République algérienne démocratique et populaire
Ministre de l'enseignement supérieur
et de recherche scientifique

Université de Jijel
Faculté des Sciences exactes
et de la nature et la vie
Département d'Ecologie
& Environnement

جامعة جيجل
كلية العلوم الدقيقة
الطبيعة و الحياة
قسم علم البيئة
و المحيط

Eco. 24/09
1/1

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme d'Etude Supérieures

(D.E.S)

Option : Biophysiologie Végétale

Thème :

Contribution à l'étude du rôle des métabolites secondaires dans la résistance des plantes au stress oxydatif

Jury :

Président: Lekroun. Z

Examinateur : Khennouf. H

Encadreur : Lemzeri. H

présenté par :

-Bougherra Saliha

- Boufligha Nassiha

Session : juin 2009

الاستاذة لعزوز زهرة

Remerciements

Merci à la plus grande puissance « Dieu ».

Merci au tout puissant qui nous a donné la force, la volonté et le courage pour accomplir ce modeste travail.

A l'égart de notre promoteur Melle Lemzeri. H, pour son aide illimitée, son orientation, sa disponibilité, ses précieux conseils et ses encouragements qui nous a pris à mener bien ce travail.

Nos remerciements vont aux membres de jury pour nous avoir honorés en acceptant de juger notre modeste travail.

Nous présentons notre entière reconnaissance à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation.

Nos remerciements à tous ceux qui nous ont témoignés un soutien moral inégalable lors de la réalisation de ce travail.

Nous remercions le personnel de la bibliothèque qui a mis à notre disposition la documentation nécessaire pour accomplir ce travail.

Enfin, un grand MERCI s'adresse à nos collègues qui ont gratifié d'un entourage de travail bien plaisant, et qui n'ont ménagé aucun effort pour nous encourager.

جامعة جيجل
مكتبة الكلية

SOMMAIRE

Introduction 1

Chapitre I: Les métabolites secondaires 2

I-1 Définition des métabolites secondaires 2

I-2 Types et origines des métabolites secondaires 2

I-2 -1 Les terpènes 2

I-2 -1-1 Caractérisation 2

I-2 -1-2 Classifications des terpénoides.....3

I-2 -1-3 La Biosynthèse des terpènes.....3

I-2 -2 Les alcaloïdes 5

I-2 -2-1 Caractérisation 5

I-2 -2-2 Classification 5

I-2 -2-3 La biosynthèse des alcaloïdes 6

I-2-3 Les composés phénoliques 6

I-2-3-1 Caractérisations 6

I-2-3-2 Classification 7

I-2-3-3 La biosynthèse des molécules phénoliques 7

I-2-3-3-1 Voie de l'acide shikimique 7

I-2-3-3-2 Voie acétate 8

I-2-3-4 Fonction des métabolites secondaires 10

I-2-3-5 Réponses allélopathiques 11

Chapitre II : II Le stress oxydatif 13

II-1 Définition du stress oxydatif 13

II-2 Les radicaux libres de la biologie 13

II-2-1 Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) 14

II-2-2 Le rôle des radicaux libres 15

II-3 Le contrôle des radicaux libres par la cellule 16

II-4 Les conséquences du stress oxydant 17

II-4-1 Oxydation des lipides 17

II-4-2 Oxydation de l'ADN 18

II-4-3 Oxydation des glucides 19

II-4-4 Oxydation des protéines 19

II-5 Les anti–oxydants 20

II-5-1 Définition 20

II-5-2 Classification des antioxydants 20

II-5-2-1 Anti–oxydants enzymatiques 21

II-5-2-1-1 Les superoxydes dismutase (SOD) 21

II-5-2-1-2 Les peroxydases (POX) 21

II-5-2-1-3 La catalase 22

II-5-2-1-4 La glutathion peroxydases 23

II-5-2-1-5 Les mécanismes de défenses enzymatiques 25

II-5-3 Les anti–oxydants non enzymatique 31

II-5-3-1 La vitamine C 31

II-5-3-2 La vitamine E 31

II-5-3-3 Les caroténoïdes 31

II-5-3-4 Les polyphénols 32

II-5-4 Le rôle des métabolites secondaires dans la résistance des plantes aux stress oxydatif 32

Conclusion 37

جامعة جيجل
مكتبة الكلية

LA LISTE DES FIGURES

Figure 1: Structure d'un groupe phénol 07

Figure 02: le rôle central de la voie de shikimate dans la synthèse des métabolites primaries et secondaires, PAL: phénylalanine ammonia lyase. CS: chalcone synthase 10

Figure 03 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie .....14.

Figure 04: Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques 16

Figure 05: Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés 18

Figure 06 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules 19

Figure 07: Stratégie de conception de systèmes antioxydants suxeptibles de prévenir la formation de radicaux libres oxygénés ou de permettre leur destruction 20

Figure 08: L'élimination de peroxyde d'hydrogène par la catalase 23

Figure 9: Réduction des espèces actives de l'oxygène par les enzymes antioxydants 23

Figure 10: Répartition subcellulaire du glutathion et des enzymes antioxydantes avec les Inhibiteurs 24

Figure 11: cycle ascorbate-glutathion 24

Figure 12: Représentation de la production et des voies de struction des espèces active de l'oxygène dans les tissus végétaux.....26

Figure 13: Variation de l'activité de la catalase (U.C./g/min) au cours du processus de germination des grains de blé (Triticum aestivum) traités avec différentes concentrations de nitrates 28

LA LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 01 Liste des principales classes de terpénoïdes..... 03

TABLEAU 02 Les principales classes d'alcaloïdes..... 05

TABLEAU 03 Les composés phénoliques les plus importants
et groupe de substances correspondant..... 07

TABLEAU 04 Différents mécanismes des systèmes antioxydants..... 25

Introduction

Introduction

Les plantes sont constamment soumises à des variations environnementales. Ces changements peuvent engendrer un stress qui modifie l'homéostasie cellulaire par la production de formes réactives de l'oxygène. L'accumulation phytotoxique de ces différents radicaux oxygénés peut entraîner la mort de la plante ; cependant, ils ont récemment été identifiés comme des facteurs essentiels de la réponse au stress et leur rôle comme messager secondaire est maintenant clairement établi. Leur implication dans la régulation de l'expression génique a aussi permis de démontrer leur rôle d'inducteurs de la mort cellulaire programmée, mort génétiquement contrôlée que l'on retrouve non seulement dans les processus développementaux, mais également typiquement observée dans la réponse au stress.

Le stress oxydatif est une réponse commune à divers stress biotique et abiotique tels les stress thermiques, les fortes expositions à la lumière, la sécheresse, le choc osmotique, les blessures, l'exposition aux métaux lourds, aux radiations UV, aux polluants aériens tels que l'ozone et le SO_2, les stress mécaniques, les carences en nutriments et les attaques des pathogènes. Une meilleure compréhension des bases moléculaires et des mécanismes de régulation impliqués dans la tolérance à ces stress permettra de développé des stratégies pour mieux préparer les plantes à confronter ces stress.

Les végétaux ont la particularité de présenter un important métabolisme secondaire, ils synthétisent des substances chimiques, qui sont souvent spécifiques d'un groupe taxonomique particulier et qui ne paraissent jouer aucun rôle dans le métabolisme primaire, ces métabolites secondaires sont, soit des produits terminaux ou des déchets du métabolisme, soit des substances de réserves manifestant une mobilisation réorientée (Gerhard, 1993).

Notre recherche bibliographique s'inscrit dans une approche visant à déterminer la participation du métabolisme secondaire chez les plantes en générale dans les résistances induites aux stress de l'environnement. Elle localise en particulier le rôle des métabolites secondaires dans la résistance des plantes aux stress oxydatif. Cet exposé tentera de décrire quelques exemples qui vont révéler la complexité chimique afin de mieux comprendre les stratégies de défense des plantes pour en accroître leur durabilité.

Chapitre 1

Les métabolites secondaires

Chapitre I: Les métabolites secondaires

I-1 Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules qui forme de nombreux composés dont le rôle, au niveau de la plante est mal connu, le fait que ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces indique qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général et qu'ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal (Guignard, 2000). Se sont des substances chimiques, souvent spécifiques d'un groupe taxonomique particulier et que ne peuvent jouer aucun rôle dans le métabolisme primaire, ces métabolites secondaires sont soit des produit terminaux ou des déchets du métabolisme, soit des substances de réserve manifestant une mobilisation réorientée. Pour de rares composés, une fonction précise par exemple en tant que pigment, phytohormone, substance de défense (phytoalexine), substance de signal (pollinisation par insectes) ou précurseur de synthèse, était mise en évidence. Les métabolites secondaires des plantes trouvent leur origine dans les produits du métabolisme des glucides, des lipides et des acides aminés (Gerhard, 1993).

I-2 Types et origines des métabolites secondaires

On peut identifier trois grandes familles des métabolites secondaires

- Les Terpènes
- Les Alcaloïdes
- Les composés phénoliques

I-2 -1 Les terpènes

I-2 -1-1 Caractérisation

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbone (Hopkins, 2003).

Elaborés à partir des mêmes précurseurs, les terpénoïdes et les stéroïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux, la très grande majorité des terpènes sont spécifiques du règne végétale mais on peut les rencontrer chez les animaux (Bruneton, 1993). Les terpènes peuvent être considérés comme des dérivés de l'isoprène : ce sont des isoprénoïdes (Guignard, 2000).

Selon le nombre d'unité isopréniques qui les constituent on distingue : les terpènes proprement dits ou monoterpènes en C_{10}, les sesquiterpènes en C_{15}, les diterpènes en C_{20}, les triterpènes en C_{30}, les tétraterpènes en C_{40}, et les polyterpènes. Les stéroïdes sont des triterpènes, les caroténoïdes sont des tétraterpénènes (Guignard, 2000).

La famille des terpènes comprend des hormones (gibbérellines et acide abscissique), des pigments caroténoïdes (carotène et xanthophylle) des stérols (ergostérol, cholestérol), des dérivés de stérols (par exemple des hétérosides digitaliques), le latex (qui est à la base du caoutchouc naturel), ainsi qu'une grande partie des huiles essentielles qui confèrent aux plantes leur parfum ou leur goût (Hopkins, 2003).

I-2 -1-2 Classifications des terpénoïdes

Ils sont distingués dans différentes classes selon le nombre d'unités isopréniques qu'ils contiennent.

Tableau 01 : Liste des principales classes de terpénoïdes, (Hopkins, 2003).

Nombre de carbone	Classe	Exemple
5	Hemiterpenoïde	Acide tiglique (geranium)
10	Monoterpenoïde	Géraniol (pelargonium)
10	Monoterpenoïde cyclique	Menthol (essence de menthe)
15	Sesquiterpenoïde	Farnésol (très répandu)
20	Diterpenoide	Phytol (chlorophylle)
30	Triterpenoide	Squalène (précurseur de stéroide)
30	Triterpenoide	Stigmastérol
40	Tetraterpenoide	B–carotène

I-2 -1-3 La Biosynthèse des terpènes

Malgré leur diversité, tous les terpènes ainsi que leurs dérivés, possèdent en commun une voie de biosynthèse appelée de par l'intervention d'un intermédiaire clé, voie de l'acide mévalonique. Les composés et les dérivés terpéniques peuvent êtres considérés en tant que polymères du 5carbone 2 –méthyle-1,3butadiène ou isoprène.

CH2=C2H3-CH=CH2

Par conséquent les composés terpéniques sont souvent désignés par le terme de composés isopréniques. En fait les unités qui constituent les composés terpéniques ne sont cependant pas de vrais isoprènes, mais deux dérivés phosphoryles appelés : isopentenyl-diphosphate ou « isoprène actif » et sont isomère : diméthyl-allyl-diphosphate.

La biosynthèse des composés terpéniques débute à l'acétyl-coenzymeA (acétyle-COA). Un intermédiaire du catabolisme respiratoire des glucides et des acides gras. Trois molécules d'acétyle-COA se condensent lors d'une réaction en deux temps pour former le : 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-COA (HMG-GOA), qui est par la suite transformé en acide mévalonique (MVA).

Comme la réaction du HMG-COA en MVA est pratiquement irréversible. MVA est un précurseur efficace des terpènes. MVA subit ensuite une phosphorylation en deux temps qui utilise deux molécules d'ATP formant ainsi une molécule en C6.

Le mévalonate (MVA.PP) une décarboxylation transforme le MVA.PP en un composé en C5. L'isopentenyl-diphosphate qui par isomération réversible forme du diméthylallyl-diphosphate.

Une molécule de di méthylallyl-diphosphate subit ensuite une condensation « tête à queue » avec une molécule de l'isopentenyl-diphosphate formant une unité en C10 : le géranyl -diphosphate(GPP) qui est à l'origine de tous les mono terpènes. Deux condensations supplémentaires donnent d'abord naissance à un intermédiaire en C15 le farnésyl -diphosphate (FPP) puis au géranyl-géranyl-diphosphate (GGPP) qui est composé en C20, le FPP est situé à un carrefour qui peut conduire à la production de composés en C15, les sesquiterpènes parmi les-quels on peut trouver l'acide abscissique et à des triterpènes (par exemple : les stéroïdes). GGPP est une constituante majeure donnante naissance à des C20 linéaires : les diterpènes (par exemple : le phytole) à diterpène cyclique (par exemple : les gibbérellines) et à des composés en C40, les tétraterpènes (par exemple : les caroténoïdes).

De nombreux composés et dérivés terpéniques peuvent êtres considérés comme métabolites primaires. Des hormones; l'acide abscissique et les gibbérellines, les pigments caroténoïdes et chlorophylliens, ainsi que le stérol joue tout un rôle important dans la croissance et le développement des plantes. Cependant la grande majorité des

composés terpéniques sont des métabolites secondaires et semblent agir comme toxines ou comme agents de dissuasion vis-à-vis des insectes herbivores (Hopkins, 2003).

I-2 -2 Les alcaloïdes

I-2 -2-1 Caractérisation

Les alcaloïdes forment une grande famille très hétérogène de métabolites secondaires qui présentent un intérêt de par leurs propriétés pharmacologiques et leurs applications en médecine.

Les alcaloïdes sont solubles dans l'eau. Caractérisés par la présence d'au moins un atome d'azote activité qui accepte souvent un proton ce qui leur confère un caractère légèrement basique en solution. Dans leur grande majorité, les alcaloïdes sont hétérocycliques, bien que quelques composés azotés aliphatiques comme la mescaline et la colchicine soient parfois classées dans les alcaloïdes, globalement il est recensé quelque 10.000 alcaloïdes dans à peu prés de 20% des plantes à fleurs essentiellement des dicotylédones herbacées.

Le mot « alcaloïde » est pratiquement synonyme du mot « drogue » 10 des 20 drogues qui ont pour origine une plante et qui sont commercialement les plus importantes (morphine et codéine sont contenues dans le latex du pavot), poisons (la ciguë).

(Balandrin et al, 1985).

Le rôle biologique des alcaloïdes est essentiellement celui de phogodéterrants : leur amertume et leur toxicité repoussent les herbivores (Guignard, 2000).

I-2 -2-2 Classification

Tableau 02: Les principales classes d'alcaloïdes (Hopkins, 2003).

Classe d'alcaloïde	exemple	Autre composés
Quinoléine	Quinine	
Isoquinoléine	Papavérine	Morphine, codéine, berbérine
Indol	Vindoline	Vinbalastine ,réseprine , strychnine
Purrolizidine	Sénécionine	Rétrosine
Quinolizidine	Lupinine	Cytizine
Tropane	Atropine	Scopolamine, cocaïne
Pipéridine	nicotine	Coniine
Purine	Caféine	

I-2 -2-3 La biosynthèse des alcaloïdes

Le précurseur pour les alcaloïdes vrais est un acide aminé : ornithine, lysine, phénylalanine, tyrosine, tryptophane, histidine, acide anthranilique. La formation du système hétérocyclique passe généralement par un processus inter–ou intramoléculaire simple : formation d'une base de Schiffer ou, fréquemment réaction de Mannich, on remarquera que la formation de l'alcaloïde peut nécessiter l'intervention d'une seule molécule d'acide aminé (hygrine, cathine) du même acide aminé (quinolizidines, benzylisoquinoléines), plus rarement de deux acides aminés différents (tubulosine) ou de plusieurs molécules identiques (spartéine). Quand la molécule comporte des carbones supplémentaires, ils sont apportés par des éléments largement impliqués dans d'autres métabolismes ; acétate (tropane), dimethylallylpyrophosphate (ergolines furoquinoléines), ou plus spécifique à un groupe particulier de végétaux comme le sécologanoside (alcaloïdes, indolo–monoterpénique). Oxydation allylique, couplages oxydatifs, oxydation des noyaux aromatiques, estérification, étherification,…etc, justifient l'existence des nombreuses variations structurales, dans le cas particulier des alcaloïdes terpéniques, les précurseurs ont une origine strictement terpinique et l'amination de la molécule est tardive (Bruneton, 1993).

I-2-3 Les composés phénoliques

I-2-3-1 Caractérisations

Les composés phénoliques ou polyphénols forment une grande famille de composés chimiques très divers depuis les simples acides phénoliques jusqu'aux grands polymères complexes que sont par exemple, les tanins et la lignine (Hopkins, 2003).

L'élément structural fondamental qui les caractérises est la présence d'aux moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneton, 1993).

Ces composés contiennent exclusivement du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène, il en dérive de nombreux composés souvent très différents par leur configuration et leur propriété (Gerhard, 1993).

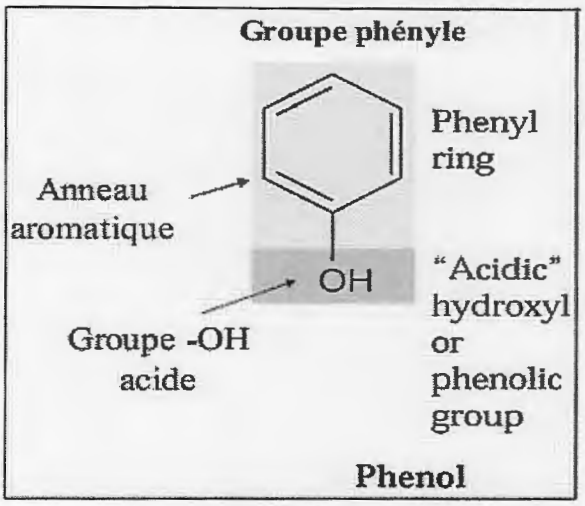

Figure 1: Structure d'un groupe phénol (Hopkins, 2003).

I-2-3-2 Classification

Tableau 03 : Les composés phénoliques les plus importants et groupe de substances correspondant (Gerhard, 1993).

Groupe de substance	**Caractéristique structurelles**
Phénols simples	Structure en C_6C_2, ou C_6 à la suite de la dégradation de chêne latéral
Acides phénolcarboxyliques	Structure en C_6C_3 unique ou répétée
Autre phénols substitués	Structure en C_6C_2, C_6C_1 ou C_6 des unités isoprène complètent la structure
Poly prény lquinones anthraquinones	
Flavonoïdes	Structure en $C_6C_3C_6$; chaînes latérales allongées par des unités additionnelles en C_2
Stilbénes	Structure en $C_6C_2C_6$; un carbone de la chaîne latérale est associé au second

I-2-3-3 La biosynthèse des molécules phénoliques

I-2-3-3-1 Voie de l'acide shikimique

La biosynthèse de nombreuses molécules phénoliques débute au niveau des acides aminés aromatiques, phénylalanine, tyrosine et tryptophane, ces acides aminés

aromatiques sont quant à eux synthétisés à partir du phosphoénolpyruvate et de l'érythrose-4-phosphate au cours d'une succession de réactions appelée : voie de l'acide shikimique. Cette voie est commune aux champignons et aux plantes, mais est absente chez les animaux. La phénylalanine et le tryptophane font donc partie des dix acides aminés qui sont considérés comme étant des composés aromatiques (Voet et Voet, 1990 cité par Hopkins, 2003).

La synthèse des acides aminés aromatique (phénylalanine, tyrosine et tryptophane) commence par la condensation d'une molécule d'erythrose-4-phosphate qui est produit par la voie respiratoire des pentoses phosphate, avec une molécule de phosphoénolpyruvate (PEP) qui provient de la glycolyse d'un glucide à 7 atomes de carbone. La voie de shikimate est un excellent exemple d'une voie qui est régulée par retroinhibition. Parmi les enzymes clés de cette voie figure l'aldolase qui catalyse la réaction initiale de condensation. Et qui est inhibée par les trois produits terminaux. De la même façon la transformation des chorismate en préphénate est inhibée à la fois par la phénylalanine et la tyrosine. Alors que la transformation du chorismate en anthranilate est inhibée par le tryptophane. Une autre étape intéressante de cette voie est la seconde réaction qui permet la transformation du 3 -énolpyruvylshikimate -5- p en shikimate (Hopkins, 2003).

I-2-3-3-2 Voie acétate

Il existe deux voies :

- **Voie acétate-malonate**

Les systèmes aromatiques sont aussi formée par condensation répétée d'unité acétate l'hypothèse initiale de la voie acétate a surtout été confirmée chez les micro-organismes ; elle est l'origine d'un large éventail de composés aromatique l'autre dénomination « voie acétate-malonate » rappelle que c'est la malonyl-CoA qui fournit, par décarboxylation, les unités en C_2 pour allonger le complexe acyl- CoA, comme dans la synthèse des acides gras, et ceci en trois étape successives. L'acide polycétonique formé se referme en un cycle portant une chaine latérale. Le cycle A de la structure flavane est construit sur ce principe ; il est ensuite complété, à l'aide de dérivés de l'acide cinnamique, par un hétérocycle centrale, puis par un second cycle aromatique. Ainsi, les deux voies responsables de la biosynthèse des composés phénoliques se rejoignent, formant un nœud

important dans le réseau du métabolisme secondaire des plantes supérieures (Gerhard, 1993).

❖ **Voie acétate-mévalonate**

La troisième voie possible, « la voie acétate-mévalonate» nous est déjà familière de par la synthèse des monoterpènes cycliques. Ces derniers acquièrent un caractère aromatique par déshydrogénation. Dans l'ensemble, cette voie est peu utilisée chez les plantes supérieures (Gerhard, 1993).

La synthèse de la plupart des composés secondaires phénoliques commence par la désamination de la phénylalanine en acide cinnamique (Fig. 2). L'enzyme responsable de cette réaction, la phénylalanine ammonia lyase (PAL), est une enzyme clé puisqu'elle contrôle effectivement l'orientation du carbone vers la production de composés phénoliques plutôt que vers la production de métabolites primaires comme les protéines. Une voie alternative, la désamination de la tyrosine en acide p-coumarique semble être principalement, sinon totalement, limitée aux graminées. Cette importance de la PAL est confortée par plusieurs observations. Par exemple l'activité de la PAL est stimulée par la radiation rouge ou ultra violettes, qui toutes deux stimulent également la production de divers flavonoïdes. De même, lorsque la teneur en une phytoalexine, la glycéoline, augmente suite à une inoculation de plants de soja par un champignon, l'activité de la PAL l'acide trans-cinnamique, peut inhiber l'activité d'une hormone végétale, l'auxine, mais il n'existe pas de preuves de son action in vivo.

L'acide cinnamique est rapidement transformé en acide p-coumarique par l'addition d'un radical hydroxyle. L'addition séquentielle de radicaux hydroxyle et méthoxy donne naissance respectivement aux acide caféique et férulique. Aucun de ces quatre composés simples ne s'accumule en quantités importantes. Leur fonction principale serait de servir de précurseurs à des dérivés plus complexes comme les coumarines, les lignines, les tanins, les flavonoïdes et les isoflavonoïdes (Hopkins, 2003).

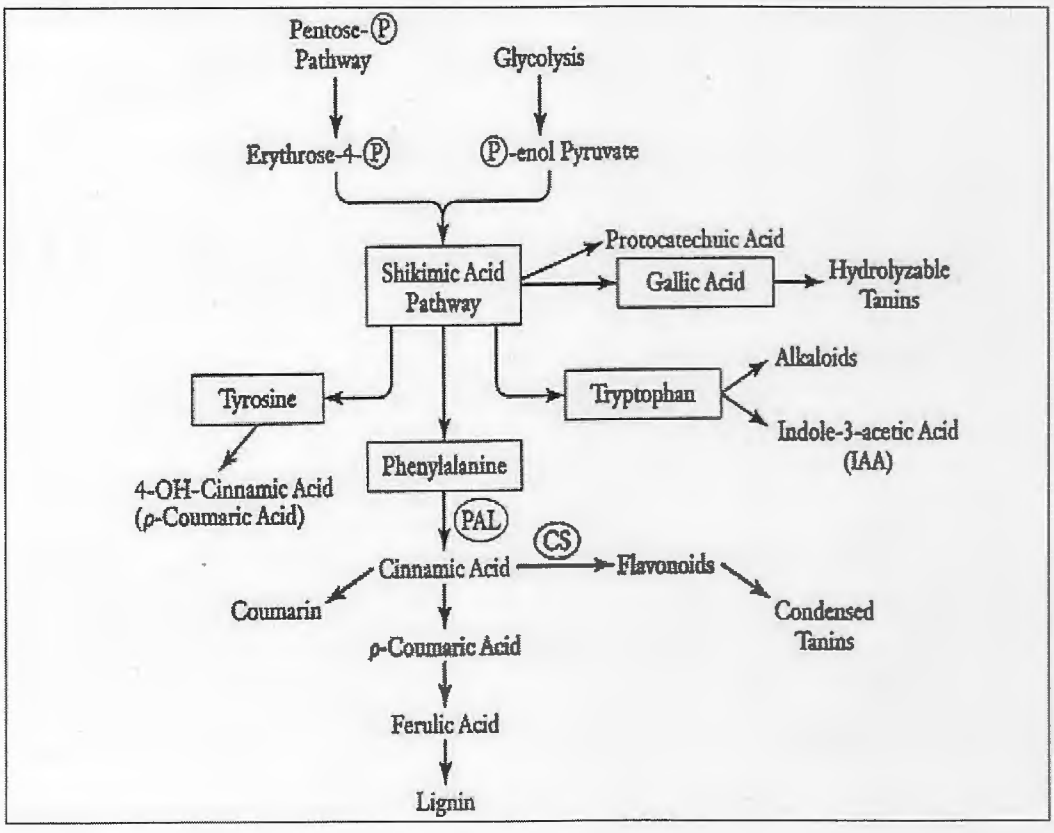

Figure 02: le rôle central de la voie de shikimate dans la synthèse des métabolites primaries et secondaires, PAL: phénylalanine ammonia lyase. CS: chalcone synthase (Hopkins, 2003).

I-2-3-4 Fonction des métabolites secondaire :

Beaucoup de composés secondaires sont toxiques, ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole. On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties des plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôle défensif, cette distribution varie d'une plante à l'autre.

Ils ont des fonctions très différentes qu'on peut résumer dans les points suivants :

- Protections de l'attaque des pathogènes. Ils inhibent les attaques des bactéries et des champignons ou des herbivores (menthe par exemple) (action anti-herbivores).
- Attraction des pollinisateurs.
- Ils peuvent se comporter comme des réducteurs de la digestibilité.
- Ils interviennent dans la structure des plantes (lignines et tannins).
- Ils sont des molécules très utiles pour l'homme comme colorant, arômes, antibiotiques, herbicides, drogues etc.

- Ils participent à des réponses allélopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance) (Raven et al, 2007).

I-2-3-5 Réponses allélopathiques

L'allélopathie est l'ensemble des interactions biochimiques directes ou indirectes positives ou négatives d'une plante sur une autre (micro-organismes inclus) au moyen de métabolites secondaires tels les acides phénoliques, les flavonoïdes, les terpènoïdes et les alcaloïdes). Les plantes compétente les unes avec les autres pour obtenir le soleil et les substances nutritives. Elles ont développées les mécanismes pour conquérir l'espace. Les composés allélopathiques sont libérés dans l'air ou dans le sol.

Les tomates *(Solanum lycopersicum)* et la luzerne *(Medicago sativa)* se fanent quand elles poussent près du noyer, et leurs plantules meurent si leurs racines rencontrent celles de l'arbre. Le pin blanc (*Pinus strobus*) et le robinier (*Robinia pseudoacacia*) aussi meurent souvent quand ils se trouvent à proximité du noyer noir. C'est surtout le cas dans les sols mal drainés, où les substances toxiques libérées par le noyer semblent s'accumuler (Raven et al, 2007).

Fasla et al, (2008), ont étudié la fluctuation saisonnière de l'activité allélopathique de *Tetraclinis articulata* (Mast) Vahl. (Cupressacées) croissant au même endroit en conditions naturelles parallèlement à son analyse phytochimique. L'analyse de l'activité antimitotique et génotoxique de l'extrait aqueux a été également abordée par ces auteurs. L'activité allélopathique d'un extrait aqueux lyophilisé de *Tetraclinis articulata* (Mast) Vahl. A été testée sur deux modèles expérimentaux : les graines de *Rhaphanus sativus* L. et *Lactuca sativa* L. mises à germer en présence de concentrations croissantes (0.25 % ; 0.5 % ; 0.75 % et 1 %) en extrait comparativement à un témoin non traité. L'effet de cet extrait a été évalué sur la division des cellules méristématiques des apex racinaires de *Vicia faba* L. Des extraits aqueux de *T. articulata* issus de leurs prélèvements effectués aux quatre saisons de l'année 2007-2008, seul celui du mois de juin présente une activité allélopathique très forte. Cette activité allélopathique se traduit par une action inhibitrice de la germination pour toutes les concentrations testées, d'une manière dose-dépendante. Le pourcentage d'inhibition est beaucoup plus important pour *Lactuca sativa* que pour *Rhaphanus sativus* : 11 à 13 % ; et 57 % à 97 %, respectivement. L'extrait aqueux de *T. articulata* manifeste une activité antimitotique et clastogénique et

ce aux mêmes concentrations utilisées dans l'activité allélopathique. L'activité antimitotique est

caractérisée par un arrêt de la division cellulaire pour une durée de traitement de 24 heures comme en témoigne l'accumulation du stade préprophase. L'augmentation de l'index mitotique calculé dans ces conditions est due à cette accumulation : 87.7 % ; 88.9 % ; 89.35 % et 90.86 % comparé à celui du témoin qui est de 75.05 %. L'étude révèle également que l'extrait aqueux de *T. articulata* induit des aberrations chromosomiques dans les cellules méristématiques des apex racinaires de *Vicia faba*. L'activité clastogénique est caractérisée par la présence de cassures et de micronoyaux. Les autres aberrations notées sont de types cellules binucléées, ponts chromosomiques et enroulement des chromosomes. Des différences qualitatives et quantitatives notables ont été observées aussi bien sur l'activité allélopathique que sur les profils phytochimiques. Un essai de fractionnement guidé par test biologique a été également effectué sur l'extrait aqueux lyophilisé. Leurs résultats suggèrent que *Tetraclinis articulata* pourrait constituer une source de substances naturelles nouvelles qui peuvent être utilisées pour développer des méthodes de lutte biologique respectueuses de l'environnement pour lutter contre les mauvaises herbes ou les prédateurs des cultures.

Chapitre 2

Stress oxydatif

Chapitre II : II Le stress oxydatif

II-1 Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif est un phénomène biologique. Sans rapport avec le sens communément reconnu au stress dans cette expression. Oxydation reste le terme prédominant et désigne une agression biologique des composants de l'organisme. Elle pourrait s'apparenter à «une rouille » de l'organisme exposé a l'oxygène.

En effet l'oxygène indispensable à la vie est également générateur de radicaux libres. Nocifs pour l'organisme lors d'un bon fonctionnement, les antioxydants synthétisés, suffisent à lutter contre ces radicaux libres, mais en cas de déficience de ces antioxydants, le corps se met en situation de stress oxydatif. Ce dernier peut entrainer jusqu'à la mort de certaines cellules, et se retrouverait de ce fait impliqué dans de nombreuses pathologies.

II-2 Les radicaux libres de la biologie

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques et sont utiles à faible dose. Cependant ils sont toxiques à des doses élevées et résultent d'un défaut de capacité antioxydante (Ben Naceur, 2004), ce déséquilibre entre les systèmes de défense et de production de radicaux entraine des lésions biochimique appelée « stress oxydants » (Favier, 2003). Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se forme dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et qui s'appelle radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux secondaires sur les composés biochimiques de la cellule, ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxydes O^- et le radical hydroxyle OH^- , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^- (Yochikava et al, 2002, cité par, Favier, 2003) d'autre espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène ; comme l'oxygène singulet $^1O_2$, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux, l'ensembles des radicaux libres et de leurs précurseurs sont souvent appelés espèces réactives de l'oxygène (figure 3)

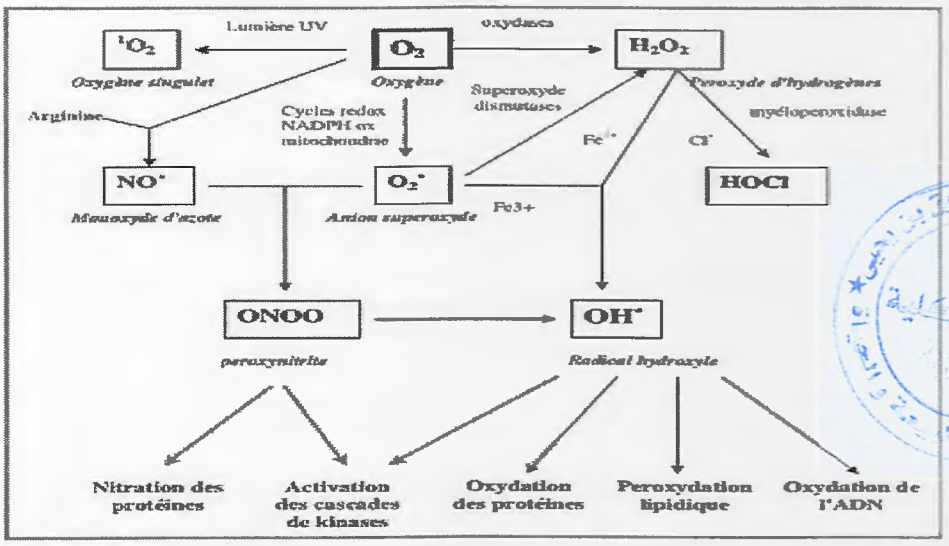

Figure 03 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).

II-2-1 Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Dans les conditions optimales de croissance des végétaux, de nombreux processus métaboliques produisent des formes réactives de l'oxygène, les principaux résultent des mécanismes photochimiques ou sont associés à ces derniers les cellules photosynthétiques ces cellules sont en effet prédisposées aux stress oxydatif parce qu'elles renferment un ensemble de pigments photosensibles et qu'elles produisent et consomment de l'oxygène. Le système de transport d'électrons lié à la photosynthèse est la source majeure de forme réactive de l'oxygène dans les tissus végétaux.

L'oxygène qui est respiré par les végétaux est constitué de deux atomes, l'orbitale la plus externe de chacun de ces atomes ne comporte qu'un seul électron, ce qui confère à la molécule de l'oxygène des propriétés propres aux radicaux libre (Lagadic et al, 1997).

En dehors de toutes pathologies. Une première origine des phénomènes radicalaires est la formation initiale de l'anion superoxyde (O_2^-). Le plus courant des ERO. Le premier mécanisme impliqué est la chaine respiratoire (Cadenas et al 1997 ; cité par Belafrites et al, 2008).

Cet O_2^-peut alors dismuter soit spontanément, soit de façon enzymatique par la superoxyde dismutase (SOD) pour donner de l'eau oxygéné (H_2O_2), qui peut à son tour se transformer en radical hydroxyle (OH), le plus réactif des ERO. Ce dernier est formé par dégradation du peroxyde d'hydrogène en présence des métaux de transitons sous leur

formes réduites. Ainsi, le peroxyde d'hydrogène s'associe au fer ferreux conduit à la réaction de fenton (Helliwell and Gutteridge, 1984 ; cité par Belafrites et al, 2008).

$$H_2O_2+Fe^{+2} \longrightarrow OH^- + OH^- + Fe^{+3}$$

Le peroxyde d'hydrogène peut également réagir avec le radical hydroxyle par la réaction de Habber–Wien :

$$H_2O_2+O_2^- \longrightarrow OH^- + OH^- + O_2.$$

Les radicaux O_2^- peuvent réagir avec les radicaux NO^- en conduisant à l'apparition de peroxynitrite dont la toxicité est maintenant bien établie (Mccord and Day, 1987 ; cité par Belafrites et al, 2008).

II-2-2 Le rôle des radicaux libres

Alors que dans le cadre d'une réponse à un stress biotique les ERO ont un rôle de défense car ils toxiques pour l'organisme agresseur, ces molécules jouent un rôle de second messager dans la réponse à un stress abiotique. Très peu de senseurs de ces ERO sont connus chez les plantes. Ce rôle de détection est assuré chez les procaryotes et les champignons par certaines histidines kinases (Quinn et al, 2002 ; cité par Philippe. P, 2007). La réponse d'un nombre élevé de gènes codant ces protéines chez *Arabidopsis. thaliana* (Hawang et al, 2002 ; cité par Audrey.C, 2007) suggère un rôle des histidines kinases comme senseurs des EAO chez cet organisme.

Les ERO jouent un rôle dans l'activation de facteurs de transcription. Cette régulation de la transcription s'opérerait grâce à des interactions entre des facteurs de transcription et des éléments cis spécifiquement sensibles au stress oxydatif situés dans la région promotrice de certains gènes. Cette hypothèse a été explorée chez *Arabidopsis. Thaliana* et a permis d'identifier plusieurs gènes pouvant être régulés de la sorte (Desikan et al, 2001 ; cité par Audrey. C, 2007). Les radicaux libres participent an fonctionnement de certaines enzymes qui jouent un rôle dans la défense immunitaire contre les agents pathogènes. Les ERO sont des produits essentiels au fonctionnement cellulaire ainsi, ils seraient impliqués dans la prolifération cellulaire la mort cellulaire programmée et agiraient comme second messager (Helliwell and Gutteridge, 1999).

II-3 Le contrôle des radicaux libres par la cellule

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Certains composés antioxydants comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone) ou les caroténoïdes, agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire (kinsky, 1989 ;cité par favier, 2003). L'autre stratégie utilisée, est de nature enzymatique, visant à détruire les superoxydes et peroxydes, ainsi les superoxydes dismutases sont capables d'éliminer l'anion superoxydes par une réaction de dismutation , formant avec deux superoxydes une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène (Zelko et al,2002 ; cité par favier, 2003).

Le rôle des SOD et des peroxydases est complémentaire car une bonne protection ne peut être obtenue par les superoxydes dismutases seules (Fig 04). Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes comme les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, la glutathion transférase, les thioredoxines réductase ou les thioredoxines peroxydases.

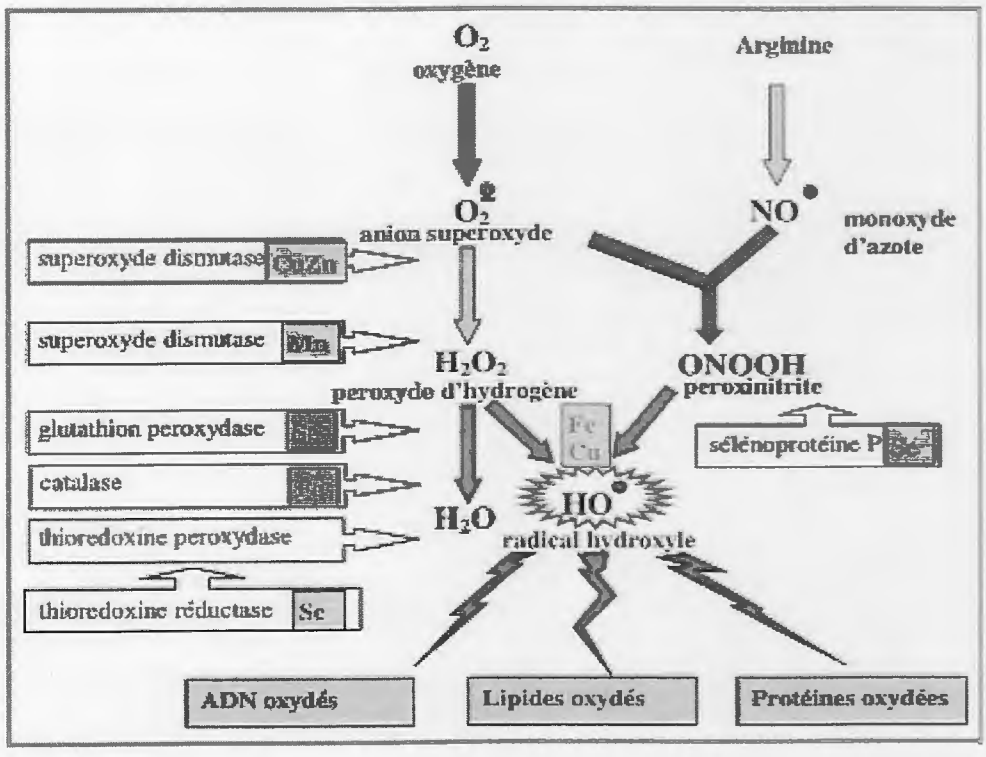

Figure 04: Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

II-4 Les conséquences du stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologique (oxydation de l'ADN des protéines, des lipides, des glucides) mais aussi des lésions secondaire dues au caractère cytotoxique et mutagène dans l'organisme.

Le stress oxydant est une circonstance anormale d'une production accrue, endogène ou exogène, de radicaux libre oxygénés, d'excès de radicaux libre non neutralisée par les défenses et très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules (Gutteridge, 1993 ; Favier, 2006 ; cité par Favier, 2003).

II-4-1 Oxydation des lipides

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiés de l'attaque par le radical hydroxyle OH capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, cette réaction appelée peroxydation lipidique, forme une réaction en chaîne car le radical peroxyle formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical (Packer,1991 ; cité par favier, 2003). Les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution : être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides et en alcanes (éthane, éthylène, pentanes), le radical peroxyle, après évolution en un toxiques dont le malonaldialdéhyde (MDA) on l'hydroxynonenal, cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires (Fig. 05) (Favier et al, 1995 ; cité par Favier, 2003).

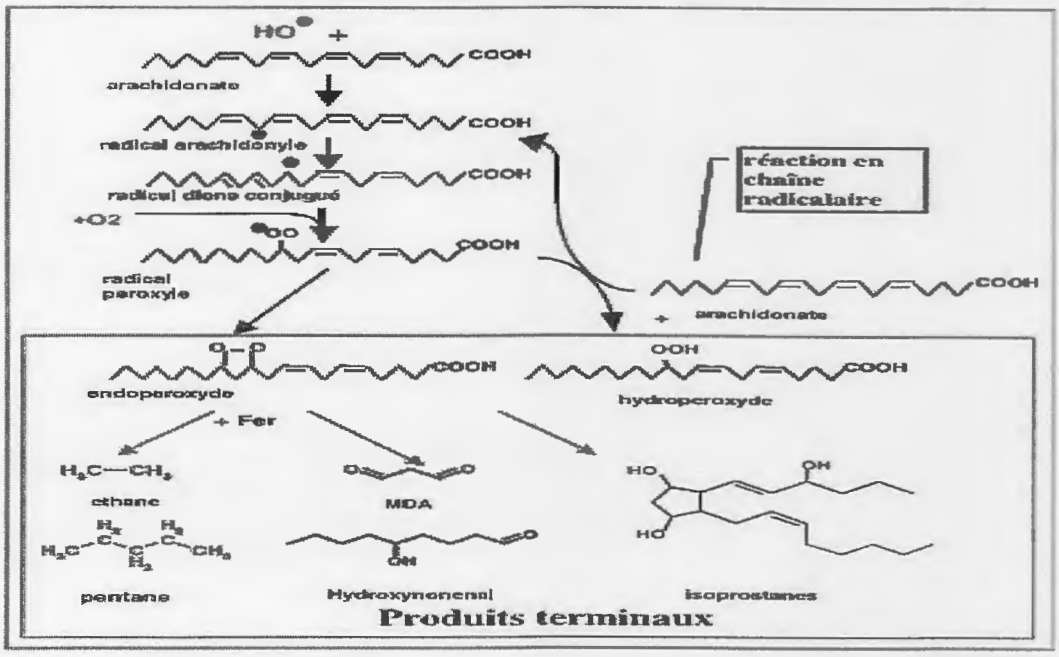

Figure 05: Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003).

II-4-2 Oxydation de l'ADN

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène. Cinq Classes principales de dommages oxydatif OH peuvent être générées parmi elles : les bases oxydées les sites abasiques, des adduits intra-caténaires des cassures de brins et des pontages ADN-protéines (Bors et al, 1990 ; cité par Favier, 2003) , les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation , l'attaque radiculaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre des bases modifiées : 8 0X0 guanine, 8 nitro guanine, formamidopyrimidine, 8 0X0 adénine, formamido uracile, 5 hydroxy cytosine, 5 hydroxy méthyl Uracil, thymine diol oxazolone, un très grand nombre de ces composée et de leurs mécanismes de formation ont été identifiés mais le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin, des dommages indirects peuvent résulter de l'attaque des lipides dont la peroxydation généré des aldéhydes mutagènes, formant des adduits sur les bases de l'ADN de type MDA-guanine ou éthénodérivés. L'attaque radicalaire des protéines qui est très nombreuses entre en contact avec l'ADN pour la protéger (histones) ou pour le lire (enzyme et facteurs des protéines ou des adduits sur des bases de type

lysimoguanine. Le rôle des nombreux métaux fixés à l'ADN qui est un polyanion (Fe, Mg, Zn, Cu, Ni, Cd.....), est crucial pour amplifier ou orienter le profil de ces lésions (Fig. 06).

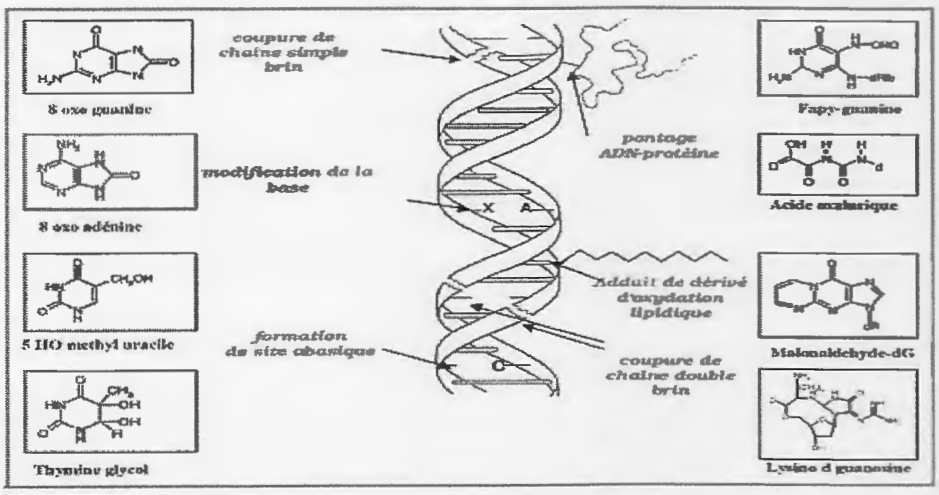

Figure 06 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003).

II-4-3 Oxydation des glucides

Le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologique en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes, H2O2 et OH (Wolff et al 1989 ; cité par Favier, 2003), qui entrainèrent la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde, formant un dérivé AGE (Huntant Wolff, 1991 ; cité par Favier, 2003 ; Favier et al 1995 ; cité par Favier, 2003).

II-4-4 Oxydation des protéines

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires et aux lésions irréversibles sont surtout celle qui comportent un groupement sulfhydrile(SH) (Squire, 2001 ; cité par Favier, 2003).

Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, anti-enzyme, récepteur...) et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome (Henstey and Floyd, 2002 ; cité par Favier, 2003). Ces protéines oxydées deviennent aussi très hydrophobes, soit par suppressions de groupements amines ionisable, soit par extériorisation de zones hydrophobes centrales, elles vont alors former des amas anormaux, dans ou autour des cellules, associés aux

lipides, forment les dépôts de lipofuschines caractéristiques des tissus des sujets âgés (Favier et al, 1995 ; cité par Favier, 2003).

Les ERO sont variables selon la dose et le type cellulaire ; de faibles stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéine d'adhésion. Des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que le forts stress provoquera une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire (Favier, 2003).

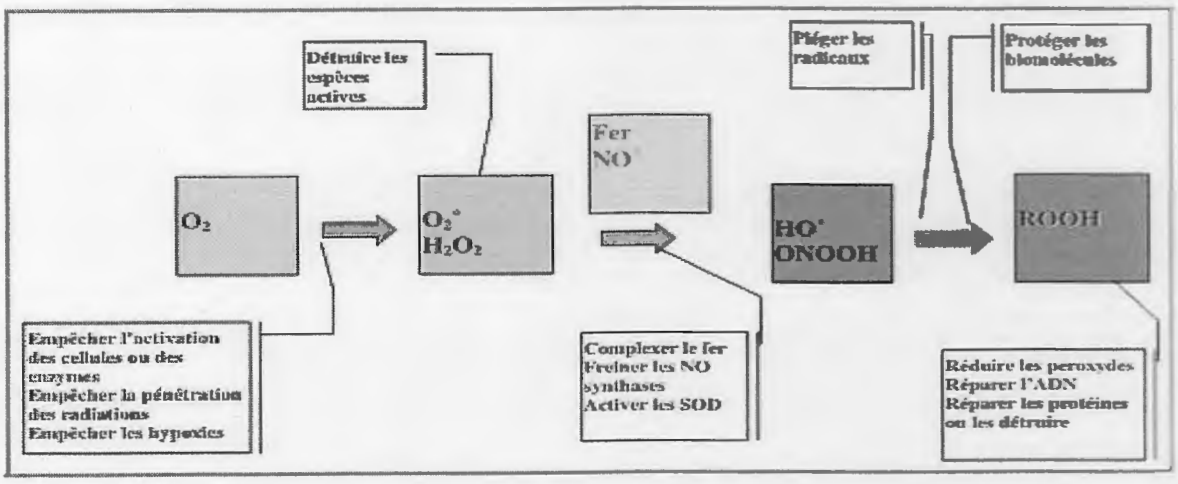

Figure 07: Stratégie de conception de systèmes antioxydants suxeptibles de prévenir la formation de radicaux libres oxygénés ou de permettre leur destruction (Favier, 2003).

II-5 Les anti–oxydants

II-5-1 Définition

Les antioxydants sont des molécules qui retardent la vitesse de formation des peroxydes. On les définit également par leur pouvoir d'inactivation des radicaux libres (Remon, 2006 ; cité par Faycel et Kara, 2008). Les antioxydants sont définie comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologique, se sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Vansant, 2004 ; cité par Faycel et Kara, 2008).

II-5-2 Classification des antioxydants

Les anti- oxydants peuvent se regrouper en deux groupes;

Les anti-oxydants enzymatiques et les anti-oxydants non enzymatiques (Pelmon, 1993 ; cité par Faycel et Kara, 2008).

II-5-2-1 Anti–oxydants enzymatiques

Trois types d'enzymes anti–oxydants majeures sont mis en œuvre par la cellule pour la destruction des espèces réactives de l'oxygène : les superoxydes dismutase (SOD), les peroxydases et les catalase.

II-5-2-1-1 Les superoxydes dismutase (SOD)

Le substrat de la SOD (le radicale superoxyde) est instable et à une durée de vie très courte, ainsi la plupart des méthodes de dosage utilisées pour déterminé l'activité superoxyde dismutase sont indirectes (Asayama and Burr, 1985).

Chez les végétaux supérieurs, il existe plusieurs enzymes à activité SOD variant par leur séquence protéique et leurs cofacteurs métalliques (Jadot, 1988 ; cité par Lagadic et al, 1997), cet enzyme est présent dans la plupart des espèces au niveau du cytoplasme, sous forme d'un dimère dont chaque unité d'un poids moléculaire de 1600 possède 1 atome de cuivre et 1 atome de zinc (CuZn–SOD) (Fridovich, 1986 ;cité par Lagadic et al, 1997), elles sont sensibles aux ions cyanures (CN^-) et principalement associées avec les chloroplastes (Salin, 1988 ; cité par Faycel et kara, 2008). Le second groupe est formé par les SOD contenant du manganèse (Mn–SOD) ou du fer (Fe–SOD) et qui ne sont pas affectées par CN^-, chez les végétaux les Mn–SOD sont surtout localisées dans les mitochondries et dans les peroxysomes. La Fe–SOD à été observé seulement chez certaines espèces végétales : elle est localisée dans les chloroplastes et les peroxysomes, mais n'est pas détecté dans les mitochondries (Lagadic et al, 1997, Cavalcanti et al 2004 ; cité par Faycel et Kara, 2008).

SODs, sont responsables de la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène(H_2O_2), selon la réaction suivante :

$$2O_2^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2 \text{ (Caroline, 2003).}$$

II-5-2-1-2 Les peroxydases (POX)

Les peroxydases sont particulièrement répondues chez les plantes il est très facile de mettre en évidence celle du radis (Pelmont, 1993 ; cité par Lagadic et al, 1997). L'induction de peroxydases a été observée dans les feuilles et les racines de différentes espèces végétales cultivées en présence de concentration toxique en métal, cette induction est fortement corrélée avec la concentration en cuivre dans les tissus chez

Lactuca Sativa (Mukherjï et Das Gupta, 1972 ; cité par Lagadic et al, 1997) et *zea Mays,* avec la concentration en zinc et en cadmium chez *Phaseolus Vulgaris* (Van Asche et al, 1988 ; cité par Lagadic et al, 1997). Ainsi qu'avec la diminution de la croissance des parties aériennes ou de la biomasse des plantes intoxiquées.

L'induction des peroxydases n'est pas une réponse spécifique de l'exposition aux métaux. Elle a été observée pour d'autres facteurs de stress : le froid, la blessure des tissus (Gaspar et al, 1982 ; cité par Lagadic et al, 1997) l'information par des agents pathogènes, la pollution atmosphérique par le SO_2, l'ozone, les NOx ou les gaz fluorés, ou bien encore les UV (Keller, 1974 ; cité par Lagadic et al, 1997).

II-5-2-1-3 La catalase

L'application de concentration en plomb toxique se traduit chez les plantules de mais par une induction transitoire des catalases (Hoxha et al, 1985 ; cité par Lagadic et al, 1997). De ce fait plusieurs résultats concluent un rôle protecteur des catalases dans le cas d'une action toxique des métaux Lourds. Selon (De vos, 1991 ; cité par Lagadic et al, 1997), une population de *Silène cucubalus* sensible au cuivre montre une augmentation de la capacité catalase en présence de ce métal, un effet similaire a été observé chez les haricots. Par ailleurs, ces effet ont été décrit pour Lemnaminor et des racines d'A*llium cepa* en présence de mercure (Subhadra et al, 1991 ; cité par Lagadic et al, 1997), une capacité catalase plus élevée à aussi été observée dans des aiguilles endommagées d'épicéa (*Picéa abies* : Osswald et al, 1992 ; cité par Lagadic et al, 1997) et des plantes d'orge exposés à de fumigations de SO_2 (Navari IZZO et IZZO, 1994 ; cité par Lagadic et al, 1997), le rôle de catalase est de catalyser la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire selon la réaction suivante :

$$2H_2O_2 \longrightarrow 2(H_2O + O_2)$$

(Remon, 2006; cite par Faycel et Kara, 2008).

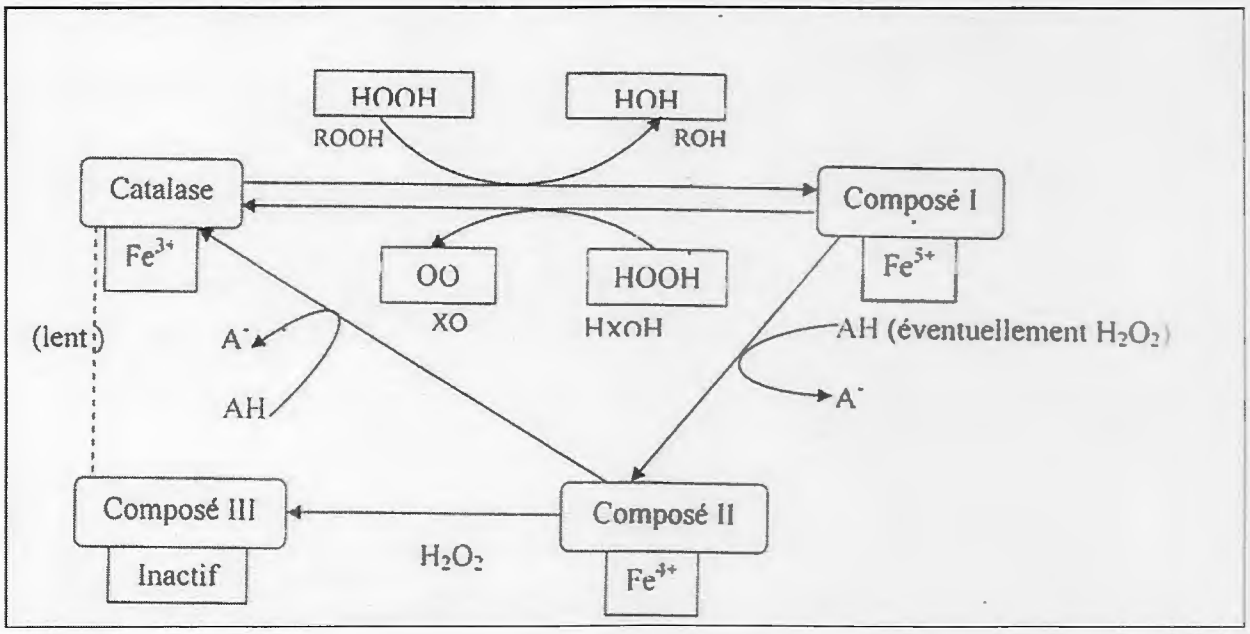

Figure 08: L'élimination de peroxyde d'hydrogène par la catalase (Pelmont, 1993 ; cité par Lagadic et al, 1997)

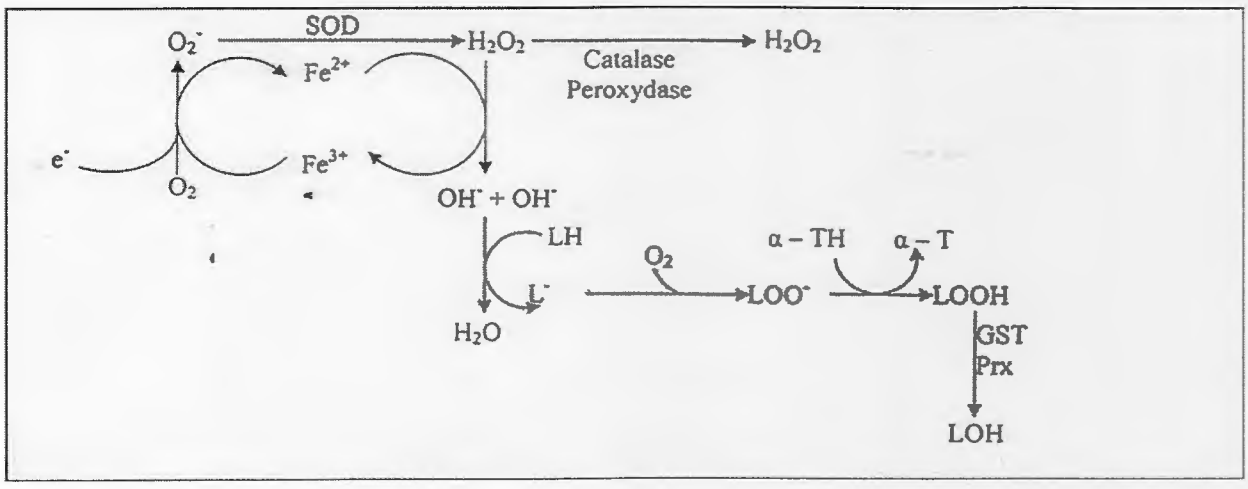

Figure 9: Réduction des espèces actives de l'oxygène par les enzymes antioxydants (Lagadic et al, 1997).

II-5-2-1-4 La glutathion peroxydases

Une autre enzyme est couplée à l'action du superoxyde dismutase et joue un rôle similaire à la catalase : la glutathion peroxydase. L'enzyme est présente dans le cytoplasme et dans la mitochondrie. Une molécule de H_2O_2 réagit avec deux molécules de glutathion sous forme réduite et est transformée en $2H_2O$. Le glutathion est oxydé avec formation d'un pont disulfure entre 2GSSG : on obtient la forme oxydée du glutathion. Une réaction similaire permet la réduction d'hydroperoxydes lipidique ROOH. Le site actif de la glutathion peroxydase contient un atome de sélénium. Cette

enzyme nécessite donc la présence de deux cofacteurs importants : le glutathion réduit et le sélénium. Pour réduire le glutathion elle consomme une molécule de NADPH, qui est fourni par la voie des pentoses phosphate (Borg et Reeber, 2008).

GLUTATHION PEROXYDASE

Site actif contient un atome de sélénium

$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{\text{Glutathion réductase}} 2H_2O + GSSG$$

$$ROOH + 2GSH \longrightarrow ROH + H_2O + GSSG$$

(BORG et Reeber, 2008)

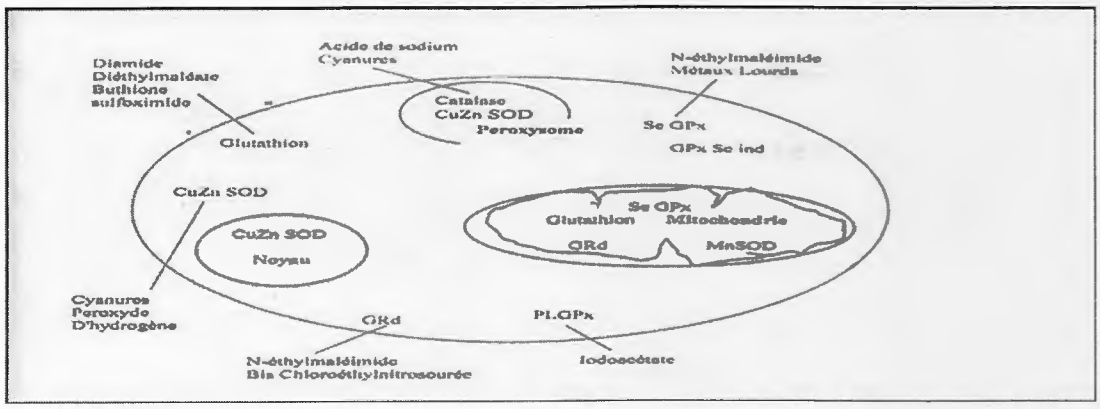

Figure 1o: Répartition subcellulaire du glutathion et des enzymes antioxydantes avec les Inhibiteurs (Lagadic et al, 1997).

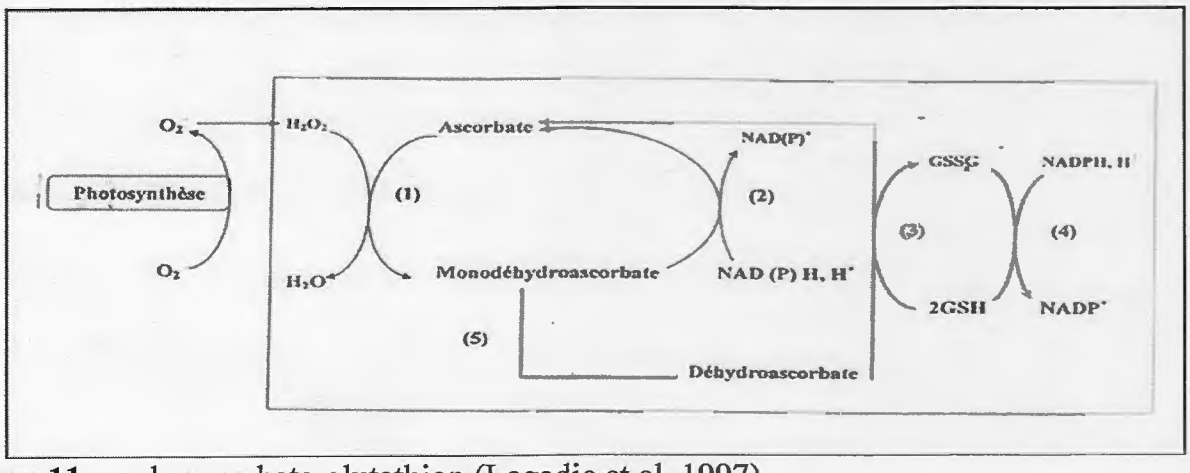

Figure 11: cycle ascorbate-glutathion (Lagadic et al, 1997).

1 : Ascorbate peroxydase. **2** : Monodéhydroascorbate réductase.

3 : Déhydroascorbate réductase. **4** : Glutathion réductase.

5 : Réaction spontanée. **GSH** : Glutathion réduit.

GSSG : Glutathion oxydé.

II-5-2-1-5 Les mécanismes de défenses enzymatiques

Pour protéger ; et pour permettre aux EAO d'intervenir dans la réponse physiologique, les plantes ont développé des mécanismes anti–oxydants contrôlant l'accumulation des EAO (Afoulous, 2008). Les trois principaux mécanismes d'action anti–oxydante développés par les organismes vivants visent :

- A éliminer les espèces réactives et catalyseurs de leur formation.
- A induire la synthèse des antioxydants.
- A augmenter l'activité des systèmes de réparation et d'éliminations des molécules endommagées (Lagadic et al, 1997).

Tableau 04: Différents mécanismes des systèmes antioxydants. (Mittler et al, 2003 ; cité par Afoulous, 2008).

Mécanismes	**Supprime (produit)**	**Localisation cellulaire**
SOD	O_2 (H_2O_2)	Chl, cyt, Mit et Per
Catalase	H_2O_2 (H_2O)	Mit, Per
Peroxydases	H_2O_2 (H_2O)	Beaucoup de localisation
Ascorbate/cycle glutathion	H_2O_2 (H_2O)	Chl, Cyt, Mit, Per
Glutathion peroxydases	H_2O_2(H_2O). hydroperoxydes de lipide	Chl, Cyt, Mit, ER
Carotènes et tocophérol	O_2 (O_2)	Chl

Avec : Chl : chloroplastes ; Cyt : cytosol ; Per : Peroxymoses ;

Mit : mitochondries ; Nucl : nucléique ; Sec : voie de sécrétion ;

RE : réticulum endoplasmique.

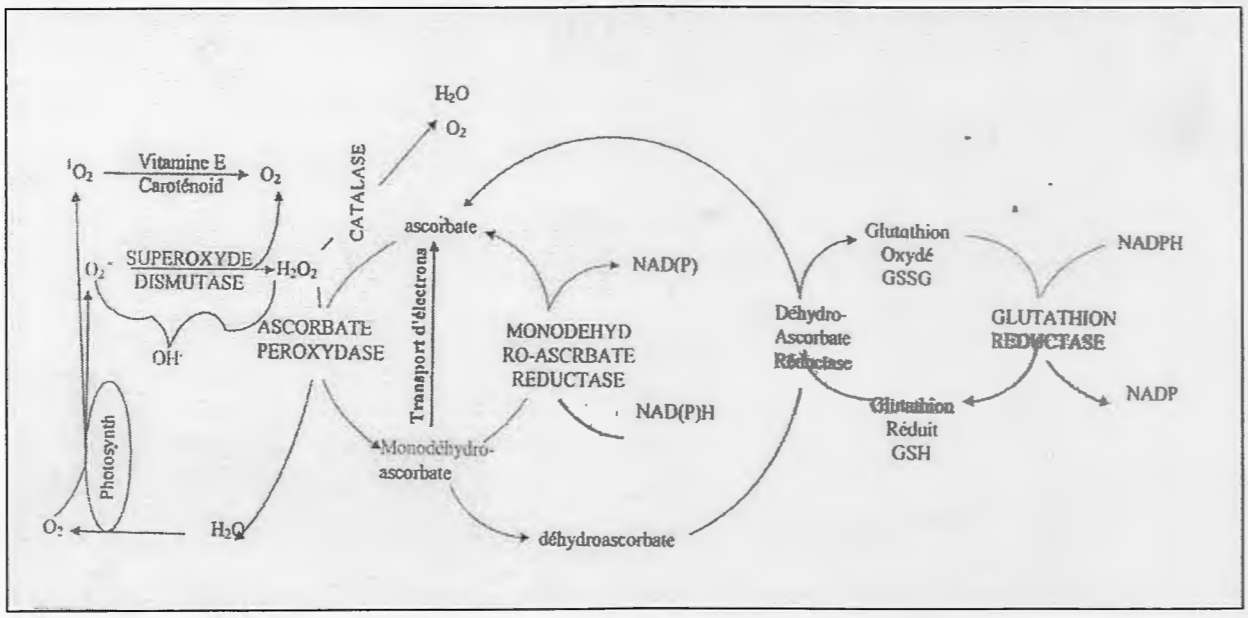

Figure 12: Représentation de la production et des voies de struction des espèces active de l'oxygène dans les tissus végétaux (Lagadic et al, 1997).

L'oxygène singulet ($^1O_2$), le radical hydroxyle (OH), et le peroxyde de l'hydrogène (H_2O_2), sont éliminés grâce à l'ascorbate, et grâce à la vitamine E et aux caroténoïdes pour l'oxygène singulet. L'ascorbate joue un rôle central en éliminât le peroxyde d'hydrogène formé à partir de la dismutation des ions superoxydes (O_2^-) résultant de l'oxydation de l'oxygène durant la photosyntèse (reactionde Mehler). Le peroxyde d'hydrogène est donc éliminé grâce à l'ascorbate peroxydase et l'ascorbate est régénéré soit directement par transport d'électrons provenant de la photosynthèse, soit par l'intermédiaire du cycle ascorbate/ glutathion (d'après Foyer et al, 1994 ; cité par Lagadic et al, 1997).

Les peroxydases (POX) des feuilles du palmier dattier (Phoenix dactylifera L) ont été extraites et purifiées comme il a été démontré chez d'autre plantes les POx foliaires du palmier dattier agissent selon un mécanisme de catalyse de type « Ping Pong », ces enzymes on montré une thermostabilité élevée. En effet elles peuvent garder 58% de leur activité après 30 min de chauffage à 50c°, le PH optimum d'activité des POx foliaires du palmier dattier se situe autour de 5,4 l'ajout du H_2O_2 des concentrations supérieures à 4m/M à permis de mettre en évidence un effet inhibiteur de ce substrat sur les POx à permis d'avoir deux fractions enzymatiques, la fraction soluble (S), très abondante et la fraction ionique (I) liée aux parois (Baaziz et Majourhat, 2004).

En effet, ce dernier représente seulement 17,16% de l'activité POx total alors la fraction (S) représenté 82,84%, l'évaluation de l'activité de ces fractions a été effectuée par électrophorèse pour gel de polycrylamide (Baaziz et Majourhat, 2004).

Aussi selon Laloue et Guillemant, ils expliquent l'implication des substances (ascorbate et gaïacol peroxydases (APx et GPx)) dans le système antioxydant il étudie l'impact des xénobiotique chez quelques espèces (épicéa, ray-grass, pois, haricot, blé et lentille) puissant en milieux contrôlés au naturels.

Les résultats montrent que, biotest a été appliqué à la détection de la pollution de l'air et de sol, révélant la présence d'un stress oxydatif par des variations préférentielles d'activité des isoformes d'APx avant une inhibition de la croissance des plantules, aussi qu'une sensibilité des APx a différents polluants, il résulte aussi une réponse spécifique selon la plante étudiée, face à un xénobiotique donné. Les variations d'activité des APx de plante bio-indicatrices judicieusement choisies pourraient être un outil sensible pour l'étude de pollution de l'air et du sol. (Laloue et Guillemant,....SD).

Selon plusieurs chercheurs les mécanismes de défense antioxydants chez le blé, montrent l'implication des catalases et autres enzymes dans la défense contre les xénobiotiques comme le nitrate et l'acide linoléique.

Les résultats expérimentaux obtenus par l'analyse comparative du témoin (grains germinés dans des solutions de nitrate de différentes concentrations). Montrent une certaine influence des nitrates, traduite par la modification de l'activité catalasique à l'intérieur des grains de blé.

Après 48 heures de germination observé une diminution progressive de l'activité de catalase sous l'influence des concentrations de nitrates. À la concentration maximale (30mg/L), l'activité de l'enzyme diminue jusqu'à la moitie de l'activité déterminée pour le témoin.

Au bout de 96 heures de germination, la concentration de 10mg/L provoqué une légère augmentation de l'activité en comparaison avec le témoin.

Après 144 et 192 heures de germination, l'activité catalasique montre traités aux nitrates, dans les deux cas l'activité maximale de l'enzyme est obtenue en utilisant une solution de nitrates ayant la concentration de 10mg/L. (Fig14) (Anca et al, 2006).

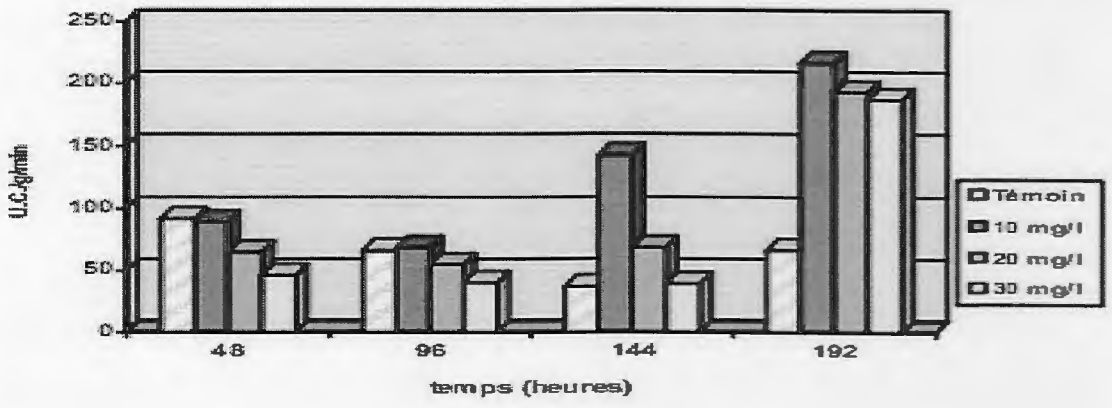

Figure 13: Variation de l'activité de la catalase (U.C./g/min) au cours du processus de germination des grains de blé (Triticum aestivum) traités avec différentes concentrations de nitrates (Anca et al, 2006).

Indépendamment de la concentration utilisée, les nitrates ont stimulé l'activité de la catalase pendant la fin de la période de germination des grains de blé.

La lipoxygénase (LOx) catalyse l'incorporation d'oxygène moléculaire aux acides gras polyinsaturés avec formation d'espèce intermédiaires instable comme les radicaux peroxydes et les Co-oxydations (ROOH) qui en se réduisant en hydroxyacide (ROH), sont à l'origine des Co-oxydation de caroténoïdes, de tocophérols et de thiols.

Dans un système modèle, fait une comparaison entre les différents pH, l'effet de la LOx de blé en présence d'acide linoléique sur la Co-oxydation du glutathion, le glutathions oxydé (GSSG) et réduit (GSH) ainsi que les ROOH et ROH.

La consommation du glutathion a été confirmée par la méthode d'ellman et l'évolution des ROOH et ROH a également été suivie par spectrophotométrie entre 200 et 400 nm, aucune consommation de glutathion n'est observée en présence de l'acide linoléique, la consommation du glutathion dépond du pH très faible à pH 6,5 elle est maximal à pH 8,5. Dans tout les cas la consommation de glutathion n'est pas totale, le glutathion consommé est essentiellement oxydé en ponts disulfures. (Avram, 2003).

Le H_2O_2 est produit par de nombreux systèmes, y compris les chaines de transfert d'électrons photosynthétique et respiratoire ainsi que certaines oxydases. Parmi ces dernières, on dénombre les NADP oxydases localisés au niveau du plasmalemme (Keller T et al, 1998 ; cité par Noctor, 2002). Le rôle physiologique de ces enzymes lors de la mort cellulaire induite par le H_2O_2 reste à éclaireir : il se peut qu'elles agissent pour

limiter plutôt que de promouvoir la mort (Torres MA et al, 2005 ; cité par Noctor, 2002). Une autre oxydase importante est la glycolate oxydase enzyme qui intervient au niveau des peroxysomes dans la voie photorespiratiore, qui fait partie du métabolisme primaire surtout chez les plantes en C3 (Noctor, 2002). L'identification d'une lignée déficiente en catalase parmi des mutants d'orge de type photorespiratoire à montré l'importance de cette enzyme dans le contrôle du H_2O_2 produit par la glycolate oxydase (Kendalle AC et al, 1983 ; cité par Noctor, 2002). Plus récemment, nous avons caractérise un mutant d'insertion d'Arabidopsis chez lequel le cat2 n'est plus exprimé. Cette lignée n'a que 15% de l'activité catalase du sauvage, en conséquence elle montre un stress oxydatif important. Cependant, le stress oxydatif et le phénotype qui en résulte peuvent être supprimés par la culture des plantes en conditions où la photorespiration n'est que peu ou pas active, c'est-à-dire faible lumière ou fort CO_2 (Queval G, 2007 ; cité par Noctor, 2002). Cette propriété permet d'allumer le signal H_2O_2 d'une manière contrôlée en jouant sur les conditions de culture.

La présence d'un stress oxydatif chez cat2 en conditions photorespiratoires est démontrée aux niveaux transcriptionnel et biochimique (oxydation et accumulation du glutathion). La perturbation de l'état redox cellulaire, qui se produit indépendamment de la photopériode, provoque un ralentissement de la croissance mais elle ne pas forcément à l'apparition de la mort cellulaire. Pour que la mort apparaisse, il faut que les plantes soient cultivées en jours longs. Le cat2 est donc un mutant conditionnel à deux égards.

$$\text{Cat2} \xrightarrow{\text{Fort } CO_2} H_2O_2 \xrightarrow{\text{Jours courts}} \text{Mort cellulaire}$$

D'abord, il montre un stress oxydatif uniquement en conditions photo-respiratoires, ce qui peut être supprimé par le fort CO_2 ; ensuite, une signalisation photopériodique est nécessaire pour permettre au signal oxydatif d'enclencher le programme de la mort (Queval G, 2007 ; cité par Noctor, 2002).

Une analyse de plusieurs composants de l'état redox chez cat2 a montré des effets spécifiques au niveau du pool de glutathion. Non seulement ce pool est plus oxydé chez cat2 par rapport au sauvage mais également beaucoup augmenté, sans doute grâce à une néo-synthèse (Queval G, 2007 ; cité par Noctor, 2002). Les chercheures explorent actuellement les facteurs liant H_2O_2 et induction de la synthèse de glutathion, réponse qui

suggère que la concentration en glutathion peut jouer un rôle important dans la régulation de la réponse au H_2O_2. Parmi les transcrits fortement induits chez cat2 se trouvent ceux codant les protéines PR. Cette induction est nettement plus importante en jours longs, conditions qui permettent l'enclenchement de la mort en réponse au stress oxydatif. L'expression des protéines PR est connue pour être liée (1) à l'acide salicylique ; (2) au statut de thiols cellulaires, notamment le glutathion (Dron M, 1988 ; et Gomez, 2004 ; cité par Noctor, 2002). Non toutes dernières observations montrent que la mort cellulaire chez cat2 en jours longs n'est pas observée si la synthèse d'acide salicylique est éteinte. Ceci démontre clairement qu'il est possible de découpler stress oxydatif et mort cellulaire, autant par des mutations secondaires que par des conditions environnementales (jours courts).

Le sujet est conçu, d'abord, pour comprendre les interactions entre H_2O_2 et glutathion lors des stress. L'importance de la concentration en glutathion dans la réponse au stress oxydatif est toujours à élucider (Noctor, 2002) alors que le rôle physiologique de la glutathion réductase cytosolique reste toujours énigmatique, le travail permettra également d'étudier les interactions entre production du H_2O_2 par une voie intracellulaire (la photo respiration) et génération extracellulaires par les NADPH oxydases, la recherche au sien de l'équipe de révertants par criblage génétique permettra la production d'une banque de mutants altérés dans leur réponse au H_2O_2, l'analyse effectuée dans le cadre de la thèse de lignées intéressantes générées par mutagénèses secondaire pourrait par la suit aboutir a l'identification de gènes impliqués dans la réponse au H_2O_2 (par exemple), par clonage positionnel. Pour les mutants particulièrement intéressants il sera possible, ultérieurement de nettoyer le T-DNA cat2 par croisement avec le sauvage et donc de tester le rôle des gènes identifiés dans la réponse aux stress externes.

Attia et al, (2008), pour l'identification et la diversification de la production des plantes d'intérêt médicinal bien adaptées aux conditions contraignantes des milieux arides (salinité, sécheresse, fortes températures, etc…) On proposé d'étudier, dans les réponses au sel de deux variétés basilic (*Ocimum basilicum*), à grandes et à petites feuilles, en utilisant des critères physiologiques et biochimiques. Les activités enzymatiques antioxydantes sont déterminées sur des plantes cultivées dans les mêmes conditions stressantes, afin de rechercher des marqueurs de stress cellulaire liés aux effets

osmotiques et nutritionnels du sel. Les résultats révèlent une stimulation de l'activité SOD au niveau des feuilles, plus importante chez la variété à grandes feuilles que celle à petites feuilles, et une diminution des activités POX et CAT aussi bien dans les feuilles que dans les tiges, chez les deux variétés de basilic.

II-5-3 Les anti–oxydants non enzymatique

II-5-3-1 La vitamine C

La vitamine C empêche l'oxydation. Lors de son oxydation en acide déshydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Chen et al 2000).

II-5-3-2 La vitamine E

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possèdant des activités biologiques identiques à celle de la famille des tocophérols, la forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α, β, γ, δ avec une activité antioxydant variable.

L'alpha–tocophérol (α–TocH) est la forme active de la classe des tocophérols, sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophobe. Il est admis que les radicaux tocophérols sont régénérés par l'acide ascorbique et que, sans cette synergie, les tocophérols sont inactifs (Carr et al, 2000).

Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire. L'α–Och, connu comme inhibiteur de la propagation lipidique (Evans, 2002) cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical Ro_2 et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection (Khalil, 2002).

II-5-3-3 Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont, avec la chlorophylle et les anthocyanes, les pigments les plus répondus dans la nature (Edmond, 2003). Sont une classe de composés photochimiques très importante, trouvés dans les légumes en fruits, carotte, poivrons, oranges, empêchant les dommages oxydants (Mohammedi, 2006). Le B-carotène (vitamine A) et les caroténoïdes ont en général un intérêt supplémentaire ; la désactivation de l'oxygène singulet (Lagadic et al, 1997).

II-5-3-4 Les polyphénols

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensembles de plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classe chimiques, qui présentent toutes un point commun, la présence dans leur structure d'un moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonction hydroxyle (OH). Les représentants les plus nombreux (plus de 5000 molécules isolées) et les plus connus en sont les « flavonoïdes, les anthocyanes, et les tanins » (Lavid et al., 2001; Hennebrelle et al, 2004).

Les polyphénols sont fréquemment rencontrés dans les racines, écorce, bois, de fruits et de graines de nombreuses plantes de Salvia, Calium, Kadsura et Artemisia (Lu and Foo, 2002 ; cité par Veselova.MV et al, 2007).

II-5-4 Le rôle des métabolites secondaires dans la résistance des plantes aux stress oxydatif

Les molécules aux pouvoirs antioxydants s'interposent et protègent les cellules des radicaux libres en les empêchant d'exercer leur action toxique. Certaines molécules issues du monde végétal ont une efficacité antioxydante démontrée scientifiquement. Les tocophéroles, stérols, vitamine C, ainsi que des polyphénols comme les acides phénoliques et leurs esters ou les flavonoïdes. Ces métabolites secondaires présentent des propriétés antioxydantes, anti-radicalaires, voire antiprolifératives ou anti-ostéogénèses qui permettent à la cellule de réguler son stratut rédox ou des désordres métaboliques.

En tête du palmarès de ces molécules se trouvent les polyphénols. Constitués de plus de 4000 composés, les polyphénols ont une action antioxydante plus importante que les vitamines, même si leur mode d'action se rapproche de celui de la vitamine C (Anonyme, 2008).

Les polyphénols végétaux ont d'abord été étudiés pour leurs effets protecteurs contre les pathogènes, bactéries ou virus qui infectent la plante, ou le rayonnement UV. Souvent présents en grande quantité dans les plantes consommées par les herbivores, ils limitent leur appétence et digestibilité. Ils ont donc été pendant longtemps considérés comme des facteurs antinutritionnels (Scalbert, 2000 ; Arnaud et al, 2001).

Le thé vert est un des produits intéressants en raison de sa forte concentration en polyphénols. Les feuilles contiennent des quantités appréciables de composés biologiquement actifs qui possèdent de puissantes propriétés anti-oxydantes.

Les polyphénols de raisin constituent les plus puissants antioxydants et anti-radicalaires du monde végétal, les composés phénoliques à savoir les nithocyanes, resvératrols et flavonoïdes sont formés dans les grains de raisin et s'accumulent principalement dans les pépins et la pellicule. Les polyphénols de raisin biologique sont aussi très riches en anthocyanes et en tanins.

Ziouti et al, (1998) ; cité par Bessas et al, (2008), ont étudié l'implication des composés phénoliques du palmier dattier dans la réaction de défense de cette plante contre le bayoud, maladie infectieuse due à un champignon tellurique *fusarium oxysporum f. s p* et ils ont étudié aussi les résultats relatifs à l'effet de l'inoculation par l'agent pathogène sur la composition phénolique et sur les enzymes d'oxydation. Ces composés pourraient contribuer dans la défense du palmier puisque l'insolubilisation des phénols dans les parois cellulaires participe au renforcement et à la rigidification de celles-ci qui deviennent alors moins dégradables par les parasites (Tan et al, 1992 ; cité par Bessas et al, 2008).

En tant qu'antioxydants, tous les polyphénols des végétaux sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence sous l'action des stress environnementaux (Scalbert, 2000 ; Arnaud et al, 2001).

Le rôle essentiel des polyphénols végétaux est de lutter contre les agressions de l'oxygène en particulier.

Deux classes de flavonoïdes sont présentes dans les graines d'*Arabidopsis thaliana:* les procyanidines résultant de la condensation de sous-unités flavane-3-ols (épicatéchine) et les flavonols. Bien que les principales étapes de la biosynthèse des flavonoïdes soient bien caractérisées, les mécanismes fins de la régulation ainsi que la polymérisation et la compartimentation des PAs restent inconnues.

A ce jour, de nombreuses études ont montré que les flavonoïdes étaient capables d'influencer, de façon positive ou négative selon les cas, les qualités agronomiques, nutritionnelles et industrielles des semences. Les flavonoïdes présents dans les téguments ont un rôle physiologique important. Ils augmentent la longévité des semences en les

protégeant contre divers stress biotiques et abiotiques, renforcent la dormance tégumentaire et limitent les fuites de métabolites à l'imbibition. Leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et imperméabilisantes sont probablement impliquées dans ces effets biologiques protecteurs.

Lavid et al, (2001), démontrent la co-localisation des péroxydases et des polyphénols dans l'épiderme des glandes de (*Nymphaea*) par histochimie. Les polyphénols de cette espèce sont impliqués dans la chélation de Cr, Hg, et Pb in vitro. Ils démontrent aussi la polymérisation des polyphénols dans les feuilles exposées au Cd in vivo. Les polyphénols et les peroxydases se trouvent avec un taux important lors de l'exposition à la lumière et au stress métallique. Ces auteurs proposent que la polymérisation des polyphénols par les peroxydases se fait pour piéger les métaux lourds et la détoxification.

La potentialisation des réactions de défense du dattier vis-à-vis de son agresseur est discutée dans le travail de (Jaiti et al, 2008) qui porte sur l'étude et l'élicitation des mécanismes de défense des jeunes plants du palmier dattier vis-à-vis de la maladie du bayoud causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa). Le complexe Aoufous qui est un mélange de champignons autochtones constitué de plusieurs Genres de spores endomycorhiziennes avec une forte abondance du Genre *Glomus* (15 spores/g de sol) et *Sclerocystis* (9 spores/g de sol) s'est révélé le plus efficace en terme d'amélioration de la croissance des plantes et de réduction de la sévérité de la maladie du Bayoud comparé aux autres champignons endomycorhiziens utilisés. L'effet protecteur de ces champignons a été corrélé à l'induction amplifiée de nombreuses réactions de défense impliquant les peroxydases, les polyphénoloxydases et les composés phénoliques, notamment les dérivés hydroxycinnamiques non constitutifs.

Mentha pulegium L. (Lamiaceae) est largement utilisée dans la médecine traditionnelle et dans les industries pharmaceutiques, phytopharmaceutiques et agroalimentaires, et ce en raison de sa capacité de produire des composés phénoliques et des huiles essentielles. Karray-Bouraoui et al, (2008) montrent l'influence des conditions environnementales et de leur interaction sur le contenu des organes aériens en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins condensés) et sur leurs activités antioxydantes. Leur résultats ont révélé une forte dépendance de ces que la capacité de la menthe à supporter la salinité des eaux d'irrigation et des sols soit liée à une aptitude à

contrôler l'absorption et le transport du sodium dans ses organes ainsi qu'à une activité antioxydante suffisante pour se protéger contre les dommages oxydatifs.

La pourriture racinaire due à *P. myriotylum* est la principale cause de la baisse de production du macabo (*X. sagittifolium*) au Cameroun. Malgré les méthodes de lutte biologiques et chimiques, cette maladie gagne du terrain et devient un sérieux handicap pour les agriculteurs. Pour lutter contre cette maladie et éviter l'utilisation abusive des fongicides, le concept de prémunition par les traitements par des microorganismes non pathogènes ou des substances biologiques et/ou chimiques est une voie alternative. L'objectif de ce travail est d'évaluer dans un environnement contrôlé le potentiel activateur de deux produits biologiques: le chitosane et le Benzo (1, 2, 3) thiadiazole-7-carbothionic acid-s-méthyl ester (BTH) sur certaines réactions de défense du macabo vis-à-vis de *P. myriotylum*. L'application foliaire du chitosane ou du BTH (0,2 mg.ml-1) 5 jours avant infection des racines des jeunes plantules de macabo ne montre aucun effet sur les feuilles et les racines, mais augmente considérablement les activités peroxydasiques (POD), polyphénoloxydasiques (PPO) ainsi que les teneurs en phénols et en peroxydes d'hydrogène (H_2O_2), qui sont connus pour leurs rôles importants dans la défense des plantes. L'analyse qualitative (HPLC) des composés phénoliques montre trois isomères de position de l'acide caféoylshikimique chez les espèces blanches stimulés et infectés et absents chez les espèces jaunes excepté en condition de stimulation. Un dérivé flavonoïde présent dans les racines saines du plant jaune disparaît après traitement (Hermann et al, 2008).

Amari et al, (2008), dans leur étude présentent la maladie des raies noires (MRN) causée par *Mycosphaerella fijiensis* qui est la contrainte majeure en bananeraie. Ce parasite nécrotrophe produit des métabolites toxiques dont la juglone. L'évaluation des variétés au champ ayant montré leur comportement différentiel, l'utilisation de cultivars partiellement résistants ou résistants se présente comme la solution prometteuse notamment pour les petits producteurs qui manquent de moyens. Par ailleurs, utiliser la juglone comme éliciteur apporterait des réactions similaires a celles de l'agent pathogène. Ainsi, il a donc été envisagé par ces chercheurs d'élucider la réaction d'hybrides de bananiers en cours d'évaluation dans les conditions naturelles de Côte d'Ivoire par des infiltrations de juglone à différentes concentrations au niveau de la face inférieure des feuilles de bananiers sensibles et hybrides. La réaction des plantes pour l'induction de nécroses, la libération d'électrolytes, la photosynthèse et la mobilisation des composés phénoliques a été évaluée. Le gradient de sensibilité a été établi en déterminant l'intensité de nécrose 48 heures après les infiltrations. La conductivité de chaque solution a été mesurée puis le taux d'intégrité cellulaire des rondelles foliaires a été calculé. La teneur en

phénols totaux libres a été déterminée après 12, 24 et 48 h. Les hybrides ont montré une plus grande résistance à la toxine que les cultivars de référence sensibles. Chez les variétés sensibles, la juglone à 12 ppm a été suffisante pour l'apparition des nécroses contre 50 ppm chez les hybrides. L'ordre de sensibilité à la juglone établi à partir des taux de réduction de la teneur en chlorophylles et d'inhibition de l'activité chloroplastique, est presque conforme à celui du comportement des bananiers au champ. Ces paramètres photosynthétiques permettent de comprendre davantage le mode d'action de la toxine qui aurait des propriétés auto-oxydatives. Cependant, l'évaluation de la sensibilité à la juglone en rapport avec la libération d'électrolytes, a révélé un classement moins intéressant des génotypes. Contrairement aux hybrides, chez les cultivars beaucoup sensibles, la production maximale de phénols est plus lente, soit 48 h après infiltration de la juglone. En outre, suite à l'infiltration de la toxine dans les feuilles en survie sur les plantes, la combinaison des paramètres évalués pour l'induction de nécroses et la mobilisation de phénols peut constituer une bonne stratégie de sélection des bananiers résistants à la MRN à partir de la juglone.

Conclusion

Conclusion

La survie des plantes dans leur habitat résulte de leurs capacités adaptatives en réponse non seulement aux variations climatiques, mais également aux stress abiotiques et biotiques qu'elles subissent. Cette adaptation qui peut impliquer des mécanismes de co-évolution à l'échelle interspécifique, dépend aussi des potentialités des individus à s'opposer à ces contraintes. Les végétaux ont la particularité de présenter un important métabolisme secondaire, il synthétise un grand nombre de substances chimiques appelées métabolites secondaires, qui trouvent leur origine dans les produits du métabolisme primaire. Leur rôle n'est pas bien établi, mais il semblerait que certaines de ces molécules possèdent les fonctions précisées comme pigment ou substances de signal (attraction d'insectes, pollinisateurs) phytohormones, substances de défense (insectes, herbivores, stress oxydatif) ou précurseur de synthèse.

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et pro oxydants en dominance de ces derniers. Pour contrebalancer ce déséquilibre, la plante d'une grande variété de défense enzymatique ou non enzymatique, extracellulaire, membranaires ou intracellulaire une fois ces systèmes échouent, le stress oxydatif provoque des altérations sur les biomolécules essentielles (lipide, ADN, protéines)

Parmi ces antioxydants, des peroxydases, catalase et le glutathion jouent un rôle important dans leur protection par élimination des radicaux libres provoqués par les différents stress.

Les substances secondaires étudiées dans nôtre recherche théorique, comme substance antioxydante chez les plantes présente un rôle important dans la lutte contre le stress oxydatif provoqué par les facteurs environnementaux. Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux différents stress.

LISTE DES REFERENCES

- **Anca.H, Ovidui. T, Eugen.U, Lucian.N, (2006) :**L'infuence des nitrates et des nitrites sur les activités de la catalase et de la peroxydase au cours de la germination des grains de Triticum aestivum. Université Alescandra Joan Cuza. PP : 66.
- **Arnand. B, Martin. L, Eric. L, (2001):** Traité de Nutrition chimique de l'adulte, Flammarion Médecine sciences. Laboratoire des maladies métaboliques et micronutriments, INRA, centre de recherche de Clermont-Ferrand/Theisc. PP : 165-177.
- **Anonyme, (2008)** : Complément alimentaire ; édition janvier.
- **Asayama. K, Burr. IM, (1985):** Rat superoxide dismutase. Purification. Labling immunossay and tissue concentration. J. Biol. Chem. Vol (4) PP: 221.
- **Attia.H, Karray-Bouraoui.N, Ellili.A, Lachaâl.M,(2008) : Aspects physiologiques et biochimiques de la réponse au sel du basilic (*Ocinum basilicum*).** XIes Journées Scientifiques du réseau "Biotechnologies végétales / Amélioration des plantes et sécurité alimentaire" de l'Agence universitaire de la Francophonie., Agrocampus Rennes. Rennes, France.
- **Audrey. C, (2007):** Analyse du transcriptome des réponses de défense de l'algue brune *Laminaria digitata.* L'institut des sciences et industries du vivant et de l'e nvironnement-Agro Paris Tech-Doctorat de l'institut National Agronomique Paris-Grignon. PP: 248.
- **Avram, Vladislav. E, (2003)** : 'Etude de l'oxydation du glutathion en présence d'acide linoléique et l'oxygène par les lipoxygénases de blé, de fève ou de soja. Mémoire d'ingénieur Cnam-Spécialité sciences et techniques du vivant.
- **Baaziz. M, Majourhat.K, (2004)** : Diversité et caractéristiques des peroxydases foliaires du palmier-dattier. Congrès international de biochimies. Marrakech. Maroc. PP: 153, 154.
- **Balandrin. M.F, J.A, Wertele. E.S, Bollenger. W.H, (1985):** Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal- J. science 228:1145-1161.

- **Belafrites. R, Benhabiles. N, Bensaada. S, (2008):** La cytométrien flux : application dans le cas du stress oxydatif et l'apoptose. Université de Jijel- Faculté des sciences. PP : 17, P : 47.memoire de Belafrites.R, Benhabiles. N et Bensaada. S.
- **Ben naceur. M, Rahmoune. C, et Dellaa. Y, (2004) :** les peroxydases sont des indicateurs et tolérance au stress salin chez l'eucalyptus au stade de la germination. Séminaire International Ecologie Environnemental Urbaine : Etat actuel et perspective-Constantine. PP : 15-17
- **Bessas .A, Ben moussa. L, Kerarma. M, (2008):** Dosage biochimique des polyphénols dans les dates et le mile récoltés dans le sud Algérien. Université Djillali Liabes-Sidi BelAbbes-I-E en biologie, option contrôle de qualité et analyse. Mémoire de Bessas. A, Ben moussa. L et Kerarma. M.
- **Borg. J, Reeber, (2008) :** Biochimie métabolique. 2em édition ellipses. Paris P : 264, PP : 285. ISBN 978-2-7298-3972-7.
- **Bruneton.J, (1993) :** Pharmacognosie phytochimie plantes médicales, technique et documentation lavoisier. Paris. P : 134. ISBN 2-85206-911-3.
- **Caroline. J, (2003) :** stress oxydant au niveau des plaquettes sanguines Humaines dans le contexte du diabète étude du glutathion et de la glutathion peroxydase 4 n=03 ISAL 0024. L'institut National Des Sciences Appliquées De Lyon.
- **Carr. A. C, Zhu. B. Z, Frei. B, (2000):** Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and Alpha-Tocopherol (vitamin E). Cirs Res, vol 7 (5): 349-354.
- **Chen. K, Suh.J, Carr.A.C, Morrow. J.D, Zeind. J, Frei. B, (2000):** Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron over load, J. physiol. Endocrinal Metab, vol 279 (6) : 1406-1412.
- **Edmond.R, (2003):** Stress oxydant, micronutriments et santé. Université d'été de nutrition. P: 40.
- **Evan.** W. J, (2002): Vitamin E, Vitamin C and Exercise. AMJ. Clin Nutr, 72: 647-652.
- **Fasla.B, Zeghada.F, Marouf.A, Ben naceur.M, (2008) :** Activités allélopathique, antimitotique et génotoxique de *Tetraclinis articulata* **(Mast) Vahl.** XIes Journées Scientifiques du réseau "Biotechnologies végétales / Amélioration des plantes et sécurité alimentaire" de l'Agence universitaire de la Francophonie., Agrocampus Rennes. Rennes, France.

- **Favier. A, (2003):** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Annales de biologie chimique. PP : 108-115.
- **Faycel. S et Kara. N, (2008) :** Le rôle des antioxydants dans la résistance aux stress biotique et abiotique chez les grandes cultures. Université de jijel. Faculté de science. PP : 28, 29, 31. Mémoire de Faycel. S et Kara. N.
- **Gerhard. R, (1993) :** Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. Presses polytechnique et universitaire romandes CH. Lausanne. PP : 317-321.
- **Guignard. J. L, (2000) :** Les métabolites secondaires In Biochimie végétale. Paris. PP : 161, 177, 178. ISBN 2100 485 482.
- **Gutteridge. JMC, (1997):** Invited review free radicals in disease processes: a copilation of cause and consequence. < Free. Rad. Res. com>. PP 19 :598-620.
- **Halliwell. B, Gutteridge. JMC, (1999a):** Free radicals in biology and medicine. In Halliwell. B, Gutteridge JMC, eds, 1999a PP: 1, P: 543.
- **Hamlat N., A.Hassani.(2008) :** Analyse des flavonoïdes présents dans les feuilles du lentisque par les méthodes chromatographiques. XIes Journées Scientifiques du réseau "Biotechnologies végétales / Amélioration des plantes et sécurité alimentaire" de l'Agence universitaire de la Francophonie., Agrocampus Rennes. Rennes, France.
- **Hennbelle. T, Sahpaz. S et Bailleul. F, (2004) :** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Laboratoire de pharmacognosie, Faculté des sciences Pharmaceutiques et Biologiques, BP 83,59006 Lille Cedex, France.
- **Hermann. D, Buobda.M, Thaddée Boudjek.O, Fepi. L, Denis. N, Omokol. O, El hadrami.I, (2008) :** Evaluation du potentiel activateur de deux produits biologiques sur le système de défense naturels du macabo (*Xanthosoma sagittifolium*) vis-à-vis de *Pythium myriotylum* XIes Journées Scientifiques du réseau "Biotechnologies végétales / Amélioration des plantes et sécurité alimentaire" de l'Agence universitaire de la Francophonie. 30 juin-3 juillet, Agrocampus Rennes. Rennes, France.
- **Hopkins. W. G, (2003) :** Molécules et métabolismes In physiologie végétal. De Boeck et Lacier (S.a). PP : 268-282. ISBN 2-7445-0089-5.
- **Houd. M, (2009) :** Les aspects moléculaires de la tolérance de la toxicité a l'aluminium et au stress oxydative chez les végétaux. Université du Québec à Montréal.

- **Jaiti.F, Meddich.A, et El Hadrami. I, (2008) :** Interaction Palmier dattier-*Fusarium oxysporum albedinis* : Elicitation et étude des mécanismes de défense. XIes Journées Scientifiques du réseau "Biotechnologies végétales / Amélioration des plantes et sécurité alimentaire" de l'Agence universitaire de la Francophonie., Agrocampus Rennes. Rennes, France.

- **Judd. W, Camphell. C, Kellogg. E, Steven. P, (2002):** Relation phylogénétique entre les angiosperms In Botanique systématique (ed) de Boeck université (s.a) paris. PP 326-328 ISBN 2-7445-0123-9.

- **Julve. PH, (2004) :** Index botanique, écologie et chorologique de la flore de France, PP : 01.

- **Karray-Bouraouia.N, Hamrounia.H, Mokdedb.R, Attiaa.H, Ksourib.R, Lachaâ.M, (2008)** : Effets des conditions environnementales et du stade de développement sur les capacités antioxydantes chez *Mentha pulegium* L. XIes Journées Scientifiques du réseau "Biotechnologies végétales / Amélioration des plantes et sécurité alimentaire" de l'Agence universitaire de la Francophonie., Agrocampus Rennes. Rennes, France.

- **Khalil. A, (2002):** Mécanisms of the protective effect of vitamin against ather oxlerpsis. Can. J, physiol pharmacol. vol (80) (7):662-669.

- **Lacan.B (2001):**oxidant/antioxidants:un équilibre important.PP :3.

- **Lagadic.L,Caquet.H,Amiord.J-C , Ramade. F, (1997) :** Biomarqueures ecotoxicologie aspects fondamentaux . Masson paris PP : 125,147 :165-178.

- **Laloue.H et Guillemant.P. (SD) :** Effets des xenobiotiques sur les ascorbates et galiacol peroxydases des plantes enzymes de détoxication. Université de strasbourg.

- **Mezzetti. A, Pier domenico .S.D, Costontini. F, Romano.F , De Cesare. D, Cuccurullo. F, Imastro. T, Riario-Sforza. G, Di Giacomo. F, Zuliani. G, Fellin. R, (1998):** Cooper/ Zinc radio and systemic degenerative diseases, free radic Biol Med. Vol (25) (6):676-681.

- **Michel. N, (2008) : Hormones et résistance des plantes** XIes Journées Scientifiques du réseau "Biotechnologies végétales / Amélioration des plantes et sécurité alimentaire" de l'Agence universitaire de la Francophonie. **30 juin-3 juillet, Agrocampus Rennes. Rennes, France.**

- **Raven. PH, Evert.RF, Eichhorn.SE, (2007):** Biologie végétale. De Boeck et Laciers (s, a). Université-paris. PP: 187,698 P: 733.

جامعة جيجل
مكتبة الكلية

- **Scalbert. A, Williamson. G, (2000):** Dietary intake and biovailability of polyphenols. Laboratoire des maldies metboliques et micronutriments, INRA, Centre de recherche de Clermont- ferrand / Theix .
- **Veselova..U.V, Fedoreev. S.A, Vasilevskaya. N.A, Denisenko.V.A, and Gerasimenko.V.A,(2007) :** Medicinal plants. Antioxidant activity of polyphénols from the far-east plant *(taxus cuspidate)*. Translated from khimiko-farmatsevticheskii.Vol(41)(2). PP: 29-34.
- **Wolters. M, Herman. S, Katz. N, Halm. A, (2005):** Selenium and antioxidant vitamin status of elderly german women. Eur. J.chin. vol (24).

Liste des references d'internetes

- **Afoulous S, (2008) :** Modulation de l'expression de rédoxine chez les céréales et réponse au stress oxidatif [en ligne], Toulous, disponible sur : <physiologie.entv.fr/master OQSA/IMG/pdf/mémoire-Samia Afoulous>.
- **Lavid.N, Schwartz.A, Yarden.O, Tel-Or.E, (2001):** The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epidermal glands of the waterlily (Nymphaeaceae). Planta. Volume 212, Number 3. 323-331.Springer Berlin / Heidelberg. 0032-0935 (Print) 1432-2048 (Online).
- **Mohammedi. Z, (2006):** Etude de pouvoir antimicrobien et antioxidant des huiles assentielles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen [en ligne]. Université abou bakr belkaid Tlemcen. PP : 24. disponible sur <Biologie- univ-mas.fr / upload / p210 / 01-stress oxygatif M1-fin>.
- **Noctor. G, (2002) :** Analyse des voies de signalisation du H2O2 dans la réponse au stress chez Arabidopsis. Université paris. <Graham. Noctor @ a-psud.fr>.

جامعة جيجل
مكتبة
الكلية

التلخيص:

مواد الأيض الثانوي هي مركبات من أصل نباتي مستخلصة من مواد الأيض الأولي هي ذات أهمية كبيرة و فعالة في مكافحة الإجهادات التي تتعرض لهل النباتات مثل البكتيريا, الحرارة, الملوحة, الجفاف....الخ.

من خلال الدراسة النظرية التي تمنا بها في هدا العمل تطرقنا إلي آليات إنتاج الأنواع الفعالة للأكسجين و مضادات الأكسدة التي تلعب أيضا دور في التخلص من الجذور الحرة للأكسجين.

الكلمات المفتاحية: أيض ثانوي, إجهادات, مضادات الأكسدة, إنزيمات, الأنواع الفعالة للأكسجين .

Résumé :

Les métabolites secondaires sont des composés d'une origine végétales, sont des métabolites actifs pour la défense des plantes aux différents facteurs stressant (Bactérie, virus, température, salinité, sécheresse.....etc.).

Notre recherche théorique nous avons permis d'étudies les mécanismes de production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les mécanismes antioxydants comme les peroxydases, glutathion et la catalase qui jouent un rôle dans l'élimination des radicaux libre de l'oxygène.

Mots clés : métabolites secondaires, stress, antioxydant, glutathion, peroxydase, catalase, ERO.

Abstract:

Secondary metabolites are compounds of plant origin, are active metabolites for the defense of plants to stressful factors (bacteria, viruses, temperature, salinity, drought etc ... .).

Our theoretical research permits the study of many different mechanisms of production of reactive oxygen species (ROS) and antioxidant mechanisms such as peroxidase, catalase and glutathione. They play a role in eliminating free radicals of oxygen.

Keywords: secondary metabolites, stress, antioxidant, catalase, peroxidase, glutathione, ERO.