République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M. BELMEHEL NEFOUCI

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Biochimie Appliquée

THÈME

Effets des traitements pesticides sur les composés phénoliques de la pomme de terre cultivée (*Solanum tuberosum* Var Sylvana)

Soutenue publiquement le 18/09/2019

DEVANT LE JURY

Présidente	**HENNIA A.**	**MCB**	**U. Mostaganem**
Examinatrice	**HENNI N.**	**MAA**	**U. Mostaganem**
Encadreur	**NEMMICHE S.**	**Prof**	**U. Mostaganem**

Thème Réalisé aux laboratoires de Biochimie et de Microbiologie de l'Université de Mostaganem.

Année Universitaire : 2018 - 2019

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A ma très chère mère et mon très cher défunt père : ici, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'amour et l'attachement que j'ai pour vous.

A ma petite fille NADA, grand amour de ma vie.

A mes frères et sœurs, Fethi, Abdelkarim, Lahcène et Othmania en témoignage de ma gratitude et mon profond respect.

A ma famille, pour leur soutien et encouragement.

A mon très cher ami Kamel pour son aide précieuse.

A tous mes amis, pour leur conseil et les souvenirs des bons moments passés ensembles.

& enfin, A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Belmehel

Remerciements

Je tiens à remercié en premier lieu :

- Le seigneur **Dieu**, tout puissant, source de toute connaissance.

Mais aussi,

- Mon directeur de mémoire, **Mr. NEMMICHE S.**, Professeur à l'université de Mostaganem, pour son aide, sa patience et sa disponibilité tout au long de la rédaction de ce manuscrit.

- Les membres du jury, pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail, en acceptant de l'examiner, plus particulièrement **Mme HENNIA A.** Présidente du jury et Maître de conférences B à l'université de Mostaganem, ainsi que **Mme. HENNI N.**, Examinatrice et Maître de conférences B à l'université de Mostaganem.

- L'équipe pédagogique de l'établissement, pour la richesse et la qualité des enseignements fournis tout au long de l'année.

- Mme **MENAD H.,** Responsable du laboratoire de microbiologie de l'université de Mostaganem, pour son chaleureux accueille.

- Mon très cher ami **BENOTMANE K.,** qui a su apporté son soutien moral et intellectuel lors de la rédaction de ce mémoire.

- Mon ami **LEUTRECH Zineddine**, qui n'a jamais cessé de m'encourager et de me soutenir

- Et enfin, je tiens à adresser un profond remerciement à ma mère, celle qui fait mon bonheur et mon adorable petite fille que dieu la protège.

Belmehel

Table des matières

Dédicace
Remerciements
Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des abréviations

Introduction 4

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Les pesticides

1. Les pesticides 6
1.1. Définition 6
1.2. Classification 6
1.2.1. Classement par cible 6
1.2.2. Classement par groupe chimique 6
1.2.3. Classement par mode d'action 6
1.3. Mode d'action des pesticides 7
1.3.1. Actions des herbicides 7
1.3.2. Actions des fongicides 8
1.3.3. Actions des insecticides 9
1.4. Dynamique environnementale des pesticides 10
1.5. Principaux usages et rôle des pesticides 11
1.6. Effets toxiques des pesticides 11
1.6.1. Effets sur l'environnement 11
a) Pollution des sols 12
b) Pollution de l'air 12
c) Pollution de l'eau 12
1.6.2. Effets sur la biodiversité 13
1.6.3. Effets sur la santé humaine 13
1.7. Marché international des pesticides 14

Chapitre 2 : Le stress oxydatif

2. Le stress oxydant 15
2.1. Définition 15
2.2. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) 15
2.2.1. Définition 15
2.2.2. Origine et sites de production 16
2.2.3. Principales actions des espèces réactives de l'oxygène 18
2.2.3.1. Actions bénéfiques 18
2.2.3.2. Actions délétères 18
2.2.3.2.1. Principales cibles biologiques des ERO 18
a) L'acide désoxyribonucléique ou ADN 18
b) Les protéines 19
c) Les lipides membranaires 19

d) Les lipoprotéines 20
2.2.4. Mise en évidence des espèces réactives de l'oxygène 20
2.3. Les défenses cellulaires contre le stress oxydant 21
2.3.1. Les antioxydants enzymatiques 21
✓ Les superoxydes dismutases (SOD) 21
✓ Les glutathion peroxydases (GPx) 21
✓ La glutathion réductase (GR) 22
✓ La catalase (CAT) 22
2.3.2. Les antioxydants non enzymatiques 22
2.3.2.1. Antioxydants non-enzymatiques d'origine endogène 22
✓ Le Glutathion (GSH) 22
✓ L'acide urique 23
✓ La Bilirubine 23
2.3.2.2. Antioxydants non-enzymatiques d'origine nutritionnelle 23
✓ La vitamine E 23
✓ La vitamine C 23
✓ Les caroténoïdes 24
✓ Les polyphénols 24
2.3.2.3. Les cofacteurs minéraux 24
✓ Le sélénium 24
✓ Le cuivre 25
✓ Le zinc 25

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Objectif de l'étude 26
2. Matériel végétal 26
2.1. Description de l'espèce 26
2.2. Classification 27
2.3. Origine de la matière végétale 27
3. Analyses biochimiques 28
• Préparation de l'extrait aqueux des feuilles de pomme de terre 28
3.1. Dosage des polyphénols totaux 28
• Mode opératoire 28
3.2. Dosage des tannins 29
• Mode opératoire 29
3.3. Dosage des flavonoïdes 29
• Mode opératoire 30
3.4. Dosage des chlorophylles 30
• Mode opératoire 30
3.5. Dosage des protéines 31
• Mode opératoire 31
4. Analyse statistique 31

Résultats et discussion

1. Résultats et discussion 32
1.1. Dosage des polyphénols totaux 32
1.2. Dosage des tannins 33
1.3. Dosage des flavonoïdes 34
1.4. Dosage des chlorophylles 35
1.5. Dosage des protéines 37

Conclusion 38

Références bibliographiques 39

Liste des abréviations

ADN	**:**	Acide désoxy ribonucléique
ARN	**:**	Acide ribonucléique
CAT	**:**	Catalase
CO_2	**:**	Dioxyde de carbone
Cu	**:**	Cuivre
°C	**:**	Degré celcius
DO	**:**	Densité optique
EAG	**:**	Equivalent d'acide gallique
EBSA	**:**	Equivalent bovine sérum albumine
ERO	**:**	Espèces réactives de l'oxygène
FAO	**:**	Food Agriculture Organisation
GPx	**:**	Glutathion peroxydase
GR	**:**	Glutathion réductase
g	**:**	gramme
GSH	**:**	Glutathion réduit
GSSG	**:**	Glutathion oxydée
ha	**:**	hectare
HCl	**:**	Acide chlorhydrique
H_2O	**:**	l'eau
H_2O_2	**:**	Peroxyde d'hydrogène
INRA	**:**	Institut National de Recherche Agronomique
Kg	**:**	Kilogramme
LDL	**:**	Low density lipoprotein
m	**:**	mètre
MF	**:**	Matière fraîche
mg	**:**	milligramme
min	**:**	minute
µg	**:**	microgramme
µl	**:**	microlitre
ml	**:**	millilitre
NAOH	**:**	Hydroxyde de sodium
NADPH	**:**	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
nm	**:**	nanomètre
O_2	**:**	Dioxygène
OMS	**:**	Organisation Mondiale de la Santé
%	**:**	Pourcentage
SOD	**:**	Superoxyde dismutase
UV	**:**	Ultraviolet
Zn	**:**	Zinc

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre du tableau	N° de page
Tableau 1	Classement des pesticides par mode d'action.	7
Tableau 2	Modes d'action des fongicides	9
Tableau 3	Demi-vie des principales ERO biologiques	20
Tableau 4	Doses des produits phytosanitaires appliquées sur la culture de pomme de terre	27

Liste des figures

Figure N°	Titre de la figure	N° de page
Figure 1	Principaux sites d'action des fongicides	8
Figure 2	Processus de diffusion des pesticides dans l'environnement	10
Figure 3	Les plus gros consommateurs de pesticides en Europe	14
Figure 4	Déséquilibre de la balance du stress oxydant au niveau de la cellule	15
Figure 5	Origine des espèces réactives de l'oxygène (ERO)	16
Figure 6	Sites de production intra-organites des formes réactives de l'oxygène dans la cellule végétale	17
Figure 7	*Solanum tuberosum*	26
Figure 8	Effet des pesticides sur la teneur en polyphénols des extraits de feuilles de pomme de terre	32
Figure 9	Effet des pesticides sur la teneur des tannins des extraits de feuilles de pomme de terre	33
Figure 10	Effet des pesticides sur la teneur des extraits de feuilles de pomme de terre en flavonoïdes	34
Figure 11	Variation de la teneur en chlorophylle a dans les extraits de feuilles de pomme de terre	35
Figure 12	Variation de la teneur en chlorophylle b dans les extraits de feuilles de pomme de terre	35
Figure 13	Variation de la teneur en chlorophylle totale dans les extraits de feuilles de pomme de terre	36
Figure 14	Effet des pesticides sur la teneur des extraits de feuilles de pomme de terre en protéines	37

Liste des abréviations

ADN	**:**	Acide désoxy ribonucléique
ARN	**:**	Acide ribonucléique
CAT	**:**	Catalase
CO_2	**:**	Dioxyde de carbone
Cu	**:**	Cuivre
°C	**:**	Degré celcius
DO	**:**	Densité optique
EAG	**:**	Equivalent d'acide gallique
EBSA	**:**	Equivalent bovine sérum albumine
ERO	**:**	Espèces réactives de l'oxygène
FAO	**:**	Food Agriculture Organisation
GPx	**:**	Glutathion peroxydase
GR	**:**	Glutathion réductase
g	**:**	gramme
GSH	**:**	Glutathion réduit
GSSG	**:**	Glutathion oxydée
ha	**:**	hectare
HCl	**:**	Acide chlorhydrique
H_2O	**:**	l'eau
H_2O_2	**:**	Peroxyde d'hydrogène
INRA	**:**	Institut National de Recherche Agronomique
Kg	**:**	Kilogramme
LDL	**:**	Low density lipoprotein
m	**:**	mètre
MF	**:**	Matière fraîche
mg	**:**	milligramme
min	**:**	minute
µg	**:**	microgramme
µl	**:**	microlitre
ml	**:**	millilitre
NAOH	**:**	Hydroxyde de sodium
NADPH	**:**	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
nm	**:**	nanomètre
O_2	**:**	Dioxygène
OMS	**:**	Organisation Mondiale de la Santé
%	**:**	Pourcentage
SOD	**:**	Superoxyde dismutase
UV	**:**	Ultraviolet
Zn	**:**	Zinc

Introduction

Introduction

Le progrès dans la protection des cultures agricoles à largement contribué à l'augmentation des rendements et à la régularité de la production. Faciles d'accès et d'emploi, relativement peu chers, les produits phytosanitaires utilisés dans ce contexte, se sont révélés très efficaces et fiables dans un nombre important de cas et sur de grandes surfaces.

L'agriculture s'est construite autour de l'utilisation de ces produits, considérés comme facteurs de productivité, mais aussi comme le moyen de proposer des produits végétaux d'aspect irréprochables, tels qu'attendus en partie par le consommateur.

Une fois cet objectif atteint, leur usage est resté conventionnel : l'essor industriel garantissait l'abondance, naissait la société de consommation, l'agriculture devait donc faire de même et continuer de garantir fruits et légumes, beaux, abondants, sans défaut, et presque en toute saison. La chimie permettait cela, les pesticides étaient un bien pour le consommateur.

Mais le rapport à l'alimentation a évolué, la nourriture doit être source de bonne santé pour l'organisme : le crédo « mangeons bien, mangeons sain » est devenu un message médiatique omniprésent, et désormais l'aliment est plus vanté pour ses qualités nutritionnelles que pour son goût. De la même manière, l'individu se préoccupe plus de l'environnement, nous devenons sensibles aux problèmes de pollutions, et ces préoccupations se retrouvent également dans le discours politique. Ainsi, le consommateur se questionne sur les résidus de pesticides trouvés dans l'alimentation et dans l'environnement, et de leurs impacts sur la santé humaine.

C'est dans cette optique qu'une réflexion s'est vue construite à travers l'objectif assigné dans cette étude, afin de connaître les limites de l'usage agricole de ces pesticides.

Cette étude vise à évaluer l'effet direct des pesticides à usages agricoles sur des cultures de pommes de terre, par l'analyse de quelques paramètres biochimiques afin de vérifier les risques probables de leurs utilisations sur le produit lui-même, l'environnement et le consommateur

La première partie de ce manuscrit (revue bibliographique) permettra de découvrir les pesticides, en évoquant leurs principales caractéristiques (classification, mode d'action et leur dynamique de diffusion), principaux usages et effets délétères. S'en suivra une synthèse rappelant quelques principes sur le stress oxydant et les espèces réactives de l'oxygène

générées par ce dernier, avant d'exposer la partie expérimentale qui consiste à évaluer l'impact des pesticides sur des parcelles de pommes de terre cultivées et traitées, à travers l'analyse de quelques paramètres biochimiques.

Un troisième volet expérimental sera par la suite alloué à la discussion des résultats obtenus, pour conclure par un résumé qui englobe les résultats de notre travail et les perspectives pour des recherches avenir.

Partie Bibliographique

Chapitre 1

Les pesticides

1. Les pesticides

1.1. Définition

Un pesticide est définit comme « une substance ou une association de substances destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales, ou toutes autres espèces végétales ou animales nocives ou gênantes au cours de la production, la transformation ou l'entreposage des produits agricoles » (FAO, 2003).

Considérés comme "tueurs de fléaux" par certains étymologistes, ce sont des molécules dont les propriétés toxiques permettent de lutter contre des organismes nuisibles à l'homme et/ou à son environnement (Aprifel, 2004).

1.2. Classification

1.2.1. Classement par cible

Les pesticides sont le plus souvent classés en fonction du ravageur visé (insecticides (insectes), acaricides (acariens), aphicides (pucerons), ovicides (œufs), larvicides (larves), herbicides (plantes indésirables), fongicides (champignons), molluscicides (mollusques), hélicides (escargots), rodenticides (rongeurs), taupicides (taupes), corvicides (oiseaux), termicides (termites), et les produits répulsifs (Rousseau, 2007).

1.2.2. Classement par groupe chimique

Les pesticides sont parfois aussi classés en fonction de leur substance active, autrement dit leur groupe chimique. On peut ainsi parler de pesticides organochlorés, de pesticides organophosphorés, de carbamates, de pyréthrinoides ou encore de triazines. Parler de pesticides organochlorés ou organophosphorés permet de regrouper sous un même vocable des substances aux comportements et propriétés similaires (Garcia et *al.,* 2012).

1.2.3. Classement par mode d'action

Un dernier type de classement des pesticides peut être opéré à partir du mode d'action du pesticide considéré sur l'organisme indésirable visé. Les modes d'action des pesticides sont ainsi très variés et évoluent au gré des innovations de l'industrie phytosanitaire (Bonnefoy, 2013).

Le classement par mode d'action des pesticides en herbicides, fongicides et insecticides sont bien illustré dans le tableau N°1. Ils représentent les principales familles de pesticides utilisées en agriculture fruitières et légumières.

Tableau 1. Classement des pesticides par mode d'action (Bonnefoy, 2013).

Herbicides	
De contact	Agit sur les parties de la plante avec lesquelles il entre en contact.
Systémique	Absorbé par la plante, se déplace à l'intérieur de celle-ci.
Sélectif	Ne contrôle que certaines plantes traitées.
Non sélectif	Contrôle toutes les plantes traitées.
Résiduaire	Se dégradent lentement et contrôle les plantes sur une longue période.
Non résiduaire	Est rapidement inactif après son application et ne contrôle les plantes que sur une courte période.
Fongicides	
Préventif	Protège la plante en empêchant que la maladie ne se développe.
Curatif	Réprime une maladie qui est déjà développée.
Insecticides	
De contact	Agit lorsque l'insecte entre en contact avec le produit.
D'inhalation	Agit lorsque l'insecte respire le produit.
D'ingestion	Agit lorsque l'insecte se nourrit du produit.

1.3. Mode d'action des pesticides

Par mode d'action, on entend généralement le mécanisme par lequel la substance va exercer son effet sur la cible biologique du ravageur visé. La grande diversité des cibles s'accompagne d'une grande variété de modes d'action, aussi bien entre les différentes catégories de pesticides qu'à l'intérieur même de ces catégories, en lien avec leurs propriétés physicochimiques, et donc toxicologiques (Calvet et *al.,* 2005).

1.3.1. Actions des herbicides

Les herbicides, appelés parfois désherbants sont des substances chargées de détruire ou de ralentir la croissance des mauvaises herbes, nommées adventices. Elles se distinguent

entre elles par rapport à leur voie de pénétration dans les végétaux et à leur déplacement dans la plante (Cirad, 2000).

Agissant sur différents processus de croissance et de développement des plantes, ils perturbent le fonctionnement de :

- la physiologie de la plante : la photosynthèse ou la perméabilité membranaire ;
- la croissance : la division cellulaire, l'élongation, etc. ;
- la biosynthèse des constituants cellulaires : lipides, pigments caroténoïdes, acides aminés, etc. (Batsch, 2011).

1.3.2. Actions des fongicides

Les fongicides sont des substances conçues exclusivement pour éliminer ou limiter le développement des champignons parasites des végétaux. Leur effet pourra être qualifié de « préventif » lorsque son action se situe avant la pénétration du parasite dans les tissus de la plante, de «curatif» lorsqu'il intervient sur des filaments déjà bien installés dans les tissus avant l'apparition des premiers symptômes, ou d'« éradiquant » lorsqu'il intervient sur des filaments déjà bien installés dans les tissus avec l'apparition des premiers signes de la maladie (Azzouz, 2012).

Leur mode d'action, peut être observé sur un seul site et on parle ici de fongicide uni-site, ou sur plusieurs cibles et on parle dans ce cas de fongicide multi-sites (Figure 1) (Batsch, 2011).

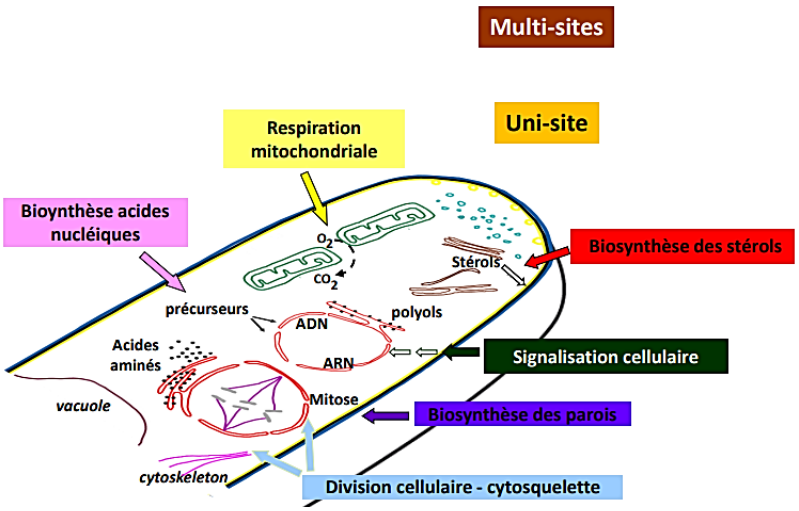


Figure 1. Principaux sites d'action des fongicides (INRA, 2019).

La plupart des fongicides utilisés n'ont qu'un seul site d'action pour stopper ou altérer le bon fonctionnement d'une réaction nécessaire à la survie du champignon, ce qui engendrera

la mort de la cellule. Cependant, si ces cellules mutent au niveau de l'unique site d'action du fongicide, le produit peut devenir inactif car il ne reconnaîtra plus sa cible. Il en résulte ce qu'on appelle une résistance du pathogène au fongicide**.** Les fongicides multi-sites sont dans ce cas des alliés de choix puisque l'acquisition d'une résistance par le pathogène doit passer par la mutation de plusieurs cibles, ce qui n'est encore jamais arrivé (Aprifel, 2004).

Plusieurs actions peuvent être attribuées aux fongicides à l'égard des cibles potentielles du pathogène. Le tableau 2 illustre les grandes lignes de ces principaux modes d'action sur les organismes cibles.

Tableau 2. Modes d'action des fongicides (Aprifel, 2004).

Action sur les processus respiratoires → Inhibition des complexes II et III → Phosphorylation oxydative → Inhibition de la germination	**Action sur les biosynthèses** → Biosynthèse des stérols → Biosynthèse de l'ARN et de l'ADN → Biosynthèse des mélanines
Action sur les microtubules → Combinaison avec la tubuline	**Autres modes d'action** → Action sur les membranes et la croissance → Inhibition de la germination → Modification de la perméabilité cellulaire → Inhibition de l'élongation des tubes Germinatifs

1.3.3. Actions des insecticides

Les insecticides sont des biocides destinés à détruire les insectes pour assurer la protection des cultures. Largement utilisés en agriculture pour éliminer les ravageurs, ils sont également présents dans l'environnement domestique sous forme de spécialités contre les poux, de médicaments vétérinaires, d'insecticides ménagers, de produits de jardinage ou encore de xyloprotecteurs (Testud and Grillet, 2007).

Considérer comme des produits neurotoxiques, leurs actions sur le système nerveux se manifeste par le blocage de la propagation de l'influx nerveux au niveau des neurones et des synapses, tant au niveau du système nerveux central que périphérique (Calvet et *al.*, 2005).

Certains insecticides agissent en perturbant la physiologie de la reproduction de l'insecte (perturbateurs de mue) alors que d'autres inhibent la production de chitine, élément

constitutif majeur de l'exosquelette des insectes (Batsch, 2011). Les insecticides peuvent également cibler les larves et les œufs d'insectes.

1.4. Dynamique environnementale des pesticides

D'une manière générale, les pesticides engendrent un effet néfaste sur l'environnement, donc un certain nombre de risques à l'égard de la composition chimique de l'air, de l'eau et du sol qui se traduisent par des pollutions dont les conséquences toxicologiques (pour l'homme) et éco-toxicologiques (pour les organismes vivants autres que l'homme) peuvent être préjudiciables à la qualité de l'environnement (Mamy et *al.*, 2008).

On estime que lors d'un traitement, 80 à 90% des quantités de pesticides utilisées n'atteignent pas le ravageur visé. Il se produit une dérive des produits vers les différents milieux : le sol qui constitue le support direct d'une culture, l'eau et l'air directement impactés par contact avec ces molécules, puis de manière indirecte les milieux environnants, atteints par ces produits phytosanitaires grâce aux facteurs climatiques tels que la pluie, la percolation ou après évaporation dans l'air (Rial-Otero *et al.*, 2003).

Les êtres vivants qui se nourrissent à partir des éléments du sol, ceux des éléments aquatiques et ceux vivant dans l'air, sont impactés de manière indirecte (Frapna, 2013) (Figure 2).

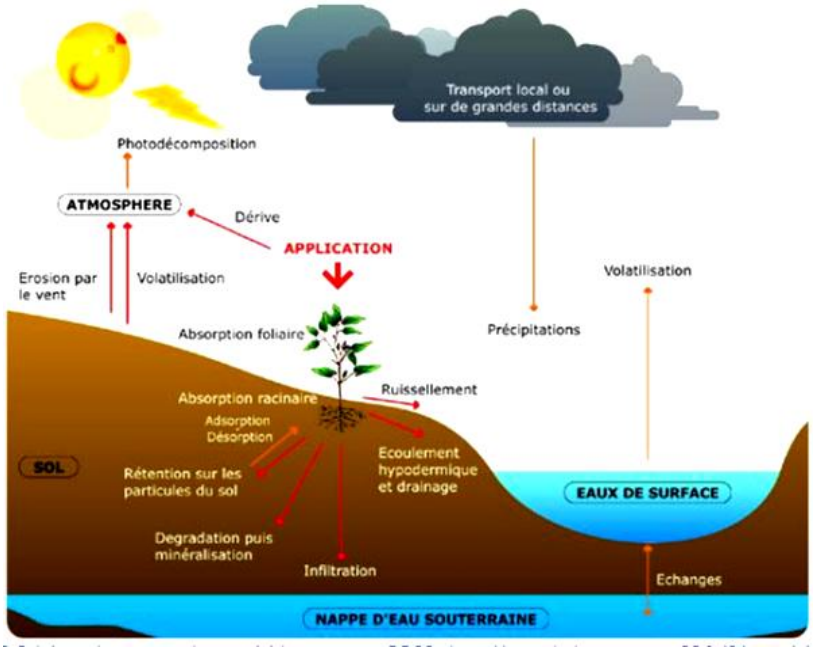


Figure 2. Processus de diffusion des pesticides dans l'environnement (Atmo, 2017).

1.5. Principaux usages et rôle des pesticides

Le principal usage des pesticides est la protection des cultures, on parle alors de pesticide à usage agricole. Toutefois, ils sont aussi utilisés pour des usages non agricoles, afin de lutter contre des espèces végétales jugées envahissantes pour des raisons de sécurité (infrastructures de transport) ou d'aménagements paysagers (parcs et jardins) (Dugeny, 2010).

Leurs utilisations est une pratique nécessaire pour l'agriculteur afin de lui assurer un bon rendement agricole (qualitatif et quantitatif), permettant de garantir un revenu acceptable et de compenser les pertes de sol consécutives à leur dégradation (FAO, 1998).

L'autre aspect, est celui de l'entretien des espaces de loisirs tels que les jardins d'amateurs, les parcs et les terrains de sport. En effet, les pelouses, les arbustes et les arbres d'ornement peuvent nécessiter des traitements phytosanitaires pour conserver leur attrait et permettre leur fonction récréative (Calvet et *al.,* 2005).

Les pesticides sont aussi des moyens contribuant au confort des habitations. Les opérations de désinsectisation et de dératisation sont couramment pratiquées pour l'entretien des bâtiments, afin d'éliminer des rongeurs (souris, rats…) et d'insectes nuisibles (mouches, moustiques, termites et fourmis) vecteurs de maladies transmissibles (Calvet et *al.*, 2005).

1.6. Effets toxiques des pesticides

« Sûrs », « propres» et même « respectueux de la santé et de l'environnement », l'industrie phytosanitaire use de tous les arguments pour convaincre du bien-fondé de l'usage de ses pesticides. Cependant et face à ces discours, les faits dévastateurs de ces produits sont bien là : contamination des eaux, de l'air, des fruits et légumes, atteinte à la biodiversité et à la santé humaine, accidents industriels, etc.

Leurs utilisations croissantes depuis un demi-siècle, n'a pas cessé d'avoir des impacts délétères sur la santé de l'homme et de l'environnement.

1.6.1. Effets sur l'environnement

Dès qu'ils ont atteint le sol ou la plante, les pesticides peuvent être absorbés par les plantes ou des organismes du sol, les substances actives peuvent se volatiliser, ruisseler ou être lessivées, voire même rester dans le sol. Ainsi, l'ensemble des compartiments environnementaux peuvent être potentiellement touché et impacté par les pesticides, en plus des cibles contre lesquelles ils sont théoriquement dirigés.

Les effets toxiques indésirables pour les espèces non cibles des trois compartiments environnementaux sont liés et il est illusoire de vouloir les distinguer. En effet, une même

substance active pourra avoir des répercussions sur l'ensemble des espèces constitutives des différents compartiments de l'environnement.

a) Pollution des sols

La contamination des sols par les polluants est souvent raisonnée par rapport à une cible. Mais il est important de ne pas oublier que les sols sont en soi une ressource difficilement renouvelable et la présence des polluants pesticides peut affecter leur utilisation dans une perspective de développement durable.

La manifestation du caractère polluant des pesticides est étroitement liée à leur devenir dans le sol. Outre, la toxicité propre du polluant, qui dépend de sa concentration et de la nature de la cible considérée, sa rétention par le sol et sa persistance sont les deux facteurs fondamentaux conditionnant le caractère polluant et/ou sa manifestation. La rétention d'une molécule organique par le sol est le résultat global d'un ensemble de phénomène, impliquant des interactions avec les constituants organiques et minéraux des sols. De même, la persistance est la résultante d'un ensemble de processus de dissipation, physico- chimique et biologique, qui font diminuer la concentration du polluant et du milieu (Hateb et *al.*, 2012).

b) Pollution de l'air

Lors d'un traitement, une certaine proportion de la substance active épandue passe directement dans l'atmosphère. Ce passage est important lors d'applications effectuées par hélicoptère ou par avion, et reste plus limité lors d'applications terrestres classiques.

Des résidus de pesticides peuvent passer des cultures vers le compartiment aérien par des phénomènes d'évaporation et autres. La volatilisation est l'une des causes principales de fuites de pesticides hors de la zone cible, notamment quand les traitements visent la surface du sol ou celle des végétaux (Aprifel, 2004).

c) Pollution de l'eau

L'eau peut entraîner la dispersion des pesticides dans le milieu par lavage des feuilles, ruissellement et lixiviation. Le ruissellement contribue à la pollution des eaux de surface tandis que la lixiviation contribue surtout à celle des eaux profondes.

L'importance de la pollution des eaux souterraines après transfert par lixiviation des molécules de pesticides dans beaucoup de sols, dépend de certaines de ses propriétés ainsi que celles du sol (hydrosolubilité, vitesse de filtration, passage de racines, etc.)

1.6.2. Effets sur la biodiversité

Libérés dans l'environnement, les pesticides vont évidemment éliminer les organismes contre lesquels ils sont utilisés. Mais, la plupart de ces produits vont également toucher d'autres organismes que ceux visés au départ, tels que les vers, bactéries et autres champignons qui améliorent la fertilité des sols. Ils le sont également pour certaines espèces qui propagent la vie comme les insectes polinisateurs.

À moyen terme, leurs usages provoquent la résistance des espèces nuisibles et l'empoisonnement par bioaccumulation de toute la chaîne alimentaire.

En milieu aquatique, devenu de nos jours une réserve des pollutions qui s'accumulent, la présence de pesticides compromet le cycle de vie des organismes qui y vivent. Chez certains poissons, on observe le développement de tumeurs, la perturbation des systèmes hormonaux, ou encore l'inhibition plus ou moins complète des fonctions vitales comme la respiration, la croissance et la reproduction (Van der Werf, 1997).

Les conséquences directes et indirectes de ces perturbations sur la biodiversité et la dynamique des populations (notamment sur la flore et la faune terrestres et aquatiques) sont donc indéniables.

1.6.3. Effets sur la santé humaine

L'homme peut également être exposé aux pesticides, soit directement lors de l'utilisation, soit indirectement, par la présence de résidus dans les différents milieux (air, eau et sol) et dans l'alimentation (Dugeny, 2010).

L'exposition se produit, soit par inhalation, soit par contact cutané ou suite à l'ingestion d'aliments contaminés (Mari, 2018).

Les effets aigus d'une contamination, surviennent en cas d'empoisonnements accidentels ou volontaires faisant suite à une exposition à de fortes doses. Les signes de contamination témoignant la transmission de ces molécules sont bien connus, et présentent en générale des brûlures chimiques oculaires, des lésions cutanées, des manifestations digestives et respiratoires, des effets neurologiques voire des troubles hépatiques.

Les effets chroniques des pesticides en lien avec des expositions répétées et prolongées à de faibles quantités de pesticides sont eux moins bien connus, du fait du décalage entre l'exposition et la découverte d'une anomalie qui rend délicat l'établissement de la causalité (Errami, 2012). Cependant, plusieurs études de recherches ont permis d'établir une relation entre exposition professionnelle aux pesticides et certaines maladies chez l'adulte

telles que des problèmes de fertilité, de multiples cancers, des malformations prénatales ou encore des maladies neurologiques (maladie de Parkinson, autisme, etc.).

1.7. Marché international des pesticides

Le marché mondial des pesticides s'élève à 30 milliards de dollars annuels, dont près d'un tiers pour l'Europe et environ 25 % pour l'Amérique du Nord ainsi que pour l'Asie.

Les Etats-Unis sont le premier consommateur de pesticides, suivi de l'Inde et de Malte, premier consommateur européen devant Chypre et l'Italie (Figure 3). A l'hectare, le Japon utilise 12 kg, l'Europe, 3 kg, les Etats–Unis, 2,5 kg, loin devant l'Inde (0,5 kg/ha) qui est aussi un des premiers producteurs mondiaux. Chaque année, ces produits empoisonnent 03 millions de personnes et il y aurait, selon l'OMS entre 20.000 et 200.000 décès accidentels causés par les pesticides chaque année, majoritairement dans les pays en développement où environ 30% des pesticides commercialisés ne répondent pas aux normes de qualité internationales (Hateb, 2012).

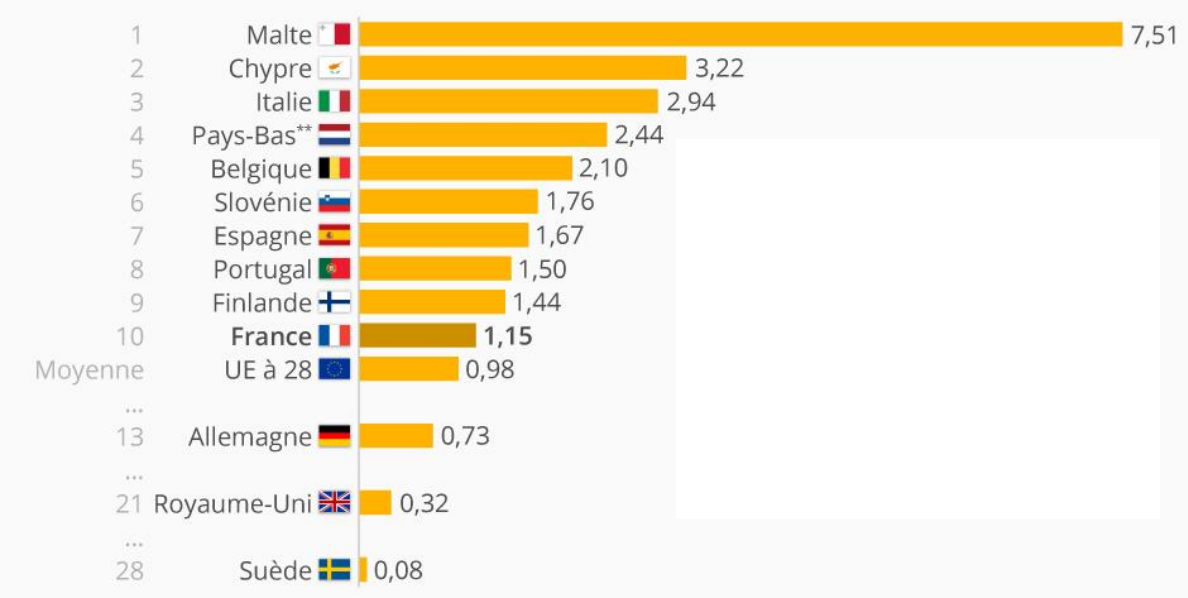


Figure 3. Les plus gros consommateurs de pesticides en Europe.
Pays de l'UE selon la consommation de pesticides en kilogrammes par hectare, en 2016 (Gaudiaut, 2018).

Chapitre 2

Le stress oxydant

2. Le stress oxydant

2.1. Définition

Le stress oxydatif, dénommé également stress oxydant, se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre de la balance de production d'espèces réactives oxygénées (ERO) et leur destruction par les systèmes de défense antioxydants (Almasiova et *al.*, 2012). Il est donc généré soit par une surproduction de ces espèces réactives oxydantes ou suite à une diminution des systèmes de défense antioxydants (Figure 4) (Nemmiche, 2017).

Ce déséquilibre a pour conséquence, l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule qui va se traduire par des dommages oxydatifs importants dans la structure et le métabolisme cellulaire de nombreuses cibles : protéines, lipides et acides nucléiques (Cadenas and Davis, 2000).

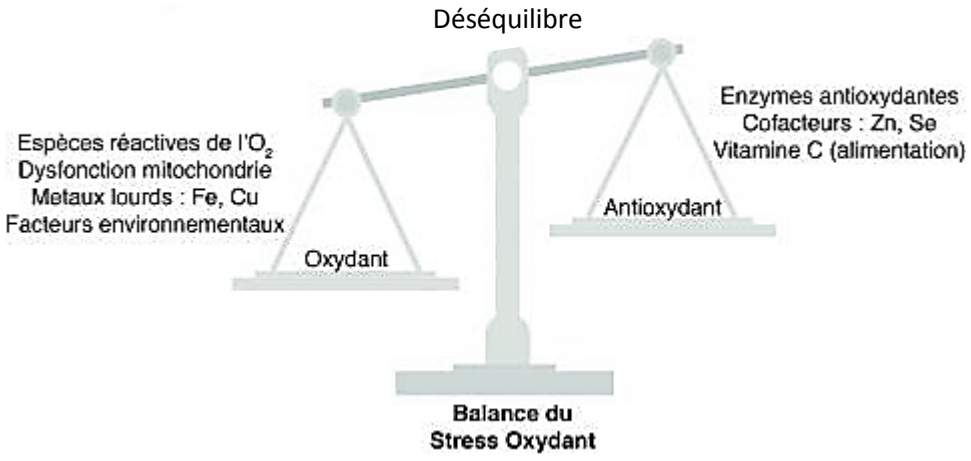


Figure 4. Déséquilibre de la balance du stress oxydant au niveau de la cellule (Thibault, 2017).

2.2. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

2.2.1. Définition

Les plantes utilisent l'oxygène, via le métabolisme aérobie, pour fournir l'énergie nécessaire à leur croissance et à leur développement. Cependant, tout dysfonctionnement du métabolisme de ce dernier (O_2) peut générer un excès d'espèces chimiques très réactives connues sous le nom de « espèces réactives de l'oxygène ».

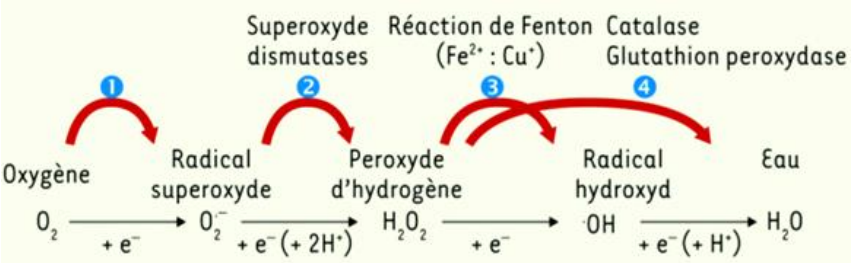
Par définition, les espèces réactives de l'oxygène sont des espèces chimiques possédant un électron célibataire non apparié sur leur couche périphérique, ce qui leur confère un fort degré de réactivité (Migdal and Serres, 2011).

Parmi ces espèces figurent les espèces radicalaires (comme : ·OH, O_2·-, RO_2·) et les produits non radicalaires (tel que l'H_2O_2 et le RO_2H) (Gardes-Albert et *al.*, 2003).

2.2.2. Origine et sites de production

Le dioxygène et la chaine respiratoire mitochondriale, constituent chez les animaux la source principale de production cellulaire des espèces réactives oxygénées. En effet, lors du métabolisme normal de l'oxygène, la réduction tétravalente de ce dernier en eau se fait en plusieurs étapes successives qui donnent naissance à des entités radicalaires et moléculaires beaucoup plus réactives que l'oxygène lui-même qui leur a donné naissance (Migdall and Serres, 2011).

Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées dans la figure 5.



Réduction tétravalente de l'oxygène		$O_2 + 4\,e^- + 4\,H^+ \rightarrow 2\,H_2O$
$O_2^{\cdot-}$	Anion superoxyde	1 $O_2 + 1\,e^- \rightarrow O_2^{\cdot-}$
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène	2 $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} (+ 2\,H^+) \rightarrow H_2O_2 + O_2$
·OH	Radical hydroxyle	3 $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow {\cdot}OH + Fe^{3+} + OH^-$ 4 $H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow 2\,H_2O + O_2$ 5 $H_2O_2 + 2\,GSH \rightarrow 2\,H_2O + GSSG$
$RO_2^{\cdot}$	Radical peroxyle	6 $R^{\cdot} + O_2 \rightarrow RO_2^{\cdot}$
RO_2H	Hydroperoxyde	7 $RO_2^{\cdot} + RH \rightarrow RO_2H + R^{\cdot}$
$RO^{\cdot}$	Radical alkoxyle	8 $RO_2H + Fe^{2+} \rightarrow RO^{\cdot} + Fe^{3+} + OH^-$

Figure 5. Origine des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Migdall and Serres, 2011).

En parallèle, chez les plantes, et dans la plupart des situations où les conditions environnementales sont modifiées, une forte augmentation de la proportion des ERO est observée au niveau des chloroplastes (Figure 6). En effet, de nombreuses situations de stress abiotiques entraînent une inhibition de la photosynthèse et les électrons qui ne participent plus à la fixation du CO_2 vont entrainer la production et l'accumulation de ces ERO (Parent et *al.*, 2008).

La NADPH oxydase de la membrane plasmique, qui transfère les électrons du NADPH cytoplasmique à l'oxygène, est également une autre source importante de radicaux superoxydes, qui forment par la suite de l'H_2O_2 (Bailly et *al.*, 2007).

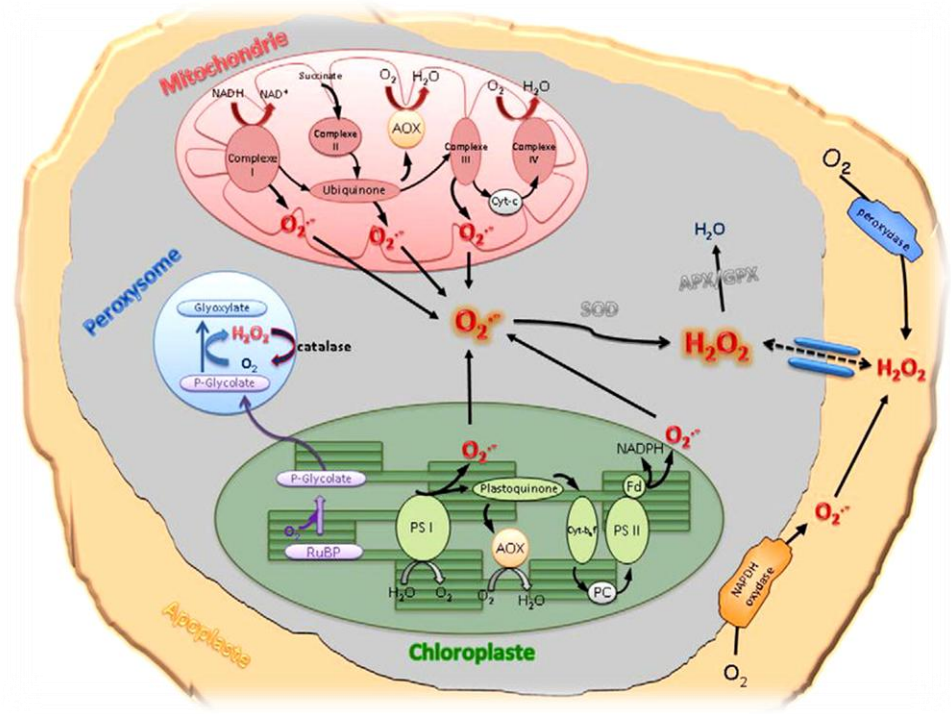


Figure 6. Sites de production intra-organites des formes réactives de l'oxygène dans la cellule végétale (Parent et *al.*, 2008).

Toutefois, l'origine de la production des ERO ne se limite pas au chloroplaste, à la NADPH oxydase et à la mitochondrie. La grande variété des types de stress nécessite la mobilisation de multiples mécanismes de production des ERO, parmi lesquels les amines oxydases ou les peroxydases jouent certainement un rôle important.

2.2.3. Principales actions des espèces réactives de l'oxygène

2.2.3.1. Actions bénéfiques

Les espèces réactives de l'oxygène, à condition que leur niveau d'accumulation soit finement régulé par un équilibre entre production et élimination, sont indispensables pour que l'organisme puisse assurer certaines fonctions physiologiques fondamentales. En effet, ils jouent un rôle important dans de nombreuses voies de signalisation cellulaire, en particulier durant le processus d'apoptose, de prolifération ou d'activation cellulaire. A doses physiologiques bien contrôlés, ils servent également à stimuler l'activité et la biogénèse mitochondriale.

Enfin les ERO régulent l'adaptation au stress oxydant soit par l'induction des gènes « antioxydants » ou par leur répression « pro-oxydant » (Puy, 2017).

2.2.3.2. Actions délétères

La réactivité particulière des ERO ajoute aux fonctions biologiques précitées, des propriétés toxiques importantes et diversifiées lorsqu'elles se trouvent en surproduction. Leurs effets deviennent délétères pour les cellules, les tissus et diverses fonctions biologiques. Les conséquences néfastes des ERO sont associées aux perturbations du statut Redox, à la modulation de la signalisation cellulaire et de l'expression des gènes, mais aussi à leur interaction avec les biomolécules de grande importance telles que l'ADN, les lipides, les protéines et les polysaccharides (Nemmiche, 2017).

2.2.3.2.1. Principales cibles biologiques des ERO

Les espèces réactives de l'oxygène s'attaquent à la plupart des molécules organiques et inorganiques présentes dans les cellules, parmi lesquelles l'ADN, les protéines, les lipides, les acide-aminés et les sucres. Ils agissent selon trois modes d'actions : en arrachant soit un électron, soit un atome d'hydrogène ou encore en s'additionnant sur les doubles liaisons. Ils induisent des atteintes oxydatives sur des composés cellulaires et extracellulaires en général proches de leur site de production (Zerargui, 2015).

a) L'acide désoxyribonucléique ou ADN

Les bases nucléiques sont susceptibles d'être oxydées, conduisant notamment à la formation de 8-oxo-guanine, à l'origine de mutations géniques. C'est sans doute ce qui explique la génotoxicité des radicaux libres (Morel and Barouki, 1998). Notons que l'ADN mitochondrial, du fait de sa proximité avec la chaîne respiratoire, site éminent de production

des ERO, et du fait de l'absence de chromatine organisée, est particulièrement exposé à l'oxydation (Barouki, 2006).

b) Les protéines

Tous les acides aminés sont des cibles potentielles pour les ERO. Néanmoins, les cibles majeures sont les acides aminés soufrés (cyctéine, méthionine), basiques (arginine, histidine, lysine) et aromatique (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) (Ronald, 2011).

Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes.

La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes. Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, anti-enzyme, récepteur...) et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome. Les protéines oxydées deviennent aussi très hydrophobes, soit par suppression de groupements amines ionisables, soit par extériorisation de zones hydrophobes centrales. Elles vont alors former des amas anormaux dans ou autour des cellules. Ces amas, associés aux lipides, forment les dépôts de lipofuschines caractéristiques des tissus des sujets âgés (Favier, 2003).

c) Les lipides membranaires

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxyle formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué (Esterbaue et *al.*, 1992).

Les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution : être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides et en alcanes (éthane, éthylène, pentane).

Le radical peroxyle, après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule, peut libérer différentes aldéhydes toxiques dont le malonaldialdéhyde ou l'hydroxynonenal. La transmission en chaîne de la réaction de peroxydation lipidique est stoppée par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes (Favier, 2003).

d) Les lipoprotéines

L'attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires. Les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de faible densité) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Nakajima et *al.,* 2005).

2.2.4. Mise en évidence des espèces réactives de l'oxygène

Il est nécessaire de pouvoir mettre en évidence une agression oxydante et mesurer la concentration des ERO qu'elle produit pour comprendre son rôle dans les diverses pathologies auxquelles elle est associée, et évaluer l'efficacité des traitements antioxydants à fournir.

De nombreuses techniques sont disponibles. Toutefois, la mise en évidence de ces espèces est confrontée à diverses difficultés, dont une des plus grandes est que les ERO ou ROS ont une demi-vie très courte (Tableau. 3); par conséquent, leur dosage direct est difficile.

Tableau 3. Demi-vie des principales ERO biologiques (Jacob 1995).

Espèce	**Nom commun**	**Demi-vie (37 °C)**
$HO^{\cdot}$	Radical hydroxyl	1 nanoseconde
$HO_2^{\cdot}$	Radical hydroperoxyl	Instable
$O_2^{\bullet -}$	Radical anion superoxyde	Enzymatique
$^1O_2$	L'oxygène singulet	1 microseconde
$RO^{\cdot}$	Radical alcoxyle	1 microseconde
$ROO^{\cdot}$	Radical peroxyl	7 secondes
$NO^{\cdot}$	Radical d'oxyde nitrique	1 à 10 secondes
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène	Stable
HOCl	Acide hypochloreux	Stable
R = lipide, par exemple : Linoléate		

Par contre, il est possible de mesurer des marqueurs spécifiques des ERO. Mais en milieu biologique, leur mesure peut être sujette à des artefacts dus à des espèces à réactivité semblable à celle des ERO, ou à des composés intermédiaires formés par l'échantillon analysé (Turrens, 2003). En plus, certains réactifs de révélation des ERO peuvent enclencher un «redox cycling» (Rota et *al.,* 1999). Ainsi, il serait utile de combiner plusieurs méthodes dont chacune mettrait à profit une source ou une propriété particulière de l'ERO étudiée (Turrens, 2003).

2.3. Les défenses cellulaires contre le stress oxydant

Afin de palier aux effets toxiques des espèces réactives de l'oxygène, les organismes disposent d'un arsenal de défenses antioxydants à la fois enzymatiques et non enzymatiques. Donc, on peut envisager sous le titre d'« antioxydants » au sens large, l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les ERO.

2.3.1. Les antioxydants enzymatiques

✓ **Les superoxydes dismutases (SOD)**

Les superoxydes dismutases sont capables d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, formant avec deux superoxydes une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène. Les superoxydes dismutases existent sous plusieurs isoformes dont la structure d'ensemble est très bien conservée, formant un puits hydrophobe au centre de la protéine dans lequel se glisse l'anion superoxyde. Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au cœur de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer les superoxydes dismutases à manganèse (MnSOD) protégeant la mitochondrie, des superoxydes dismutases à cuivre-zinc protégeant le cytosol (cCu-ZnSOD), la face externe de la membrane des cellules endothéliales (ecCu-ZnSOD) ou le plasma sanguin (pCu-ZnSOD) (Favier, 2003).

✓ **Les glutathion peroxydases (GPx)**

La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2. Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion-disulfure (GSSG) (Cardin, 2008).

Le maintien de l'activité de la GPx nécessite la régénération du glutathion (GSH) assurée par la glutathion réductase selon la réaction : (Démrarchez, 2012).

$$2GSSG + 2NADPH + H^{+} \xrightarrow[\text{réductase}]{\text{Glutathion}} 2GSH + NADP^{+}$$

✓ **La glutathion réductase (GR)**

La glutathion réductase, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons. En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de le réduire constamment pour que la GPx maintienne sa fonction (Cardin, 2008).

✓ **La catalase (CAT)**

Enzyme intracellulaire, localisée principalement dans les peroxysomes, la catalase est aussi responsable de l'élimination de l'H_2O_2 par une transformation en H_2O et O_2. Contrairement à la GPx, l'affinité de la catalase pour l'H_2O_2 est élevée seulement lorsque les teneurs en peroxyde d'hydrogène sont accrues (Zerargui, 2015).

2.3.2. Les antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart des antioxydants non enzymatiques ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie, nous retrouvons :

2.3.2.1. Antioxydants non-enzymatiques d'origine endogène

Ils existent de nombreux réducteurs endogènes participant à la protection de l'organisme contre les ERO, les plus importants étant le Glutathion, la bilirubine, l'acide urique, le coenzyme Q et l'acide lipoique.

✓ **Le Glutathion (GSH)**

Au cœur des défenses antioxydantes, le glutathion est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants (Belkheiri, 2010). C'est un tripeptide composé de trois acides aminés : l'acide L-Glutamique, la L-Cystéine et la L-Glycine (Démrarchez, 2012).

Le glutathion constitue un cofacteur pour la GPx et permet de régénérer les vitamines C et E dans leur forme active (Masella et *al.*, 2005). C'est aussi un chélateur des ions cuivreux, limitant ainsi les réactions de type Fenton.

En tant qu'antioxydant, le glutathion peut intervenir par deux types de mécanismes : la capture d'espèces radicalaires et la participation à l'activité d'enzymes antioxydants (Ronald, 2011).

✓ **L'acide urique**

L'acide urique est un produit issu au cours de la dégradation des composés puriques. Chez la plupart des mammifères excepté l'homme, il est dégradé par l'urate oxydase. Il possède une fonction antioxydante en inhibant l'oxydation de l'acide ascorbique catalysée par le fer.

En effet, il capture le fer et inactive les espèces réactives de l'oxygène telles que l'acide hypochloreux, le radical hydroxyl et le dioxyde d'azote (Tissier, 2011).

✓ **La Bilirubine**

La bilirubine est un pigment biliaire endogène non hydrosoluble. Il s'agit d'un produit de dégradation de l'hème obtenu au cours d'une réaction catalysée par l'hème oxygénase (Dunlap et *al.*, 2006).

Concernant sa fonction antioxydante, *in vitro*, la bilirubine peut dégrader les radicaux alkoxyl (RO•) et peroxyl (RO2•) et l'oxygène singulet. La bilirubine est oxydée par certaines espèces réactives de l'oxygène en biliverdine, pouvant alors être recyclée par la biliverdine réductase. Le rôle antioxydant de la bilirubine a été démontré, initialement, par des expériences réalisées sur des cultures cellulaires (Halliwell and Gutteridge, 2007).

2.3.2.2. Antioxydants non-enzymatiques d'origine nutritionnelle

✓ **La vitamine E**

La vitamine E ou α-tocophérol est le principal antioxydant de la famille des tocophérols. Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par les radicaux libres.

✓ **La vitamine C**

La vitamine C est, avant tout, un excellent piégeur des ERO ($HO^{\bullet}$ ou $O_2^{\bullet -}$). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer (Haleng et *al.*, 2007).

✓ **Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments végétaux, présents en abondance dans les légumes verts et orangés, les fruits fortement pigmentés et certaines espèces de poissons. Ils jouent le rôle d'antioxydants en inhibant les radicaux hydroxyl, les anions peroxyde et le peroxyde d'hydrogène.

La fonction antioxydante des caroténoïdes est réalisée en sacrifiant aux radicaux libres leurs multiples doubles liaisons fortement réactives par transfert d'hydrogène, stabilisant de cette manière les produits réactifs. La β-carotène et la lycopène sont des exemples de caroténoïdes (Tissier, 2011).

✓ **Les polyphénols**

Les polyphénols ont de nombreux rôles antioxydants ; ils inhibent la peroxydation lipidique et détruisent certaines espèces réactives telles que OH• et NO_2•. Certains peuvent réagir avec l'ion superoxyde.

Les phénols possédant deux groupes –OH adjacents ou d'autres structures chélatantes se comportent en chélateurs de métaux ionisés (Halliwell and Gutteridge, 2007). Ils sont capables de participer à la réparation des dégâts oxydatifs survenant sur l'ADN et les protéines (Dunlap et *al.,* 2006). Les polyphénols interrompent la propagation des réactions radicalaires et préviennent l'initiation de ces réactions par inhibition d'enzymes activatrices de l'oxygène (Tissier, 2011).

2.3.2.3. Les cofacteurs minéraux

✓ **Le sélénium**

Le sélénium n'est pas un antioxydant en tant que tel, car il ne peut piéger les radicaux libres, mais il joue un rôle primordial comme cofacteur de la GPx. Dans l'alimentation, on retrouvera essentiellement du sélénium organique, lié à un acide aminé, la cystéine.

Le sélénium organique est mieux absorbé, il subit une métabolisation hépatique qui conduit à des intermédiaires nécessaires à la synthèse de dérivés physiologiquement actifs comme la GPx.

✓ **Le cuivre**

A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD, la cytochrome C oxydase et la dopamine β-hydroxylase. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production d'ERO (réactions de Fenton) et peut – lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant (Haleng et *al.*, 2007).

✓ **Le zinc**

Le zinc joue un rôle de cofacteur pour de nombreux enzymes et intervient ainsi dans de nombreuses fonctions comme le métabolisme des nucléotides et le fonctionnement de l'anhydrase carbonique.

Comme le cuivre, le zinc est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il protège les groupements thiols des protéines et il peut inhiber les réactions de formation des ERO induites par des métaux de transition comme le fer ou le cuivre. Le rapport Cu / Zn, (normalement inférieur à 1,5) sera un excellent indicateur de l'état de stress oxydant d'un individu (Haleng et *al.*, 2007).

Partie Expérimentale

Matériel et Méthodes

1. Objectif de l'étude

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de l'effet des résidus de pesticides chez les plantes hautement cultivée et du devenir de leur accumulation.

C'est un projet qui a été réalisée au niveau de la ferme de l'université de Mostaganem (atelier de l'ex ITA, Mazagran), où la culture de pomme de terre de la variété Sylvana a été réalisée.

Les différentes analyses biochimiques en rapport avec l'objectif de cette étude ont été effectuées au niveau du laboratoire de biochimie et de microbiologie de l'université de Mostaganem.

2. Matériel végétal

L'espèce végétal que nous avons utilisé dans cette étude est : *Solanum tuberosum*, plus communément appelé pomme de terre de type « Sylvana ». Variété originaire des Andes, elle est issue d'un croisement de deux autres variétés de pomme de terre, « Fabula » et « Xantia ».

2.1. Description de l'espèce

La pomme de terre *Solanum tuberosum*, cultivée pour ses tubercules comestibles, est une plante herbacée de 0.4 à 1.4m de hauteur (selon les variétés). A port dressé ou entièrement prostré avec l'âge, elle est considérée comme un légume tige (et pas un légume racine), du fait que les tubercules issues de la plante, sont le résultat d'une modification des tiges souterraines (Spooner and Knapp, 2013).

De forme sphérique à ovoïde, la chair des tubercules varie de blanche à jaune. La peau qui peut être lisse, réticulée ou rugueuse peut aussi prendre plusieurs couleurs, blanche, jaune, havane ou rouge (la couleur de la chair peut correspondre ou non à celle de la peau) (Spooner and Salas 2006). La figure 7 présente les tiges aérienne (fleurs et feuillage) et souterraines de la pomme de terre *Solanum tuberosum*.

Solanum tuberosum, variété mature

Partie aérienne de *Solanum tuberosum* (feuilles et fleurs)

Figure 7. *Solanum tuberosum*

2.2. Classification

Règne : Plantae
Sous règne : Tracheobionta
Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Sous classe : Asteridae
Ordre : Solanales
Famille : Solanaceae
Sous famille : Solanoideae
Genre : Solanum
Espèce : *Solanum tuberosum* (APG II, 2003)

2.3. Origine de la matière végétale

A partir d'un champ cultivé de pomme de terre de type Sylvana, des prélèvements de feuilles ont été effectués à partir de différentes parcelles (parcelle bio, parcelle agronomique et parcelle double dose).

Les différents échantillons de feuilles ont été prélevés sur les trois parties aériennes de la plante (partie supérieure, partie inférieure et celle du milieu). Les trois échantillons prélevés ont été stockés dans des sacs en plastique, et misent au congélateur pour des utilisations ultérieures.

Trois types de produits phytosanitaires (un herbicide, un acaricide et un fongicide) ont été appliqués sur la culture de pomme de terre. Les doses respectives de ces produits sur les plantes cultivées sont décrites dans le tableau 4.

Tableau 4. Doses des produits phytosanitaires appliquées sur la culture de pomme de terre.

Produits /doses	**Dose d'utilisation Agronomique**
Metrixone (herbicide)	450-650 g/Ha
Medamec (acaricide)	50 ml/Ha
Equation pro (fongicide contre le mildiou)	400 g/Ha
Medamec (acaricide)	50 ml/Ha

3. Analyses biochimiques

- **Préparation de l'extrait des feuilles de pomme de terre**

Une quantité de 400 mg de feuilles de pomme de terre fraiches est broyée dans 40 ml d'éthanol à 60%.

Après filtration du mélange à l'aide d'un papier filtre, l'extrait est récupéré, puis conservé au frigo à 4°C pour des analyses ultérieures.

3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux sont quantifiés par spectrophotométrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, une solution de couleur jaune constituée d'un mélange de deux acides : acide phosphotungstique et acide phosphomolybdique. Ce réactif est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène.

La coloration bleue produite, dont l'absorption maximale est au voisinage de 765 nm, est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits de pomme de terre.

La quantification des polyphénols est effectuée à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire, réalisée dans les mêmes conditions que l'échantillon en utilisant l'acide gallique comme standard.

- **Mode opératoire**

20µl de l'extrait aqueux de feuilles de pomme de terre (préparé en utilisant 1,58 ml d'eau distillée stérile) sont mélanger avec 100µl du réactif de Folin-ciocalteu. Après 5 à 8 minutes, un volume de 300µl d'une solution de carbonates de sodium (Na_2CO_3) (30mg/ml) est additionné au milieu réactionnel.

Après 2 heures d'incubation à température ambiante, l'absorbance des échantillons (de couleur bleue) est mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV Visible (Singleton et *al.*, 1999).

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et elle est exprimée en milligramme (ou en µg) équivalent d'acide gallique par gramme (ou milligramme) du poids frais des feuilles de pomme de terre (mg EAG/g d'extrait ou µg EAG/mg d'extrait).

3.2. Dosage des tannins

Les tannins sont des métabolites secondaires importants dans le règne végétal. Ils s'intègrent dans la défense des végétaux contre les herbivores, en particulier pour les plantes se développant dans des zones difficiles.

Comme les polyphénols, ils ont la particularité de complexer les protéines par des liaisons faibles ce qui leur confère un rôle défavorable sur la digestibilité des aliments, en provoquant une mauvaise assimilation des protéines (Zimmer, 1996).

Pour le dosage des tannins, nous avons adopté la méthode à la vanilline en milieu acidifié, décrite par Julkunen (1985). Elle dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tannins condensés et la formation de complexes rouges qui s'explique par la propriété des tannins à se transformer en anthocyanidols (de couleur rouge) par réaction avec la vanilline.

- **Mode opératoire**

Un volume de 200µl de chaque extrait a été ajouté à 1500µl de la solution de vanilline/éthanol à 4% puis mélangé vigoureusement. Ensuite un volume de 750µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCL) a été additionné. Le mélange obtenue est laissé réagir à température ambiante pendant 15 min à l'obscurité. L'absorbance est mesuré à 500 nm contre un blanc.

Différentes concentrations de catéchine en solution (comprise entre 100 et 300µg/ml) préparées à partir d'une solution mère, permettront de tracer la courbe d'étalonnage qui déterminera par la suite la quantité des tannins condensés. Elle sera exprimée en mg équivalent de catéchine par gramme de matière fraiche (mg EC/g MF) (Rachedi et *al.*, 2018).

3.3. Dosage des flavonoïdes

Connus pour leur action antioxydante, les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques présents dans de nombreux végétaux, fruits et légumes. Constitués de plus de 6000 variétés, elles sont responsables de la couleur variée des différents organes végétaux (feuilles, fleurs, fruits, tiges et pollen) (Ghedira, 2005).

Leur quantification est effectuée par la méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (Saffidine, 2015), basée sur la formation d'un complexe très stable, entre ce dernier et les atomes d'oxygène présent sur les carbones N° 4 et 5 des flavonoïdes (Rachedi et *al.*, 2018).

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par Zhishen et *al*. (1999), Kim et *al*. (2003) avec quelques modifications.

- **Mode opératoire**

Dans un tube à hémolyse, un mélange de 500µl d'extrait éthanoïque de feuilles fraiches de *Solanum tuberosum* et 2ml d'eau distillée ont été ajoutés à 150µl de nitrates de sodium ($NaNO_2$ 5%). Après incubation de 5 minutes à température ambiante, 150µl de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$ à 10 %) on été additionnés et mélangé vigoureusement. Après 6 minutes d'incubation, un autre volume de 2ml de NaOH à 4% a été ajouté au milieu. Le volume total de la solution est complété jusqu'à 5ml par l'eau distillée, et laissée incuber pendant 15 minutes après une dernière agitation.

L'absorbance de la solution est lue à 510 nm et l'estimation de la concentration en flavonoïde est faite en se référant à une courbe d'étalonnage préparée avec la quercétine.

La teneur en flavonoïde est exprimée en mg équivalent de quercétine par gramme de matière fraiche (mg EQ/g MF).

3.4. Dosage des chlorophylles

La chlorophylle est le principal pigment assimilateur des végétaux photosynthétiques. Situé dans les chloroplastes des cellules végétales, elle intervient dans la photosynthèse pour intercepter l'énergie lumineuse, première étape dans la conversion de cette énergie en énergie chimique.

Les deux principales formes de la chlorophylle sont : la chlorophylle a et la chlorophylle b qui ne se diffèrent entre elles que par quelques détails de structure.

Ce pigment est dosé dans l'acétone après une étape d'extraction / filtration (Lichtenthaler, 2001).

- **Mode opératoire**

500mg de feuilles de pomme de terre sont broyées avec quelques milligrammes de bicarbonates de potassium ($KHCO_3$) dans de l'acétone à 80% et ce dans un mortier-pilon. Après filtration, le volume obtenu est ajuster avec de l'acétone à 80% jusqu'à un volume total de 25ml. L'extraction sur le résidu (culot) est répétée plusieurs fois jusqu'à ce que la matière végétale disparaisse.

La lecture de la solution de chlorophylle extraite est lue à deux longueurs d'ondes (645nm pour la chlorophylle a et 663nm pour la chlorophylle b) contre une solution témoin (acétone à 80%).

La détermination des teneurs en chlorophylles a et b est réalisé selon les formules suivantes (Abraham et *al.*, 2010) :

Chlorophylle a (mg/l) = (12.7 x DO_{663}) – (2.63 x DO_{645})

Chlorophylle b (mg/l) = (22.9 x DO_{645}) – (4.68 x DO_{663})

Chlorophylle totale (mg/l) = (20.2 x DO_{645}) + (8.02 x DO_{663})

3.5. Dosage des protéines

De nombreuses méthodes ont été mises au point pour doser les protéines. Ce sont généralement des méthodes spectrophotométriques basées sur diverses caractéristiques spectrales ou réactionnelles des acides aminés constituant les protéines.

Le choix de la méthode de dosage dépend des besoins et des caractéristiques recherchées : fiabilité, sensibilité, rapidité, taille des échantillons, possibilité de récupérer l'échantillon après dosage, présence de substances interférentes dans l'échantillon, etc. (Stevens, 1992).

Ici, la méthode choisie pour le dosage des protéines est celle de Bradford et *al* (1976), basée sur l'adsorption du colorant bleu de Coomassie G250. En milieu méthanoïque acide, ce colorant s'adsorbe sur les protéines et cette complexation provoque un transfert de son pic d'adsorption qui passe du rouge au bleu. Cette adsorption se fait principalement par des liens ioniques avec des acides aminés basiques (Arg, His, et Lys) et des interactions hydrophobes (acides aminés hydrophobes).

- **Mode opératoire**

Un volume de 100 µl de chaque type d'extrait aqueux de feuilles de pomme de terre, sont ajoutés à 3ml de réactif de coomassie. Le mélange est homogénéisé pendant 30 secondes et laissé réagir à une température ambiante pendant 10 min à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 595nm contre un blanc (éthanol 60%).

Une gamme d'étalonnage est réalisée avec des concentrations croissantes (de 0,5 à 10mg/ml) de BSA (sérum bovine albumine) comme protéine de référence. Elle est exprimée en milligramme (mg) équivalent de BSA par milligramme (mg) du poids frais de la feuille de pomme de terre (mg EBSA/mg d'extrait) (Talbi et *al.*, 2014).

4. Analyse statistique

Les résultats relatifs aux paramètres biochimiques étudiés ont été subis une analyse de variance (méthode ANOVA). La comparaison des moyennes est réalise par le test Tukey pour détecter des différences significatives entre les traitements (valeurs à $p < 0,05$). Les mesures ont été effectuées en triplicata.

Résultats et Discussion

1. Résultats et discussion

1.1. Dosage des polyphénols totaux

Les résultats de la teneur en composés phénoliques des trois échantillons de feuilles de pomme de terre prélevés des différentes parcelles (bio sans traitement, traitée par une dose agronomique et parcelle traitée par double dose de pesticide) présentés dans la figure 7, montrent que le traitement pesticide à double dose à un effet hautement significatif sur l'augmentation des polyphénols synthétisés par les feuilles de pomme de terre.

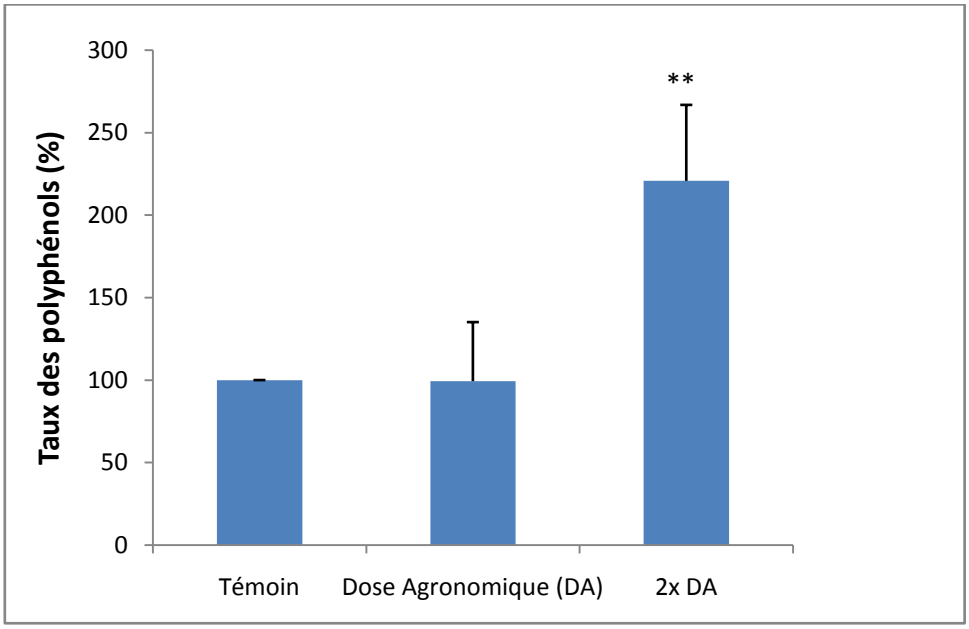


Figure 8. Effet des pesticides sur la teneur en polyphénols des extraits de feuilles de pomme de terre.

L'augmentation de la concentration des polyphénols dans les feuilles de pomme de terre en fonction de la concentration des pesticides est en concordance avec les résultats apportés par (Zarzecka et *al.*, 2019), qui ont montré l'influence des herbicides et les biostimulants sur l'augmentation de la concentration des feuilles et des tubercules de pomme de terre en polyphénols par rapport aux feuilles et tubercules témoins.

La variabilité de la teneur en polyphénols est aussi dépendante de plusieurs facteurs, à savoir : la variété cultivée (cultivar), le degré de maturation (Boudhrioua et *al.*, 2008), les conditions climatiques et géographiques (Mylonaki et *al.*, 2008), l'état physiologique et l'âge de la plante (Deleonardis et *al.*, 2008).

1.2. Dosage des tannins

Les tannins en tant que composés secondaires, remplissent plusieurs fonctions endogènes et exogènes chez les plantes supérieures (croissance et développement des plantes, interactions intra-spécifiques et inter-spécifiques…). Leur présence suggère la capacité de la plante à jouer un rôle majeur en tant qu'agent antimicrobien et antioxydant.

Les résultats de dosage des tannins (Figure 9) sur des extraits de feuilles de pomme de terre non traitées et traitées avec des pesticides montrent que le traitement affecte considérablement la teneur des feuilles en ce dernier. En effet, des quantités de tannins relativement plus faibles ont été détectées dans des échantillons traités aux pesticides (parcelles traitées par dose agronomique et à double dose) par rapport à l'échantillon témoin (non traité).

Une diminution significative de la concentration en tannins de l'ordre de 30 % a été enregistrée dans l'échantillon traité avec une concentration double dose par rapport à l'échantillon traité par une dose agronomique.

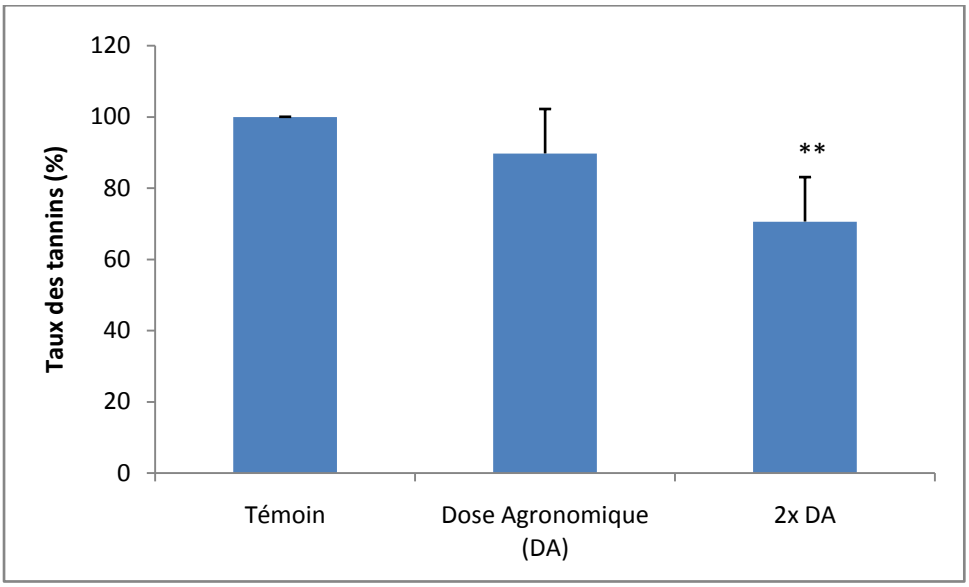


Figure 9. Effet des pesticides sur la teneur des tannins des extraits de feuilles de pomme de terre.

Les résultats trouvés confirment ceux obtenus par Lydon and Duke (1988). Ces derniers ont pu démontrer l'incidence de plusieurs herbicides sur la réduction de la synthèse des composés secondaires par des mécanismes non spécifiques.

Ces données, ainsi que d'autres, suggèrent que les effets sub-létaux des pesticides sur les plantes cibles et non cibles peuvent affecter de manière significative les écosystèmes

agricoles en modifiant la synthèse de composés importants pour les interconnexions intra et interspécifiques (Lydon and Duke, 1988).

1.3. Dosage des flavonoïdes

L'analyse des résultats du dosage des flavonoïdes contenus dans les feuilles de pomme de terre révèle son accroissement avec la quantité des pesticides utilisés (Figure 10). Les concentrations détectées varient proportionnellement avec la concentration des pesticides.

En effet, une concentration de flavonoïdes équivalente à 0.220 mg/l a été détectée dans les feuilles de pomme de terre cultivée dans un sol exempté de pesticides comparé à des sols traités par des concentrations agronomiques et des concentrations double dose, où la teneur enregistrée est de l'ordre de 0.397mg/l et 0.573mg/l respectivement.

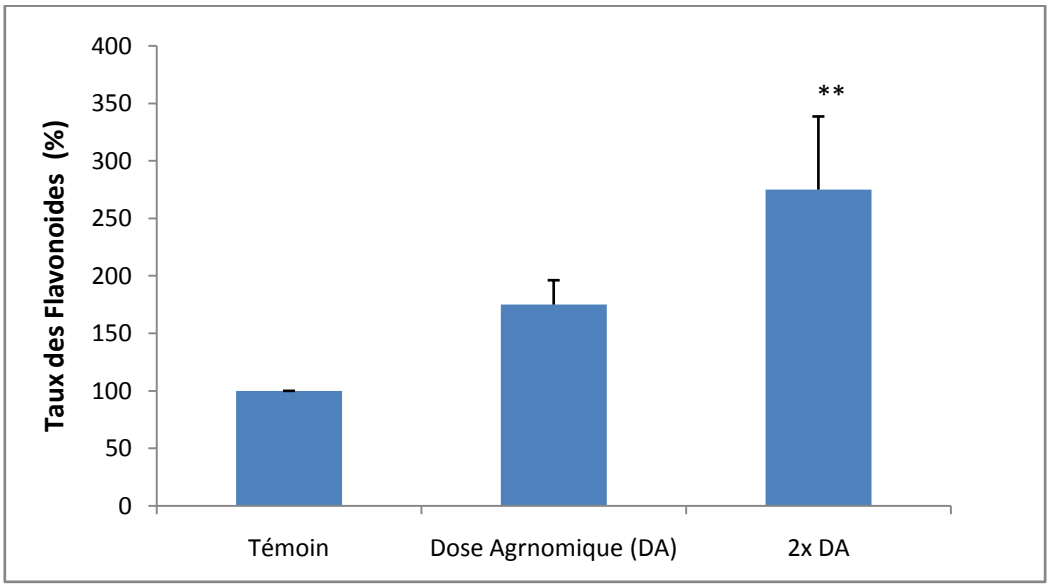


Figure 10. Effet des pesticides sur la teneur des extraits de feuilles de pomme de terre en flavonoïdes.

Les résultats du dosage des flavonoïdes corroborent avec ceux trouvés par Daniel et *al* (1999). D'après leurs travaux de recherche, l'augmentation de la synthèse des flavonoïdes peut être induite par des stimuli externes tels que les rayons UV et les infections microbiennes.

En réponse à un traitement pesticide, les chercheurs ont constaté un effet plus prononcé sur la synthèse des flavonoïdes que les infections microbiennes (Daniel et *al.*, 1999).

1.4. Dosage des chlorophylles

Les figures 11, 12 et 13, présentent les variations du taux des chlorophylles (a, b et total) pour les différents lots expérimentaux procurés à partir des différentes parcelles bio, agronomique et double dose.

Les extraits de feuilles de *Solanum tuberosum* montrent une diminution des teneurs des chlorophylles pour tous les lots par rapport au groupe témoin.

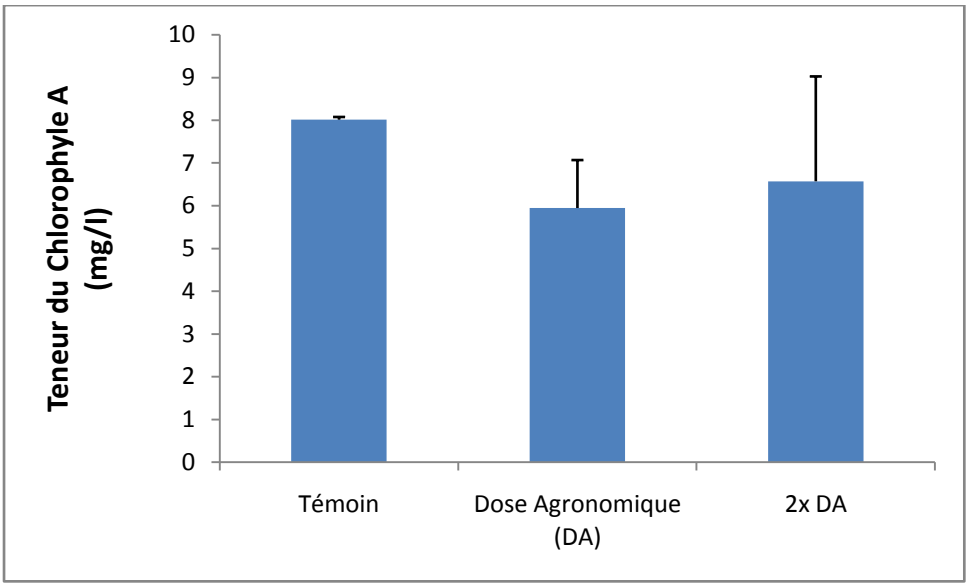


Figure 11. Variation de la teneur en chlorophylle a dans les extraits de feuilles de pomme de terre.

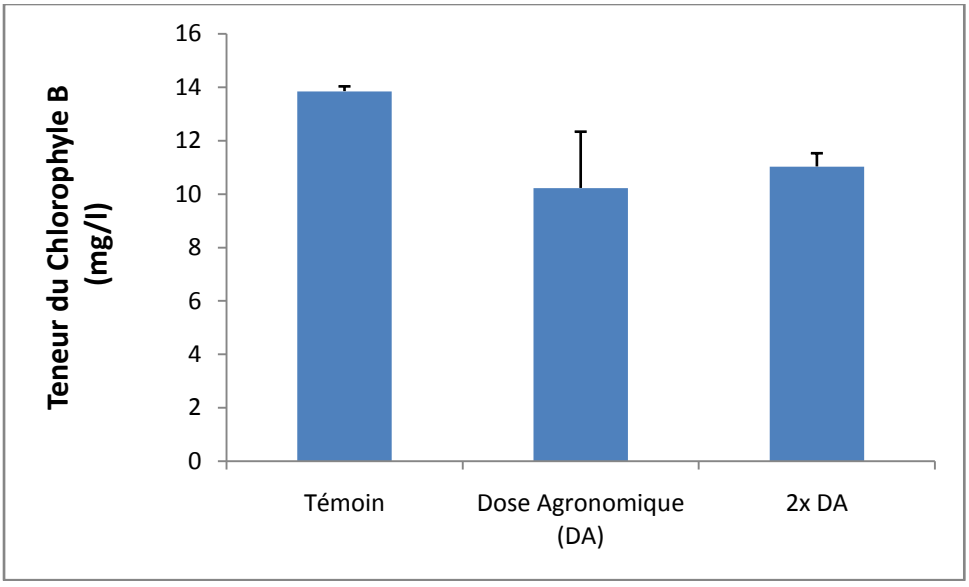


Figure 12. Variation de la teneur en chlorophylle b dans les extraits de feuilles de pomme de terre.

Les résultats de dosage de la chlorophylle totale (a + b) qui suivent la même tendance de diminution après exposition aux pesticides et qui sont toujours en retrait par rapport au témoin, ont dévoilés une dégradation plus prononcé du pigment (faible production de chlorophylle) à une concentration double dose par rapport au lot agronomique (Figure. 13).

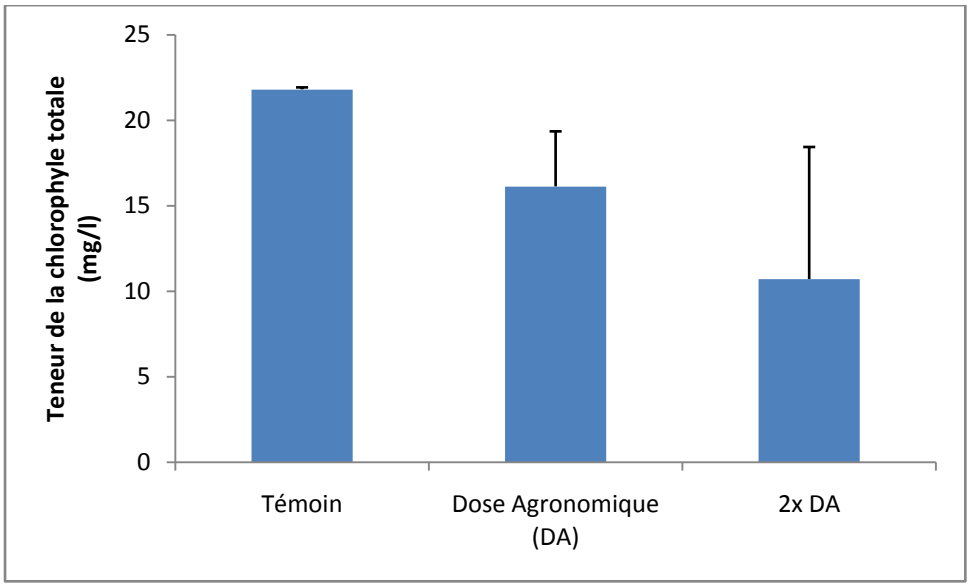


Figure 13. Variation de la teneur en chlorophylle totale dans les extraits de feuilles de pomme de terre.

De ces résultats de mesure de la teneur en chlorophylles (a, b et total) des différents extraits de feuilles de pomme de terre non traités et traités par des pesticides, on pourrait dire que les différents traitements subis par la plante ont réduit, voir perturbé son contenu en ce pigment.

Cette réduction qui peut être due à plusieurs mécanismes est associée soit, à l'inhibition de la photosynthèse par blocage de la chaine de transport des électrons ou à la dégradation de l'enveloppe thylakoidienne des chloroplastes (Parween et *al.*, 2016).

Plusieurs études réalisées dans ce sens, ont pu mettre en évidence l'effet des pesticides (fongicides, herbicides ….) à des doses variées sur la biosynthèse de la chlorophylle. Les résultats observés étaient soit des perturbations dans sa production à des doses plus faibles ou un arrêt total de sa biosynthèse pour des doses plus élevées (Berard and Pelte, 1999).

1.5. Dosage des protéines

La figure 14 illustre l'évolution de la quantité totale des protéines après l'application de différentes concentrations de pesticides sur la plante *Solanum tuberosum*.

Il a été observé à travers les résultats obtenus, une nette augmentation du taux de protéines après application du pesticide (dose agronomique) par rapport aux groupes : témoin et double dose respectivement. L'augmentation de la dose de pesticides entraîne par contre une nette diminution de la teneur en protéine.

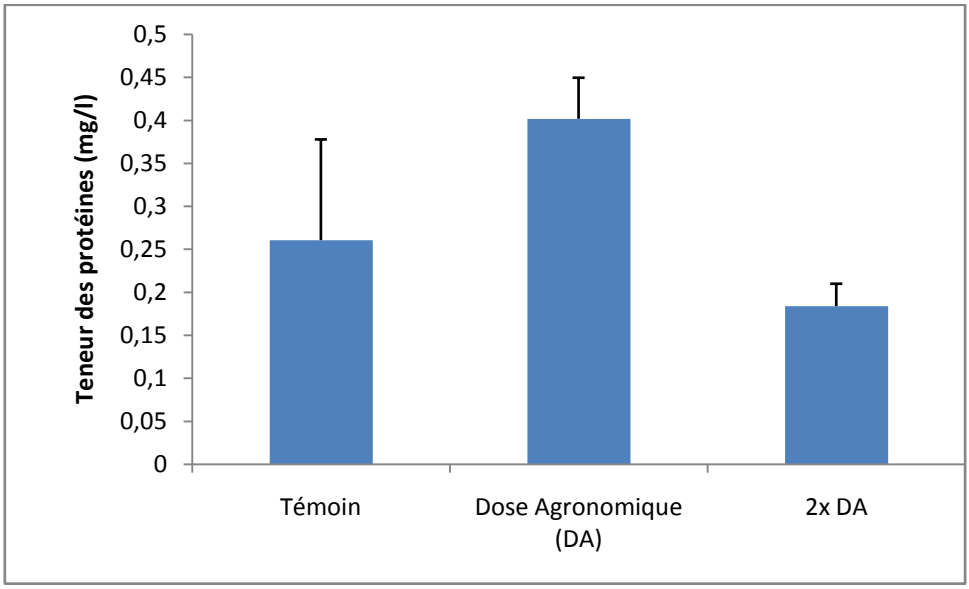


Figure14. Effet des pesticides sur la teneur des extraits de feuilles de pomme de terre en protéines.

En comparaison avec les résultats d'autres travaux de recherche, il a été démontré que les doses croissantes de pesticides entrainent une diminution de la quantité de protéines dus à leur dégradation, mais également une augmentation des activités enzymatiques comme moyens de défense lorsque les pesticides sont utilisés de manière excessive et de manière non recommandée (Gök and Cüneyt, 2016).

Conclusion

Conclusion

La pomme de terre est l'un des produits agricoles les plus consommés dans le monde. La forte hausse de sa production suite à la haute demande du consommateur à entraîner un besoin croissant de protéger ses cultures à travers des applications plus importantes de pesticides sans se soucier des risques potentiels pour la santé du consommateur.

C'est dans le contexte de cette problématique que nous nous sommes projeté dans cette étude à essayer d'évaluer ce risque à travers les quelques tests biochimiques effectuées dans ce sens sur des échantillons de feuilles de pommes de terre d'une variété connue, traités et non traités par des pesticides.

L'objectif de ce travail a été en grande partie atteint à travers les résultats obtenus, bien que certains autres paramètres prévus dans cette étude n'aient pas pu être réalisées.

En effet, les résultats des différents paramètres biochimiques étudiés ont révélé :

- Une proportionnalité entre la teneur des feuilles de pommes de terre en polyphénols et la concentration des pesticides utilisés. Le même résultat a été constaté lors du dosage des flavonoïdes (la richesse des feuilles en flavonoïdes et en rapport avec l'augmentation de la dose des pesticides) ;
- Une diminution de la concentration des feuilles en tannins et en pigments chlorophylliens avec l'augmentation de la concentration des pesticides ;
- Et qu'à des doses élevées de ces produits chimiques, les protéines subissent eux aussi une diminution dues à leur dégradation.

Toutes ces variations de teneurs qui corroborent avec les résultats de plusieurs travaux de recherches, concluent l'impact perturbateur (néfaste et réel) de ces produits dans l'aliment lui-même ou chez le consommateur également exposé à ces produits. De là, il apparaît clairement qu'il est devenu nécessaire de surveiller l'application des pesticides dans les champs de culture afin de balayer tout risque de contamination qui peut nuire à la santé humaine.

Pour les visions futures, ce travail doit certes être complété et poursuivi par d'autres études visant d'autres paramètres en relations avec la présence de ces résidus sur nos terres, mais le plus recommandable et le plus important dans tout ca c'est que des enquêtes et des études plus détaillées soient élaborées avec l'aide d'experts d'organisations et de recherche, afin de constituer une base de données pouvant être utile dans leur application au niveau de nos champs de cultures.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- ✓ **AFSSET., 2010 :** Exposition de la Population Générale aux Résidus de Pesticides en France. Synthèse des données d'utilisation, de contamination des milieux et d'imprégnation de la population. Plan d'action ORP 2006-2008, 354 p.

- ✓ **ALI-RACHEDI F. MERAGHNI S. NOURHENE T. SABRINA M., 2018 :** Analyse Quantitative des Composés Phénolique d'une Endémique Algérienne *Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima* L, Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 87, articles, p. 13 -21.

- ✓ **ALI-RACHEDI F. MERAGHNI S. TOUAIBIA N. MESBAH S., 2018 :** Analyse Quantitative des Composés Phénoliques d'une Endémique Algérienne *Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima L.*», *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* [En ligne], Volume 87, Articles, 13–21.

- ✓ **ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP., 2003 :** An Update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the Orders and Families of Flowering Plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399-436.

- ✓ **ATKIN M. GASPER A. ULLEGADDI R., 2005 :** Oxidative susceptibility of unfractioned serum or plasma : response to antioxidants *in vitro* and to antioxidants supplementation. *Clin Chem,* 51, 2138-2144.

- ✓ **ATMO AUVERGNE-RHONE-ALPES., 2017 :** Pesticides dans l'air, Bibliographie sur la modélisation, Rapport, p. 10.

- ✓ **AZZOUZ Z., 2012 :** Etude des Effets Toxiques d'un Fongicide (Amistar Xtra) et d'un Herbicide (Glyphosate) sur la Biologie et le Comportement de *Paramecium tetraurelia.* Thèse de Doctorat en Biologie Animale, Spécialité : Toxicologie Cellulaire, Université Badji Mokhtar, Annaba, p. 14, 15.

- ✓ **BAILLY C. EL MAAROUF H. CORBINEAU F., 2007 :** Rôle de la Signalisation par les Espèces Réactives de l'Oxygène dans la Germination et la Levée de Dormance des Semences. Article Scientifique, Journal de la société biologie 202 (3) : 241 – 248.

- ✓ **BAROUKI R., 2006 :** Stress Oxydant et Vieillissement, Article Scientifique, Revues : Médecine Sciences, P : 266-272. https://www.erudit.org/fr/revues/ms/

- ✓ **BATSCH D., 2011 :** L'impact des Pesticides sur la Santé Humaine, Thèse de Doctorat, Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université Henri Poincaré - Nancy 1, Faculté de Pharmacie, p. 14,15.

- ✓ **BELKHEIRI N., 2010 :** Dérivés Phénoliques à Activités Antiathérogènes, Thèse de Doctorat, Spécialité : Chimie – Biologie – Santé, Université Toulouse III, Paul Sabatier, p. 31.

- ✓ **BENHAMA S. HERROUDJ R., 2016 :** Détermination de la Teneur en Lipides, et l'Activité Antioxydante des Trois Organes (muscle, gonades et les œufs) du Poisson *Mugil cephalus*, Mémoire de Master, Université Abderrahmane Mira, Béjaia, p. 26.

- ✓ **BENREJEB K. ABDELLI C. SAVOURE A., 2012 :** La proline, un Acide aminé Multifonctionnel Impliqué dans l'Adaptation des Plantes aux Contraintes Environnementales, Article Scientifique, site web : www.biologie-journal.org.

- ✓ **BERARD, A. & PELTE, T., 1999 :** Les Herbicides Inhibiteurs du Photosystème II, Effets sur les Communautés Algales et leur Dynamique. Revue des Sciences de l'eau / Journal of Water Science, 12 (2), 333–361. https://doi.org/10.7202/705355.

- ✓ **BOUDHRIOUA N., BAHLOUL N., BEN SLIMEN I. KECHAOU N., 2008 :** Comparison on the Total Phenol Contents and the Color of Fresh and Infrared Dried Olive Leaves. *Industrial Crops and products*, 1-8.

- ✓ **CALVET R. BARRIUSO E. BEDOS C. BENOIT P. CHARNAY M P. COQUET Y., 2005 :** Les Pesticides dans le Sol, Conséquences Agronomiques et Environnementales. Référence Scientifique. Editions France Agricole, 641 p.

- ✓ **CALVET R., 2005 :** Les Pesticides dans le Sol, Conséquences Agronomiques et Environnementales. Référence Scientifique. Editions France Agricole, 641 p.

- ✓ **CARDIN G B., 2008 :** Rôle des Espèces Réactives de l'Oxygène dans l'Induction des Mécanismes d'Adaptation au Cadmium dans les Cellules CACO-2, Mémoire de Maîtrise en Biologie, Université du Québec à Montréal, p. 18 – 21.

- ✓ **DE LEONARDIS A. ARETINI A. ALFANO G. MACCIOLA V. RANALLI G., 2008 :** Isolation of a Hydroxytyrosol-rich Extract from Olive Leaves (*Olea Europaea L.*) and Evaluation of its Antioxidant Properties and Bioactivity. *European Food Research and Technology*, 266, 653-659.

- ✓ **DEMARCHEZ M., 2012 :** Le Stress Oxydant Cutanée, Article Scientifique, Site web : https://biologiedelapeau.fr.

- ✓ **DUGENY F., 2010 :** Produits Phytosanitaires, Risques pour l'Environnement et la Santé - Connaissances des usages en Zone non Agricole, Livre, p. 9.

- ✓ **DUNLAP K. REYNOLDS A. DUFFY L., 2006 :** Total Antioxidant power in Sled Dogs Supplemented with Blueberries and the Comparison of Blood Parameters Associated with Exercise, Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 143, 429 – 434.

- ✓ **EDIT A. HOURTON-CABASSA C. ERDEI L. SZABADOS L., 2010 :** Methods for Determination of Proline in Plants, Chapter 20, p.323.

- ✓ **ERRAMI M., 2012 :** Devenir Atmosphérique de Bupirimate et Transfert de ses Métabolites (les diazines) dans l'Atmosphère, Sa Dissipation dans les Fruits de Tomate et sa Dégradation Electrochimique, Thèse de Doctorat, Spécialité : Science d'Ingénieur et Qualité de l'Environnement, Université de Reims Champagne Ardenne, p. 12.

- ✓ **ESTERBAUER H. GEBICKI J. PUHL H. JURGENS G., 1992 :** The Role of Lipid Peroxidation and Antioxidants in Oxidative Modification of LDL : Free Rad. Biol. Med., 13, p. 341.

- ✓ **FAVIER A., 2002 :** Comment Mettre en Evidence le Stress Oxydant chez l'Homme Sain ou Malade. Myalgies International 2 (3), 4-9.

- ✓ **FAVIER A., 2003 :** Le Stress Oxydant, Intérêt Conceptuel et Expérimental dans la Compréhension des Mécanismes des Maladies et Potentiel Thérapeutique, l'Actualité Chimique, 109 – 115.

- ✓ **GARCIA1 F. CORTES S. OYARZUN J. CERUELO A. VAZQUEZ P., 2012 :** Pesticides : Classification, Uses and Toxicity. Measures of Exposure and Genotoxic Risks, Article, Journal of Research in Environmental Science and Toxicology.

- ✓ **GARDES-ALBERT M. BONNE D. ROUSSELOT F. ZADEH Z A. JORE D., 2003 :** Espèces Réactives de l'Oxygène, Comment l'Oxygène Peut-il devenir Toxique?, l'Actualité Chimique. https://esna.cscmonavenir.ca.

- ✓ **GAUDIAUT T., 2018 :** Les plus Gros Consommateurs de Pesticides en Europe, Projet de Loi sur les Pesticides, Site web : https://fr.statista.com.

- ✓ **GHEDIRA K., 2005 :** Les flavonoïdes : Structure, Propriétés Biologiques, Rôle Prophylactique et Emplois en Thérapeutique, Phytothérapie (2005) Numéro 4: 162-169 © Springer 2005 DOI 10.1007/s10298-005-0096-8, Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Pharmacie, rue Avicenne, 5000 Monastir, Tunisie.

- ✓ **GÖK AND CÜNEYT AKI., 2016 :** The Effects of Pesticides on Total Protein Amount and Peroxidase Activity in *Capsicum annuum* L. Varieties Bahar Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Science and Arts, Department of Biology, Subdivision of Molecular Biology, Canakkale, Turkey, 2016. Scholars Research Library Annals of Biological Research, 2016, 7 (2):13-18, http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html.

- ✓ **GUISSEPE M., 2015 :** *Solanum Tuberosum*, Monaco Nature Encyclopédia, discover the biodiversity. Site web : https://www.monaconatureencyclopedia.com.

- ✓ **HALENG J. PINCEMAIL J. DEFRAIGNE J O. CHARLIER C. CHAPELLE J P., 2007 :** Le Stress oxydant, Rev Med Liège, 62 : 10 : 628 – 638.

- ✓ **HALLIWELL B. GUTTERIDGE J., 2007 :** Free Radicals in Biology and Medicine, Fourth Edition, New York, Oxford University Press, 851 p.

- ✓ **HATEB A. MBENGUE M. NOUBATARE N. FAYE S. NIANG Y F., 2012 :** Pollution du Sol par les Pesticides et les Engrais, Rapport, p.14.

- ✓ **INRA., 2019 :** Sciences & Impact, R4P (Réseau de Réflexion et de Recherches sur les Résistances aux Pesticides), ANSES (Agence National de Sécurité Sanitaire Alimentation, Environnement, Travail), Fongicides Agricoles : Modes d'Action, Mécanismes de Résistance et Exemples par Filière, Colloque Résistance aux Pesticides à Montréal, Site web : https://irda.blob.core.windows.net.

- ✓ **JACOB R A., 1995 :** The Integrated Antioxidant System. Nutr. Res. 15 (5), 755-66.

- ✓ **KIM D. CHUN O. KIM Y. MOON H. LEE C., 2003 :** Quantification of Phenolics and their Antioxidant Capacity in Fresh Plums, *J. Agric. Food Chem.,* Vol. (51), page : 6509.

- ✓ **L STEVENS., 1992 :** Buffers and the Determination of Protein Concentration *in* R Eisenthal, MJ Danson (éditeurs), Enzymes assays, IRL Press, Oxford, p. 317-335.

- ✓ **LYDON J. DUKE S O., 1988 :** Pesticide Effects on Secondary Metabolism of Higher Plants, Pestic.Sci.1989, 25, 361-373. Southern Weed Science Laboratory, Agricultural Research service, US Department of Agriculture, PO Box 350, Stoneville, Mississippi 38776, USA.

- ✓ **MAMY L. BARRIUSO E. GABRIELLE B., 2008 :** Evaluer les Risques Environnementaux des Pesticides, Exemple du désherbage des cultures résistantes ou non au glyphosate, Innovations Agronomiques, Livre, p. 3, 121-143.

- ✓ **MARI N., 2018 :** Les Pesticides dans l'Air Ambiant, Observatoire des Résidus de Pesticides en Provence-Alpes-Côte d'Azur, Synthèse des résultats 2012 – 2015, Publication, Site web : www.airpaca.org.

- ✓ **MASELLA R. DI BENEDETTO R. VARI R. FILESI C. GIOVANNINI C., 2005 :** Novel Mechanisms of Natural Antioxidant Compounds in Biological Systems : Involvement of Glutathione and Glutathione-Related Enzymes. J Nutr Biochem 16 : 577-586.

- ✓ **MOREL Y. BAROUKI R., 1998 :** Influence du Stress Oxydant sur la Régulation des Gènes. *Med Sci (Paris)*; 14 : 713-21.Google Scholar.

- ✓ **NAKAJIMA K. NAKANO T. TANAKA A. 2006 :** The Oxidative modification Hypothesis of Atherosclerosis : The Comparison of Atherogenic Effects on Oxidized LDL and Remnant Lipoproteins in Plasma. *Clin Chim Acta*, 367, 36-47.

- ✓ **OTTO D. SAMUEL MEIER M. SCHLATTER J. FRISCHKNECHT P., 1999 :** Selected Phenolic Compounds in Cultivated Plants : Ecologic Functions, Health Implications and Modulation by Pesticides, Section of Toxicology, Swiss Federal Office of Public Health, Zurich, Switzerland; Department of Environmental Sciences, Swiss Federal Institute of Technology, 1999, p. 112.

- ✓ **PARWEEN T. JAN S. ZZAFAR M. FATMA T. SIDDIQUI Z., 2016 :** Selective Effect of Pesticides on Plant, A Review, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56 : 1, 160-179.

- ✓ **PUY H., 2017 :** Introduction aux Radicaux Libres et Espèces Réactives de l'Oxygène, Cours N° 8, UE1 Biologie Cellulaire, https://l2bichat2017-2018.weebly.com.

- ✓ **RESEAU AGRICULTURE REGIONAL DE LA FRAPNA., 2013 :** Site web : https://fr.calameo.com.

- ✓ **RIAL-OTERO R. CANCHO-GRANDE B. ARIAS-ESTÉVEZ M. LÓPEZ-PERIAGO E. GÁNDARA J., 2003 :** Procedure for the Measurement of Soil Inputs of Plant-Protection Agents Washed off Through Vineyard Canopy by Rainfall. *J. Agricult. Food Chem.,* 51 : 5041-5046.

- ✓ **RONALD S., 2011 :** Implication des Espèces Réactives de l'Oxygène dans le Contrôle Central de l'Osmorégulation, Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI Pierre et Marie Curie, p. 37.

- ✓ **ROTA C. FANN Y. MASON R P., 1999 :** Phenoxyl Free Radical Formation During the Oxidation of the Fluorescent Dye 2',7' Dichlorofluorescein by Horseradish Peroxidase : Possible Consequences for Oxidative stress Measurements. J Biologic Chem 274, 28161-68.

- ✓ **ROUSSEAU A. GRENIER L. QUILBE R., 2007 :** Classification des Pesticides à l'aide de Cartes Auto-organisatrices de Kohonen en vue du Développement de Normes de Performance Agro-environnementale Atteignables (NPA) à l'Echelle des Bassins Versants, Rapport N° R-932, Centre Eau, Terre et Environnement, Institut National de la Recherche Scientifique (INRS-ETE), Québec, Canada, p.4.

- ✓ **SAAD A. VIRELLA G. CHASSEREAU CH., 2006 :** Ox LDL Immune Complexes Activate Complement and Induce Cytokine Production by Mono Mac 6 Cells and Human Macrophages. *J Lipid Res*, 47, 1975-1983.

- ✓ **SAFFIDINE K., 2015 :** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Extraits de *Carthamus caeruleus* L et de Plantago major L. Thèse de Doctorat en Sciences, Filière : Biologie, Spécialité : Microbiologie, Université Ferhat Abbas, Batna, p. 41.

- ✓ **SPOONER, D. M. AND KNAPP, S., 2013 :** *Solanum tuberosum* - (Anglais seulement). Site web : http://solanaceaesource.org/content/solanum-tuberosum.

- ✓ **SPOONER, D. M. AND SALAS, A., 2006 :** Structure, Biosystematics, and Genetic Resources. Pages 1-39 *in* J. Gopal, S. M. P. Khurana, eds. Handbook of Potato Production, Improvement and Postharvest Management. Food Products Press, Binghamton, NY.

- ✓ **TESTUT F. GRILLET J P., 2007 :** Insecticides Organophosphorés, Carbamates, Pyréthrinoides de Synthèse et Divers, Article Scientifique sur Researchgate.

- ✓ **TISSIER M., 2011 :** Contribution à l'Etude du Stress Oxydant Chez le Chien de Cross Canin, Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard – Lyon I – (médecine – pharmacie), p. 51 – 59.

- ✓ **TURRENS J F., 2003 :** Mitochondrial Formation of Reactive Oxygen Species. J. Physiol 552 (2), 335-44.

- ✓ **VANDERWEF H., 1997 :** Evaluer l'Impact des Pesticides sur l'Environnement, Article Scientifique sur Researchgate.

- ✓ **ZARZECKA K. GUGALA M. SIKORSKA A. MYSTKOWSKA I. BARANOWSKA A. NIEWE M. DOŁE H., 2019 :** A Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 18 : 102–106.

- ✓ **ZERARGUI F., 2015 :** Activité Antioxydante des Extraits de Racines *Tamus communis* L. et Caractérisation des Substances Bioactives, Thèse de Doctorat en Sciences, Filière : Biologie, Spécialité : Biochimie, Université Ferhat Abbas, Sétif, p. 10.

- ✓ **ZHISHEN J. MENGCHENG T. JIANMING W., 1999 :** The Determination of Flavonoid Contents in Mulberry and their Savenging Effects on Superoxide Radicals, *J Food Chem*, Vol. (64), page : 555.

- ✓ **ZIMMER N., CORDESSE R., 1996 :** Influence des Tanins sur la Valeur Nutritive des Aliments des Ruminants, INRA –ENSA.M Unité de Zootechnie Méditerranéenne, INRA Pro. Anim. 1996, 9(3), 167 -179.

ملخص

إن الهدف من هذه الدراسة هو تقييم فعالية أو تأثير بقايا المبيدات ومصير تراكمها على الجزء الهوائي (الأوراق) من المحصول الزراعي للبطاطا من نوعية سيلفانا. القطع الأرضية المغروسة بهذا النوع من ال بطاطا والتي كانت محل الا ختبار، تمت معالجتها بثلاثة أنواع من المبيدات الوقائية (مبيد للأعشاب، مبيد للسوس ومبيد الفطريات) ولقد سمحت لنا الجرعات المطبقة على النباتات المزروعة بالعمل على 3 أنواع من القطع أو الحقول الزراعية : قطعة أرضية عضوية ، قطعة أرضية فلاحية وقطعة أرضية أخرى بجرعة مضاعفة.

من خلال دراستنا لبعض المعايير البيوكيميائية المتعلقة بالنبتة ، وتأثير استخدام هذه المبيدات عليها، تبين لنا من وجود تباين في هاته المعايير التي تم اختيارها للدراسة حيث أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من وجود زيادة في محتوى البوليفينول والفلافونويد ، وانخفاض في محتوى البروتين والتانين و اضطراب في إنتاج صبغات الكلوروفيل وهذا بالزيادة في تركيز المبيدات.

إن إمكانية التعرض لخطر التلوث بمادة المبيدات، يتطلب الترشيد الحسن في استخدام ها ولامتثال لقواعد السلامة في الممارسات الزراعية بها وبتحديد استخدامها في الحالات التي يحتمل أن يتم فيها الوصول إلى عتبة الضرر.

الكلمات المفتاحية : المبيدات ، البطاطا ، البوليفينول ،الفلافونويدات ، التانين، البروتينات، الكلوروفيل.

Résumé

L'objectif du présent travail consiste à évaluer l'effet des résidus de pesticides et le devenir de leur accumulation sur la partie aérienne (feuilles) des cultures de pomme de terre de type Sylvana.
Les parcelles expérimentales de pomme de terre choisies pour le test ont été traitées par trois types de produits phytosanitaires (un herbicide, un acaricide et un fongicide). Les doses respectives appliqués sur les plantes cultivées nous ont permis de travailler sur 3 types de parcelles : une parcelle bio, une parcelle agronomique et une dernière parcelle double dose.

Notre travail basé sur l'étude de quelques paramètres biochimiques relatifs à la plante et l'impact de l'usage de ces pesticides sur eux, ont révélés une variation des différents paramètres choisis pour l'étude. Les résultats obtenus ont montré un accroissement de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes, une diminution du taux de protéines et de tannins et une perturbation dans la synthèse des pigments chlorophylliens toute en augmentant la concentration de pesticides.

Exposés aux risques de contamination par ces produits, il est nécessaire de rationaliser l'utilisation des pesticides en veillant au respect des règles concernant les bonnes pratiques agricoles et en limitant leur emploi aux cas où le seuil de nuisibilité risque d'être atteint.

Mots clés : Pesticides, Pomme de terre, Polyphénols, Flavonoïdes, Tannins, Protéines, Chlorophylle.

Summary

The objective of the current work is to evaluate the effect of pesticide residues and to become their accumulation on the aerial part (crops) of the Sylvana potato.
The experimental potato plots selected for the test were treated with three types of plant protection products (herbicide, acaricide and fungicide). The respective doses applied to the cultivated plants allow us to work on 3 types of plots: an organic plot, an agronomic plot and a last plot.

Our work based on the study of some biochemical parameters related to the plant and the impact of the use of these pesticides on them, revealed a variation of the different parameters chosen for the study. The results obtained showed an increase in the content of polyphenols and flavonoids, a decrease in the protein and tannins content and a disruption in the synthesis of chlorophyll pigments while increasing the concentration of pesticides.

Exposed to the risk of contamination by these products, it is necessary to rationalize the use of pesticides by ensuring compliance with the rules concerning good agricultural practices and by limiting their use to cases where the threshold of harm is likely to be reached.

Key words : Pesticides, Potato, Polyphenols, Flavonoids, Tannins, Proteins, Chlorophyll.