**ACTIVITE DE LA GAÏACOL PEROXYDASE DU BLE TENDRE AU COURS DU STRESS HYDRIQUE**

**Mahrez Slimani et Brahimi Feghouli**

*Faculté des Sciences Naturelles, Université d’Alger.*

*Email : docetat@gmail.com*

Tel : +213555090812 Fax : +21321245567

**Résumé**

Les semences utilisées ont été collectées à partir de la région de Dar Dhaoui (33°17’E, 10°46’N), appartenant à l’étage bioclimatique subsaharien. Le semis a été réalisé dans des pots sous conditions contrôlées. À l’âge de trois mois, ces plantules ont été soumises au déficit hydrique par arrêt d’irrigation pendant 30 jours en mesurant le niveau du stress tous les 5 jours. Les résultats obtenus ont montré que le stress hydrique a entraîné une réduction de la production de biomasse, une diminution du potentiel hydrique foliaire et du continu relatif en eau surtout pour un stress de 30 jours. Afin d’éviter leur déshydratation et maintenir leur turgescence interne, les plantes stressées ont réagis par l’accumulation de proline et de sucres solubles. L’évaluation de la réponse antioxydante, a montré une augmentation de la teneur en acide ascorbique et de l’activité de gaïacol peroxydase dès le début du déficit hydrique, alors que les teneurs en polyphénols et en α- tocophérol sont amplifiées seulement pour un déficit hydrique sévère (30 jours). L’étude anatomique a montré une réduction du diamètre des vaisseaux du xylème et une diminution de la surface des cellules du mésophylle et la présence de cellules bulliformes élargies, qui est une adaptation significative contre la perte d'eau. À la lumière de ces résultats, *S. lagascae* présente une tolérance élevée vis-à-vis du stress hydrique. Il nous semble intéressant d’identifier la limite de tolérance de *S. lagascae* en augmentant la durée du déficit hydrique ; de mesurer les paramètres photosynthétiques et la fluorescence chlorophyllienne et d’évaluer l’activité d’autres enzymes.

1. **Introduction**

Parmi les enzymes anti-oxydantes, les peroxydases (EC 1.11.1.7) jouent un grand rôle dans la détoxification en régulant le niveau de H2O2 intracellulaire. Chez les plantes supérieurs, le nombre d’isoenzymes peut être très élevé, plus de 40 gènes correspondant à des isoperoxydases pour chaque plante plusieurs autres isoformes peuvent être générés par des modifications post-transcriptionnelles et post-traductionnelles. La gaïacol (ou guaiacol) peroxydase (GPOX) est un groupe important de peroxydase qui oxyde le gaïacol (omethoxyphenol) utilisé en tant que substrat réductant. Elle appartient à la classe de glycoprotéines. Cette enzyme est localisée dans différents compartiments cellulaires (parois, mitochondries, membranes, cytosol, vacuoles) et participe dans de nombreux processus physiologiques comme le développement des plantes, la sénescence, la biosynthèse des lignines, l'organogenèse via la dégradation de l'AIA et la biosynthèse de l'éthylène. Grâce à son importante capacité à éliminer les formes actives d'oxygène, la GPOX intervient dans les conditions de stress (Albert et Anderson, 1987). En effet, cette enzyme consomme le H2O2 en utilisant le gaïacol ou le pyrogallol comme donneur d'électrons selon la réaction suivante:

2H2O2 + 4 gaïacol (2méthoxy phénol) Tétragaïacol + 8H2O

****

1. **Matériel et méthodes**

**2.1 Matériel végétal :** Dans cette étude, nous avons utilisé le blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Le stress hydrique a été induit par un arrêt d’arrosage.

**2.2 Principe:** L’activité de la gaïacol peroxydase (GPOX) est déterminée selon la méthode de MacAdam *et al.* (1992) légèrement modifiée. Cette activité est mesurée par une technique colorimétrique basée sur l’augmentation de l’absorbance à 470 nm due à lapolymérisation du gaïacol en tétragaïacol (oxydation) donnant une coloration orangée en présence de peroxyde d’hydrogène (H2O2).

L’activité de la GPOX sera mesurée au niveau de plantules de blé tendre (*Triticum aestivum)* en conditions normales et en condition de stress de déficit hydrique.

* 1. **Extraction de l’enzyme:**

Elle est réalisée à partie de 100 mg de matière végétale fraîche par 2 ml de tampon phosphate potassium (KH2PO4/K2HPO4)à 0.1 M pH 6.5, dans de la glace. Après une centrifugation de 15 min à 12000 tr/min à 4° C, le surnageant (l’extrait enzymatique) est récupéré et maintenu au froid jusqu’à l’utilisation.

* 1. **Mesure de l’activité :**

Dans une cuve : A 100 µl de l’extrait enzymatique, sont ajoutés :

- le mélange réactionnel constitué de 2.5 ml du même tampon phosphate utilisé pour l’extraction

- 50 µl d’une solution de gaïacol (36 mM)

- 50 µl de H2O2 à 6 % (Correspondant à 10 mM).

La réaction débute dés l’addition de 100 µl d’extrait enzymatique au mélange réactionnel. L’activité est suivie en fonction du temps. La variation de la DO est mesurée, à 470 nm, chaque 30 secondes pendant quatre minutes.

L’activité enzymatique est exprimée en µmoles de gaïacol oxydées par minute et par mg de protéines, en utilisant le coefficient d’extinction molaire du tétragaïacol (ε=26.6 mM-1 cm-1).

1. **Résultats et discussion**

**3.1 Résultats**

**3.2 La germination**

La mise en germination des graines de *Leucaena leucocephala* a permis de donner les résultats suivants :

Les tests de germination des graines de l’espèce *Leucaena leucocephala*, réalisés sur des milieux contenant de 0 à 30 g.L-1d’acétate de plomb, montrent une diminution de la capacité de germination en fonction des concentrations croissantes en métal et ce à partir d’un certain seuil.

 La diminution du taux de germination est significative à partir de 1 à 3 g.L-1d’acétate de plomb avec une germination moyenne de 50 % des graines contre 80 à 90 % pour les témoins. La germination n’est pas totalement inhibée (5 %) à une concentration d’acétate de plomb de 30 g.L-1 (fig. 9).

**Figure 1 :** Capacité germinative des graines en fonction des différentes concentrations en chlorure de cadmium après 7 jours d’exposition.

**3.2 Les pigments photosynthétiques**

La teneur en chlorophylle totale pour les plantes stressées par les deux métaux plomb et cadmium montre une augmentation de + 21.05 % pour le plomb et + 7.01 % pour le cadmium par rapport au témoin (fig.15).

**Figure 2:** Effet du plomb et du cadmium sur la teneur en chlorophylle totale.

**3.3 Capacité anti-oxydante totale non enzymatique**

Nos résultats montrent qu’il y a une augmentation significative de la capacité anti-oxydante non enzymatique par rapport au témoin avec un taux de variation de + 193.01 % pour plomb et + 200.12 % pour le cadmium dans les conditions stressantes (fig.19).

**Figure 19 :** Effet du plomb et du cadmium sur la capacité anti-oxydante totale non enzymatique

1. **Conclusion**

L’objectif de ce travail était d’étudier les effets des métaux lourds (plomb et cadmium) sur l’installation (germination et croissance) d’une espèce légumineuse ligneuse *Leucaena leucocephala* et d’étudier quelques paramètres physiologiques et biochimiques.

Les tests de germination des graines de l’espèce *Leucaena leucocephala*, réalisés sur des milieux contenant des concentrations de 0 à 30 g.L-1 d’acétate de plomb et sur des milieux contenant des concentrations de 0 à 30 g.L-1 de chlorure de cadmium montrent une diminution de la capacité de germination en fonction des concentrations croissantes en métaux.

Un effet néfaste du cadmium et du plomb est observé sur l’allongement racinaire puisque les mesures des radicules montrent une diminution progressive avec les concentrations croissantes par rapport au témoin. De même, pour la croissance linéaire, une diminution est notée pour nos plantules par rapport aux témoins.

**Références bibliographiques**

Abbaz I., Deroues N. et Zerkout A. (2014). Impact de la pression édaphique sur la biodiversité. Université des Sciences et de le Technologie Houari Boumediene, Faculté des Sciences Biologiques, 38 p.

Adriano D.C. (1986). Trace elements in the terrestrial environment. 219- 262.

Bonnard M. (2010). Relations « biodisponibilité-génotoxicité-écotoxicité » des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les sols de friches industrielles. Thèse de Doctorat d’Etat, Université Paul Verlaine, 175 p.

Djebbar R. (2016). Test pour évaluer European Journal of Scientific Research. Thèse de doctorat d’état, 231.

Cecchi M. (2008). devenir du plomb dans le système sol-plante : Cas d’un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (Fève et Tomate).Thèse de doctorat d’état, 190 p.

Das P., Samantaray S., et Rout G.R., (1997). Studies on cadmium toxicity in plants: A review. Environ. Pollut. 98 : 29-36.

Eshghi Malayeri.B (1995).Décontamination des sols contenant des métaux lourds à l'aide de plantes et de microorganismes. Thèse de doctorat d’état, 83 p.

Gaëlle Uzu. (2009) Comment préparer une bonne chorba pour le ramdhan. J. El Watan, 23/02/2016, p. 2.

Juste C., Chassin P., Gomez A., Linères M. et Mocquot B., (1995). Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduaires des stations d’épuration urbaines. Convention Ademe / I.N.R.A. Contrat INRA n° 22/92.039-contrat Ademe n° 2750007.

Moussaoui.D. (2015) Contribution à l'étude morphométrique de Leucaena leucocephala (Lam.) dans la région d'Adrar. Université Abou Bakr Belkaid–Tlemcen, 56 p.

Vanobberghen F(2010). Evaluation du potentiel d’assainissement des sols Contaminés en métaux lourds,Universite Libre de Bruxelles , 91p.

Vernay P., Austruy A., Gauthier-Moussard C., et Hitmi A. (2009). Germination et fonctionnement du système photosynthétique des végétaux comme bioindicateurs de pollution des sols. Laboratoire de Physiologie et de Biotechnologies Végétales, IUT de Clermont-Ferrand, Université d’Auvergne, 100, rue de l’Egalité, 15000 Aurillac - France. Étude et Gestion des Sols, Volume 16, 3/4, 2009 - pages 349 à 357.

Zorrig W. (2011). Recherche et caractérisation de déterminants contrôlant l'accumulation de cadmium chez la laitue "Lactuca sativa". Thèse de doctorat. Université Tunis al manar, 262 p.