

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHESCIENTIFIQUE

جامعة عبد الحميد ابن باديس مستغانم

UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS DE MOSTAGANEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département d'Agronomie

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Systèmes de Production Agro-Ecologiques

THESE PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE  
DOCTORAT LMD

Présentée par

TOUZOUT Nabil

Thème

---

**Réponses écophysiologiques des plantes cultivées aux stress  
xénobiotiques : approche expérimentale en microcosme**

---

Soutenue publiquement le 12/07/2022

Devant le jury :

Pr. Benkhelifa Mohammed	Président	Université de Mostaganem
Pr. Taibi Khaled	Examineur	Université de Tiaret
Pr. Larid Mohamed	Examineur	Université de Mostaganem
Pr. Nemmiche Saïd	Directeur de thèse	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2021-2022

## **Remerciements**

*Je remercie **Allah** de m'avoir donné le courage, la patience et la volonté*

*Tout d'abord, je tiens à remercier **mes parents** pour leur soutien constant durant ce voyage. L'aboutissement de mon programme n'aurait pas été possible sans votre aide et votre amour.*

*Je tiens à exprimer mes sincères reconnaissances à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail. Je suis grandement redevable à mon directeur de thèse, le **Pr. Saïd Nemmiche**, pour son soutien continu tout au long de ce travail, pour sa patience et ses précieuses connaissances. Sous sa direction, j'ai réussi à surmonter de nombreuses difficultés et j'ai beaucoup appris sur la recherche et la rédaction d'une thèse.*

*Je tiens à remercier **Professeur Mohamed Benkhelifa** de l'Université de Mostaganem d'avoir accepté de présider le jury de cette thèse, et le **Professeur Khaled Taibi** de l'Université de Tiaret d'avoir aimablement accepté de juger ce travail. Mes sincères remerciements s'adressent également à notre **Professeur Mohamed Larid** de l'Université de Mostaganem pour son aide et disponibilité, et d'avoir accepté de juger ce travail.*

*Je voudrais remercier toutes les bonnes personnes que j'ai rencontrées pendant mon séjour à Mostaganem. Merci également à **mes camarades**, vous m'avez tous rendu la vie agréable même dans les moments difficiles.*

## المخلص

أدى الاستخدام الواسع النطاق للمبيدات الزراعية والمعادن الثقيلة وتواجدها المتزامن إلى جعل التلوث حاضراً على نطاق واسع في النظم الزراعية. بالرغم أن هذا الأمر أصبح شائعاً. لا تزال مخاطر السمية البيئية المشتركة في النظم الزراعية غير معروفة.

يهدف هذا العمل إلى دراسة وتقييم التأثيرات الفردية والمجمعة للمبيدات الحشرية (ايميداكلوبريد و دالتميترين) والكادميوم على نمو والاستجابة الفسيولوجية والأنظمة المضادة للأكسدة الإنزيمية وغير الإنزيمية للطماطم .

شتلات الطماطم عولجت بجرعة زراعية من المبيدات الحشرية ظل ظروف مائية مع 100 ميكرو مول من كلوريد الكادميوم لمدة 7 أيام .

تظهر النتائج أن العلاج له تأثيراً كبير على نمو الشتلات. المبيدات الحشرية وحدها أو بالاشتراك مع الكادميوم خفضت بشكل كبير نمو الأوراق والجذور في الشتلات. كان هذا التقييد للنمو مصاحباً لانخفاض كبير في محتوى صبغة الأوراق (الكلوروفيل ا وب والكاروتينويد)، وكان تطبيق الكادميوم وحده أكثر سمية من المبيدات الحشرية ومع ذلك، فإن تطبيقهم المشترك أدى إلى تفاقم التأثير المثبط ويشير إلى تأثير تآزري. أدى الرش الورقي بالمبيدات الحشرية و/أو وجود الكادميوم في المحلول المغذي إلى حالة إجهاد تأكسدي تتميز بزيادة تراكم بيروكسيد الهيدروجين مصحوبة بزيادة إنتاج مقدار تأكسد ليبيدات الجدر الخلوية في أوراق شتلات الطماطم المعالجة. للتعامل مع الإجهاد التأكسدي، يمكن لشتلات الطماطم تنشيط أنظمة مضادات الأكسدة لإزالة سموم بيروكسيد الهيدروجين.

لاحظنا تغييرات أنشطة الأنزيمات المضادة للأكسدة (الاسكوربات بيروكسيداز والكتالاز والبيروكسيداز)، والتغيرات في محتويات البرولين، حمض الاسكوربات وتفعيل الأيض الفينولي يرافقه زيادة إنتاج المركبات الفينولية.

تشير نتائجنا إلى أن السمية البيئية للمبيدات الحشرية أو الكادميوم يمكن أن تتفاقم في الأنظمة الزراعية وتسبب أضراراً واضحة لنبات الطماطم. يمكن زيادة المخاطر البيئية للمبيدات الزراعية والمعادن الثقيلة عند تواجدها المتزامن.

**الكلمات المفتاحية:** مبيدات حشرية؛ ايميداكلوبريد؛ دالتميترين؛ الكادميوم؛ التلوث المشترك؛ طماطم؛ الإجهاد التأكسدي.

## Abstract

The widespread application of pesticides and heavy metals and their coexistence have made pollution widely present in terrestrial ecosystems. However, their joint eco-toxicological risks in agrosystem remain unknown. This work aims to study and evaluate the individual and combined effects of insecticide (imidacloprid (IMI) / deltamethrin DM) and cadmium on the growth, eco-physiological responses and antioxidant defense system (enzymes and metabolites) of tomato. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings are treated with an agronomic dose of insecticide (IMI/DM) under hydroponic conditions with 100 $\mu$ M cadmium (Cd) for 7 days. The results show that stress induces a significant effect on seedling growth. Insecticide (IMI/DM) alone or in combination with cadmium significantly reduces foliar and root growth in seedlings. This growth restriction is concomitant with a significant decrease in leaf pigment content (chlorophyll a, b, total and carotenoids), and the application of Cd alone was more phytotoxic than IMI/DM. However, combined action aggravated the inhibitory effect and indicates a synergistic effect. Foliar spraying of insecticide (IMI/DM) and/or the presence of cadmium in the nutrient solution resulted in the development of an oxidative stress state characterized by an enhanced accumulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> with an increase in MDA (malondialdehyde) production in the leaves of treated tomato seedlings. The activities of antioxidant enzymes (APX, CAT, POD, and GST), changes in proline, thiol and ascorbate contents and activation of phenolic metabolism (PAL) were recorded. Our results indicate that the ecotoxicity of insecticide (IMI/DM) or cadmium can be exacerbated in agrosystem and cause obvious damage to *Solanum lycopersicum*. The eco-toxicological risks of pesticides and heavy metals can be increased when they co-exist.

**Keywords:** Insecticide; Imidacloprid; Deltamethrin; Cadmium; Combined pollution; Tomato; Oxidative stress.

## Résumé

L'application généralisée des pesticides et des métaux lourds et leur coexistence a rendu la pollution largement présente dans les écosystèmes terrestres. Ceci est devenu un phénomène très préoccupant. Leurs risques éco-toxicologiques conjoints dans les agrosystèmes restent en grande partie inconnus. Ce travail vise à étudier et évaluer les effets individuels et combinés d'insecticides (imidaclopride (IMI) / deltaméthrine DM) et du cadmium sur la croissance, réponses éco-physiologique et le système de défense antioxydante (enzymes et métabolites) de la tomate. Des plantules de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), sont traitées par une dose agronomique d'insecticide (IMI / DM) en conditions hydroponiques et par 100µM cadmium (Cd) pendant 7 jours. Les résultats obtenus montrent que le stress induit un effet significatif sur la croissance des plantules. L'insecticide (IMI/DM) seule ou en combinaison avec le Cd réduit de manière significative la croissance foliaire et racinaire chez les plantules. Cette restriction de la croissance est concomitante à une diminution significative du contenu des feuilles en pigments (chlorophylle a, b, totale et caroténoïdes), et l'application de Cd seul était plus phytotoxique que l'IMI et/ou DM. Cependant, leur action combinée a aggravé l'effet inhibiteur et indique un effet synergique. La pulvérisation foliaire d'insecticide (IMI / DM) et/ou la présence du Cd dans la solution nutritive a entraîné l'installation d'un état de stress oxydant caractérisé par une accumulation accentuée de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accompagné d'une augmentation de la production de MDA (malondialdéhyde) dans les feuilles de plantules de tomate traitées. Des modifications des activités des enzymes antioxydantes (APX, CAT, POD, GST), des changements des teneurs en proline, thiols et ascorbate, et une activation du métabolisme phénolique (PAL) ont été enregistrées. Nos résultats indiquent que l'écotoxicité de l'imidaclopride, du deltaméthrine et du cadmium peut être exacerbée dans les agrosystèmes et causer des dommages à *Solanum lycopersicum*. Les risques écotoxicologiques des pesticides et des métaux lourds peuvent être augmentés lorsqu'ils coexistent.

**Mots clés :** Insecticides ; Imidaclopride ; Deltaméthrine ; Cadmium ; pollution combinée ; tomate ; stress oxydatif

# Table des matières

COMMUNICATIONS / CONFERENCES.....	1
REMERCIEMENTS .....	II
المُلخَص .....	III
ABSTRACT .....	IV
RESUME .....	V
LISTE DES TABLEAUX .....	X
LISTE DES FIGURES .....	XI
LISTE DES ABREVIATIONS .....	XII
INTRODUCTION.....	XIV

## PREMIERE PARTIE\_ SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LA POLLUTION DES AGROSYSTEMES PAR LES METAUX LOURDS .....	4
<b>1 LA POLLUTION DES AGROECOSYSTEMES PAR LES METAUX LOURDS.....</b>	<b>4</b>
1.1 CADMIUM DANS LES PLANTES.....	4
1.2 ABSORPTION DU CADMIUM .....	5
1.3 TOXICITE DU CADMIUM.....	8
1.4 CADMIUM ET METABOLISME DES FORMES REACTIFS D'OXYGENE.....	10
1.5 REPONSES DES PLANTES AU STRESS OXYDANT .....	11
CHAPITRE II : LA CONTAMINATION DE L'ENVIRONNEMENT PAR LES PESTICIDES .....	13
<b>2 LA CONTAMINATION DE L'ENVIRONNEMENT PAR LES PESTICIDES .....</b>	<b>13</b>
2.1 SOURCES DE PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT.....	13
2.2 LES TYPES DE PESTICIDES .....	14
2.2.1 <i>Les organochlorés</i> .....	14
2.2.2 <i>Les organophosphorés</i> .....	14
2.2.3 <i>Les carbamates</i> .....	15
2.2.4 <i>Les pyrèthrinoïdes</i> .....	15
2.2.5 <i>Les néonicotinoïdes</i> .....	16
2.3 DISPERSION DES PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT.....	18
2.3.1 <i>Comportement des pesticides dans le sol</i> .....	18
2.4 ABSORPTION DES PESTICIDES PAR LES PLANTES.....	19
2.5 EFFETS PHYSIOLOGIQUES DES PESTICIDES SUR LES PLANTES.....	21
2.6 REPONSES PHYSIOLOGIQUES ET MECANISMES DE DEFENSE DUS AUX PESTICIDES.....	23
2.6.1 <i>Défenses antioxydantes</i> .....	23
2.6.2 <i>Métabolisme des pesticides chez les plantes</i> .....	24
CHAPITRE III : INTERACTIONS ENTRE LA POLLUTION PAR LES METAUX ET LES PESTICIDES .....	28
<b>3 INTERACTIONS ENTRE LA POLLUTION PAR LES METAUX ET LES PESTICIDES.....</b>	<b>28</b>
LA TOMATE COMME MODELE POUR L'ETUDE DU STRESS ABIOTIQUE.....	30
PROBLEMATIQUE ET OBJECTIF DU PROJET .....	31

## DEUXIEME PARTIE\_ ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES .....	34
<b>1 LE MATERIEL VEGETAL, CONDITIONS DE CULTURE, CROISSANCE ET TRAITEMENTS .....</b>	<b>33</b>

<b>2</b>	<b>TECHNIQUES ANALYTIQUES</b>	<b>34</b>
2.1	ANALYSES PHYSIOLOGIQUES	34
2.1.1	Détermination des paramètres de croissance	34
2.1.2	Dosage des pigments photosynthétiques (chlorophylles et caroténoïdes)	34
2.2	ANALYSES BIOCHIMIQUES	34
2.2.1	Détermination des marqueurs de stress	34
2.2.1.1	Estimation du contenu en malonyldialdéhyde (MDA)	34
2.2.1.2	Estimation de la teneur en peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	34
2.2.2	Détermination de l'activité enzymatique antioxydants	35
2.2.2.1	Préparation des extraits enzymatiques	35
2.2.2.2	Détermination de la teneur en protéines	35
2.2.2.3	Détermination de l'activité de la catalase (CAT, EC 1.11.1.6)	35
2.2.2.4	Détermination de l'activité de l'ascorbate peroxydases (APX, EC1.11.1.1)	35
2.2.2.5	Détermination de l'activité de peroxydase (POD, E.C.1.11.1.7)	36
2.2.2.6	Détermination de l'activité du glutathione-S-transferase GST (EC 2.5.1.18)	36
2.2.2.7	Détermination de l'activité du L-Phénylalanine ammonia lyse (PAL, EC 4.3.1.5)	36
2.2.3	Détermination de la teneur en antioxydant non enzymatique	36
2.2.3.1	Estimation de la teneur en proline	36
2.2.3.2	Estimation de la teneur en Ascorbate (AsA)	37
2.2.3.3	Détermination de la teneur en thiols	37
2.2.3.3.1	Détermination de la teneur en glutathion réduit (GSH)	37
2.2.3.3.2	Estimation de la teneur totale, en thiols, en protéines et en thiols non-protéique	37
2.2.3.3.2.1	Thiols totaux (T-SH)	37
2.2.3.3.2.2	Thiols non protéiques (NP-SH)	38
2.2.3.4	Détermination des métabolites secondaires	38
2.2.3.4.1	Estimation de la teneur en phénols totaux	38
2.2.3.4.2	Estimation de la teneur en flavonoïdes	38
2.2.3.4.3	Estimation de l'activité de piégeage des radicaux FRAP et DPPH	38
<b>3</b>	<b>ANALYSE STATISTIQUE</b>	<b>39</b>
	<b>CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	<b>40</b>
	<b>RESULTATS</b>	<b>40</b>
<b>1</b>	<b>EFFETS COMBINES DE L'INSECTICIDE (IMIDACLOPRIDE / DELTAMETHRINE) ET DU CADMIUM SUR LA MORPHOLOGIE DE LA TOMATE</b>	<b>40</b>
1.1	EFFETS D'IMIDACLOPRIDE ET DU Cd EN TRAITEMENTS UNIQUES ET/OU COMBINES SUR LA CROISSANCE ET LA MORPHOLOGIE DES PLANTULES	40
1.2	EFFETS DU DELTAMETHRINE (DM), Cd ET LEUR MELANGE SUR LES PARAMETRES DE CROISSANCE DE LA TOMATE	41
<b>2</b>	<b>EFFET COMBINE DE L'INSECTICIDE (IMI / DM) ET DU CADMIUM SUR LA TENEUR EN PIGMENTS PHOTOSYNTHETIQUES</b>	<b>42</b>
2.1	EFFETS D'IMI ET DE Cd EN TANT QUE TRAITEMENTS UNIQUES ET COMBINES SUR LA TENEUR EN PIGMENTS PHOTOSYNTHETIQUES	42
2.2	EFFETS DU DM, DU Cd ET DE LEUR MELANGE SUR LA TENEUR EN PIGMENTS PHOTOSYNTHETIQUES	43
<b>3</b>	<b>EFFET COMBINE DE L'INSECTICIDE (IMI/DM) ET DU CADMIUM SUR LES NIVEAUX DU PEROXYDE D'HYDROGENE (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ET DU MALONDIALDEHYDE (MDA)</b>	<b>44</b>
3.1	EFFET DE L'IMI ET DE Cd EN TANT QUE TRAITEMENT UNIQUE OU COMBINE SUR LE NIVEAU DES ERO ET DE LA PEROXYDATION LIPIDIQUE DANS LES FEUILLES DE TOMATE	44
3.2	EFFET DU DM, DU Cd ET DE LEUR MELANGE SUR LES NIVEAUX DE H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ET DE MDA DANS LES FEUILLES DE LA TOMATE	45
<b>4</b>	<b>EFFET COMBINE DE L'INSECTICIDE (IMI/DM) ET DU CADMIUM SUR L'ACTIVITE ENZYMATIQUE ANTIOXYDANTS DANS LES FEUILLES DE TOMATE</b>	<b>46</b>

4.1	EFFET DE L'IMI ET DE Cd EN TANT QUE TRAITEMENT UNIQUE OU COMBINE SUR L'ACTIVITE ENZYMATIQUE ANTIOXYDANTES 46	
4.2	EFFET DE DM, Cd ET DE LEUR MELANGE SUR LES ENZYMES ANTIOXYDANTS .....	47
<b>5</b>	<b>EFFET COMBINE DE L'INSECTICIDE (IMI/DM) ET DU CADMIUM SUR LE PROFIL DES THIOLS DANS LES FEUILLES DE TOMATE .....</b>	<b>48</b>
5.1	EFFET D'IMI ET DE Cd SEUL OU COMBINE SUR LE PROFIL DES THIOLS .....	48
5.2	EFFET DU DM, DU Cd ET DE LEUR MELANGE SUR LA TENEUR EN GSH .....	49
<b>6</b>	<b>EFFET D'INSECTICIDE (IMI/DM) ET DU Cd SUR LA TENEUR DES METABOLITES ANTIOXYDANTES .....</b>	<b>49</b>
6.1	EFFET D'IMI ET DU Cd SUR LA TENEUR EN PROLINE ET ASCORBATE .....	49
6.2	EFFET DE LA DM, DU Cd ET DE LEUR MELANGE SUR LA TENEUR EN PROLINE DES FEUILLES DE TOMATE .....	50
<b>7</b>	<b>EFFET D'INSECTICIDE (IMI/DM) ET DU Cd SUR LE METABOLISME SECONDAIRE .....</b>	<b>50</b>
7.1	EFFETS INTERACTIFS DE L'IMI ET DE Cd, SEULS OU EN COMBINAISON SUR LA TENEUR EN COMPOSES PHENOLIQUES .....	50
7.2	EFFETS INTERACTIFS DE L'IMI ET DE Cd, SEULS OU EN COMBINAISON SUR L'ACTIVITE DPPH ET FRAP .....	50
7.3	EFFET DE LA DM, DU Cd ET DE LEUR MELANGE SUR LES TENEURS EN PHENOLS TOTAUX ET EN FLAVONOÏDES DANS LES FEUILLES DE TOMATE .....	51
	<b>DISCUSSION.....</b>	<b>40</b>
	<b>REFERENCES BIOBLOGRAPHIQUES .....</b>	<b>65</b>
	<b>PUBLICATIONS .....</b>	<b>66</b>



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Les enzymes impliquées dans la phase I et II de la transformation chimique des pesticides (Sharma et al., 2020). .....	25
<b>Tableau 2:</b> Effets de l'IMI, du Cd et de leur traitement combiné sur les paramètres de croissance des pousses et des racines (poids frais et longueur) de la tomate. ....	41
<b>Tableau 3:</b> Effets des traitements de DM et/ou Cd sur la croissance, le poids frais et la longueur des pousses et des racines chez les plantules de tomates. ....	42
<b>Tableau 4:</b> Effets de l'IMI, du Cd et de leur traitement combiné sur la teneur en pigments... 43	43
<b>Tableau 5:</b> Effets du DM, Cd et de leur mélange sur le contenu en pigments photosynthétiques des plantules de tomates. ....	44
<b>Tableau 6:</b> Effet de l'IMI, du Cd et de leur traitement combiné sur l'activité des enzymes antioxydantes [catalase (CAT), ascorbate peroxydase (APX), peroxydase (POD), glutathion-s-transférase (GST), glutathion peroxydase (GPX) et phénylalanine ammoniaque lyase (PAL)]. .....	47
<b>Tableau 7:</b> Effets des traitements de DM et/ou de Cd sur l'activité des enzymes antioxydantes dans les feuilles de tomates. ....	48
<b>Tableau 8:</b> Effet de l'IMI, du Cd et de leur traitement combiné sur la teneur en thiols (Thiols totaux (TT), Thiols non protéiques (NPT), Thiols protéiques totaux (PT) et glutathion réduit (GSH)). ....	49
<b>Tableau 9:</b> Effet de l'IMI, du Cd et de leur traitement combiné sur le contenu des métabolites antioxydants [proline (Pro), ascorbate réduit (AsA), phénols total (PT), flavonoïdes (Flv), 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)]. .....	51
<b>Tableau 10:</b> Teneurs en proline, phénols totaux, flavonoïdes et GSH dans les feuilles de tomate après 7 jours de traitements avec DM, Cd et DM+Cd. ....	51

## Liste des figures

- Figure 1:** Sources naturelles et anthropiques de la contamination des cultures vivrières par les métaux lourds et mécanismes de leur entrée (par les stomates/cuticules) avec les impacts sur le biote et les humains (Rai et al., 2019). ..... 5
- Figure 2:** Un diagramme représente l'absorption, la distribution, la séquestration, et le chargement à longue distance du Cd<sup>+2</sup> dans le riz (Riaz et al., 2021). ..... 7
- Figure 3:** Transfert et bio-accumulation des métaux lourds dans différentes parties de la plante (Kumar et al., 2019)..... 7
- Figure 4:** Impact éco toxicologique (en termes de physiologie et d'altérations moléculaire) de la contamination par les métaux lourds sur les culture et santé humaine (Rai et al., 2019)..... 9
- Figure 5:** Les conséquences néfastes d'une utilisation excessive des pesticides dans les pratiques agricoles modernes qui peuvent entraîner la contamination de différents milieux, notamment (1) l'air, (2) le sol et (3) l'eau (Bilal et al., 2019). ..... 13
- Figure 6:** L'absorption et la translocation de pesticides dans les plantes (Zhang & Yang, 2021). ..... 21
- Figure 7:** Effet de l'IMI, du Cd et de leur combinaison sur les teneurs en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et en MDA des feuilles de tomate après 7 jours de traitement. Les valeurs sont des moyennes ± SD de 3 répétitions. Les barres suivies de \*\*\* sont statistiquement différentes..... 45
- Figure 8:** L'effet de la DM, du Cd et de leur mélange sur les teneurs en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et en peroxydation lipidique (MDA) dans les feuilles de tomate..... 45

## Liste des abréviations

<b>CDNB</b>	1-chloro 0,1 M, 2,4-dinitrobenzène
<b>DPPH</b>	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
<b>TPTZ</b>	2,4,6-tripyridyl- 2-triazine
<b>DTNB</b>	5-5'-dithiobis (acide -2- nitrobenzoïque)
<b>2,4 -D</b>	Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>EDTA</b>	Acide éthylènediaminetétraacétique
<b>ATP</b>	Adénosine triphosphate
<b>ANOVA</b>	Analyse de variance
<b>AsA</b>	Ascorbate
<b>APX</b>	Ascorbate peroxidase
<b>BSA</b>	Bovin serum albumin
<b>Cd</b>	Cadmium
<b>Ca</b>	Calcium
<b>CEC</b>	Capacité d'échange cationique
<b>Car</b>	Caroténoïdes
<b>CAT</b>	Catalase
<b>cm</b>	Centimètre
<b>Chl a</b>	Chlorophylle a
<b>Chl b</b>	Chlorophylle b
<b><math>\epsilon</math></b>	Coefficient d'extinction molaire
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>DM</b>	Deltaméthrine
<b>DDT</b>	Dichlorodiphényltrichloroéthane
<b>EPT</b>	Éléments potentiellement toxiques
<b>ERN</b>	Espèces réactives de l'azote
<b>ERO</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>GSH</b>	Glutathion
<b>GR</b>	Glutathion réductase
<b>GST</b>	Glutathion-S-transférases
<b>HCH</b>	Hexachlorocyclohexanes
<b>HCB</b>	Hexachlorure de benzène

<b>IMI</b>	Imidaclopride
<b>ITCMI</b>	Institut technique des cultures maraîchères et industrielles
<b>L</b>	Litre
<b>MDA</b>	Malondialdéhyde
<b>MF</b>	Matière fraîche
<b>µG</b>	Microgramme
<b>µL</b>	Microlitre
<b>µM</b>	Micromole
<b>mg</b>	Milligramme
<b>ml</b>	Millilitre
<b>min</b>	Minute
<b>NO</b>	Nitrique Oxyde
<b>POC</b>	Pesticides organochlorés
<b>POP</b>	Pesticides organophosphorés
<b>PAL</b>	Phénylalanine ammoniac lyase
<b>PC</b>	Phytochélatine
<b>w/v</b>	Poids par volume
<b>PST</b>	Protéines solubles totales
<b>SST</b>	Sucre soluble total
<b>SOD</b>	Superoxyde dismutase
<b>TBA</b>	Thiobarbiturique acide
<b>TBARS</b>	Thiobarbiturique substances réactives acides
<b>TCA</b>	Trichloracétique acide
<b>UV</b>	Ultraviolet
<b>V</b>	Volume

# *Introduction*

Les plantes sont confrontées à une variété de stress biotiques et abiotiques tels que la sécheresse, la chaleur, la salinité, la pollution ou une infection par des agents pathogènes, induit un impact nuisible sur la croissance des plantes et le rendement des cultures (Gill and Tuteja, 2010). Des études récentes ont révélé que la réponse des plantes à des combinaisons de deux ou plusieurs conditions de stress est de plus en plus fréquente et ne peut pas être directement extrapolée de la réponse des plantes à chacune des différentes contraintes appliquées individuellement (Jiang et al., 2019; Shahzad et al., 2018; Uwizeyimana et al., 2017).

L'énorme contamination du sol, de l'eau et l'air par les métaux et les pesticides et leur transfert direct à des organismes supérieurs à travers la chaîne alimentaire, continue d'être un problème environnemental qui peut entraîner divers risques pour la santé humaine et animale.

Les polluants s'accumulent en continu sous forme de mélanges complexes dans les écosystèmes par le biais de différentes sources anthropiques, y compris les industries, les mines, l'agriculture et les déchets des stations d'épuration. Les métaux et les pesticides sont deux types de produits chimiques toxiques, susceptibles de se propager dans la plupart des écosystèmes (Jiang et al., 2019).

Le développement de l'agriculture intensive implique l'application de divers pesticides qui peuvent conduire à une lourde charge sur l'environnement en particulier dans les agrosystèmes. Une grande variété de pesticides est utilisée dans le secteur agricole, pour améliorer sa production, mais leurs résidus augmentent le niveau de la contamination du sol qui peut être directement ou indirectement stressante pour la pédofaune du sol. Une partie importante de ces pesticides peut être éliminée par ruissellement dans les milieux aquatiques ou traversent lentement les couches inférieures du sol et atteignent les eaux souterraines.

Outre les pesticides, la pollution par les métaux lourds dans les sols est devenue un autre défi à travers le monde en raison de la forte augmentation des activités géologiques et anthropiques (Ismael et al., 2019). La consommation de produits agricoles contenant des traces des éléments toxiques contribue à une exposition humaine potentiellement menaçante pour la santé, bien qu'à des degrés divers en raison des différences entre les éléments dans l'efficacité du transfert du sol vers la partie végétale aérienne.

Parmi ces éléments, le cadmium (Cd) qui est un métal lourd toxique et un contaminant environnemental très répandu. Il interfère avec les fonctions de base comme la photosynthèse

et l'absorption d'eau et minéraux. La toxicité du Cd induit la génération d'espèces réactives de l'oxygène qui provoquent des dommages oxydatifs chez les plantes en induisant une peroxydation lipidique et un dysfonctionnement structural et fonctionnel de la cellule (Riaz et al., 2021).

Dans cette étude, le matériel végétal utilisé est la tomate (*Solanum lycopersicum* L.) appartenant à la famille *Solanacées* qui enregistre une plus forte consommation commerciale parmi les fruits. Elle est considérée comme une culture stratégique. C'est une source riche de nutriments importants, tels que le bêta-carotène, le lycopène, les flavonoïdes et l'acide ascorbique.

L'objectif de notre travail est de mieux comprendre la réponse des plantules de tomate au stress induit par le cadmium et les pesticides. Ainsi, l'effet de ces xénobiotiques sera analysé à différents niveaux :

- L'effet du cadmium et pesticides sur la croissance (la longueur et poids des racines, parties aériennes), la morphologie, les pigments (chlorophylle a, b, totale et caroténoïdes).
- L'effet du cadmium et pesticides sur le métabolisme oxydant (les paramètres du stress oxydant)
- Et les réponses antioxydantes enzymatiques (CAT, APX, POD et GST) et non-enzymatiques (proline, les thiols et l'acide ascorbique), les métabolites secondaires (flavonoïdes et polyphénols) ont également été étudiées.

Ce manuscrit de thèse est structuré en deux parties, partie théorique et partie expérimentale. La première partie est une revue bibliographique sur la contamination aux xénobiotiques (pesticides et cadmium) des plantes.

La deuxième partie comporte le chapitre matériel et méthodes, et un chapitre sur les résultats. Enfin, une discussion générale des résultats et des perspectives vient conclure ce manuscrit de thèse.

*Première partie*

*Synthèse bibliographique*



*Chapitre I :*

*La pollution des agrosystèmes par les  
métaux lourds*

## **Introduction**

Les xénobiotiques sont des composés chimiques étrangers à l'organisme ou à l'écosystème, identifiés de manière persistante dans l'environnement et accumulés au moyen de sources anthropiques. Avec l'augmentation fulgurante des produits chimiques synthétisés pour divers secteurs, tous ces composés finissent par être déversés dans l'environnement, ce qui présente un risque pour toutes les formes de vie, des microbes aux animaux en passant par les humains (Balasubramanian et al., 2020).

Les plantes, en raison de la pénurie d'eau et la nécessité d'augmenter la production agricole pour répondre à la demande croissante aux denrées alimentaires due à la croissance démographique, peuvent être directement ou indirectement exposées à un large éventail de xénobiotiques et peuvent être affectés par la réutilisation de l'eau (par exemple, l'irrigation à l'aide des eaux usées traitées) ou l'épandage de boues lorsqu'elles sont utilisées comme engrais. Après une exposition aux xénobiotiques, la croissance et la physiologie des plantes peuvent être affectées, et certaines plantes peuvent métaboliser des xénobiotiques par transformation, conjugaison, et compartimentation (Xia et al., 2009).

En plus, une fois qu'ils entrent dans les systèmes biologiques, ils affectent l'homéostasie cellulaire, ce qui entraîne des effets néfastes, notamment l'altération des gènes. Un des aspects de l'expression des gènes lors de l'exposition à ces xénobiotiques est contrôlé par des mécanismes épigénétiques (Balasubramanian et al., 2020). Différentes approches sont mises en œuvre pour évaluer les effets des xénobiotiques sur les plantes, tels que les approches écotoxicologiques et omics.

## **1 La pollution des agroécosystèmes par les métaux lourds**

La contamination des sols agricoles par les métaux lourds est devenue une préoccupation environnementale critique en raison de leurs effets écologiques négatifs. Dans de nombreuses régions du monde, les sols agricoles sont contaminés par les métaux lourds (Cd, Cu, Zn, Ni, Co, Cr, Pb et As). Ces éléments toxiques sont considérés comme des polluants du sol en raison de leur présence répandue et de leur effet toxique aigu et chronique sur les plantes cultivées. Cela pourrait être dû à l'utilisation abusive d'engrais phosphatés, à l'application de boues d'épuration, à la poussière des fonderies, aux déchets industriels et aux mauvaises pratiques d'arrosage dans les terres agricoles. L'accumulation des métaux lourds peut affecter la croissance, le développement et les rendements normaux (QIN et al., 2020; Yadav, 2010).

Parmi les métaux toxiques, le cadmium (Cd) est un polluant très toxique pour les animaux et les plantes, et sa présence dans le sol provient de sources anthropiques dans plus de 90 % des cas. La limite réglementaire de la concentration du Cd dans le sol agricole est de 100 mg / kg de sol (Romero-Puertas et al., 2019) . Chez l'homme, les dommages sont très dramatiques en raison de la nature cancérogène du métal et peuvent donc causer plusieurs maladies, notamment l'ostéoporose, le cancer, et un dysfonctionnement rénal chez l'homme (Riaz et al., 2021).

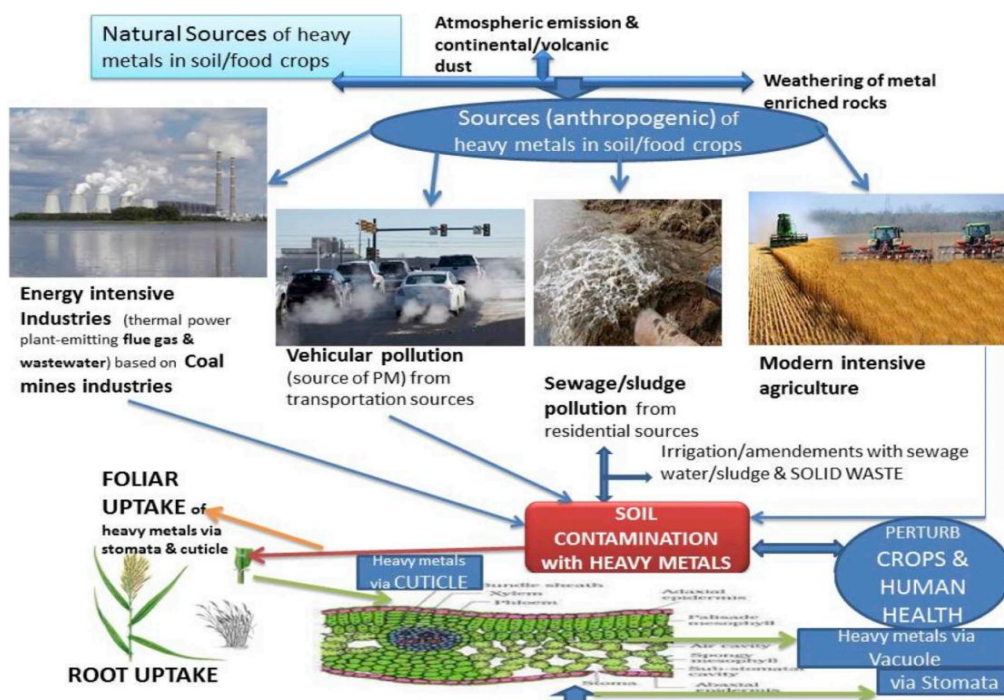
Le cadmium est un élément relativement mobile par rapport aux autres métaux lourds qui peut facilement être absorbés par les racines des plantes et se déplacer vers les parties aériennes. C'est un élément non biologique et toxique qui perturbe les processus physiologiques, morphologiques et moléculaires essentiels à la croissance et à la productivité des plantes (Riaz et al., 2021). Il peut endommager le métabolisme de la plante et provoquer une phytotoxicité et la mort de la plante même à un niveau très bas (5-10  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) (Riaz et al., 2021).

### **1.1 Cadmium dans les plantes**

Les principales sources de métaux lourds dans le sol sont les dépôts atmosphériques, le fumier du bétail, l'irrigation avec des eaux usées ou des eaux polluées, les métallos-pesticides ou les herbicides, les engrais à base de phosphate, et les amendements à base de boues d'épuration (Rai et al., 2019).

Le cadmium est répandu dans les sols, l'eau et l'atmosphère. C'est l'un des quatre métaux mentionnés comme une préoccupation mondiale de par leurs importances dans la qualité de l'environnement et la santé. C'est le troisième contaminant le plus dangereux pour l'environnement après le mercure et le plomb (Ismael et al., 2019).

Il a une longue demi-vie biologique de 10 à 30 ans qui est efficacement conservé (Gallego & Benavides, 2018). La disponibilité du cadmium dans les sols dépend d'un grand nombre de facteurs tels que la teneur en Cd du sol, le pH du sol, la matière organique, les minéraux argileux, la capacité d'échange cationique (CEC) et le type d'engrais.



**Figure 1:** Sources naturelles et anthropiques de la contamination des cultures vivrières par les métaux lourds et mécanismes de leur entrée (par les stomates/cuticules) avec les impacts sur le biote et les humains (Rai et al., 2019).

## 1.2 Absorption du cadmium

Les plantes supérieures peuvent absorber le Cd du sol et de l'eau par leurs système racinaire, en fonction de sa disponibilité et de sa concentration, et une petite quantité peut être absorbée directement par l'atmosphère (Wei et al., 2020).

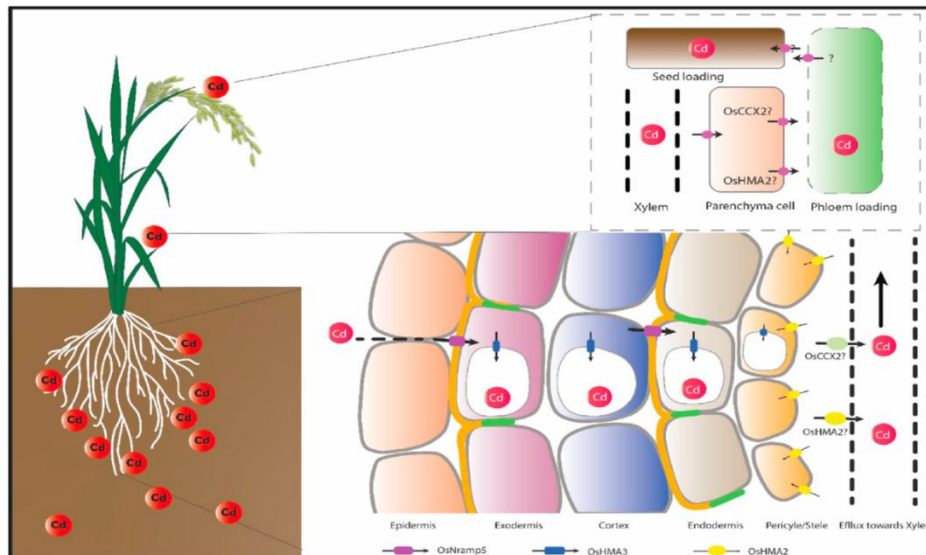
Les ions métalliques dans la solution du sol se déplacent en fonction de leurs gradients de concentration respectifs. Plusieurs facteurs chimiques et physiques du sol peuvent moduler la disponibilité du Cd et d'autres métaux lourds dans les plantes telle que le pH de la solution du sol et la teneur en matière organique.

Ces paramètres peuvent affecter de façon marquée la mobilité et la disponibilité des ions pour les racines des plantes (Ismael et al., 2019). Aussi, les variations génotypiques, les facteurs environnementaux et la présence d'autres minéraux et nutriments (Rizwan et al., 2018) peuvent influencer l'absorption et la translocation du Cd dans les plantes. Les mouvements centripètes des ions cadmique dans les racines (c'est-à-dire les mouvements sur la surface des racines, le cylindre vasculaire) suivent des voies apoplastiques et symplastiques (Fig. 2).

Lorsqu'ils sont en excès, les métaux qui comprennent à la fois des éléments essentiels et non essentiels deviennent rapidement phytotoxiques, induisant la survenue d'un stress oxydatif (Sharma et al., 2016). Le cadmium inhibe la germination des graines par différents mécanismes. Il n'est présent que sous forme inorganique et dans un état d'oxydation (+2) et sa biodisponibilité dépend en grande partie des conditions du sol, en plus d'être plus disponible dans les sols aérobies que dans les sols anaérobies (Clemens and Ma, 2016a).

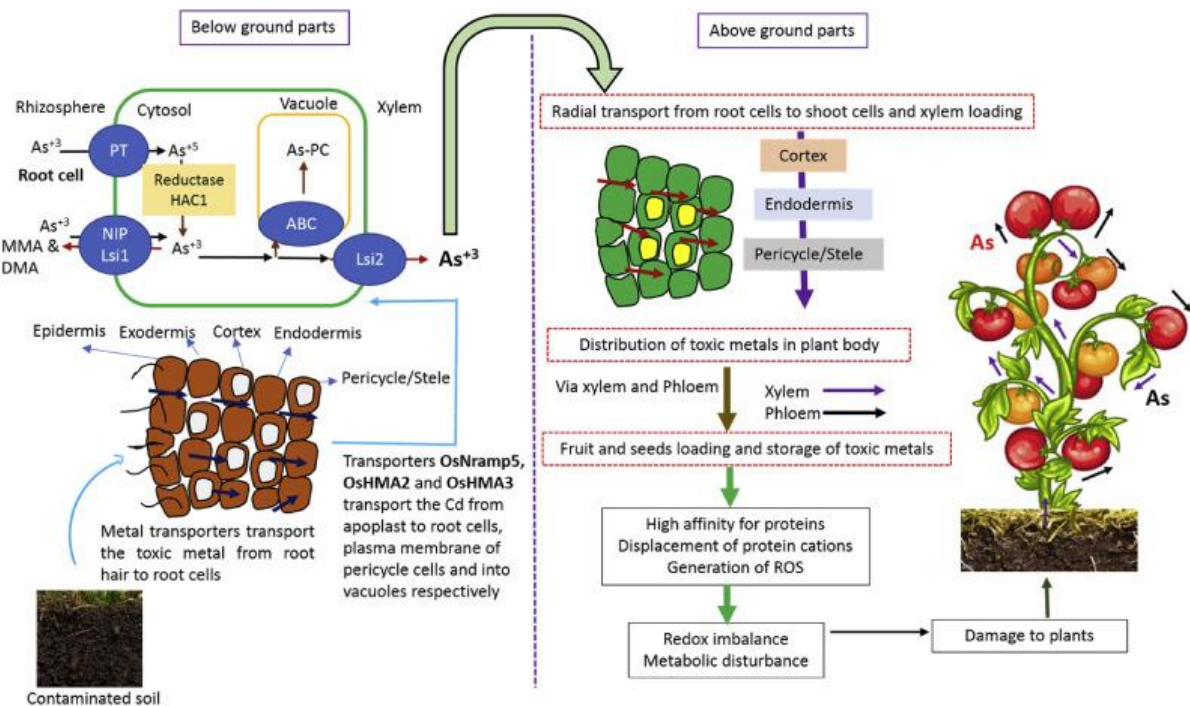
Le Cd pénètre dans les cellules végétales via des transporteurs transmembranaires engagés dans l'absorption des cations tels que  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , et  $\text{Cu}^{2+}$  (Romero-Puertas et al., 2019). En milieu acide, le Cd se présente sous forme d'ions  $\text{Cd}^{2+}$  libres ; cependant, à pH 6-7, la majeure partie du cadmium existe sous d'autres formes telles que le  $\text{CdCl}^-$ , le  $\text{CdHCO}_3$  et le  $\text{CdCO}_3$  hydraté (Ismael et al., 2019). Après absorption par les racines, le Cd est principalement transloqué vers les pousses via le xylème en se liant aux acides organiques et aux acides aminés dans les vaisseaux du xylème (Rizwan et al., 2018).

La plupart du temps, les concentrations du Cd dans une pousse de plante sont inférieures à ceux de sa racine, ce qui suggère que le transport du Cd à travers le xylème est limité dans la plupart des plantes, et ses concentrations dans les graines, les fruits et les tubercules sont minimales, indiquant que le Cd n'est pas facilement transférable dans le phloème (Ismael et al., 2019).



**Figure 2:** Un diagramme représente l'absorption, la distribution, la séquestration, et le chargement à longue distance du  $Cd^{+2}$  dans le riz (Riaz et al., 2021).

L'absorption du Cd est facilitée par les racines via des transporteurs (transporteur OsNramp5), alors que la séquestration vacuolaire est réalisée par des transporteurs localisés tonoplast OsHMA3. Le chargement du xylème est médié de la racine à la pousse par HMA2 et HMA4, et les transporteurs de type CAX et MTP interviennent également dans l'absorption du Cd (Riaz et al., 2021) (Fig. 3).



**Figure 3:** Transfert et bio-accumulation des métaux lourds dans différentes parties de la plante (Kumar et al., 2019).

### **1.3 Toxicité du cadmium**

Il a été suggéré que la toxicité des métaux lourds se manifeste de quatre manières principales : a) similitude avec les cations nutritifs entraînant une concurrence d'absorption à la racine; b) interaction directe avec les groupes sulfhydriles ( $-SH$ ) des protéines; c) déplacement des cations essentiels à partir des sites de liaison qui inhibent la fonction des protéines; et d) génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui endommagent les macromolécules (Romero-Puertas et al., 2019).

L'absorption du Cd par les plantes non seulement limite gravement la productivité des plantes qui ont développé des mécanismes spécifiques de détection, de transport et de détoxification du Cd, mais elle est aussi considérée comme un risque majeur pour la santé humaine (Romero-Puertas et al., 2019).

Parmi les principaux effets de la toxicité des métaux lourds aux plantes est le stress oxydatif dû à une génération excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Romero-Puertas et al., 2019). Pour prévenir les dommages, les cellules végétales possédant un certain nombre d'enzymes et de métabolites antioxydantes qui maintiennent les niveaux des ERO sous contrôle strict, répartis dans le cytoplasme et les organites (Hernández et al., 2015). De nombreux mécanismes de réponse au stress abiotique chez les plantes se sont avérés similaires, si non identiques, indépendamment du facteur de stress (Hernández et al., 2015).

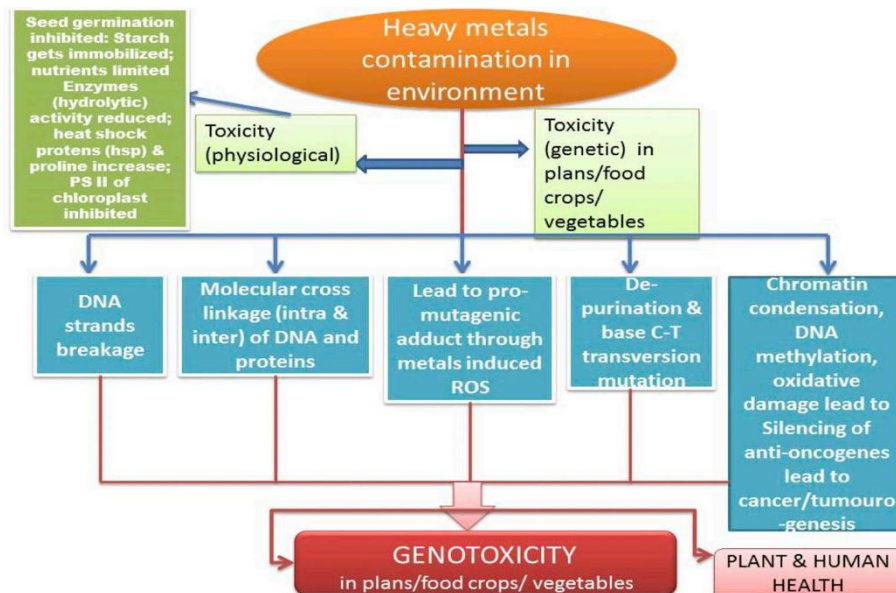
La consommation de cultures contenant des traces de ces éléments toxiques contribue à une exposition humaine potentiellement menaçante pour leur santé, bien qu'à des degrés divers en raison des différences entre les éléments dans l'efficacité du transfert du sol vers les tissus aériens des cultures. L'exposition non professionnelle au Cd de la population générale (non-fumeurs) est > 90% attribuable à l'ingestion de céréales, de légumes et d'autres aliments d'origine végétale. Une exposition à faible dose bien en dessous des seuils de toxicité aiguë peut provoquer une maladie en raison de la bioaccumulation à long terme dans le corps humain. Le Cd est connu pour son interférence avec le métabolisme du calcium (Ca) chez les mammifères, provoquant la maladie d'Itai-itai lors d'une exposition sévère (Riaz et al., 2021).

Étant donné que les plantes peuvent absorber et accumuler le Cd, elles sont une source importante de cette exposition aux métaux pour l'homme tout au long de la chaîne alimentaire (Gallego and Benavides, 2018). Une fois accumulé dans la plante, le Cd induit généralement une série de symptômes de toxicité (Gallego & Benavides, 2018). Un excès de Cd pourrait entraîner une accumulation accrue jusqu'à atteindre un niveau toxique, entraînant

des altérations métaboliques, une carence en minéraux, un déplacement osmotique et une réduction de la croissance des plantes (Wei et al., 2020). Il perturbe l'absorption et la distribution des nutriments, entrave la photosynthèse, déclenche des aberrations chromosomiques et diminue le rendement. De nombreuses études ont montré que l'exposition des plantes aux métaux lourds provoque des dommages importants dans les systèmes cellulaires en raison de la surproduction d'espèces réactives d'oxygène et d'azote (Romero-Puertas et al., 2019).

Une grande partie de la toxicité du Cd est liée à sa similitude avec des éléments essentiels tels que Fe, Mn, Zn et Ca. Des effets directs du Cd sur l'homéostasie sulfhydryle des cellules et l'inhibition des enzymes ont été rapportés pour les cellules de mammifères et d'animaux (Hernández et al., 2015).

Ainsi, les fonctions des métaux non essentiels peuvent remplacer celles des métaux essentiels en raison de leur affinité aux différents ligands, ce qui entraîne une perte de fonction des protéines. Tous ces mécanismes conduisent, dans la plupart des cas, à une macro- et micro-déséquilibre nutritionnel, inactivation des enzymes impliquées dans le cycle de Calvin, glucides et métabolisme du phosphore et fixation de CO<sub>2</sub> ; cela conduit à une inhibition de la germination des graines, la croissance des plantes et les rendements et parfois la génotoxicité et la mort des plantes (Qin et al., 2020; Rizwan et al., 2018) (Fig. 4).



**Figure 4:** Impact éco toxicologique (en termes de physiologie et d'altérations moléculaire) de la contamination par les métaux lourds sur les culture et santé humaine (Rai et al., 2019).



#### **1.4 Cadmium et métabolisme des formes réactifs d'oxygène**

Une conséquence courante de la plupart des stress abiotiques et biotiques est qu'ils entraînent, à un certain stade de l'exposition au stress, une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (Gill & Tuteja, 2010). Ainsi, l'un des principaux effets de la toxicité des métaux lourds aux plantes est le stress oxydatif dû à un excès d'ERO et des changements dans le système antioxydant (Romero-Puertas et al., 2019). Le stress oxydatif est produit par un déséquilibre dans la production et l'élimination des espèces réactives d'oxygène et d'azote (ERO et ERN), conduisant à un excès de ces molécules qui endommage les acides nucléiques, les lipides et les protéines (Nemmiche, 2017).

Outre l'accumulation d'ERO, le Cd induit la formation d'espèces réactives de l'azote (ERN), parmi lesquelles l'oxyde nitrique (NO) (Gallego & Benavides, 2018; Romero-Puertas et al., 2019). D'autre part, les métaux lourds sont impliqués dans la formation des  $\text{OH}^\circ$  à partir de  $\text{H}_2\text{O}_2$  via les réactions Haber Weiss (Sharma et al., 2016).

Les ERO réagissent avec les constituants cellulaires en fonction de leurs propriétés telles que la réactivité chimique, le potentiel redox, la demi-vie et la mobilité dans les compartiments cellulaires. Les radicaux  $\text{OH}^\circ$  sont les plus réactifs, et de courte durée (1 ns). Les ERO induisent des modifications oxydatives réversibles et irréversibles des protéines (Yadav, 2010).

De nombreuses études ont montré que la toxicité du Cd est directement liée à son accumulation. Les modifications des protéines les plus courantes sont la formation de dérivés carbonylés dont le résultat est l'augmentation de la carbonylation des protéines, une modification irréversible qui entraîne une perte de fonctionnalité des protéines et favorise la dégradation des protéines. La peroxydation lipidique, un autre marqueur commun du stress oxydatif, qui peut être détecté par la teneur en malondialdéhyde, affecte la structure et la fonctionnalité de la membrane.

La structure des acides nucléiques (ADN et ARN) est une cible majeure de l'oxydation dont l'un des biomarqueurs est la 8-hydroxyguanosine (8-OHG) qui provoque des mutations. La régulation pendant les réponses au stress oxydatif chez les plantes est un processus complexe qui affecte plusieurs niveaux transcriptionnelle et post-traductionnelle entre autres (Romero-Puertas et al., 2019; Terrón-Camero et al., 2019).

## **1.5 Réponses des plantes au stress oxydant**

Afin de faire face aux effets négatifs des ERO, les plantes possèdent un système antioxydant puissant et efficace, composé d'acteurs enzymatiques et non enzymatiques, qui agissent en synergie (Gill & Tuteja, 2010).

Les mécanismes de défense antioxydants maintiennent les ERO régulièrement formés à un faible niveau et les empêchent de dépasser les seuils toxiques (Soares et al., 2019). Comme première ligne de défense, les plantes modifient la perméabilité de la membrane plasmique pour restreindre le transport des ions métalliques vers l'apoplaste et induisent des transporteurs d'ions métalliques impliqués dans le flux de sortie tels que les NRAMP, les ATPases, les ZIP et CDF. La génération d'exsudats cellulaires, entraînant un revêtement autour de la racine, favorise également la formation de complexes avec des métaux lourds, y compris Cd, Cu et Pb. Les plantes peuvent moduler l'absorption des métaux spécifiques en utilisant, par exemple, du citrate et l'histidine pour empêcher l'absorption de Ni. De plus, les métaux peuvent se lier à la paroi cellulaire par des interactions électrostatiques pour les maintenir dans la cellulose (Romero-Puertas et al., 2019).

Le réseau antioxydant comporte des composants enzymatiques et non enzymatiques: superoxyde dismutase (SOD), ascorbate peroxydase (APX), la catalase (CAT), la mono-déshydro-ascorbate réductase (MDHAR), glutathion déshydrogénase (ascorbate) (également connue sous le nom de déhydroascorbate réductase, DHAR) et glutathion réductase (GR) sont des enzymes qui contribuent à l'homéostasie redox cellulaire, beaucoup utilisant des métabolites antioxydants comme l'ascorbate (AsA), et le glutathion (GSH) (Soares et al., 2019).

Une fois que le Cd est entré dans la cellule, la réponse végétale la mieux caractérisée est la synthèse de phytochélatines (PC), une famille de peptides riches en cystéines, pour la chélation et la séquestration des métaux lourds. Le(s) complexe(s) Cd-PC sont séquestrés dans les vacuoles après le transport médié par des transporteurs ABC (Sharma et al., 2016). La nature nucléophile du groupe thiol est également importante dans la formation de liaisons mercaptides avec des métaux et pour réagir avec des électrophiles sélectionnés. Cette réactivité ainsi que la stabilité relative et la grande solubilité dans l'eau du GSH en font un produit biochimique idéal pour protéger les plantes contre les stress (Yadav, 2010). De cette façon, la détoxification des métaux est directement liée au stress oxydatif, car une production

accrue de PC pourrait entraîner une diminution temporaire ou durable de la teneur en GSH réduit ([Hernández et al., 2015](#)).

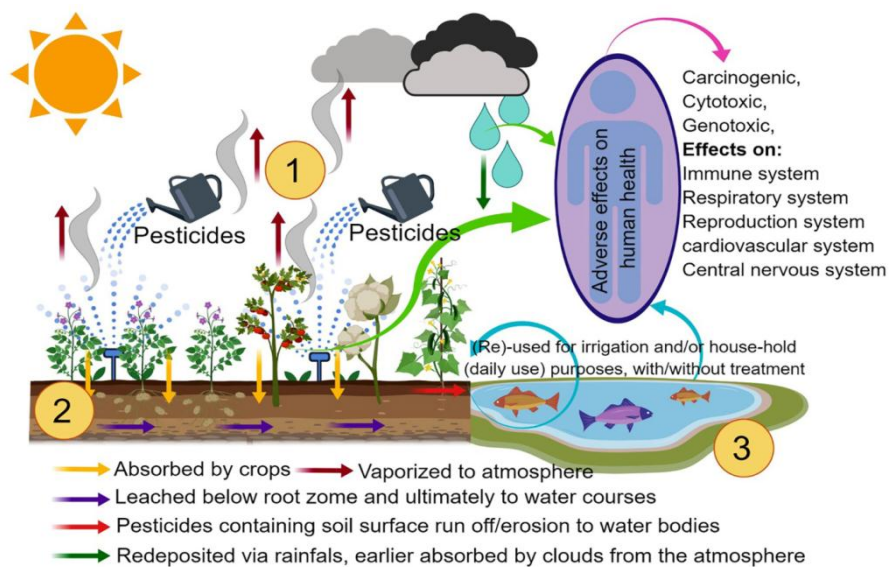
Une autre réponse caractéristique des plantes au Cd souvent décrite est la régulation des protéines de stress, telles que les protéines de choc thermique et les protéines antioxydantes, révélées être impliquées dans les mécanismes de tolérance ([Romero-Puertas et al., 2019](#)).

***Chapitre II :***  
***La contamination de***  
***l'environnement par les pesticides***

## 2 La contamination de l'environnement par les pesticides

### 2.1 Sources de pesticides dans l'environnement

La demande alimentaire en croissance rapide et permanent favorise l'utilisation de plus en plus des pesticides (produits phytosanitaires) dans les pratiques agricoles modernes. Au cours de la dernière décennie, une quantité massive de pesticides a été rejetée dans l'atmosphère (Bilal et al., 2019). L'utilisation excessive de pesticides dans les pratiques agricoles modernes a conduit à la contamination des différentes matrices environnementales, notamment le sol, l'air et l'eau. Par conséquent, ces matrices environnementales contaminées ont des effets néfastes sur la santé humaine et les animaux (Fig. 5) (Liu et al., 2019).



**Figure 5:** Les conséquences néfastes d'une utilisation excessive des pesticides dans les pratiques agricoles modernes qui peuvent entraîner la contamination de différents milieux, notamment (1) l'air, (2) le sol et (3) l'eau (Bilal et al., 2019).

Le terme "pesticide" englobe une série de composés organiques destiné à prévenir, détruire ou contrôler les mauvaises herbes (herbicide), les insectes (insecticides), les parasites (pesticides) et les champignons et moisissures (fongicides) (Bilal et al., 2019). Les cinq premiers pesticides utilisés sont : le glyphosate, l'atrazine, le métolachlores, le dichloropropène et l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (Matich et al., 2019).

Des études ont rapporté que la présence d'organochlorés (POC) dans les échantillons à un niveau plus élevé que les organophosphorés (POPs) dans les zones où les POPs sont appliquées en permanence pour la lutte contre les parasites, et des concentrations plus élevées en POC ont également été détectés dans divers fluides corporels tels que le lait maternel, le sérum et l'urine (Bilal et al., 2019).

## **2.2 Les types de pesticides**

Les pesticides ont été classés en différentes catégories sur la base d'utilisation, type de formulation, mode d'action/entrée, toxicité, et l'organisme nuisible cible (Fig. 4). D'une manière générale, les pesticides sont classés en fonction de leur structure en composés organiques et/ou inorganiques. En fonction des groupes fonctionnels, les pesticides sont répartis en quatre classes/familles : (1) les organophosphates, (2) les carbamates (3) les triazines et (4) les phénoxy.

### **2.2.1 Les organochlorés**

Les pesticides organochlorés (POC), composés de carbone, d'hydrogène, et le chlore, sont un grand groupe de produits chimiques utilisés pour éliminer les mauvaises herbes, les insectes, les impacts bactériens et fongiques (Jayaraj et al., 2016). La plupart des organochlorés sont des insecticides tels que l'hexachlorure de benzène (BHC), le dichloro-diphényl-trichloroéthane (DDT) et ses analogues, dont l'aldrine, chlordane dieldrine, endrine, endosulfan et heptachlore (Jayaraj et al., 2016).

Les DDT et les hexachlorocyclohexanes sont les plus utilisés pour éradiquer la mouche tsé-tsé, les termites, et les moustiques (Bilal et al., 2019). Dans le passé, la production et l'utilisation de ces pesticides à grande échelle a été interdite et ils ont été progressivement remplacés par d'autres pesticides en raison de leur grande écotoxicité, de leur forte persistance, de leurs effets sur la santé et la pollution de l'environnement (Jactel et al., 2019).

### **2.2.2 Les organophosphorés**

Les pesticides organophosphorés (POP) sont des esters d'acide phosphorique qui peuvent améliorer les rendements des cultures (Schenk et al., 2016), et ont été utilisés comme agents neurotoxiques de guerre tels que le sarin. Leur utilisation a considérablement augmenté au cours de la dernière décennie en raison de leur efficacité potentielle pour améliorer la productivité des cultures. Néanmoins, l'utilisation généralisée des pesticides peuvent entraîner une pollution de l'environnement et une menace pour la santé humaine. Fénitrothion,

parathion, chlorpyrifos, Malathion, et phosphamidon sont quelques exemples des POPs appliquées dans les champs agricoles (Schenk et al., 2016).

Ces pesticides peuvent entraîner une toxicité aiguë pour l'homme lorsqu'il est exposé à leurs niveaux élevés par l'inhibition de l'enzyme acétylcholinestérase. Cette enzyme est indispensable à la fonction nerveuse chez l'homme, les insectes et de nombreux autres animaux (Bilal et al., 2019; Schenk et al., 2016). Des rapports ont montré que les POPs peuvent être facilement hydrolysées par exposition à l'air, à la lumière et au sol, mais des traces de ces pesticides ont été identifiées dans les aliments et l'eau potable (Bilal et al., 2019; Schenk et al., 2016).

### **2.2.3 Les carbamates**

Les carbamates sont des herbicides de pré-émergence obtenus de l'acide carbamique (Bilal et al., 2019), comme l'aldicarbe, le carbofuran, l'éthénocarbe, l'oxamyl et le méthomyl. En général, ils sont employés sous forme d'appâts ou de pulvérisations sur le terrain pour lutter contre les parasites (Bilal et al., 2019). Le carbaryl a été le premier insecticide à être utilisé dans les champs. Il présente un grand potentiel de lutte contre une large gamme d'insectes et est associé à moins de toxicité pour l'homme. Les carbamates possèdent un mode d'action similaire à celle des POPs (Schenk et al., 2016).

### **2.2.4 Les pyréthrinoïdes**

Les pesticides pyréthrinoïdes sont couramment utilisés dans le monde entier car ce sont des pesticides à large spectre avec une faible toxicité et une action biologique élevée par rapport aux pesticides organochlorés, organophosphorés et carbamates (Zhang et al., 2019).

En tant que membre important des pesticides pyréthrinoïdes, la deltaméthrine (DM) est un insecticide à large spectre important, qui est utilisé dans de nombreuses régions pour la prévention des ravageurs agricole (Zhang et al., 2019).

Deltaméthrine, (S) -alpha-cyano-3-phénoxybenzyl- (1R) -cis-3- (2,2-dibromovinyl) - 2,2- carboxylate de diméthylcyclopropane, est un pyréthrinoïde synthétique de type II utilisé comme insecticide et acaricide (Lu et al., 2019).

Les pyréthrinoïdes synthétiques ont un pouvoir insecticide élevé et une faible toxicité pour les oiseaux et les mammifères (Lu et al., 2019). La deltaméthrine est un des insecticides les plus puissants et largement utilisés pour contrôler un large spectre d'ectoparasites (c.-à-d. poux, mouches et tiques) pour protéger les cultures, les fruits, les légumes et les poissons des

ravageurs et parasites. Il contrôle également les vecteurs de maladies humaines, tels que les espèces de moustiques porteurs du virus Zika (Lu et al., 2019).

Depuis la mise en œuvre de restrictions de vente d'insecticides organophosphorés (OP), l'utilisation de pyréthroïdes a considérablement augmenté, ils sont devenus le choix préféré dans de nombreux pays au cours des deux dernières décennies (Lu et al., 2019).

Compte tenu de cette utilisation répandue dans le monde entier, la contamination aux pyréthriinoïdes est devenue un problème. L'ingestion orale d'eau et d'aliments pollués par la deltaméthrine est nocive pour l'homme. L'exposition à la deltaméthrine (0, 2, 5, 10, 20 ou 40 mg / kg poids corporel) pendant 7 jours a provoqué à dose – dépendante une neurotoxicité et un dysfonctionnement hépatique accompagné d'un niveau élevé d'espèces réactifs oxygénés (Lu et al., 2019). Haverinen & Vornanen, (2016) ont observé que la deltaméthrine (0,1-30  $\mu$ M) a modifié la fonction des canaux sodiques et induit une cardiotoxicité. Dans les testicules de rat, l'exposition à la deltaméthrine a causé des effets nocifs importants en augmentant les anomalies du sperme et la peroxydation des lipides membranaire (Sharma et al., 2014).

Enfin, l'application continue et excessive de la deltaméthrine provoque des dommages aux plantes et animaux non ciblés, y compris les humains. Les études précédentes indiquent que la toxicité de la deltaméthrine est étroitement liée au stress oxydatif et à son métabolisme. La deltaméthrine provoque une toxicité marquée chez les vertébrés, les invertébrés et les plantes, probablement en raison du stress oxydatif (Duran et al., 2015; Bashir et al., 2007; Lu et al., 2019).

### **2.2.5 Les néonicotinoïdes**

Depuis leur découverte à la fin des années 1980, les pesticides néonicotinoïdes sont devenus la classe d'insecticides la plus utilisée dans le monde, avec des applications à grande échelle allant de la protection des plantes (cultures, légumes, fruits), produits vétérinaires et biocides pour la lutte antiparasitaire invertébrée dans la pisciculture. Ces pesticides sont de plus en plus répandus dans les milieux terrestres et aquatiques (Mitchell et al., 2017). Les néonicotinoïdes sont absorbés par les plantes et sont transportés vers tous les organes, y compris les fleurs, contaminant ainsi le pollen et le nectar comme tout fluide produit par la plante (Mitchell et al., 2017).



L'imidaclopride [IMI ; 1-[(6-chloro-3-pyridinyl) méthyl]-N-nitro-2-imidazolidinimine] est l'insecticide néonicotinoïde le plus efficace pour contrôler les insectes suceurs comme les pucerons (Simon-Delso et al., 2015),

C'est l'un des pesticides les plus couramment utilisés pour l'application au sol, le traitement des semences et les traitements foliaires (Simon-Delso et al., 2015). Ce produit chimique présente les avantages d'une faible toxicité pour les vertébrés, et une toxicité élevée pour les insectes (Anket et al., 2018; Simon-Delso et al., 2015).

Il s'agit d'un insecticide à base de chloronicotynol ayant une action de nature systémique. Il est efficace contre un large éventail d'insectes tels que les pucerons, les aleurodes, les cochenilles, les cicadelles et certains membres des coléoptères, diptères et lépidoptères (Anket et al., 2016).

Sur & Stork, (2003) ont montré qu'après absorption par les racines, l'imidaclopride pouvait être transloqué dans d'autres tissus via le xylème et rapidement dégradé dans les plantes par trois voies métaboliques principales (Li et al., 2018). En raison de sa large application et de sa longue demi-vie, un grand nombre de quantité de résidus d'imidaclopride, contaminant le sol et les eaux souterraines (Li et al., 2018).

Enfin, L'IMI est considéré comme l'un des insecticides les plus toxiques. La persistance de l'IMI est si longue que dans certains cas, des résidus y restent même si aucun IMI n'est utilisé pour une saison particulière (mais appliquée au cours des saisons précédentes). Les résidus de cet insecticide néonicotinoïde sont également transloqués dans les pollens ainsi que dans le nectar (Mitchell et al., 2017). Cela entraîne une toxicité qui provoque l'effondrement de la colonie et le désordre aux insectes non ciblés qui sont principalement des pollinisateurs comme les abeilles domestiques (Mitchell et al., 2017).

En outre, il agit comme récepteur d'acétylcholine nicotinique. Il interfère avec le système nerveux moteur et rend la transmission des signaux chimiques défaillante. La conduction du système nerveux central serait bloquée, ce qui rend l'animal paralysé et il meurt (Simon-Delso et al., 2015).

L'application de pesticides a également des effets négatifs sur les plantes due à la génération d'espèces réactives d'oxygène (ERO) nocives, ce qui conduit au stress oxydatif dans les cellules végétales (Sharma et al., 2019). Cela se traduit en fin de compte par une diminution de l'efficacité photosynthétique des plantes accompagnée d'une réduction de la

croissance des plantes (Sharma et al., 2019; Xia et al., 2006, 2009). Afin de minimiser les dommages oxydatifs causés par les pesticides, les plantes ont leurs systèmes de défense (antioxydant enzymatique et non-enzymatique système de défense) qui sont activés dans des conditions de stress. Par conséquent, l'imidaclopride peut causer pollution grave et risques pour l'environnement et l'écologie des sols (Sharma et al., 2019).

### **2.3 Dispersion des pesticides dans l'environnement**

Les pesticides agricoles sont appliqués sur les cultures ou utilisés dans le traitement des semences. L'application d'un pesticide dépend du stade de la culture, de la cible, la technique d'application, et les conditions météorologiques. Quand les pesticides sont appliqués à partir d'un avion, la moitié dérive hors de la zone cible (Gupta & Gupta, 2020).

La présence de pesticides dans les eaux de surface a été connue dans les années 1960. Au cours des années 1970 et 1980, le nombre de pesticides trouvés dans les eaux souterraines a augmenté (Gupta & Gupta, 2020), ce qui a provoqué une grande inquiétude, car les eaux souterraines sont la principale source d'eau potable. La présence de pesticides dans l'atmosphère a été connue dans les années 1970 et 1980. De plus, le transport et le dépôt des pesticides peuvent se faire sur de très longues distances, même dans le brouillard océanique et la neige arctique (Gupta & Gupta, 2020). Cela nous renseigne sur l'arrivée des pesticides, par dispersion et d'autres moyens, dans les zones où aucune activité humaine n'a été enregistrée. La présence de pesticides montre la portée et le degré de pollution des pesticides qui augmente les risques pour les non-agriculteurs de la région.

#### ***2.3.1 Comportement des pesticides dans le sol***

Le comportement des pesticides dans les sols peut être compris en suivant des processus : dégradation par microorganismes du sol ; dégradation chimique (hydrolyse) ; sorption de la photo-dégradation et la liaison par des composants organiques du sol ; l'absorption par la plante ; et les volatilisations (Gupta & Gupta, 2020).

Les microbes métabolisent les pesticides où les bactéries et les champignons les utilisent comme source de carbone. De plus, le pH, la température et la teneur en matières organiques influent sur sa dégradation.

La dégradation chimique peut se produire par des réactions d'hydrolyse, d'oxydation-réduction et d'ionisation, qui dépendent du pH du sol. Dans la photo-dégradation, les pesticides sont dégradés par l'énergie lumineuse qui arrive sur le sol ou la surface des plantes.

L'énergie photochimique des photons brise les liaisons chimiques des pesticides (Gupta & Gupta, 2020). La sorption est la liaison des pesticides aux particules et aux matières organiques dissoutes et l'adsorption sur les acides humiques, les sédiments et autres macromolécules en suspension. Cela entraîne une réduction de la biodisponibilité des pesticides hydrophobes dans le sol (Gupta & Gupta, 2020).

L'absorption des pesticides du sol se fait par les racines des plantes. La volatilisation par accumulation est la conversion de la forme solide ou liquide en forme gazeuse et la libération dans l'air et se disperse loin du site d'application. Le taux de volatilisation dépend de la température, l'humidité, la propriété de l'air, et cela provoque le transfert du pesticide vers des zones éloignées (Gupta & Gupta, 2020).

Les pesticides présents dans le sol sont dégradés par des moyens microbiologiques et chimiques qui augmente avec l'augmentation de la température et de la teneur en eau du sol (Gupta & Gupta, 2020). Dans des conditions de limitation de l'eau ou de sécheresse, la demi-vie du pesticide est prolongée. Le taux de dégradation est présenté par une durée de demi-vie ; une demi-vie plus longue signifie un temps de rétention plus long dans le sol, ce qui signifie qu'il y a plus de chances que le pesticide pénètre dans les systèmes biologiques.

La dégradation et le devenir des produits de dégradation des pesticides sont très préoccupants et doivent également être pris en considération, car les produits de dégradation peuvent avoir des caractéristiques et une persistance similaire dans le sol (Gupta & Gupta, 2020).

#### **2.4 Absorption des pesticides par les plantes**

Les pesticides font partie du groupe de produits chimiques hautement persistants dans l'environnement du sol (Pullagurala et al., 2018). L'utilisation excessive de pesticides conduit à la formation de contaminants du sol à base de pesticides. Ainsi, La présence de pesticides dans les plantes comestibles est un sujet de préoccupation. Une étude a signalé que le chlordécone, un composé organochloré, était absorbé par les racines de radis par l'adsorption sur le péricard, suivie d'une diffusion dans le cortex, le xylème et la moelle (Létondor et al., 2015) (Fig. 5).

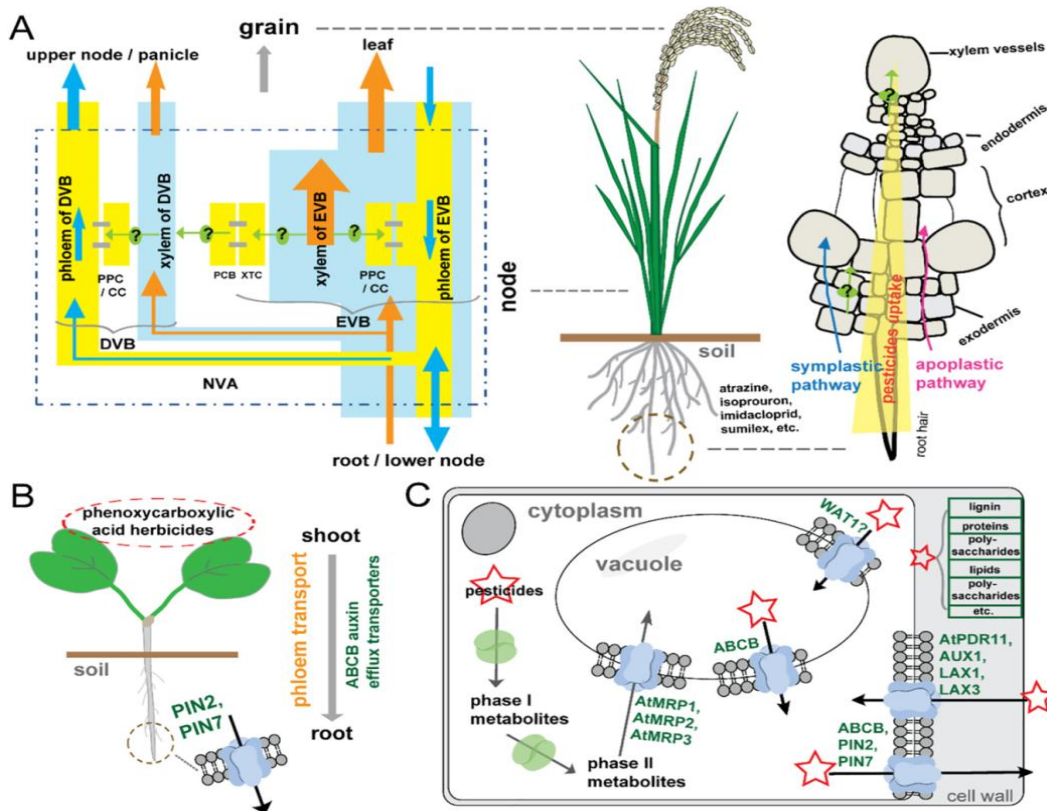
Dans une autre étude, le dichloro-diphényl-trichloroéthane (DDT) a été trouvé dans les racines de plants de maïs ; cependant, le transfert du sol à la racine de la plante n'était que de 0,1 %, le mode d'absorption avait été due à l'adsorption passive et à l'absorption active (Zhang

et al., 2014). Des résultats similaires ont été obtenus avec l'absorption et la translocation de l'aminocyclopyrachlore dans la fleur de trompette (*Tecomastans*). Il est bien admis que divers facteurs influencent l'absorption des pesticides. Par exemple, les plantes cultivées en conditions de culture extérieure prennent moins de place que les plantes cultivées à l'intérieur. Ceci pourrait être due aux effets des courants d'air, de la dispersion des sols et photo dégradation des molécules de pesticides (Hwang et al., 2015).

L'absorption des pesticides est également spécifique à chaque plante. Par exemple, l'absorption de chlordécone était plus élevée dans les courgettes et les citrouilles que dans les concombres (Létondor et al., 2015). Dans l'ensemble, la principale menace des polluants des pesticides serait principalement due à l'application foliaire sur les plantes plutôt que sur l'irrigation du sol ou les déchets à base de sol. L'absorption atmosphérique due à la volatilisation et à la photo-dégradation doit également être prise en considération, car l'absorption foliaire est très souvent signalée (Pullagurala et al., 2018).

L'amendement des bio-solides (biochar ; composte) peut réduire l'absorption globale de certains pesticides. Selon Caicedo et al., (2011), l'amendement des bio-solides a réduit l'absorption du lindane dans le sol. Toutefois, cette réduction de l'absorption n'est applicable que dans le milieu du sol (Caicedo et al., 2011). Inversement, dans une étude hydroponique, Il a été prouvé que l'accumulation de lindane dans le ray-grass (*Lolium perenne* L.) dépend du gradient temporel (San Miguel et al., 2013). Les pesticides volatils pénètrent via les feuilles par les stomates. Un certain nombre de facteurs sont impliqués dans l'absorption des pesticides et leur métabolisme dans le système végétal, notamment les facteurs environnementaux externes (température, humidité et précipitations) et les propriétés physico-chimiques du sol et des pesticides (Sharma et al., 2018).

L'absorption de pesticides via le système racinaire et leur métabolisme dans le système végétal sont affectés par des facteurs tels que le mode d'application, la quantité de pesticide, les propriétés physico-chimiques et biochimiques des pesticides et leur réaction avec le sol, et le stade de développement des plantes (Sharma et al., 2019). L'absorption des pesticides par les plantes est également déterminée par leur degré de solubilité dans l'eau.



**Figure 6:** L'absorption et la translocation de pesticides dans les plantes (Zhang & Yang, 2021).

(A): Translocation des pesticides absorbés par les racines; PPC, cellule parenchymateuse liber ; CC, cellule d'accompagnement ; PCB, pont de cellules parenchyme ; XTC, une cellule de transfert xylème; DVB, diffuse des faisceaux vasculaires; EVB, agrandie faisceaux vasculaires. (B) : Translocation des pesticides absorbé par les feuilles. (C): les transporteurs intercellulaires et intracellulaires liés au transport des pesticides et de leurs métabolites; le creux rouge étoile à cinq branches représente la molécule de pesticide.

## 2.5 Effets physiologiques des pesticides sur les plantes

Les pesticides sont considérés comme un moyen de lutte contre les parasites des cultures. Néanmoins, ils ont de graves effets toxiques sur les espèces végétales (Mahapatra et al., 2019). Ils sont également à l'origine de plusieurs altérations morpho-physiologiques, moléculaires et biochimiques des plantes qui nuisent à la croissance et à la productivité ainsi que le développement de la résistance des organismes nuisibles (Mahapatra et al., 2019). Les pesticides ont tendance à avoir un effet négatif sur la croissance et le développement des plantes. Par exemple, à la concentration de 1,0 mg/L, le chlorpyrifos a eu des effets inhibiteurs importants sur la longueur totale des racines et le poids frais du chou chinois (*Brassica chinensis* L.) (Pullagurala et al., 2018).

L'application de pesticides provoque également une toxicité pour les plantes, qui peut être observée sous la forme de nécrose, de chlorose, de brûlures et de torsion des feuilles.

L'utilisation excessive de pesticides est l'une des principales causes de réduction de la diversité de la végétation (Sharma et al., 2019).

Les plantes sensibles ou stressées peuvent être extrêmement vulnérables à la phytotoxicité qui dépend de nombreux facteurs tels que l'utilisation de pesticides, le taux d'application, la technique de pulvérisation, les conditions climatiques, l'organisation de la flore, l'humidité et les propriétés édaphiques telles que l'humidité, la température, le pH, la texture et l'activité microbienne. Il a été constaté que l'application de pesticides affecte négativement la croissance et le développement des plantes (Sharma et al., 2019).

Des études sur les effets phytotoxiques des insecticides organophosphorés sur le phytoplancton ont suggéré que ce type de toxique réduit les taux de croissance et inhibe la biosynthèse de la chlorophylle, des protéines et des glucides (Parween & Jan, 2019; Sharma et al., 2019). L'application de pesticides provoque un stress oxydatif pour les plantes en raison de la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Parween & Jan, 2019).

Ce stress oxydatif entraîne une dégradation des pigments et des protéines de la chlorophylle et entraîne à terme une diminution de l'efficacité photosynthétique des plantes (Xia et al., 2006). Dans une expérience de Shakir et al. (2018), trois pesticides couramment utilisés, le benzoate d'émamectine, la cyperméthrine et l'imidaclopride ont été évalués pour provoquer un stress oxydatif chez la tomate. Bashir et al., (2007) a étudié le système de réponse antioxydante du *Glycine max* L. exposée à la deltaméthrine à plusieurs concentrations (0,00%, 0,05%, 0,10%, 0,15% et 0,20%) par pulvérisation foliaire dans les conditions de terrain les changements observés étaient dose-dépendants avec une forte corrélation avec le niveau de traitement.

L'application généralisée d'herbicides pour protéger les cultures contre les attaques des mauvaises herbes est une partie importante de l'agriculture moderne. Un certain nombre d'enquêtes ont montré des effets secondaires des herbicides sur le matériel génétiques des différentes cellules (Singh & Tiwari, 2020).

Les effets secondaires les plus évidents de ces substances toxiques sont plus ou moins des effets sur la croissance et le métabolisme des espèces végétales, les changements d'abondance des espèces, la diversité des écosystèmes et la réduction du potentiel de production des ressources naturelles et des espèces non ciblées. Ces effets vont d'une légère inhibition de la croissance à des perturbations morphologiques délétères pour la plante entière

ou à un organe particulier (Singh & Tiwari, 2020). La diminution de l'assimilation du CO<sub>2</sub> par les plantes traitées aux pesticides a été attribuée à la fois aux stomates (en raison de la fermeture stomatique) et effets non stomatiques dus à une perturbation de la capacité de carboxylation du Rubisco, à une diminution de la teneur en Rubisco ou à une réduction de la régénération du ribulose-1,5-bisphosphate (Xia et al., 2006). La biosynthèse des pigments est inhibée par un fongicide systémique, le bénomyl. Il induit une réduction considérable de la chlorophylle a, chlorophylle b, caroténoïdes et la teneur totale en pigments de tournesol (Singh & Tiwari, 2020).

Duran et al., (2015) à étudier l'effet du pesticide deltaméthrine sur les propriétés biologiques du maïs (*Zea mays* L. saccharata Sturt). Tous les paramètres de croissance des semis diminuaient avec l'augmentation des niveaux de deltaméthrine.

De plus, les pigments tels que la chlorophylle a, chlorophylle b, la chlorophylle totale et les caroténoïdes ont diminué avec l'augmentation de la concentration de deltaméthrine. Inversement, la teneur en anthocyanes et en proline a augmenté parallèlement à la concentration de deltaméthrine. En conséquence, tous les traits morphologiques et pigments à l'exception de la proline et de l'anthocyanine étaient fortement réduits avec une augmentation de la concentration de pesticide par rapport au témoin (Duran et al., 2015).

## **2.6 Réponses physiologiques et mécanismes de défense dus aux pesticides**

### ***2.6.1 Défenses antioxydantes***

De nombreux pesticides perturbent la photosynthèse des plantes et entraînent un dysfonctionnement du transport d'électrons conduisant à une fuite d'électrolyte avec production des ERO. Pour faire face au stress oxydatif, le système de défense antioxydant des plantes est activé, ce qui implique des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Sharma et al., 2019; Xia et al., 2009).

L'herbicide trichloro-acétate utilisé sur l'avoine, la laitue et le chou chinois a stimulé l'activité des enzymes antioxydantes telles que SOD, CAT, POD et GR même lorsqu'il est appliqué à de faibles concentrations (Radetski et al., 2000). De même, les fongicides azoxystrobine (strobilurine) et époxiconazole (triazole) pulvérisés sur les feuilles d'orge ont stimulé l'activité des enzymes antioxydantes (Wu & von Tiedemann, 2002).

Il a été conclu que l'application de pesticides provoque un stress oxydatif dans les plantes par la production d'espèces réactives de l'oxygène. Cela conduit finalement à un retard

de croissance et diminue l'efficacité photosynthétique des plantes. Cependant, les plantes sont capables de détoxifier le pesticide absorbé grâce à un système de détoxification (Xia et al., 2009).

### 2.6.2 Métabolisme des pesticides chez les plantes

Les plantes peuvent non seulement absorber les pesticides, mais aussi les métaboliser. Plusieurs études ont montré le potentiel des plantes pour la dégradation des pesticides. Par exemple, *Eichhornia crassipes* pourrait métaboliser l'éthion (insecticide organophosphoré) et sa concentration diminue pour les pousses et pour les racines (Sharma et al., 2020; Xia et al., 2006).

*Lemna minor* a retiré les herbicides, à savoir le glyphosate et l'isoproturon, de milieu hydroponique de 8% et 25%, respectivement (Dosnon-Olette et al., 2011; Anket et al., 2020). De même, quatre plantes des zones humides, à savoir *Typha latifolia*, *Phragmites australis*, *Iris pseudacorus* et *J. effusus* ont pu métaboliser et éliminer les fongicides absorbés, le tebuconazole en 25-42% et l'imazalil de 46-96% (Lv et al., 2016).

Les approches biotechnologiques récentes pour la biorestauration comprennent la biosorption, la phytostabilisation, l'hyperaccumulation, la biostimulation, la mycoremédiation, la cyano-médiation et la géno-médiation, qui dépendent principalement de l'amélioration ou de la prévention d'activités génétiques spécifiques (Hussain et al., 2018; Eapen et al., 2007; Sandermann, 1994).

Les plantes métabolisent les polluants xénobiotiques en trois étapes séquentielles (Hussain et al., 2018; Xia et al., 2009. Coleman et al., 1997; Sandermann, 1992, 1994;) :

1. La phase I implique la conversion/activation (oxydation, réduction et hydrolyse) des xénobiotiques lipophiles ;

2. La phase II implique la conjugaison des métabolites xénobiotiques de la phase I à un composé hydrophile endogène telle que les sucres, les acides aminés et le glutathion ;

3. La phase III implique que les xénobiotiques modifiés compartimenté dans des vacuoles ou se liant à des composants de la paroi cellulaire tels que la lignine ou l'hémicellulose. Au cours de la phase I, les molécules xénobiotiques subissent une transformation oxydative ou hydrolytique, alors que certaines substances organiques telles que les nitro-aromatiques subissent une réduction (Eapen et al., 2007; Hannink et al., 2003). Les réactions de type phase I sont importantes dans la phytoremédiation des polluants



organiques hydrophobes et chimiquement stables tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les pesticides.

Les différents groupes d'enzymes sont connues pour jouer un rôle important dans le métabolisme oxydatif des xénobiotiques (Tableau 1) (Sharma et al., 2020).

**Tableau 1:** Les enzymes impliquées dans la phase I et II de la transformation chimique des pesticides (Sharma et al., 2020).

Processus	Réaction	Enzymes
Phase I (Activation)	Oxydation	Oxydases (cytochrome P450s, peroxydases, phénol oxydases, oxydo-réductases, etc.)
	Réduction	Réductases (nitroreductase, etc.)
	Hydrolyses	Estérases, amidases, nitrilases, etc.
Phase II (Conjugaison)	Conjugaison au glutathion	Glutathione-S-transferases Uridine diphosphatase-glucosyl (UDPG) transférase
	Conjugaison au sucre	transférase

Chez les plantes, le métabolisme oxydatif des polluants de la phase I est principalement médié par la monooxygénase du cytochrome P450 (Xia et al., 2009). Les enzymes du cytochrome P450 sont d'une importance cruciale dans les processus d'oxydation pour bio-activer les polluants hydrophobes en composés électrophiles chimiquement réactifs, qui forment ensuite des conjugués pendant la phase II. Chez les plantes, les cytochromes 450 forment la plus grande famille de protéines végétales et ils jouent un rôle important dans la détermination de la tolérance aux xénobiotiques (Sharma et al., 2020; Xia et al., 2009).

Les plantes transgéniques contenant des monooxygénases du cytochrome P450 humain étaient plus résistantes aux herbicides comme l'atrazine et le métolachlore (Kawahigashi et al., 2008). Le métabolisme du métamitron chez le *Chenopodium album* impliquait des monooxygénases du cytochrome P450 et ses principaux produits de dégradation étaient le déamino-métamitron et le métamitron-N-glucoside (Sharma et al., 2020).

Les peroxydases constituent un autre groupe important d'enzymes, qui aide à la conversion de certaines xénobiotiques (Xia et al., 2009). Les peroxydases phénol oxydantes

de classe III (EC. 1.11.1.7) catalysent l'oxydation des composés phénoliques, des amines aromatiques, des indoles et sulfonates par le peroxyde d'hydrogène et les oxydants apparentés. Pour la dégradation des PCB, les mono-oxygénases du cytochrome P450 sont les principales enzymes (Lee & Fletcher, 1992), tandis que les peroxydases sont également impliquées dans le métabolisme des PCB (Mayer & Staples, 2002).

On sait également que les pré-oxygénases oxydent certains xénobiotiques (Sandermann, 1992, 1994). La nitro-réductase est nécessaire à la dégradation des nitro-aromatiques et laccase pour la rupture des structures des cycles aromatiques (Mayer & Staples, 2002). Si le contaminant xénobiotique a déjà une structure cyclique du groupe fonctionnelle approprié pour le métabolisme de phase II, le composé peut être directement utilisé pour la phase II sans entrer en phase I.

Dans la phase II, le métabolite xénobiotique activé obtenu est lié au sucre ou au groupe sulfhydryle (-SH) du glutathion, ce qui donne des formes hydrophiles. La conjugaison donne des composés moins toxiques et plus polaires avec des poids moléculaires plus élevés par rapport au composé d'origine (Eapen et al., 2007).

Les produits finaux de la phase II sont moins toxiques que les molécules originales ou dérivées de la phase I (Sharma et al., 2020; Xia et al., 2009). Des enzymes telles que les glutathion-S-transférases, la glucosyl-transférase et les N-malonyl transférases sont associées à la phase II (Sandermann, 1992).

Les glutathione-S-transférases catalysent l'attaque nucléophile de l'atome de soufre du glutathion sur le groupe électrophile d'une variété de substrats xénobiotiques hydrophobes (Xia et al., 2009; Yin et al., 2016). De nombreux pesticides induisent l'expression des gènes codant pour les glutathion-S-transférases (GST) indiquant le rôle crucial de la conjugaison au GSH dans leur désintoxication. La conjugaison du GSH avec les pesticides ou ses dérivés métabolisés primaires se produisent par addition nucléophile, les réactions qui sont catalysées par le GST et ces conjugués glutathion-pesticide peuvent être stockées dans des vacuoles (Xia et al., 2009).

Pour protéger les espèces cultivées des herbicides, des phyto-protecteurs sont utilisés en même temps ou avant l'application des herbicides. Ces substances augmentent la détoxification des herbicides chez les espèces cultivées en améliorant la conjugaison herbicide-GSH, et en stimulant la teneur en GSH ou l'activité de la GST (Dietz & Schnoor,

2001). La conjugaison des métabolites de phase I avec le glutathion a lieu dans le cytosol, mais il est nocif d'accumuler ces composés dans le cytosol.

Au cours de la phase III, les xénobiotiques conjugués sont retirés des sites vulnérables du cytosol et transportés aux vacuoles ou aux apoplastes où ils ne peuvent pas interférer avec le métabolisme. Les transporteurs de tonoplaste dépendant de la production d'adénosine triphosphate (ATP) exportent des S-conjugués au glutathion du cytosol vers les vacuoles (Coleman et al., 1997; Eapen et al., 2007). La compartimentation vacuolaire est une étape de la détoxification des conjugués xénobiotiques chez les plantes (Coleman et al., 1997; Eapen et al., 2007).

Chez les plantes supérieures, les conjugués pesticides-sucre peuvent subir une conjugaison secondaire avec le malonate par formation de la malonyl CoA transférase conjugué N-malonyl-glucose (Sharma et al., 2020).

***Chapitre III :***

***Interactions entre la pollution par les  
métaux et les pesticides***

### **3 Interactions entre la pollution par les métaux et les pesticides**

Le processus fonctionnel effectué par l'écosystème du sol contribue à un large éventail de services écosystémiques qui sont essentiels à la durabilité de la société humaine, notamment le cycle des éléments et l'approvisionnement en nutriments, en énergie et la capacité d'atténuation naturelle des polluants (Jiang et al., 2019). Avec l'augmentation intensive des activités anthropiques, les écosystèmes du sol sont susceptibles d'être contaminés par des mélanges de métaux lourds et de produits chimiques organiques (Shahzad et al., 2018; Uwizeyimana et al., 2017), ce qui devrait affecter les fonctions écologiques, les services et la durabilité de l'écosystème du sol (Jiang et al., 2019; Uwizeyimana et al., 2017).

L'évaluation et la prévision du risque écologique potentiel causé par les mélanges de polluants sur l'écosystème du sol sont d'une importance capitale pour les gestionnaires de l'environnement et les décideurs (écologues). Toutefois, à l'heure actuelle, les critères d'évaluation ou les objectifs de protection les plus largement utilisés dans la procédure d'évaluation des risques écologiques sont la toxicité aiguë d'une seule espèce, comme les plantes terrestres ou les invertébrés vivant dans le sol (Jiang et al., 2019; Uwizeyimana et al., 2017). Il est de plus en plus nécessaire de mettre au point des méthodes d'évaluation des risques de la pollution combinée dans une perspective globale, en tenant compte des fonctions primordiales de l'écosystème du sol (Jiang et al., 2019; Uwizeyimana et al., 2017).

La révolution industrielle a favorisé la prospérité économique, tout en libérant une variété de polluants dans l'environnement (Shahzad et al., 2018; Ye et al., 2017), surtout en raison des caractéristiques de dissimulation, d'accumulation et de restauration difficile, il n'y a pas de traitement approprié pour la remédiation des sols contaminés jusqu'à ces dernières années (Ye et al., 2017). De plus, les sols co-contaminés par des éléments potentiellement toxiques (EPT par exemple les métaux lourds) et les polluants organiques (les pesticides et les polluants émergents) ont causé d'énormes problèmes environnementaux mondiaux due au développement industriel et agricole rapide (Shahzad et al., 2018; Uwizeyimana et al., 2017; Ye et al., 2017).

Une suite complexe de produits chimiques organiques et d'EPT se produit fréquemment dans de nombreuses situations. Par exemple, les EPT et les polluants organiques tels que les pesticides, sont largement coexistant dans le sol, car ils sont souvent libérés simultanément à partir de plusieurs sources comme la combustion du charbon, du pétrole et du bois, de l'incinération des déchets et des émissions de gaz d'échappement des véhicules,

augmentation de la réutilisation des boues d'épuration, de l'irrigation des eaux usées et de l'emploi conventionnel des pesticides (Jiang et al., 2019; Ye et al., 2017).

Le développement de l'agriculture intensive dans de nombreux pays implique l'application de divers pesticides qui peuvent conduire à une lourde charge sur l'environnement en particulier sur les écosystèmes des sols agricoles. Une partie importante de ces pesticides peut être éliminée par ruissellement dans les milieux aquatiques ou traversent lentement les couches inférieures du sol et les eaux souterraines (Shahzad et al., 2018; Uwizeyimana et al., 2017; Ye et al., 2017).

Outre les pesticides, la pollution par les métaux lourds dans les sols est devenue un autre problème à travers le monde en raison de l'augmentation des activités anthropiques. La production mondiale des métaux lourds a connu une augmentation très effrayante pour l'environnement depuis la révolution industrielle (Shahzad et al., 2018; Uwizeyimana et al., 2017). L'énorme contamination des sols, eau et air et leur transfert direct à des organismes supérieurs à travers la chaîne alimentaire continue d'être un problème environnemental qui peut entraîner divers risques pour la santé et pour le fonctionnement des écosystèmes.

Cependant, de nombreuses études ont été rapportées sur la toxicité de produits chimiques uniques, il est nécessaire d'améliorer nos connaissances sur les effets nocifs des expositions aux mélanges chimiques (Singh et al., 2017; Wang et al., 2019).

Dans les zones d'agriculture et d'industrie intensives, la co-occurrence de pyréthriinoïdes et de métaux lourds ont été largement et fréquemment détectés dans les environnements avoisinants le sol. Par exemple, la cyperméthrine et le Cd ont été détectés dans les fleuves Jiulong et Liangtan en Chine (Wang et al., 2019). De plus, dans une zone humide du nord- de l'Espagne et dans les eaux de surface de l'Èbre, la coexistence de plusieurs pesticides pyréthroïdes et de métaux lourds a été trouvée (Wang et al., 2019).

En raison de l'application répétée et extensive de pyréthroïdes et bouillie bordelaise, les deux niveaux accrus de résidus de plusieurs pyréthriinoïdes et de Cu étaient observé dans les sols de surface des vergers, Il est nécessaire d'évaluer les effets toxicologiques combinés des pyréthriinoïdes et des métaux lourds, ce qui a déjà fait l'objet d'une attention croissante ces dernières années (Singh et al., 2017; Uwizeyimana et al., 2017; Wang et al., 2019)

## **La tomate comme modèle pour l'étude du stress abiotique**

Originnaire des Andes, la tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a été importée en Europe au XVI<sup>e</sup> siècle. Cette plante est devenue une culture économiquement très importante. Elle est considérée comme un aliment protecteur en raison de sa valeur nutritive particulière, elle fournit des nutriments importants tels que le lycopène, le bêta-carotène, les flavonoïdes, la vitamine C et les dérivés de l'acide hydroxy cinnamique. En outre, cette culture a permis d'obtenir d'énormes popularité, surtout ces dernières années avec la découverte des activités antioxydantes et des fonctions anticancéreuses du lycopène (Gerszberg et al., 2015). Ainsi, la production et la consommation de la tomate sont en constante augmentation.

Il convient de noter que les tomates ne sont pas seulement vendues fraîches, mais aussi transformées en soupes, sauces, jus ou concentrés de poudre.

D'un point de vue botanique, la tomate est un fruit. Néanmoins, elle contient une teneur en sucre beaucoup plus faible par rapport à d'autres fruits. C'est une plante diploïde avec  $2n = 24$  chromosomes. La tomate appartient à la famille des Solanacées qui contient plus de 3 000 espèces, dont les plantes d'importance économique telles que les pommes de terre, les aubergines, le tabac, les pétunias et les poivrons (Gerszberg et al., 2015).

La tomate est une plante très commune, ces cultures peuvent être cultivées aussi bien en plein champ que sous conditions contrôlée. En 2017, la tomate était l'une des dix cultures les plus produites au monde (FAO, 2017) et son importance économique est en corrélation avec la qualité de ces fruits, en raison de leur teneur élevée en bêta-carotène, en flavonoïdes et en lycopène, impliquées dans des mécanismes antioxydants et anticancéreux (Gerszberg et al., 2015). La productivité de ces cultures peut être influencée par différents types de stress abiotique, il est très important d'approfondir les connaissances concernant l'impact des différents facteurs de stress émergents sur une culture stratégique aussi importante.

## **Problématique et objectif du projet**

Les études éco-toxicologiques classiques se sont concentrées sur les effets d'exposition à des substances toxiques isolées dans des conditions de laboratoire. En outre, les polluants chimiques persistants tels que les métaux simultanément avec d'autres facteurs de stress abiotique.

La co-occurrence d'insecticides (pyréthriinoïdes et néonicotinoïdes) et des métaux lourds dans l'environnement peut produire des effets toxiques combinés supérieurs ou inférieurs aux effets toxiques des produits chimiques isolés. Les études évaluant la toxicité combinée à l'aide de modèles spécifiques, ont révélé que les interactions synergiques et antagonistes entre les insecticides pyréthriinoïdes et les métaux lourds sont rare. Des informations limitées sont disponibles concernant les mécanismes sous-jacents responsables de la toxicité combinée, et donc des recherches sur les combinaisons de ces facteurs sont nécessaires pour obtenir des extrapolations précises des tests du laboratoire à l'environnement naturel. L'importance de ces informations s'étend sur de nombreuses disciplines allant de la gestion des ressources naturelles à l'élaboration des politiques agricoles, la bio-surveillance et la biotechnologie.

En outre, il permettra d'améliorer les prévisions des impacts réels des polluants.

L'objectif du présent travail est d'évaluer les effets toxicologiques de l'insecticide (imidaclopride et deltaméthrine) et du cadmium seul et combiné, et de déterminer le type d'interaction (synergique, additive ou antagoniste) entre ces polluantes.

Les réponses écophysiologicals de la tomate (*Solanum lycopersicum*) ont été évaluées à différents niveaux d'organisation biologique :

a) évaluer les réponses à une combinaison de deux facteurs de stress au niveau de la croissance et la physiologie photosynthétique (les changements dans les pigments photosynthétiques) ;

b) évaluer les réponses au niveau du métabolisme oxydatif, ainsi que les activités des enzymes antioxydantes (peroxydase, catalase, ascorbate peroxydase et glutathion s-transférase) et la concentration des molécules antioxydantes (glutathion, ascorbate et proline).



c) évaluer la réponse du métabolisme secondaire, à savoir les concentrations des phénols totaux, de flavonoïdes et l'activité de l'enzyme clé dans la synthèse des composés phénoliques, la phénylalanine ammonia lyse (PAL).

Les objectifs tracés ont pour but de répondre à l'hypothèse selon laquelle un contexte de stress individuel et combiné de l'insecticide (DM/IMI) et du cadmium induit l'altération de l'état redox des feuilles de la tomate et éventuellement leur croissance suivant une interaction synergique et/ou antagoniste.

*Deuxième partie*

*Etude expérimentale*

*Chapitre I :*

*Matériel et méthodes*

L'objectif du présent travail est d'évaluer les effets toxicologiques de l'insecticide (imidaclopride et deltaméthrine) et du cadmium et de déterminer la nature des interactions (synergique, additive ou antagoniste) entre les polluants.

## **1 Le matériel végétal, conditions de culture, croissance et traitements**

Les semences de tomates (*Solanum lycopersicum* L. var. Sally) ont été obtenues auprès de l'institut technique des cultures maraîchères et industrielles (ITCMI, Stauali, Alger). Les graines ont été désinfectées avec de l'hypochlorite de sodium à 1% pendant 10 minutes, suivies de 3 lavages. Les graines ont germé sur du papier filtre à humidité dans un incubateur à 27°C pendant 7 jours. Dans une chambre contrôlée avec une photopériode de 14 h (sous 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Un jour/une nuit à une température de  $25 \pm 2$  °C et une humidité relative de 70 %, les graines germées ont été transférées dans une boîte contenant une solution nutritive Hoagland pendant 15 jours. Tous les 3 jours, la solution a été régulièrement aérée et rafraîchie. Les semis uniformes âgés de 21 jours ont été répartis au hasard en quatre groupes, chacun contenant 24 semis :

- Groupe témoin où des semis poussent dans une solution sans chlorure de cadmium ( $\text{CdCl}_2$ ) et/ou insecticide (IMI ou DM) ;
- Groupe Imidaclopride (IMI Bayer Crop Science, Bayer Algérie SPA) où les plantules reçoivent une dose agronomique de 50 ml/hl) ;
- Groupe Deltaméthrine (Decis® 25 EC) où les plantules reçoivent une dose agronomique de 0.5 L/Ha (Index phytosanitaire) du deltaméthrine ;
- Groupe Cd où les plantules sont exposées via le milieu Hoagland additionné de 100  $\mu\text{M}$  de  $\text{CdCl}_2$  choisi sur la base de travaux antérieurs ;
- Groupe IMI+Cd et/ou DM + Cd, les plantules ont été pulvérisées sur le feuillage avec d'IMI/DM et du Cd (100  $\mu\text{M}$ ) ajouté à la solution nutritive.

Après 7 jours de traitement, des échantillons ont été collectés et utilisés pour des analyses morphologiques et biochimiques.

## 2 Techniques analytiques

### 2.1 Analyses physiologiques

#### 2.1.1 Détermination des paramètres de croissance

La longueur de la pousse et de la racine a été mesurée manuellement à l'aide d'une règle. Le poids frais de la pousse et de la racine a été déterminé par une balance analytique.

#### 2.1.2 Dosage des pigments photosynthétiques (chlorophylles et caroténoïdes)

Les concentrations des pigments photosynthétiques chlorophylle (Chl<sub>a</sub>, et Chl<sub>b</sub>) et les caroténoïdes dans les feuilles ont été déterminées selon la méthode développée par [Lichtenthaler \(1987\)](#). 50 mg des feuilles ont été broyées dans 10 ml d'acétone à 80%. Le mélange a été incubé pendant 60 minutes à 4 °C, ensuite filtré. L'absorbance des extraits a été mesurée par spectrophotométrie à des longueurs d'ondes de 663, 646 et 470 nm. Les concentrations de Chl a, de Chl b et de caroténoïdes ont été calculées à l'aide des équations décrites par [Lichtenthaler \(1987\)](#):

$$\text{Chl}_a (\mu\text{g/ml}) = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{645.8}$$

$$\text{Chl}_b (\mu\text{g/ml}) = 12.25 A_{645.8} - 2.79 A_{663.2}$$

$$C (x+c) (\mu\text{g/ml}) = (1000 A_{470} - 1.82 C_a - 85.02 C_b)/198$$

### 2.2 Analyses biochimiques

#### 2.2.1 Détermination des marqueurs de stress

##### 2.2.1.1 Estimation du contenu en malonyldialdéhyde (MDA)

Le dosage du malonyldialdéhyde (MDA) est effectué selon la méthode décrite par [Heath and Packer \(1968\)](#). Des échantillons de feuilles (0,07g) ont été homogénéisés dans 5 ml de solution TCA à 0,1 % (p/v). L'homogénat a été centrifugé à 12 000 xg pendant 10 min, et 0,5 ml du surnageant a été ajouté à 1 ml de 0,5 % (p/v) de TBA contenant 20 % de TCA. Le mélange a été incubé dans l'eau bouillante pendant 30 minutes, et la réaction a été arrêtée en plaçant les tubes dans un bain de glace. Ensuite, Les échantillons ont été centrifugés à 10 000xg pendant 5 minutes. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 532 nm, en soustrayant la valeur de l'absorption non spécifique à 600 nm. La quantité de complexe MDA-TBA (pigment rouge) était calculée à partir du coefficient d'extinction de ( $\epsilon=155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) et exprimée en  $\mu\text{mol/g}$  matière fraîche (MF).

##### 2.2.1.2 Estimation de la teneur en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Le niveau de peroxyde d'hydrogène a été déterminé comme décrit par [Velikova et al. \(2000\)](#). Dans un bain de glace, les tissus foliaires (0,07 g) sont homogénéisés avec 5 ml TCA

à 0,1%. L'homogénat est centrifugé à 12 000xg pendant 15 min, et 0,5 ml du surnageant a été ajouté à 0,5 ml de tampon de phosphate de potassium 10 mM (pH 7,0) et 1 ml de 1 M KI. L'absorbance a été lu à 390 nm. La teneur en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage standard préalablement réalisée en utilisant différentes concentrations de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> exprimée en  $\mu\text{mol. g}^{-1}$  MF.

## 2.2.2 Détermination de l'activité enzymatique antioxydants

### 2.2.2.1 Préparation des extraits enzymatiques

Les échantillons de tissu foliaire frais (0,150 g) ont été homogénéisés dans 3 ml de tampon de phosphate de sodium 50 mM (pH 7,8) contenant 1 mM d'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA) et 1% (p/v) de polyvinylpyrrolidone (PVP) en utilisant un mortier et un pilon pré-refroidis. L'extrait de tissu obtenu a ensuite été centrifugé à 13 000xg pendant 20 minutes à 4 °C. Le surnageant a été recueilli, aliquoté et stocké à -80 °C pour des analyses enzymatiques ultérieures.

### 2.2.2.2 Détermination de la teneur en protéines

La teneur totale en protéines de chaque extrait a été estimée par la méthode de [Bradford \(1976\)](#). À 0,2 ml de surnageant, 1 ml de réactif de Bradford a été ajouté et mélangé. Les tubes contenant le mélange réactionnel ont été maintenus à température ambiante (25°C) pendant 5 minutes pour le développement de la couleur. L'intensité de la couleur bleue a été enregistrée à 595 nm. La concentration en protéines a été quantifiée à l'aide d'une courbe standard préparée en utilisant la BSA comme étalon.

### 2.2.2.3 Détermination de l'activité de la catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

La catalase a été dosée en mesurant la diminution de l'absorbance due à la disparition de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 240 nm selon la méthode d'[Aebi \(1984\)](#). Le mélange réactionnel contient 25 mM de tampon phosphate (pH 7,0) et 2 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La réaction a été déclenchée par addition de 100  $\mu\text{l}$  d'extrait enzymatique. La solution enzymatique contenant le tampon phosphate sans H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a servi de témoin. La diminution de l'absorption a été enregistrée à intervalles réguliers de 30 secondes à 3 minutes par un spectrophotomètre à 240 nm, et exprimée en nmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> décomposé  $\text{min}^{-1} .\text{mg}^{-1}$  de protéines.

### 2.2.2.4 Détermination de l'activité de l'ascorbate peroxydases (APX, EC1.11.1.1)

L'activité de l'APX a été mesurée selon la méthode de [Nakano and Asada \(1981\)](#). Le mélange réactionnel de volume total de 3 ml est préparé contenant 50 mM de tampon de phosphate de potassium (pH 7,0), 0,1 mM d'EDTA, 0,5 mM d'acide ascorbique, 0,1 mM de

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et 100 µL d'extrait enzymatique. L'absorbance a été enregistrée à 290 nm (coefficient d'extinction 2.8 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>). L'activité spécifique de l'enzyme est exprimée par µmol d'ascorbate oxydé par min par mg de protéines.

#### 2.2.2.5 Détermination de l'activité de peroxydase (POD, E.C.1.11.1.7)

L'activité de la peroxydase a été estimée en utilisant la procédure de [Kar and Mishra \(1976\)](#). À 500 µL d'extrait enzymatique, 2.5 ml de tampon phosphate 0.1 M (pH 7), 1 ml de pyrogallol (10mM) et 1 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5mM) ont été ajoutés successivement. Le blanc a été préparé avec 500 µL d'extrait enzymatique, 3.5 ml de tampon phosphate (0.1 M) et 1 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5mM). Après 5 minutes d'incubation à 25 °C, la réaction a été arrêtée par l'ajout de 1 ml de 2.5 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. L'absorbance est mesurée à 420 nm. L'activité enzymatique a été exprimée en mg<sup>-1</sup> protéines min<sup>-1</sup>.

#### 2.2.2.6 Détermination de l'activité du glutathione-S-transferase GST (EC 2.5.1.18)

L'essai a été réalisé selon la méthode décrite par [Habig and Jakoby \(1981\)](#). Le mélange réactionnel pour le dosage de la GST contenant 500 µl de Tampon de phosphate de potassium 0,2 M (pH 7,0), 100 µl de GSH 10 mM, 10 µl de DTNB 0,1 M, et 390 µl d'eau distillée. L'absorbance est mesurée à 340 nm pendant 1 minute.

#### 2.2.2.7 Détermination de l'activité du L-Phénylalanine ammonia lyse (PAL, EC 4.3.1.5)

L'activité PAL a été déterminée suivant la méthode de [Sánchez-Rodríguez et al. \(2011\)](#). Dans 1 ml de mélange réactionnel contenant 100 mM de tampon phosphate (pH 7), 13 mM de phénylalanine et 40 mg d'extrait protéique à 40 °C, l'absorbance due à l'accumulation d'acide cinnamique a été suivie à 290 nm pendant 45 min. L'activité du PAL a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction de l'acide cinnamique ( $\epsilon = 17.4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

### 2.2.3 Détermination de la teneur en antioxydant non enzymatique

#### 2.2.3.1 Estimation de la teneur en proline

Le niveau des prolines libres est déterminé suivant la méthode proposée par [Bates et al. \(1973\)](#). Des tissus de feuilles fraîches (0,1 g) sont homogénéisés dans 10 ml d'acide sulfosalicylique aqueux à 3 %, puis l'homogénat est filtré. Deux ml de filtrat sont mis à réagir avec 2 ml ninhydrine et 2 ml d'acide acétique glacial dans un tube à essai de 10 ml pendant 1 h à 100°C. La réaction est stoppée par un bain de glace. Le mélange réactionnel a été extrait avec 4 ml de toluène, et mélangé vigoureusement avec un agitateur pendant 15-20 s. Après 1 h, le toluène est ajouté et l'absorbance à 520 nm est mesurée par un spectrophotomètre UV-

visible. La courbe standard de la proline est préparée en dissolvant la proline dans l'acide sulfosalicylique à 3 % pour couvrir la plage de concentration de 0.5 à 10  $\mu\text{g. mL}^{-1}$ .

### 2.2.3.2 Estimation de la teneur en Ascorbate (AsA)

L'ascorbate est extrait à partir de 200 mg de l'échantillon de feuilles dans 5% TCA. Le surnageant est obtenu après centrifugation à 6000 xg pendant 10 minutes. La teneur d'ascorbate est déterminée à 525 nm selon la méthode décrite par [Murshed et al. \(2008\)](#). Les cuvettes d'échantillons contenaient 450  $\mu\text{L}$  d'extrait végétal, 300  $\mu\text{L}$  d'acide trichloracétique (TCA) 0 10%, 300  $\mu\text{L}$  d'acide phosphorique à 44%, 300  $\mu\text{L}$  de bipyridyle à 4% et 150  $\mu\text{L}$  de chlorure ferrique à 3%. L'ascorbate total est mesuré par la réduction de la forme oxydée. La concentration de l'ascorbate oxydé est calculée par la différence entre l'ascorbate total et l'ascorbate réduit et exprimée en  $\mu\text{mol g}^{-1}$  par poids frais.

### 2.2.3.3 Détermination de la teneur en thiols

#### 2.2.3.3.1 Détermination de la teneur en glutathion réduit (GSH)

La teneur en glutathion réduite (GSH) est déterminée par la méthode d'[Anderson, \(1985\)](#). Environ 200 mg du tissu foliaire frais est homogénéisé dans 3 ml d'acide sulfosalicylique à 5 % dans des conditions froides. L'homogénat est centrifugé à 10 000 xg pendant 10 min. À 500  $\mu\text{L}$  de surnageant, on ajoute 600  $\mu\text{L}$  de tampon phosphate 100 mM (pH 7,0) et 40  $\mu\text{L}$  d'acide 5', 5'- dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB). Après 2 minutes, l'absorbance est lue à 412 nm. Une courbe standard est préparée par le GSH couvrant une plage de concentration 10-100 nmol.

#### 2.2.3.3.2 Estimation de la teneur totale, en thiols, en protéines et en thiols non-protéique

Les plantules traitées ont été homogénéisées dans 20 mM EDTA dans des conditions froides. Les teneurs totales en thiols, en protéines et en thiols non protéiques des homogénats ont été mesurées en utilisant le réactif d'Ellman - 5,5'-dithio-bis-(acide 2-nitrobenzoïque) (DTNB) selon la méthode de [Sedlak and Lindsay \(1968\)](#).

##### 2.2.3.3.2.1 Thiols totaux (T-SH)

Des aliquotes de 500  $\mu\text{L}$  sont mélangées avec 1.5 ml de tampon Tris 200 mM (pH 8.2) et 100  $\mu\text{L}$  DTNB à 10 mM. Le mélange est porté à 10 ml par l'ajout de 7.9 ml de méthanol absolu. Le développement de la couleur s'effectue pendant 15 minutes. L'absorbance du surnageant clair est lue à 412 nm ( $\epsilon = 13\ 100\ \text{mM}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$ ).



### 2.2.3.3.2.2 Thiols non protéiques (NP-SH)

Des aliquotes de 5 ml sont mélangées à 4 ml d'eau distillée et 1 ml de TCA à 50 %. Après 15 minutes, les tubes sont centrifugés à 10 000 ×g pendant 15 min. Deux millilitres du surnageant sont mélangés avec 4 ml de tampon Tris 04 M (pH 8.9), 100 µL DTNB et l'absorbance est lue en 5 min à 412 nm. Les thiols liés aux protéines (PB-SH) sont calculés en soustrayant les thiols non protéiques des thiols totaux (Sedlak and Lindsay, 1968).

### 2.2.3.4 Détermination des métabolites secondaires

#### 2.2.3.4.1 Estimation de la teneur en phénols totaux

Pour déterminer la teneur totale en phénols, la méthode de Singleton and Rossi (1965) est utilisée. Des échantillons de feuilles séchées (400 mg) sont chauffés dans l'éthanol (40 ml) pendant 10 minutes à 60 °C et filtrés. Le résidu est réextrait en suivant la même procédure. Les filtrats sont recueillis et le volume final a été complété jusqu'à 100 ml par l'ajout de 60 % d'éthanol. Au filtrat (2 ml), Folin-Ciocalteu (10 ml) a été ajouté et incubé pendant 5 minutes. Ensuite, du carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 7,5 % (8 ml) est ajouté puis incubé pendant 2 heures. L'absorbance est enregistrée à 765 nm.

#### 2.2.3.4.2 Estimation de la teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée selon la méthode de Zhishen et al. (1999). Des échantillons de feuilles séchées (100 mg) ont été trempés dans le méthanol absolu et l'extrait a été filtré. Eau distillée (4 ml), 5 % NaNO<sub>2</sub> (0,3 ml), et 10 % d'AlCl<sub>3</sub> ont été ajoutés à ce filtrat (1 ml). Après 5 minutes d'incubation, l'addition de 4 % de NaOH (2 ml) et de l'eau distillée (2,4 ml) donne une coloration rose. L'absorbance est enregistrée à 510 nm.

#### 2.2.3.4.3 Estimation de l'activité de piégeage des radicaux FRAP et DPPH

L'activité antioxydante est mesurée dans les feuilles en utilisant la capacité de réduction ferrique du plasma (FRAP) suivant la méthode de Benzie and Strain (1999). Une aliquote de 100 µl d'extrait foliaire (l'extrait méthanolique) est ajouté à 2 ml de réactif de FRAP. L'absorbance est mesurée à 593 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée par une solution fraîche de sulfate d'ammonium ferreux (25-1600 µmol d'ion ferreux L<sup>-1</sup>).

Un test du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) pour le piégeage des radicaux libres est réalisé selon la méthode de Tadolini et al. (2000). L'absorbance du mélange réactionnel est lue à 517 nm. L'effet de piégeage des radicaux libres est calculé comme suit

$$\% \text{ de piégeage des radicaux} = 1 - (A_{517} \text{ échantillon} / A_{517} \text{ blanc}) \times 100.$$

### **3 Analyse statistique**

Les données ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA), au seuil de signification à 5 %, pour tester l'effet de xénobiotiques sur les variables morpho-physiologiques et biochimiques étudiées. Ainsi, des tests de comparaisons multiples a posteriori (Post Hoc) ont été effectués pour déterminer les groupes homogènes en utilisant le test Tukey. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel statistique SPSS (version 22.0). L'extrapolation graphique des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Excel.

*Chapitre II :*

*Résultats et discussion*

## RESULTATS

### 1 Effets combinés de l'insecticide (imidaclopride / deltaméthrine) et du cadmium sur la morphologie de la tomate

#### 1.1 Effets d'imidaclopride et du Cd en traitements uniques et/ou combinés sur la croissance et la morphologie des plantules

Le traitement des plantules de tomate par une dose agronomique d'imidaclopride (IMI) et de 100  $\mu$ M Cd seuls et combinés pour mettre en évidence les effets interactifs entre ces deux contaminants a permis de constater que la croissance des plantules a été fortement affectée après 7 jours de traitements (Tableau 2). Les effets inhibiteurs du Cd sur l'accumulation de la biomasse étaient beaucoup plus importants que ceux de l'IMI (Tableau 2).

Par rapport au groupe contrôle, le poids frais des pousses dans les groupes traités par IMI et Cd a diminué de 36% et 47%, respectivement, accompagné d'un flétrissement et d'un jaunissement des feuilles avec une diminution plus importante observé sur le poids frais des pousses dans le groupe traité par la combinaison des deux polluants (une diminution de 59%), alors que la longueur des pousses présentait une tendance similaire pour les trois groupes traités (Tableau 2).

En outre, les poids frais des racines pour le groupe traité à l'IMI uniquement, le groupe traité au Cd uniquement et le groupe traité par la combinaison des deux ont diminué de 30%, 37% et 46%, respectivement, par rapport au groupe contrôle, alors que la longueur de la racine présentait une tendance similaire (Tableau 2). Les données obtenues ont démontré que la croissance des plantules soumises à un stress combiné a été plus affectée par rapport à ceux qui ont été exposés à l'imidaclopride et au cadmium seul (Tableau 2). On suggère leur effet synergique sur l'inhibition de la croissance de *S. lycopersicum* aussi bien chez les pousses que les racines.

**Tableau 2:** Effets de l'IMI, du Cd et de leur traitement combiné sur les paramètres de croissance des pousses et des racines (poids frais et longueur) de la tomate.

Traitements	Biomasse des pousses (g)	Longueur des pousses (cm)	Biomasse racinaire (g)	Longueur racinaire (cm)
Control	3.04 ± 0.05	19.83 ± 1.26	1.02 ± 0,09	11.41 ± 0,52
IMI	1,95 ± 0.08 ***	16.00 ± 0.50 **	0,71 ± 0,05 **	08.97 ± 0,45 **
Cd	1,61 ± 0.19 ***	14.17 ± 1.04 ***	0,64 ± 0,04 ***	07.33 ± 0.29 ***
IMI+Cd	1.24 ± 0.17 ***	13.50 ± 0,50 ***	0,55 ± 0,06 ***	06.33 ± 0,76 ***

Les valeurs sont des moyennes ± (SD) de 3 répétitions. Les nombres suivis de \*\* et \*\*\* sont statistiquement différents du contrôle à  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$ , respectivement, selon le test de Tukey. IMI- Imidaclopride, Cd- Cadmium et IMI+Cd- Imidaclopride + cadmium.

## 1.2 Effets du deltaméthrine (DM), Cd et leur mélange sur les paramètres de croissance de la tomate

Nos résultats montrent une inhibition de la croissance chez les plantules de tomates exposées au DM et/ou Cd (Tableau 3). Le poids frais (biomasse) des pousses et des racines de tomates a été significativement ( $p < 0,05$ ) affecté par la contamination en DM et/ou Cd (Tableau 3). Les feuilles des plantules de tomates ont montré des signes (symptômes) de toxicité (chlorose) sous Cd seul et sous Co-contamination DM-Cd. Par rapport au contrôle, DM, Cd et leur Co-exposition ont provoqué une diminution significative ( $p < 0,05$ ) de la biomasse des pousses et des racines des plantules de l'ordre de 22%, 41% et 51%, respectivement. Sous un stress unique, le DM et le Cd ont provoqué une réduction de 20% et de 30% de la longueur des pousses et des racines, respectivement, par rapport au contrôle non traité (Tableau 3). La longueur des pousses et des racines diminue significativement ( $p < 0,05$ ) sous le stress combinée DM-Cd de 33 et 33%, respectivement, par rapport au traitement de contrôle.

**Tableau 3:** Effets des traitements de DM et/ou Cd sur la croissance, le poids frais et la longueur des pousses et des racines chez les plantules de tomates.

Traitements	Partie aérienne		Racines	
	Biomasse (g)	Longueur (cm)	Biomasse (g)	Longueur (cm)
Control	1.99 ± 0.14	21.77 ± 0.75	0.60 ± 0.02	12.33 ± 0.57
DM	1.55 ± 0.08 **	17.43 ± 1.43 **	0.51 ± 0.04 *	09.90 ± 0.36 *
Cd	1.17 ± 0.02 ***	15.33 ± 0.76 ***	0.41 ± 0.01 ***	08.16 ± 1.25 **
DM+Cd	0.99 ± 0.11 ***	14.50 ± 0.50 ***	0.32 ± 0.02 ***	08.26 ± 0.75 **

Les valeurs sont la moyenne ± SD de 3 répliques. Les nombres suivis de \*, \*\* et \*\*\* sont statistiquement différents du contrôle à  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  et  $p < 0.001$ , respectivement. DM- Deltaméthrine, Cd- Cadmium et DM+Cd- Deltaméthrine + Cadmium.

En conclusion, les résultats obtenus révèlent que la combinaison du traitement insecticide et cadmium a un effet synergique sur la plupart des paramètres physiologiques étudiés.

## 2 Effet combiné de l'insecticide (IMI / DM) et du cadmium sur la teneur en pigments photosynthétiques

### 2.1 Effets d'IMI et de Cd en tant que traitements uniques et combinés sur la teneur en pigments photosynthétiques

L'application d'IMI et de Cd, seuls ou combinés, a réduit de manière significative ( $P < 0.05$ ) les pigments photosynthétiques Chl *a* et Chl *b* (Tableau 4). Par rapport au témoin non traité, la diminution maximale de Chl *a* a été enregistrée pour le Cd seul (81%), suivi de IMI seul (70%) et de IMI+Cd (39%). On suggère que l'effet combiné d'IMI et de Cd cause une interaction antagoniste sur l'inhibition de la chlorophylle. Chl *b* a montré une tendance similaire suite à l'exposition aux deux polluants. L'observation faite à l'œil nu (symptômes foliaires) indiquait clairement une chlorose sévère sous Cd et le traitement IMI+Cd en concordance aux données de dosage des pigments (Tableau 4).

Concernant les caroténoïdes, la réponse au traitement IMI et Cd varie selon le type de polluant utilisée (Tableau 4). L'IMI a significativement diminué la teneur des caroténoïdes

d'environ (58%), cependant cette teneur est d'un niveau stable par rapport au témoin après 7 jours de traitement cadmique. Tandis que, le traitement combiné cause une augmentation significative de la teneur des caroténoïdes foliaire d'environ (181%) par rapport au témoin.

**Tableau 4:** Effets de l'IMI, du Cd et de leur traitement combiné sur la teneur en pigments.

Traitement	Teneur en Pigments (mg/g matière fraîche)		
	Chlorophylle a	Chlorophylle b	Caroténoïdes
Control	2.85 ± 0.03	2.76 ± 0.03	0.50 ± 0.01
IMI	0.85 ± 0.10 ***	0.53 ± 0.06 ***	0.21 ± 0.01 *
Cd	0.70 ± 0.12 ***	0.20 ± 0.03 ***	0.56 ± 0.07
IMI+Cd	1.73 ± 0.22 **	1.11 ± 0.12 ***	1.41 ± 0.13 **

Les valeurs sont des moyennes ± SD de 3 répétitions. Les nombres suivis de \*, \*\* et \*\*\* sont statistiquement différents du contrôle à  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$ , respectivement, selon le test de Tukey. IMI- Imidaclopride, Cd- Cadmium et IMI+Cd- Imidaclopride + Cadmium

## 2.2 Effets du DM, du Cd et de leur mélange sur la teneur en pigments photosynthétiques

L'insecticide DM et le Cd ont causé une perte significative ( $p < 0,05$ ) en teneurs de chlorophylle a et b d'environ 38 % et 49 %, respectivement par rapport aux plantules non traitées (Tableau 5). La pollution mixte (DM + Cd) a diminué la teneur de la chlorophylle a de 53 % et celle du chlorophylle b de 26% par rapport au contrôle non traité. Les semis exposés au DM n'ont pas affecté les caroténoïdes par rapport aux témoins (Tableau 5). Une diminution significative ( $p < 0,05$ ) du contenu en caroténoïdes de 30 et 59 % sous Cd, soit seul ou en combinaison avec DM respectivement, par rapport au contrôle (Tableau 5).

**Tableau 5:** Effets du DM, Cd et de leur mélange sur le contenu en pigments photosynthétiques des plantules de tomates.

Traitement	Teneur en Pigments ( $\mu\text{g/g}$ matière fraîche)		
	Chlorophylle a	Chlorophylle b	Caroténoïdes
Control	765.5 $\pm$ 02.12	647.0 $\pm$ 63.64	122 $\pm$ 1.41
DM	481.0 $\pm$ 29.69 **	225.0 $\pm$ 14.14 **	121 $\pm$ 1.42
Cd	397.5 $\pm$ 41.72 ***	191.5 $\pm$ 17.68 **	85.5 $\pm$ 9.19 *
DM+Cd	363.5 $\pm$ 06.36 ***	477.0 $\pm$ 60.81	49.5 $\pm$ 9.20 **

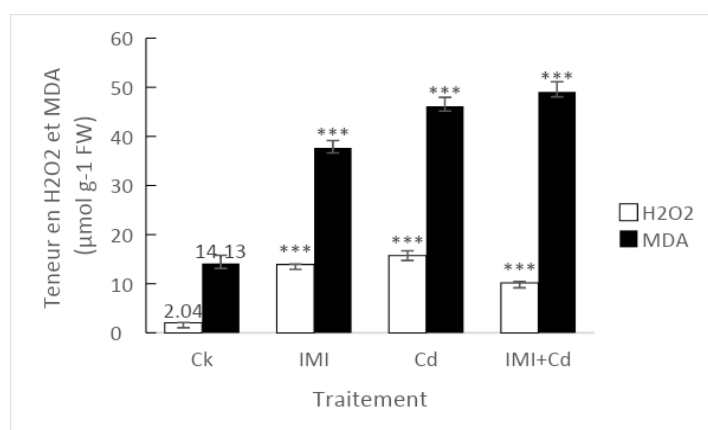
Les valeurs sont des moyennes  $\pm$  SD de 3 répétitions. Les nombres suivis de \*, \*\* et \*\*\* sont statistiquement différents du contrôle à  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$ , respectivement, selon le test de Tukey. DM- Deltaméthrine, Cd- Cadmium et DM+Cd- Deltaméthrine + Cadmium

### 3 Effet combiné de l'insecticide (IMI/DM) et du cadmium sur les niveaux du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) et du malondialdéhyde (MDA)

#### 3.1 Effet de l'IMI et de Cd en tant que traitement unique ou combiné sur le niveau des ERO et de la peroxydation lipidique dans les feuilles de tomate

L'accumulation des ERO (peroxyde d'hydrogène) et le contenu de MDA ont remarquablement augmenté dans les feuilles à la suite d'une exposition à l'IMI et au Cd par rapport au témoin non traité (Fig. 7). Le traitement à l'IMI et au Cd induit des augmentations significatives ( $P < 0.001$ ) des niveaux de MDA d'environ 166 et 227% respectivement, par rapport au contrôle (Fig. 7). Cependant, l'effet du mélange IMI + Cd était supérieur (247%) au contrôle, ce qui indique que l'effet combinée d'IMI et du Cd sur la peroxydation des lipides était synergique.

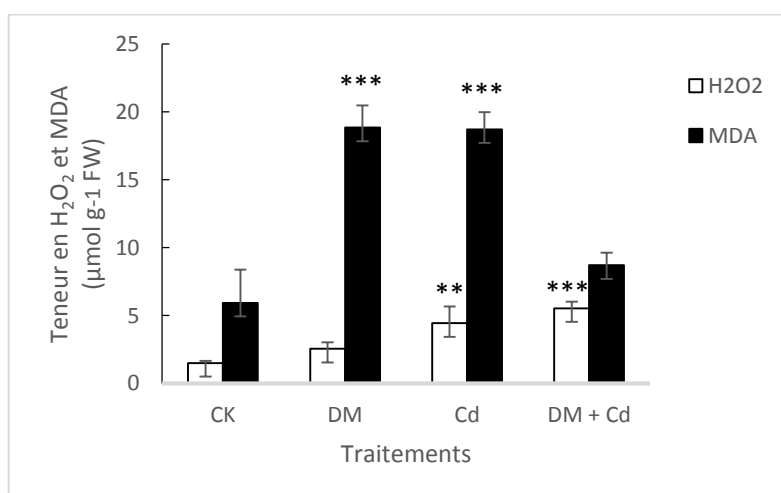




**Figure 7:** Effet de l'IMI, du Cd et de leur combinaison sur les teneurs en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et en MDA des feuilles de tomate après 7 jours de traitement. Les valeurs sont des moyennes  $\pm$  SD de 3 répétitions. Les barres suivies de \*\*\* sont statistiquement différentes.

### 3.2 Effet du DM, du Cd et de leur mélange sur les niveaux de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et de MDA dans les feuilles de la tomate

Les niveaux de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ont augmenté de manière significative ( $P < 0.001$ ) dans les feuilles des plantules de tomates exposées au Cd seul ou en combinaison (Fig. 8). Ces niveaux ont augmenté de 70, 196 et 268 % après l'application de DM, Cd et Co-contamination DM+Cd, respectivement. Sous un stress unique, l'insecticide DM et le Cd augmentent significativement ( $p < 0.001$ ) le niveau de MDA de 217 et 215 %, respectivement, par rapport au contrôle. Cependant, l'exposition concomitante du DM et du Cd n'augmente pas significativement le niveau de MDA (47 %) par rapport au contrôle, ce qui suggère que DM et Cd ont une interaction antagoniste.



**Figure 8:** L'effet de la DM, du Cd et de leur mélange sur les teneurs en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et en peroxydation lipidique (MDA) dans les feuilles de tomate.

#### **4 Effet combiné de l'insecticide (IMI/DM) et du cadmium sur l'activité enzymatique antioxydants dans les feuilles de tomate**

##### **4.1 Effet de l'IMI et de Cd en tant que traitement unique ou combiné sur l'activité enzymatique antioxydantes**

L'activité de la catalase (CAT) et de l'ascorbate peroxydase (APX) reflète la capacité antioxydante intracellulaire. Ainsi, nous avons mesuré l'activité des deux enzymes dans les feuilles des plantules traitées à l'IMI, au Cd, et par le mélange des deux. Nous avons constaté que l'augmentation des taux de CAT ont été significatives ( $P < 0.05$ ) chez les plantules du groupe traitées par l'IMI (52%), le Cd (195%) et leurs combinaison IMI + Cd (129%) respectivement par rapport au groupe témoin (Tableau 6). Une tendance similaire à celle observée pour l'activité APX a été observée dans le cas de l'activité CAT (Tableau 6). L'activité GPX a été stimulée sous les trois types de stress par rapport à celle du contrôle (Tableau 6). Une augmentation de 625, 453 et 619% a été observé dans les feuilles des plantules exposées aux IMI, Cd et IMI + Cd respectivement, par rapport au contrôle.

Les activités des enzymes liées à la détoxification telles que la GST et la POD ont été augmentées par IMI et le Cd par rapport au contrôle non traité (Tableau 6). L'activité du GST dans les feuilles a montré une légère augmentation non significative sous le stress du Cd par rapport au contrôle. Mais sous le traitement d'IMI seul ou combiné, l'activité du GST a augmenté de manière significative ( $P < 0.05$ ) par rapport au contrôle. Ces résultats indiquent que la GST peut jouer un rôle crucial dans la détoxification des xénobiotiques.

L'activité enzymatique de POD a diminué chez les plantes traitées à l'IMI par rapport aux plantes témoins tandis que l'effet du cadmium seul sur le POD n'était pas significatif. Cependant, sous l'effet du stress combiné, le POD a été encore plus bas (22 %) que chez les plantules traitées à l'imidaclopride (Tableau 6).

L'activité PAL a été induite par IMI et/ou Cd. Ainsi, par rapport au traitement témoin, elle a augmenté de 76, 102 % et 216 % suite à l'IMI, Cd, et IMI+Cd, respectivement. Ces résultats montrent que le Cd pourrait améliorer l'activité PAL de manière plus significative que dans les plantules sous contrainte d'IMI. Une induction synergique de l'activité de PAL a été observée par la co-application de l'IMI et Cd par rapport aux traitements à base de polluant unique (Tableau 6).

**Tableau 6:** Effet de l'IMI, du Cd et de leur traitement combiné sur l'activité des enzymes antioxydantes [catalase (CAT), ascorbate peroxydase (APX), peroxydase (POD), glutathion-s-transférase (GST), glutathion peroxydase (GPX) et phénylalanine ammoniaque lyse (PAL)].

Enzymes	Control	IMI	Cd	IMI+Cd
CAT ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$ )	0.31 $\pm$ 0.01	0.47 $\pm$ 0.03 *	0.91 $\pm$ 0.01 ***	0.71 $\pm$ 0.04 ***
APX ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$ )	9.96 $\pm$ 0.4	28.91 $\pm$ 0.54***	12.32 $\pm$ 0.4 *	12.65 $\pm$ 0.3 *
POD ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$ )	2.38 $\pm$ 0.02	1.95 $\pm$ 0.01 ***	2.45 $\pm$ 0.03	1.86 $\pm$ 0.01 ***
GST ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$ )	1.18 $\pm$ 0.03	3.11 $\pm$ 0.4 *	2.28 $\pm$ 0.03	3.83 $\pm$ 0.52 **
GPX ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$ )	1.74 $\pm$ 0.33	12.61 $\pm$ 0.82 **	9.63 $\pm$ 0.13 **	12.51 $\pm$ 1.4 **
PAL ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$ )	0.52 $\pm$ 0.03	0.91 $\pm$ 0.08 **	1.05 $\pm$ 0.03 **	1.64 $\pm$ 0.06 ***

Les valeurs sont des moyennes  $\pm$  SD de 3 répétitions. Les nombres suivis de \*, \*\* et \*\*\* sont statistiquement différents du contrôle à  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$ , respectivement, selon le test de Tukey. IMI- Imidaclopride, Cd- Cadmium et IMI+Cd- Imidaclopride + cadmium.

#### 4.2 Effet de DM, Cd et de leur mélange sur les enzymes antioxydants

Les activités des enzymes antioxydantes dans les feuilles des plantules de tomates traitées avec DM et/ou du Cd ont montré des changements significatifs ( $p < 0,05$ ) (Tableau 7). L'APX a augmenté significativement après l'exposition aux DM et Cd par rapport au contrôle non traité. Alors que la co-contamination DM+Cd a montré une augmentation de l'activité APX de 58 % par rapport au contrôle non traité.

Les tendances de l'activité POD étaient similaires à celles de l'activité APX. La CAT a été significativement induit après la co-contamination par le DM et le DM+Cd. De plus, les différents traitements n'ont pas eu d'impact sur l'activité PAL dans les feuilles des plantules, à l'exception du traitement cadmique, où l'activité PAL a augmenté de façon significative ( $p < 0,001$ ) de 143 % par rapport au contrôle non traité.

**Tableau 7:** Effets des traitements de DM et/ou de Cd sur l'activité des enzymes antioxydantes dans les feuilles de tomates.

Activités enzymatiques	Control	DM	Cd	DM+Cd
CAT ( $\mu\text{M} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein} \cdot \text{min}^{-1}$ )	0.89 $\pm$ 0.11	11.45 $\pm$ 1.47 ***	3.56 $\pm$ 0.45	7.09 $\pm$ 0.91 **
APX ( $\text{nM} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein} \cdot \text{min}^{-1}$ )	277.89 $\pm$ 35.72	754.28 $\pm$ 96.97 **	579.72 $\pm$ 74.53 *	440.74 $\pm$ 56.66
POD ( $\text{nM} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein} \cdot \text{min}^{-1}$ )	113.72 $\pm$ 14.62	208.82 $\pm$ 26.84 *	211.83 $\pm$ 27.23 *	132.30 $\pm$ 17,01
PAL ( $\mu\text{M} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein} \cdot \text{min}^{-1}$ )	20.42 $\pm$ 0,58	18.37 $\pm$ 4.33	49.70 $\pm$ 01 ***	23.65 $\pm$ 3,04

Les valeurs sont la moyenne  $\pm$  SD de 3 répliques. Les nombres suivis de \*, \*\* et \*\*\* sont statistiquement différents du contrôle à  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$ , respectivement. DM- Deltaméthrine, Cd- Cadmium et DM+Cd- Deltaméthrine + cadmium.

## 5 Effet combiné de l'insecticide (IMI/DM) et du cadmium sur le profil des thiols dans les feuilles de tomate

### 5.1 Effet d'IMI et de Cd seul ou combiné sur le profil des thiols

En réponse au traitement par IMI et Cd seul et en combinaison, un changement marqué du profil des thiols protéiques et non protéiques a été enregistré dans les feuilles des plantules de tomate par rapport aux témoins (Tableau 8). Les plantules exposées pendant 7 jours à l'IMI seul et en combinaison avec le Cd ont montré une baisse de 24 % et 19 % du taux de thiols total par rapport aux témoins. Le niveau des thiols totaux dans les feuilles de tomate cultivée en présence de 100  $\mu\text{M}$  Cd dans le milieu hydroponique est inchangé par rapport aux non traités (Tableau 8).

Le niveau des thiols non protéiques a diminué dans les plantules avec le traitement xénobiotique. Après le traitement par l'IMI pendant 7 jours, le niveau de thiols non protéiques (TNP) a diminué de 32 % par rapport aux témoins tandis que les plantules de tomate traitées avec 100  $\mu\text{M}$  Cd ont montré une diminution de 15% du niveau de TNP par rapport aux témoins cultivés. Pour le traitement combiné, le niveau de TNP présente une nouvelle diminution de leur teneur (31 %) par rapport au contrôle.

Une tendance similaire pour les GSH a été observée que dans le cas des thiols non protéiques (Tableau 8). Contrairement au niveau des thiols non protéiques, le niveau de thiols protéiques était similaire aux valeurs de contrôle lors du tout traitement xénobiotique (Tableau 8).

**Tableau 8:** Effet de l'IMI, du Cd et de leur traitement combiné sur la teneur en thiols (Thiols totaux (TT), Thiols non protéiques (NPT), Thiols protéiques totaux (PT) et glutathion réduit (GSH)).

Paramètres	Control	IMI	Cd	IMI+Cd
TT ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)	1,255 $\pm$ 0.01	0,95 $\pm$ 0.06 *	1,12 $\pm$ 0.08	1,01 $\pm$ 0.01*
NPT ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)	0,65 $\pm$ 0.03	0,44 $\pm$ 0.03**	0,55 $\pm$ 0.03*	0,45 $\pm$ 0.01**
PT ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)	0,6 $\pm$ 0.03	0,51 $\pm$ 0.07	0,57 $\pm$ 0.11	0,56 $\pm$ 0.01
GSH (nmol $\text{g}^{-1}$ MF)	206.89 $\pm$ 9.16	75.43 $\pm$ 2.16 ***	102.10 $\pm$ 12.93 **	114.3 $\pm$ 3.24 **

Les valeurs sont des moyennes  $\pm$  (SD) de 3 répétitions. Les nombres suivis de \*, \*\* et \*\*\* sont statistiquement différents du contrôle à  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$ , respectivement, selon le test de Tukey. IMI- Imidaclopride, Cd- Cadmium et IMI+Cd- Imidaclopride + cadmium.

## 5.2 Effet du DM, du Cd et de leur mélange sur la teneur en GSH

L'insecticide DM et le Cd en combinaison ou seuls ont augmenté la teneur en GSH dans les tissus foliaires (Tableau 10) de 17% pour le traitement DM, alors que l'exposition au Cd a légèrement augmenté son contenu par rapport aux contrôles. La Co-contamination DM+Cd a montré une augmentation significative ( $p < 0.01$ ) des teneurs en GSH par rapport au contrôle non traité.

## 6 Effet d'insecticide (IMI/DM) et du Cd sur la teneur des métabolites antioxydantes

Le traitement xénobiotique a induit des altérations au niveau des antioxydants non enzymatiques dans les feuilles des plantules de tomate exposées ou (IMI/DM) et Cd pendant 7 jours (Tableau 9).

### 6.1 Effet d'IMI et du Cd sur la teneur en proline et ascorbate

Le traitement aux xénobiotiques a entraîné une augmentation significative de la teneur en proline chez les plantules de tomate (Tableau 9). Le traitement par l'IMI a augmenté le taux de proline de 110% par rapport aux témoins, et en présence de 100  $\mu\text{M}$  Cd dans le milieu hydroponique, le niveau de proline a augmenté de 54% par rapport aux plantules non traités). De façon intéressante, la teneur en proline n'a augmenté que de 38% par rapport aux traitements séparés d'IMI et Cd. Ces deux xénobiotiques ont eu une interaction antagoniste sur la teneur en proline.

Les niveaux de forme réduite d'ascorbate (AsA) ont changé significativement par rapport au contrôle (Tableau 10). Ce niveau a diminué de 36 % et 47 % dans les feuilles de plantules de tomate traitées pendant 7 jours en présence d'IMI et IMI + Cd respectivement, alors qu'il a augmenté de 14% dans les feuilles des plantules traitées par 100  $\mu$ M Cd par rapport aux témoins (Tableau 9).

## **6.2 Effet de la DM, du Cd et de leur mélange sur la teneur en proline des feuilles de tomate**

Après une exposition de 7 jours, la pollution simple et combinée a augmenté le contenu en proline des feuilles des plantules de tomates (Tableau 10). La Co-contamination par la DM et la DM+Cd a provoqué une augmentation significative ( $p < 0.001$ ) du contenu en proline de 138 % et 76 %, respectivement, par rapport au contrôle. Les plantules traitées au Cd ont montré une augmentation de 44 % de la teneur en proline par rapport au contrôle non traité.

## **7 Effet d'insecticide (IMI/DM) et du Cd sur le métabolisme secondaire**

### **7.1 Effets interactifs de l'IMI et de Cd, seuls ou en combinaison sur la teneur en composés phénoliques**

L'exposition à l'IMI et au Cd a affecté d'une manière significative ( $p < 0.01$ ) la teneur totale des flavonoïdes (Tableau 9), cependant, l'effet combiné des polluants a diminué la teneur totale en composés phénoliques.

Ainsi, le niveau des flavonoïdes a augmenté par 137, 99 et 198 % chez les plantules de tomate traitées avec IMI, Cd et IMI+Cd.

### **7.2 Effets interactifs de l'IMI et de Cd, seuls ou en combinaison sur l'activité DPPH et FRAP**

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des feuilles évaluées par le test DPPH n'a pas montré de changements significatifs pour le Cd seul et en combinaison IMI+Cd, mais on a noté une diminution significative ( $P < 0,05$ ) de 22 % sous le traitement de l'insecticide IMI seul par rapport au contrôle (Tableau 9). L'IMI, le Cd et leur combinaison ont augmenté l'activité antioxydante évaluée par la méthode FRAP à 70, 85 et 116 %, respectivement comparées au témoin (Tableau 9).

**Tableau 9:** Effet de l'IMI, du Cd et de leur traitement combiné sur le contenu des métabolites antioxydants [proline (Pro), ascorbate réduit (AsA), phénols total (PT), flavonoïdes (Flv), 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)].

Paramètres	Control	IMI	Cd	IMI+Cd
Pro ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)	194.30 $\pm$ 11.52	407.43 $\pm$ 7.56 ***	298.7 $\pm$ 21.61 **	268.65 $\pm$ 7.92 *
AsA (nmol g <sup>-1</sup> MF)	1.72 $\pm$ 0.01	1.10 $\pm$ 0.02 **	1.96 $\pm$ 0.01*	0.91 $\pm$ 0.10 ***
PT (mg GAE/g MF)	16.18 $\pm$ 1.41	12.08 $\pm$ 0.56	19.93 $\pm$ 1.34	11.13 $\pm$ 1.06 *
Flv (mg QRE/g MF)	10.66 $\pm$ 0.11	25.29 $\pm$ 0.2 **	21.24 $\pm$ 1.35 **	31.76 $\pm$ 0.70 **
DPPH (%)	78.35 $\pm$ 1.11	61.00 $\pm$ 2.02*	63.14 $\pm$ 6.25	64.86 $\pm$ 3.43
FRAP ( $\mu\text{mol}$	253.22 $\pm$ 17.68	447.06 $\pm$ 23.58***	468.94 $\pm$ 5.90 **	546.06 $\pm$ 26.52 ***

Les valeurs sont des moyennes  $\pm$  (SD) de 3 répétitions. Les nombres suivis de \*, \*\* et \*\*\* sont statistiquement différents du contrôle à  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$ , respectivement, selon le test de Tukey. IMI- Imidaclopride, Cd- Cadmium et IMI+Cd- Imidaclopride + cadmium.

### 7.3 Effet de la DM, du Cd et de leur mélange sur les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes dans les feuilles de tomate

Pour les phénols totaux, aucune différence significative n'a été trouvée par rapport au contrôle ( $p > 0,05$ ). La DM et le Cd n'ont induit aucun changement significatif de la teneur en phénols totaux chez les plantules exposées au traitement combiné DM+Cd par rapport aux témoins non traités (Tableau 9). Cependant, une diminution significative ( $p < 0.05$ ) de la teneur en flavonoïdes a été enregistrée sous un stress cadmique seul et le mélange DM+Cd de 26 et 35 %, respectivement, par rapport au contrôle non traité.

**Tableau 10:** Teneurs en proline, phénols totaux, flavonoïdes et GSH dans les feuilles de tomate après 7 jours de traitements avec DM, Cd et DM+Cd.

Paramètres	Control	DM	Cd	DM+Cd
Proline ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ FW)	90.02 $\pm$ 0.03	214.66 $\pm$ 5.03 **	129.87 $\pm$ 9.71	158.38 $\pm$ 23.40 *
Phénols totaux (mg GA g <sup>-1</sup> FW)	03.43 $\pm$ 0.31	2.97 $\pm$ 0.54	3.59 $\pm$ 0.26	3.22 $\pm$ 0.11
Flavonoïdes (mg QR g <sup>-1</sup> FW)	11.67 $\pm$ 0.34	9.90 $\pm$ 0.98	8.67 $\pm$ 0.69 **	7.56 $\pm$ 1.68 ***
GSH (nmol g <sup>-1</sup> FW)	121.33 $\pm$ 1.03	141.54 $\pm$ 5.71 **	129.41 $\pm$ 1.03	168.74 $\pm$ 2.59 ***

Les valeurs sont la moyenne  $\pm$  SD de 3 répliques. Les nombres suivis de \*, \*\* et \*\*\* sont statistiquement différents du contrôle à  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$ , respectivement. DM- Deltaméthrine, Cd- Cadmium et DM+Cd- Deltaméthrine + Cadmium.

## *Discussion*



L'accumulation des produits phytosanitaires dans les sols des champs agricoles finit par réduire leur fertilité, et des effets secondaires nocifs apparaissent en raison du développement rapide de la résistance des agents pathogènes vers ces produits agrochimiques, ce qui affecte l'efficacité de ces pesticides. Ces effets comprennent également le problème de l'élimination des insectes écologiques de l'environnement (Mahapatra et al., 2019).

Il a été démontré que l'utilisation accrue de pesticides perturbe divers processus clés chez les plantes et que les effets se reflètent finalement aux niveaux physiologiques et biochimiques avec une diminution de la stabilité de la membrane et du rendement photosynthétique, compromise la production de pigments, production hormonale et déséquilibre des nutriments, inhibition de la réplication de l'ADN, expression des gènes et division cellulaire (Sharma et al., 2019).

En outre les pesticides, la pollution des sols par les métaux lourds (cadmium) est devenue un défi majeur dans le monde entier en raison de l'augmentation des activités géologiques et anthropiques (Riaz et al., 2021).

Le Cd peut induire de graves perturbations pour la plante qui touche entre autre la photosynthèse et l'absorption des minéraux (Gallego and Benavides, 2018; Haider et al., 2021).

L'énorme contamination des sols, eau et air par les métaux et les pesticides et leur transfert direct à des organismes supérieurs par la chaîne alimentaire reste un problème environnemental qui peut impliquer divers risques sanitaires pour les générations futures. Par conséquence, l'exposition combinée aux métaux lourds et aux différentes classes de pesticides utilisés dans les pratiques agricoles et sanitaires existe dans les sols agricoles (Shahzad et al., 2018; Uwizeyimana et al., 2017; Ye et al., 2017).

L'objectif de la présente étude est d'examiner les effets combinés des insecticides (IMI et DM) et du Cd sur la tomate. Ceci permet de comprendre comment la co-exposition aux xénobiotiques affecte les plantes non ciblées dans l'environnement naturel et contribue à l'évaluation du risque potentiel.

Les plantes possèdent une capacité inhérente à dégrader et à séquestrer un grand nombre de composés toxiques (Xia et al., 2009). Il est important de noter que la tolérance des plantes aux xénobiotiques tels que les pesticides et les métaux est conférée par un mécanisme physiologique spécifique qui permet simultanément à la plante de fonctionner normalement même en présence des niveaux élevés de substances potentiellement toxiques (Shahzad et al., 2018). Jusqu'à présent, la pollution environnementale mixte par les insecticides (IMI et DM)

et le Cd dans les plantes n'a pas été étudiée. Ici, la toxicité, l'interaction et la réponse de la tomate aux contaminants seul et en combinaison a été démontré.

Dans notre étude, l'exposition au Cd a affecté la croissance de la tomate en diminuant non seulement la croissance des parties supérieures de la plante (hauteur et biomasse fraîche) mais aussi le développement des racines (longueur et biomasse). De même les travaux d'[Ahammed et al. \(2013\)](#) montrent aussi que la croissance des racines diminue progressivement chez les plantules de tomate exposées au Cd à 100  $\mu\text{M}$  en culture hydroponique. En outre, dans des épinards cultivés en système hydroponique et soumis à 100  $\mu\text{M}$  de Cd, la longueur des racines et la biomasse ont diminué de manière significative par rapport au traitement témoin ([Hasan et al., 2016](#)).

Le stress causé par l'insecticide (IMI et DM) a également eu un effet négatif sur la croissance de la tomate dû à la phytotoxicité de cet insecticide systémique. Ces résultats peuvent être corroborés par ceux des travaux de [Shakir et al. \(2018\)](#), et [Sharma et al. \(2018\)](#), qui ont également observé des phénomènes similaires chez *Brassica juncea*. Dans notre étude, le Cd a montré un effet plus important sur la biomasse par rapport aux insecticides en termes de réduction du poids frais. La différence de toxicité entre le DM et le Cd peut être expliquée par les différents modes d'action toxique de ces pollutions environnementales.

Ces résultats obtenus sont similaires à ceux d'[Ahammed et al. \(2013\)](#), qui ont également observé des phénomènes similaires chez *Solanum lycopersicum* co-exposée au PHE et au Cd. Il est intéressant de noter également que l'exposition combinée au Cd et aux insecticides a accentué la gravité des symptômes et les effets négatifs sur la croissance et la biomasse des plantules, cela témoigne de leurs effets synergiques sur la croissance et l'accumulation de la biomasse des plantules.

Les interactions synergiques des insecticides et du Cd peuvent être expliquées par leur toxicité qui peut altérer la perméabilité et la structure de la membrane cellulaire, et augmenter leur absorption par les plantes.

Il existe plusieurs études sur la toxicité combinée de deux ou plusieurs polluants. L'exposition à l'herbicide (imazethapyr) et aux nanoparticules d'argent (AgNP) a eu un effet synergique sur la croissance d'*Arabidopsis thaliana* ([Wen et al., 2016](#)). En revanche, Des études antérieures ont montré que les polluants chimiques pouvaient atténuer la phytotoxicité d'autres contaminants sur les plantes. L'exposition à la PHA et au Cd (100  $\mu\text{M}$ ) a eu un effet antagoniste sur la croissance de *S. lycopersicum* ([Ahammed et al., 2013](#)). [Liu et al. \(2019\)](#) ont étudié l'effet combiné du pesticide et du métal sur la *Salvinia natans* et ont constaté que les effets du glyphosate et le cuivre ( $\leq 1 + 0,2 \text{ mg l}^{-1}$ ) étaient antagonistes.

Des résultats opposés ont été enregistrés dans la présente étude. Ces différences peuvent être liées à la diversité de la concentration de substances toxiques et des matériaux expérimentaux.

Les pigments photosynthétiques, composés responsables de la capture d'énergie lumineuse, peuvent être utilisés pour surveiller si la croissance des plantes est endommagée par les polluants (Liu et al., 2019). La chlorose foliaire est l'un des signes communs de la toxicité du Cd (Gallego and Benavides, 2018).

Dans cette présente étude, la diminution de la teneur en chlorophylle peut être due à une augmentation du stress oxydatif dans les chloroplastes entraînant une diminution de la synthèse de la chlorophylle ou une augmentation de sa dégradation et une inhibition du transport photosynthétique des électrons (Ahammed et al., 2013). Le Cd inhibe la formation des chlorophylles en interférant avec la production de protochlorophylle. De plus, la dégradation enzymatique de la chlorophylle par la chlorophyllase est également déclenchée par le Cd (Hasan et al., 2011).

Nous avons observé une forte diminution de la teneur en chlorophylle des plantules de tomate exposées aux insecticides. Cette baisse pourrait être due à l'augmentation de l'activité de la chlorophyllase qui a entraîné une dégradation de la chlorophylle accompagnée d'une perturbation de la structure du chloroplaste (Harpaz-Saad et al., 2007; Sharma et al., 2019; Xia et al., 2009). En outre, la toxicité des insecticides induit également la baisse de l'expression des gènes qui jouent un rôle clé dans la formation des complexes de protéines chlorophylliennes (Sharma et al., 2019).

Une diminution dans la teneur en chlorophylle affecte sans aucun doute l'efficacité de la photosynthèse. Cette teneur était un bon indicateur de la toxicité de l'IMI, et du Cd. Il est important de noter que l'application du IMI+Cd sur les plantules a considérablement réajusté la teneur en chlorophylle, cela pourrait être due à une interaction antagoniste entre les deux contaminants. Cette interaction du l'IMI et du Cd sur *Solanum lycopersicum* était claire selon les valeurs du Chl-a et b.

Nos données montrent que l'inhibition de la photosynthèse causée par le Cd est plus importante que celle causée par l'IMI ou de leur combinaison, ce qui est révélateur d'effets antagonistes entre l'IMI et le Cd sur les pigments chlorophylliens. Une étude analogue a indiqué que les nanoparticules de cuivre et d'autres facteurs de stress environnementaux (tels que les herbicides) a entraîné une diminution importante de la teneur en chlorophylle et de la capacité de conversion de l'énergie photochimique dans *Arabidopsis thaliana* (Wen et al., 2016).

Les caroténoïdes sont les précurseurs de la lutéine et peuvent protégés des dommages oxydatifs en détoxifiant les ERO produits par la photosynthèse ou par les réactions enzymatiques des chloroplastes (Gill & Tuteja, 2010). Dans notre étude, nous avons également constaté une augmentation de la teneur foliaire en caroténoïdes chez les plantules exposées à l'IMI+Cd. Ces pigments ont des propriétés antioxydantes, cela peut être l'une des raisons possibles de leur accumulation accrue sous le stress des xénobiotiques (Gill & Tuteja, 2010; Sharma et al., 2019). En revanche, les teneurs en caroténoïdes diminuent significativement chez les plantules exposées au Cd et/ou au DM+Cd. Cette diminution peut être due à leur utilisation par les plantules pour contrer l'état de stress induit par les xénobiotiques. En accordance avec nos résultats, Liu et al., (2019) ont également signalé une diminution de la teneur en caroténoïdes chez *Salvinia natans* traitée par le glyphosate et le cuivre seuls et combinés .

La surproduction du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le stress oxydatif qui en résulte est un des mécanismes communs de la phytotoxicité par l'insecticide et le Cd (Shahzad et al., 2018). Des niveaux accrus de peroxyde d'hydrogène ont entraîné une perte de pigment, une réduction de l'assimilation du  $CO_2$  photosynthétique, et une attaque des biomolécules (Nazir et al., 2020). De plus, l'enzyme critique du cycle Benson-Calvin, Rubisco, est directement fragmenté par les espèces réactive oxygénées (Ahammed et al., 2013). Par conséquent, la régulation des ERO est cruciale pour réduire les dommages cellulaires et en conserver un niveau approprié en ERO pour la signalisation du stress.

Dans la présente étude, on a constaté que le niveau des  $H_2O_2$  dans les feuilles de plantules exposées au stress a augmenté, et représente une menace pour les biomolécules cellulaires. La toxicité de l'insecticide IMI et du Cd a induit un niveau élevé en  $H_2O_2$  dans les cellules qui pourrait être due à leur production accrue et/ou à une diminution de la capacité scavenging des molécules antioxydantes (Gill & Tuteja, 2010). Résultats similaires obtenus par Bashir et al. (2007) et Hasan et al., (2016), qui ont rapporté une augmentation du  $H_2O_2$  intracellulaire dans les feuilles de maïs et de tomate exposées à la DM et au Cd, respectivement.

Le malondyaldéhyde (MDA), un marqueur de dommages oxydatifs des lipides, est formé à partir de précurseurs d'acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires ; une augmentation significative de productions de MDA a été observé sous les traitements IMI, Cd seule et leur combinaison IMI+Cd. Ces observations confirment que les plantules de tomate ont subi un stress oxydatif. Un excès de Cd a été démontré pour provoquer des niveaux élevés

de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et donc un stress oxydatif dans les tissus des plantes (Pérez-Chaca et al., 2014; Rodríguez Serrano et al., 2009).

D'autres travaux ont également montré que sous l'effet du cadmium on a une augmentation des ERO, une peroxydation des lipides et une réduction de la biomasse ainsi que la croissance des plantes (Ahmed et al., 2013; Pérez-Chaca et al., 2014). Cependant, Shakir et al. (2018) ont rapporté que la dose agronomique d'IMI ne change pas le contenu du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et MDA dans les feuilles de tomate ; ceci peut être expliqué par la différence du protocole expérimental et le génotype de la tomate utilisée.

Pour faire face aux effets néfastes des ERO induits par l'insecticide (Lu et al., 2019) et le Cd (Romero-Puertas et al., 2019), les plantes ont mobilisé des mécanismes sophistiqués qui incluent des enzymes antioxydantes ; d'où l'augmentation de l'activité de nombreuses enzymes du système antioxydant (CAT, POD, APX, GPX, et GST) des plantes pour combattre le stress oxydatif induit par divers stress environnementaux. L'augmentation du niveau intracellulaire du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dû à l'insecticide (IMI et/ou DM) et Cd est régulée principalement par les enzymes catalases et peroxydases (Soares et al., 2019). La CAT est une enzyme antioxydante avec un taux de renouvellement élevé et avec la capacité potentielle de dissocier directement l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub> sans nécessiter de substrat (Gill and Tuteja, 2010).

Dans notre étude, la réponse de l'activité CAT a augmenté avec les traitements xénobiotiques. En accord avec nos résultats, Ahmed et al., (2013) ont également signalé la régulation à la hausse de l'activité CAT dans les feuilles de tomates exposées au PHE et/ou au Cd. L'activité accrue de la CAT a été stimulée chez les tomates soumises à un stress d'imidaclopride (Shakir et al., 2018; Anket et al., 2019) et du cadmium (Hasan et al., 2011; Khan et al., 2020). En outre, il a été démontré qu'un gène codant pour la catalase peroxydomale augmenterait la tolérance aux substances toxiques (Sharma et al., 2019).

Les peroxydases (POD) sont les principaux enzymes capteurs du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> largement présents chez les plantes, les animaux et les microbes. La toxicité des pesticides et des métaux a induit des réactions oxydatives à l'intérieur de la cellule qui provoquent l'augmentation de l'activité POD, c'est pourquoi l'activité POD est considérée comme un biomarqueur des dommages induites par les xénobiotiques chez les plantes (Liu et al., 2019).

Chez la tomate traitée par l'IMI seul ou en combinaison avec le Cd, l'activité POD des plantules a diminué par rapport aux témoins, sauf avec le traitement cadmique où l'activité POD reste au même niveau que celui du témoin. En général, la diminution de l'activité du POD suggère que la génération des molécules H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a dépassé la capacité d'élimination de la POD, ou que les ERO pourrait avoir inactivé l'enzymes (Mittler, 2002). Dans cette étude, lors

de l'exposition au DM et/ou au Cd, l'activité de la POD a été induite dans les feuilles de tomate. Liu et al., (2019) ont montré que le glyphosate, seul ou en combinaison avec le cuivre, augmente significativement l'activité POD chez *Salvinia natans*.

Divers conditions de stress environnemental liés aux métaux, le stress hydrique, et la salinité peuvent induire l'activité de l'APX (Soares et al., 2019). Dans la présente étude, l'activité de l'APX est stimulée par les xénobiotiques. Divers auteurs ont montré une activité APX accrue lorsque les plantes sont exposées à des niveaux excessifs de différents xénobiotiques, dont l'imidaclopride, la deltaméthrine et le Cd (Manquián-cerda et al., 2016; Shakir et al., 2018).

Dans la présente étude, la CAT et l'APX ont été induits par l'IMI et/ou le Cd, alors que l'activité du POD n'était inhibée que par l'IMI seul et en combinaison avec le Cd. Ahammed et al., (2013) ont observé des phénomènes similaires sous un stress de 100  $\mu\text{M}$  Cd chez *Solanum Lycopersicum*. En général, la co-application de l'IMI et du Cd a produit un effet positif sur l'activité des enzymes antioxydantes. L'activité enzymatique antioxydante accrue a un rôle positif dans la minimisation du niveau des ERO afin de maintenir l'activité physiologique normale des plantes dans des conditions stressantes (Mittler, 2002).

Le métabolisme de l'imidaclopride et du cadmium était associé à l'augmentation des activités des enzymes de détoxification chez la tomate. Le glutathion S-transférase (GST) intervient dans la détoxification des composés xénobiotiques en liant de manière covalente le glutathion à des substrats hydrophobes formant des glutathion S-conjugués moins réactif et plus polaire (Xia et al., 2009). L'imidaclopride subit des réactions d'hydroxylation et il est détoxifié par la conjugaison avec le glutathion chez les plantes (Sharma et al., 2020).

Le GST catalyse une grande variété de substrats (Xia et al., 2009), et l'augmentation générale de son activité dans les plantules en réponse aux contaminants testés confirme qu'il joue un rôle dans la détoxification chez les plantes. Ainsi, une régulation positive synergique de l'activité de la GST a été observée dans le cadre de la PHE plus la co-contamination par le cadmium chez *S. lycopersicum* (Ahammed et al., 2013).

L'activité POD, comme le GST, est également impliqué dans la réponse des plantes au stress xénobiotique en oxydant et en désactivant les xénobiotiques chimiques (Xia et al., 2009). Dans cette étude, l'activité POD a diminué chez les plantules traitées à l'imidaclopride seul et en combinaison avec le cadmium, ce qui confirme l'importance de cette peroxydase dans les voies de détoxification des plantes.

La co-application de l'IMI et du Cd a produit un effet inducteur supérieur sur l'activité des enzymes de détoxification, en indiquant leur effet synergique sur le système de détoxification des feuilles de tomate.

Les différences dans d'activités enzymatiques dépendent probablement du type du polluant, de la dose expérimentale et des espèces végétales réceptrices. En outre, le traitement combiné a amélioré les activités du CAT, APX et GPX, et il a stimulé l'activité du GST chez la tomate par rapport au contrôle. Dans l'ensemble, l'activité enzymatique antioxydante de la tomate ne pourrait pas être responsable d'atténuation des effets d'ERO, ce qui implique l'intervention d'un autre mécanisme.

Le système antioxydant non enzymatique comprend diverses molécules, notamment de faible poids moléculaire, des métabolites comme les thiols (GSH), l'acide ascorbique (AsA), les composés phénoliques et la proline (Pro) qui sont capables de neutraliser, d'éliminer et/ou de transformer les ERO, permettant ainsi d'atteindre l'équilibre redox cellulaire chez les plantes soumises à un stress (Soares et al., 2019).

Le niveau de proline a augmenté de manière significative à cause du traitement à l'insecticide et au Cd. L'accumulation de la proline joue un rôle essentiel dans la protection des membranes, l'homéostasie ionique et le piégeage des ERO. La proline agit également comme un chaperon moléculaire et stabilise les activités de diverses enzymes comme la protéase, la nitrate réductase et les ribonucléases (Gill & Tuteja, 2010; Soares et al., 2019).

Dans la présente étude, l'accumulation de la proline dans des conditions de stress induit par l'insecticide (IMI/DM) et/ou du Cd nous indique qu'une forte concentration de proline pourrait contribuer à lutter contre la toxicité de ces xénobiotiques. Il a été suggéré que la proline est également impliquée dans la détoxification des métaux par chélation dans le cytoplasme. Nos résultats peuvent être soutenus par ceux de Bashir et al., (2007) et Ahmad et al. (2018) qui ont rapporté que DM et Cd provoquaient l'accumulation de proline dans les feuilles de maïs et de tomate, respectivement.

En outre, Soares et al., (2019) ont également signalé que le glyphosate induit la synthèse de la proline dans la tomate. L'accumulation de la proline a également été documentés dans le stress d'IMI (Shakir et al., 2018). L'augmentation de l'accumulation de la proline est le mécanisme biochimique de protection adopté par les plantes exposées aux polluants environnementaux, y compris les métaux lourds et les pesticides (Gill & Tuteja, 2010). Une accumulation moins importante de proline sous un traitement combiné par rapport à l'insecticide et Cd seul peut être attribuée à des interactions antagonistes entre les deux

polluants. Gill & Tuteja (2010) ont corrélé l'augmentation de l'accumulation de proline avec l'inhibition de peroxydation des lipides chez les plantes.

L'ascorbate et le glutathion jouent un rôle clé dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par le cycle glutathion-ascorbate. L'acide ascorbique (AsA) est un métabolite cellulaire important dont les fonctions décrites sont diverses, l'une d'entre elles étant celle de sa puissante activité antioxydante (Soares et al., 2019). L'ascorbate est régénéré par la voie Halliwell-Asada ou par le cycle ascorbate-glutathion impliquant l'AsA et le GSH et des enzymes particulières comme le glutathion réductase (GR), et le déhydro-ascorbate réductase (DHAR) existant dans la cellule de la plante. La régénération de l'AsA est importante pour réguler l'activité de l'APX pour la détoxification du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. L'enzyme thiol monomère DHAR convertit le DHA en AsA en utilisant le GSH comme donneur d'électron (Soares et al., 2019).

Le résultat de notre étude a montré une diminution du niveau réduit de l'ascorbate en cas du traitement à l'IMI seul et en combinaison avec le Cd, en revanche, leur teneur a augmenté dans des conditions du Cd seul. La diminution de la teneur en AsA pourrait être due à une teneur élevée en activité de l'APX sous stress ou diminution du taux de synthèse (Foyer & Noctor, 2011).

Les thiols de faible poids moléculaire sont une classe de composés hautement réactifs et massivement impliqués dans le maintien de l'homéostasie redox cellulaire. Ils sont impliqués dans les réponses des plantes à presque tous les facteurs de stress, ainsi que dans la régulation du métabolisme cellulaire (Hernández et al., 2015; Zagorchev et al., 2013). Le statut des thiols est d'une grande importance dans la coordination du réseau de défense des antioxydants (Zagorchev et al., 2013). L'estimation des thiols a été utilisée comme biomarqueur du stress oxydatif et de l'exposition dans l'environnement (Soares et al., 2019).

Le glutathion est une molécule intracellulaire non enzymatique présente dans la plupart des organismes vivants et essentielle à la synthèse de phytochélatines (PC) pour résister au stress des métaux lourds (Noctor et al., 2012). La phytochélatine dérivée du GSH par la phytochélatine synthase est le mécanisme le plus important des plantes pour détoxifier le Cd à l'intérieur des cellules. En outre, les PC maintiennent également l'homéostasie cellulaire des métaux essentiels tels que le Zn<sup>2+</sup> et le Mn<sup>2+</sup> (Noctor et al., 2012; Sharma et al., 2016). Une fois que le Cd est absorbé par les cellules des racines, il est lié aux PC pour former le complexe Cd-PC. Ces Cd-PC sont transférés dans les vacuoles par des transporteurs ABC (Sharma et al., 2016), plus tard, ces complexes sont transformés en composés plus stables (Noctor et al., 2012).



Le cadmium module le métabolisme des thiols en raison de son implication avec des métabolites contenant du soufre (Noctor et al., 2012). Au cours de la présente étude, les niveaux de thiols totaux et de thiols non protéiques ont diminué de manière significative tandis que les niveaux de thiols protéiques sont invariables dans les feuilles des plantules exposées à l'IMI et/ou le Cd par rapport aux témoins. De nombreux auteurs ont signalé que des métaux comme le cadmium et des xénobiotiques comme les pesticides provoquent un changement du niveau de thiols dans les plantes (Soares et al., 2019; Yadav, 2010). La diminution du niveau des thiols non protéiques est principalement due à l'oxydation du groupe -SH des chaînes latérales de divers acides aminés (Yadav, 2010).

Les thiols ont toujours été impliqués dans la protection contre le stress oxydatif. La présente observation pourrait être attribuée au fait que l'adaptation cellulaire au stress oxydatif peut impliquer la mobilisation de mécanismes qui conduisent à une modification des concentrations de thiols (Yadav, 2010; Zagorchev et al., 2013). Cependant, la teneur en thiols protéiques non affecté, suggère que leur teneur cellulaire est maintenu à un niveau suffisant pour réduire les dommages oxydatifs causés par le stress combiné de xénobiotiques (Zagorchev et al., 2013).

Nos résultats ont montré que les niveaux de GSH diminuaient avec la diminution concomitante des contenus de thiols non protéiques chez *Solanum lycopersicum* sous traitement aux IMI et/ou Cd. Ce résultat suggère le rôle du glutathion dans la synthèse des PC et la tolérance croisée du Cd et de l'IMI chez *S. lycopersicum*. De plus, la diminution des niveaux de GSH sous IMI et IMI combiné au Cd peut être due à l'utilisation du glutathion dans le piégeage des ROS. Jozefczak et al. (2012) ont rapporté que le GSH défend les cellules végétales contre la phytotoxicité induite par les métaux. De même, Hasan et al. (2016) ont signalé que la présence du GSH dans les organites végétaux agit comme un tampon pour maintenir l'équilibre redox et atténuer le stress abiotique. Soares et al., (2019) ont aussi décrit l'implication des thiols non protéiques et du GSH dans l'atténuation de la toxicité du glyphosate pour maintenir l'homéostasie redox des feuilles de tomate. Une diminution de la teneur du GSH en réponse à la toxicité du glyphosate a été observée chez les plants de tomate (Soares et al., 2019).

Contrairement à notre résultat, l'augmentation des niveaux de GSH avec une augmentation parallèle des MDA a été signalée chez *S. lycopersicum* (Ahammed et al., 2013). Le traitement combiné d'IMI + Cd diminuent notablement l'accumulation des thiols non protéique et du GSH, entraînant une sensibilité accrue au Cd chez les plantules de *S. lycopersicum*. Une diminution des niveaux du GSH également peut suggérer que la membrane

des cellules végétales était endommagée par la peroxydation lipidique (Anjum et al., 2012). Le glutamate est un précurseur commun de la proline et du GSH ; aussi il existe une corrélation fondamentale entre le GSH et la synthèse de la proline dans l'atténuation des effets des métaux phytotoxiques (Anjum et al., 2014). Ces résultats suggèrent que le traitement combiné pourrait induire le plus haut niveau de peroxydation lipidique chez *S. lycopersicum*.

Dans cette étude, l'augmentation de la teneur en GSH dans les feuilles des plantules exposées aux DM et/ou Cd peut être due à la stimulation de la voie de biosynthèse des thiols (Noctor et al., 2012) par l'induction d'enzymes de la voie d'assimilation du soufre (Noctor et al., 2012) et leur utilisation pour neutraliser et détoxifier les xénobiotiques par l'intermédiaire des glutathion S-transférases (GST) (Xia et al., 2009), et la synthèse de phytochélatines (PCs) pour chélater les ions métalliques. L'accumulation accrue du GSH a également été signalée dans les feuilles de tomates exposées au fongicide carbendazim (MBC) (Yan et al., 2019), le glyphosate Roundup (Soares et al., 2019) et le fongicide chlorothalonil (CHT) (Yin et al., 2016). Ahammed et al., (2013) ont rapporté que l'exposition combinée au PHE et au Cd augmente le niveau du GSH dans les feuilles de tomates.

Les substances phénoliques sont largement distribuées et sont impliquées dans des processus métaboliques et physiologiques clés des plantes (Gill & Tuteja, 2010; Sharma et al., 2019). Chez les plantes, l'accumulation des composés phénoliques est généralement une caractéristique constante des plantes soumises à un stress, ce qui représente un mécanisme de défense pour faire face à de multiples stress abiotiques (Gill & Tuteja, 2010). En particulier, un grand nombre de métabolites secondaires ayant des propriétés antioxydantes appartiennent à ce groupe qui peut améliorer les performances des plantes dans des conditions de stress (Soares et al., 2019).

Les polyphénols sont des piègeurs de radicaux libres et ils agissent comme des solutés compatibles pour maintenir l'équilibre osmotique des plantes. Il augmente la stabilité de la membrane et protège ainsi les plantes des dommages oxydatifs (Sharma et al., 2019). La Phénylalanine ammonia lyse (PAL) est la principale enzyme de biosynthèse des composés phénoliques (Kováčik and Bačkor, 2007).

Dans cette étude, on a enregistré une augmentation de l'activité PAL qui peut stimuler des réactions ultérieures dans la voie des phénylpropanoïdes pour produire des dérivés phénylpropanoïdes spécifiques tels que les phénols et les flavonoïdes, Wang et al. (2011) ont rapporté un renforcement des activités catalytiques de PAL et d'autres enzymes clés pour la synthèse des composés phénoliques sous un stress de Pb. Les augmentations les plus importantes ont été enregistrées lors des traitements combinés.

Une régulation positive synergique de l'activité de la PAL a été observée dans la co-contamination PHE + cadmium chez *S. lycopersicum* (Ahammed et al., 2013). En outre, l'accumulation de polyphénol sous la pollution combinée par la salinité et le cuivre a été documentée chez *Mentha spicata* (Chrysargyris et al., 2019). La teneur en polyphénols n'a pas été affectée par le stress solitaire de xénobiotiques, ce qui suggère qu'elle est maintenue à un niveau optimal pour combattre les dommages oxydatifs causés par le stress à l'IMI et au Cd. Les flavonoïdes sont parmi les métabolites secondaires de plantes les plus bioactifs par leur capacité antioxydante et l'interaction directe avec les ERO (par exemple H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), mais aussi en raison de leur capacité pour servir de substrat à différentes peroxydases (Gill & Tuteja, 2010; Hernández et al., 2009).

Les réponses des flavonoïdes sous différents stress IMI et/ou Cd ont augmentée dans les feuilles de tomate. L'amélioration de performances de l'enzyme PAL s'accompagne également d'une régulation à la hausse des niveaux de flavonoïdes, indiquant leur corrélation. L'exposition aux métaux lourds augmente la production de composés phénoliques dans les plantes. Ce sont des antioxydants chélateurs importants des métaux et ils ont été considérés comme des agents donneurs d'électrons. Le rôle protecteur des composés phénoliques des plantes pourrait expliquer la modulation de leurs niveaux en fonction des conditions de stress dans l'environnement (Gill & Tuteja, 2010; Hernández et al., 2009; Kováčik et al., 2009).

Les augmentations les plus importantes ont été enregistrées lorsque les plantules co-exposé au stress d'IMI et de Cd, ce qui suggère que les deux contaminants ont une interaction synergique sur le métabolisme phénolique. En revanche, la diminution de la teneur en flavonoïdes peut être expliquée par l'utilisation des flavonoïdes pour faire face à ce stress dû à l'état pro-oxydant causé par l'exposition aux facteurs de stress (DM et/ou Cd) ou par l'altération du système de défense antioxydant non-enzymatique par le DM et le Cd (Ramborger et al., 2017).

Le DPPH (1,1-diphényl-2-picryl hydrazyl) est un composé générateur de radicaux libres qui est utilisé pour déterminer l'activité de piégeage des radicaux des extraits. Ce test a été largement utilisé pour évaluer l'activité de piégeage des radicaux des différents types de substances antioxydantes (Tadolini et al., 2000). La plus faible activité de piégeage des radicaux DPPH observée dans les feuilles est attribuée à la plus faible teneur en phénols totaux dans ces feuilles.

En outre, FRAP est un radical libre stable qui est utilisé comme substrat pour évaluer l'activité antioxydante. Une augmentation spectaculaire de l'activité de piégeage des radicaux libres a été enregistrée sous l'effet d'IMI et Cd seul. L'augmentation du potentiel antioxydant

pourrait être liée à l'augmentation de la teneur en certains composés phytochimiques, tels que les flavonoïdes (Manquián-Cerda et al., 2016).

Dans cette étude, l'activité PAL, le contenu de flavonoïdes et l'activité du FRAP sont susceptibles de présenter une bonne interrelation sous le traitement combinée d'IMI et Cd, indiquant leur effet synergique sur l'activation du métabolisme phénolique. Plusieurs études ont également fait état de la relation entre le niveau élevé des substances phénoliques (par exemple, l'acide phénolique) et l'activité de piégeage des radicaux (Kováčik et al., 2009; Manquián-Cerda et al., 2016).

En résumé, nos résultats suggèrent que l'insecticide (IMI et/ou DM), le Cd et leur mélange peuvent perturber les pigments photosynthétiques en augmentant l'accumulation du peroxyde d'hydrogène et en endommageant ensuite la croissance de la tomate. Ainsi, le stress oxydatif est impliqué dans le mécanisme de leur toxicité. La plupart des effets sur la croissance et sur les pigments photosynthétiques lorsque les plantules de tomate ont été exposés conjointement aux xénobiotiques peuvent être attribuée à la toxicité du Cd. Ces résultats indiquent également que les antioxydants, tels que les enzymes et les composants non enzymatiques, jouent un rôle important dans la lutte contre le stress oxydatif induit par les polluants.

## *Conclusions & perspectives*

L'adaptation des végétaux aux conditions contraignantes de leur environnement nécessite des modifications morphologiques, métaboliques et moléculaires. Ces changements doivent aider à la fois à minimiser les effets nocifs du stress et permettre à la plante de survivre. Les plantes ont mis au point des mécanismes complexes pour contrôler les concentrations des métaux essentiels et réduire au minimum les dommages causés par l'exposition aux métaux non essentiels et xénobiotiques.

Dans ce travail de thèse, nous avons exploré les effets séparés et combinés d'insecticide (imidaclopride et/ou deltaméthrine) et du cadmium chez *Solanum lycopersicum*. A l'issue de nos travaux, on peut conclure que l'insecticide (IMI et/ou DM) peut subir une complexation avec le Cd. Ainsi, la toxicité de ces xénobiotiques peut altérer la perméabilité et la structure tissulaire de la membrane cellulaire des plantules, augmenter l'absorption de l'IMI et/ou DM et du Cd, et conduire à une toxicité plus accentuée pour les organismes. Les concentrations utilisées dans le dispositif expérimental (dose agronomique d'IMI/DM et 100µM Cd) produisent un stress oxydatif, conduisant à l'accumulation des espèces réactive oxygénées tels que H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. À ce stade, *Solanum lycopersicum* peut activer le système de défense antioxydant, y compris des enzymes telles APX, POD, CAT et GST, ainsi que des antioxydants non-enzymatiques telles que proline, thiols et flavonoïdes, qui peuvent atténuer les dommages oxydatifs entraînant une altération de la croissance des plantes et le jaunissement des feuilles.

Enfin, nous avons observé un effet synergique entre l'insecticide utilisé (IMI/DM) et le cadmium, ce qui suggère que l'écotoxicité d'insecticide (IMI/DM) ou du cadmium peut être exacerbée dans le sol où l'IMI/DM et les ions de cadmium coexistent.

A la lumière de l'ensemble des résultats obtenus, il semble que les réponses éco physiologiques des plantules de tomate au stress causé par le Cd et les pesticides est très complexe. Pour mieux élucider les mécanismes impliqués dans les différents types d'interaction entre produits phytosanitaires à usage agricole et les métaux lourds tel le cadmium, la combinaison d'approches biochimique et moléculaire est nécessaire.

## *Références bibliographiques*

## Références Bibliographiques

- Aebi, H. (1984). [13] Catalase in Vitro. *Methods in Enzymology*, 105(C), 121–126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Ahammed, G. J., Choudhary, S. P., Chen, S., Xia, X., Shi, K., Zhou, Y., & Yu, J. (2013). Role of brassinosteroids in alleviation of phenanthrene-cadmium co-contamination-induced photosynthetic inhibition and oxidative stress in tomato. *Journal of Experimental Botany*. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers323>
- Alla, M. m. N., & Younis, M. E. (1995). Herbicide effects on phenolic metabolism in maize (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) seedling. *Journal of Experimental Botany*, 46(11), 1731–1736. <https://doi.org/10.1093/jxb/46.11.1731>
- Anderson, M. E. (1985). [70] Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. In *Methods in enzymology* (Vol. 113, pp. 548–555). Elsevier.
- Anjum, N. A., Ahmad, I., Mohmood, I., Pacheco, M., Duarte, A. C., Pereira, E., Umar, S., Ahmad, A., Khan, N. A., Iqbal, M., & Prasad, M. N. V. (2012). Modulation of glutathione and its related enzymes in plants' responses to toxic metals and metalloids-A review. *Environmental and Experimental Botany*, 75, 307–324. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.07.002>
- Anjum, N. A., Aref, I. M., Duarte, A. C., Pereira, E., Ahmad, I., & Iqbal, M. (2014). Glutathione and proline can coordinately make plants withstand the joint attack of metal(loid) and salinity stresses. *Frontiers in Plant Science*, 5(Nov), 1–5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00662>
- Balasubramanian, S., Gunasekaran, K., Sasidharan, S., Jeyamanickavel Mathan, V., & Perumal, E. (2020). MicroRNAs and Xenobiotic Toxicity: An Overview. *Toxicology Reports*, 7(May), 583–595. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.04.010>
- Bashir, F., Mahmooduzzafar, Siddiqi, T. O., & Iqbal, M. (2007). The antioxidative response system in *Glycine max* (L.) Merr. exposed to Deltamethrin, a synthetic pyrethroid insecticide. *Environmental Pollution*, 147(1), 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.08.013>
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1999). [2] Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 15–27). Elsevier.
- Bianchi, J., Casimiro Fernandes, T. C., & Marin-Morales, M. A. (2016). Induction of mitotic and chromosomal abnormalities on *Allium cepa* cells by pesticides imidacloprid and sulfentrazone and the mixture of them. *Chemosphere*, 144, 475–483. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.09.021>



- Bilal, M., Iqbal, H. M. N., & Barceló, D. (2019). Persistence of pesticides-based contaminants in the environment and their effective degradation using laccase-assisted biocatalytic systems. *Science of the Total Environment*, 695. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133896>
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Caicedo, P., Schröder, A., Ulrich, N., Schröter, U., Paschke, A., Schüürmann, G., Ahumada, I., & Richter, P. (2011). Determination of lindane leachability in soil–biosolid systems and its bioavailability in wheat plants. *Chemosphere*, 84(4), 397–402. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.03.070>
- Chrysargyris, A., Papakyriakou, E., Petropoulos, S. A., & Tzortzakis, N. (2019). The combined and single effect of salinity and copper stress on growth and quality of *Mentha spicata* plants. *Journal of Hazardous Materials*, 368(October 2018), 584–593. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.01.058>
- Clemens, S., & Ma, J. F. (2016a). Toxic Heavy Metal and Metalloid Accumulation in Crop Plants and Foods. *Annual Review of Plant Biology*, 67(January), 489–512. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043015-112301>
- Clemens, S., & Ma, J. F. (2016b). Toxic Heavy Metal and Metalloid Accumulation in Crop Plants and Foods. *Annual Review of Plant Biology*, 67(1), 489–512. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043015-112301>
- Coleman, J. O. D., Blake-Kalff, M. M. A., & Davies, T. G. E. (1997). Detoxification of xenobiotics by plants: Chemical modification and vacuolar compartmentation. *Trends in Plant Science*, 2(4), 144–151. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)01019-4](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01019-4)
- Dietz, A. C., & Schnoor, J. L. (2001). Advances in phytoremediation. *Environmental Health Perspectives*, 109(SUPPL. 1), 163–168. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109s1163>
- Dosnon-Olette, R., Couderchet, M., Oturan, M. A., Oturan, N., & Eullaffroy, P. (2011). Potential use of *Lemna minor* for the phytoremediation of isoproturon and glyphosate. *International Journal of Phytoremediation*, 13(6), 601–612.
- Duran, R. E., Kilic, S., & Coskun, Y. (2015). Response of maize (*Zea mays* L. *saccharata* Sturt) to different concentration treatments of deltamethrin. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 124, 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.03.011>
- Eapen, S., Singh, S., & D'Souza, S. F. (2007). Advances in development of transgenic plants for remediation of xenobiotic pollutants. *Biotechnology Advances*, 25(5), 442–451. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.05.001>
- Foyer, C. H., & Noctor, G. (2011). Ascorbate and glutathione: The heart of the redox hub. *Plant Physiology*, 155(1), 2–18. <https://doi.org/10.1104/pp.110.167569>
- Gallego, S. M., & Benavides, M. P. (2018). Cadmium-Induced Oxidative and Nitrosative

- Stress in Plants. In *Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants: From Physiology to Remediation*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814864-8.00010-3>
- Gerszberg, A., Hnatuszko-Konka, K., Kowalczyk, T., & Kononowicz, A. K. (2015). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the service of biotechnology. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *120*(3), 881–902. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0664-4>
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Gupta, S., & Gupta, K. (2020). Bioaccumulation of Pesticides and Its Impact on Biological Systems. *Pesticides in Crop Production*, 55–67. <https://doi.org/10.1002/9781119432241.ch4>
- Habig, W. H., & Jakoby, W. B. (1981). [51] Assays for differentiation of glutathione S-Transferases. In *Methods in enzymology* (Vol. 77, pp. 398–405). Elsevier.
- Haider, F. U., Liqun, C., Coulter, J. A., Cheema, S. A., Wu, J., Zhang, R., Wenjun, M., & Farooq, M. (2021). Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *211*, 111887. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111887>
- Hannink, N. K., Rosser, S. J., French, C. E., & Bruce, N. C. (2003). Uptake and metabolism of TNT and GTN by plants expressing bacterial pentaerythritol tetranitrate reductase. *Water, Air, and Soil Pollution: Focus*, *3*(3), 251–258. <https://doi.org/10.1023/A:1023906523833>
- Harpaz-Saad, S., Azoulay, T., Arazi, T., Ben-Yaakov, E., Mett, A., Shibolet, Y. M., Hörtensteiner, S., Gidoni, D., Gal-On, A., Goldschmidt, E. E., & Eyal, Y. (2007). Chlorophyllase is a rate-limiting enzyme in chlorophyll catabolism and is posttranslationally regulated. *Plant Cell*, *19*(3), 1007–1022. <https://doi.org/10.1105/tpc.107.050633>
- Hasan, M. K., Liu, C., Wang, F., Ahammed, G. J., Zhou, J., Xu, M. X., Yu, J. Q., & Xia, X. J. (2016). Glutathione-mediated regulation of nitric oxide, S-nitrosothiol and redox homeostasis confers cadmium tolerance by inducing transcription factors and stress response genes in tomato. *Chemosphere*, *161*, 536–545. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.053>
- Hasan, S. A., Hayat, S., & Ahmad, A. (2011). Brassinosteroids protect photosynthetic machinery against the cadmium induced oxidative stress in two tomato cultivars. *Chemosphere*, *84*(10), 1446–1451. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.04.047>
- Haverinen, J., & Vornanen, M. (2016). Deltamethrin is toxic to the fish (crucian carp, *Carassius carassius*) heart. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *129*, 36–42. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.10.014>
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and

- stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
- Hernández, I., Alegre, L., Van Breusegem, F., & Munné-Bosch, S. (2009). How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? *Trends in Plant Science*, *14*(3), 125–132. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.12.003>
- Hernández, L. E., Sobrino-Plata, J., Montero-Palmero, M. B., Carrasco-Gil, S., Flores-Cáceres, M. L., Ortega-Villasante, C., & Escobar, C. (2015). Contribution of glutathione to the control of cellular redox homeostasis under toxic metal and metalloids stress. *Journal of Experimental Botany*, *66*(10), 2901–2911. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv063>
- Hussain, I., Aleti, G., Naidu, R., Puschenreiter, M., Mahmood, Q., Rahman, M. M., Wang, F., Shaheen, S., Syed, J. H., & Reichenauer, T. G. (2018). Microbe and plant assisted-remediation of organic xenobiotics and its enhancement by genetically modified organisms and recombinant technology: A review. *Science of the Total Environment*, *628–629*, 1582–1599. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.037>
- Hwang, J. I., Lee, S. E., & Kim, J. E. (2015). Plant uptake and distribution of endosulfan and its sulfate metabolite persisted in soil. *PLoS ONE*, *10*(11), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141728>
- Ismael, M. A., Elyamine, A. M., Moussa, M. G., Cai, M., Zhao, X., & Hu, C. (2019). Cadmium in plants: uptake, toxicity, and its interactions with selenium fertilizers. *Metallomics*, *11*(2), 255–277. <https://doi.org/10.1039/c8mt00247a>
- Jactel, H., Verheggen, F., Thiéry, D., Escobar-Gutiérrez, A. J., Gachet, E., & Desneux, N. (2019). Alternatives to neonicotinoids. *Environment International*, *129*(January), 423–429. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.04.045>
- Jayaraj, R., Megha, P., & Sreedev, P. (2016). Review Article. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdisciplinary Toxicology*, *9*(3–4), 90–100. <https://doi.org/10.1515/intox-2016-0012>
- Jiang, R., Wang, M., Chen, W., Li, X., Balseiro-Romero, M., & Baveye, P. C. (2019). Ecological risk of combined pollution on soil ecosystem functions: Insight from the functional sensitivity and stability. *Environmental Pollution*, *255*, 113184. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113184>
- Jozefczak, M., Remans, T., Vangronsveld, J., & Cuypers, A. (2012). Glutathione is a key player in metal-induced oxidative stress defenses. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*(3), 3145–3175. <https://doi.org/10.3390/ijms13033145>
- Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, *57*(2), 315–319.
- Kawahigashi, H., Hirose, S., Ohkawa, H., & Ohkawa, Y. (2008). Transgenic rice plants expressing human P450 genes involved in xenobiotic metabolism for phytoremediation. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, *15*(2–3), 212–219.

<https://doi.org/10.1159/000121332>

- Khan, A., Bilal, S., Khan, A. L., Imran, M., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., & Lee, I. J. (2020). Silicon-mediated alleviation of combined salinity and cadmium stress in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) by regulating physio-hormonal alteration. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 188(October 2019), 109885. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109885>
- Komives, T., & Gullner, G. (2005). Phase I xenobiotic metabolic systems in plants. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 60(3–4), 179–185.
- Kováčik, J., & Bačkor, M. (2007). Phenylalanine ammonia-lyase and phenolic compounds in chamomile tolerance to cadmium and copper excess. *Water, Air, and Soil Pollution*, 185(1–4), 185–193. <https://doi.org/10.1007/s11270-007-9441-x>
- Kováčik, J., Klejdus, B., & Bačkor, M. (2009). Phenolic metabolism of *Matricaria chamomilla* plants exposed to nickel. *Journal of Plant Physiology*, 166(13), 1460–1464. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.03.002>
- Kumar, S., Prasad, S., Yadav, K. K., Shrivastava, M., Gupta, N., Nagar, S., Bach, Q. V., Kamyab, H., Khan, S. A., Yadav, S., & Malav, L. C. (2019). Hazardous heavy metals contamination of vegetables and food chain: Role of sustainable remediation approaches - A review. *Environmental Research*, 179, 108792. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108792>
- Lee, I., & Fletcher, J. S. (1992). Involvement of mixed function oxidase systems in polychlorinated biphenyl metabolism by plant cells. *Plant Cell Reports*, 11(2), 97–100. <https://doi.org/10.1007/BF00235262>
- Létondor, C., Pascal-Lorber, S., & Laurent, F. (2015). Uptake and distribution of chlordecone in radish: Different contamination routes in edible roots. *Chemosphere*, 118(1), 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.102>
- Li, Y., Yang, L., Yan, H., Zhang, M., Ge, J., & Yu, X. (2018). Uptake, translocation and accumulation of imidacloprid in six leafy vegetables at three growth stages. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 164(June), 690–695. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.082>
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148(C), 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Liu, L., Bilal, M., Duan, X., & Iqbal, H. M. N. (2019). Mitigation of environmental pollution by genetically engineered bacteria — Current challenges and future perspectives. *Science of The Total Environment*, 667, 444–454. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.390>
- Liu, N., Zhong, G., Zhou, J., Liu, Y., Pang, Y., Cai, H., & Wu, Z. (2019). Separate and combined effects of glyphosate and copper on growth and antioxidative enzymes in

- Salvinia natans ( L .) All. *Science of the Total Environment*, 655, 1448–1456.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.213>
- Lu, Q., Sun, Y., Ares, I., Anadón, A., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M. R., Yuan, Z., Wang, X., & Martínez, M. A. (2019). Deltamethrin toxicity: A review of oxidative stress and metabolism. *Environmental Research*, 170, 260–281.  
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.12.045>
- Lv, T., Zhang, Y., Casas, M. E., Carvalho, P. N., Arias, C. A., Bester, K., & Brix, H. (2016). Phytoremediation of imazalil and tebuconazole by four emergent wetland plant species in hydroponic medium. *Chemosphere*, 148, 459–466.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.064>
- Mahapatra, K., De, S., Banerjee, S., & Roy, S. (2019). Pesticide mediated oxidative stress induces genotoxicity and disrupts chromatin structure in fenugreek (*Trigonella foenum - graecum* L.) seedlings. *Journal of Hazardous Materials*, 369(October 2018), 362–374.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.056>
- Manquían-cerda, K., Escudey, M., Zúñiga, G., & Arancibia-miranda, N. (2016). Ecotoxicology and Environmental Safety Effect of cadmium on phenolic compounds , antioxidant enzyme activity and oxidative stress in blueberry ( *Vaccinium corymbosum* L .) plantlets grown in vitro. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 133, 316–326.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.07.029>
- Martinoia, E., Grill, E., Tommasini, R., Kreuz, K., & Amrhein, N. (1993). ATP-dependent glutathione S-conjugate “export” pump in the vacuolar membrane of plants. *Nature*, 364(6434), 247–249. <https://doi.org/10.1038/364247a0>
- Match, E. K., Chavez Soria, N. G., Aga, D. S., & Atilla-Gokcumen, G. E. (2019). Applications of metabolomics in assessing ecological effects of emerging contaminants and pollutants on plants. *Journal of Hazardous Materials*, 373(March), 527–535.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.084>
- Mayer, A. M., & Staples, R. C. (2002). Laccase: New functions for an old enzyme. *Phytochemistry*, 60(6), 551–565. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00171-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00171-1)
- Mitchell, E. A. D., Mulhauser, B., Mulot, M., Mutabazi, A., Glauser, G., & Aebi, A. (2017). A worldwide survey of neonicotinoids in honey. *Science*, 358(6359), 109–111.  
<https://doi.org/10.1126/science.aan3684>
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)
- Mittler, R. (2017). ROS Are Good. *Trends in Plant Science*, 22(1), 11–19.  
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>
- Murshed, R., Lopez-Lauri, F., Keller, C., Monnet, F., & Sallanon, H. (2008). Acclimation to drought stress enhances oxidative stress tolerance in *Solanum Lycopersicum* L. fruits. *Plant Stress*, 2(2), 145–151.

- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867–880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
- Nazir, F., Fariduddin, Q., & Khan, T. A. (2020). Hydrogen peroxide as a signalling molecule in plants and its crosstalk with other plant growth regulators under heavy metal stress. In *Chemosphere* (Vol. 252, p. 126486). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126486>
- Nemmiche S (2017) Oxidative signaling response to cadmium exposure. *Toxicol Sci* 156(1):4–10.
- Noctor, G., Mhamdi, A., Chaouch, S., Han, Y. I., Neukermans, J., Marquez-garcia, B., Queval, G., & Foyer, C. H. (2012). Glutathione in plants: An integrated overview. *Plant, Cell and Environment*, 35(2), 454–484. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02400.x>
- Parween, T., & Jan, S. (2019). Physiological impacts of pesticides on crop. In *Ecophysiology of Pesticides*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817614-6.00004-4>
- Pérez-Chaca, M. V., Rodríguez-Serrano, M., Molina, A. S., Pedranzani, H. E., Zirulnik, F., Sandalio, L. M., & Romero-Puertas, M. C. (2014). Cadmium induces two waves of reactive oxygen species in Glycine max (L.) roots. *Plant, Cell and Environment*, 37(7), 1672–1687. <https://doi.org/10.1111/pce.12280>
- Pullagurala, V. L. R., Rawat, S., Adisa, I. O., Hernandez-Viezcas, J. A., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2018). Plant uptake and translocation of contaminants of emerging concern in soil. *Science of the Total Environment*, 636, 1585–1596. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.375>
- QIN, S., LIU, H., NIE, Z., RENGEL, Z., Gao, W., LI, C., & ZHAO, P. (2020). Toxicity of cadmium and its competition with mineral nutrients for uptake by plants: A review. *Pedosphere*, 30(2), 168–180. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(20\)60002-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(20)60002-9)
- Radetski, C. M., Cotelle, S., & Féraud, J.-F. (2000). Classical and biochemical endpoints in the evaluation of phytotoxic effects caused by the herbicide trichloroacetate. *Environmental and Experimental Botany*, 44(3), 221–229.
- Rai, P. K., Lee, S. S., Zhang, M., Tsang, Y. F., & Kim, K. H. (2019). Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. *Environment International*, 125(November 2018), 365–385. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.067>
- Ramborger, B. P., Ortis Gularte, C. A., Rodrigues, D. T., Gayer, M. C., Sigal Carriço, M. R., Bianchini, M. C., Puntel, R. L., Denardin, E. L. G., & Roehrs, R. (2017). The phytoremediation potential of *Plectranthus neochilus* on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and the role of antioxidant capacity in herbicide tolerance. *Chemosphere*, 188, 231–240. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.164>
- Riaz, M., Kamran, M., Rizwan, M., Ali, S., Parveen, A., Malik, Z., & Wang, X. (2021).

- Cadmium uptake and translocation: selenium and silicon roles in Cd detoxification for the production of low Cd crops: a critical review. *Chemosphere*, 273, 129690. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129690>
- Rizwan, M., Ali, S., Zia ur Rehman, M., Rinklebe, J., Tsang, D. C. W., Bashir, A., Maqbool, A., Tack, F. M. G., & Ok, Y. S. (2018). Cadmium phytoremediation potential of Brassica crop species: A review. *Science of the Total Environment*, 631–632, 1175–1191. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.104>
- Rodríguez-Serrano, M., Romero-Puertas, M. C., Pazmino, D. M., Testillano, P. S., Risueno, M. C., Del Río, L. A., & Sandalio, L. M. (2009). Cellular response of pea plants to cadmium toxicity: Cross talk between reactive oxygen species, nitric oxide, and calcium. *Plant Physiology*, 150(1), 229–243. <https://doi.org/10.1104/pp.108.131524>
- Romero-Puertas, M. C., Terrón-Camero, L. C., Peláez-Vico, M. Á., Olmedilla, A., & Sandalio, L. M. (2019). Reactive oxygen and nitrogen species as key indicators of plant responses to Cd stress. *Environmental and Experimental Botany*, 161, 107–119. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.10.012>
- San Miguel, A., Ravanel, P., & Raveton, M. (2013). A comparative study on the uptake and translocation of organochlorines by *Phragmites australis*. *Journal of Hazardous Materials*, 244–245, 60–69. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.11.025>
- Sánchez-Rodríguez, E., Moreno, D. A., Ferreres, F., Rubio-Wilhelmi, M. D. M., & Ruiz, J. M. (2011). Differential responses of five cherry tomato varieties to water stress: Changes on phenolic metabolites and related enzymes. *Phytochemistry*, 72(8), 723–729. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.02.011>
- Sandermann, H. (1992). Plant metabolism of xenobiotics. *Trends in Biochemical Sciences*, 17(2), 82–84. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(92\)90507-6](https://doi.org/10.1016/0968-0004(92)90507-6)
- Sandermann, H. (1994). Higher plant metabolism of xenobiotics: The ‘green liver’ concept. In *Pharmacogenetics* (Vol. 4, Issue 5, pp. 225–241). <https://doi.org/10.1097/00008571-199410000-00001>
- Schenk, G., Mateen, I., Ng, T.-K., Pedroso, M. M., Mitić, N., Jafelicci, M., Marques, R. F. C., Gahan, L. R., & Ollis, D. L. (2016). Organophosphate-degrading metallohydrolases: Structure and function of potent catalysts for applications in bioremediation. *Coordination Chemistry Reviews*, 317, 122–131. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2016.03.006>
- Schützendübel, A., Schwanz, P., Teichmann, T., Gross, K., Langenfeld-Heyser, R., Godbold, D. L., & Polle, A. (2001). Cadmium-induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in Scots pine roots. *Plant Physiology*, 127(3), 887–898. <https://doi.org/10.1104/pp.010318>
- Sedlak, J., & Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman’s reagent. *Analytical Biochemistry*, 25(C), 192–205. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90092-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90092-4)

- Shahzad, B., Tanveer, M., Che, Z., Rehman, A., Cheema, S. A., Sharma, A., Song, H., Rehman, S. ur, & Zhaorong, D. (2018). Role of 24-epibrassinolide (EBL) in mediating heavy metal and pesticide induced oxidative stress in plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147(June 2017), 935–944. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.066>
- Shakir, S. K., Irfan, S., Akhtar, B., Rehman, S. ur, Daud, M. K., Taimur, N., & Azizullah, A. (2018). Pesticide-induced oxidative stress and antioxidant responses in tomato (*Solanum lycopersicum*) seedlings. *Ecotoxicology*, 27(7), 919–935. <https://doi.org/10.1007/s10646-018-1916-6>
- Sharma, A., Kumar, V., Thukral, A. K., & Bhardwaj, R. (2019). Responses of plants to pesticide toxicity: An overview. *Planta Daninha*, 37. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100065>
- Sharma, Anket, Kumar, V., Kohli, S. K., Kaur, R., Kaur, T., Arora, S., Thukral, A. K., & Bhardwaj, R. (2020). Pesticide Metabolism in Plants, Insects, Soil Microbes and Fishes: An Overview. *Pesticides in Crop Production: Physiological and Biochemical Action*, 35–53.
- Sharma, Anket, Kumar, V., Kumar, R., Shahzad, B., Thukral, A. K., & Bhardwaj, R. (2018). Brassinosteroid-mediated pesticide detoxification in plants: A mini-review. *Cogent Food & Agriculture*, 4(1), 1436212. <https://doi.org/10.1080/23311932.2018.1436212>
- Sharma, Anket, Kumar, V., Yuan, H., Kanwar, M. K., Bhardwaj, R., Thukral, A. K., & Zheng, B. (2018). Jasmonic acid seed treatment stimulates insecticide detoxification in brassica juncea L. *Frontiers in Plant Science*, 871(November), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01609>
- Sharma, Anket, Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, 24(13), 1–22. <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>
- Sharma, Anket, Thakur, S., Kumar, V., Kanwar, M. K., Kesavan, A. K., Thukral, A. K., Bhardwaj, R., Alam, P., & Ahmad, P. (2016). Pre-sowing seed treatment with 24-epibrassinolide ameliorates pesticide stress in Brassica juncea L. Through the modulation of stress markers. *Frontiers in Plant Science*, 7(NOVEMBER2016), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01569>
- Sharma, Anket, Thakur, S., Kumar, V., Kesavan, A. K., Thukral, A. K., & Bhardwaj, R. (2017). 24-epibrassinolide stimulates imidacloprid detoxification by modulating the gene expression of Brassica juncea L. *BMC Plant Biology*, 17(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1003-9>
- Sharma, Anket, Yuan, H., Kumar, V., Ramakrishnan, M., Kohli, S. K., Kaur, R., Thukral, A. K., Bhardwaj, R., & Zheng, B. (2019). Castasterone attenuates insecticide induced phytotoxicity in mustard. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 179(March), 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.120>



- Sharma, P., Singh, R., & Jan, M. (2014). Dose-dependent effect of deltamethrin in testis, liver, and Kidney of wistar rats. *Toxicology International*, 21(2), 131–139. <https://doi.org/10.4103/0971-6580.139789>
- Sharma, S. S., Dietz, K. J., & Mimura, T. (2016). Vacuolar compartmentalization as indispensable component of heavy metal detoxification in plants. *Plant Cell and Environment*, 39(5), 1112–1126. <https://doi.org/10.1111/pce.12706>
- Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J. M., Chagnon, M., Downs, C., Furlan, L., Gibbons, D. W., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreuzweiser, D. P., Krupke, C. H., Liess, M., Long, E., Mcfield, M., Mineau, P., Mitchell, E. A., Morrissey, C. A., ... Wiemers, M. (2015). Systemic insecticides (Neonicotinoids and fipronil): Trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 5–34. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3470-y>
- Singh, N., Gupta, V. K., Kumar, A., & Sharma, B. (2017). Synergistic Effects of Heavy Metals and Pesticides in Living Systems. *Frontiers in Chemistry*, 5(October), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00070>
- Singh, S., & Tiwari, S. (2020). Responses of plants to herbicides: Recent advances and future perspectives. In D. K. Tripathi, V. Pratap Singh, D. K. Chauhan, S. Sharma, S. M. Prasad, N. K. Dubey, & N. B. T.-P. L. U. C. E. Ramawat (Eds.), *Plant Life Under Changing Environment* (pp. 237–250). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818204-8.00011-4>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
- Soares, C., Carvalho, M. E. A., Azevedo, R. A., & Fidalgo, F. (2019). Plants facing oxidative challenges—A little help from the antioxidant networks. *Environmental and Experimental Botany*, 161, 4–25. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.12.009>
- Soares, C., Pereira, R., Martins, M., Tamagnini, P., Serôdio, J., Moutinho-Pereira, J., Cunha, A., & Fidalgo, F. (2020). Glyphosate-dependent effects on photosynthesis of *Solanum lycopersicum* L.—An ecophysiological, ultrastructural and molecular approach. *Journal of Hazardous Materials*, 398(May). <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122871>
- Soares, C., Pereira, R., Spormann, S., & Fidalgo, F. (2019). Is soil contamination by a glyphosate commercial formulation truly harmless to non-target plants? – Evaluation of oxidative damage and antioxidant responses in tomato. *Environmental Pollution*, 247, 256–265. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.01.063>
- Sur, R., & Stork, A. (2003). Uptake, translocation and metabolism of imidacloprid in plants. *Bulletin of Insectology*, 56, 35–40.
- Tadolini, B., Juliano, C., Piu, L., Franconi, F., & Cabrini, L. (2000). Resveratrol inhibition of lipid peroxidation. *Free Radical Research*, 33(1), 105–114.

<https://doi.org/10.1080/10715760000300661>

- Terrón-Camero, L. C., Peláez-Vico, M. Á., Del-Val, C., Sandalio, L. M., & Romero-Puertas, M. C. (2019). Role of nitric oxide in plant responses to heavy metal stress: Exogenous application versus endogenous production. In *Journal of Experimental Botany* (Vol. 70, Issue 17, pp. 4477–4488). <https://doi.org/10.1093/jxb/erz184>
- Uwizeyimana, H., Wang, M., Chen, W., & Khan, K. (2017). The eco-toxic effects of pesticide and heavy metal mixtures towards earthworms in soil. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 55, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.08.001>
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1), 59–66. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
- Wang, Chao, Lu, J., Zhang, S., Wang, P. F., Hou, J., & Qian, J. (2011). Effects of Pb stress on nutrient uptake and secondary metabolism in submerged macrophyte *Vallisneria natans*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(5), 1297–1303. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.03.005>
- Wang, Chunlei, Yang, Y., Wu, N., Gao, M., & Tan, Y. (2019). Combined toxicity of pyrethroid insecticides and heavy metals: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 17(4), 1693–1706. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00905-w>
- Wei, L., Zhang, M., Wei, S., Zhang, J., Wang, C., & Liao, W. (2020). Roles of nitric oxide in heavy metal stress in plants: Cross-talk with phytohormones and protein S-nitrosylation. *Environmental Pollution*, 259. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.113943>
- Wen, Y., Zhang, L., Chen, Z., Sheng, X., Qiu, J., & Xu, D. (2016). Co-exposure of silver nanoparticles and chiral herbicide imazethapyr to *Arabidopsis thaliana*: Enantioselective effects. *Chemosphere*, 145, 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.11.035>
- Wu, Y., & von Tiedemann, A. (2002). Impact of fungicides on active oxygen species and antioxidant enzymes in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) exposed to ozone. *Environmental Pollution*, 116(1), 37–47. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(01\)00174-9](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00174-9)
- Xia, X. J., Huang, Y. Y., Wang, L., Huang, L. F., Yu, Y. L., Zhou, Y. H., & Yu, J. Q. (2006). Pesticides-induced depression of photosynthesis was alleviated by 24-epibrassinolide pretreatment in *Cucumis sativus* L. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86(1), 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2006.01.005>
- Xia, X. J., Zhang, Y., Wu, J. X., Wang, J. T., Zhou, Y. H., Shi, K., Yu, Y. L., & Yu, J. Q. (2009). Brassinosteroids promote metabolism of pesticides in cucumber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8406–8413. <https://doi.org/10.1021/jf901915a>
- Yadav, S. K. (2010). Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatin in heavy metal stress tolerance of plants. In *South African Journal of Botany* (Vol. 76, Issue 2, pp. 167–179). Elsevier B.V.

<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2009.10.007>

- Yan, Y., Sun, S., Zhao, N., Yang, W., Shi, Q., & Gong, B. (2019). COMT1 overexpression resulting in increased melatonin biosynthesis contributes to the alleviation of carbendazim phytotoxicity and residues in tomato plants. *Environmental Pollution*, 252, 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.052>
- Ye, S., Zeng, G., Wu, H., Zhang, C., Liang, J., Dai, J., Liu, Z., Xiong, W., Wan, J., Xu, P., & Cheng, M. (2017). Co-occurrence and interactions of pollutants, and their impacts on soil remediation—A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 47(16), 1528–1553. <https://doi.org/10.1080/10643389.2017.1386951>
- Yin, Y. L., Zhou, Y., Zhou, Y. H., Shi, K., Zhou, J., Yu, Y., Yu, J. Q., & Xia, X. J. (2016). Interplay between mitogen-activated protein kinase and nitric oxide in brassinosteroid-induced pesticide metabolism in *Solanum lycopersicum*. *Journal of Hazardous Materials*, 316, 221–231. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.070>
- Zagorchev, L., Seal, C. E., Kranner, I., & Odjakova, M. (2013). A central role for thiols in plant tolerance to abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 7405–7432. <https://doi.org/10.3390/ijms14047405>
- Zhang, C., Zhang, Q., Pang, Y., Song, X., Zhou, N., Wang, J., He, L., Lv, J., Song, Y., Cheng, Y., & Yang, X. (2019). The protective effects of melatonin on oxidative damage and the immune system of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) exposed to deltamethrin. *Science of the Total Environment*, 653, 1426–1434. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.063>
- Zhang, F., Zhang, X., Hou, D., Lian, H., Na, S., & Li, X. (2014). Potentialities of Maize on the Removal of Organochlorine Pesticides from Contaminated Soils. *Agricultural Science & Technology*, 15(12), 2127.
- Zhang, J. J., & Yang, H. (2021). Metabolism and detoxification of pesticides in plants. *Science of the Total Environment*, 790(1). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148034>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. In *Food Chemistry* (Vol. 64, Issue 4, pp. 555–559). [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)



## Phytotoxic evaluation of neonicotinoid imidacloprid and cadmium alone and in combination on tomato (*Solanum lycopersicum* L.)

Nabil Touzout<sup>1</sup> · Hafidha Mehallah<sup>2</sup> · Radia Moralent<sup>2</sup> · Mohammed Moulay<sup>2,3</sup> · Saïd Nemmiche<sup>1,2</sup>

Accepted: 28 April 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2021

### Abstract

Neonicotinoids and heavy metals pollution exist simultaneously in agro ecosystem. However, little is known about their combined ecotoxicological effects on non-target crop plants. We have selected imidacloprid (IMI) and cadmium (Cd), applied alone and in combination, to evaluate their effect on growth, physiological and biochemical parameters of tomato. Results showed that the single application of contaminants (IMI and/or Cd) adversely affected both the growth and chlorophyll pigment, and Cd alone application was more phytotoxic than IMI. However, their combined action aggravated the inhibitory effect and indicate a synergistic effect, but it exerted antagonistic effects on chlorophyll pigment inhibition compared with IMI and Cd alone treatments. Both chemicals increased hydrogen peroxide level and generated lipid peroxidation, and the co-contamination exacerbates oxidative stress by their synergistic effect. Those results implicate that disturbance of cellular redox status is the plausible mechanism for IMI and Cd induced toxicity. In conclusion, the single or combined IMI and Cd cause negative effects on tomatoes.

**Keywords** Imidacloprid · Cadmium · Combined pollution · Tomato · Oxidative stress

### Introduction

The agrochemicals used in agricultural activities pose severe ecological and health problems. The rapid development was a major cause of the contamination due to increasing levels of heavy metals (such as cadmium (Cd), lead (Pb), chromium (Cr), nickel (Ni) and mercury (Hg)) and the widespread application of pesticides in modern agriculture. Out of many, cadmium (Cd) is extremely toxic to living organism including plants, humans and animals (Gallego and Benavides 2019). It is classified as non-redox, non-essential metal and acts as a pollutant that enters the soil through anthropogenic sources such as excessive usage of chemical fertilizers and sludge application (Rizwan et al. 2018;

Ismael et al. 2019). Plants absorb Cd via the root system during the nutrient absorption, and its accumulation leads to stresses which affect growth and decrease the yield and quality of crop. Considering the facility of plants to absorb and accumulate Cd, humans are susceptible for Cd intoxication due to its bio-accumulation in the food chain and their persistence (Ismael et al. 2019; Rizwan et al. 2018). Even at small amounts and low concentration, Cd promotes a complex change in morphological, structural, physiological and biochemical processes (Shahzad et al. 2018; Gallego and Benavides 2019). Besides changes in different processes, Cd can also induce oxidative stress associated with an overproduction of reactive oxygen species (ROS) which destroy the membranes through lipid peroxidation, and protein degradation leading to cell death (Nemmiche 2017). Several studies have reported that Cd stress reduced growth, biomass yield, pigment content, chlorophyll fluorescence, gas exchange parameters, and water relations as well as the imbalance of cellular redox status (Gallego and Benavides 2019). Plant cells are able to withstand toxic metals by different pathways. The synthesis of numerous metabolites, osmolytes and enzymatic antioxidants play a key role in plant metals tolerance (Gallego and Benavides 2019; Rizwan et al. 2018; Romero-Puertas et al. 2019). In addition, chelating agents such as thiols plays a double role

✉ Saïd Nemmiche  
snemiche@hotmail.com

<sup>1</sup> Faculty of Nature and Life Sciences, Department of Agronomy, University of Mostaganem, Mostaganem 27000, Algeria

<sup>2</sup> Faculty of Nature and Life Sciences, Department of Biology, University of Mostaganem, Mostaganem 27000, Algeria

<sup>3</sup> Stem Cells Research Group, KFMRC, King Abdulaziz University, Jeddah, Kingdom of Saudi Arabia



## Co-contamination of deltamethrin and cadmium induce oxidative stress in tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.)

Nabil Touzout<sup>1</sup> · Hafidha Mehallah<sup>2</sup> · Radia Moralent<sup>2</sup> · Saïd Nemmiche<sup>2</sup> · Mohammed Benkhelifa<sup>1</sup>

Received: 6 June 2020 / Revised: 3 November 2020 / Accepted: 30 April 2021  
© Franciszek Górski Institute of Plant Physiology, Polish Academy of Sciences, Kraków 2021

### Abstract

Pyrethroids (deltamethrin) are increasingly being used in modern agriculture. In addition, cadmium (Cd) has considerable use in a wide spectrum of industrial fields. Consequently, combined pollution with deltamethrin (DM) and Cd is a common phenomenon in soil. In this study, the toxic effects of DM and Cd were investigated alone and in combination. Plant tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) were treated with deltamethrin (25 µM) or Cd (100 µM) or with DM–Cd co-contamination for 7 days. Both DM and Cd were significantly affected growth rate and reduced the levels of photosynthetic pigments though Cd seemed to be more deleterious than DM. Furthermore, DM and Cd induced hydrogen peroxide accumulation, lipid peroxidation, upregulated of anti-oxidative enzyme activities (APX, CAT, POD and PAL) and non-enzymatic such as proline, and reduced glutathione. These results revealed that oxidative stress is involved in the toxicity of DM and Cd, and proved that under a co-exposing condition, DM and Cd had a synergistic effect on the growth and content of photosynthetic pigments and an antagonistic interaction on antioxidant defense. Further studies on mixture toxicities are needed to explore the detailed mechanism of synergetic interaction to improve the environmental risk assessment of chemicals by applying the OMIC approaches.

**Keywords** Deltamethrin · Cadmium · Tomato · Oxidative stress · Antioxidants defense

### Introduction

The contamination of the environment and vegetables with heavy metals and pesticide is one of the most important ecological and health problems (Singh et al. 2017). The extensive use of heavy metals in industry and pesticides (herbicides, fungicides, insecticides) in modern agriculture caused serious problems of environmental contamination (Shahzad et al. 2018). Heavy metals are non-biodegradable and have longer biological half-lives instead of the organic contaminants (Cuypers et al. 2016). Cadmium (Cd) is a

heavy toxic metal considered as the major contaminant of the environment (Ismael et al. 2019). It is present in the soil, water and atmosphere from both natural and anthropogenic sources (Rizwan et al. 2018), such as the use of sewage sludge, industrial emissions and mining activities as well as the use phosphate fertilizers (Clemens and Ma 2016), leading to an increase Cd concentration in soil, water and air. However, Cd can cause serious effects on human and animal health (Nemmiche 2017). It has no biological role, but ability of accumulation and translocation in different parts of the plants, which can accumulate Cd in edible parts that can then enter the food chain (Clemens and Ma 2016; Romero-Puertas et al. 2019).

The phytotoxic effect of Cd can be explained by its high solubility and mobility (Romero-Puertas et al. 2019). In addition, plant Cd exposure leads to oxidative stress, due to an imbalance in the oxidant/antioxidant system resulting from excessive reactive oxygen species (ROS) production and/or antioxidant system impairment (Cuypers et al. 2016; Nemmiche 2017). Cadmium accumulation in plants inhibits the plant growth (Rizwan et al. 2018). To deal with Cd toxicity, plant synthesizes low molecular

Communicated by S. Srivastava.

✉ Saïd Nemmiche  
snemiche@hotmail.com; said.nemmiche@univ-mosta.dz

<sup>1</sup> Department of Agronomy, Faculty of Nature and Life Sciences, University of Mostaganem, BP 188/227, 27000 Mostaganem, Algeria

<sup>2</sup> Department of Biology, Faculty of Nature and Life Sciences, University of Mostaganem, BP 188/227, 27000 Mostaganem, Algeria

## المخلص

أدى الاستخدام الواسع النطاق للمبيدات الزراعية والمعادن الثقيلة وتواجدها المتزامن إلى جعل التلوث حاضراً على نطاق واسع في النظم الزراعية. بالرغم من هذا الأمر أصبح شائعاً. لا تزال مخاطر السمية البيئية المشتركة في النظم الزراعية غير معروفة. يهدف هذا العمل إلى دراسة وتقييم التأثيرات الفردية والمجمعة للمبيدات الحشرية (ايميداكلوبريد و دالتميثرين) و الكادميوم على نمو والاستجابة الفسيولوجية والأنظمة المضادة للأكسدة الإنزيمية وغير الإنزيمية للطماطم. شتلات الطماطم عولجت بجرعة زراعية من المبيدات الحشرية ظل ظروف مائية مع 100 ميكرو مول من كلوريد الكادميوم لمدة 7 أيام. تظهر النتائج أن العلاج له تأثيراً كبيراً على نمو الشتلات. المبيدات الحشرية وحدها أو بالاشتراك مع الكادميوم خفضت بشكل كبير نمو الأوراق والجذور في الشتلات. كان هذا التقييد للنمو مصاحباً لانخفاض كبير في محتوى صبغة الأوراق (الكلوروفيل ا وب والكاروتينويد)، وكان تطبيق الكادميوم وحده أكثر سمية نباتية من المبيدات الحشرية ومع ذلك، فإن تطبيقهم المشترك أدى إلى تفاقم التأثير المثبط ويشير إلى تأثير تآزري. أدى الرش الورقي بالمبيدات الحشرية و/أو وجود الكادميوم في المحلول المغذي إلى حالة إجهاد تأكسدي تتميز بزيادة تراكم بيروكسيد الهيدروجين مصحوبة بزيادة إنتاج مقدار تأكسد لببيدات الجذر الخلوية في أوراق شتلات الطماطم المعالجة. للتعامل مع الإجهاد التأكسدي، يمكن لشتلات الطماطم تنشيط أنظمة مضادات الأكسدة لإزالة سموم بيروكسيد الهيدروجين. لاحظنا تغييرات أنشطة الإنزيمات المضادة للأكسدة (الاسكوربات بيروكسيداز والكتالاز والبيروكسيداز)، والتغيرات في محتويات البرولين، حمض الاسكوربات وتفعيل الأيض الفينولي يرافقه زيادة إنتاج المركبات الفينولية. تشير نتائجنا إلى أن السمية البيئية للمبيدات الحشرية أو الكادميوم يمكن أن تتفاقم في الأنظمة الزراعية وتسبب أضراراً واضحة لنبات الطماطم. يمكن زيادة المخاطر البيئية للمبيدات الزراعية والمعادن الثقيلة عند تواجدها المتزامن.

**الكلمات المفتاحية:** مبيدات حشرية؛ ايميداكلوبريد؛ دالتميثرين؛ الكادميوم؛ التلوث المشترك؛ طماطم؛ الاجهاد التأكسدي.

## Abstract

The widespread application of pesticides and heavy metals and their coexistence have made pollution widely present in terrestrial ecosystems. However, their joint ecotoxicological risks in agroecosystems remain unknown. This work aims to study and evaluate the individual and combined effects of insecticide (imidacloprid (IMI)/ deltamethrin DM) and cadmium on the growth, ecophysiological responses and antioxidant defense system (enzymes and metabolites) of tomato. Tomato (*Solanum lycopersicum*) seedlings are treated with an agronomic dose of insecticide (IMI/DM) under hydroponic conditions with 100µM cadmium (Cd) for 7 days. The results show that stress induces a significant effect on seedling growth. Insecticide (IMI/DM) alone or in combination with cadmium significantly reduces foliar and root growth in seedlings. This growth restriction is concomitant with a significant decrease in leaf pigment content (chlorophyll a, b, total and carotenoids), and the application of Cd alone was more phytotoxic than IMI/DM. However, their combined action aggravated the inhibitory effect and indicates a synergistic effect. Foliar spraying of insecticide (IMI/DM) and/or the presence of cadmium in the nutrient solution resulted in the development of an oxidative stress state characterized by an enhanced accumulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> with an increase in MDA (malondialdehyde) production in the leaves of treated tomato seedlings. The activities of antioxidant enzymes (APX, CAT, POD, GST), changes in proline, thiol and ascorbate contents and activation of phenolic metabolism (PAL) were recorded. Our results indicate that the ecotoxicity of insecticide (IMI/DM) or cadmium can be exacerbated in agroecosystem and cause obvious damage to *S. lycopersicum*. The ecotoxicological risks of pesticides and heavy metals can be increased when they co-exist.

**Keywords:** Insecticide; Imidacloprid; Deltamethrin; Cadmium; Combined pollution; Tomato; Oxidative stress.

## Résumé

L'application généralisée des pesticides et des métaux lourds et leur coexistence a rendu la pollution largement présente dans les écosystèmes terrestres. Ceci est devenu un phénomène très préoccupant. Leurs risques éco-toxicologiques conjoints dans les agro-écosystèmes restent en grande partie inconnus. Ce travail vise à étudier et évaluer les effets individuels et combinés d'insecticides (imidaclopride (IMI)/ deltaméthrine DM) et du cadmium sur la croissance, réponses éco-physiologique et le système de défense antioxydante (enzymes et métabolites) de la tomate. Des plantules de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), sont traitées par une dose agronomique d'insecticide (IMI / DM) en conditions hydroponiques et par 100µM cadmium (Cd) pendant 7 jours. Les résultats obtenus montrent que le stress induit un effet significatif sur la croissance des plantules. L'insecticide (IMI/DM) seule ou en combinaison avec le Cd réduit de manière significative la croissance foliaire et racinaire chez les plantules. Cette restriction de la croissance est concomitante à une diminution significative du contenu des feuilles en pigments (chlorophylle a, b, totale et caroténoïdes), et l'application de Cd seul était plus phytotoxique que l'IMI et/ou DM. Cependant, leur action combinée a aggravé l'effet inhibiteur et indique un effet synergique. La pulvérisation foliaire d'insecticide (IMI / DM) et/ou la présence du Cd dans la solution nutritive a entraîné l'installation d'un état de stress oxydant caractérisé par une accumulation accentuée de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accompagné d'une augmentation de la production de MDA (malondialdéhyde) dans les feuilles de plantules de tomate traitées. Des modifications des activités des enzymes antioxydantes (APX, CAT, POD, GST), des changements des teneurs en proline, thiols et ascorbate, et une activation du métabolisme phénolique (PAL) ont été enregistrées. Nos résultats indiquent que l'écotoxicité de l'imidaclopride, du deltaméthrine et du cadmium peut être exacerbée dans les agroécosystèmes et causer des dommages à *S. lycopersicum*. Les risques écotoxicologiques des pesticides et des métaux lourds peuvent être augmentés lorsqu'ils coexistent.

**Mots clés :** Insecticides ; Imidaclopride ; Deltaméthrine ; Cadmium ; pollution combinée ; tomate ; stress oxydatif