae*, *310*(March 2022), 111773. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111773

Subramani, P., Pirolo, M., Haugegaard, S., Skarbye, A. P., Conrady, B., Pedersen, K. S., Guardabassi, L., & Damborg, P. (2023). Neomycin resistance in clinical Escherichia coli from Danish weaner pigs is associated with recent neomycin use and presence of F4 or F18 fimbriaes. *Preventive Veterinary Medicine*, *212*(September 2022), 105852. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2023.105852

Tao, Y., Jia, C., Jing, J., Zhang, J., Yu, P., He, M., Wu, J., Chen, L., & Zhao, E. (2021). Occurrence and dietary risk assessment of 37 pesticides in wheat fields in the suburbs of Beijing, China. *Food Chemistry*, *350*(October 2020), 129245. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129245

Temkin, A. M., Uche, U. I., Evans, S., Anderson, K. M., Perrone-Gray, S., Campbell, C., & Naidenko, O. V. (2022). Racial and social disparities in Ventura County, California related to agricultural pesticide applications and toxicity. *Science of the Total Environment*, *853*(September), 158399. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158399

Toor, R. K., & Savage, G. P. (2005). Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International*, *38*(5), 487–494. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.10.016

Touzout, N., Mehallah, H., Moralent, R., Moulay, M., & Nemmiche, S. (2021). Phytotoxic evaluation of neonicotinoid imidacloprid and cadmium alone and in combination on tomato (Solanum lycopersicum L.). *Ecotoxicology*, *30*(6), 1126–1137. https://doi.org/10.1007/s10646-021-02421-6

Wei, T., Li, X., Yashir, N., Li, H., Sun, Y., Hua, L., Ren, X., & Guo, J. (2021). *Effect of exogenous silicon and methyl jasmonate on the alleviation of cadmium-induced phytotoxicity in tomato plants*. 51854–51864.

Whitaker, C., Beckett, R. P., Minibayeva, F. V., & Kranner, I. (2010). Production of reactive oxygen species in excised, desiccated and cryopreserved explants of Trichilia dregeana Sond. *South African Journal of Botany*, *76*(1), 112–118. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2009.09.008

Wyrwicka, A., & Skłodowska, M. (2006). Influence of repeated acid rain treatment on antioxidative enzyme activities and on lipid peroxidation in cucumber leaves. *Environmental and Experimental Botany*, *56*(2), 198–204. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.02.003

Wyrwicka, A., Steffani, S., & Urbaniak, M. (2014). The effect of PCB-contaminated sewage sludge and sediment on metabolism of cucumber plants (cucumis sativus L.). *Ecohydrology and Hydrobiology*, *14*(1), 75–82. https://doi.org/10.1016/j.ecohyd.2014.01.003

Xie, K., Wu, S., Li, Z., Zhou, Y., Zhang, D., Dong, Z., An, X., Zhu, T., Zhang, S., Liu, S., Li, J., & Wan, X. (2018). Map-based cloning and characterization of Zea mays male sterility33 (ZmMs33) gene, encoding a glycerol-3-phosphate acyltransferase. *Theoretical and Applied Genetics*, *131*(6), 1363–1378. https://doi.org/10.1007/s00122-018-3083-9

Ye, S. F., Yu, J. Q., Peng, Y. H., Zheng, J. H., & Zou, L. Y. (2004). Incidence of Fusarium wilt in Cucumis sativus L. is promoted by cinnamic acid, an autotoxin in root exudates. *Plant and Soil*, *263*(1), 143–150. https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000047721.78555.dc

Yeo, J. Y. J., Khaerudini, D. S., Soetaredjo, F. E., Waworuntu, G. L., Ismadji, S., Putranto, A., & Sunarso, J. (2023). Experimental and modelling study of adsorption isotherms of amoxicillin, ampicillin and doripenem on bentonite-chitosan composite. *South African Journal of Chemical Engineering*, *43*(September 2022), 38–45. https://doi.org/10.1016/j.sajce.2022.09.013

Yu, X., Xing, H., Sun, J., Du, X., Lu, G., & Zhu, L. (2023). Science of the Total Environment New insight into phytometabolism and phytotoxicity mechanism of widespread plasticizer di (2-ethylhexyl) phthalate in rice plants. *Science of the Total Environment*, *880*(April), 163254. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163254

Zhao, M., Li, J., Zhou, S., Rao, G., & Xu, D. (2022). Effects of tetracycline on the secondary metabolites and nutritional value of oilseed rape (Brassica napus L.). *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(54), 81222–81233. https://doi.org/10.1007/s11356-022-21267-x

Zheng, R., Chen, Z., Cai, C., Tie, B., Liu, X., Reid, B. J., Huang, Q., Lei, M., Sun, G., & Baltrėnaitė, E. (2015). Mitigating heavy metal accumulation into rice (Oryza sativa L.) using biochar amendment — A field experiment in Hunan, China. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*(14), 11097–11108. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4268-2

الاستجابة الفسيولوجية والإجهاد التأكسدي للقمح *Triticum aestivum* L في ظل السمية البسيطة والمجمعة لمبيدات الآفات والمضادات الحيوية

ملخص:

تُعرف المضادات الحيوية والمبيدات بالملوثات الناشئة في البيئة، بما في ذلك النباتات. أكسيد النيتريك هو جزيء متعدد الاستخدامات معروف على نطاق واسع بمساعدة النباتات لتصبح أكثر مقاومة لمجموعة متنوعة من عوامل الإجهاد. تهدف دراستنا إلى معرفة آثار المضادات الحيوية (AMP، 8 ملغ في الليتر)، والمبيدات (CON، 1.5-2 ليتر في الهكتار) وأكسيد النيتريك (NO، 100 ميكرو مول) على شتلات القمح المزروعة في وسط مائي أثناء مرحلة النمو. بعد 7 أيام من التعرض للإجهاد، لوحظت أعراض تسمم نباتي في شتلات القمح. عند استخدام AMP وCON، تم إعاقة نمو النبات بشدة، مما أدى إلى انخفاض الكتلة الحيوية وإجمالي طول الشتلات ومحتوى الكلوروفيل. بالإضافة إلى ذلك، استجاب النظام المضاد للأكسدة أيضًا بقوة. لوحظت زيادة في مستويات أكسدة الدهون الغشائية (MDA) وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2). ومع ذلك، أدت إضافة أكسيد النيتروجين لاستعادة تأخر النمو عن طريق تعديل محتويات الكلوروفيل والبرولين، بالإضافة إلى التداخل الواضح بين نشاط مضادات الأكسدة والمستقلبات الثانوية مما يؤدي إلى انخفاض داخلي في H_2O_2. توضح هذه النتائج سمية المبيدات والمضادات الحيوية على القمح، مما يجعل من الممكن تقييم المخاطر التي تشكلها هذه المركبات في البيئة. علاوة على ذلك، يوفر استخدام أكسيد النيتروجين (NO) آفاقًا واعدة للتخفيف من هذا التلوث من خلال توفير حلول محتملة.

الكلمات المفتاحية: قمح، كونسينتو، أمبيسيلين، أكسيد النيتريك، الإجهاد التأكسدي.

Réponse physiologique et stress oxydatif du blé (*Triticum aestivum* L.) sous toxicité simple et combinée de pesticides et d'antibiotiques

Résumé :

Les antibiotiques et les pesticides sont connus comme des polluants émergents dans l'environnement. L'oxyde nitrique est une molécule de signalisation polyvalente qui est largement reconnue pour aider les plantes à devenir plus résistantes à une variété de facteurs de stress. Notre étude visait à étudier les effets d'antibiotique (AMP, 8 mg L^{-1}), de pesticide (CON, 1,5-2 L Ha^{-1}) et de l'oxyde nitrique (NO,100 µM) sur les semis de blé cultivés en culture hydroponique pendant la phase de croissance. Après 7 jours d'exposition, une phytotoxicité a été observée dans les semis de blé. Lors de l'utilisation d'AMP et de CON, la croissance des plantes a été sévèrement inhibée, ce qui a entraîné une diminution du biomasse, de la longueur totale des semis et de la teneur en pigments. De plus, le système antioxydant a également répondu avec force. Des niveaux accrus de malondialdéhyde (MDA) et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ont été observés. Cependant, Le NO a restauré le retard de croissance en modulant les teneurs en chlorophylle et en proline, ainsi qu'une interférence claire entre l'activité antioxydante et le métabolite secondaire conduisant à une réduction endogène de H_2O_2. Ces résultats démontrent la toxicité des pesticides et des antibiotiques sur le blé, permettant ainsi d'évaluer les risques posés par ces composés dans l'environnement. Par ailleurs, l'utilisation d'oxyde nitrique (NO) offre des perspectives prometteuses pour atténuer cette pollution en apportant des solutions potentielles.

Mots clés : Blé, Consento, Ampicilline, Oxyde Nitrique, Stress Oxydatif.

Physiological response and oxidative stress of wheat (*Triticum aestivum* L.) under simple and combined toxicity of pesticides and antibiotics

Abstract:

Antibiotics and pesticides are known as emerging pollutants in the environment. Nitric oxide is a versatile signaling molecule that is widely known to help plants become more resistant to a variety of stressors. Our study aimed to investigate the effects of antibiotic (AMP, 8 mg L^{-1}), pesticide (CON, 1.5-2 L h^{-1}) and nitric oxide (NO, 100 µM) on seedlings of wheat grown in hydroponics during the growth phase. After 7 days of exposure, phytotoxicity was observed in wheat seedlings. When using AMP and CON, plant growth was severely inhibited, resulting in decreased biomass, total seedling length and pigment content. In addition, the antioxidant system also responded strongly. Increased levels of malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H_2O_2) were observed. NO restored the growth retardation through modulating the chlorophyll and proline contents, along with clear crosstalk between the antioxidant activity as well as secondary metabolite leading to endogenous H_2O_2 reduction. These results demonstrate the toxicity of pesticides and antibiotics on wheat, thus making it possible to assess the risks posed by these compounds in the environment. Furthermore, the use of nitric oxide (NO) offers promising prospects for mitigating this pollution by providing potential solutions.

Keywords: Wheat, Consento, Ampicillin, Nitric oxide, Oxidative stresse.