

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية والشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



11.10.2012

Université de JIJEL
Faculté des Sciences Exactes et des
Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale et
Végétale

جامعة جيجل

كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا النباتية والحيوانية

Mémoire De Fin D'études En Vue de L'obtention Du Diplôme De
Master

Option : Toxicologie de l'environnement

Thème :

Etude du stress oxydatif provoqué par le plomb et
le fluor chez le lichen *Xanthoria parietina*

Membres de jury :

- Président : Lemzeri H.
- Examinatrice : Benterrouche L.
- Encadreur : Benhamda W.

Réalisé par :

- Chennouf Sara
- Derbak Hanane

Session : Juin 2012



Année universitaire : 2011-2012

Remerciements

*Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant
qui nous a donné la santé, la volonté, et la force
pour réaliser ce modeste travail.*

*Ensuite, nous tenons à remercier notre encadreur
: M^{me} "Benhamada Wahiba" pour sa bonne
direction, les membres de jury, qui ont accepté
d'évaluer notre travail, à savoir,*

M^{me} "Lemzeri H" et

M^{lle} "Benterrouche I".

*Nos remerciements s'adressent aussi, à tous les
personnels de laboratoire de biologie, et en
particulier "Houda".*

*Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont
aidées de près ou de loin à réaliser ce travail.*

Sara et Hanane



Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Synthèse bibliographique

Chapitre I : étude de la végétation lichénique

I.1. Définition.....	01
I. 2. Constituants des lichens	01
I. 2.1. Le photobionte.....	01
I. 2.2. Le mycobionte.....	01
I. 3. Organisation des lichens.....	01
I. 3.1. Morphologie des lichens.....	01
I.3.2. Types de lichens.....	02
I.4. Reproduction des lichens.....	03
I.4.1. La reproduction végétative.....	03
I.4.2. La reproduction sexuée.....	04
I.5. Ecologie des lichens.....	04
I.5.1. Les facteurs sabstriques.....	04
I.5.2. Les facteurs climatiques.....	04
I.5.3. Les facteurs biologiques.....	05
I.6. Usage de lichens.....	05
I.6.1. Utilisation en médecine.....	05
I.6.2. Usage alimentaire.....	05
I.6.3. Usage industriel.....	05
I.6.4. Usage des lichens comme bioindicateur de la pollution atmosphérique.....	06

Chapitre II : Généralités sur le plomb et le fluor

II.1. Généralités sur le plomb

II.1.1. Présentation du plomb.....	07
II.1.2. Propriétés physico-chimiques du plomb.....	07
II.1.3. Utilisation du métal.....	07
II.1.4. Sources d'émission du plomb dans l'environnement.....	08
II.1.4.1. Sources naturelles.....	08
II.1.4.2. Sources anthropiques.....	08
II.1.5. Effets toxiques du plomb.....	09
II.1.5.1. Sur l'environnement.....	09
II.1.5.2. Sur l'homme.....	09
II.1.5.3. Sur les animaux.....	10
II.1.5.2. Sur les végétaux	11

II.2. Généralités sur le fluor

II.2.1. Présentation du fluor.....	12
II.2.2. propriétés physico-chimiques du fluor.....	12
II.2. 3. Principaux dérivés fluorés.....	12
II.2.3.1. Les composés minéraux gazeux.....	12
II.2.3.2. Les fluorures.....	13
II.2.3.3. Composés organiques du fluor.....	13
II.2.4. Sources d'émission (fluor et fluorures).....	13
II.2.4.1. Sources naturelles.....	13
II.2.4.2. Sources anthropiques.....	13
II.2.5. impacts toxiques du fluor et ses dérivés	14
II.2.5.1. Sur l'environnement.....	14
II.2.5.2. Sur la santé humaine.....	14
II.2.5.3. Sur les animaux.....	14
II.2.5.4. Sur la végétation.....	15

Chapitre III : Stress oxydant

III.1. Définition.....	17
III.2. Origine du stress	17
III.3. Les radicaux libres.....	17
III.3.1. Définition.....	17
III.3.2. Principales espèces réactives de l'oxygène.....	17
III.3.3. Les principales sources des radicaux libres.....	18
III.3.3.1. Sources endogènes.....	18
III.3.3.2. Sources exogènes.....	19
III.4. Conséquences du stress oxydant.....	19
III.4.1. La peroxydation lipidique.....	19
III.4.2. Oxydation des protéines.....	20
III.4.3. Dommages de l'ADN.....	20
III.5. Les antioxydants.....	20
III.5.1. Définition.....	21
III.5.2. Les différents types des antioxydants.....	21
III.5.2.1. système antioxydant non enzymatique.....	21
III.5.2.2. système antioxydant enzymatique.....	22

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV.1. Objectifs de l'étude	24
IV.2. Localisation de la zone des prélèvements des échantillons lichéniques.....	24
IV.3. Identification de l'espèce <i>Xanthoria parietina</i>	24
IV.4. Prélèvements des lichens in situ.....	25
IV.5. Traitement par les polluants.....	26
IV.6. Techniques de dosages.....	27
IV.6.1. Dosage de la chlorophylle.....	27
IV.6.2. Dosage de la phaeophytine.....	27
IV.6.3. Dosage de l' MDA.....	27
IV.6.4. Dosage de la proline.....	28

IV.6.5. Dosage des protéines.....	28
IV.6.6. Dosage de la catalase.....	28
V. L'étude statistique.....	29

Chapitre V : résultats et discussion

V.1. Résultats et interprétation

V.1.1. Résultats du dosage des pigments.....	30
V.1.1.1. Chlorophylle totale.....	30
V.1.1.2. Phaéophytine totale.....	31
V.1.2. Résultats de dosage de l'MDA.....	32
V.1.3. Résultats du dosage de la proline.....	34
V.1.4. Résultats du dosage des protéines.....	35
V.1.5. Résultats du dosage de la catalase.....	36

V.2. Discussion

V.2.1. Variation des taux des pigments.....	39
V.2.1.1. Dégradation des taux de la chlorophylle totale.....	39
V.2.1.2. Augmentation des taux de la phaéophytine totale.....	39
V.2.2. Augmentation de la formation de l'MDA.....	39
V.2.3. Accumulation de la proline.....	40
V.2.4. Diminution des taux des protéines.....	41
V.2.5. Augmentation de l'activité de catalase.....	42

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations :

ADN: acide désoxyribonucléique

ADP : adénosinediphosphate

Cd : cadmium

CFCs : chlorofluorocarbones

CFM : chlorofluorométhane

Cu : cuivre

D.O : densité optique

ERO : Espèce réactive de l'oxygène

F : fluor

Fe : fer

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

MDA : malondialdehyde

mM : millimolaire

NaF : fluorures du sodium

Pb : plomb

Pb(NO₃)₂ : nitrates de plomb

PSI : Système photosynthétique I

PSII : Système photosynthétique II

Zn : zinc

µg : microgramme

µmol : micromole

LISTE DES FIGURES

Figures	Titres des figures	Pages
Figure 1	Coupe schématique à travers le thalle d'un lichen	02
Figure 2	Quelques exemples de thalles de lichens	03
Figure 3	L'espèce de <i>Xanthoria parietina</i> (Beni Metrane)	24
Figure 4	Variations des teneurs en chlorophylle totale chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations de plomb	30
Figure 5	Variations des teneurs en chlorophylle totale chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations de fluor	30
Figure 6	Variations des teneurs en phaeophytine totale chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations de plomb	31
Figure 7	Variations des teneurs en phaeophytine totale chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations de fluor.	32
Figure 8	Variations des teneurs en MDA chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations de plomb	33
Figure 9	Variations des teneurs en MDA chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations de fluor	33
Figure 10	Variations des teneurs en proline chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations de plomb	34
Figure 11	Variations des teneurs en proline chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations de fluor	34
Figure 12	Variations des teneurs en protéines chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations de plomb	35

Figure 13	Variations des teneurs en protéines chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations de fluor	36
Figure 14	Variations des teneurs en catalase chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations de plomb	37
Figure 15	Variations des teneurs en catalase chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations de fluor	37

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titres	Pages
Tableau 1	Principales propriétés physico-chimiques du plomb	07
Tableau 2	Principales propriétés physico-chimiques du fluor	12



Introduction

Introduction :

L'évaluation de la qualité de l'air est l'une des préoccupations majeures à l'heure actuelle. La surveillance et le maintien de la qualité de l'air passent nécessairement par la détection et l'estimation de la pollution atmosphérique globale (Masclat., 2005).

L'utilisation des lichens, doit être un outil à privilégier. Les lichens sont présents partout et leurs différences de sensibilité aux polluants nous permet de les utiliser pour évaluer la qualité de l'air (Asta *et al.*, 2002).

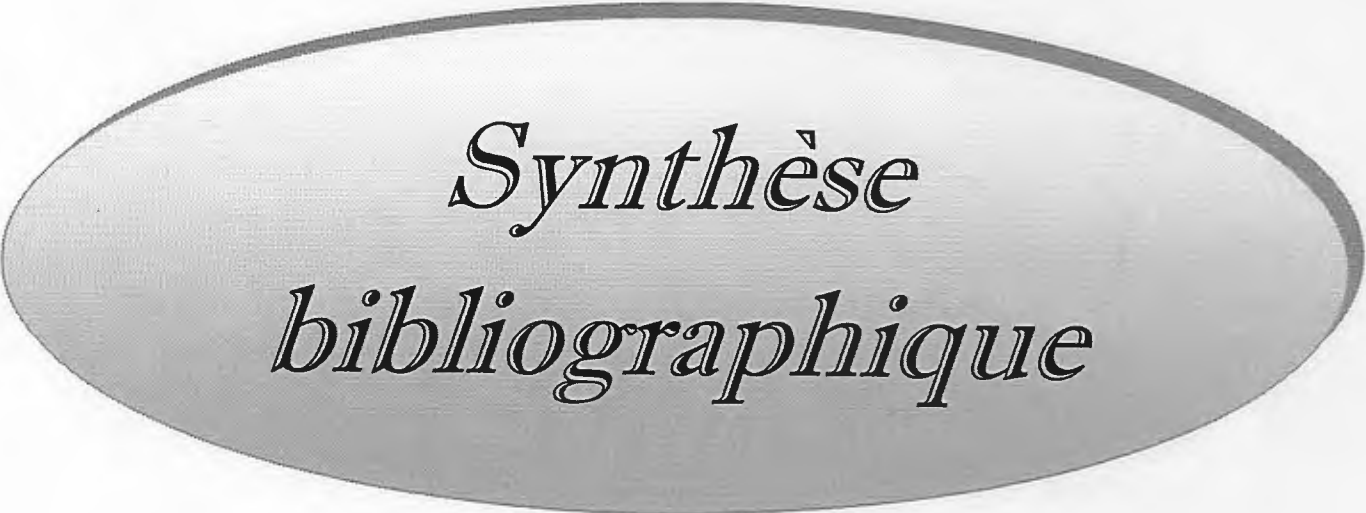
Parmi les divers polluants déversés régulièrement dans l'air, le plomb occupe une place prépondérante à cause de sa toxicité évidente pour la biocénose. Avec un degré moins important le fluor est aussi considéré comme un agent toxique sur la vie des êtres vivants.

Les lichens sont capables d'accumuler de grandes quantités de polluants tel que le plomb et le fluor, Ils réagissent avec ces polluants en présentant souvent des altérations physiologiques, morphologiques et structurales (Semadi., 1989).

Le stress oxydant peut être à l'origine de ces altérations en provoquant la production des espèces réactives de l'oxygène.

Pour étudier les effets du plomb et du fluor sur les lichens, on a utilisé l'espèce lichénique *Xanthoria parietina*. Pour ce faire on a organisé notre travail en trois grandes parties :

- ❖ La première englobe une étude bibliographique sur la végétation lichénique, le plomb et le fluor et une étude sur le stress oxydant.
- ❖ La deuxième partie représente la partie expérimentale. Elle renferme la zone de prélèvement des échantillons et les différents protocoles suivis dans les différents traitements par les polluants et le dosage des différents paramètres de stress.
- ❖ La troisième partie est consacrée aux résultats obtenus et leur discussion. et enfin on a terminé ce travail par une conclusion.



*Synthèse
bibliographique*

Chapitre I :

*Etude de la
végétation
lichenique*

I.1. Définition :

Un lichen est défini comme une entité morphologique et physiologique autonome, composée d'une association symbiotique réciproque entre un partenaire fongique et une population d'algues ou de cyanobactéries unicellulaires ou filamenteuses (Raven *et al.*, 2003). Cette association est durable, reproductrice et bénéfique pour les deux partenaires.

La symbiose que représente le lichen est une association obligée (Luttge *et al.*, 1996), constituée d'organismes stables. Elle peut être caractérisée de façon imaginaire par l'équation $1+1=1$ (Roland et Vian., 1999).

I. 2. Constituants des lichens :**I. 2.1. Le photobionte :**

Du grec *photo* = lumière, et *bios*= vie, appelé aussi phycosymbiote.

Les photobiontes sont des cyanobactéries et des algues qui appartiennent à une trentaine de genres différents (sept genres de cyanobactéries, un genre de Xanthophycées, les autres étant des Chlorophycées) (Deruelle et Lallemant., 1983).

L'algue assure la nutrition carbonée grâce à la photosynthèse. Elle apporte des vitamines, des protéines et des glucides au champignon (Gonjion., 2004).

I. 2.2. Le mycobionte :

Du grec, *myco* = champignon ; et *bios* = vie, appelé aussi mycosymbiote.

La quasi-totalité des champignons des lichens appartiennent aux ascomycètes ou encore des basidiomycètes supérieurs (Ozenda., 2000)

Le champignon assure une fonction de protection et de drainage hydrique vis-à-vis de l'algue. Il a la possibilité de stocker l'eau dans ses membranes et de la transmettre à l'algue par ses parois (Gonjion., 2004).

I. 3. Organisation des lichens :**I. 3.1. Morphologie des lichens :**

Les lichens sont inclus dans les thallophytes, leurs thalles ou appareils végétatifs sont formés par un réseau de filaments nommés hyphes. C'est au milieu d'un enchevêtrement de ces filaments que se trouvent les algues (Alibert *et al.*, 1986).

L'appareil végétatif se présente en amas plus ou moins régulier de cellules, ou en lames plus ou moins découpées et offrent une morphologie originale par rapport à celle des algues et des champignons qui les composent (Maizi *et al.*, 2010).

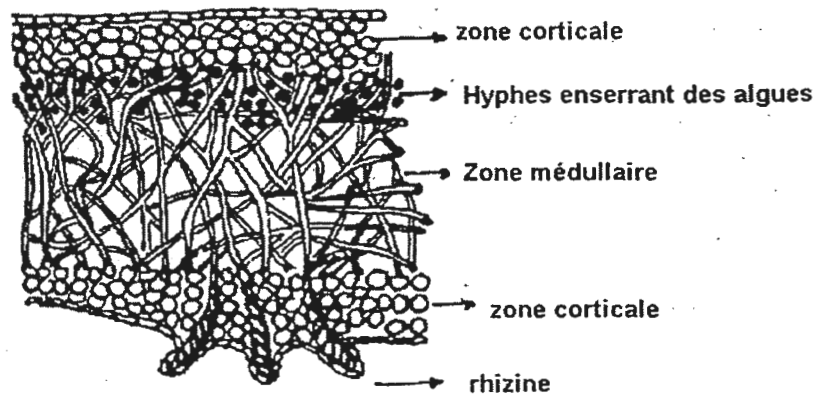


Figure 1 : Coupe schématique à travers le thalle d'un lichen (Sérusiaux *et al.*, 2004)

I.3.2. Types de lichens :

Selon la morphologie du thalle, on peut distinguer plusieurs types de lichen :

❖ Les lichens fruticuleux ou buissonnants :

Ce sont ceux que l'on remarque le plus souvent, car ils donnent des touffes pendantes ou dressées d'assez grandes dimensions (Laberche., 2010), aux thalles de formes plus variées et de structure plus complexe (Ramade., 2000), Ils sont constitués, soit de tiges cylindriques plus ou moins ramifiées, soit de lames entières ou divisées.

❖ Les lichens foliacés :

Ils sont formés de lames plus ou moins divisées en lobes appliqués au support qui les porte. Ils sont fixés par des crampons (Laberche., 2010).

❖ Les lichens squamuleux:

Ils sont constitués par des écailles qui adhèrent au substrat par toute leur face inférieure, sauf sur les bords (Deruelle et Lallemand., 1983).

❖ Les lichens crustacés :

Ils sont étroitement appliqués au support et font corps avec lui, dont le thalle est très aplati et adhère fortement au substrat (Ramade., 2000).

❖ **Les lichens gélatineux :**

Ils sont noirâtres, rigides et opaques quand ils sont secs. Ils gonflent en masses gélatineuses sombres mais translucides sous l'influence de l'humidité (Deruelle et Lallemand., 1983).

❖ **Les lichens complexes :**

Ils sont formés de touffes dressées simples ou ramifiées portées par un thalle foliacé, squamuleux ou crustacé.

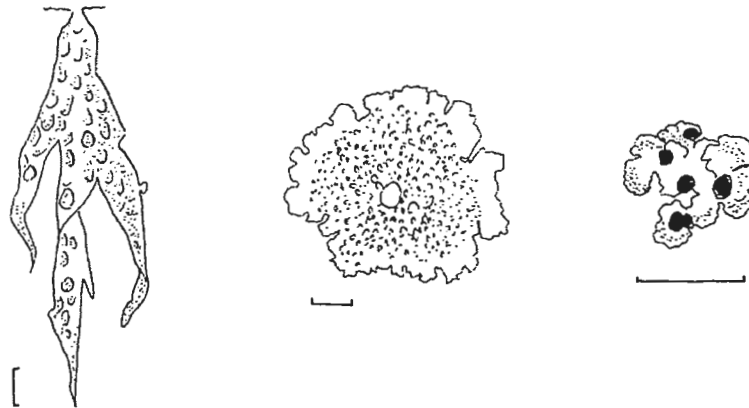


Figure 2 : Quelques exemples de thalles de lichens fructuleux, foliacés et squamuleux (D'après : Laberche., 2010)

I.4. Reproduction des lichens :

La reproduction des lichens peut se faire de deux façons :

I.4.1. La reproduction végétative :

La reproduction végétative du lichen peut se faire par simple fragmentation du thalle, à la suite notamment de contraintes mécaniques (arrachement par le vent, dispersement par les animaux...etc) (Serusiaux *et al.*, 2004).

La reproduction végétative est assurée par la production de propagules pulvérulentes particulières appelées sorédies, ou par de petites excroissances, les isidies (Raven *et al.*, 2003).

Les fragments, soridies et isidies, qui contiennent en même temps des hyphes fongiques et des algues ou de cyanobactérie, fonctionnent comme de petites unités de dissémination qui permettent l'installation du lichen dans de nouvelles stations.

I.4.2. La reproduction sexuée :

La reproduction sexuée se produit uniquement par le partenaire champignon du lichen (Milen et Lebel., 2000).

A l'aide de ses spores, qui peuvent après germination émettre les hyphes captant de nouvelles gonidies et entrant en symbiose avec elles, et reconstitue un nouveau lichen (Ozenda., 2006).

I.5. Ecologie des lichens :

Le grand nombre des lichens, leur extrême diversité structurale entraîne une grande variété de leur écologie. Cependant, chaque espèce a ses propres exigences et sa répartition est tributaire des facteurs écologiques.

I.5.1. Les facteurs abiotiques :

Les lichens colonisent des substrats variés : sol, rochers, tronc des arbres (Louis., 1993), ils sont plus ou moins dépendants du substrat en fonction de leur morphologie. Cette dépendance va en décroissant des lichens crustacés en fruticuleux en passant par les foliacés (Raven *et al.*, 2003).

La relation intime entre le lichen et le substrat s'établit en fonction des caractères physiques (dureté, porosité, perméabilité) et chimiques (pH, teneur en matière azotée...).

En fonction de la nature du substrat on peut distinguer :

- ❖ Les lichens saxicoles qui se développent sur la roche.
- ❖ Les lichens corticoles qui se développent sur l'écorce des arbres.
- ❖ Les lichens lignicoles qui se développent sur le bois mort.
- ❖ Les lichens terricoles qui se développent sur le sol (Alibert *et al.*, 1986).

I.5.2. Les facteurs climatiques :

Les lichens peuvent passer de l'état de la vie active à l'état de la vie ralentie selon la variation de l'hydratation.

La température influe sur le métabolisme des végétaux aussi bien sur la respiration que sur la photosynthèse (Raven *et al.*, 2003).

I.5.3. Les facteurs biologiques :

L'action des êtres vivants est également déterminante dans la répartition des lichens ; soit ils disputent leurs espaces, soit ils modifient leurs conditions de milieu ou au contraire ils favorisent leur dissémination. Ces facteurs biologiques sont :

- ❖ La concurrence vitale entre les lichens eux-mêmes.
- ❖ La concurrence entre les lichens et d'autres végétaux tels que les bryophytes (Alioua., 2001).

I.6. Usage de lichens :

Les lichens universellement répandus, présentent un intérêt remarquable. Malgré leur faible capacité métabolique, ils jouent un rôle important dans la nature, ils ont été utilisés dès l'antiquité dans plusieurs domaines (Ozenda., 2000).

I.6.1. Utilisation en médecine:

Le principal intérêt des lichens en médecine semble être la possibilité d'en extraire des antibiotiques.

- ❖ *Usnea* est utilisé pour l'extraction de l'acide usnique qui est actif contre une vingtaine de bactéries.
- ❖ *Ramalina reticulata* est utilisé pour obtenir une substance antibactérienne, elle est active contre plusieurs bactéries (Ozenda., 2000).

I.6.2. Usage alimentaire :

Certains lichens contiennent des macromolécules de lichénine dégradées en glucose au cours de la digestion, ils peuvent être utilisés pour l'alimentation des animaux :

- ❖ *Cladonia rangiferina* ; qui fournit réellement la base de la nourriture du renne.
- ❖ *Cetraria islandica* ; utilisé pour l'alimentation des pcces, des chevaux et des vaches dans les pays nordiques (Ozenda et Clauzade., 1970).

I.6.3. Usage industriel :

- Extraction industrielle de produit pour la parfumerie.
- Fabrication artisanale de matières colorantes.
- Le mucilage.
- Glucose et alcool (Ozenda., 2000).

I.6.4. Usage des lichens comme bioindicateurs de la pollution atmosphérique :

Les lichens sont dépourvus de système de contrôle des sorties et des entrées, ils n'ont pas de stomates pour contrôler les échanges avec l'atmosphère. De même, ils ne possèdent pas de structure leur permettant de limiter les effets de la pollution atmosphérique (Deruelle., 1984).

Parce qu'ils absorbent l'humidité de l'air, les lichens concentrent les matières polluantes qui s'y trouvent tels que les métaux lourds, le plomb, le fluor, ou le dioxyde de soufre. Ils sont sensibles à la pollution atmosphérique à des degrés divers, ce qui fait de ces organismes d'excellents « bio indicateurs » (Bourdial., 2000).

Par ailleurs, leur longévité, leur activité métabolique continue, leur dépendance vis à vis d'apports atmosphériques, et la lenteur de leur croissance, les lichens sont très sensibles aux changements de composition de l'air, et donc de la pollution atmosphérique.

Pour les mêmes raisons, ils offrent la possibilité de suivre la pollution sur une grande période. Les lichens intègrent principalement les données globales relatives à la charge de l'atmosphère en effluents acides (Gonjion., 2004).

Le principal intérêt des lichens est leur utilisation possible dans la localisation des zones de pollutions atmosphériques, Ils ont totalement disparu dans les grandes villes industrielles, par contre leur présence indique la pureté de l'air.

Chapitre II :

*Généralités sur le
plomb et le fluor*

II.1. Généralités sur le plomb :

II.1.1. Présentation du plomb:

Le plomb, du latin *plombum*, est un métal mou, gris, sans goût ni odeur caractéristique. Il se trouve habituellement en petite quantité dans la croûte terrestre. Il appartient au groupe IV b de la classification périodique des éléments (Uzu., 2009).

II.1.2. Propriétés physico-chimiques du plomb :

Les principales propriétés physico-chimiques du plomb sont présentées dans le Tableau 1.

Le plomb possède deux électrons non appariés sur sa couche électronique externe, cette configuration électronique autorise les degrés d'oxydation (+2) et (+4), en plus de la forme métal (0). Ses principaux oxydants sont :

- ❖ L'oxyde de plomb (PbO).
- ❖ Le dioxyde de plomb (PbO₂).
- ❖ Le minium (Pb₃O₄).

Le cation Pb²⁺ est un acide au sens de Lewis, c'est-à-dire qu'il est susceptible d'accepter un doublet d'électrons venant d'une base, pour former une liaison covalente. C'est également une espèce chargée, susceptible d'interactions électrostatiques avec des ions de signes contraires pour former une liaison ionique (Sposito *et al.*, 1982).

Tableau 1: Principales propriétés physico-chimiques du plomb

(D'après : Pourrut., 2008)

Symbole	Numéro Atomique	Masse atomique	Point de fusion	Point d'ébullition	Densité	Valence
Pb	82	207,2g.mol ⁻¹	327 °C	1740 °C	11,35	0, +2, +4

II.1.3. Utilisation du métal :

Le plomb a été l'un des premiers métaux utilisés par l'homme dès l'âge du bronze. Du fait de sa relative disponibilité et de ses propriétés physico-chimiques (malléabilité, ductilité, bas point de fusion, propriété anticorrosion), le plomb a été largement utilisé par les Grecs et les Romains pour réaliser des canalisations, de la vaisselle, des pièces de monnaie, des toitures...etc (Pourrut., 2008).

L'utilisation du plomb a ensuite explosé au cours de la Révolution industrielle, il a été utilisé dans l'industrie, l'imprimerie et les peintures.

Dans la seconde moitié du 20^{ème} siècle, son utilisation dominante était liée aux carburants automobiles (le plomb était ajouté dans l'essence comme antidétonant) puis aux accumulateurs de voitures et en industrie.

Depuis les années 1970, le développement de nouvelles technologies, la prise en compte des problèmes environnementaux et de santé publique, ont conduit à la diminution ou à l'arrêt de certaines utilisations du plomb (canalisations, soudure, peinture, pesticides, antidétonants dans l'essence...) (Pourrut., 2008).

Dans les pays industrialisés, la production secondaire ; à partir de la valorisation des déchets (recyclage du métal, fabrication) ne cesse de progresser par rapport à la production primaire ; à partir de minerai (ADEME., 2006).

II.1.4. Sources d'émission du plomb dans l'environnement:

Le plomb retrouvé dans l'environnement provient de sources naturelles anthropiques (Jan et Sheffield., 1993 ; Boutron et Patterson., 1993). Ce métal est présent dans le sol, mais également dans tous les autres compartiments de l'environnement : eau, air et même dans les êtres vivants (Arnaud., 2003).

II.1.4.1. Sources naturelles :

Le plomb a une teneur moyenne dans la croûte terrestre de 0,002 %, il est présent dans la plupart des roches mères. La présence naturelle du plomb dans le sol et dans l'atmosphère est essentiellement due à sa mise en disponibilité par les processus d'altérations chimiques. En quantité plus faible, le plomb peut être libéré dans l'atmosphère lors de l'activité volcanique ou lors de feux de forêt (Pais et Benton., 2000).

II.1.4.2. Sources anthropiques :

Les activités humaines sont à l'origine d'un flux de plomb très important pouvant conduire à des contaminations locales aiguës (Nriagu., 1990).

Les principales sources d'émission du plomb sont :

- La circulation automobile par combustion des additifs au plomb dans les moteurs à essence (plomb tétraéthyl).
- L'exploitation et le traitement des minerais de plomb, certaines industries métallurgiques.

- L'eau de distribution, qui, si elle est agressive, peut être contaminée au contact de vieilles tuyauteries en plomb (actuellement interdites).
- l'alimentation; le plomb provient des procédés de stockage et de fabrication (conserverie) et des boissons alcoolisées. Certains récipients, vernissés au plomb ou en alliage plomb-étain peuvent relarguer du plomb au contact des aliments.
- Les peintures riches en plomb (céruse) des habitations anciennes (Pourrut., 2008).

II.1.5. Effets toxiques du plomb :

L'impact toxique de la pollution par le plomb, concerne à la fois l'environnement, la santé humaine, les animaux et les végétaux. Cet impact peut également être en lien avec la durée d'exposition et la dose administrée ou accumulée dans les organismes.

II.1.5.1. Sur l'environnement :

Contrairement aux polluants organiques, les métaux ne peuvent pas être dégradés biologiquement ou chimiquement, les métaux et leurs composés sont souvent transportés sur de grandes distances par l'air ou l'eau sans subir de transformation. Le plomb utilisé dans les carburants comme agent antidétonant, est émis par les gaz d'échappement sous forme des oxydants, les réactions chimiques dans l'atmosphère convertissent ces émissions primaires du plomb en une grande variété d'espèces chimiques ($PbCO_3$, PbO_x , $PbSO_4...$) (Bourrellet et Berthelin., 1998).

Dans le sol, le plomb est peu mobile sauf lorsqu'il peut former des complexes organiques solubles. Le plomb a tendance à s'accumuler dans l'horizon superficiel du sol. Il est principalement associé aux argiles, aux oxydes de manganèse, aux oxydes de fer et d'aluminium et à la matière organique (Cabridenc., 1994).

II.1.5.2. Sur l'homme :

Les risques toxiques dus au plomb relèvent essentiellement de l'intoxication chronique pouvant provoquer des troubles graves désignés par le terme général de « saturnisme » (GDS., 2002).

- ❖ **l'inhalation** : pénétration respiratoire de poussières très fines et surtout de vapeurs.
- ❖ **l'ingestion** : pénétration digestive de grosses poussières imputables aux souillures des doigts, aux boissons ou aliments contaminés.
- ❖ **l'absorption percutanée** : possible quand la peau est lésée.

La plupart des vapeurs ayant pénétré dans les voies respiratoires sont rejetées au cours de l'expiration. Le plomb ingéré est essentiellement éliminé par l'urine et les matières fécales mais il traverse aussi les muqueuses intestinales et pulmonaires pour se retrouver dans le sang, où il se répartit très inégalement entre les globules rouges (95 %) et le plasma (5 %).

Deux grandes zones, les tissus mous et les os, accumulent ensuite le plomb.

Les manifestations cliniques de saturnisme professionnel sont habituellement précédées d'une période plus ou moins longue d'imprégnation saturnine latente, qui est habituellement réversible (Keck et Vernus., 2006).

Ces manifestations sont :

- ❖ **digestives** : coliques de plomb.
- ❖ **sanguines** : anémie plus ou moins grave.
- ❖ **nerveuses** : les enfants sont souvent bien plus sensibles aux polluants que les adultes, avec effets irréversibles sur le développement du cerveau et de l'organisme lorsqu'il s'agit du jeune enfant du fœtus ou de l'embryon soumis au plomb (Chantal., 2000).
- ❖ **rénales** : une exposition massive peut entraîner une atteinte rénale réversible concomitante d'une encéphalopathie aigue, tant qu'une exposition chronique peut conduire à l'insuffisance rénale chronique (Isnard., 1994).

II.1.5.3. Sur les animaux :

❖ Intoxication des oiseaux (risque de saturnisme) :

Les billes de plomb libèrent des sels de plomb qui se diffusent dans le sang et s'accumulent dans toutes les parties du corps, notamment les tissus d'organes internes tels que le foie et les reins, mais aussi les os (Chappuis., 1991). Plusieurs effets peuvent être distingués :

- En premier lieu, la mortalité est directement corrélée avec l'ingestion de plomb. Avec quatre plombs ingérés, la mortalité est quasi certaine.
- En second lieu, l'ingestion de plomb a des effets sur les comportements des animaux. Elle affecte la reproduction (La réduction de la taille des pontes est évaluée à un tiers chez les canes ayant ingéré du plomb).

❖ Contamination du bétail par le plomb :

Le saturnisme est l'une des intoxications les plus communément rencontrées chez les ruminants ; particulièrement les bovins qui, à cause de leurs habitudes alimentaires, sont les plus fréquemment atteints. Chez ces animaux, deux causes principales peuvent être à l'origine d'une intoxication (Isnard., 1994) :

- L'ingestion accidentelle de produits est considérée comme la cause la plus fréquente des intoxications aiguës par le plomb. Les bovins sont largement victimes en raison de leur tendance à ingérer ou lécher tous les objets à leur portée, les peintures, les huiles, graisses de vidange... .
- la consommation répétée des végétaux contaminés ; à côté de l'absorption directe, les plantes s'enrichissent aussi de métaux lourds (Pb en particulier) par la poussière qui se dépose sur les feuilles. La fumée et les cendres volantes des incinérateurs sont riches en Pb. Les aliments végétaux destinés à l'homme sont généralement lavés, mais l'alimentation du bétail ne bénéficie pas de ce traitement, et cela peut avoir pour effet, d'augmenter la concentration du Pb dans le lait et les abats (le foie et les reins). (Isnard., 1994).

II.1.5.2. Sur les végétaux :**a. Sur les végétaux supérieurs :**

Le premier effet observable de la pollution par le plomb chez les plantes, est une inhibition de la croissance. Celle-ci s'accompagne très souvent de nombreux autres indices de dysfonctionnement : chlorose foliaire, importantes lésions nécrotiques, jaunissement progressif, repliement ou dessèchement du feuillage. A l'heure actuelle, les bases moléculaires de ces perturbations sont encore mal connues, mais on admet généralement qu'elles résultent d'un stress oxydatif, dû à la production d'espèces réactives de l'oxygène. Les ERO altèrent toute une série de substrats biologiques importants, avec comme conséquence la modification des domaines fonctionnels des biomolécules : inhibition de l'activité enzymatique, perturbation du métabolisme végétal (notamment la photosynthèse et la respiration), oxydation de protéines, altération des membranes cellulaires via l'induction de phénomènes de peroxydation lipidique, apparition de cassures au sein de l'ADN, pouvant conduire à la mort cellulaire (Pourrut., 2003).

b. Sur les végétaux inférieurs :

Les études de Bates *et al* (1973) sur les bryophytes, ont montré qu'à une concentration de 100 ppm de Pb, l'action de ce dernier se manifeste par une baisse de l'intensité respiratoire et à 50 ppm par une inhibition de la germination des spores.

II.2. Généralités sur le fluor :**II.2.1. Présentation du fluor:**

Le fluor est un élément chimique dont la masse atomique est dix neuf et le numéro neuf dans la table périodique (le premier élément de la colonne des allogènes). À température ambiante on le retrouve sous forme gazeuse de couleur vert-jaune pâle. Il est l'élément le plus électronégatif et le plus réactif des éléments de sorte qu'on le retrouve très peu à l'état élémentaire dans la nature (Popescu *et al.*, 1998).

II.2.2. propriétés physico-chimiques du fluor :

Le fluor est un gaz jaune, irritant et toxique, d'une grande activité oxydante, c'est un élément chimique extrêmement réactif, à cause de la faible énergie de sa propre liaison (F-F).

Tableau 2 : Principales propriétés physico-chimiques du fluorD'après ; Popescu *et al.*, 1998)

Formule	Numéro Atomique	Masse moléculaire	Température de fusion	Point d'ébullition	Densité	Poids
F ₂	9	38.00g/mol	219 °C	188 °C	1,31	1,695

II.2. 3. Principaux dérivés fluorés:**II.2.3.1. Les composés minéraux gazeux :**

- ❖ **Le fluor :** Il existe un seul isotope naturel qui est le fluor 18, il est utilisé beaucoup plus dans l'expérimentation animale.
- ❖ **Les fluorures d'hydrogène (HF) :** Appelés aussi acide fluorhydrique, c'est un composé fluoré très toxique et responsable d'irritations, brûlures graves et nécroses (œil, poumon, tractus digestif).

- ❖ **Dérivés silices du fluor** : par exemple le tétrafluorure de silicium est un gaz très toxique, émis par de nombreux secteurs industriels (combustion de charbon, industrie de l'aluminium...etc (Chappuis., 1991).

II.2.3.2. Les fluorures :

- ❖ **Les fluorures alcalins** : Le fluorure alcalin le plus connu est le sel de sodium, il est utilisé dans la synthèse des insecticides et fongicides (Chappuis., 1991).
- ❖ **Les minerais fluorés** : parmi eux ; le fluospar (CaF_2), La Cryolite (3NaF , AlF_3), la fluoroapatite...etc (Chappuis., 1991).

II.2.3.3. Composés organiques du fluor :

Ils sont nombreux parmi eux, on cite ;

- ❖ **Les fréons ou les CFCs** : sont connus par leur action néfaste sur l'environnement, et sur la couche d'Ozone en particulier.
- ❖ **Les fluorocarbones** : sont utilisés dans le domaine thérapeutique comme transporteurs de l'oxygène à la place de l'hémoglobine (Chappuis., 1991).

II.2.4. Sources d'émission (fluor et fluorures) :

Il est possible de différencier les sources d'émission du fluor en deux catégories soit des sources naturelles ou anthropogéniques.

II.2.4.1. Sources naturelles :

Le fluor est un constituant constant des roches éruptives, dont la désagrégation lente fournit cet élément aussi bien au sol qu'aux eaux marines et de surface. Toutefois, l'insolubilité marquée de la plupart des fluorures naturels limite assez radicalement leur diffusion par les eaux.

Les principaux minerais de fluor sont le spath fluor, CaF_2 et la cryolithe, fluoro-aluminate de sodium, NaF , Al_2F_6 . Ces minerais sont très utilisés dans l'industrie métallurgique comme fondants, et interviennent à ce titre, surtout dans la métallurgie de l'aluminium. La sidérurgie en emploie aussi certaines quantités (Boutron et Patterson., 1993).

II.2.4.2. Sources anthropiques :

L'émission de fluorures provient du procédé d'électrolyse en soi .L'acide fluorhydrique (HF) est le composé majoritaire et il est formé par la réaction des électrolytes avec l'hydrogène provenant des anodes. Ces fluorures se retrouvent dans l'air sous formes gazeuses ou particulaires et se déposent dans les environs (Manahan., 2005).

II.2.5. Impacts toxiques du fluor et ses dérivés :

II.2.5.1. Sur l'environnement :

L'apport du monde industriel en ce qui regarde les émissions de fluorures constitue une source importante de pollution environnementale (Zaafour., 1992). Les émissions du fluor et ses dérivés dans l'environnement augmentent continuellement, et comme conséquence, l'homme et les écosystèmes dont il fait partie sont de plus en plus exposés à différentes sources de fluorures plus ou moins toxiques, qui ne sont pas toujours identifiées.

Ainsi, des études récentes ont démontré que les gaz nocifs dégagés par les alumineries sont responsables de la fluorose du voisinage qui peut affecter la santé humaine et animale, et nuire la végétation régionale.

Par ailleurs, les conséquences environnementales dues aux dégagements des CFCs, ceux-ci semblent être les composés les plus impliqués dans le phénomène de destruction d'ozone stratosphérique (couche protectrice de la terre) (Machenzi *et al.*, 2000).

II.2.5.2. Sur la santé humaine :

Les effets bénéfiques des fluorures dans la prévention des caries dentaires sont largement reconnus. Lorsque les taux optimaux préconisés pour l'eau de boisson ou l'air environnant sont dépassés, les effets pathologiques des fluorures peuvent se manifester.

La pathologie la plus importante de l'élément fluor sur l'organisme humain est la fluorose osseuse, 50% des fluorures absorbés sont éliminés par voie urinaire et le reste se retrouve dans le squelette, et peut provoquer une fluorose osseuse ou respiratoire (Frank., 1992).

Ces maladies n'apparaissent qu'après de nombreuses années de contact avec les fluorures à faible concentration, sauf accident industriel. Cette pathologie a été décrite en premier dans les pays industrialisés chez des ouvriers exposés à des taux de fluorures élevés sur des périodes de plusieurs années, il en résulte de graves conséquences sur le squelette.

Les reins semblent également être un lieu d'accumulation préférentiel des fluorures (Cap *et al.*, 2003).

II.2.5.4. Sur les animaux :

L'ingestion par le bétail des fourrages sur lesquels des poussières fluorées se sont déposées constitue une source de nuisance (Popescu *et al.*, 1998). L'intoxication chronique au voisinage de sources importantes d'émission de fluorures est largement répandue et connue sous le nom de Fluorose. Généralement il n'y a pas des cas d'intoxication aigue observés,

L'animal refusant, au bout d'un certain temps, la nourriture qui lui est présentée (Chappuis., 1991).

En général, quelle que soit la nature du dérivé du fluor, on observe une calcification anormale des os et des dents, caractérisée par l'apparition, elle-même anormale, de fluor dans la structure de ces tissus, principalement dans la partie où se trouvent des cristaux d'apatite. On constate d'abord une diminution de la production de lait, des pertes de poids, l'apparition d'une certaine raideur des membranes, l'animal se met à boiter et son pelage se durcit, ce qui aboutit à la mort de l'animal.

II.2.5.3. Sur la végétation :

a. Sur les végétaux supérieurs :

Le fluor, élément qui n'intervient pas dans le métabolisme des végétaux, pénètre dans les cellules du parenchyme foliaire, et il est alors transféré et stocké aux extrémités ou sur les bords du limbe (Benhamada., 2004).

Au-delà d'un certain seuil, des nécroses apparaîtront:

- à la pointe des feuilles longues et étroites (sapin, pin, glaïeul, iris . . .).
- sur les bords des feuilles larges et entières (hêtre, noisetier . . .).
- à l'extrémité des lobes pour les feuilles découpées (aubépine, érable à f. d'obier. . .).

Ces brûlures présenteront des teintes variées, allant du brun clair (sapin) au noir (noyer) ou au rouge brique. Il s'agit à proprement parler d'un phénomène d'accumulation, on conçoit donc que les résineux, exception faite des représentants à feuilles caduques (mélèze) gardant leurs aiguilles de 3 à 7 ans, soient plus sensibles que les végétaux à feuilles caduques. Ces derniers, en effet, éliminent lors de chute annuelle des feuilles, le fluor accumulé au cours de la saison de végétation (Cap *et al.*, 2003).

b. Sur les végétaux inférieurs :

Le fluor peut inhiber ou affecter la croissance des populations algales, cette inhibition dépend de la concentration du fluor, du temps d'exposition et de l'espèce algale.

Certaines algues sont capables d'accumuler des concentrations élevées en fluorinorganique, atteintes jusqu'à 200mg/g (Camargo., 2003).

Les lichens possèdent aussi un pouvoir d'accumulation du fluor, cela est en fonction de la teneur de ce dernier dans l'atmosphère, de la durée d'exposition, de la distance par rapport à la source de pollution et à la topographie du site.

Les lichens affectés par une pollution fluorée présentent généralement :

- Une Chlorose suivie d'une nécrose, le changement de la couleur des thalles s'accompagne d'une destruction des acides licheniques, ceci est dû à la destruction des chlorophylles a et b (Deruelle et Lallement., 1983).
- Inhibition de la germination des spores (Semadi., 1989).
- Baisse de fertilité ; elle est parfois en relation avec la multiplication des isidies ou de sorédies, on peut penser que cette production se déclenche en compensation de l'inhibition de la fructification. Deruelle et Lallement (1983), ont remarqué que la production croissante des sorédies, tend à envahir tout le thalle au fur et à mesure qu'on s'approche de la source de pollution.
- Réduction du nombre d'espèces ; la pollution fluorée peut provoquer une disparition presque totale de certaines espèces licheniques (Zaafour., 1992).

Chapitre III :

Le stress oxydant



III.1. Définition :

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et réparer les dommages oxydatifs (Boyd *et al.*, 2003). Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (Morel et Barouki., 1999).

III.2. Origine du stress :

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à doses raisonnables. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux libres, un état de « stress oxydant » est signalé (Favier., 2003).

III.3. Les radicaux libres :

III.3.1. Définition :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques indépendantes, atomes, molécules ou leurs fragments (Durackova., 2008) possédant un ou plusieurs électrons célibataires (Delattre., 2005), ce qui les rend extrêmement réactifs (Vansant., 2004).

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs sont souvent appelés espèces réactives de l'oxygène ou ERO (Favier., 2003).

L'appellation espèces réactives de l'oxygène n'est pas restrictive (Gutteridge., 1993), elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés d'oxygènes réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante (Novelli., 1997).

III.3.2. Principales espèces réactives de l'oxygène :

❖ L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) :

La molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.



❖ **Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) :**

Lorsqu'un second électron s'additionne à l'anion superoxyde, O²⁻₂ est formé. Au PH physiologique, cet anion se protonne très rapidement pour former le peroxyde d'hydrogène. Toutefois, la principale production de H₂O₂ résulte dans la dismutation de O⁰⁻₂ catalysée par la superoxyde dismutase (SOD) (Coulon., 2005). Bien qu'il ne s'agisse pas d'un radical libre au sens propre, il est extrêmement réactif et possède un fort pouvoir oxydant (Bourdon., 2000). De plus sa capacité à traverser les membranes biologiques fait qu'il peut exercer son action néfaste sur des distances relativement grandes (Hadi., 2004).

❖ **Le radical hydroxyle (OH) :**

Il est très réactif vis-à-vis les structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.

❖ **L'oxygène singulet (O¹₂) :**

O¹₂ forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité. L'O¹₂ peut être produit quand plusieurs pigments biologiques sont en présence de la lumière et d'oxygène.

III.3.3. Les principales sources des radicaux libres :

Les radicaux libres sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes (Halliwell., 2006).

III.3.3.1. Sources endogènes :

L'origine des ERO chez les organismes aérobies provient de la consommation intracellulaire de la molécule d'oxygène qui est essentielle pour de nombreuses fonctions physiologiques mais qui génère dans le même temps la formation d'ERO potentiellement toxiques pour la cellule. Ces molécules sont produites par différentes réactions du métabolisme cellulaire (Boutour., 2011), dont les principales sources de production des ERO sont la phosphorylation oxydative de l'ADP, les chaînes de transport d'électrons de la photosynthèse, et l'activité de plusieurs enzymes qui produisent des ERO comme molécules intermédiaires.

III.3.3.2. Sources exogènes :

Les facteurs abiotiques auxquels les végétaux sont soumis, peuvent augmenter la production intracellulaire des ERO.

L'excès de lumière, la sécheresse, le froid, et les rayonnements sont capables de générer des radicaux libres. Ainsi les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources de radicaux libres (Favier., 2003).

L'exposition aux métaux lourds aussi joue un rôle dans la formation des ERO, en raison de leur capacité à exister sous différents états d'oxydation (Toppi *et al.*, 1999). Fe, Cu, Zn, Cd, Pb, Ag, Hg, Ni. Ces métaux jouent le rôle de catalyseurs dans la détérioration oxydative des macromolécules biologiques et des tissus (Le pape., 2003).

III.4. Conséquences du stress oxydant :

Lorsque la quantité d'ERO générée dépasse les capacités antioxydantes de l'organisme, la toxicité des ERO s'exprime par de nombreux aspects, et en particulier par la perturbation de nombreux processus physiologiques comme la photosynthèse (Sies., 1997 ; Arora *et al.*, 2002). Cette toxicité s'explique par la réactivité des ERO envers les macromolécules biologiques, qui peuvent réagir potentiellement avec chaque composant cellulaire et provoquer son oxydation.

Cependant, les cibles préférentielles des radicaux libres sont les lipides, suivis par les protéines et les bases constitutives du matériel génétique.

III.4.1. La peroxydation lipidique :

Les premières cibles des ERO sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires. Les membranes riches en acide gras poly-insaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation (Le pape., 2003) .

L'oxydation des lipides génère des peroxydes lipidiques qui sont eux-mêmes très réactifs. La peroxydation des lipides induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes. Elle fournit également une grande variété de produits qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN.

Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique le malondialdéhyde (MDA) qui est étudié comme marqueur de la peroxydation lipidique (Hadi., 2004).

III.4.2. Oxydation des protéines :

Presque toutes les protéines sont endommagées par les ERO, mais les plus sensibles sont celles qui ont un groupement sulfurique(SH) (cystéine et méthionine) et celles contenant les acides amines aromatiques (tyrosine et tryptophane).

Les ERO sont responsables de l'inactivation enzymatique en particulier des serines-protéases, d'une fragmentation des macromolécules (collagènes, proteoglycane, acide hyaluronique), de formation de dimers ou d'agrégats protéiniques dans les membranes cytoplasmiques (Hadi., 2004).

❖ Exemple : Oxydation des pigments :

Les pigments chlorophylliens sont présents dans des structures protéiniques organisées en photosystèmes (PSI et PSII).

La production pigmentaire est indicatrice de l'activité photosynthétique et donc de l'état de santé du végétal.

De par leur potentiel oxydant, les radicaux libres inhibent certaines réactions, telle que la synthèse du précurseur de la protéine D1 du centre réactionnel du PSII (Takahashi., 2008). Les ERO les rendent donc inactives, ce qui implique une inhibition de la photosynthèse.

III.4.3. Dommages de l'ADN :

Les ERO peuvent induire des effets mutagènes ou l'arrêt des réplifications de l'ADN (Le pape., 2003). Ils agissent en provoquant des altérations de bases nucléiques principalement la thymine et la cytosine, des pontages ADN-protéines, des modifications des sites abasiques ou des cassures de chaînes (simple et double brins) (Haton., 2005).

III.5. Les antioxydants :

Les différents organismes ont développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des ERO. Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme «antioxydant».

III.5.1. Définition :

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (Boyd *et al.*, 2003), et dont les produits de la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant ne doivent pas être toxiques et ne branchent pas la réaction radicalaire (Durackova., 2008).

Les antioxydants sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Vansant., 2004). Certains agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres interrompent la réaction en chaîne de peroxydation en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Enfin, d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur.

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. En même temps, les antioxydants arrêtent la réaction, la plupart du temps parce que la structure des antioxydants est relativement stable (Vansant., 2004).

III.5.2. Les différents types des antioxydants :

Pour se protéger contre l'effet toxique des ERO endogènes et exogènes, les végétaux sont dotés de systèmes antioxydants qu'on peut subdiviser en deux classes (Lee *et al.*, 2001; Hamilton et Heckathon., 2001).

III.5.2.1. système antioxydant non enzymatique :

Il est formé par des composants de faible poids moléculaire dont les plus importants sont les tocophérols qui sont des substances liposolubles associées à la membrane, connues pour neutraliser les ERO à ce niveau (Zhu., 2001). L'acide ascorbique (ASC) et le glutathion sont des réducteurs hydrosolubles présents dans les tissus végétaux à des concentrations de l'ordre du millimolaire. Les végétaux possèdent aussi d'autres antioxydants comme les caroténoïdes, les flavonoïdes, le mannitol, la proline et la glycinebétaine (Shen *et al.*, 1997; Hamilton et Heckathon., 2001).

- ❖ **Le glutathion (GSH)** : est un tripeptide (L-glutamyl-cystéinyglycine) constituant la plus grande réserve de thiols non protéiques, que l'on retrouve dans tous les compartiments cellulaires soit sous forme réduite (GSH) soit

sous forme oxydée (forme disulfure, nitrée ou oxygénée). Il peut réduire directement les substrats oxydés (Gama.,2010).

- ❖ **L'ascorbate** : est une molécule présente dans tous les compartiments cellulaires mais particulièrement abondante dans le chloroplaste. Il est connu pour régénérer les ascorbate peroxydases, après quoi il se retrouve oxydé sous forme de monodéhydroascorbate (MDHA) ou déhydroascorbate (DHA). Ces deux composés sont ensuite principalement réduits respectivement par des MDHA et DHA réductases, participant au cycle ascorbate-glutathion (Sanmartin *et al.*,2007).
- ❖ **Les caroténoïdes** : sont des pigments dont font partie les carotènes et les xanthophylles. On les retrouve donc dans tous les organes colorés d'un végétal (fleur, feuille, fruit, thalle, racine...etc). Ils sont notamment capables de réagir avec l'oxygène singulet produit au niveau du chloroplaste protégeant ainsi la chaîne de transport d'électrons photosynthétique (Havaux *et al.*, 2007).

III.5.2.2. système antioxydant enzymatique :

La deuxième classe du système antioxydant comporte un ensemble d'enzymes antioxydantes dont principalement, la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la guaïacol peroxydase (POX) et l'ascorbate peroxydase (APX) qui agissent en complémentarité (Matamoros *et al.*, 2003).

La SOD est la première à intervenir pour dégrader l'ion superoxyde en oxygène moléculaire et peroxyde d'hydrogène qui sera ensuite éliminé par les autres enzymes mentionnées. Une complémentarité existe aussi, entre les systèmes enzymatiques et non enzymatiques: les enzymes réductrices de l'ASC telle que l'ascorbate réductase, sont impliquées dans le maintien d'une activité antioxydante élevée, de même pour la glutathion réductase, qui réduit le glutathion oxydé (Monk *et al.*, 1989).

❖ Les superoxyde dismutases :

La SOD est une enzyme omniprésente dans les tissus des organismes consommateurs d'oxygène. Le rôle principal de cette enzyme est de protéger l'organisme des effets destructeurs du radical superoxyde (García-Limonese*tal.*, 2002) par une réaction de dismutation pour donner le H₂O₂ qui est moins toxique (Bowler*et al.*, 1992) et qui sera réduit à son tour par différents types de peroxydases.



❖ Les catalases :

Ce sont des enzymes dont le rôle est de catalyser la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et O₂ ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O}$). Ces enzymes sont réputées comme étant parmi les plus actives.

❖ Les ascorbate peroxydases (Apx) :

Ce sont des peroxydases à hème également, qui réduisent majoritairement H₂O₂ (Raven *et al.*, 2004). Comme leur nom l'indique, ces enzymes utilisent l'ascorbate pour leur régénération. Elles dépendent donc principalement du cycle ascorbate-glutathion.



Partie
Expérimentale

Chapitre IV :

Matériel et

Méthodes

IV.1. Objectifs de l'étude :

Etudier les effets du plomb et du fluor qui se trouvent sous formes de PbN_2O_6 et NaF sur le lichen *Xanthoria parietina* par le dosage des différents biomarqueurs de stress (chlorophylle, phaéophytine, MDA, proline, protéines, catalase)

- ❖ en fonction des concentrations croissantes de l'ordre de 0mM, 0,5mM, 1mM, 5mM, 10mM de chaque polluants dans une échelle du temps de 0 heure, 24 heures, 48heures, 96heures.

IV.2. Localisation de la zone des prélèvements des échantillons lichéniques :

Les prélèvements de lichens ont été effectués dans la région de Beni Metrane, située au sud de la ville de Taher dans une orangerie abandonnée qui s'étale sur plusieurs hectares.

Le choix du site a été basé sur la région où les sources polluantes sont minimales. Le site se situe en milieu rural, éloigné de toute zone urbaine, il n'existe aucune activité industrielle aux alentours et seule une route secondaire peu fréquentée passe à proximité du verger.

IV.3. Identification de l'espèce *Xanthoria parietina* :

Xanthoria parietina est un lichen d'assez grande taille, dont le diamètre des thalles individuels dépasse rarement huit centimètres, mais peut exceptionnellement atteindre une quinzaine de centimètres.

Xanthoria parietina, est une espèce corticole, coniophile, très nitrophile et moyennement toxicotolérante, facilement reconnaissable à son thalle foliacé, jaune-orangé, pourvu de nombreuses fructifications,

Par ces caractéristiques, elle répond aux besoins de notre étude. C'est une espèce très répandue dans notre région, facile à échantillonner, assez résistante et physiologiquement active.

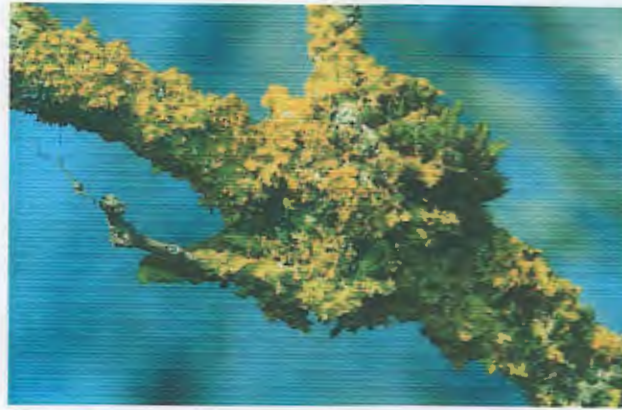


Figure 3: L'espèce *Xanthoria parietina* (Beni Metrane).

IV.4. Prélèvements des lichens in situ :

Pour l'utilisation des lichens en tant que bioaccumulateurs et bioindicateurs, nous nous référons aux protocoles proposés par Van Haluwyn et Lerond, (1986) ainsi qu'à celui proposé par Asta *et al.* (2002).

Les lichens prélevés sont de taille sensiblement égale et, à priori, de même âge

Le matériel utilisé lors du prélèvement se compose :

- De couteaux et de ciseaux pour prélever les lichens et racler si nécessaire ceux attachés aux troncs d'arbres.
- De sacs en papier et des sachets en plastiques.
- un appareil photo pour prendre des photos de la station, d'arbres et de lichens.
- un cahier de rapport pour les prises en notes.

❖ Choix des phorophytes :

Le choix des phorophytes a porté sur les essences connues pour être de bons porteurs des lichens de façon à éviter les arbres bas-branchus, trop inclinés, endommagés, soumis au frottement du bétail (Garrec et Van Haluwyn., 2002).

Les prélèvements sont effectués sur des orangers qui représentent des excellents phorophytes pour l'espèce *Xanthoria parietina*.

❖ Réalisation de prélèvements:

Les thalles ont été détachés du phorophyte à l'aide d'un couteau, les échantillons sont placés dans des sachets en plastique, fermés par des élastiques afin de limiter les pertes d'eau par évapotranspiration jusqu' à l'arrivée au laboratoire (Alioua *et al* ,2008)

La récolte des thalles a été effectuée par une journée printanière ensoleillée.

IV.5. Traitement par les polluants :

Les lichens sont nettoyés très méticuleusement sous la loupe binoculaire. Les échantillons sont séchés à température ambiante (éviter toute contamination par des poussières extérieures); après séchage, les échantillons sont stockés le moins longtemps possible jusqu' à l'analyse.

Le plomb (Pb) et le fluor (F) qui se trouvent sous forme de PbN_2O_6 et NaF constituent les deux métaux avec lesquels les échantillons de l'espèce *Xanthoria parietina* sont traités.

2 g de lichens sont rajoutés à 50 ml de chaque solution de traitement préparée en utilisant PbN_2O_6 et NaF suivant des concentrations croissantes de 0mM, 0,5mM, 1mM, 5mM, 10mM.

Ces solutions sont ensuite incubées pendant 30 minutes dans l'obscurité. Elles sont par la suite filtrées et rincées trois fois durant 5 s par l'eau distillée.

Les lichens traités sont stockés pour effectuer les différents dosages qui suivent (chlorophylle, phaéophytine, MDA, proline, protéines, catalase) sur une échelle du temps de 0 heure, 24 heures, 48heures, 96heures.

IV.6. Techniques de dosages :

IV.6.1. Dosage de la chlorophylle :

Les teneurs en chlorophylles sont déterminées selon le protocole de Lichtenthaler (1987). L'extraction est réalisée à l'obscurité par 5 ml d'acétone (80%) pour 100 mg de poids frais de lichen pendant une heure. Après 3min de centrifugation à 3000 nm, une mesure de l'absorbance (A) est effectuée à 645, 663, 665 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les teneurs en chlorophylle, exprimées en $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, sont calculées à partir des équations suivantes :

$$\text{Chl}_T = 20,2 \times A_{645} - 8,02 \times A_{663}$$

Dont :

Chl_T : Concentration en chlorophylles totales.

IV.6.2. Dosage de la phaéophytine :

Après l'acidification des extraits de la chlorophylle par 20 μl d'HCL (1N), une deuxième lecture est effectuée à une longueur d'onde de 665nm.

Puis on calcule le rapport :

$$\text{Chl}_T 665 / \text{Chl}_T 665a$$

Dont :

$\text{Chl}_T 665a$: teneur en chlorophylle après acidification.

IV.6.3. Dosage de l' MDA :

Selon le protocole de la quantification de l'MDA, accordé à Vavilin *et al.* (1998) .un mélange de 200 mg de lichens et 2,5 ml d'eau distillée, sont rajoutés 2,5ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,5% et une solution d'acide tichloracétique (TCA). La solution obtenue est incubée pour 30 minutes à une température de 95°C, puis passée à un bain froid afin d'arrêter toute réaction possible. La lecture de super nageant à 532nm nécessite une centrifugation à 10000 tours pendant 30 minutes.

La valeur de l'absorption non spécifique lue au spectrophotomètre a une longueur d'onde de 600 nm sera par la suite soustraite du résultat obtenu de la lecture.

Le MDA est exprimé en nmol/g de lichen étudié et calculé à partir d'une gamme préparée sous les mêmes conditions avec une solution de « 1,1,3,3-tetraoxypropane » qui donne le MDA après son hydrolyse.

IV.6.4. Dosage de la proline :

La méthode utilisée est celle de Bates *et al.* (1973), 100 mg de lichens sont ajoutés à un volume de 2 ml de méthanol à 40%, le mélange est chauffé, pendant 1 heure, dans un bain-marie à 85°C. Après refroidissement, 1 ml de la solution d'extraction est ajouté à 1 ml d'acide acétique, 25 mg de ninhydrine et 1 ml du mélange eau distillée-acide acétique-acide orthophosphorique. L'ensemble est porté à ébullition pendant 30 minutes au bain-marie, puis refroidi et additionné de 5 ml de toluène. Après agitation au vortex, une pincée de Na₂SO₄ est ajoutée dans chaque tube. La lecture s'effectue en longueur d'onde 528 nm.

La courbe d'étalonnage est établie par différentes concentrations de la proline à partir d'une solution mère de 2mg/100ml de méthanol 40%. Les valeurs obtenues sont ensuite reportées sur la courbe d'étalonnage, l'étalonnage de l'appareil se fait par le mélange (acide acétique, eau distillée et acide orthophosphorique).

IV.6.5. Dosage des protéines :

En suivant la méthode de Bradford (1976), Une homogénéisation de 100 mg du poids frais des lichens dans 2 ml du tampon phosphate 0,05 M de PH 6,8 est faite, puis une centrifugation à 4°C pendant 20 minutes à 12000 t/min s'est effectuée. 2ml de la solution de Bradford est ajoutée à 50 µl du surnageant, après 10 minutes une lecture est effectuée à 595 nm.

La courbe d'étalonnage est établie par le BSA (bovin serum albumin) à différentes concentrations (0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08) mg/ml.

IV.6.6. Dosage de la catalase :

50 mg du poids frais des lichens est homogénéisé dans 2 ml du tampon phosphate 0,05 M à PH 7, suivi d'une centrifugation de 15000 t/min à 5°C pendant 20 minutes.

50 µl du surnageant est ajouté à 2,95 ml de 0,015M H₂O₂ dans le tampon phosphate.

Une première lecture est effectuée de suite à 240 nm, une deuxième après 3 minutes (Aebi., 1984).

L'activité enzymatique du catalase est exprimée en constante de vitesse de la réaction d'ordre 0 par gramme de tissu. Elle est calculée selon la formule suivante :

$$k = \frac{2.303}{T} \times \log (A1/A2)$$

Dont :

K : Constante de vitesse de la réaction.

T : Intervalle de temps en minute.

A1 : Absorbance à t = 0.

A2 : Absorbance après 3min.

V. L'étude statistique :

On a effectué trois répétitions dans chaque concentration pour qu'on puisse calculer l'écart type.

L'étude statistique est réalisée à l'aide du système INSTAT2 MS-DOS en utilisant le test de variance univarié (one-way ANOVA).

Pour l'étude, les résultats ont été exprimés en moyenne \pm SD (déviation standard (n = 3)).

Pour l'étude expérimentale sur les lichens, les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD et nous comparons les différentes valeurs obtenues en fonction des concentrations des polluants.

Ce test nous donne le degré de signification P où on dit que la différence :

- N'est pas significative si $p > 0.05$ (NS).
- Est significative si $0.05 > p > 0.01$ (*).
- Est très significative si $0.05 > p > 0.01$ (**).
- Est hautement significative si $p < 0.001$ (***)

Chapitre V :

*Résultats et
discussion*

V.1. Résultats et interprétation :

V.1.1. Résultats du dosage des pigments :

V.1.1.1. Chlorophylle totale :

Les résultats du dosage de la Chlorophylle totale obtenus des thalles de *Xanthoria parietina* soumis à des concentrations croissantes de 0mM, 0,5mM, 1mM, 5mM et 10mM des solutions de $Pb(NO_3)_2$ et NaF, sont respectivement illustrés dans les figures 4 et 5 :

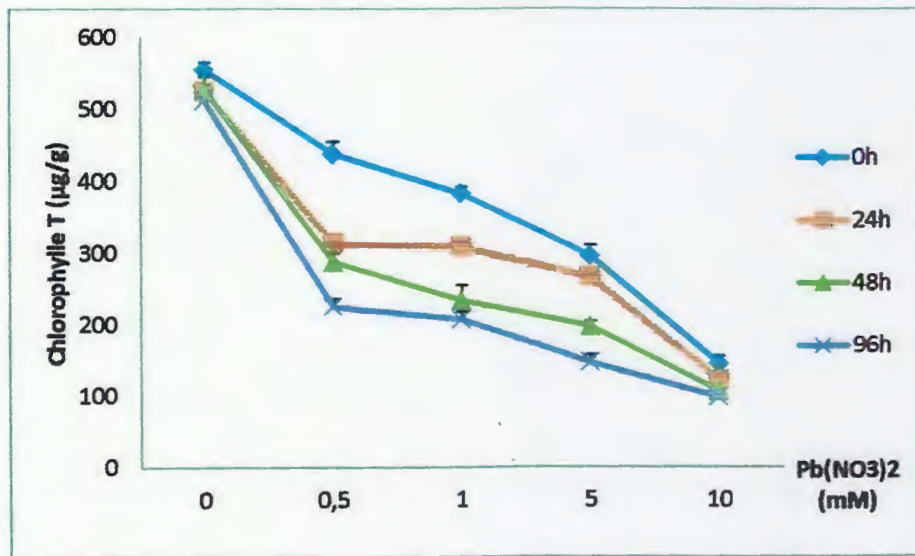


Figure 4 : Variations des teneurs en Chlorophylle totale chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations du plomb.

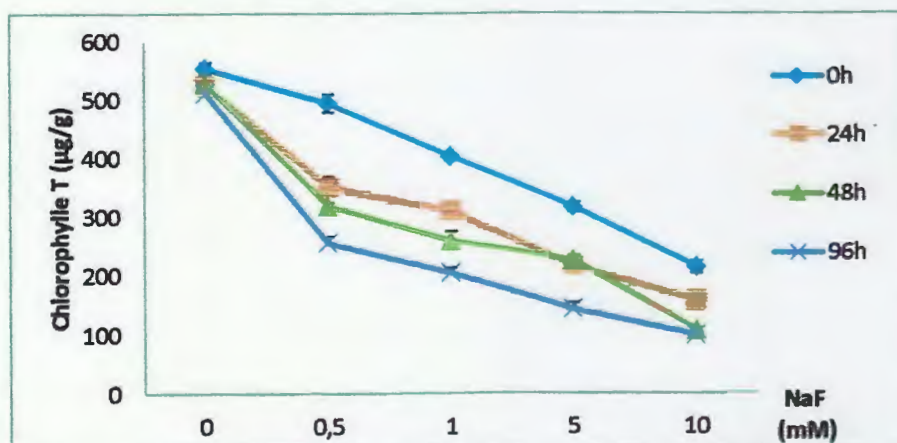


Figure 5 : Variations des teneurs en Chlorophylle totale chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations du fluor.

D'après les figures précédentes, on a remarqué qu'il y a une diminution très significative des taux de la chlorophylle totale dans les thalles traités par le plomb ($p=0,006^{**}$), et significative ($p=0,014^{*}$) dans ceux traités par le fluor, et cela en fonction des concentrations croissantes, ainsi qu'en fonction du temps de traitement.

La valeur maximale est enregistrée chez les témoins (116 $\mu\text{g/g}$), alors que la valeur minimale est enregistrée après 96h du traitement (97 $\mu\text{g/g}$ pour le Pb, et 98 $\mu\text{g/g}$ pour le F) à la concentration 10mM.

En comparaison entre l'effet des deux polluants sur la dégradation de la chlorophylle totale, on a remarqué que cette dernière est plus importante chez le lichen traité par le plomb.

V.1.1.2. Phaeophytine totale :

La phaeophytine est le produit de dégradation des pigments chlorophylliens. Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 6 et 7 suivantes :

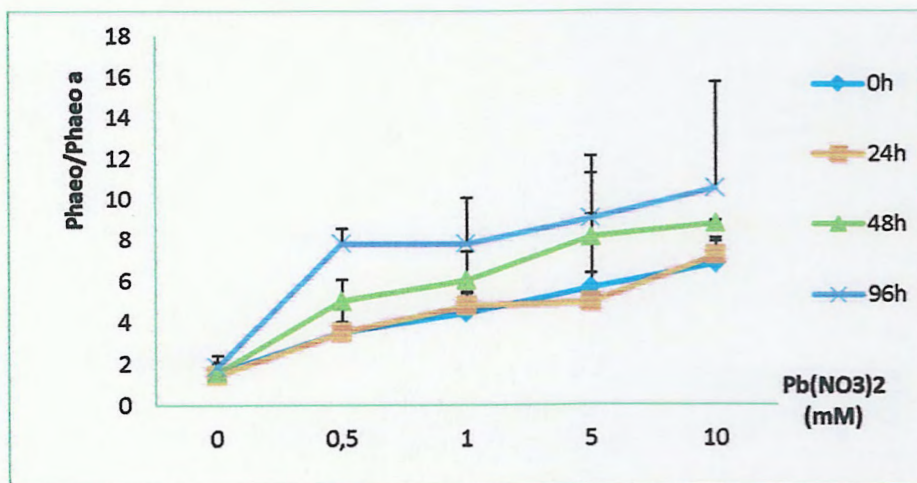


Figure 6 : Variations des teneurs en Phaeophytine totale chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations de plomb.

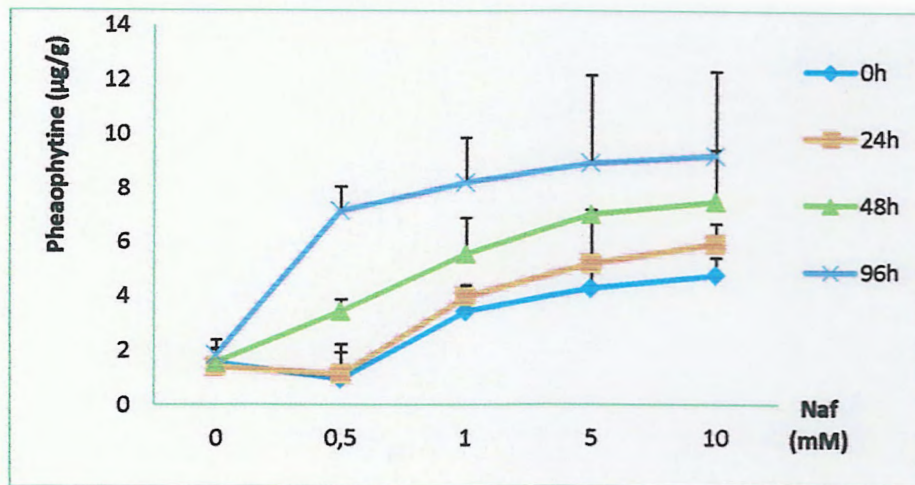


Figure 7 : Variations des teneurs en Phaeophytine totale chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations de fluor.

Les résultats obtenus ont montré qu'il n'y a pas une augmentation significative ($p=0,076^{NS}$) dans le rapport entre les teneurs de phaeophytine totale avant et après l'acidification, ceci pour le thalle traité par le plomb, par contre les résultats enregistrés lors du traitement du thalle par le fluor sont significatifs ($p=0,01^*$) en fonction du temps et des concentrations des deux polluants, mais encore de façon plus importante pour le plomb $Pb(NO_3)_2$ que pour le fluor (NaF).

V.1.2. Résultats de dosage de l'MDA :

La teneur en MDA constitue un indicateur de la peroxydation de lipides, L'augmentation du taux de l'MDA traduit un impact toxique consécutif des lipides membranaires.

Les résultats du dosage de l'MDA dans le thalle du lichen traité par les solutions de $Pb(NO_3)_2$ et NaF pendant une période déterminée, sont indiqués respectivement dans les figures 8 et 9 :

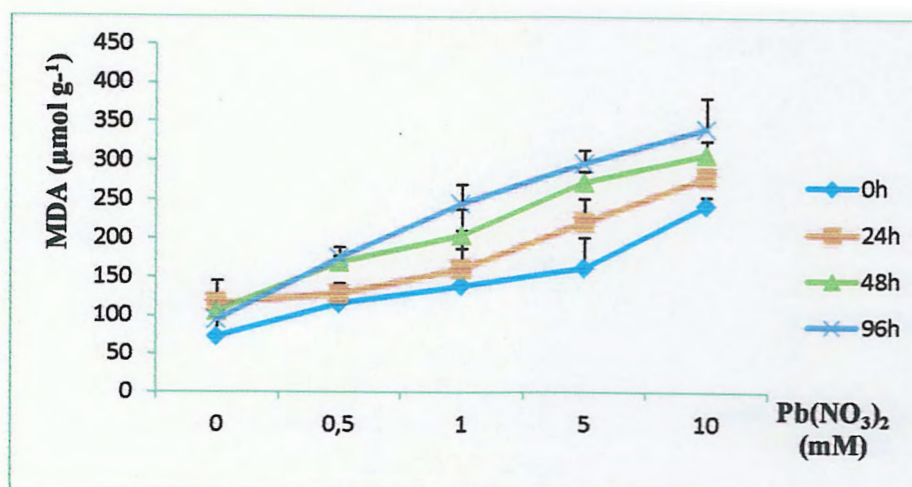


Figure 8 : Variations des teneurs en MDA chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations de plomb.

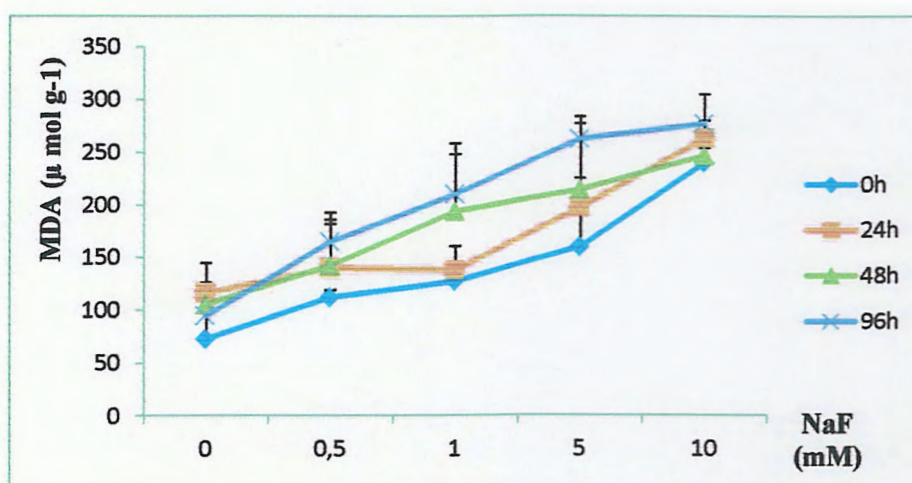


Figure 9 : Variations des teneurs en MDA chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations de fluor.

Les résultats obtenus ont permis de remarquer une augmentation non significative ($p=0,054^{NS}$) du taux de peroxydation lipidique lors du traitement par le plomb, et significative ($p=0,014^*$) lors du traitement par le fluor, en parallèle avec l'augmentation des concentrations des solutions utilisées.

Les témoins présentent les valeurs les plus faibles ($116, 105,72 \mu\text{mol.g}^{-1}$...), alors que les valeurs les plus élevées sont enregistrées à la concentration de 10 mM (soit $341, 307, 279 \mu\text{mol.g}^{-1}$ pour le plomb, et $263, 247, 249 \mu\text{mol.g}^{-1}$ pour le fluor).

De même, les concentrations en MDA augmentent systématiquement en fonction du temps de l'exposition. En outre, on a observé que les teneurs en MDA sont plus élevées chez le lichen traité par le plomb que celui traité par le fluor.

V.1.3. Résultats du dosage de la proline :

La proline est un acide aminé soluble dans l'eau et dans l'alcool et facilement oxydable par la ninhydrine.

Les variations de l'accumulation de la proline chez *Xanthoria parietina* après les traitements par le Pb et le F sont regroupées dans les figures suivantes :

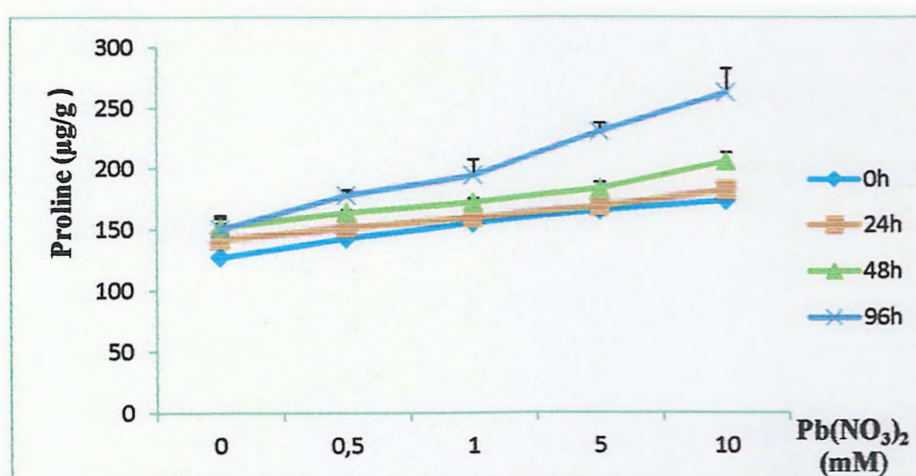


Figure 10 : Variations des teneurs en proline chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations de plomb.

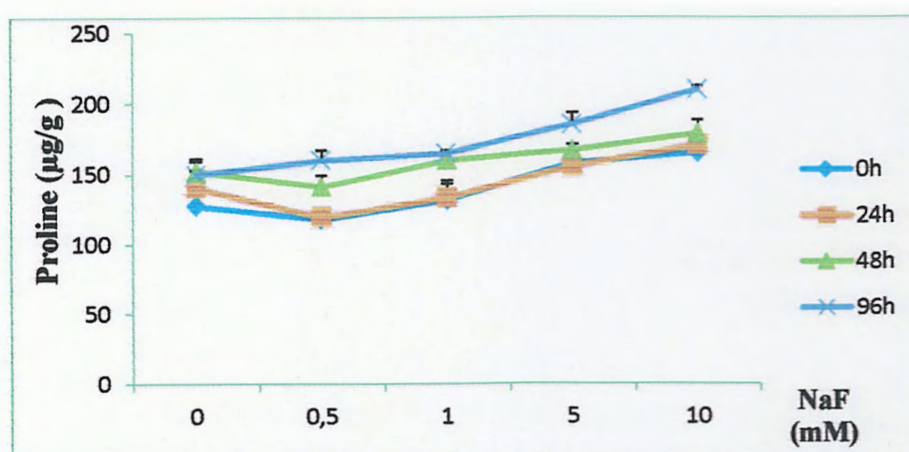


Figure 11 : Variations des teneurs en proline chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations de fluor.

D'après les figures, on a remarqué une accumulation significative ($p=0,026^*$) de la proline en corrélation avec les concentrations du plomb, et très significative ($p=0,009^{**}$) en corrélation avec les concentrations du fluor.

On a constaté aussi que les quantités les plus faibles de la proline sont enregistrées chez les témoins (127, 142, 152 $\mu\text{g/g}$...), alors que les quantités les plus fortes sont enregistrées avec la concentration de 10mM (la proline correspond à 262, 173, 182 $\mu\text{g/g}$ pour le Pb et 209, 178, 170 $\mu\text{g/g}$ pour le F).

Aussi l'accumulation de la proline varie beaucoup plus en fonction du temps qu'en fonction de la concentration.

V.1.4. Résultats du dosage des protéines :

Les variations de la teneur en protéines chez *Xanthoria parietina* après traitement par le Pb et le F sont présentées respectivement par les figures 12 et 13 :

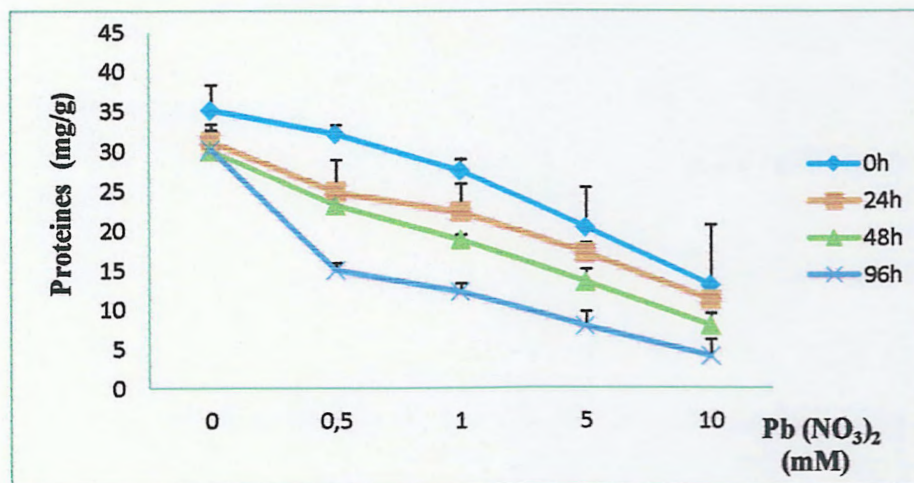


Figure 12 : Variations des teneurs en protéines chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations de plomb.

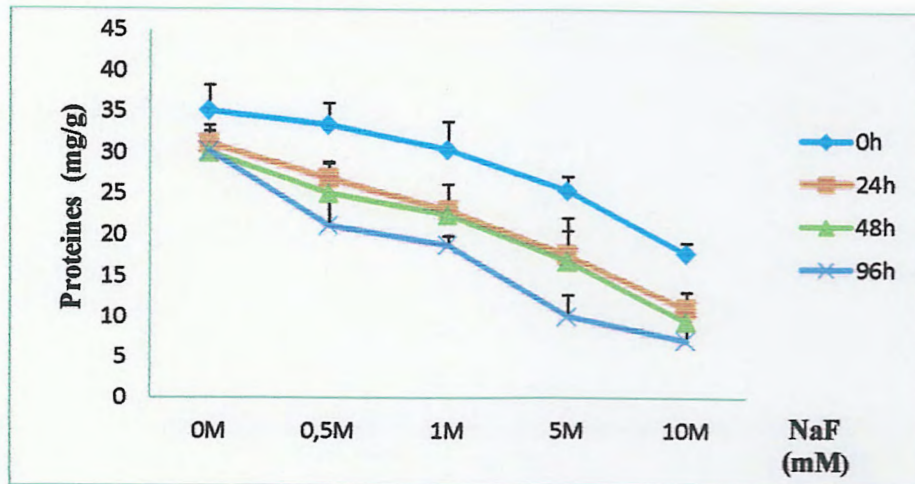


Figure 13 : Variations des teneurs en protéines chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations de fluor.

Les figures 12 et 13 ont montré que les teneurs en protéines sont affectées par le plomb et le fluor, elles présentent des diminutions non significatives ($p=0,157^{NS}$) lors du traitement des échantillons par le plomb, alors qu'elles sont significatives ($p=0,046^*$) lors du traitement par le fluor. Ces diminutions sont enregistrées en fonction des concentrations croissantes des deux polluants.

Ainsi, on a constaté une diminution des quantités des protéines en fonction du temps, cette diminution est plus importante après 96h de traitement (soit les valeurs de ; 12,4, 5 mg/g pour le Pb, et 18, 10, 7 mg/g pour le F).

En comparaison entre les deux polluants, on a remarqué que la faible teneur en protéines est enregistrée après 96h chez le lichen traité par 10Mm du plomb (4mg/g).

V.1.5. Résultats du dosage de la catalase :

La Catalase est une enzyme qui décompose l' H_2O_2 en eau et en oxygène moléculaire sans besoin de réducteurs.

Les figures 14 et 15 donnent les variations de l'expression de la catalase chez *Xanthoria parietina* suite à un traitement par deux solutions différentes $Pb(NO_3)_2$ et NaF.

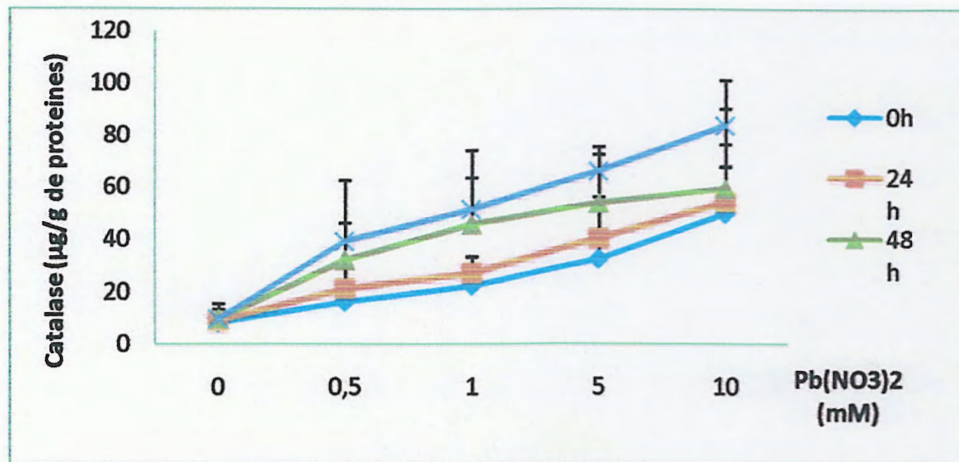


Figure 14 : Variations de l'activité du catalase chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations du plomb.

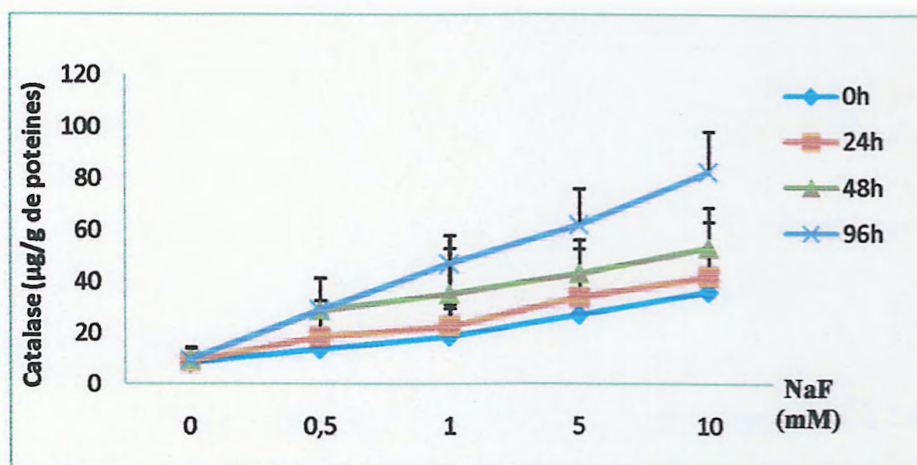


Figure 15 : Variations de l'activité du catalase chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations du fluor.

D'après les figures 14 et 15, on a remarqué que l'expression de la catalase chez le lichen *Xanthoria parietina* est affectée après le traitement par les deux solutions de $Pb(NO_3)_2$ et NaF, l'augmentation d'expression en fonction des concentrations de ces deux derniers est significative ($p=0,047^*$) lors du traitement par le plomb, très significative ($p=0,002^{**}$) lors du traitement par le fluor, dont les plus fortes quantités de la catalase sont enregistrées aux concentrations de 10mM.

Ainsi, on a constaté que l'expression de la catalase est en corrélation avec le temps du traitement, lorsque le temps augmente les teneurs en catalase augmentent aussi. Les teneurs les plus élevées sont enregistrées après 96h du contact avec les

Les teneurs les plus élevées sont enregistrées après 96h du contact avec les solutions PbN_2O_6 et NaF (soit les valeurs de 51, 66, 83 pour le plomb, et de 47, 61, 82 pour le fluor).

L'expression de catalase chez *Xanthoria parietina* dans la solution NaF est moins importante que celle dans PbN_2O_6 .

V.2. Discussion :

V.2.1. Variations des taux des pigments :

V.2.1.1. Dégradation des taux de la chlorophylle totale :

La dégradation de la chlorophylle totale, enregistrée chez *Xanthoria prietina*, en fonction du temps et des différentes concentrations des polluants, s'accorde avec les résultats de plusieurs études qui ont montré l'influence de la pollution atmosphérique sur l'expression des pigments chez les végétaux (Delfina *et al.*, 2010 ; Pourrut., 2008) .

Maizi *et al.*, (2010) ont montré que les teneurs en chlorophylle chez *Zeamays* diminuaient avec l'augmentation des concentrations en plomb. Les études de Semadi et Cormis (1986) sur l'effet de la pollution fluorée dans la région d'Annaba confirment que cette dernière, provoque une diminution dans les taux de chlorophylle (a, b), et par conséquent, de chlorophylle totale (a+b). Ainsi que l'étude de Benhamada (2004) sur le fluor a démontré une régression de la chlorophylle.

La chlorophylle des lichens est très sensible à la pollution. Elle diminue et se dégrade lorsque elle est exposée a des polluants (Bac̣kor *et al.*, 2007 ; Loppi *et al.*, 2009 ; Munzi *et al.*, 2009 ; Maizi *et al.*, 2010) .

V.2.1.2. Augmentation des taux de la phaeophytine totale :

L'augmentation des taux de la phaeophytine totale marquée, peut être expliquée par la phéophytisation, c'est-à-dire la destruction de la chlorophylle (a, b) et sa transformation en phéophytine (a, b) sous l'effet de la pollution (Bac̣kor *et al.*, 2007 ; Loppi *et al.*, 2009 ; Munzi *et al.*, 2009 ; Maizi *et al.*, 2010).

V.2.2. Augmentation de la formation de l'MDA :

Au cours de la peroxydation lipidique, une grande variété d'aldéhydes est formée, Parmi ces aldéhydes, on retrouve le MDA. Ce dialdehydetricarbone est issu de l'oxydation disruptive des insaturations maloniques présentes dans les acides gras polyinsaturés (Frankel et Neff., 1983). Ainsi, afin d'étudier les effets éventuels d'une substance ou d'un agent stressant sur la membrane. L'MDA constitue un biomarqueur intéressant de stress provoqué par les métaux (Monnet *et al.*, 2006).

L'exposition des lichens au plomb et au fluor est responsable de la production de radicaux libres, attestée par l'augmentation significative de l'MDA. Ceci s'accorde avec de nombreux travaux qui rapportent une augmentation du taux de l'MDA sous l'effet des métaux lourds en général (Aoun., 2008) ; (Khaldi *et al.*, 2009).

Benhamada (2004) ; Bacˆkor *et al* (2007) ; Loppi *et al.*, (2009), ont pu démontrer l'augmentation de l'MDA chez *Xanthoria parietina* sous les effets du fluor, boron et plomb.

V.2.3. Accumulation de la proline :

L'accumulation de la proline peut être considérée comme un biomarqueur de stress, qui varie en fonction de l'espèce végétale. Elle est plus importante chez les espèces tolérantes (Driouich *et al.*, 2001).

Les végétaux réagissent contre le stress par l'accumulation de la proline pour la protection de la structure de ses macromolécules (Hellman *et al.*, 2000).

La détermination de la proline dans les lichens est une méthode détective des différents phénomènes de stress possible.

Selon les travaux de Benhamada (2004), l'accumulation du fluor dégagé par une usine de briques chez *Xanthoria parietina* agit sur l'accumulation spatiotemporelle de la proline.

Il a été démontré aussi que le plomb induit une accumulation de proline chez l'espèce de lichen *Ramalina farinacea* (Maizi *et al.*, 2010) . Et sur plusieurs espèces végétales telle la fève (Pourrut., 2008). Une augmentation de la proline a également été observée chez plusieurs végétaux sous l'effet des métaux tels que le Mn (Lei *et al.*, 2007), le Zn (Alia *et al.*, 1995) ,Co (Sharmila et PardhaSaradhi., 2002), Cu (Sharma et Dietz., 2006) , Cd (Aoun., 2008). Mais aussi sous l'action d'autres types de stress : salin (Demiral et Tˆrkan., 2005), hydrique (Taulavuori *et al.*, 2005), radiations UV (PardhaSaradhi *et al.*, 1995), thermique (Taulavuori *et al.*, 2005).

La proline fait partie d'un syndrome adaptatif général aux conditions environnementales défavorables. Différentes fonctions sont attribuées à l'accumulation de ce soluté compatible : osmorégulation, chélation et détoxification

des métaux, protection des enzymes, régulation de l'acidité cytosolique, stabilisation de la machinerie de la synthèse protéique et piégeage des espèces réactives de l'oxygène (radicaux hydroxyles, oxygène singulet) (Sharmila et PardhaSaradhi, 2002).

L'accumulation de la proline, induite par les stress, peut être le résultat de trois processus complémentaires :

- ❖ Stimulation de sa synthèse (Morris *et al.*, 1969 ; Bogges *et al.*, 1976), La proline serait synthétisée au niveau du cytosol par les cellules affectées à partir de l'acide glutamique via l'acide 5 carboxylique 1 pyrroline (P5C) mais également via l'arginine et l'ornithine (Lignowski et Slittstoesser, 1971 ; Hellmann *et al.*, 2000) .
- ❖ Inhibition de son oxydation (Stewart *et al.*, 1977 ; Rayapatiet et Stewart., 1991)
- ❖ altération de la biosynthèse des protéines (Stewart *et al.*, 1977).

V.2.4. Diminution des taux des protéines :

La diminution des teneurs globales en protéines marquées, constitue un premier indicateur des dommages induits par un stress oxydant chez les lichens (Rouabhi *et al.*, 2009) .La dégradation des protéines intracellulaires et extracellulaires s'effectue essentiellement soit par :

- ❖ L'action des ERO : les protéines sont considérées comme des cibles critiques de l'attaque des radicaux libres en raison de leurs activités catalytiques. Ils peuvent agir directement et simultanément sur plusieurs sites (cystéine, méthionine, tryptophane), et ce, préférentiellement au niveau des groupements -SH et -NH₂ (Haliwell et Gutteridge., 1989). Ces attaques consistent en des agrégations, des pontages, des fragmentations, des cassures, et des modifications des groupements thiols (Pourrut., 2008).
- ❖ L'action des produits issus de la lipoperoxydation (HPCD, MDA...), qui se fixent sur les lipoprotéines présents dans le plasma provoquant leur dégradation (Myara., 2002).

- ❖ L'action sur le matériel génétique codant la synthèse des protéines, qui conduit à des cassures au niveau de l'ADN, et parfois à la mort cellulaire.

Pourrut (2008) ; Boumaza(2009) ont observé que la dégradation des protéines totales a été marquée en parallèle avec une augmentation de l'activité des protéases. Ainsi *Fontinalis antipyretica* exposée à des solutions de Cu, Cd, Pb et Zn (50 M) présente une diminution du taux total après 4 heures d'exposition pour le cuivre et le cadmium, et après 24 heures pour les 4 métaux (Loppi *et al.*, 2009).

En outre, la dégradation des protéines est semblée proportionnelle avec le temps, et avec l'accroissement des concentrations des polluants (Pb, F), mais de façon plus ou moins élevée avec le plomb, cela peut être expliqué par le fait que le stress provoqué par ce dernier est plus puissant que celui induit par le fluor.

V.2.5. Augmentation de l'activité de catalase :

L'activité du catalase qui consiste à l'élimination du peroxyde d'hydrogène durant la métabolisation chez les organismes aérobies, renseigne sur le degré d'altération de la cellule (Boumaza., 2009).

L'activité de la catalase augmente bien chez les lichens exposés aux polluants organiques, et aux fertilisants (Rouabhi *et al.*, 2009). Par ailleurs, plusieurs autres études effectuées sur les biomarqueurs de stress oxydant confirment cela, avec une exposition à des polluants métalliques (Bac̣kor *et al.*, 2007 ; Loppi *et al.*, 2009).

L'augmentation de l'activité du catalase est due à la production des ERO provoquée par les polluants. La catalase permet de limiter les productions excessives d'ERO (Willekens *et al.*, 1997). En catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène (Arora *et al.*, 2002) , il semble donc que son importance est la détoxification de l' H_2O_2 .



Conclusion

Conclusion :

La bioindication lichénique est une méthode qui évalue les degrés et les effets de la pollution atmosphérique.

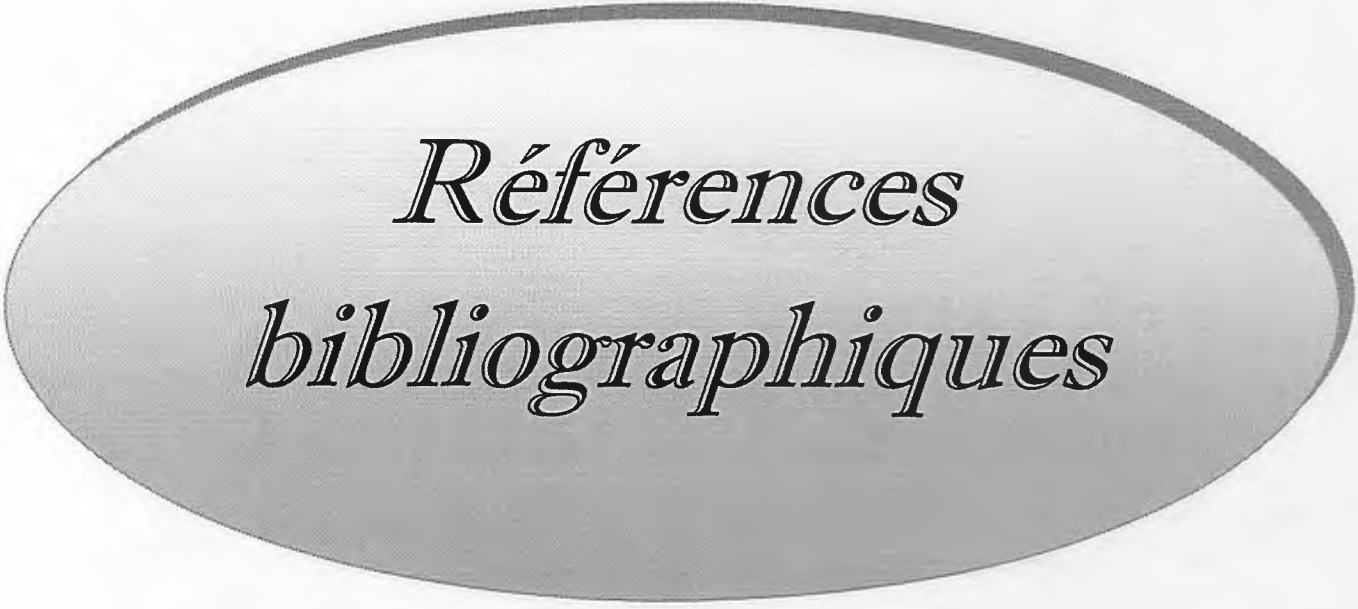
Notre travail a pour but d'évaluer les effets d'une pollution provoquée par deux polluants ; le plomb et le fluor, par l'étude du stress oxydant chez l'espèce lichénique *Xanthoria parietina*.

Les résultats obtenus ont démontré que le plomb et le fluor ont provoqué une dégradation de la chlorophylle totale en phaeophytine, une diminution du taux des protéines, ainsi qu'une peroxydation lipidique qui se traduit par une augmentation du taux de l'MDA, et cela en fonction des concentrations des polluants ainsi qu'en fonction du temps de traitement.

Les résultats ont montré aussi que *Xanthoria parietina* a réagi contre ce stress par l'accumulation de la proline et l'augmentation de l'activité de la catalase.

Aussi, on a constaté que le plomb a une toxicité vers les lichens plus importante à la toxicité du fluor.

On conclut donc que les lichens représentent des excellents bioindicateurs de la pollution plombique et fluorée et que *Xanthoria parietina* est une espèce pollutolérante qu'on peut l'utiliser avec efficacité dans les programmes de biosurveillance.



*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques :

- ADEME., 2006."Bilan du recyclage 1996-2005-Partie-1 Synthèse générale et analyse par filière Rapport final."
- Aebi H., 1984. Catalase in vitro, *Methods Enzymol*, 105, pp 121-126.
- Alia P; Prasad K; Pardha Saradi P., 1995. Effect of Zinc on free-radicals and proline in *Brassica juncea* and *Cajanus cajan*. *Phytochem.* 39, pp 45-47.
- Alibert D ; Cooper C ; Laude P ; Meunier R., 1986. L'encyclopédie illustrée des plantes, Hong-Kong. pp 40-43.
- Alioua A., 2001. Détection de la pollution plombique d'origine automobile a l'aide de bioaccumulateurs végétaux dans l'agglomération de Skikda (N.E Algérie), thèse de doctorat, Université Joseph Fourie, Grenoble.
- Alioua A ; Maizi N ; Semadi F ; Tahar A ; Kahoul M., 2008. Détection et Étude de la Pollution Mercurielle à L'aide des Bio Indicateurs dans la Région de Azzaba (Algérie Orientale), *European Journal of Scientific Research*, ISSN 1450-216X Vol.24, No.1, pp 187-196.
- Aoun M., 2008. Action du cadmium sur les plants de moutarde indienne (*Brassica juncea* (L.) Czern) néoformés à partir de couches cellulaires minces et issus de semis. Analyses physiologiques et rôle des polyamines, Thèse de doctorat, Université de Bretagne occidentale.
- Arnaud F., 2003. "Signatures climatique et anthropique dans les sédiments holocènes des lacs du Bourget et d'Anterne (Nord-Ouest des Alpes) ; Paléohydrologie et contamination au plomb.", Thèse doctorat de l'université des Sciences et Techniques de Lille 1, p195.
- Arora A; Sairam R; Srivastava G., 2002. "Oxidative stress and antioxidative system in plants." *Current Science* 82(10), pp 1227-1238.
- Asta J; Erhardt W; Feretti M; Fornasier F; Kirschbaum U; Nimis P; Purvis O; Pirintos S; Scheidegger C; Van Haluwyn C; Wirith V., 2002. Mapping lichen diversity as an indicator of environment quality, In: Nimis P; Scheidegger C; Wolseley P(Eds),s.d, *Monitoring with lichen- Monitoring lichen*, NATO Science Series, IV, vol 7. Kluwer, Dordrecht, pp 273-293.
- Bac̣kor M; Dzubaj A; Tomko J; Peli E., 2007. Tolerance of the lichen *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. to metal stress, *Sciencedirect*.

Benhamada W., 2004. Utilisation des techniques de transplantation lichénique dans l'appréciation de la pollution fluorée par la briqueterie de Jijel et son impact sur l'environnement. Mémoire de magister, université de Jijel.

Bates L; Waldren R; Teare I., 1973. Rapid determination of free proline for waterstress studies. *Plant Soil* 39 , 1973, pp 205-207.

Bogges S; Aspinall D; Paleg L., 1976. Stress metabolism. IX. The significance of endproduct inhibition of proline synthesis and of compartmentation in relation to stress-induced proline accumulation. *Aust. J. Plant Physiol.*, 3, pp 513-525.

Boumaza A., 2009 . Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation, Thèse de Magister, Université Mantouri, Constantine.

Bourdial M., 2000. La flore et la faune, Masson, Paris. p16.

Bourdon E ., 2000. Stress oxydant et glycation; Etude de l'albumine et des apolipoprotéines AL et B biosynthétisées par l'hépatocyte humaine en culture et importance chez le diabétique. Thèse de doctorat, univ de Bouryogne. UFR de médecine. pp 222.

Bourrelier P et Berthelin J., 1998. "Contamination des sols par les éléments traces les risques et leur gestion.", Rapport de l'Académie des sciences, Ed Lavoisier, Paris, p 42.

Boutour M., 2011. Protection contre le stress photo oxydant chez des feuilles d'érable argenté (*Acer saccharinum*) grâce à l'oxydation de composés phénoliques caractérisée par voltammétrie cyclique, Thèse de doctorat , Université de Québec, pp 9-12.

Boutron C et Patterson C., 1993. Géochimie, cosmo chimie, EDACTA, Paris, p135.

Bowler C; Van Montagu M; Inzé D., 1992. Superoxide Dismutase and stress tolerance. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 43, pp 83-116.

Boyd B ;Ford C ;Koepe Michael C ;GaryK ;Horn E ;Mcanalley S; Mcanalley B., 2003. Etude pilote de l'effet antioxydant d'ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience*, 4(6) ,7p.

Bradford M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, p 248.

Bur T., 2008 . Impact anthropique sur les éléments traces métalliques dans les sols agricoles de Midi-Pyrénées (Implication en terme de limites et de charges critiques), thèse de doctorat de l'université de Toulouse, p12.

- Cabridenc R., 1994. La pollution par les métaux et leurs risques pour l'environnement ; apport de la spéciation à l'évaluation des risques toxiques des métaux pour l'homme et l'environnement, Masson, Paris, pp 157-164.
- Camargo JA., 2003. Fluoride toxicité to aquatique organism, Chemos, Vol 50, pp 251-264.
- Cap JN., Fowler D., et Davison A., 2003. Ecological effects of sulfur dioxide, fluoride, and minor air pollutants ; recent trends and research needs, Environ pollu.
- Chantal B., 2000. Toxicologie clinique, Ed, Flammarion medecine science, Paris, p638.
- Chappuis P., 1991 . Les oligo-éléments en médecine et en biologie, Ed Lavoisier.
- Coulon L ., 2005. Effet d'un hydro peroxyde lipidique et des LDL oxydées sur les enzymes impliquées dans les phospholipides plaquettaires. Univ de Lyon. p 194.
- Delattre J., 2005. Radicaux libres et stress oxydant. Tecdoc. Paris, p 620.
- Delfina M; Romero P; Maria C; Rios de Molina, Angela B. Juarez C., 2010. Oxidative stress induced by a commercial glyphosate formulation in a tolerant strain of *Chlorella kessleri*, Ecotoxicology and Environmental Safety.
- Demiral T; Türkan I, 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environ. Exp. Bot. 53, pp247-257.
- Deruelle ; Lallemand R., 1983. Les lichens témoins de la pollution, pp 4-71.
- Deruelle S., 1984. l'utilisation des lichens pour la détection de la pollution par le plomb, Bulletin d'écologie, Masson ; Paris, pp 105.
- Driouich A ; Ouassou A ; Bengueddoum R., 2001. Effect du NaCl sur l'activité phosphoénolpyruvate (PEPC) foliaire et son rôle sur la synthèse du malate et de la proline chez le blé dur (*Triticum durum desef*). Science lettres, vol.3.
- Durackova Z ; Djrolo F ; Hougbe H, Avode G ;Attoulou V ; Addra B ;Kodjoh N ; Avimadj M., 2008. Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. Mitochondrial medicine. Gvozdjakova A (ed), pp 19-43.
- Favier A., 2003. Le stress oxydant -Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique , pp 108-115.
- Franck C., 1992. Toxicologie; données générales, procédures d'évaluation, organes cibles, evaluation, p 65 .

Frankel E; Neff., 1983. Formation of malondialdehyde from lipid oxidation products. *Biochem.Biophys.Acta.* 754, pp 264-270.

Gama P ., 2010. Les glutarédoxines : de la réduction des peroxyrédoxines de type II aux systèmes d'assemblage des centres fer-soufre, These de doctorat. Université de Henri Poincaré, Nancy I , pp 21-24.

García-Limones C; Hervás A; Navas-Cortés J.A; Jiménez-Daíz R; Tena M., 2002. Induction of an antioxidant enzyme system and other oxidative stress markers associated with compatible and incompatible interactions between chickpea (*Cicer arietinum* L.) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Physiol Mol Plant Pathol*, 61, pp 325–337.

Garrec J, Van Haluwyn C., 2002. Biosurveillance végétale de la qualité de l'air : concepts, méthodes et applications, Lavoisier, Paris, ISBN : 2-7430-0540-8, p114.

GDS (Sous-direction de la gestion des risques des milieux), 2002: Les effets du plomb sur la santé, Paris.

Gonjion M., 2004. Publication de l'agence régionale de l'environnement ; Rouen. p 4.

Gutteridge., 1993. Free radicals in disease processes :A compilation of cause and consequence. *Fre radic Res Commun*,19: p 141.

Hadi M., 2004. La quercétine et ses dérivés-molécules a caractère prooxydant ou capteur de radicaux libres ;études et application thérapeutique, these présentée en vue de l'obtention du grade de docteur, université Louis pasteur, p155.

Halliwell B et J Gutteridge., 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford, Clarendon Press: 188-275.

Halliwell B., 2006. Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide. *TRENDS in biochemical sciences*. Vol 31. N°9, pp 509-515.

Hamilton E, Heckathon S., 2001. Mitochondrial adaptations to NaCl. Complex I is protected by anti-oxidants and small heat shock proteins, whereas complex II is protected by proline and betaine. *Plant Physiol*, 126, pp 1266-1274.

Haton C.,2005. Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat, univ de Pierre Curie. p 168.

Havaux M; Dall'osto L; Bassi R., 2007. Zeaxanthin has enhanced antioxidant capacity with respect to all other xanthophylls in *Arabidopsis* leaves and functions independent of binding to PSII antennae. *Plant Physiol*, 145(4), pp 1506- 1520.

Hellmann H; Funck D; Rentsch D; Frommer W., 2000. Hypersensitivity of an *arabidopsis* sugar signaling mutant toward exogenous proline application. *Plant physiology*, vol. 122, pp 357-367.

- Isnard H., 1994. Toxicité du plomb et saturnisme infantile, Dunod, Paris.
- Jan w., Sheffield A., 1993 : Inventaire national des sources et des émissions de plomb, Rapport SPE, Canada, p336.
- Keck G ; Vernus E., 2006. Déchets et risques pour la santé, Institut national des sciences appliquées (INSA), Lyon.
- Khaldi F; Djebar H; Rouabhi R., 2009. Cellular Response of a Pollution Bioindicator Model (*Ramalina farinacea*) Following Treatment with Fertilizer (NPKs), American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences 1 (2), pp 69-73.
- Laberche JC., 2010. Biologie végétale, Dunod, Paris, 3eme édition, pp 43-44, ISBN 978-2-10-054840-8SW.
- Lee D; Kim Y; Lee C., 2001. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). *J Plant Physiol*, 158, pp 737-745.
- Le pape H ., 2003. Etude des propriétés germicides des fibres de carbone active ; application à la décontamination de l'air en cabine de l'avion. These de doctorat, univ de Limoges. pp 208.
- Lichtenthaler H., 1987. Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthesis biomembranes, *Methods Enzymol*, 148, pp 350–382.
- Lignowski E; Splittstoesser W., 1971. Arginine synthesis, proline synthesis and related process. In John et Thompson (Eds): *The Biochemistry of plants*, 25, pp 225-229.
- Loppi S; Pisani T , Munzi S, Paoli L, Bac̣kor M., 2009. Physiological effects of a geothermal element: Boron excess in the epiphytic lichen *Xanthoria parietina* (L.) TH. FR. *Chemosphere* 76 , pp 921–926.
- Louis, 1993. *Biologie végétale*. pp 91.
- Luttge U, Kluge M, Bhur G., 1996. *Botanique*, Masson, Paris, pp 30-31.
- Machenzi A., Ball As. Et Virdee S., 2000. *L'essentiel en écologie*, Ed , Berti, pp 327-336.
- Maizi N ; Alioua A ; Tahar A ; Semad F ; Fadel D., 2010. Utilisation des végétaux inférieurs comme bio indicateurs de la pollution plombique d'origine automobile dans la région de Annaba (Algérie). *Environnement Science*, pp 251-266.
- Manahan S., 2005. *Environmental chemistry*. Floride, États-Unis, CRC press LLC.
- Masclet P., 2005. *Pollution atmosphérique – causes, conséquences, solutions, perspectives*, Ellipses, Paris, pp 15-156, ISBN 2-7298-2286-6.

- Matamoros M; Dalton D; Ramos J; Clemente M; Rubio M; Becana M., 2003. Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobia-legume symbiosis. *Plant Physiol*, 133, pp 449-509.
- Milen J et ebel T., 2000. Royal botanic, Maloine, Paris. pp 7,8.
- Monk S; Fagerstedt K; Crawford R, 1989. Oxygen toxicity and Superoxide Dismutase as an antioxidant in physiological stress. *Physiol Plant*, 76, pp 456-459.
- Monnet F; Bordas F; Deluchat V; Baudu M, 2006. Toxicity of copper excess on the lichen dermatocarpon luridum: antioxidant enzyme activities, *Chemosphere* 65, pp 1806– 1813.
- Morel Y et Barouki R., 1999 .Repression of gene expression by oxidative stress, *Biochem J*.342(3), 481-495.
- Morris L; Thompson J; Johnson C., 1969. Metabolism of glutamic and N-acetyl glutamic.
- Munzi S ; Pirintsos S ; Kotzabasis K ; Loppi S., 2009. Do polyamines alter the sensitivity of lichens to nitrogen stress?. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 1331–1336.
- Myara J., 2002. Veillissement et stress oxydant. Capacite de gerontologie cours de 1ere année, Laboratoire de biochimie, Hopital Chares Foix (Ivrey).
- Novelli G., 1997.Role of free radicals in septic shock.*J physiol pharmùacol*,48, 517-527.
- Nriagu J., 1990: "Global Metal Pollution: Poisoning the Biosphere.", *Environment ENVTAR*, N0=32(7), pp 7-11.
- Ozenda P et Clauzade G., 1970. Les lichens, etude biologique et flore illustrée. Ed. Masson, Paris, 808 p.
- Ozenda P., 2000. Les végétaux : organisation et diversité biologique, Dunod, Paris, 2eme édition, pp 191-192, ISBN 2-7298-9.
- Ozenda P., 2006. Les végétaux (Organisation et diversité biologique), Dunod, Paris. p 169.
- Pais I et Benton J., 2000."The handbook of Trace Elements". Boca Raton, FL, St. Lucie Press 223 p.
- Pardha Saradhi P; Alia-Arora S; Prasad KV., 1995. Proline accumulate in plants exposed to UV radiation and protects them against UV induced peroxidation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 209, pp 1-5.

- Popescu M ; Blinhard., JM ; Carre J., 1998 . Analyse et traitement physico-chimiques des rejets atmosphériques industriels ; émissions, fumées, odeurs et poussières, Ed, masson, pp12-120.
- Pourrut B., 2008. Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*, doctorat de l'université de Toulouse.p 16-70.
- Ramade F., 2000. Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement, Ediscience, Paris
- Raven P; Ever R; Eichhorn S., 2003. Biologie végétale. ,boeckh, pp 944, ISBN 2-7445-0102-6.
- Raven E; Lad L; Sharp K; Mewies M; Moody P, 2004. Defining substrate specificity and catalytic mechanism in ascorbate peroxidase. *Biochem Soc Symp*(71), pp 27-38.
- Rayapati PJ; Stewart C., 1991. Solubilization of proline dehydrogenase from maize (*Zea mays* L.) mitochondria. *Plant Physiol*, 95, pp 787-791.
- Roland D et Vian B., 1999. Biologie végétale, Dunod, Paris, p 46.
- Rouabhi R ; Djebar H ; Djebar M; Khaldi F., 2009. Cellular Response of a Pollution Bioindicator Model (*Ramalina farinacea*) Following Treatment with Fertilizer (NPKs). © IDOSI Publications, American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences 1 (2): 69-73, ISSN 2079-2050.
- Sanmartin M; Pateraki I; Chatzopoulou F; Kanellis A., 2007. Differential expression of the ascorbate oxidase multigene family during fruit development and in response to stress. *Planta*, 225(4), pp 873-885.
- Semadi A et Cormis., 1986. Influence de la pollution atmosphérique fluorée sur la végétation d'Annaba. *Pollut atmosph*, janvier-Mars, 24-36.
- Semadi A., 1989. Effets de la pollution atmosphérique -pollution globale, fluorée, plombique sur la végétation dans la région de Annaba (Algérie). Thèse de Doctorat d'Etat en Science Nat. Université P. et M. Curie (Paris 6), pp 339.
- Serussiaux E ; Diederich P ; Lambinon J., 2004. Les macrolichens de Belgique, du Luxembourg du nord de la France .*Ferrantia* 40, 192 p.
- Sharma S; Dietz K., 2006. The significance of amino acids and amino-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *J. Exp. Bot.* 57 : pp 711-726.
- Sharmila P; Pardha Saradhi P., 2002. Proline accumulation in heavy metal stressed plants : An adaptative strategy. In : *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*. Prasad M.N.V. et Strzalka K. (Eds), pp 179-199.

Shen B; Ricard G; Hans J, 1997. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plant by targeting mannitol biosynthesis to chloroplasts. *Plant Physiol*, 113, pp 1177-1183.

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

Sposito G., Lund LJ., et Chang AC., 1982. "Trace Metal Chemistry in Arid-zone Field Soils Amended with Sewage Sludge; Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd, and Pb in Solid Phases." IN: *Soil Science Society American Journal*, N0 = 46(2), pp 260-264.

Stewart C; Bogges F; Aspinall D; Paleg I., 1977. Inhibition of proline oxidation by water stress. *Plant Physiol.*, 59, pp 930-932.

Takahashi S; Murata N., 2008. How do environmental stresses accelerate photoinhibition? *Trends Plant Sci* 13, pp 178-182.

Taulavuori K ; Prasad M; Taulavuori E; Laine K., 2005. Metal stress consequences on frost hardiness of plants at northern high latitudes : A review and hypothesis. *Environ Pollut.* 135, pp209-220.

Toppi D et Gabbriel R., 1999. Reponse to cadmium in heigher plants. *Enviromental and Experimental Botany.* 41: 105-130.

Uzu G., 2009. Spéciation, transfert vers les végétaux et approche toxicologique des émissions atmosphériques d'une usine de recyclage du plomb, *Biogéochimie de l'environnement*, thèse de doctorat de l'université de Toulouse, p11.

Van Haluwyn C ; Lerond M., 1986. Les lichens et la qualité de l'air : évaluation méthodologique et limite, *Ministere de l'evironnemen, Sretie, Paris.*

Vansant G, 2004. Radicaux libres et antioxydants-principe de base.Symposium – antioxydant et alimentation. *Institut Danone.*

Vavilin D; Ducruet J; Matorin D; Venediktov P; Rubin A., 1998. Membrane lipid peroxidation, cell viability and Photosystem II activity in the green alga *Chlorella pyrenoidosa* subjected to various stress conditions. *J. Photochem. Photobiol.* 42, pp 233–239.

Willekens H; Chamnongpol S ; Davey M; Schraudner M; Langebartels C; Montagu M; Inzé D ; Camp W ., 1997. "Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C3Plants." *The EMBO Journal* 16: 4806-4816.

Zaafour M., 1992. Incidence de la pollution atmosphérique d'origine industrielle sur la biologie et la physiologie de la reproduction de poirier commun, *Thèse de magister de l'université d'Annaba, Algerie.*

Zhu J., 2001. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci.* 6, pp 66

Annexes

Tableau 1 : Variations des teneurs en chlorophylle totale (a+b) chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par le plomb.

[Pb(NO₃)₂] Tps	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	554,181±10,084	437,74±17,549	383,424±8,967	295,598±14,277	143,578±10,3
24h	524,161±10,784	313,85±12,919	307,702±4,989	265,31±10,535	120,511±9,92
48h	527,38±17,738	287,603±12,997	233,059±21,128	195,874±7,009	105,587±2,33
96h	511,074±1,691	224,106±11,777	206,039±10,806	145,872±10,861	97,155±8,497

Tableau 2 : Variations des teneurs en chlorophylle totale chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par le fluor.

[NaF] Tps	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	554,181±10,084	494,682±15,277	402,796±5,642	315,572±8,351	213,512±10,071
24h	524,161±10,784	350,781±17,585	309,049±4,416	214,194±9,839	156,682±12,233
48h	527,38±17,738	318,167±5,456	257,661±17,613	224,672±8,078	107,595±3,496
96h	511,074±1,691	255,158±11,681	204,521±7,844	141,772±11,082	98,426±9,823

Tableau 3 : Variations des teneurs en phaeophytine totale (a+b) chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par le plomb.

[Pb(NO₃)₂] Tps	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	55,882±3,133	69,974±0,929	95,801±2,373	116,627±4,323	55,882±7,727
24h	54,652±4,078	93,518±1,631	123,103±5,085	146,502±10,895	54,652±8,244
48h	56,224±1,169	117,789±10,537	149,381±3,57	204,465±3,988	56,224±2,037
96h	55,512±1,224	181,325±14,435	245,827±5,007	282,481±5,1	55,512±11,655

Tableau 4 : Variations des teneurs en phaeophytine totale (a+b) chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par le fluor.

Tps \ [NaF]	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	55,882±3,133	66,113±1,28	85,791±1,28	92,639±2,855	108,784±10,59
24h	54,652±4,078	84,421±2,742	139,707±2,742	214,062±6,754	243,288±16,282
48h	56,224±1,169	104,454±7,584	155,914±7,584	204,38±2,12	251,53±7,587
96h	55,512±1,222	155,841±4,441	183,551±4,441	222,118±8,711	267,244±5,402

N.B : Les teneurs en chlorophylle totale et phaeophytine totale sont exprimées en $\mu\text{g/g}$ de lichen frais.

Tableau 5 : Variations des teneurs en MDA chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par le plomb.

Tps \ [Pb(NO ₃) ₂]	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	72,68±38,28	115,68±9,15	138,92±47,44	161,706±39,16	242,56±10,24
24h	116,55±28,04	128,16±12,93	160,42±49,91	220,63±29,76	279,13±9,51
48h	105,36±16,64	169,22±7,82	204,286±32,68	272,24±13,08	307,94±17,51
96h	94,56±31,44	175,04±13,23	244,293±24,55	296,33±17,18	341,06±39,9

Tableau 6 : Variations des teneurs en MDA chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par le fluor.

Tps \ [NaF]	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	72,68±38,28	112,12±6,82	127,30±33,18	159,56±51,45	239,98±14,54
24h	116,55±28,04	139,77±46,09	138,053±8,05	197,84±27,74	263,64±6,49
48h	105,36±16,64	142,35±39,40	193,54±54,39	214,61±69,68	247,3±32,81
96h	94,56±31,44	164,72±27,80	209,88±48,90	262,34±14,97	277,41±27,58

N.B : Les teneurs en MDA sont exprimées en $\mu\text{mol.g}^{-1}$ de lichen frais.

Tableau 7 : Variations des teneurs en proline chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par le plomb.

[Pb(NO₃)₂] Tps	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	127,32±9,23	142,66±3,05	155,32±3,46	165,332±	173,33±6,11
24h	142±12,63	151,33±1,15	159,332±1,15	168,66±	182±7,21
48h	152±9,16	164±2	172±5,03	183,332±	206±7,21
96h	150±9,16	178±4	194,66±6,42	230,66±	262,66±20,13

Tableau 8 : Variations des teneurs en proline chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par le fluor.

[NaF] Tps	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	127,3±9,23	118±5,29	131,32±12,05	157,33±7,57	164,66±4,16
24h	140±12,63	119,33±5,29	133,32±12,05	155,3±7,57	170±4,16
48h	152±9,16	141,32±8,08	160±5,29	166,66±4,16	178,6±9,45
96h	150±9,16	160±7,21	164,66±2,30	184,66±8,32	209,3±3,05

N.B : Les teneurs en proline sont exprimées en µg/g de lichen frais.

Tableau 9 : Variations des teneurs en protéines chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par le plomb.

[Pb(NO₃)₂] Tps	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	35,124 ±3,161	32,186 ±1,043	27,537 ±1,480	20,371 ±5,098	13,065 ±7,668
24h	31,163 ±1,480	24,867 ±4,064	22,338 ±3,601	17,140 ±1,287	11,239 ±1,480
48h	30,066 ±2,121	23,181 ±1,519	18,826 ±0,643	13,487±1,686	8,007 ±1,519
96h	30,206 ±3,163	15,032 ±0,877	12,222 ±1,114	7,867 ±1,900	4,079 ±2,079

Tableau 10 : Variations des teneurs en protéines chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par le fluor.

[NaF] Tps	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	35,124 ±3,161	33,438 ±2,575	30,488 ±3,345	25,43 ±1,705	17,843 ±1,287
24h	31,163 ±1,480	26,975 ±1,931	23,041 ±3,163	17,562 ±2,99	11,099 ±2,079
48h	30,066 ±2,121	25,149 ±3,634	22,479 ±0,353	16,859 ±5,303	9,553 ±2,54
96h	30,206 ±3,163	21,215 ±2,96	18,826 ±1,061	10,115 ±2,632	7,165 ±1,46

N.B : Les teneurs en protéines sont exprimées en mg/g de lichen frais.

Tableau 11 : Variations des teneurs en catalase chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par le plomb.

[Pb(NO ₃) ₂] Tps	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	8,469±2,92	16,264±3,355	22,493±10,859	32,355±18,402	49,749±26,783
24h	9,006±4,385	21,22±8,667	27,055±6,053	40,376±15,716	54,323±13,5
48h	9,888±5,738	32,068±14,173	45,732±28,315	53,879±21,584	59,447±30,708
96h	9,721±2,475	39,129±23,506	51,446±12,143	66,027±6,605	83,698±17,624

Tableau 12 : Variation des teneurs en catalase chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par le fluor.

[NaF] Tps	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	8,469±2,92	13,701±3,548	18,74±10,837	27,294±13,962	36,2±15,788
24h	9,006±4,385	18,791±12,676	22,887±17,547	34,209±13,014	42,101±15,561
48h	9,888±5,738	28,999±7,54	35,438±8,578	43,299±18,496	53,25±21,222
96h	9,721±2,475	29,24±8,712	47,15±11,077	61,958±10,069	82,406±14,771

N.B : Les teneurs en catalase sont exprimées en UI/g de protéines.

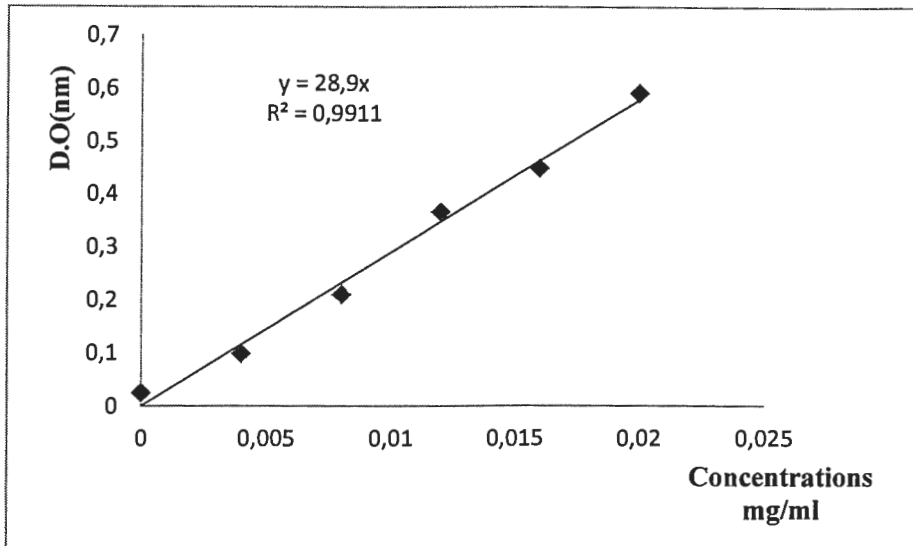


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de la proline

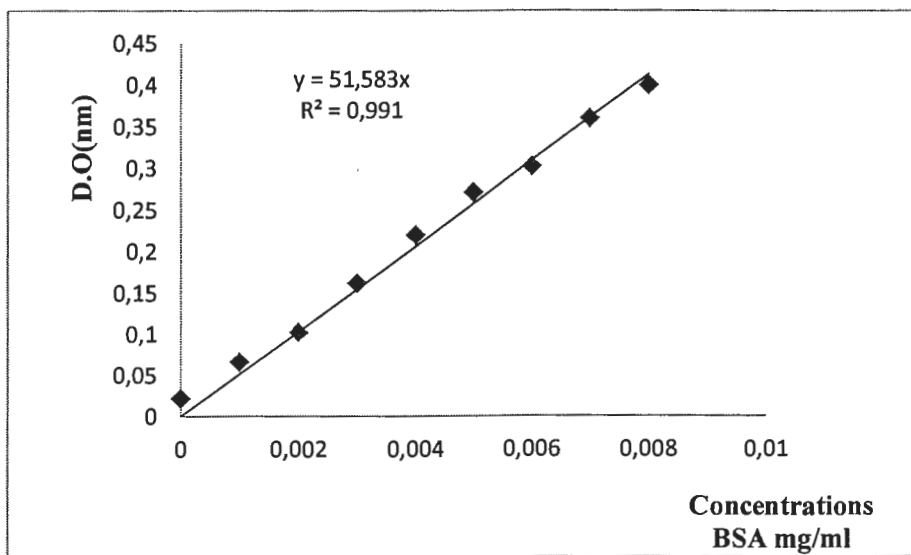


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des protéines

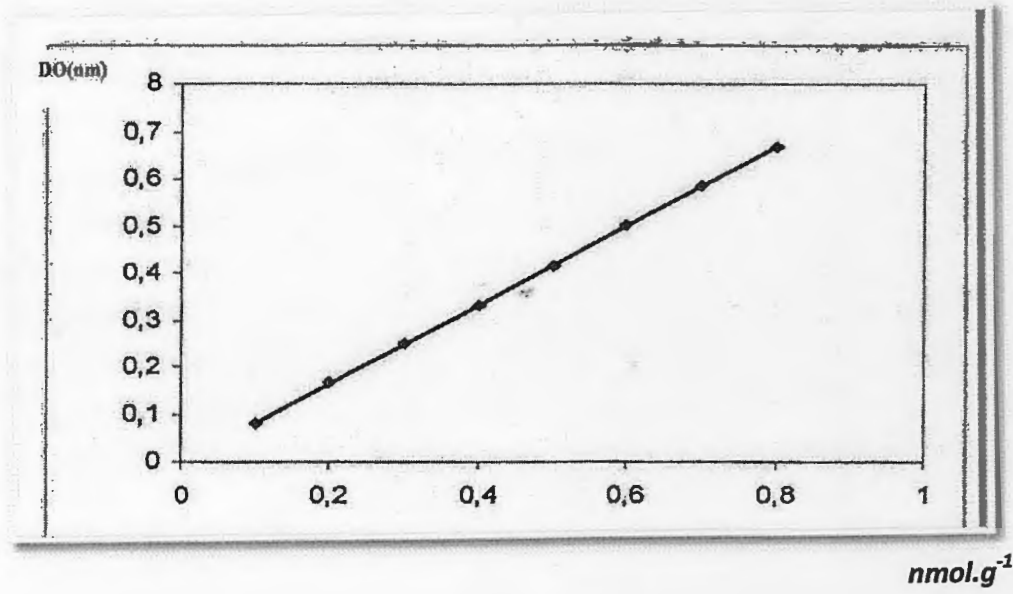


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de l' MDA avec 1, 1, 3,3tetraethoxypropane

Réalisé par : Chennouf Sara Derbak Hanane	Encadreur : M^{me} Benhamda W Date de soutenance : 02/07/2012
Thème : Etude du stress oxydatif provoqué par le plomb et le fluor chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i>	
Résumé : <p>Dans notre travail on s'est intéressé aux effets de deux polluants, plomb et fluor, sur les différents paramètres de stress chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i>, et ceci par traitement des thalles du lichens par le nitrate du plomb $Pb(NO_3)_2$ et au fluorure de sodium (NaF) solubles dans l'eau à des concentrations différentes (0, 0,5, 1, 5, 10mM) dans une échelle du temps déterminée(0, 24, 48, 96heure).</p> <p>Les résultats des analyses obtenus des différents dosages (chlorophylle, phaeophytine, MDA, proline, protéines et catalase) ont montré que le plomb et le fluor agissent sur ses différents paramètres, et que l'intensité du stress oxydant observée chez le lichen varie en fonction de la concentration, le temps du traitement et le type du polluant.</p> <p>Mots clés : Plomb, fluor, lichen, <i>Xanthoria parietina</i>, paramètres de stress oxydant.</p>	
Abstract: <p>In our work we were interested about the effects of two pollutants, lead and fluorine on the various parameters of stress in the lichen <i>Xanthoria parietina</i>, and this by treating the lichen thalli by the lead nitrates $Pb(NO_3)_2$ and fluoride of sodium (NaF) solubles in water at different concentrations (0, 0.5, 1, 5, 10 mM) in a determined time scale (0, 24, 48, 96 hours).</p> <p>The analysis results obtained from different assays (chlorophyll, phaeophytin, MDA, proline, protein, and catalase) showed that, lead and fluorine have an action on the various parameters study, the intensity of oxidative stress observed in lichens thalli depends on the concentration, treatment time and the type of pollutant.</p> <p>Key words: lead, fluorine, lichen, <i>Xanthoria parietina</i>, oxidative stress parameters.</p>	
<p style="text-align: right;">ملخص :</p> <p>من خلال دراستنا هذه اهتمنا بدراسة آثار ملوثين، الرصاص والفلور على مختلف معاملات التوتر عند الأشنة <i>Xanthoria parietina</i> عن طريق معالجة جهازها النباتي بتركيزات الرصاص $Pb(NO_3)_2$ و فلوريد الصوديوم (NaF) المنحلين بتركيز مختلفة في الماء (0، 0.5، 1، 5، 10 mM) خلال مدة زمنية محددة (0، 24، 48، 96 ساعة).</p> <p>نتائج التحاليل المتحصل عليها من مختلف الفحوصات (الكوروفيل، فيوفيتين، MDA، البرولين، البروتينات، الكاتالاز) أظهرت أن مادتي الرصاص والفلور تؤثران على هذه المعايير، وان شدة الإجهاد التأكسدي عند الأشنة تتغير باختلاف التركيز، مدة التعرض للملوث ونوع الملوث.</p> <p>الكلمات المفتاحية: الرصاص، الفلور، أشنة، <i>Xanthoria parietina</i>، معاملات الإجهاد التأكسدي.</p>	