

## L'effet des nanoparticules ZnO sur les paramètres physiologiques et biochimiques chez le blé dur (*Triticum turgidum ssp. durum*)

### [ The effect of ZnO nanoparticles on the physiological and biochemical parameters in durum wheat (*Triticum turgidum ssp. durum*) ]

Nadia CHIAHI<sup>1</sup>, Manel BOULOUDENINE<sup>2</sup>, Nour el houda DAIRA<sup>3</sup>, Nesrine GUERFI<sup>3</sup>, and Louhichi BRINIS<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'amélioration génétique des plantes, Faculté Sciences de la Nature et de la Vie Université BADJI Mokhtar, UBM, Annaba, Algeria

<sup>2</sup>Faculté de Sciences de l'ingénieur, Université Mohamed Cherif MESSAADIA, Département de physique, Souk Ahras, Algeria

<sup>3</sup>Faculté des sciences de la nature et de vie, Université Mohamed Cherif Messaadia, Souk Ahras, Algeria

<sup>4</sup>Laboratoire amélioration génétique des plantes, Faculté Sciences de la Nature et de la Vie, UBM, Annaba, Algeria

Copyright © 2016 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** In this study we were interested in assessing the impact of ZnO nanoparticles and their effects on physiological and biochemical parameters of durum wheat (*Triticum turgidum ssp. durum*).

The impact of ZnO is evaluated in three wheat varieties (Boussallem, Gtadur and Ouarsenis) varieties are represented by V1, V3 V2et through a range of physiological and biochemical parameters made in the laboratory.

The selected varieties were exposed to increasing concentrations of ZnO nanoparticles (0.01 mg / ml, 0.05mg / ml, 0.1mg / ml, and 0.5mg / ml).

Preliminary results show that the presence of ZnO-based NPs can have a stimulating effect as inhibitor concentration and the effect studied parameter:

1. Effect concentration and a reduction of the levels of chlorophyll (chlo a, chlo b) induced by exposure to low concentrations.
2. The presence of the nanoparticles resulted in oxidative stress resulting in the accumulation of Lipoperoxydes (MDA) recorded in all varieties studied after exposure to different concentrations.
3. Furthermore varietal effect contributed much of the remaining variation in parameters related to ROS (carotenoids, APx and CAT).

**KEYWORDS:** Nanoparticles, ZnO, oxidative stress, durum concentrations, plant species.

**RESUME:** Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'effet des nanoparticules à base de ZnO sur les paramètres physiologiques et biochimiques du blé dur (*Triticum turgidum ssp. durum*).

L'impact du ZnO est évalué chez trois variétés de blé (Boussallem, Gtadur et Ouarsenis), les variétés sont représentées par V1, V2et V3 grâce à une gamme de paramètres physiologiques et biochimiques réalisés au laboratoire.

Les variétés choisies ont été exposés à des concentrations croissantes des nanoparticules de ZnO (0,01mg/ml, 0,05mg/ml, 0,1mg/ml, 0,5mg/ml).

Les résultats préliminaires montrent que la présence des nanoparticules à base de ZnO peuvent exercer un effet stimulant qu'inhibiteur selon l'effet concentration et le paramètre étudié :

1. Effet forte concentration ainsi qu'une réduction des teneurs en chlorophylles (chlo a, chlo b) induite par l'exposition aux faibles concentrations.
2. La présence des nanoparticules a provoqué un stress oxydant se traduisant par l'accumulation d'une Lipoperoxydes (MDA) enregistrée chez toutes les variétés étudiées suite à l'exposition aux différentes concentrations.
3. D'autre part un effet variétal a beaucoup contribué dans la variation des paramètres restants liés aux ROS (caroténoïdes, APx et CAT).

**MOTS-CLEFS:** Nanoparticules, ZnO, stress oxydant, blé dur, concentrations, espèce végétale.

## 1 INTRODUCTION

Les nanotechnologies représentent aujourd'hui **un enjeu économique majeur**, et tous les grands pays développés y investissent des sommes de plus en plus importantes. Les nanoparticules constituent un champ de recherche riche en potentialités pour de nouvelles applications dans les domaines les plus divers tels que les matériaux, la santé, l'énergie, l'agroalimentaire, le transport pour n'en citer que quelques-uns. Les nanoparticules sont étudiées à travers le monde dans des centaines de laboratoires et d'entreprises pour mettre à profit leurs propriétés physico-chimiques, les caractéristiques de leur échelle nanométrique et développer ainsi de nouvelles applications. La mise sur la marche de produits contenant des nanomatériaux est passée de 54 en 2005 à 1317 en 2011 (**Daniel J. Fiorino 2010**).

De plus les connaissances actuelles des effets concernant les NPs manufacturées sur les végétaux s'avèrent relativement limitées. Parmi ces études récentes nous citons ceux de (**Yang, L et al. 2005**) ; qui ont étudié l'impact des nanoparticules d' $Al_2O_3$  sur plusieurs espèces végétales (maïs, concombre, soja, le chou et la carotte....), d'autre part (Lin. D et all 2007), ont étudié l'impact des NPs de ZnO sur la germination des graines de radis ainsi (**Racuciu, M et al 2009**) ont réalisés des études sur divers végétaux (maïs, pavot, chélideoine, courgette), et (**Khodakovskaya, M et al 2009**) ont déterminés l'impact des nanotubes de carbone sur les graines de tomate (*Lycopersicon esculentum*) , colza, ray-grass, de la laitue et concombre.

Dans le cadre de l'évaluation des sols pollués, **les effets génotoxiques et systèmes de détoxification** chez la fève (*Vicia faba*) ont été déterminé par (**Foltete, AS, 2010**).

Pour les travaux qui ont étudiés l'effet de nanoparticules de ZnO , une étude sur l'ail (*Allium sativum*) a été réalisée par (**Shaymurat. T, et al 2011**), de même **Hernandez-Viezcas et al , 2011**). Qui ont déterminés les effets de (ZnO) sur velours mesquite (*Prosopis juliflora-velutina*), (**Boonyanitipong. P et al 2011**) qui se sont intéressés aux effets de nanoparticules ZnO et de dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>) sur le riz (*Oryza sativa L.*), de plus (**Larue, C. 2011**), qui a étudiée l'impact des nanoparticules de TiO<sub>2</sub> et nanotubes de carbone sur blé tendre et colza.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre contribution et il s'agit de mettre en évidence l'impact des NPs de synthèse (ZnO) sur le blé dur ainsi notre choix s'est porte sur trois(03) variétés de blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *Durum*).

## 2 MATERIEL ET METHODES

### 2.1 MATÉRIEL PHYSIQUE

Les nanoparticules de ZnO ont été synthétisées par la méthode de Co-précipitation, qui est largement utilisée pour la fabrication de ce type de matériau. Cette méthode est simple, moins coûteuse et ne demande pas de dispositifs compliqués (**Bouloudenine M., 2006**).

Les nanoparticules de ZnO pur ont été manufacturées au laboratoire d'étude et de Recherche des états condensés (LEREC), Equipe « Synthèse et caractérisation des Nanostructures à Base de ZnO pour des Applications Technologiques » (SCNAT), Département de Physique, Université Badji Mokhtar de Annaba-Algérie-.

La caractérisation de la poudre nanométrique a été réalisée au sein de l'Université Mohamed Kheider-Biskra-, Algérie.



Figure 01 : Poudre du ZnO pur

## 2.2 MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Le matériel biologique utilisé pour la réalisation de la partie expérimentale est le blé dur (*Triticum turgidum ssp. Durum*). Trois variétés différentes ont été choisies :

Boussallem V1 Gtadur V2 et Ouarsenis V3 : cultivées sous les mêmes conditions de culture à la ferme pilote Yousfi Tayeb (Souk Ahras-Algérie) durant l'année 2012.

## 2.3 PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

### 2.3.1 MISE EN SUSPENSION DES NANOPARTICULES DE ZNO

En vue de leur utilisation pour les tests biologiques, les nanoparticules de ZnO sont mises en suspension dans de l'eau ultra pure (PH 5,5). Les suspensions mères sont toujours préparées dans les mêmes conditions. Pour la réalisation de l'essai nous avons choisi quatre concentrations croissantes de ZnO «C1= 0,01mg/ml, C2= 0,05 mg/ml, C3= 0,1 mg/ml, C4= 0,5 mg/ml ». La dispersion des nanoparticules dans l'eau est réalisée par un agitateur magnétique, l'utilisation de ce dernier sert à briser les liaisons faibles entre les particules.



Figure 02: Mise en suspension des NPs du ZnO

Les graines sont stérilisées à l'aide de l'hypochlorite de sodium à 2,5 % pendant 5 min puis rincées six fois avec de l'eau distillée.

Les variétés sont cultivées sous les conditions du laboratoire avec une photopériode jour/nuit de 11h/13h (Mars et Avril 2013), et des températures comprises entre 16-22°C.

## 2.4 PARAMÈTRES PHYSIOLOGIQUES

### 2.4.1 TENEUR EN PIGMENTS ASSIMILATEURS

L'extraction des pigments des feuilles (**chlo a**, **chlo b** et **caroténoïdes**) de plantules exposées aux nanoparticules de ZnO est réalisée par la méthode de (Holden, 1975), Les teneurs en pigments sont déduites aux absorbances des longueurs d'onde 470, 645, et 663 nm d'après les formules de Moran (**Moran, R. 1982**).

## 2.4.2 PARAMÈTRES BIOCHIMIQUES

### 2.4.2.1 EVALUATION DU STRESS OXYDANT

Les mesures du stress ont été réalisées après exposition de plantules de blé aux concentrations des nanoparticules de ZnO pendant 7 jours.

### 2.4.2.2 DETERMINATION DE L'ACTIVITE DES ENZYMES ANTIOXYDANTS

L'extrait des racines fraîches de blé exposé aux nanoparticules a été utilisé, la méthode adoptée est celle de (Loggini, F. 1999).

### 2.4.2.3 DOSAGE DES PROTÉINES

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode Bradford (Bradford, 1976) la lecture s'effectue après réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tableau 01 : Gamme d'Étalonnage

Tube	1	2	3	4	5	6
Quantité de solution mère de BSA ( $\mu$ l)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée ( $\mu$ l)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité de BSA ( $\mu$ l)	0	20	40	60	80	100

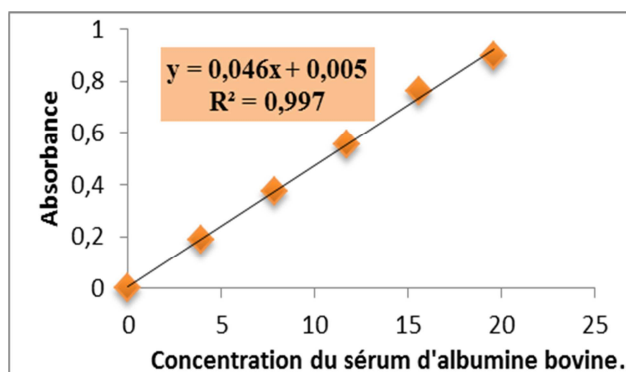


Figure 03 : Dosage des Protéines : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la concentration du sérum d'albumine Bovine ( $R^2$  = Coefficient de régression)

### 2.4.2.4 DETERMINATION DE L'ACTIVITE DE L'ASCORBATE PEROXYDASE (APX).

L'Ascorbate Peroxydase catalyse la réaction suivante :



Le dosage par spectrophotométrie de l'activité Ascorbate Peroxydase (APX) est réalisé suivant le protocole adopté par Nakano et Azada, 1987. Le volume réactionnel est formé de 3 ml contenant :

**Tableau 02: Protocole Utilisé pour le Dosage de l'Activité De l'Ascorbate Peroxydase (APX)**

	Le volume réactionnel (µl)	Blanc (µl)
Tampon Phosphate NaK-ascorbate (50mM NaK..0.5mM Ascorbate , PH=7.2)	2850	2850
Extrait enzymatique	100	/
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> à 3% (juste avant la lecture)	50	50
Eau Distillé	/	100

L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique.

L'absorbance a été mesurée par spectrophotomètre (JENWAY 6300), à 290 nm pendant 1min, pour un coefficient d'extinction molaire linéaire  $\epsilon = 2800 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . L'activité de l'APX a été exprimée en n mol / min / mg de protéine.

#### 2.4.2.5 DETERMINATION DE L'ACTIVITE DE LA CATALASE

La catalase est une enzyme cytosolique inductible dont la fonction est de protéger les systèmes biologique contre les espèces réactives de l'oxygène. Il s'agit d'une hémoprotéine tétramérique qui avec un atome de fer par sous unité, a une masse d'environ 240KDa (**Vaughan, M., 1997**).

Elle est présente dans toutes les cellules aérobies, elle catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène gazeux par dis mutation selon la réaction suivante :



L'absorbance a été mesurée par spectrophotomètre à 240 nm pendant 1min, pour un coefficient d'extinction molaire linéaire ( $\epsilon = 39400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) due à la consommation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> suivant la méthode (**Cakmak, I et al 1991**). La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant 02 minutes.

Le volume réactionnel est formé de 3 ml contenant:

**Tableau03 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité de la Catalase**

	Le volume réactionnel (µl)	Blanc (µl)
Tampon Phosphate (50mM, pH=7.2)	2850	2850
Extrait enzymatique	100	/
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> à 3% (juste avant la lecture)	50	50
Eau Distillé	/	100

La réaction est déclenchée par l'ajout d'eau oxygénée, l'activité catalase est exprimée en nmol/min/mg de protéines.

#### 2.4.2.6 ANALYSE DES LIPOPEROXYDES MEMBRANAIRES : DOSAGE DE MALON DIALDEHYDE (MDA)

La peroxydation des lipides est estimée par l'évaluation de la teneur en Malon dialdéhyde (MDA) déterminée selon la méthode décrite par (**Alia, K.V et al 1995**)

L'homogénéisation du tissu végétal dans l'acide trichloracétique (TCA) 5% à raison de 3ml pour 300 mg de tissu est suivie d'une centrifugation pendant 15 mn à 12 000 g. Au surnageant est ajouté un volume égal d'acide Thio barbiturique (TBA) 0,5% dans le TCA 20%. Le mélange est chauffé dans un bain marie à 95°C pendant 30 min. Pendant cette incubation, un complexe se forme entre le TBA et les composés aldéhydiques, essentiellement le Malon dialdéhyde (MDA) : TBA-MDA. La réaction est arrêtée par un refroidissement immédiat dans un bain de glace.

Après centrifugation à 10 000 g pendant 10 min, le surnageant est récupéré pour un dosage colorimétrique des Lipoperoxydes.

Le dosage est effectué à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY 6705). L'absorbance du complexe TBA-MDA est mesurée à 532 nm contre un blanc constitué de tampon d'extraction. La densité optique est corrigée par une lecture à 600 nm. La concentration de MDA est calculée en utilisant son coefficient d'extinction molaire ( $\epsilon = 155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

$$X = \frac{\Delta Do}{155} + \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines)

$\Delta Do$  : Différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

155 : coefficient d'extinction molaire du TBA ( $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

Vs : Volume de surnageant utilisé pour le dosage : 31.5 (ml).

Vt : Volume totale dans la cuve : 3 ml

mg de protéine : Matière végétale fraîche (g).

### 3 ANALYSE STATISTIQUE DES RÉSULTATS.

L'analyse statistique des données réalisées dans la partie expérimentale, a été effectuée à l'aide du logiciel Statistica (version 8; Stat Soft Inc, 2008) avec implication de risque  $\alpha = 0,05$ .

Pour cela le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour comparer l'effet des différentes concentrations chez les variétés. Cette comparaison a été complétée par le test Z de Post Hook.

#### 3.1 PARAMÈTRES PHYSIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES

Tableau N° 4 : Comparaison des médianes des paramètres physiologiques et biochimiques analysés avec les 05 concentrations chez V1

Paramètres	H <sub>obs.</sub>	ddl	P
Chlorophylle a	13,03	4	0,011 S
Chlorophylle b	12,83	4	0,012 S
Caroténoïdes	13,50	4	0,009 S
CAT	7,76	4	0,101 NS
APX	9,63	4	0,047 S
MDA	11,73	4	0,019 S

NB : s ( $p \leq 0,05$ ) ; ns ( $p \geq 0,05$ )

Tableau N° 5: Comparaison des paramètres physiologiques et biochimiques analysé avec les cinq concentrations chez V2

Paramètres	H <sub>obs.</sub>	ddl	p
Chlorophylle a	12,53	4	0,014 S
Chlorophylle b	12,83	4	0,012 S
Caroténoïde	13,23	4	0,010 S
CAT	13,50	4	0,009 S
APX	8,23	4	0,08 NS
MDA	11,07	4	0,02 S

NB : s ( $p \leq 0,05$ ) ; ns ( $p \geq 0,05$ )

Tableau N° 06 : Comparaison des de la quantité des paramètres physiologiques et biochimiques analysé avec les cinq concentrations chez V3

Paramètres	H <sub>obs.</sub>	ddl	p
Chlorophylle a	12,83	4	0,012 S
Chlorophylle b	12,83	4	0,012 S
Caroténoïde	12,90	4	0,012 S
CAT	12,17	4	0,016 S
APX	12,17	4	0,016 S
MDA	10,63	4	0,031 S

NB : s ( $p \leq 0,05$ ) ; ns ( $p \geq 0,05$ )

- \* Concernant les paramètres **physiologiques** la comparaison des médianes a révélé des **différences significatives** entre les témoins et les traitées chez les trois variétés pour les teneurs en **pigment assimilateurs**.
- \* Par contre pour les paramètres **biochimiques** analysés à part l'accumulation du **MDA** chez l'ensemble des variétés, des différences non significatives entre **témoin** et **traitées** vis-à-vis de l'activité de la **CAT** et l'**APx** ont été remarquées au sein de certains lots de semences il s'agit surtout des semences **V1** et **V2**.

### 3.2 IMPACT DES NPs DU ZNO SUR LES PARAMÈTRES PHYSIOLOGIQUES DU BLÉ DUR

#### 3.2.1 3.2.1. EFFET DES NANOPARTICULES DU ZNO SUR LES TENEURS EN PIGMENTS ASSIMILATEURS

##### 3.2.1.1 TAUX DE CHLOROPHYLLE a

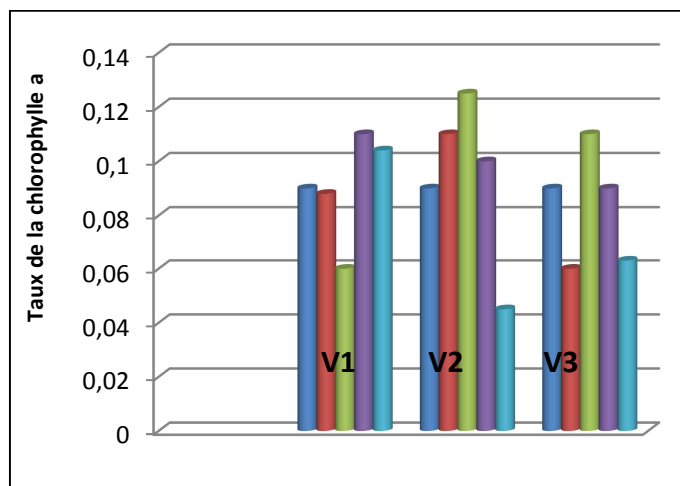


Figure04 : Effet des NPs du ZnO sur Le taux de la chlorophylle a mesuré chez les trois variétés exposées aux différentes concentrations

La figure 04 ; illustre l'effet des nanoparticules du ZnO sur le taux de la chlorophylle a. Les résultats statistiques révèlent des différences significatives entre les témoins et les quatre concentrations du ZnO au niveau de trois variétés **V1**, **V2** et **V3**.

- Une **augmentation** appréciable du taux de **chlo a** enregistré aux concentrations intermédiaires (0,05mg/ml et 0,1mg/ml) des Nps. Et **diminution** de ce même taux à la forte concentration (**0,5 mg/ml.**) marquées chez **V2** et **V3**.
- En revanche chez **V1** l'**augmentation** du taux de **chlo a** même aux fortes concentrations des nanoparticules atteignant jusqu'à  $0.12 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ .

##### 3.2.1.2 TAUX DE CHLOROPHYLLE b

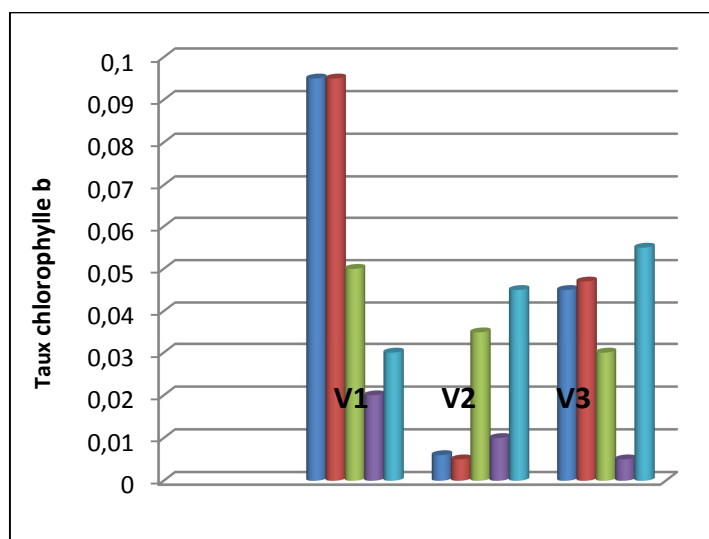


Figure 05: Effet des NPs du ZnO sur le taux de chlorophylle b chez trois variétés exposées aux différentes concentrations

La figure 05, présente l'effet des nanoparticules du ZnO sur le taux de la chlo b.

Les résultats statistiques révèlent des différences significatives entre les témoins et les quatre concentrations du ZnO au niveau de trois variétés V1, V2, V3.

Concernant V1 à l'exception de la plus faible concentration n'induisant aucun effet, une chute du taux de Chlo b a été enregistrée aux autres concentrations chez les variétés.

Surtout au niveau de la V2 où la concentration chute de  $0,06 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$  vers  $0,002 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ .

### 3.2.1.3 TAUX DE CAROTÉNOÏDES

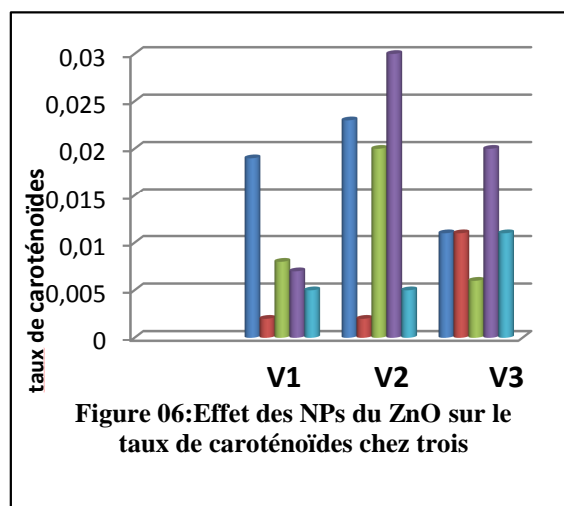


Figure 06: Effet des NPs du ZnO sur le taux de caroténoïdes chez trois

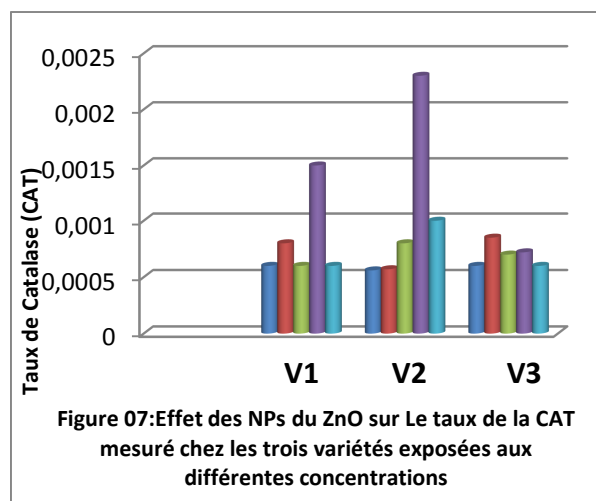


Figure 07: Effet des NPs du ZnO sur Le taux de la CAT mesuré chez les trois variétés exposées aux différentes concentrations

La figure 06, illustre l'effet des nanoparticules du ZnO sur le taux des caroténoïdes. Les résultats statistiques révèlent des différences significatives entre les témoins et les quatre concentrations du ZnO au niveau de trois variétés V1, V2, V3.

En général diminution du taux de caroténoïde après une exposition aux Nps de ZnO surtout à la faible concentration atteignant un taux de  $0,002 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$  par rapport au témoin  $0,019 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$  au niveau de la faible concentration ( $0,01 \text{mg/ml}$  du ZnO) chez V1 et V2, et élévation de ce même taux à la concentration intermédiaire  $0,1 \text{mg/ml}$  chez V2 et V3.



### 3.3 IMPACT DES NPS DU ZNO SUR LES PARAMÈTRES BIOCHIMIQUES DU BLÉ DUR

#### 3.3.1 EFFET DES NANOPARTICULES DU ZNO SUR LES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES

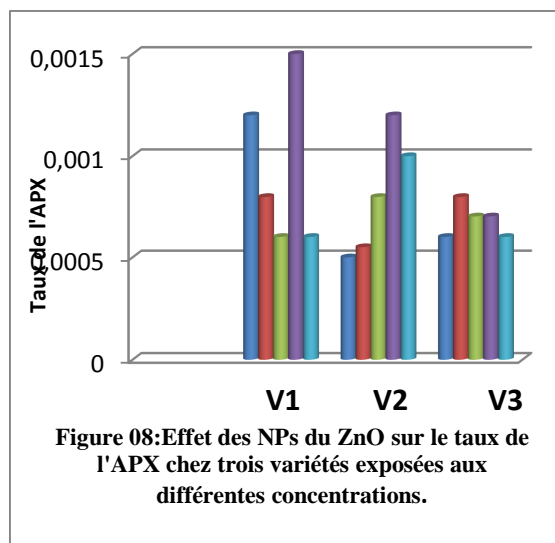
##### 3.3.1.1 TAUX DE CATALASE (CAT)

La figure 07 ; présente l'effet des différentes concentrations des nanoparticules du ZnO sur l'activité de **CAT** mesuré chez trois variétés du blé dur.

Nous constatons que chez la variété **V1** existe des différences **non significatives** entre le témoin et les traitées, tandis que chez les variétés **V2, V3**, nous remarquons des différences significatives.

Concernant les résultats significatifs nous avons remarqué une **forte augmentation de l'activité de catalase** chez **V2 et V3**, qui passe de 0,00052 nmol/min/mg au niveau du témoin à 0,0024 nmol/min/mg avec la concentration de **0,1mg/ml** des NPs chez la V2 ; De même l'activité de catalase de la V3 tend à augmenter à partir de la **faible concentration** de 0,01 mg/ml.

##### 3.3.1.2 TAUX ASCORBATE PEROXYDASE (APX)

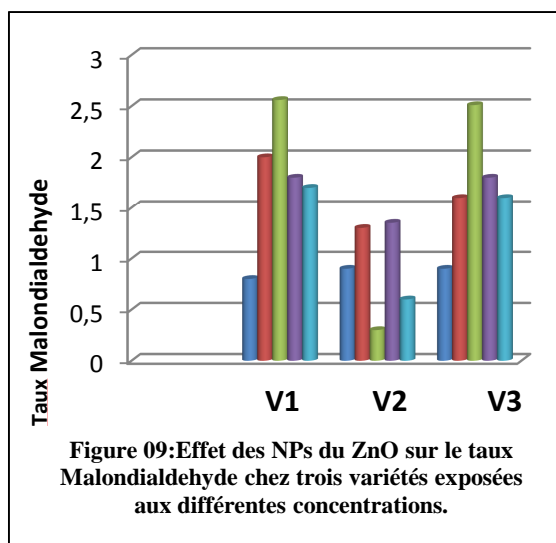


La figure 08 : illustre l'effet des nanoparticules du ZnO sur l'activité de l'Ascorbate Peroxydase. Les résultats statistiques révèlent des différences significatives entre les témoins et les quatre concentrations du ZnO au niveau de deux variétés **V1** et **V3** par contre chez **V2** nous avons enregistré **des différences non significatives** entre le témoin et les traités.

Chez **V3** l'activité de l'APX subit une **augmentation** surtout à la **faible concentration** (0.01mg/ml), où l'activité de l'enzyme passe de 0,0006 nmol/min/mg pour les témoins à 0,0083 nmol/min/mg.

En revanche chez V1 nous remarquons une **augmentation** de l'activité de l'APX uniquement au niveau de la **concentration 0.1mg/ml**.

### 3.3.1.3 TAUX DE MALON DIALDEHYDE (MDA)



La figure 09, présente l'effet des nanoparticules du ZnO sur la variation du taux de la Malon dialdéhyde (MDA) le principal produit de la peroxydation des lipides mesuré chez trois variétés du blé dur exposées à des concentrations différentes des NPs.

- Les résultats statistiques révèlent des différences significatives entre le témoin et les traitées au niveau de chaque variété. Nous constatons que le taux de MDA est augmenté, chez V1 aux différentes concentrations d'ailleurs nous avons enregistré une élévation passant de 0,85 nm/min/mg pour le témoin à 2,56 nm/min/mg pour une concentration de 0,05mg/ml des NPs.
  - De la même façon pour V2 le taux de MDA tend à augmenter pour la plus faible concentration enregistré par rapport au témoin.
- Chez V3 nous avons enregistré un taux de 0,89 nm/min/mg en absence des nanoparticules et une élévation atteignant 2,51 nm/min/mg lors de l'exposition à une concentration de 0,05mg/ml.
- En effet l'exposition du blé dur aux nanoparticules du ZnO avec des concentrations minimales (0,01mg/ml, 0,05mg/ml et 0,1mg/ml) provoque l'augmentation de MDA qui indique l'augmentation du mécanisme de la peroxydation lipidique.

## 4 DISCUSSION

Cette discussion a pour objectif de faire la synthèse des résultats obtenus.

- ✓ Les nanoparticules peuvent se retrouver dans tous les compartiments environnementaux (eau, sol, air). Par conséquent, l'ensemble des espèces de la chaîne alimentaire, peut être exposé aux nanoparticules (**Angélique, S-D. 2008**).
- ✓ L'impact des nanoparticules métallique est dû à leurs formes, d'autres études ont révélé que la toxicité des nano-objets était fonction de la taille ou de l'état d'agglomération (**Simon-Deckers, A., et al 2009**). Ainsi, les conditions expérimentales différentes peuvent également induire des résultats de toxicité différents (**Simon-Deckers, A., et al 2009**).
- ✓ D'autres études suggèrent un effet de la dissolution des nanoparticules, notamment pour les (**Zhan, G. D.;et al 2003**), la toxicité proviendrait de la libération des ions  $Zn^{2+}$ . Cette toxicité des nanoparticules métalliques à base de ZnO sera comparée à celle des ions  $Zn^{2+}$  apportés.
- ✓ Dans ce travail, nous avons étudié l'impact des nanoparticules de ZnO sur trois échantillons de variétés de blé dur (Boussallem GTA, Dur et Ouarsenis).
- ✓ Cette étude nous a permis de mettre en évidence les relations entre les concentrations des nanoparticules de ZnO et les effets qu'elles induisent.

#### 4.1 IMPACT SUR LES PARAMETRES PHYSIOLOGIQUES

- Concernant la **Chlo a**; les nanoparticules de ZnO, en général les **fortes concentrations** ont induit l'augmentation du taux de **chlo a** chez les trois variétés au contraire les faibles concentrations ont provoqué la **diminution** de ce même taux.
- Le taux de la **Chlo b** montre une **diminution** de ce pigment chez les trois variétés suite à une exposition aux nanoparticules de ZnO.
- la variation **du taux des Carot** chez les trois variétés suite à une exposition aux différentes concentration.de la même manière que pour les chlorophylles l'exposition à **la plus faible** concentration **0,01mg/ml** provoque une forte diminution du taux des Carot. Tandis que chez la V2 le taux des Carot tendent à augmenter au niveau de la concentration intermédiaire **0,1mg /ml**.
- Les caroténoïdes sont parmi les antioxydants non enzymatiques et **l'élévation** du taux de ces pigments indique que l'organisme (plantule de blé) subit un déséquilibre au niveau de la balance Red-Oxe (surproduction des espèces réactives à l'oxygène). Pour se fait le taux des Caroténoïdes est **augmenté** pour éliminer les ERO.

#### 4.2 IMPACT SUR LES PARAMÈTRES BIOCHIMIQUES

- Les résultats concernant les effets des nanoparticules ZnO sur l'activité de la catalase, montre **une légère augmentation** du taux de cette enzyme antioxydant mesuré chez les semences de deux variétés **V2 et V3** suite à une exposition aux concentrations de ZnO, à l'exception d'une seule concentration qui a induit une **très forte activité de cette enzyme**.
- Notre résultat sur la variation de **l'activité peroxydase** mesurée chez les semences de blé exposées aux nanoparticules de ZnO, est similaire à ceux de **(Hernandez-Viezcas, J.A.,et al 2011)**, qui ont déterminés une **augmentation** du taux de l'enzyme de la peroxydase chez **Velvet mesquite** à une concentration de 400mg/ml de ZnO. Par contre dans notre étude l'augmentation du taux de la peroxydase est enregistrée à partir de **faible concentrations** de 0,01mg/ml chez V3. Et à **0,1mg/ml** de ZnO chez les semences de V1. D'autre part aucun effet n'a été enregistré chez la variété V2.
- Concernant l'impact des nanoparticules de ZnO sur **le taux de MDA**, nous avons enregistré une **augmentation considérable** du taux de MDA surtout chez les semences de V1 aux différentes concentrations. Mais pour V2 et V3 nous avons constaté que l'augmentation a été provoquée par certaines **concentrations**. (Faibles et moyennes concentrations).

### 5 CONCLUSION

Le développement des nanotechnologies et de leurs utilisations, aura très certainement pour conséquence une **augmentation** de la concentration en nanoparticules dans l'air, l'eau et le sol. Ils pourront donc atteindre les écosystèmes.

A cet égard, nous nous sommes penchés sur l'étude de l'impact des nanoparticules du ZnO sur les végétaux qui sont un lien entre les trois compartiments air-sol-eau en raison de leur localisation à la base de la chaîne trophique. Il est donc essentiel de s'intéresser aux conséquences d'une contamination aux nanomatériaux sur ce chaînon.

Dans le cadre de cette contribution nous avons réalisé une étude toxicologique des nanoparticules de type ZnO sur **les semences de trois variétés de blé dur** (*Triticum turgidum* ssp. *durum*), (Boussalem V1 , Gtadur V2 et Ouarsenis V3), dont le but est l'évaluation de l'impact d'une série de concentrations des NPs de ZnO (**0,01, 0,05, 0,1, 0,5 mg/ml**) sur des paramètres physiologiques (pigments assimilateurs) et des paramètres biochimiques (CAT, APX, et MDA) à travers l'étude préliminaire de **l'impact des nanoparticules** de synthèse sur les paramètres physiologiques et les paramètres biochimiques du blé dur, nous avons abouti aux résultats suivants :

- Les teneurs en Chlorophylles a, b et Caroténoïdes ont subi des variations d'une variété à l'autre et en fonction des concentrations par **la diminution** du contenue en chlorophylle b un effet bénéfique a été remarqué par **l'augmentation** du contenue de chlorophylle a surtout à la forte concentration et en caroténoïdes aux concentrations intermédiaires.
- L'activité catalase (CAT) **varie différemment** d'un échantillon à l'autre, et se manifeste par **l'augmentation** de son activité chez les plantules de semences **V2 et V3** à partir de faibles concentrations des NPs testées. Chez les plantules de variété Boussallem aucune activité n'a été exercé par les NPs (pourrions-nous parler ici **d'un effet variétale** chez Boussallem?).
- Concernant l'activité APX des concentrations différentes en nanoparticules testées provoquent **l'augmentation** du taux de l'APX pour les plantules de deux lots de semences.

Les variétés exposées aux différentes concentrations des nanoparticules de ZnO ont subi une **élévation** du taux de Malondialdéhyde.

- A. Les résultats préliminaires de cette étude suggèrent que les nanoparticules de ZnO ont des **effets bénéfiques** à de faibles concentrations, une **augmentation** du contenu en chlorophylle a et l'expression de l'activité de l'enzyme antioxydant catalase et du MDA, et **des effets négatifs à de fortes concentrations** qui se manifestent par **la diminution** de la teneur en chlorophylles a et b), et la variation du taux de caroténoïdes et de l'activité de l'APx (**élévation /diminution, l'expression ou non**).
- B. Ces derniers résultats **signifient** que les nanoparticules de synthèse du ZnO améliore les paramètres physiologiques aux **faibles** concentrations et manifestent certaines activités anti oxydantes (enzymatique et non enzymatique) au contraire les **fortes** concentrations altèrent beaucoup ces mêmes paramètres.
- C. Il existe donc une **relation** entre les concentrations de nanoparticules appliquées et les réponses de lots de semences testées vis-à-vis des paramètres mesurés.

La variabilité entre les lots de semences indique une meilleure **tolérance** génotypique, **Exemple : La variété Boussallem a manifesté des réponses différentes vis-à-vis des autres variétés.**

## REFERENCES

- [1] **Alia, K.V.S.K.** Prasad and PardhaSaradhi, P. (1995). Effect of zinc on free radicals and proline in Brassica and Cajanus. *Phytochemistry*42 (1) : 45-47.
- [2] **Boonyanitipong, P.**, Kositsup. B, Kumar. P, Baruah.S, and Dutta.J (2011). Toxicity of ZnO and TiO<sub>2</sub> Nanoparticles on Germinating Rice Seed *Oryza sativa* L. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, Vol. 1, No. 4:282-285 .
- [3] **Bouloudenine M., (2006)**. Thèse de Doctorat en Physique des Semi-conducteurs, Université. Badji Mokhtar Annaba.- Algérie- P.134.
- [4] **Bradford, M.M. (1976)** A dye binding assay for protein. *Anal. Biochem.*72
- [5] :248-254
- [6] **Cakmak, I.** and Horst, W.J. (1991). Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxidase dismutase, catalase and peroxidase activities in roottips of soybean (*Glycine max*).*Physiol. Plant*, 83: 463-468.
- [7] **Daniel J. Fiorino 2010:** Voluntary initiatives regulation and nanotechnology oversight: Charting a Path.P.56 :
- [8] [http // :www.nanotechproject.org](http://www.nanotechproject.org)
- [9] **Foltete, A-S, (2010)**. Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia faba* (Fabaceae) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués. Thèse de doctorat en Ecotoxicologie, Biodiversité, Ecosystèmes. Laboratoire des Interactions Écotoxicologie Biodiversité, Ecosystèmes. Université Paul Verlaine – Metz. 245p.
- [10] **Hernandez-Viezcas, J.A.,** Castillo-Michel, H., Servin, A.D., Peralta-Videa, J.R., Gardea Torresdey, J.L. (2011). Spectroscopic verification of zinc absorption and distribution in the desert plant *Prosopis juliflora-velutia* (velvet mesquite) treated with ZnO nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*. Elsevier B.V 170: 346–352.
- [11] **Khodakovskaya, M.** , Dervishi, E., Mahmoud, M., Xu, Y., Li, Z.,(2009). "Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth", *ACS Nano*. 3: 3221-3227.
- [12] **Larue, C. (2011)**. Impact de Nanoparticules de TiO<sub>2</sub> et de Nanotubes de Carbone sur les Végétaux. Thèse de doctorat. Spécialité : Eco toxicologie/Environnement .L'institut des Sciences et Industries.296p.
- [13] **Lin, D, Xing, B, (2007)**. "Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth", *Environ Pollut.* 150, 243 – 250.
- [14] **Loggini, F. (1999)**. Effets de deux fongicides Artea et Punch nouvellement introduits en Algérie sur la physiologie et le métabolisme respiratoire du blé dur (*Triticum durum Desf*).Thèse de Magister de l'Université Badji Mokhtar de Annaba.
- [15] **Moran, R. (1982)**. Formulas for determination of Chlorophyllous Pigments Extracted with N, NDimethylformamide.*Plant Physiology* 69(6): 1376-1381.
- [16] **Nakano Y. Azada K., 1987** -Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts: its inactivation in ascorbate depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate
- [17] radical. *Plant Cell Physiol* .28: 131-140
- [18] **Racuciu, M.,** Creanga, D. &Olteanu, Z. (2009). Water Based Magnetic Fluid Impact on Young Plants Growing. *Romanian Reports in Physics* 61(2): 259-268.

- [19] **Shaymurat. T**, JIANXIU GU, CHANGSHAN XU, ZHIKUN YANG, QING ZHAO, YUXUE L., (2011). Phytotoxic and genotoxic effects of ZnO nanoparticles on garlic.(*Allium sativum* L.): A morphological study. Centre for Advanced Optoelectronic Functional Materials Research, Northeast Normal University, Changchun, P. R. China, Early Online, *Nanotoxicology*: 1-8.
- [20] **SIMON-DECKERS Angélique (2008)**. Effet biologiques de nanoparticules manufacturées: Influence de leurs caractéristiques.
- [21] **SIMON-DECKERS Angélique. (2009)**, Loo, S., Mayne-L'HermSaite, M., Herlin-Boime, N., Menguy, N., Reynaud, C., Gouget, B. & Carriere, M. . Size-, Composition- and Shape-Dependent Toxicological Impact of Metal Oxide Nanoparticles and Carbon Nanotubes toward Bacteria. *Environmental Science & Technology* 43(21): 8423-8429.
- [22] **Vaughan, M., (1997)**. Oxidative modification of macromolecules mini reviews series. *J. Biol Chem*, pp. 272-1853.
- [23] **Yang, L., Watts, D. J.(2005)**. "Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles", *Toxicology Letters*. 158, 122-132.