



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

**Département :** Biologie Et Ecologie Végétale  
Université des Frères Mentouri Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

**قسم :** بيولوجيا النبات و علم البيئة.  
جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**  
**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie  
**Filière :** Ecologie et Environnement  
**Spécialité :** Ecologie fondamentale et appliquée

Intitulé :

---

**Etude comparative de la phytotoxicité des nanoparticules de ZnO sur trois modèles végétaux ; le blé tendre (*Triticum aestivum* L.), le colza (*Brassica napus* L.) et le cresson (*Lepidium sativum* L.)**

---

Présenté et soutenu par : **CHERB Nora**

Le : ..../09/2021

**Jury d'évaluation :**

<b>Président du jury :</b>	<b>TOUATI Laid</b>	<b>MCA</b>	<b>UFM Constantine1</b>
<b>Rapporteur :</b>	<b>AFRI-MEHENNAOUI F-Z</b>	<b>Professeur</b>	<b>UFM Constantine1</b>
<b>Co-rapporteur :</b>	<b>CHARCHAR Nabil</b>	<b>MCA</b>	<b>C.R.Bt</b>
<b>Examineur :</b>	<b>BAZRI Kamel Eddine</b>	<b>MCA</b>	<b>UFM Constantine1</b>

*Année universitaire*  
**2020 – 2021**

## Remerciement

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude.

Je voudrais tout d'abord adresser toute ma reconnaissance à la directrice de ce mémoire, Madame Fatima-Zohra Afri-Mehennaoui, professeur à l'Université de Constantine 1 et Directrice de recherche au laboratoire de Biologie et Environnement, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Je tiens à remercier spécialement Mr Charchar Nabil, qui fut le premier à me faire découvrir le sujet et qui a guidé mon mémoire.

Je tiens à remercier infiniment les membres du jury : Mr TOUATI Laid, qui m'a fait l'honneur de présider le jury, et Mr BAZRI Kamel Eddine en qualité d'examineur.

Je voudrais exprimer ma reconnaissance envers mes chères collègues du laboratoire d'analyses environnementales qui m'ont apporté leur savoir-faire, leur aide et leur soutien moral tout au long de ma démarche. Merci pour votre disponibilité et votre patience.

Je désire aussi remercier les responsables des laboratoires d'analyses environnementales et de culture *in vitro*, qui m'ont fourni les outils et le matériel nécessaires à la réussite des expériences et analyses.

Un merci particulier à ma famille, ma chère mère, mon mari et mes chères amies pour leur encouragement continu, leur soutien moral durant toute cette période d'étude.

Si par hasard, je venais à oublier de citer certaines personnes, qu'elles sachent que ma reconnaissance va bien au-delà de ces remerciements.

Dédicace

*À l'âme de mon père*

## Résumé

L'utilisation croissante de nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs ZnO) et leur rejet dans l'environnement a créé le besoin d'évaluer leur impact sur la croissance et le développement des plantes. Comprendre les effets des nanoparticules est crucial pour l'évaluation des potentiels risques environnementaux pour la sécurité alimentaire et la santé humaine, car les plantes sont à la fois fondamentales pour les écosystèmes et la principale source alimentaire de l'Homme. L'objectif de cette étude est l'évaluation des effets toxiques des NPs ZnO sur la germination des graines, la croissance des pousses (élongation racinaire et foliaire), les paramètres physio-morphologiques (teneur en eau racinaire et foliaire et la teneur en chlorophylle) et les paramètres biochimiques, y compris la proline, les sucres totaux et la malondialdéhyde (MDA). Les tests ont été menés sur trois espèces, le blé tendre (*Triticum aestivum* L.), le colza (*Brassica napus* L.) et le cresson (*Lepidium sativum* L.), cultivées dans des pots contenant du terreau artificiel contaminé par des NPs ZnO à des concentrations de 0, 0.035, 0.175, 0.875, 4.375 et 21.875 g/kg de ZnO. Les résultats révèlent que les nanoparticules ZnO n'ont aucun effet sur la germination des graines. Seul le cresson a montré des taux élevés de biomarqueurs de stress (MDA et proline) et de sucres totaux avec une corrélation dose-réponse positive. Le colza a fourni des réponses similaires à celles du cresson à l'exception du MDA qui n'est pas corrélé à la proline et aux sucres totaux, ainsi qu'à la teneur en eau des feuilles et l'élongation racinaire. Quant au blé tendre, les paramètres élongation racinaire, la teneur en eau des racines, la proline et le malondialdéhyde (MDA) ont été affectés mais la réponse n'a pas affiché le schéma dose-réponse prévue. Les concentrations 0.175, 0.875, 4.375 et 21.875 g/kg ont provoqué des effets toxiques pour le cresson. Par contre pour le blé tendre et le colza, seules les concentrations 4.375 et 21.875 g/kg, ont engendré des effets. La plus faible concentration en NPs ZnO (0.035 g/kg) a provoqué une augmentation du taux de chlorophylle pour le cresson et le colza puis une diminution significative du MDA pour le blé tendre. Ainsi, via les paramètres évalués, les trois espèces végétales testées ont répondu différemment à l'exposition aux NPs ZnO.

## ملخص

أدى الاستخدام المتزايد للجسيمات النانوية لأكسيد الزنك ورميها في البيئة إلى الحاجة لتقييم تأثيرها على نمو النبات وتطوره. إن فهم تأثيرات الجسيمات النانوية يعد أمرًا بالغ الأهمية لتقييم المخاطر البيئية المحتملة على الأمن الغذائي وصحة الإنسان. حيث تعتبر النباتات أساسًا للنظم البيئية ومصدر الغذاء الرئيسي للبشر. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثيرات السمية على إنبات البذور، نمو النبتة (استطالة الجذور والأوراق)، المعايير الفيزيولوجية (محتوى الماء المتواجد في الجذور والأوراق ومحتوى الكلوروفيل) والمعايير البيوكيميائية، بما في ذلك البروتينات، السكريات، البرولين والملونديالدهيد.

أجريت الاختبارات على ثلاثة أنواع من النبات، القمح اللين (*Triticum aestivum* L.)، نبات اللفت (*Brassica napus* L.) والجرير (*Lepidium sativum* L.)، حيث نمت في أوصى تحتوي على تربة صناعية ملوثة بالتركيزات التالية 0، 0.035، 0.175، 0.875، 4.375 و 21.875 مغ / كغ لأكسيد الزنك.

أظهرت النتائج أن الجسيمات النانوية لأكسيد الزنك ليس لها تأثير واضح على إنبات البذور. حيث أن الجرير فقط أظهر مستويات عالية من المؤشرات الحيوية للإجهاد (الملونديالدهيد والبرولين) وكذا السكريات مع ارتباط إيجابي بين الجرعة والاستجابة. حيث قدم نبات اللفت استجابات مماثلة للجرير باستثناء الملونديالدهيد التي لم ترتبط بالبرولين والسكريات الكلية، وكذلك محتوى الماء في الأوراق واستطالة الجذور. أما بالنسبة للقمح اللين، فقد تأثرت كل من استطالة الجذور، محتوى الجذور بالماء، البرولين والملونديالدهيد ولكن الاستجابة لم تظهر نمط إيجابي للتركيز المتوقع. تسببت التركيزات 0.175، 0.875، 4.375 و 21.875 جم / كغ لأكسيد الزنك في تأثيرات سامة للجرير. أما بالنسبة للقمح اللين و نبات اللفت، فقط التركيزات 4.375 و 21.875 مغ / كغ لأكسيد الزنك أنتجت تأثيرات. وقد أدى التركيز المنخفض لأكسيد الزنك (0.035 مغ / كغ) إلى زيادة معدل الكلوروفيل في الجرير و نبات اللفت وانخفاض في الملونديالدهيد للقمح اللين. وهكذا من خلال المعايير التي تم تقييمها، نلاحظ أن استجابة مختلفة للأنواع النباتية الثلاثة المختبرة بعد تعرضها لتركيز متزايدة لأكسيد الزنك.

## **Abstract**

The increasing use of zinc oxide nanoparticles (NPs ZnO) and their release into the environment has created the need to assess their impact on plant growth and development. It is extremely important to understand the effects of nanoparticles for assessing potential environmental risks to food security and human health, because plants are fundamental to ecosystems and the primary food source for humans. The objective of this study was the assessment of the toxic effects of NPs ZnO on: seed germination, shoot growth (root and leaf elongation), physiological parameters (root and leaf water content and chlorophyll) and biochemical parameters, including proline, total sugars and malondialdehyde (MDA). The tests were carried out on three species, wheat (*Triticum aestivum* L.), rapeseed (*Brassica napus* L.) and cress (*Lepidium sativum* L.), grown in pots containing artificial soil contaminated with NPs ZnO at concentrations of 0, 0.035, 0.175, 0.875, 4.375 and 21.875 g/kg ZnO. The results demonstrate that ZnO nanoparticles have no effect on seed germination. Only cress showed high levels of stress biomarkers (MDA and proline) and total sugars with a positive dose-response correlation. Rapeseed provided similar responses to cress, except for malondialdehyde which did not correlate with proline and total sugars, as well as leaf water content and root elongation. As for wheat, the root elongation, root water content, proline and malondialdehyde parameters were affected but the response did not show the expected dose-response pattern. The concentrations 0.175, 0.875, 4.375 and 21.875 g / kg caused toxic effects in cress. On the other side, wheat and rapeseed, only the concentrations 4.375 and 21.875 g/kg produced effects. The lower concentration of NPs ZnO (0.035 g/kg) caused an increase in the rate of chlorophyll for cress and rapeseed, then a significant decrease in malondialdehyde for wheat. Thus, via the parameters evaluated, the three plants species tested respond differently to exposure to NPs ZnO.

## **Liste des abréviations**

**ACP** : Analyse en composantes principales.

**CAT** : Catalase.

**CH** : Chlorophylle.

**EF** : Elongation foliaire.

**ER** : Elongation racinaire.

**Ger** : Germination.

**GSH** : Gutathion réduit.

**LPO** : Peroxydation des lipides.

**MDA** : Malondialdehyde.

**MF** : Matière fraîche

**NPs ZnO**: Nanoparticules d'oxyde de Zinc.

**POX** : Peroxydase.

**ROS** : Espèces réactives de l'oxygène.

**SOD**: Superoxyde dismutase.

**ST** : Sucres totaux.

**TEF** : Teneur en eau de la partie foliaire.

**TER** : Teneur en eau des racines.

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b>	Dissolution de nanoparticules de ZnO (concentration $[Zn^{2+}]$ mesurée après 24 h) en suspension aqueuse en fonction de la taille des particules. Concentration initiale de ZnO = 500 mg/l; pH =7,5. (Mudunkotuwa et al., 2012).....	8
<b>Figure 2:</b>	Plants et graines de blé tendre.....	11
<b>Figure 3:</b>	Plants et graines de colza .....	13
<b>Figure 4:</b>	Plants et graines de cresson .....	14
<b>Figure 5:</b>	Vérification du pouvoir germinatif des graines .....	17
<b>Figure 6:</b>	Mélange du terreau avec les NPs ZnO et le semis des graines.....	18
<b>Figure 7:</b>	Chambre d'acclimatation marque Gaooze.....	18
<b>Figure 8:</b>	Germination des trois plantes.....	19
<b>Figure 9 :</b>	Effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux de germination des graines de blé tendre.....	23
<b>Figure 10:</b>	Effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux de germination des graines de colza. ....	24
<b>Figure 11 :</b>	Effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux de germination des graines de cresson. ....	24
<b>Figure 12 :</b>	Effet des concentrations de NPs ZnO sur l'élongation racinaire et foliaire du blé tendre.....	25
<b>Figure 13 :</b>	Effet des concentrations de ZnO sur l'élongation racinaire et foliaire du colza.....	26
<b>Figure 14 :</b>	Effet des concentrations de NPs ZnO sur l'élongation racinaire et foliaire du cresson.....	28
<b>Figure 15 :</b>	Effet des concentrations de NPs ZnO sur la TE% des racines et des feuilles du blé tendre.....	29
<b>Figure 16 :</b>	Effet des concentrations de NPs ZnO sur la teneur en eau des racines et des feuilles du colza.....	30
<b>Figure 17 :</b>	Effet des concentrations de NPs ZnO sur la teneur en eau (%) des racines et des feuilles de cresson.....	31
<b>Figure 18 :</b>	Effet des concentrations de NPs ZnO sur la teneur en chlorophylle (a), (b) et totale de la plante de blé tendre.....	33
<b>Figure 19 :</b>	Effet des concentrations de NPs ZnO sur la teneur en chlorophylle (a), (b) et totale des plants de colza. ....	34

<b>Figure 20 :</b>	Effet des concentrations de ZnO sur la teneur en chlorophylle (a), (b) et totale des plants de cresson.....	35
<b>Figure 21 :</b>	Variations des taux de la proline ( $\mu\text{g/ml}$ ) du blé tendre en fonction des concentrations de NPs ZnO. ....	37
<b>Figure 22 :</b>	Variations des taux de proline ( $\mu\text{g/ml}$ ) pour le colza en fonction des concentrations de NPs ZnO. ....	38
<b>Figure 23 :</b>	Variations du taux de la proline ( $\mu\text{g/ml}$ ) pour le cresson en fonction des concentrations de NPs ZnO.....	38
<b>Figure 24 :</b>	Variations des taux de sucres totaux ( $\mu\text{g/ml}$ ) du blé tendre en fonction des concentrations de NPs ZnO.....	39
<b>Figure 25 :</b>	Variation des taux des sucres totaux ( $\mu\text{g/ml}$ ) du colza en fonction des concentrations de ZnO.....	40
<b>Figure 26 :</b>	Variations des taux des sucres totaux ( $\mu\text{g/ml}$ ) du cresson en fonction des concentrations de NPs ZnO. ....	40
<b>Figure 27 :</b>	Variations des taux de malondialdéhyde (MDA ( $\mu\text{mol/ml}$ ) du blé tendre en fonction des concentrations de NPs ZnO. ....	41
<b>Figure 28 :</b>	Variations des taux de MDA ( $\mu\text{mol/ml}$ ) du colza en fonction des concentrations de NPs ZnO. ....	42
<b>Figure 29 :</b>	Variation des taux de MDA ( $\mu\text{mol/ml}$ ) du cresson en fonction des concentrations de NPs ZnO. ....	42
<b>Figure 30 :</b>	Carte factorielle des deux premiers axes de l'analyse en composantes principales (les variables de modèle végétal blé tendre). ....	43
<b>Figure 31 :</b>	Carte factorielle des deux premiers axes de l'analyse en composante principales (les variables de modèle végétal colza). ....	45
<b>Figure 32 :</b>	Carte factorielle des deux premiers axes de l'analyse en composante principales (les variables de modèle végétal cresson). ....	46

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b>	Les concentrations de NPs ZnO utilisées dans nos expériences.....	17
<b>Tableau 2 :</b>	Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls (Élongation racinaire en cm du blé tendre).....	25
<b>Tableau 3 :</b>	Groupes homogènes selon le test de Dunn (Elongation foliaire en cm du blé tendre).....	26
<b>Tableau 4 :</b>	Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls (Élongation racinaire en cm du colza).....	27
<b>Tableau 5 :</b>	Groupes homogènes selon le test de Dunn (Elongation foliaire en cm du --- colza).....	27
<b>Tableau 6 :</b>	Groupes homogènes selon le test de Dunn (Elongation foliaire (cm) du cresson).....	28
<b>Tableau 7 :</b>	Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls pour la teneur en eau des racines du blé tendre.....	30
<b>Tableau 8 :</b>	Groupes homogènes selon le test de Dunn (teneur en eau des racines (%) du colza).....	29
<b>Tableau 9 :</b>	Groupes homogènes selon le test de Dunn (teneur en eau de la partie foliaire du cresson).....	32
<b>Tableau 10 :</b>	Groupes homogènes selon le test de Dunn de la CH (a) (en mg/kg de MF) pour le cresson en fonction de la concentration en NP ZnO .....	36
<b>Tableau 11:</b>	Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls (taux de Chlorophylle (T) mg/kg de MF) du cresson en fonction des concentrations en ZnO)....	36
<b>Tableau 12:</b>	Groupes homogènes du test de Dunn (taux de proline (µg/ml) du cresson)....	39

<b>Remerciement</b>	
<b>Dédicace</b>	
<b>Résumé en français</b>	
<b>Résumé en arabe</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	

## Table des matières

Introduction .....	<b>1</b>
Chapitre I: Synthèse Bibliographique	
I.1 Généralité sur les Nanoparticules de ZnO .....	<b>3</b>
I.1.1 Définition de nanoparticules NPs.....	3
I.1.2 Caractéristiques de NPs ZnO .....	3
I.1.3 Origine et utilisation de NPs ZnO .....	3
I.1.3.1 Industrie .....	3
I.1.3.2 Agriculture .....	4
I.1.4 Caractérisation de la nanostructure de ZnO .....	5
I.1.5 Dispersion des nanoparticules dans l'environnement .....	5
I.1.6 Mode et voie d'exposition au NPs .....	6
I.1.7 Toxicité de NPs ZnO.....	6
I.1.8 Ecotoxicité de NP ZnO .....	7
I.1.9 Facteurs influençant sur la toxicité et la biodisponibilité de NP ZnO.....	8
I.1.9.1 Taille des particules.....	8
I.1.9.2 pH du milieu.....	8
I.1.9.3 Température .....	9
I.1.9.4 Matière organique .....	9
I.1.9.5 Phosphate .....	9
I.1.9.6 Eclairage.....	9
I.1.10 Phytodisponibilité et bioaccumulation des nanoparticules .....	10
I.1.11 Mécanisme de défense des plantes contre le stress oxydatif.....	10
I.2 Présentation des Modèles végétaux .....	<b>11</b>
I.2.1 Blé tendre .....	11
I.2.1.1 Caractéristiques et origine de blé tendre .....	11
I.2.1.2 Utilisations du blé tendre .....	11

I.2.1.2.1 Alimentation.....	11
I.2.1.2.2 Industrie .....	11
I.2.1.2.3 Ecotoxicologie.....	12
I.2.1.3 Production et consommation du blé en Algérie .....	12
<b>I.2.2 Colza .....</b>	<b>13</b>
I.2.2.1 Caractéristiques et origine de colza.....	13
I.2.2.2 Utilisations du colza.....	13
I.2.2.2.1 Phytoremédiation .....	13
I.2.2.2.2 Industrie .....	14
I.2.2.2.3 Ecotoxicologie.....	14
<b>I.2.3 Cresson.....</b>	<b>14</b>
I.2.3.1 Caractéristiques et origine de cresson .....	14
I.2.3.2 Utilisations du cresson .....	15
I.2.3.2.1 Alimentation et médecine .....	15
I.2.3.2.2 Écotoxicologie.....	15

## Chapitre II : Matériel et Méthodes

<b>II. Matériel et Méthodes .....</b>	<b>16</b>
II.1 préparation et méthodologie de semis (réalisation de l'essai) .....	16
II.1.1 Substance d'essai.....	16
II.1.2 Matériel végétal utilisé.....	16
II.2 Prélèvement des échantillons.....	19
II.3 Paramètres biologiques .....	19
II.3.1 Paramètres biométriques.....	19
II.3.2 paramètres physio-morphologiques .....	20
II.3.3 Paramètres biochimiques .....	21
II.4 Traitement et analyse des résultats .....	22

## Chapitre III : Résultats

<b>III RESULTATS .....</b>	<b>23</b>
<b>III.1 Paramètres biométriques .....</b>	<b>23</b>
III.1.1 Effet de la concentration de NPs ZnO sur le taux de germination .....	23
III.1.1.1 Blé tendre .....	23
III.1.1.2 Colza.....	23
III.1.1.3 Cresson .....	24

III.1.2 Effet de la concentration de NPs ZnO sur l'élongation racinaire et foliaire .....	25
III.1.2.1 Blé tendre .....	25
III.1.2.2 Colza.....	26
III.1.2.3 Cresson .....	28
<b>III.2 Paramètres physio-morphologiques .....</b>	<b>29</b>
III.2.1 Effet des concentrations de NPs ZnO sur la teneur en eau (TE %).....	29
III.2.1.1 Blé Tendre .....	29
III.2.1.2 Colza.....	30
III.2.1.3 Cresson .....	31
III.2.2 Variation du taux de la chlorophylle (a), (b) et totale (T) en fonction des concentrations NPs ZnO.....	32
III.2.2.1 Blé tendre .....	32
III.2.2.2 Colza.....	34
III. 2.2.3 Cresson .....	35
<b>III.3 Paramètres biochimiques (Marqueurs de stress).....</b>	<b>37</b>
III.3.1 Effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux de la proline .....	37
III.3.1.1 Blé tendre .....	37
III.3.1.2 Colza.....	37
III.3.2 Effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux des sucres totaux.....	39
III.3.2.1 Blé tendre .....	39
III.3.2.2 Colza.....	39
III.3.2.3 Cresson .....	40
III.3.3 Effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux de malondialdéhyde (MDA).....	41
III.3.3.1 Blé tendre .....	41
III.3.3.2 Colza.....	41
III.3.3.3 Cresson .....	42
<b>III.4 Corrélation entre les différentes variables étudiées pour chaque espèce .....</b>	<b>43</b>
III.4.1 Blé tendre .....	43
III.4.2 Colza.....	44
III.4.3 Cresson .....	45

#### Chapitre IV : Discussion

IV Discussion .....	47
IV.1 Taux de germination .....	47
IV.2 Elongation racinaire .....	48
IV.3 Elongation foliaire.....	48

IV.4 Teneur en Eau .....	49
IV.5 Chlorophylle.....	49
IV.6 Proline .....	50
IV.7 Sucres totaux .....	51
IV.8 Malondialdehyde (MDA).....	51
Conclusion et perspectives	
Conclusion.....	<b>53</b>
Perspectives .....	<b>54</b>
Références Bibliographiques	
References Bibliographiques.....	<b>55</b>

# **Introduction**

## Introduction

La nanotechnologie est le domaine le plus innovant du 21<sup>e</sup> siècle. Des recherches approfondies sont en cours pour commercialiser des nano-produits dans le monde entier en raison de leurs propriétés uniques. Parmi les nanoparticules métalliques, les nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs ZnO) sont très importantes en raison de leur vaste utilisation dans des domaines différents tels que : la pharmacie, la médecine, les biocapteurs, l'alimentation, les produits à utilisation personnel (vêtements, cosmétiques) et l'agriculture, car elles ont fait l'objet de multiples études scientifiques telle que celles rapportées par : **Lin et Xing, 2007 ; Mousavi Kouhi et al., 2014 ; Xiang et al., 2015 ; García-Gómez et al., 2018 et Iona et al., 2020** . Les NP ont été citées comme pouvant avoir le potentiel d'augmenter la productivité de certaines cultures (**Scott et Chen 2002, Batsmanova et al., 2013**).

Le stress causé par des facteurs biotiques et abiotiques et l'utilisation à long terme de pesticides et d'autres composés chimiques associés entraînent, tôt ou tard, une réduction du rendement et de la qualité des cultures (**Kuhn et al., 2017 ; Qin et al., 2019**). Par conséquent, une grande attention est consacrée à la promotion d'activités agro technologiques appropriées utilisant différentes méthodes de nanobiotechnologie pour assurer une agriculture durable (**Shukla et al., 2017 ; Jayarambabu et Rao, 2019**). L'utilisation de la nanobiotechnologie fournit une solution pratique à de nombreux problèmes agricoles, comme l'aide à l'amélioration de l'industrie agricole en augmentant l'efficacité des matières premières et en réduisant les pertes conséquentes. De plus, les nanoparticules peuvent être utilisées efficacement comme support agrochimique pour un transport contrôlé des nutriments afin d'augmenter le rendement (**Vermeulen et al., 2012 ; Shang et al., 2018**).

Les nanoparticules manufacturées de différents oxydes métalliques sont rejetées involontairement dans l'environnement pendant leur production, leur utilisation et leur élimination, comme le traitement des eaux usées, le recyclage, l'incinération des déchets et la mise en décharge (**Keller et al., 2013**). Elles peuvent jouer un rôle important pour favoriser la croissance et le rendement des plantes, mais actuellement, les enquêtes sur les effets toxicologiques des nanoparticules continuent d'augmenter avec le temps et seules quelques études ont été menées pour déterminer les effets des NPs ZnO sur les plantes (**Lin et Xing, 2007 ; López-Moreno et al., 2010**).

Les plantes sont une composante fondamentale des écosystèmes par leur rôle de producteurs primaires et leur position incontournable dans la chaîne alimentaire (**Sharma et al., 2019**). Les plantes sont très sensibles à la nanotoxicité car elles peuvent absorber et accumuler les nanoparticules du sol, de l'eau et de l'air. Par conséquent, les plantes en tant qu'organisme

modèle sont recommandées comme système d'essai biologique de premier niveau pour définir la toxicité possible de divers nanomatériaux (Ghosh et al., 2019). Le blé tendre (*Triticum aestivum*) est la première céréale la plus importante à la consommation au monde ; le colza (*Brassica napus* L.) est une matière première pour l'alimentation humaine dans la production de margarine et des huiles de cuisson ; le cresson (*Lepidium sativum* L.) a une importance à l'usage culinaire et médicinal (Gokavi et al., 2004), ces trois modèles de plantes sont utilisés avec succès comme organisme modèle pour les études écotoxicologiques. Cependant, un nombre limité d'études a été menée sur les effets des nanoparticules à différentes concentrations sur ces trois espèces, à la suite d'une courte durée d'exposition.

C'est dans ce cadre que s'inscrit l'objectif de la présente étude qui porte sur la détermination de l'effet de nanoparticules d'oxyde de zinc sur trois modèles végétaux (blé tendre, colza et cresson). Nous nous proposons d'évaluer l'influence des concentrations croissantes de ces nanoparticules sur certaines paramètres biométriques, physio-morphologiques et biochimiques de ces trois espèces.

Ce document est composé de quatre chapitres, dont le détail est donné ci-dessous :

Le premier chapitre est une synthèse bibliographique où la première partie présente des notions générales sur les nanoparticules de ZnO et la deuxième partie est consacrée à la présentation générale des trois modèles végétaux, notamment leurs origines et leurs utilisations dans le domaine des études écotoxicologiques.

Le deuxième chapitre est un exposé de la démarche scientifique adoptée (matériel et méthodes) où sont décrit les outils et les protocoles expérimentaux utilisés (méthodes analytiques et bio essais) pour atteindre les objectifs fixés.

Le troisième chapitre est consacré à la présentation et l'illustration des résultats obtenus *via* la démarche expérimentale.

Puis, le quatrième chapitre est dédié à la discussion des résultats obtenus.

Enfin, une conclusion générale est consacrée à un bilan global des différentes observations recueillies lors de cette étude et à proposer des perspectives de travail basées sur nos résultats en tenant compte des éventuelles limites des différentes expériences réalisées pour assurer la continuité du sujet abordé.

**Chapitre I :**  
**Synthèse Bibliographique**

## **I.1 Généralité sur les Nanoparticules de ZnO**

### **I.1.1 Définition de nanoparticules NPs**

Une nanoparticule est une particule dont la taille est inférieure à 100 nm. La particularité d'une nanoparticule réside dans le fait que la majorité des atomes qui la constitue se trouve en surface. Les nanoparticules présentent donc des surfaces d'échanges (surface spécifique) très importantes, de plusieurs centaines de mètres carrés par gramme de particule. Cette surface d'échange confère aux nanoparticules des propriétés physiques et chimiques particulières pouvant entraîner des effets biologiques propres, qui restent encore largement incompris, si elles rentrent en contact avec le vivant. La réactivité de surface des nanoparticules augmente inversement à la taille de la particule. Elle laisse prévoir que les NPs auront une activité biologique plus importante, à masse comparable, que les particules plus grosses. Cela peut être favorable et être utilisé dans des approches thérapeutiques comme transporteurs de médicaments vu leur capacité à franchir les barrières biologiques. Par contre cette propriété peut s'avérer défavorable et engendrer une toxicité associée à leur capacité à générer un stress oxydant et à se disperser dans l'organisme (**Oberdorster et al., 2005**).

### **I.1.2 Caractéristiques de NPs ZnO**

L'oxyde de zinc est un composé chimique d'oxygène et de zinc, corps ionique de formule chimique ZnO à poids moléculaire (81,39 g/mol). Généralement il apparaît comme une poudre blanche. C'est un composé amphotère soluble dans les solutions acides et basiques, c'est-à-dire il présente des propriétés à la fois acides et basiques. Il est, toutefois, plus facilement attaqué en milieu acide fort qu'en milieu basique fort (**FDS sigma Aldrich, 2006**).

### **I.1.3 Origine et utilisation de NPs ZnO**

Les NPs ZnO sont des nanoparticules manufacturées donc produites de façon intentionnelle pour de multiples usages (**Lanone et Boczkowski, 2010**).

#### **I.1.3.1 Industrie**

Les NPs ZnO ont une large gamme d'utilisation dans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique, électronique, plastique, textile, matériaux de construction, etc...

La nanopoudre de ZnO est actuellement utilisée dans des produits tels que les plastiques, la céramique, le verre, le ciment, le caoutchouc, les lubrifiants, les peintures, les pigments, les

aliments (source de Zn nutritif), les batteries, les produits ignifuges, etc... De plus, les NPs de ZnO sont des constituants courants des soins personnels, y compris les cosmétiques et les écrans solaires en raison de leur excellente absorption des UV et de leurs propriétés réfléchissantes (**Borm et al., 2006a**). La production mondiale de NPs pour les seuls produits de protection solaire, composés principalement de particules de TiO<sub>2</sub> et de ZnO, a été estimée à environ 1000 tonnes en 2003 et 2004 (**Borm et al., 2006a**). La consommation mondiale de NPs serait passée de 225 060 tonnes en 2014 à près de 584 984 tonnes en 2019, soit un taux de croissance annuel de 21,1 % (**Vale et al., 2016**).

La NP ZnO est considérée comme la troisième nanoparticule qui est largement utilisée avec une estimation de la production mondiale totale d'environ 550 et 33 400 tonnes par an (**Peng et al., 2017**). Ses propriétés antibactériennes et antifongiques favorisent le recours à son utilisation dans la fabrication de textiles, de matériel médical, d'additifs ou d'emballages alimentaires (**Song et al., 2010**).

La NP ZnO est un oxyde métallique, qui est beaucoup plus stable et a une durée de vie plus longue que les désinfectants à base organique ou les agents antimicrobiens. Cet aspect est particulièrement important pour des conditions difficiles telles que des températures élevées et/ou les pressions qui se produisent pendant la fabrication des produits, le stockage et le transport (**Zhang et al., 2010**). Les avantages de l'utilisation de ces oxydes inorganiques de nanoparticules comme agents antimicrobiens sont leur grande efficacité sur les souches résistantes d'origine pathologique, leur faible toxicité, leur résistance à la chaleur et leur bonne biocompatibilité avec les cellules humaines (**Emami et Chehrazi, 2011**).

### **I.1.3.2 Agriculture**

La nanotechnologie occupe une place prépondérante dans la transformation de l'agriculture et de la production alimentaire. La nanotechnologie a un grand potentiel pour modifier les pratiques agricoles conventionnelles.

Les nanoparticules d'oxyde de zinc, en solution colloïdale, sont utilisées comme engrais. Ce type de nano-fertilisant joue un rôle important en agriculture. Le nano-fertilisant est un nutriment pour les plantes qui est plus qu'un engrais, car il fournit non seulement des nutriments à la plante, mais ravive également le sol à un état organique sans qu'il soit nocif comme les engrais chimiques. L'un des avantages des nano-fertilisants est qu'ils peuvent être utilisés en très petites quantités. Un arbre adulte ne nécessite que 40 à 50 kg d'engrais alors qu'une quantité de 150 kg serait nécessaire pour les engrais ordinaires. Les nano-poudres peuvent également

être utilisées avec succès comme engrais et pesticides (**Selivanov et Zorin, 2001 ; Raikova et al., 2006**).

Les NP ZnO ont le potentiel d'augmenter le rendement et la croissance des cultures vivrières. Le rendement des plants de blé issus de graines traitées avec des nanoparticules métalliques a augmenté en moyenne de 20 à 25 % (**Batsmanova et al., 2013**). Les graines d'arachide ont été traitées avec différentes concentrations de nanoparticules d'oxyde de zinc. Un traitement à l'échelle nanométrique au ZnO (taille moyenne des particules de 25 nm) à une concentration de 1000 ppm a favorisé la germination des graines, la vigueur des semis et la croissance des plantes. Les NP ZnO se sont avérées efficaces pour augmenter la croissance des tiges et des racines des arachides (**Prasad et al., 2012**).

#### **I.1.4 Caractérisation de la nanostructure de ZnO**

Les NP ZnO sont caractérisées et leurs présences confirmées dans le milieu par les techniques suivantes : la Diffraction des Rayons X (XRD), la Microscopie Electronique à Transmission (TEM), la Microscopie Electronique à Balayage (MEB), la Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la Spectroscopie UV-Vis et la spectroscopie de photoluminescence (**Srivastava et al., 2013**).

#### **I.1.5 Dispersion des nanoparticules dans l'environnement**

Le relargage non contrôlé et non intentionnel de nanomatériaux manufacturés dans l'environnement est désormais un fait établi. En effet, il peut se produire aussi bien lors de l'utilisation par les consommateurs de produits contenant des NPs (par exemple vêtements, produits cosmétiques...), qu'au cours du cycle de vie des NPs ou des produits les contenant, depuis leur production jusqu'au traitement des déchets correspondants. Les nanomatériaux peuvent ainsi contaminer les flux industriels et les eaux de traitement des déchets, l'atmosphère via les gaz d'incinération, et les sols, à l'issue du dépôt des éléments contenus dans ces gaz ou au contact des eaux contaminées (**Gottschalk et Nowack, 2011**).

Certains produits manufacturés, tels que les vêtements, pourraient libérer des NPs dans l'environnement, susceptibles de contaminer les sols et l'eau (**Gottschalk et Nowack, 2011**), ce qui soulève des questions supplémentaires quant à l'ingestion par l'Homme d'espèces animales ou végétales issues des environnements contaminés, qui pourraient constituer une source d'exposition indirecte (**Gaiser et al., 2009**). Les boues d'épuration ajoutées aux sols peuvent être une autre source importante de NP (**Kah et al., 2018**).

**Keller et al. (2014)** a rapporté que les sols peuvent recevoir de 3,1 à 9,3 mille tonnes de nano-ZnO, ainsi que 36 tonnes de oxydes nano-Cu. Les NPs ZnO ont aussi été utilisées dans des processus de dépollution pour éliminer le Cd (II) des solutions aqueuses. Une élimination élevée (92 %) du Cd (II) a été obtenue grâce à une solution de 200 mg/l de concentration initiale de NP ZnO (**Srivastava et al., 2013**).

### **I.1.6 Mode et voie d'exposition au NPs**

Le comportement et les effets des nanoparticules dans l'organisme dépendent de la forme à laquelle celui-ci est exposé d'une part, et d'autre part de la voie de pénétration des NPs, ces deux aspects étant étroitement liés. En effet, les NPs peuvent se présenter sous la forme de particules libres dans l'air, susceptibles de pénétrer préférentiellement les voies respiratoires. En revanche, intégrées à la composition de produits manufacturés (cosmétiques, produits de pharmaceutiques ou d'alimentation...), ou employées à des fins biomédicales (imagerie, vectorisation de médicaments...), elles se présentent sous forme solide, gélifiée ou liquide, impactant alors directement la peau ou les voies digestives (**Casals et al., 2008**). D'autres études ont montré également que certaines les NPs sont capables de traverser la barrière placentaire, induisant ainsi un risque d'altération du développement fœtal (**Kulvietis et al., 2011**).

### **I.1.7 Toxicité de NPs ZnO**

Des études montrent que les NPs ZnO peuvent tout d'abord affecter la forme et la structure des cellules, et causer notamment des dommages membranaires de façon plus marquée que d'autres NPs d'oxydes métalliques telles que TiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ou Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (**Jeng et Swanson, 2006**). D'autres études montrent également que la toxicité de NP ZnO est associée à des dommages à l'ADN et aux mitochondries, ainsi qu'à un état de stress oxydant accompagnée de la production accrue des espèces réactives de l'oxygène (ROS) par les cellules (**Hackenberg et al., 2011**).

La poussière ou les fumées d'oxyde de zinc peuvent irriter les voies respiratoires. L'exposition à des niveaux élevés de poussière ou de fumée peut provoquer un goût métallique, une soif marquée, de la toux, de la fatigue, de la faiblesse, des douleurs musculaires et nausées suivies de fièvre et de frissons. Une surexposition grave peut entraîner une bronchite ou pneumonie avec une teinte bleutée de la peau. De même un contact prolongé avec la peau peut produire une dermatite sévère appelée variole oxydée. Une exposition prolongée ou répétée peut provoquer des anomalies réversibles des enzymes hépatiques et des Diarrhées (**FDS sigma Aldrich, 2006**).

Des fortes concentrations en particules fines (de taille est inférieure à 2,5 nm) ont un impact, à court terme, sur l'état de santé concernant en particulier les problèmes respiratoires et cardiovasculaires ; l'exposition à de fortes concentrations en particules fines peut conduire à une réduction de l'espérance de vie (**Grara et al., 2015**).

### I.1.8 Ecotoxicité de NP ZnO

La nano-écotoxicologie se développe beaucoup moins rapidement, et peu de données concernent encore l'impact des NPs manufacturées sur l'environnement et les écosystèmes (**Kahru et Savolainen, 2010 ; Mehennaoui, 2017**).

Parmi les effets étudiés, on retrouve des changements de comportement chez les mammifères (**De Souza et al., 2018**), des effets mutagènes et cytotoxiques sur les reptiles (**Araújo et al., 2019**) et les oiseaux (**Vieira et al., 2019**), impact sur le taux de croissance et de survie des amphibiens (**Nations et al., 2011; Al Mahrouqi et al., 2018**), ainsi que l'induction du stress oxydatif (**Kaya et al., 2015**) et l'effet des NPs et plus particulièrement des NP d'argent sur les amphipodes (*Gammarus fossarum*) d'eau douce (**Mehennaoui et al., 2016**).

Chez les poissons, un dysfonctionnement rénal et hépatique (**Chupani et al., 2018**), et des dommages histopathologiques et génotoxiques (**Shahzad et al., 2019**) sont constatés. Des effets indésirables dose-dépendants du NP ZnO sur les embryons de poissons zèbres (*Danio rerio*) et les éléuthéro-embryons ont été décrits par **Brun et al. (2014)**, entraînant des réactions d'éclosion et d'inflammation (**Yu et al., 2011 ; Xia et al., 2011**).

**Hao et Chen (2012)** signalent une augmentation significative des niveaux de la peroxydation des lipides (LPO) et une diminution de l'activité du glutathion réduit (GSH) dans les branchies, le foie et le cerveau des carpes à la suite d'une exposition de 14 jours à 50 mg/l de NPs ZnO.

Les NPs ZnO peuvent établir des liaisons hydrogène et des échanges de ligands avec la paroi cellulaire bactérienne, modifiant la structure de la protéine et par conséquent sa fonction (**Jiang et al., 2010**), comme elle peut générer des ROS en raison de ses propriétés photo-catalytiques (**Suresh et al., 2015**). Exposée à la lumière UV, elle peut également subir une photo-corrosion diminuant son activité photo-catalytique dans les suspensions aqueuses (**Hariharan, 2006**).

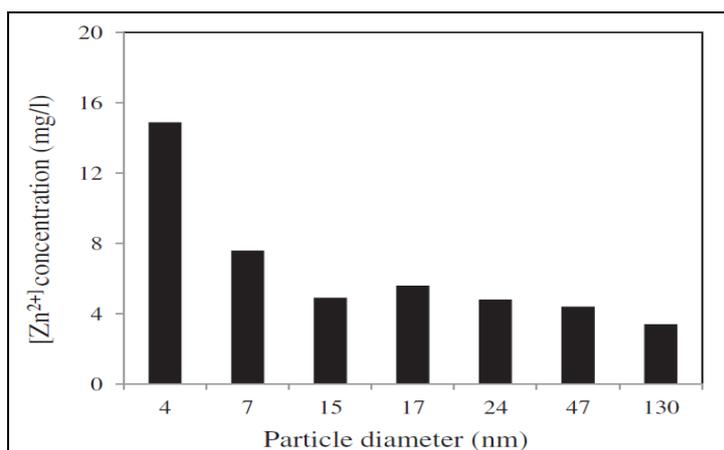
Chez les bivalves, la présence de NP ZnO a entraîné une augmentation de la peroxydation des lipides (LPO) dans la glande digestive (**Gagné et al., 2013**). Des résultats similaires ont également été observés chez les escargots (**Fahmy et al., 2014**), avec une diminution de la teneur en glutathion réduit (GSH), une inhibition significative de l'activité superoxyde

dismutase (SOD) et catalase (CAT) et une diminution de la concentration totale des protéines (Ali *et al.*, 2012 ; Fahmy *et al.*, 2014).

## I.1.9 Facteurs influençant sur la toxicité et la biodisponibilité de NP ZnO

### I.1.9.1 Taille des particules

Selon Borm *et al.* (2006b), les taux de dissolution des nanoparticules sont contrôlés par le coefficient de diffusion de la molécule de soluté, le volume de la solution, la surface des particules et l'épaisseur de la sous-couche diffusible lorsque d'autres facteurs environnementaux tels que le pH et la température sont fixés. Des taux de dissolution plus élevés seraient attendus pour les nanoparticules de plus petite taille en raison de leur augmentation de la surface spécifique. Reed *et al.* (2012) soulignent l'augmentation significative de la solubilité avec la taille décroissante de particule de ZnO ; de même, l'augmentation de la superficie est une raison importante pour induire des taux cinétiques de dissolution (fig.1) (Mudunkotuwa *et al.*, 2012).



**Figure 1** : Dissolution de nanoparticules de ZnO (concentration [Zn<sup>2+</sup>] mesurée après 24 h) en suspension aqueuse en fonction de la taille des particules.

Concentration initiale de ZnO = 500 mg/l ; pH =7,5. (Mudunkotuwa *et al.*, 2012)

### I.1.9.2 pH du milieu

Le pH joue un rôle important dans la dissolution des particules de ZnO (Yamabi et Imai, 2002). L'examen systématique de la cinétique de libération du Zn<sup>2+</sup> dans différents conditions suggère que le pH influence significativement sur la dissolution du NP ZnO (Miao *et al.*, 2010).

Comme pour la NP TiO, la NP ZnO peut également adsorber plusieurs éléments tels que As, Al, Mo, Hg, Pb, Cu, Ni et Cd (Hua *et al.*, 2012 ; Mahdavi *et al.*, 2012 ; Sheela *et al.*, 2012 ; Gagné *et al.*, 2013), modifiant leurs spéciations dans le milieu et donc leur biodisponibilité.

Lorsqu'ils sont internalisés, ces complexes NP-métal peuvent subir une dissociation suivie d'une dissolution des NP en raison des conditions acides du milieu intérieur, entraînant la libération des xénobiotiques adsorbés et augmentant ainsi considérablement leur concentration dans les tissus des organismes (Vale et al., 2016).

### I.1.9.3 Température

La température peut également affecter la dissolution de NP ZnO. Une diminution constante de la solubilité du ZnO à 37 °C par rapport à 20 °C a été signalée (Reed et al., 2012).

### I.1.9.4 Matière organique

L'influence de la matière organique naturelle sur la dissolution du ZnO dépend de la structure chimique spécifique de la matière organique naturelle. La matière organique peut améliorer la dissolution du ZnO, en fournissant des agents chélatants pour les ions  $Zn^{2+}$ , ou inhiber la dissolution par adsorption à la surface des particules et en bloquant l'interaction avec les molécules d'eau (Hongbo et al., 2013).

### I.1.9.5 Phosphate

Le phosphate est un autre composant qui peut avoir une influence significative sur la dissolution du ZnO par précipitation et/ou transformation microstructurale (Hongbo et al., 2013).

### I.1.9.6 Eclairage

Quelques études ont documenté que la toxicité des NPs de ZnO était considérablement augmentée sous la lumière naturelle du soleil (Lipovsky et al., 2009) par rapport à l'éclairage fluorescent ou sombre de laboratoire, bien que ces études n'étaient pas initialement axées sur la phototoxicité des NPs de ZnO. La toxicité photo-induite a été démontrée pour la première fois par Ma et al. (2011) qui ont rapporté que sous la lumière naturelle du soleil, les NPs ZnO (60 et 100 nm) ont causé la mortalité du nématode *Caenorhabditis elegans* dans les deux heures avec une  $CL_{50}$  à 2 h de 25 mg/l, alors que les mêmes concentrations de NP ZnO n'ont induit aucun effet indésirable en laboratoire en conditions d'éclairage ou d'obscurité. Cette phototoxicité était étroitement liée à la génération photo catalytique de ROS par les NP. Certaines NP de ZnO (c'est-à-dire celles dopées avec un « atome d'impureté ») se sont avérées

être photo-activées sous la lumière visible et provoque des effets destructeurs sur les cellules (Lipovsky *et al.*, 2011) ou des bactéries (Sapkota *et al.*, 2011).

#### **I.1.10 Phytodisponibilité et bioaccumulation des nanoparticules**

Les données disponibles sur l'effet des nanomatériaux sur la flore sont limitées (Bernhardt *et al.*, 2010). Cependant des travaux sur des végétaux ont rapporté que les NPs peuvent être absorbées (Schwab *et al.* 2015), transportées (Wang *et al.*, 2012) et concentrées dans les vacuoles, les noyaux et les plasmodesmes (Schwab *et al.*, 2015), modifiant ainsi les processus physiologiques de la plante ainsi que sa croissance et son développement (Garcia-Sanchez *et al.*, 2015).

#### **I.1.11 Mécanisme de défense des plantes contre le stress oxydatif**

D'après Kaya *et al.* (2015), les NPs ZnO engendrent un stress oxydatif aux végétaux et les plantes photosynthétiques y sont plus exposées, en raison de leurs conditions oxygénées, de l'abondance des photo sensibilisants et des acides gras polyinsaturés (AGPI) dans la membrane plastidiale. En présence de lumière, les chloroplastes et les peroxysomes sont la principale source de production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Parent *et al.*, 2008). L'augmentation des ROS expose la cellule au stress oxydatif provoquant la peroxydation lipidique, la détérioration des macromolécules biologiques, le blocage des ions, etc... (Yadav, 2010).

Les espèces réactives de l'oxygène, générées lors de l'exposition aux métaux ou à d'autres stress, peuvent réagir avec la plupart des constituants cellulaires en oxydant les lipides, les protéines, l'ADN et d'autres molécules. Ils peuvent même mener à la mort cellulaire (Garg *et Manchanda*, 2009).

Pour pallier l'effet toxique du stress oxydatif, la plante active les antioxydants enzymatiques (CAT, POX et SOD) et non enzymatiques (proline) (Sewelam *et al.*, 2016). Ces enzymes sont les éléments clés du mécanisme de défense (André *et al.*, 2010).

## I.2 Présentation des Modèles végétaux

### I.2.1 Blé tendre

#### I.2.1.1 Caractéristiques et origine de blé tendre

Le blé est une plante monocotylédone de la famille des *Poaceae* appartenant au genre *Triticum*. Cette plante annuelle produit un fruit sec indéhiscent qui est le caryopse. Le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) (**fig. 2**) et le blé dur (*Triticum durum*) sont les deux espèces les plus cultivées dans le monde.

Le blé tendre est apparu entre 5000 et 6000 ans avant Jésus-Christ dans le croissant fertile puis s'est dispersé à partir de la Grèce en Europe (**Doussinault et al., 1992**). C'est à partir de cette zone que le blé a été diffusé vers l'Afrique, l'Asie et l'Europe. La route la plus ancienne de diffusion des céréales vers les pays du Maghreb fut à partir de la péninsule italienne et de la Sicile (**Bonjean, 2001 in Boulal et al., 2007**).



**Figure 2** : plants et graines de blé tendre

#### I.2.1.2 Utilisations du blé tendre

##### I.2.1.2.1 Alimentation

La majorité des utilisations du blé tendre concerne l'alimentation humaine et animale. Dans l'alimentation humaine, le blé dur est destiné à la biscuiterie, la fabrication de semoule, ou de pâtes. Le blé tendre quant à lui est utilisé principalement en meunerie pour obtenir de la farine nécessaire à la production de pain, de viennoiseries ou de pâtisseries (**Clément, 2010**).

##### I.2.1.2.2 Industrie

Outre les utilisations classiques du blé, de nouvelles utilisations à échelle industrielle apparaissent depuis quelques années telles que la fabrication de bioplastiques à base de gluten ou d'amidon. Les principaux débouchés sont les sacs plastiques, les plastiques agricoles, les

emballages et certains produits d'hygiène. Ces bioplastiques ont l'avantage, par rapport à leurs homologues d'origine fossile, d'être biodégradables et renouvelables (Clément, 2010).

L'amidonnerie, troisième secteur valorisant le blé, utilise l'amidon pour faire des épaississants alimentaires. Par l'intermédiaire de la chimie, l'amidon a de multiples usages. Par exemple dans l'industrie pharmaceutique, il est utilisé en tant que dragéifiant, liant ou encore principe actif tel que le sorbitol. Dans de moindres proportions, l'amidon transformé peut être employé dans la fabrication de papier, de carton mais aussi de détergents. L'amidon du blé tendre est également utilisé depuis plusieurs années comme matière première pour la fabrication de biocarburants (Clément, 2010).

### I.2.1.2.3 Ecotoxicologie

Le blé tendre figure parmi la liste des espèces habituellement utilisées dans les essais sur plantes (OCDE n° 208). Il est facilement cultivé et maintenu dans un laboratoire et il a été utilisé dans des tests de toxicité pour étudier, par exemple, les effets toxiques de polluants tels que le chlorimuronéthyle et le cadmium (Wang et Zhou, 2006).

Des études antérieures ont utilisé le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) pour les tests car c'est la principale céréale de base dans le nord de la Chine et plus précisément dans les vallées de Wei et Fen, au Canada, aux États-Unis, en Russie et dans d'autres pays du monde. De plus, le blé a été largement utilisé dans les tests d'écotoxicologie pour étudier les effets toxiques de polluants tels que les produits de soins personnels et les métaux lourds (Wang et Zhou, 2005 ; An et al., 2009).

### I.2.1.3 Production et consommation du blé en Algérie

Le blé fait partie des trois céréales les plus cultivées dans le monde avec le riz et le maïs. La production mondiale de blé s'élève à 690 Mt en 2008 (FAOstat).

Actuellement, l'Algérie est un grand importateur de blé et se trouve dépendante du marché international. Cette situation risque de se prolonger encore pendant plusieurs années, faute de rendements insuffisants et des besoins de consommation sans cesse croissants devant une forte évolution démographique (Chellali, 2007).

Le département américain de l'agriculture (USDA) prévoit que la consommation de blé de l'Algérie atteindra 10,7 à 11 millions de tonnes durant la saison 2020/2021, alors que la production locale de blé diminuera de 5,1% à 3,75 millions de tonnes au cours de la même

période. La production algérienne de blé, au cours de la campagne 2019/2020, est estimée à 3,95 millions de tonnes, selon une analyse de juillet 2020 de l'USDA (Arezki, 2021).

## I.2.2 Colza

### I.2.2.1 Caractéristiques et origine de colza

Le colza, *Brassica napus* L. (fig. 3) appartient à la sous-tribu Brassicinae, à la tribu Brassiceae et à la famille des Brassicaceae (crucifères), parfois appelée la famille de la moutarde. *B. napus* a un feuillage vert bleuâtre foncé, lisse ou présentant quelques poils épars près des marges, et partiellement enserrant. Les tiges sont bien ramifiées, bien que le degré de ramification dépende de la variété et des conditions environnementales ; les branches prennent naissance à l'aisselle des feuilles les plus hautes de la tige, et chacune se termine par une inflorescence. Cette dernière est une grappe allongée, les fleurs sont jaunes, groupés au sommet mais pas plus haut que les bourgeons terminaux, et s'ouvrent vers le haut à partir de la base du racème (Musil, 1950).



Figure 3 : plants et graines de colza

### I.2.2.2 Utilisations du colza

#### I.2.2.2.1 Phytoremédiation

Le colza (*Brassica napus* L.) une plante idéale pour la phytoremédiation (Zhang et Song, 2018). Plusieurs gènes, semblent intervenir dans la détoxification du Cd (Zhang *et al.*, 2013, 2018b). D'après Stephen *et al.* (1997) *B. napus* et *B. rapa*, ont montré une tendance similaire d'accumuler un taux modéré de métaux lourds. Elles peuvent être adaptées à une utilisation en phytoremédiation à divers métaux tel que l'argent.

### I.2.2.2.2 Industrie

Le colza est une source importante d'huile végétale comestible, de fourrage végétal, d'alimentation animale, d'engrais vert et de biodiesel (**Zhang et Song, 2018**). Les abeilles ne sont pas les seules à profiter du colza et à l'utiliser pour leur production de miel. En raison de sa composition particulièrement riche en acides gras, le colza est également une matière première de choix pour l'alimentation humaine dans la production de margarine, de mayonnaise et d'huile de cuisson. Du point de vue physiologie nutritionnelle, l'huile de colza est l'une des huiles de cuisson les plus commercialisées. L'industrie chimique utilise également le colza comme matière première. Grâce à sa composition spéciale en acides gras, il convient comme lubrifiant ou huile hydraulique dans le secteur des machines.

### I.2.2.2.3 Ecotoxicologie

Le colza figure parmi la liste des espèces habituellement utilisées dans les essais sur plantes selon les normes **OCDE n° 208 juin 2021, NF EN ISO 9167 juin 2019**.

## I.2.3 Cresson

### I.2.3.1 Caractéristiques et origine de cresson

*Lepidium sativum* L. (**fig. 4**) appelé communément le cresson alénois appartient à la famille des Brassicacées, un proche parent des plantes du genre Brassica (moutarde, colza et chou), originaire d'Egypte et d'Asie occidentale. Le cresson est une plante herbacée annuelle de 10 à 15 cm de hauteur et de levée très rapide, en 2 jours. Les graines sont oblongues de couleur rouge cuivré (fig.4). Il fleurit de mai à juillet. Le cresson de jardin peut être semé et récolté plusieurs fois au cours de l'année, bien que janvier, février et novembre sont les mois les plus appropriés de l'année pour semer le cresson alénois en climat méditerranéen (**Tuncay et al., 2011**). Le cresson est largement cultivé dans les pays tempérés pour diverses usages culinaires et médicinaux (**Gokavi et al., 2004**).



**Figure 4** : plants et graines de cresson

### I.2.3.2 Utilisations du cresson

#### I.2.3.2.1 Alimentation et médecine

*Lepidium sativum* L. à usage culinaire et médicinal (**Gokavi et al., 2004**) est consommé principalement en salades et soupe ; il aurait d'importants effets biologiques tels que cardiotonique, hypotensif, bronchodilatateur, antimicrobien, antiprotozoaire, antibiotique et hypoglycémiant (**Sarikami et Yanmaz, 2011**). En Asie du Sud, les graines de *L. sativum* sont utilisées comme médicament traditionnel pour traiter la bronchite, l'asthme et la toux. Elles sont considérées comme un remède abortif, diurétique, expectorant, antibactérien, stimulant gastro-intestinal, gastro-protecteur. Elles sont appliquées aussi pour soulager la douleur et l'enflure des articulations rhumatismales, dans le hoquet, la dysenterie, la diarrhée et les maladies cutanées causées par les impuretés du sang. D'après **Karazhiyan et al. (2011)** chaque partie de *L. sativum* est utilisée pour divers traitements des maladies: Les graines sont appliquées dans une large gamme de fonctions biologiques et de maladies telles que la lèpre, les maladies de la peau et comme diurétique. Les racines sont utilisées dans le traitement de la syphilis secondaire et du ténésme. Les feuilles constituent un remède antibactérien et un traitement du scorbut et de l'hépatopathie.

*Lepidium sativum* L., plante riche en phyto-constituants comme les composés phénoliques, la vitamine E et les terpénoïdes, peut être utilisé comme un puissant antioxydant, antilipidémique et un booster de la teneur totale en protéines (**Kousar et al., 2011**). Des bonbons traditionnels destinés aux mères allaitantes sont préparés à partir des graines de *L. sativum* (**Doke et Guha, 2014**).

#### I.2.3.2.2 Écotoxicologie

Le Cresson réagit de façon sensible aux perturbations de substrat. Les tests sur le cresson sont faciles à réaliser et à interpréter ; ils sont généralement utilisés en test de phytotoxicité d'un composte (**Fuchs et Gilles, 2018**).

*Lepidium sativum* L. figure parmi la liste des espèces préconisées pour l'étude de l'inhibition de la germination (**AFNOR X 31-201**) et pour l'étude de l'émergence et de la croissance des végétaux supérieurs (**ISO 11269-2 mars 2012, OCDE n° 208 juin 2021**)

# **Chapitre II :**

## **Matériel et Méthodes**

## **II. Matériel et Méthodes**

Les tests de germination, de l'émergence et de la croissance sont conduits dans un phytotron au niveau du laboratoire Culture *in vitro* alors que les analyses biométriques, physio-morphologiques et biochimiques sont effectuées au niveau du laboratoire Analyses Environnementales du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt).

### **II.1 préparation et méthodologie de semis (réalisation de l'essai)**

#### **II.1.1 Substance d'essai**

La substance chimique utilisée dans nos d'essais consiste en des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) de marque Sigma-Aldrich (Germany), CAS N° 1314-13-2 dont la taille des particules est inférieure à 100 nm.

#### **II.1.2 Matériel végétal utilisé**

##### **II.1.2.1 Critère de sélection de l'espèce de l'essai et des graines**

Le choix des espèces et des graines devra tenir compte des caractéristiques décrites dans la norme OCDE n° 208.

Le matériel végétal ayant fait l'objet de cette étude sont des graines de blé tendre, de colza et de cresson. Elles ont été choisies en raison de leur diversité taxonomique dans le règne végétal, leurs différences morphologiques, foliaires et racinaires, leurs valeur agricole et économique.

Les semences ont été inspectées visuellement à l'aide d'une loupe binoculaire pour trier les graines saines de celles endommagées morphologiquement ou décolorées. Elles sont ainsi choisies de taille similaire, et selon leur état sanitaire et la couleur du tégument.

##### **II. 1.2.2 Préparation des graines**

Les graines sont trempées dans une solution d'hypochlorite de sodium (NaClO) à 2,5 % pendant 15 minutes afin de les décontaminer de tous types de contaminants fongiques, puis elles sont rincées abondamment à l'eau de robinet puis à l'eau distillée. Les graines sont ensuite conservées au réfrigérateur à 4°C pendant 24h pour lever tout état de dormance.

##### **II. 1.2.3 Vérification du pouvoir germinatif des graines**

Avant d'entamer l'expérience de germination, le pouvoir germinatif des graines a été vérifié comme suit : à raison de 3 répétitions, 10 graines ont été placées dans des boîtes de Pétri,

imbibées à l'eau déminéralisée(fig.5) et maintenues dans une enceinte de germination à l'obscurité, à une température de 23°C pendant 03 jours.



**Figure 5** : Vérification du pouvoir germinatif des graines

### II.1.3 Substrat d'essai

Nos expériences sont menées dans des pots en plastique de 360 g sur un substrat artificiel, le terreau commercial de marque « Terra Brill substrat professionnel ». Il a été stérilisé au préalable. Le terreau a été mélangé avec les NPs de ZnO à différentes concentrations.

### II.1.4 Préparation des concentrations de NPs ZnO et semis des graines

Les nanoparticules de ZnO à différentes concentrations (**tableau 1**) sont ajoutées au substrat sec puis bien mélangée jusqu'à disparition (**figure 6**). Le substrat est imbibé à l'eau du robinet puis transféré dans des pots en plastique à fond perforé. Ces derniers sont, au préalable, désinfectés à l'hypochlorite de sodium (NaClO) afin d'éliminer tous types de contaminants fongiques, puis rincés plusieurs fois à l'eau du robinet.

Le nombre de graine à semer par pot est fixé en fonction de la taille des graines soit 30 graines blé tendre, 50 graines de colza et 100 graines de cresson à raison de 3 répétitions par traitement (3 pots/traitement). Les pots sont placés dans des bacs d'irrigations pour assurer l'apport en eau et éviter toute éventuelle précipitation de NPs ZnO.

L'essai est mené dans une salle d'acclimatation (**figure 7**) où les conditions de cultures contrôlées sont : photopériode 16 h, la température de 24°C  $\pm$  2, humidité : 40 %.

**NB** : toutes ces étapes ont été répétées pour les paramètres biométriques et physio morphologiques, afin de pouvoir enlever la plante entière (partie racinaire et foliaire) sans engendrer un stress aux autres pieds des plantes.

**Tableau 1 : Concentrations de NPs ZnO de l'essai**

Traitement et codification	Concentrations en g ZnO/kg de terreau
T	0 (témoin)
C1	0.035
C2	0.175
C3	0.875
C4	4.375
C5	21.875

**Figure 6 : Mélange du terreau avec les NPs ZnO et le semis des graines.****Figure 7 : Chambre d'acclimatation (marque Gaooze)**

### II.1.5 Plan expérimental

L'essai est conduit selon un dispositif expérimental en blocs complètement aléatoires, comportant 6 traitements. Chaque traitement est répété 3 fois (3 pots/traitement). Chaque série de 3 pots reçoit une concentration de NPs ZnO, désignées par T, C1, C2, C3, C4 et C5 soit 18 pots par type de graines. Les traitements appliqués sont :

- Traitement (T) : substrat sans apport de NPs ZnO (Témoin) ;
- Traitement (C1) : substrat avec un apport de 0.035 g NPs ZnO /Kg de terreau ;
- Traitement (C2) : substrat avec un apport de 0.1750 g NPs ZnO /Kg de terreau ;
- Traitement (C3) : substrat avec un apport de 0.875 g NPs ZnO /Kg de terreau ;
- Traitement (C4) : substrat avec un apport de 4.375 g NPs ZnO /Kg de terreau ;
- Traitement (C5) : substrat avec un apport de 21.875 g NPs ZnO /Kg de terreau.

### II.2 Prélèvement des échantillons

Pour évaluer les paramètres biométriques et physio-morphologiques, les échantillons des plantes sont prélevés entièrement (partie foliaire et racinaire). Par contre pour les paramètres biochimiques, la récolte de la partie aérienne a été effectuée le jour même de l'analyse.

### II.3 Paramètres biologiques

#### II.3.1 Paramètres biométriques

##### II.3.1.1 Taux de germination

Après le semis, on effectue un comptage des graines germées dans chaque pot (**figure 8**). Le taux de germination est le rapport du nombre de graines germées sur le nombre de graines semées. Le taux de germination est calculé selon la formule suivante :

**Taux de germination (%) = (nombre de graines germées / nombre de graines semées) × 100**



**Figure 8** : Germination des semis de blé dur, de colza et de cresson.

### II.3.1.2 Elongation racinaire (ER) et élongation foliaire (EF)

La longueur de la racine principale (**ER**) est mesurée à l'aide d'une règle après avoir ôté le terreau, bien rincé sous l'eau de robinet puis bien séché avec du papier absorbant. Comme pour l'élongation racinaire, nous avons déterminé la longueur foliaire (**EF**) en prenant en considération la longueur de toute la tige. Les résultats sont exprimés en cm.

## II.3.2 paramètres physio-morphologiques

### II.3.2.1 Teneur en eau des racines et des feuilles (TE %)

Pour déterminer la teneur en eau des racines et des feuilles, le poids frais et le poids sec de chacune des deux parties de la plante ont été déterminés après leurs séparations.

#### ➤ Poids frais (Pf)

Immédiatement après la récolte, le poids frais des parties aériennes et racinaires de chaque plante a été déterminé par pesée à l'aide d'une balance de précision.

#### ➤ Poids secs (Ps)

Après la détermination du poids frais (Pf), les parties aériennes et racinaires sont séchées à l'étuve à 105°C, jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Le poids sec des échantillons a été déterminé par pesée à l'aide d'une balance de précision. La teneur en eau est exprimée par la formule suivante :

$$\text{TE (\%)} = \frac{[\text{Pf}-\text{Ps}]}{\text{Pf}} \times 100$$

### II.3.2.1 Chlorophylle

L'extraction des pigments chlorophylliens des tissus foliaires a été réalisée suivant la méthode de **Mc Kinney *et al.* (1941)** cités par **Arnon (1949)**. Elle consiste à broyer environ 500 mg de feuilles fraîches dans une solution d'acétone (80%), en présence de quelques milligrammes de sable pour optimiser la libération des pigments chlorophylliens. Après filtration, on procède à la lecture de la densité optique des filtrats à l'aide d'un spectrophotomètre aux longueurs d'ondes suivantes : 663 nm et 646 nm après étalonnage de l'appareil avec la solution témoin de l'acétone à 80%.

Les résultats sont exprimés en mg/g de MF et les concentrations en chlorophylle (a) et (b) sont déterminées à l'aide des équations suivantes :

- ✓ Chl. (a) mg/g MF =  $[12,7 \cdot \text{DO}(663) - 2,69 \cdot \text{DO}(645)] \cdot 0,1$
- ✓ Chl.(b) mg/g MF =  $22,9 \cdot \text{DO}(645) - 4,69 \cdot \text{DO}(663)] \cdot 0,1$
- ✓ Chl. Total mg/g MF = Chl (a) + Chl (b)

### II.3.3 Paramètres biochimiques

#### II.3.3.1 Proline

La proline est dosée par la méthode de **Troll et Lindsley, (1955)**, modifiée par **Monneveux et Nemmar (1986)**. Pour chaque échantillon prélevé, 100 mg de matière fraîche sont introduits dans un tube à essai, dans lequel sont ajoutés 2 ml de méthanol à 40%. Les tubes sont fermés pour éviter la volatilisation de l'alcool et l'ensemble est chauffé au bain-marie à 85°C pendant 60 mn. Après refroidissement, on prélève 1 ml d'extrait auquel est ajouté 1 ml d'acide acétique (CH<sub>3</sub>COOH), 1 ml du mélange contenant [12 ml d'eau distillée, 30 ml d'acide acétique, 80 ml d'acide ortho-phosphorique (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> densité 1.7) et 25 mg de ninhydrine]. Portée à ébullition pendant 30 mn, la solution vire progressivement au rouge. Après refroidissement, 5 ml de toluène sont ajoutés à la solution. L'agitation au vortex conduit à la séparation de 2 phases. La proline n'est présente que dans la phase supérieure qui est récupérée et déshydratée par l'adjonction de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre. Enfin la densité optique est déterminée par un spectrophotomètre à la longueur d'onde 528nm.

#### II.3.3.2 Sucres totaux

Les sucres solubles sont dosés par la méthode de **Dubois et al. (1956)**. Elle consiste à prendre 100 mg de matière végétale dans des tubes à essai auxquels sont ajoutés 3 ml d'éthanol à 80% pour l'extraction des sucres, puis laissés à température ambiante pendant 48h à l'obscurité. Au moment du dosage, le contenu des tubes est filtré et complété avec 20 ml d'eau distillée pour constituer ainsi la solution à analyser. Dans des tubes en verre, 1 ml de la solution à analyser est additionné de 1 ml de phénol à 5% puis 5 ml d'acide sulfurique (d=1,86) tout en évitant le contact avec les parois du tube. Ainsi une coloration jaune-orange de la solution est obtenue. Les tubes sont ensuite passés au bain-marie à une température de 30°C pour une durée d'environ 10 à 20 mn. La densité optique est mesurée à la longueur d'onde 490 nm.

#### II.3.3.3 Malondialdéhyde (MDA)

Le niveau de peroxydation lipidique a été déterminé en mesurant le niveau de malondialdéhyde (MDA). Des morceaux de feuilles (environ 0,5 g) ont été broyés dans 5 ml de solution d'extraction d'acide trichloracétique (TCA 5%). Le mélange a été centrifugé à 13000 rpm pendant 20 min et la teneur en MDA dans le surnageant a été mesurée par la réaction de l'acide Thiobarbiturique (TBA) selon la méthode TBA corrigée (**Hodges et al., 1999**).

Brièvement, 2 ml de surnageant ont été ajoutés à 3 ml de TBA 0,5% comprenant 0.5% de TCA. Le mélange a été chauffé et maintenu à 95°C pendant 30 min, puis refroidi dans de la glace et centrifugé (13 000 tr/min pendant 15 min). Le surnageant a été détecté à 600 nm, à 532 nm et 450 nm. La concentration de MDA a été déterminée par l'équation suivante.

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/ml}) = 6.45 \times (\text{DO532}-\text{DO600}) - 0.56 \times \text{DO450}$$

#### II.4 Traitement et analyse des résultats

Dans un premier temps, les indicateurs statistiques (moyenne, écart type, minimum et maximum) ont été déterminés systématiquement.

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel XLSTAT (XLStat 2016). La normalité des données a été vérifiée en utilisant le test Shapiro-wilk, et le test de Bartlett pour vérifier l'homoscédasticité.

Si les ensembles de données ne sont pas normalement distribués, une analyse de Kruskal-Wallis est appliquée pour apprécier l'effet des concentrations de NPs ZnO sur les différents paramètres évalués pour les trois espèces, suivie par le test de Dunn pour extraire les groupes homogènes.

Et si les tests de normalité et d'homogénéité sont vérifiés et acceptés, nous faisons appel à l'analyse de la variance (ANOVA) suivie du test post-Hoc de Newman-Keuls pour chacun des paramètres étudiés afin de faire ressortir l'effet des concentrations de NPs ZnO sur les différents paramètres évalués pour les trois espèces. Ces analyses sont suivies du test de Dunnett pour bien faire ressortir les différences qui existent entre les concentrations de NPs ZnO et le témoin.

Enfin, des corrélations entre les paramètres mesurés ont été effectuées par l'analyse en composantes principales (ACP).

# **Chapitre III :**

## **Résultats**

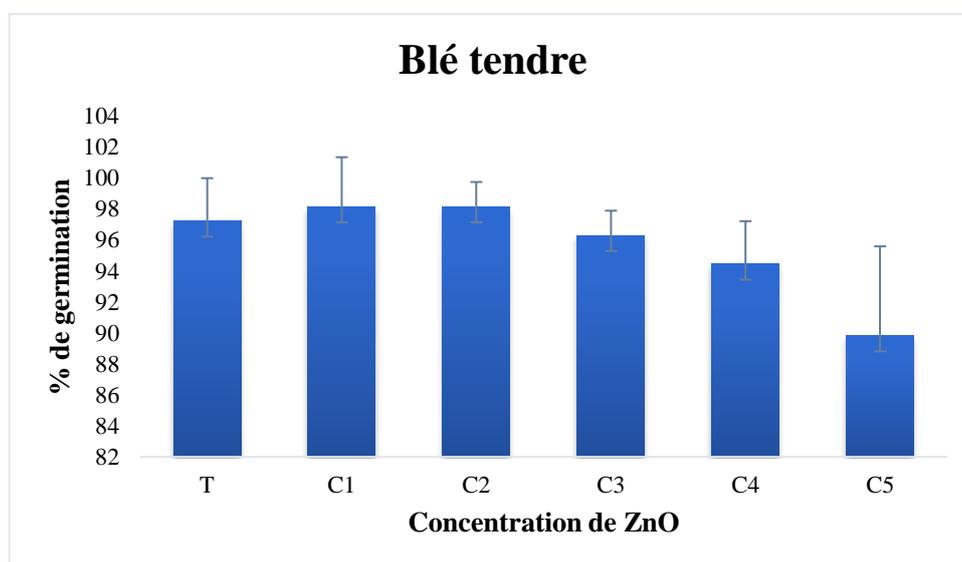
### III RESULTATS

#### III.1 Paramètres biométriques

##### III.1.1 Effet de la concentration de NPs ZnO sur le taux de germination

###### III.1.1.1 Blé tendre

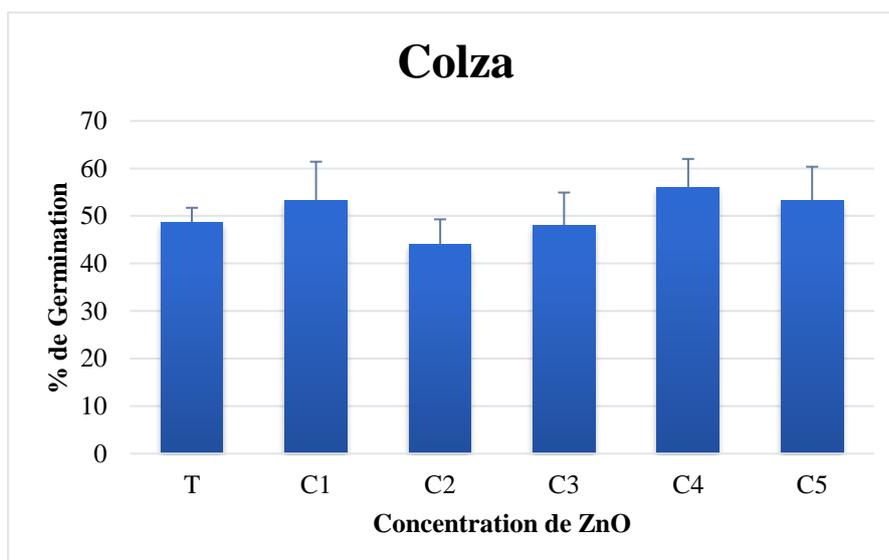
La **figure 9** révèle que les pourcentages de germination les plus élevés sont constatés pour les concentrations C1 et C2 ( $98.15 \pm 3.21\%$ ,  $98.15 \pm 1.60\%$ ) et le plus faible pour la concentration de NPs ZnO C5 ( $89.81 \pm 5.71\%$ ). Néanmoins *via* le test de Kruskal-Wallis, il n'y a pas de différence significative de l'effet de la variation en concentration de ZnO sur le taux de germination du blé tendre ( $p > 0,05$ ).



**Figure 9 : Effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux de germination des graines de blé tendre.**

###### III.1.1.2 Colza

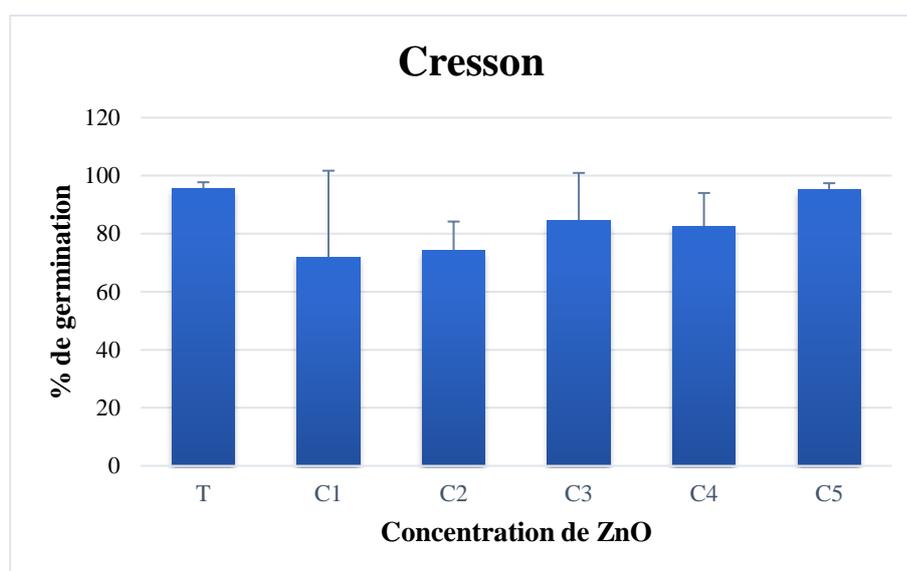
L'observation des résultats illustrés par la **figure 10**, montre que le taux de germination est maximal pour la concentration C4 de NP ZnO ( $56 \pm 06\%$ ) et le minimum est enregistré à la concentration C2 ( $44 \pm 5.29\%$ ). Cependant, les résultats de l'analyse de la variance (ANOVA) de l'effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux de germination des graines de colza ( $F= 1.49$ ,  $p > 0.05$ ) a révélé une différence non significative.



**Figure 10 : Effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux de germination des graines de colza.**

### III.1.1.3 Cresson

Nous constatons que le taux de germination atteint une valeur de  $95.66 \pm 2.08\%$  (**fig. 11**) pour le témoin alors que valeur minimale est constatée pour la concentration C1 ( $72 \pm 29.71\%$ ). Malgré la sensible croissance du taux de germination de C1 à C5, les résultats du test Kruskal-wallis appliqué pour apprécier l'effet des concentrations de ZnO sur le taux de germination de graines de cresson, révèle l'absence de différences statistiquement significatives ( $p > 0.05$ ).



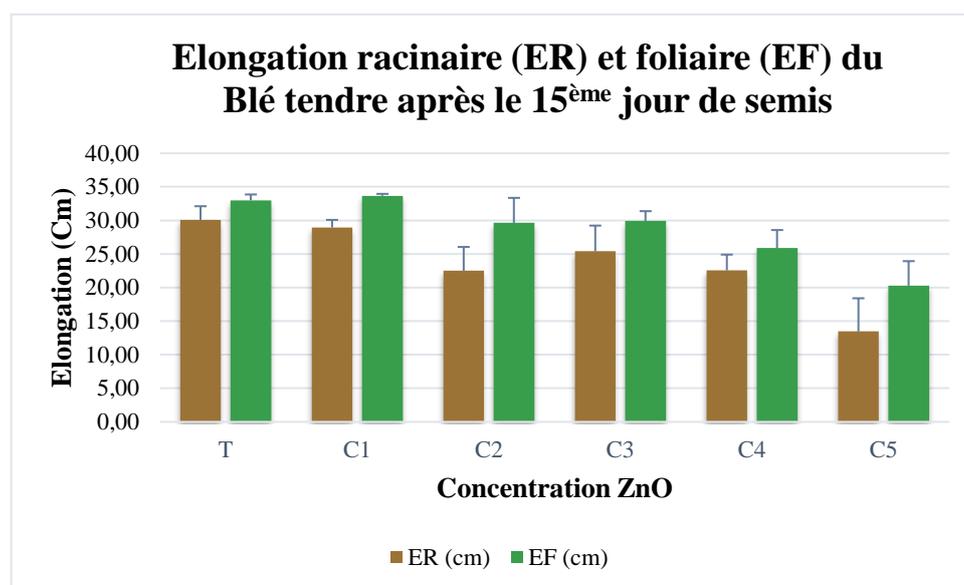
**Figure 11 : Effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux de germination des graines de cresson**

### III.1.2 Effet de la concentration de NPs ZnO sur l'élongation racinaire et foliaire

#### III.1.2.1 Blé tendre

##### III.1.2.1.1 Élongation racinaire du blé tendre

La valeur maximale de l'élongation racinaire (**fig. 12**) est mesurée pour le témoin ( $30,08 \pm 2,03$  cm) et la valeur minimale pour la concentration C5 ( $13,47 \pm 4,94$  cm).



**Figure 12 : Effet des concentrations de NPs ZnO sur l'élongation racinaire et foliaire du blé tendre.**

La variabilité de l'élongation racinaire est confirmée par l'analyse de la variance (ANOVA) qui a révélé un effet hautement significatif ( $p < 0,001$ ). La comparaison des moyennes à l'aide du test de Newman-Keuls fait ressortir 2 groupes homogènes. Le premier groupe (A) est formé par le témoin, C1, C2, C3 et C4 le deuxième regroupe (B) est représenté par la concentration de ZnO C5 (**Tableau 2**).

**Tableau 2 : Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls (Élongation racinaire en cm du blé tendre)**

Modalité	Moyennes estimées	Groupes
T	30,083	A
C1	28,950	A
C3	25,400	A
C4	22,557	A
C2	22,500	A
C5	13,467	B

### III.1.2.1.2 Élongation foliaire du blé tendre

Les résultats obtenus pour l'élongation foliaire du blé (**fig. 12**) montrent que la valeur maximale est observée pour la concentration C1 ( $33.67 \pm 0.28$  cm) et la valeur minimale pour la concentration C5 ( $20.28 \pm 3.65$  cm).

La variabilité de l'élongation foliaire en fonction des concentrations NPs ZnO est confirmée par le test Kruskal-wallis qui a révélé un effet significatif ( $p < 0.05$ ). La comparaison à l'aide du test de Dunn (**tab. 3**) fait ressortir 3 groupes homogènes. Le premier groupe (A) est formé par C5 et C4, le deuxième groupe (AB) regroupe les concentrations C2 et C3. Le groupe (B) formé de témoin et la C1.

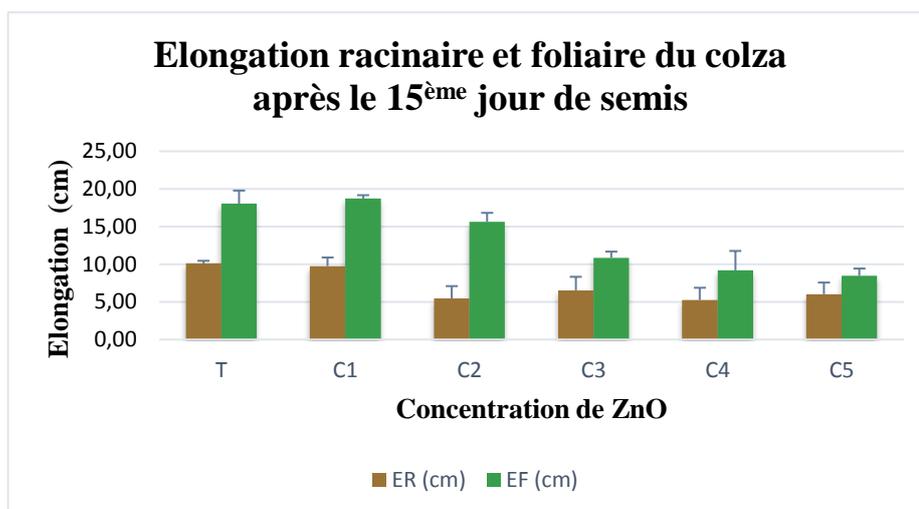
**Tableau 3 : Groupes homogènes selon le test de Dunn  
(Élongation foliaire en cm du blé tendre)**

Echantillon	Groupes	
EF blé (cm)   C5	A	
EF blé (cm)   C4	A	
EF blé (cm)   C2	A	B
EF blé (cm)   C3	A	B
EF blé (cm)   T		B
EF blé (cm)   C1		B

### III.1.2.2 Colza

#### III.1.2.2.1 Élongation racinaire du colza

La **figure 13** montre une valeur maximale de l'élongation racinaire (cm) du témoin ( $10.11 \pm 0.35$  cm) et le minimum est enregistré à la concentration C4 ( $5.24 \pm 1.63$  cm).



**Figure 13 : Effet des concentrations de ZnO sur l'élongation racinaire et foliaire du colza.**

La variabilité de l'élongation racinaire du colza est confirmée par l'analyse de la variance qui a révélé un effet significatif ( $p < 0,01$ ). La comparaison des moyennes à l'aide du test de Newman-Keuls (5%) fait ressortir 2 groupes homogènes (**tab. 4**). Le premier groupe (A) est formé par le témoin et C1, le deuxième regroupe (B) est représenté par C2.C3, C4 et C5.

**Tableau 04 : Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls  
(Élongation racinaire en cm du colza)**

Modalité	Moyennes estimées (ER (cm))	Groupes
T	10,110	A
C1	9,7 50	A
C3	6,533	B
C5	6,017	B
C2	5,467	B
C4	5,243	B

### III.1.2.2.2 Élongation foliaire du colza

Les valeurs maximales de l'élongation foliaire (**fig.13**) sont observées pour le témoin et C1 respectivement ( $18.03 \pm 1.75$  cm) ( $18.72 \pm 0.45$  cm) et le minimum pour la concentration C5 ( $8.46 \pm 0.96$  cm).

La variabilité de l'élongation foliaire du colza en fonction des concentrations NPs ZnO est confirmée par le test Kruskal-wallis qui a révélé un effet significatif ( $p < 0.05$ ). La comparaison à l'aide du test Dunn fait ressortir 5 groupes homogènes (**tab. 5**). Les deux groupes significativement différents sont, le groupe (A) regroupant les moyennes d'élongation foliaire les plus faibles C5 et C4 et le groupe (C) représenté pas le témoin.

**Tableau 05 : Groupes homogènes selon le test de Dunn  
(Elongation foliaire en cm du colza)**

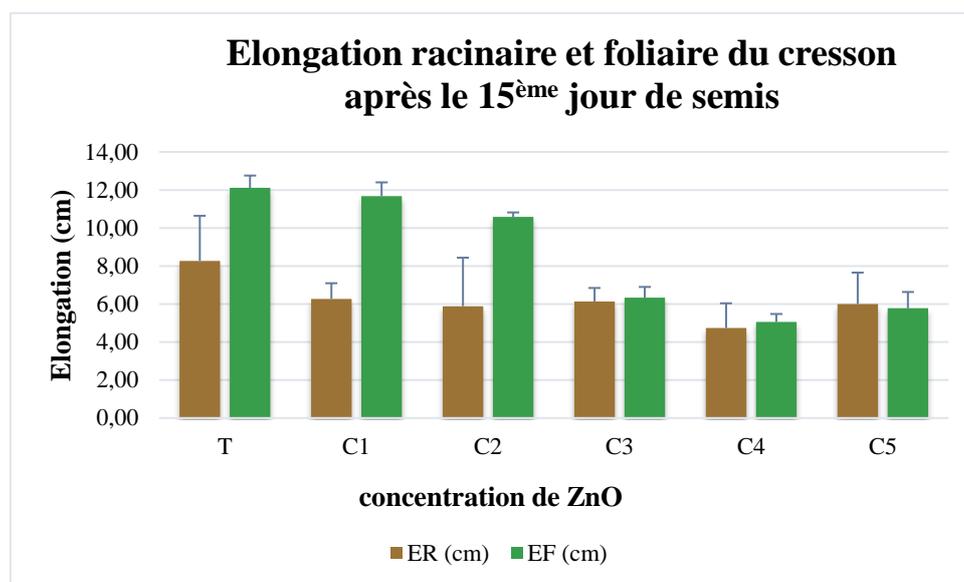
Echantillon	Groupes
EF colza (cm)   C5	A
EF colza (cm)   C4	A
EF colza (cm)   C3	A B
EF colza (cm)   C2	A B C
EF colza (cm)   T	B C
EF colza (cm)   C1	C

### III.1.2.3 Cresson

#### III.1.2.3.1 Élongation racinaire du cresson

La **figure 14** montre un maximum de valeur au niveau de témoin ( $8.27 \pm 2.37$  cm) et un minimum au niveau de la concentration C4 ( $4.73 \pm 1.31$  cm).

La variabilité de l'élongation racinaire de cresson est confirmée par l'analyse de la variance qui a révélé un effet non significatif ( $p > 0.05$ ).



**Figure 14 : Effet des concentrations de NPs ZnO sur l'élongation racinaire et foliaire du cresson.**

#### III.1.2.3.2 Élongation foliaire du cresson

La valeur maximale est relevée pour le témoin ( $12.11 \pm 0.65$  cm) et la minimale pour la concentration C4 ( $5.0 \pm 0.42$  cm) (**fig. 14**).

La variabilité de l'élongation foliaire de cresson en fonction des concentrations de NPs ZnO est confirmée par le test Kruskal-wallis qui a révélé un effet significatif ( $p = 0,01$ ). Le test de Dunn fait ressortir 5 groupes ; les deux groupes significativement différents sont, le groupe (A) regroupant les moyennes d'élongation foliaire les plus faibles en C5 et C4 puis le groupe (C) représenté par le témoin (**tab. 6**).

**Tableau 6 : Groupes homogènes selon le test de Dunn  
(Elongation foliaire (cm) du cresson)**

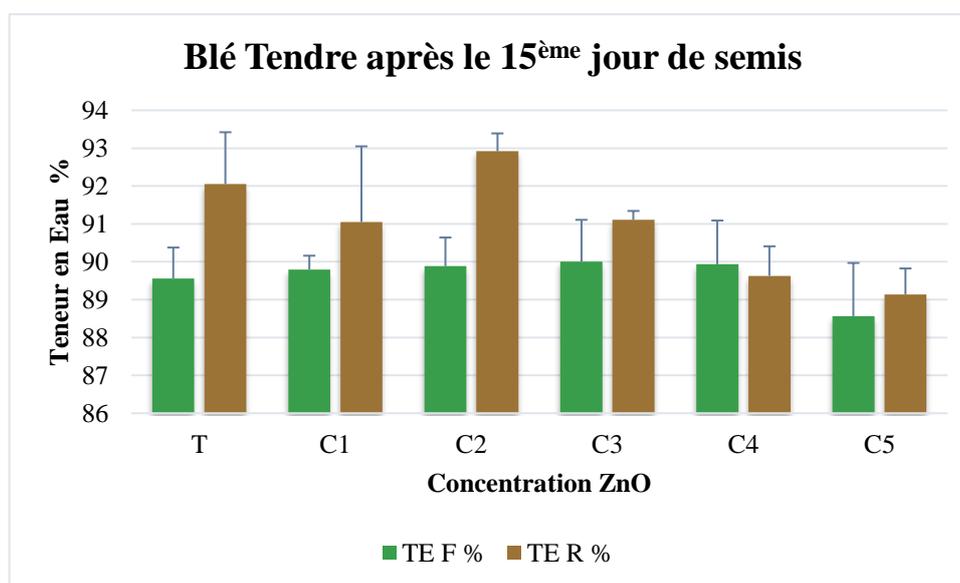
Echantillon	Groupes		
EF cresson(cm)   C4	A		
EF cresson (cm)   C5	A		
EF cresson (cm)   C3	A	B	
EF cresson (cm)   C2	A	B	C
EF cresson (cm)   C1		B	C
EF cresson (cm)   T			C

## III.2 Paramètres physio-morphologiques

### III.2.1 Effet des concentrations de NPs ZnO sur la teneur en eau (TE %)

#### III.2.1.1 Blé Tendre

La **figure 15** montre que la valeur maximale de la teneur en eau des feuilles (TE F) est enregistrée pour la concentration C3 ( $90 \pm 1.10\%$ ) et la valeur minimale pour la concentration C5 ( $88.56 \pm 1.40\%$ ). La variabilité de TE F % est confirmée par l'analyse de la variance qui a révélé un effet non significatif ( $p > 0.05$ ).



**Figure 15 : Effet des concentrations de NPs ZnO sur la TE%  
des racines et des feuilles du blé tendre**

Le maximum de la teneur en eau des racines (TE R%) est enregistré pour la C2 ( $92.91 \pm 0.47\%$ ) et la valeur minimale pour la concentration C5 ( $89.13 \pm 0.68\%$ ) (**fig. 15**). La variabilité de TE R % est confirmée par l'analyse de la variance qui a révélé un effet significatif

( $p < 0.05$ ). Le test de Newman-Keuls a donné trois groupes homogènes pour le « facteur concentration ZnO » le groupe A ne regroupe que la C2, le groupe AB constitué du témoin, C1 et C3 et le groupe B regroupe les deux concentrations de NPs ZnO C4 et C5 (**tab. 7**).

**Tableau 7 : Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls pour la teneur en eau des racines du blé tendre.**

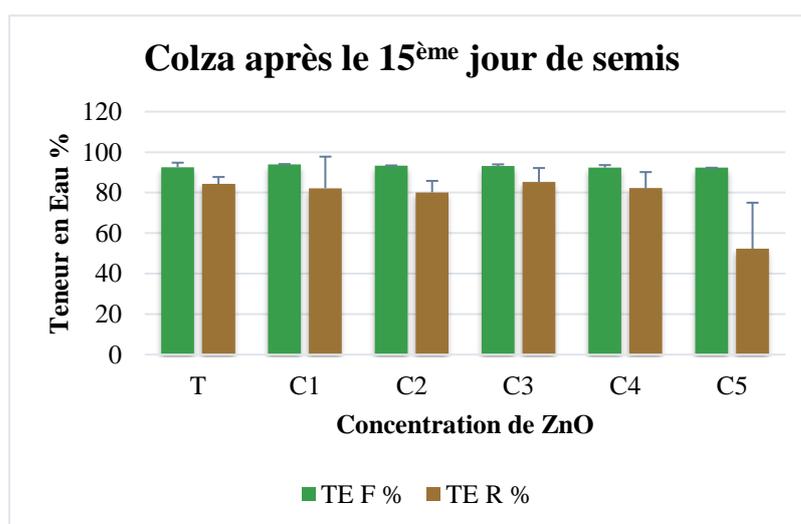
Modalité	Moyennes estimées (TE R %)	Groupes	
C2	92,918	A	
T	92,050	A	B
C3	91,106	A	B
C1	91,051	A	B
C4	89,627		B
C5	89,299		B

### III.2.1.2 Colza

La teneur en eau des feuilles du colza (**fig.16**) atteint son maximum ( $93.92 \pm 0.19\%$ ) pour la concentration C1, et la valeur minimale est constatée à la concentration C5 ( $92.30 \pm 0.52\%$ ).

La variabilité de l'effet de concentration de NPs ZnO sur la teneur en eau de la partie foliaire du colza est vérifiée par le test de Kruskal-wallis qui n'a pas révélé de différence statistiquement significative ( $p > 0.05$ ).

Pour les racines de colza la valeur maximale de TE% est enregistrée à la concentration C3 de NPs ZnO ( $85.24 \pm 6.91\%$ ) et la valeur minimale à la concentration C5 ( $52.30 \pm 22.71\%$ ) (**fig. 16**).



**Figure 16 : Effet des concentrations de NPs ZnO sur la teneur en eau des racines et des feuilles du colza.**

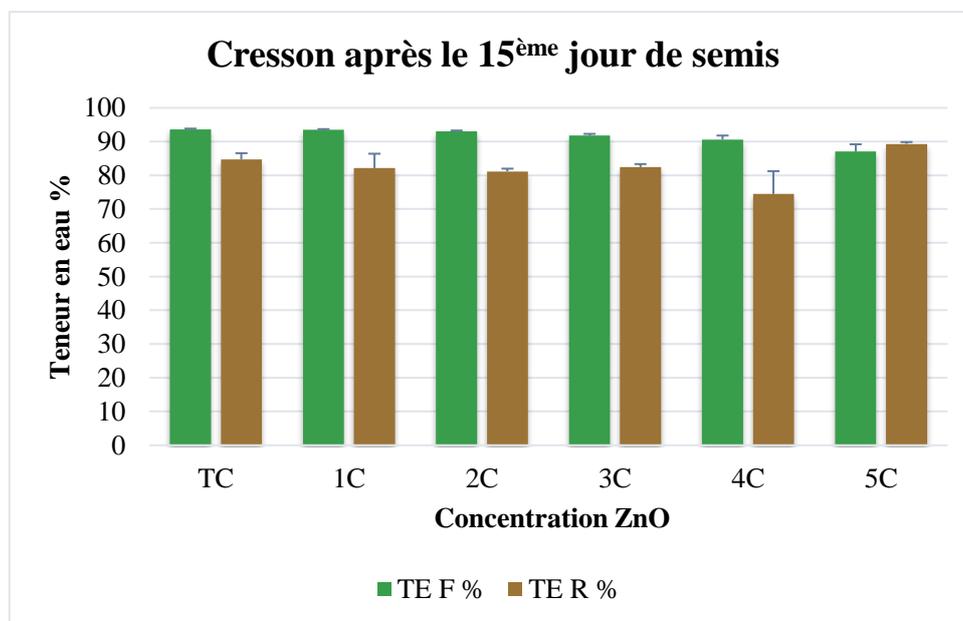
La variabilité de l'effet de la concentration de NPs ZnO sur la teneur en eau de la partie racinaire de colza est vérifiée par le test de Kruskal-wallis qui n'a pas démontré de différence statistiquement significative ( $p > 0.05$ ). Cependant, le test de Dunn a dévoilé une différence significative entre le groupe A (C5) et le groupe B (témoin et C3) (**tab. 8**).

**Tableau 8 : Groupes homogènes selon le test de Dunn  
(teneur en eau des racines (%) du colza)**

Echantillon	Groupes	
TE colza R %   C5	A	
TE colza R %   C2	A	B
TE colza R %   C1	A	B
TE colza R %   C4	A	B
TE colza R %   T		B
TE colza R %   C3		B

### III.2.1.3 Cresson

D'après la **figure 17**, on constate que la TE F% de la partie aérienne de cresson atteint le maximum ( $93.63 \pm 0.20\%$ ) dans le témoin, et la valeur minimale est constatée au niveau de la concentration C5 ( $87.04 \pm 2.15\%$ ).



**Figure 17 : Effet des concentrations de NPs ZnO sur la teneur en eau (%) des racines et des feuilles de cresson.**

Pour étudier la variabilité de TE R % en fonction des concentrations de NPs ZnO, le test de Kruskal-wallis a révélé une différence statistiquement significative ( $p < 0.05$ ). En effet, le test de Dunn a pu retirer 05 groupes homogènes et une différence significative entre le groupe A (C5) et C (témoin et C1) (**tab. 9**).

**Tableau 9 : Groupes homogènes selon le test de Dunn  
(teneur en eau de la partie foliaire du cresson)**

Echantillon	Groupes		
TE cresson F%   C5	A		
TE cresson F%   C4	A	B	
TE cresson F%   C3	A	B	C
TE cresson F%   C2		B	C
TE cresson F%   C1			C
TE cresson F%   T			C

Le maximum de TE R% pour les racines de cresson est enregistré pour le témoin ( $84.75 \pm 1.08\%$ ) et la valeur minimale au niveau de la concentration C4 ( $74.45 \pm 6.78\%$ ) (**fig. 17**).

Pour étudier la variabilité de TE R % en fonction des concentrations de NPs ZnO, le test de Kruskal-wallis a révélé une différence statistiquement significative ( $p < 0.05$ ). Le test de Dunn a démontré l'effet significatif entre le groupe A (C4) et le groupe BC (témoin), ainsi qu'entre le groupe A et le groupe C (C5).

### III.2.2 Variation du taux de la chlorophylle (a), (b) et totale (T) en fonction des concentrations NPs ZnO

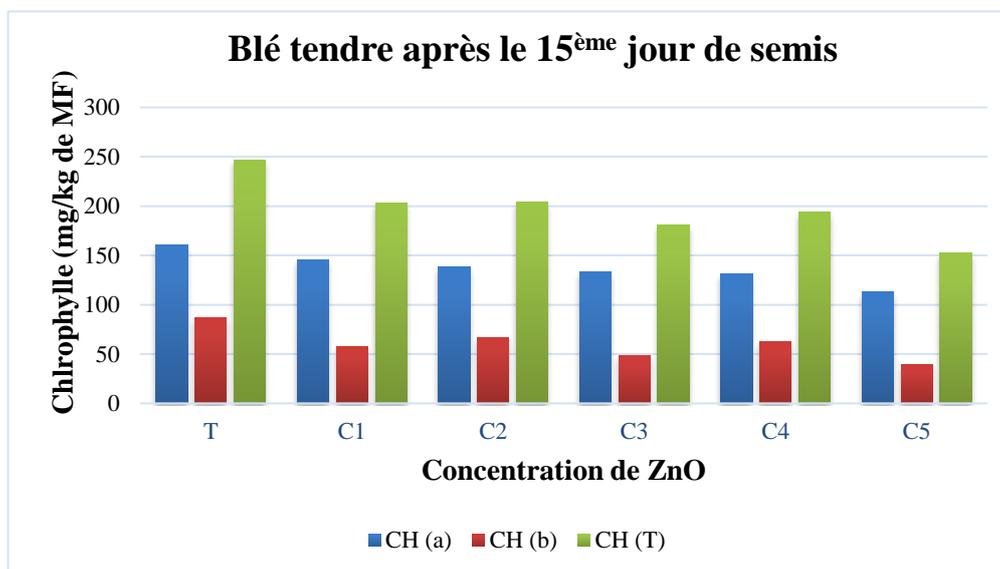
#### III.2.2.1 Blé tendre

Les différents résultats de la teneur en chlorophylle (a), (b) et (T) des feuilles de blé tendre ayant subi des différentes concentrations en NPs ZnO sont illustrés par la **figure 18**.

##### III.2.2.1.1 Chlorophylle (a)

Selon la **figure 18**, le taux le plus élevé en chlorophylle (a) est attribué au témoin avec une valeur de  $160.30 \pm 7.36$  mg/kg de MF. Une diminution de ces teneurs par rapport au témoin est notée pour les autres concentrations surtout la concentration C5 où on a enregistré la valeur minimale  $112.82 \pm 22.62$  mg/kg de MF. Néanmoins, les valeurs enregistrées pour les concentrations C1, C2, C3 et C4 sont assez voisines. La variabilité de réponse de la teneur en

CH(a) vis-à-vis les différentes concentrations de NPs ZnO est vérifié par l'ANOVA qui a révélé un effet non significatif ( $p > 0.05$ ).



**Figure 18 : Effet des concentrations de NPs ZnO sur la teneur en chlorophylle (a), (b) et totale de la plante de blé tendre.**

### III.2.2.1.2 Chlorophylle (b)

Le taux en chlorophylle (b) le plus élevé est constaté au niveau du témoin avec une valeur de  $86.76 \pm 15.85$  mg/kg de MF (**fig.18**). Des teneurs moindres par rapport au témoin sont notées pour les autres concentrations surtout la C5 où a été enregistrée la minimale ( $39.44 \pm 12.52$  mg/kg de MF). La variabilité de réponse de la CH (b) vis-à-vis les différentes concentrations de NPs ZnO est vérifiée par l'ANOVA qui a révélé un effet non significatif ( $p > 0.05$ ).

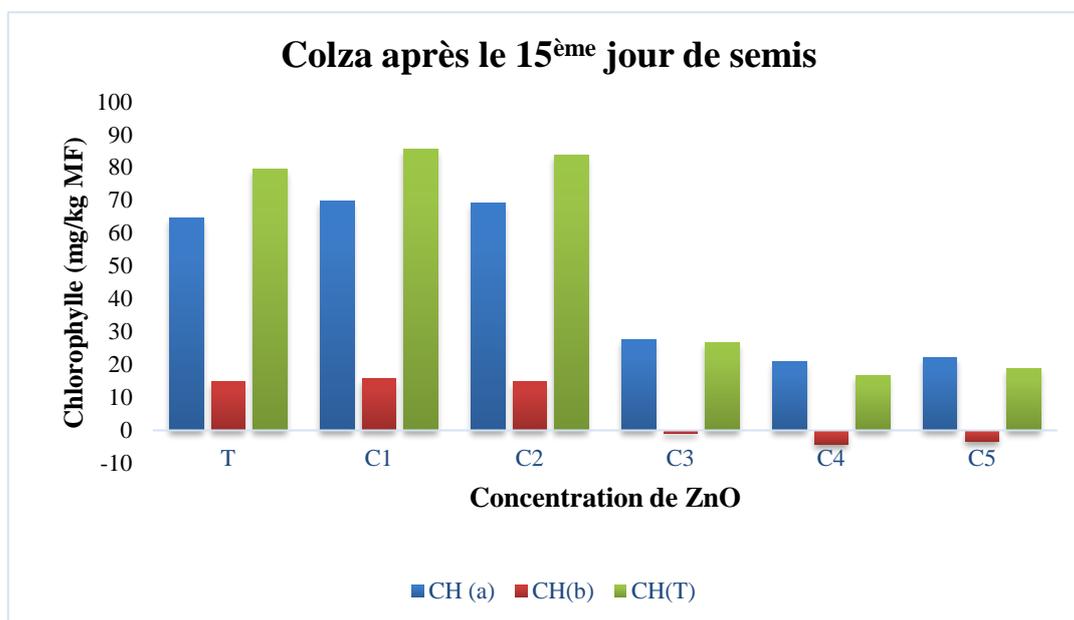
### III.2.2.1.3 Chlorophylle (T)

Les taux les plus élevés en chlorophylle (T) sont observés pour le témoin avec une valeur de  $247.06 \pm 20.81$  mg/kg de MF (**fig.18**). Une diminution de ces teneurs par rapport au témoin est constatée pour les autres concentrations surtout la concentration C5 où on a enregistré une valeur minimale de  $152.26 \pm 34.97$  mg/kg de MF.

La variabilité de réponse du taux de CH(T) du blé en relation avec les concentrations de NPs ZnO est vérifié par l'ANOVA qui a révélé un effet non significatif ( $p > 0.05$ ).

### III.2.2.2 Colza

Les différents résultats du dosage de la chlorophylle (a), (b) et totale dans les feuilles de colza ayant subi des différentes concentrations en NPs ZnO sont résumées dans la **figure 19**.



**Figure 19 : Effet des concentrations de NPs ZnO sur la teneur en chlorophylle (a), (b) et totale des plants de colza.**

#### III.2.2.2.1 Chlorophylle (a)

La teneur maximale de la chlorophylle (a) est enregistrée à la concentration C1 ( $69.78 \pm 3.09$  mg/kg de MF) et la minimale est relevée pour C4 ( $20.81 \pm 8.32$  mg/kg de MF) (**fig. 19**).

Le test de Kruskal-wallis ( $p < 0.05$ ) révèle une différence significative de la variabilité de réponse du taux de chlorophylle (a) du colza en fonction de la concentration de NPs ZnO. Le test de Dunn confirme la différence significative entre les deux groupes A réunissant les concentrations C5 et C4 et le groupe B formé du témoin et des concentrations C1 et C2 en NPs ZnO.

#### III.2.2.2.2 Chlorophylle (b)

La teneur maximale de la chlorophylle (b) est enregistrée à la concentration C1 ( $15.77 \pm 1.63$  mg/kg de MF), alors que la minimale est celle de C4 ( $4.20 \pm 3.32$  mg/kg de MF) (**fig. 19**).

Le test de Kruskal-wallis ( $p < 0.05$ ) révèle une différence significative de la variation du taux de Chlorophylle (b) de colza en fonction de la concentration de NPs ZnO. En effet, le test de Dunn a révélé une différence significative entre deux groupes, le (A) qui unie les concentrations C5 et C4 et le groupe (B) qui réunit le témoin et les deux concentrations en NPs ZnO C1 et C2.

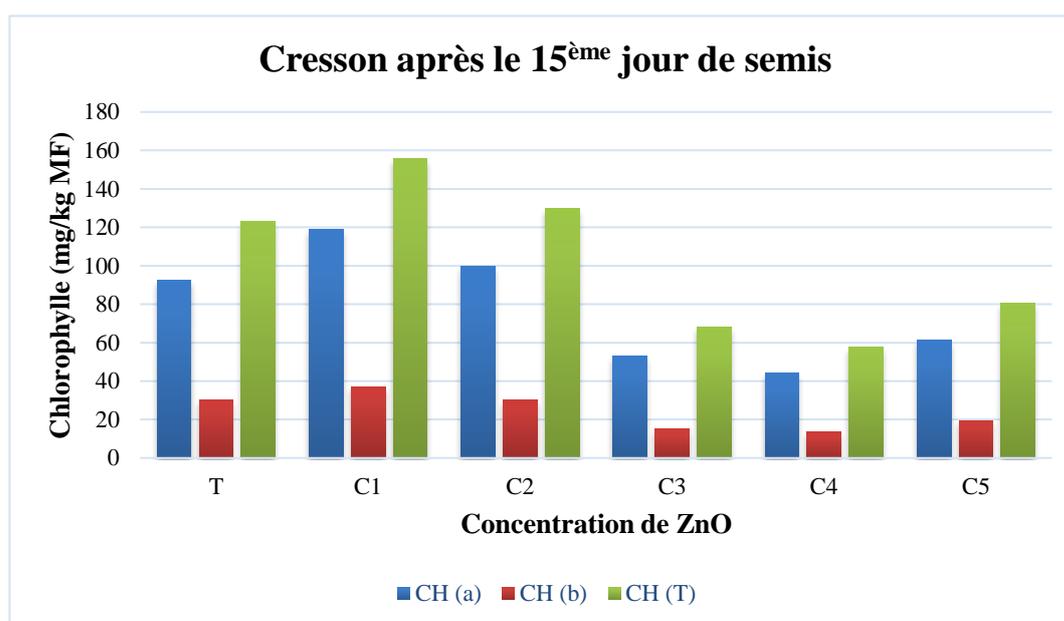
### III.2.2.2.3 Chlorophylle (T)

La teneur moyenne la plus élevée de la chlorophylle (T) est enregistrée à la concentration C1 ( $85.55 \pm 4.20$  mg/kg de MF) et la minimale est C4 ( $16.61 \pm 11.64$  mg/kg de MF) (**fig. 19**).

La variabilité de réponse de la CH (T) est vérifiée par le test de Kruskal-wallis ( $p < 0.05$ ) qui dévoile une différence significative de la variation de la chlorophylle (T) des plants de colza en fonction de la concentration de NPs ZnO. Effectivement, le test de Dunn a révélé une différence significative entre les deux groupes (A) formé par les concentrations C5 et C4 et (B) réunissant le témoin et les deux concentrations en ZnO, C1 et C2.

### III. 2.2.3 Cresson

Les différents résultats du dosage de la chlorophylle (a), (b) et totale dans les feuilles de cresson exposé à différentes concentrations en NPs ZnO sont représentés par la **figure 20**.



**Figure 20 : Effet des concentrations de ZnO sur la teneur en chlorophylle (a), (b) et totale des plants de cresson.**

#### III. 2.2.3.1 Chlorophylle (a)

La teneur moyenne la plus élevée de chlorophylle (a) du cresson, enregistrée pour C1 est  $118.82 \pm 4.86$  mg/kg de MF, et la plus faible relevée pour C4 est ( $44.12 \pm 5.39$  mg/kg de MF) (**fig. 20**). La variabilité de réponse de la CH (a) aux différentes concentrations de NPs ZnO est soumise au test de Kruskal-wallis ( $p < 0.05$ ) qui a conduit à conclure à une différence significative des teneurs en chlorophylle (a) pour le cresson en fonction de la concentration de

NPs ZnO. De même le test de Dunn a reflété une différence significative entre les deux concentrations C4 et C1 (**tab. 10**).

**Tableau 10 : Groupes homogènes selon le test de Dunn de la CH (a) (en mg/kg de MF) pour le cresson en fonction de la concentration en NP ZnO.**

Echantillon	Groupes		
CH (a) cresson   C4	A		
CH (a) cresson   C3	A	B	
CH (a) cresson   C5	A	B	
CH (a) cresson   C2		B	C
CH (a) cresson   T		B	C
CH (a) cresson   C1			C

### III.2.2.3.2 Chlorophylle (b)

La teneur moyenne la plus élevée de chlorophylle (b) est enregistrée pour C1 ( $37 \pm 1.36$  mg/kg de MF) et la plus faible est notée pour C4 ( $13.52 \pm 2.13$  mg/kg de MF) (**fig. 20**).

La variabilité de la teneur en CH (b) du cresson est soumise à l'ANOVA ( $p < 0.01$ ) démontrant une différence significative de la teneur en CH (b) du cresson en fonction de la concentration de ZnO. Le test de Newman-Keuls a révélé qu'il y a une différence significative entre les deux groupes homogènes A (témoin, C1 et C2) et B (C5, C3 et C4).

### III.2.2.3.3 Chlorophylle (T)

La teneur maximale de chlorophylle (T) est enregistrée pour C1 ( $155.94 \pm 6.18$  mg/kg MF) et la minimale pour C4 ( $57.63 \pm 7.35$  mg/kg de MF) (**fig. 20**). La variabilité de la teneur en CH (T) dans les feuilles du cresson en fonction de la concentration en NPs ZnO est confirmée par l'analyse de la variance qui a révélé un effet significatif ( $p < 0,01$ ). La comparaison des moyennes *via* le test de Newman-Keuls fait ressortir 3 groupes homogènes listés dans le **tableau 11**.

**Tableau 11 : Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls (taux de Chlorophylle (T) mg/kg de MF) du cresson en fonction des concentrations en ZnO)**

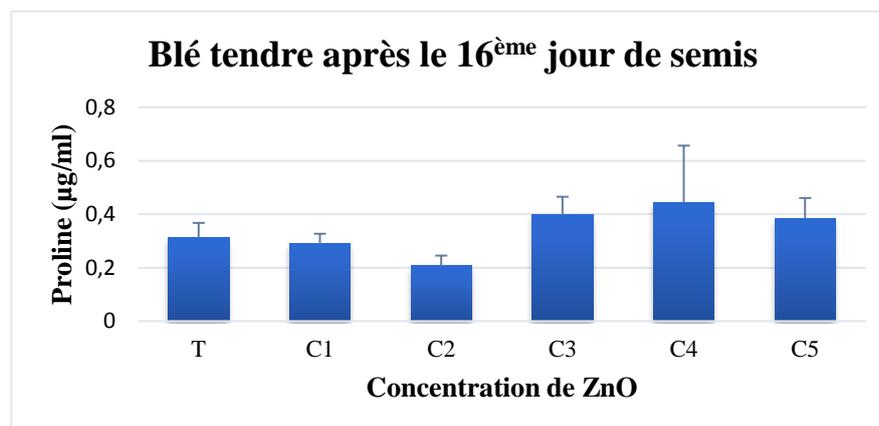
Modalité	Groupes		
C1	A		
C2		B	
T		B	
C5			C
C3			C
C4			C

### III.3 Paramètres biochimiques (Marqueurs de stress)

#### III.3.1 Effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux de la proline

##### III.3.1.1 Blé tendre

Le taux moyen de la proline le plus élevé (**fig. 21**) est constaté pour la concentration C4 de NPs ZnO ( $0.44 \pm 0.21$   $\mu\text{g/ml}$ ) et le plus faible pour C2 ( $0.20 \pm 0.03$   $\mu\text{g/ml}$ ).



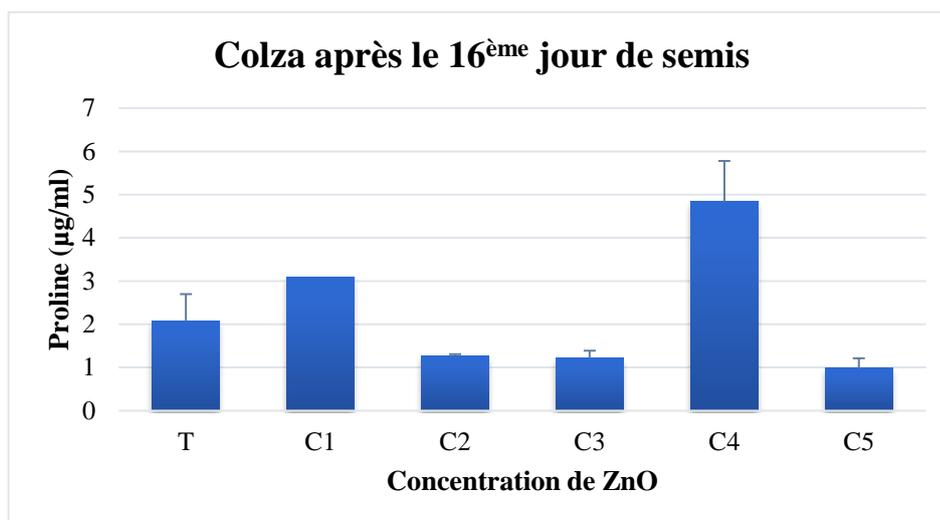
**Figure 21 : Variations des taux de la proline ( $\mu\text{g/ml}$ ) du blé tendre en fonction des concentrations de NPs ZnO.**

Le test de Kruskal-Wallis a révélé une différence significative de l'effet de concentration de ZnO sur le taux de la proline du blé tendre ( $p < 0.05$ ). Le test de Dunn a confirmé cette variabilité et a montré une différence significative entre le groupe A (C2) et le groupe B (C4, C5 et C3).

##### III.3.1.2 Colza

Le taux de la proline maximal est constaté pour la concentration C4 de NPs ZnO ( $4.83 \pm 0.94$   $\mu\text{g/ml}$ ) et le minimal pour C5 de NPs ZnO ( $0.98$   $\mu\text{g/ml} \pm 0.22$ ) (**fig. 22**).

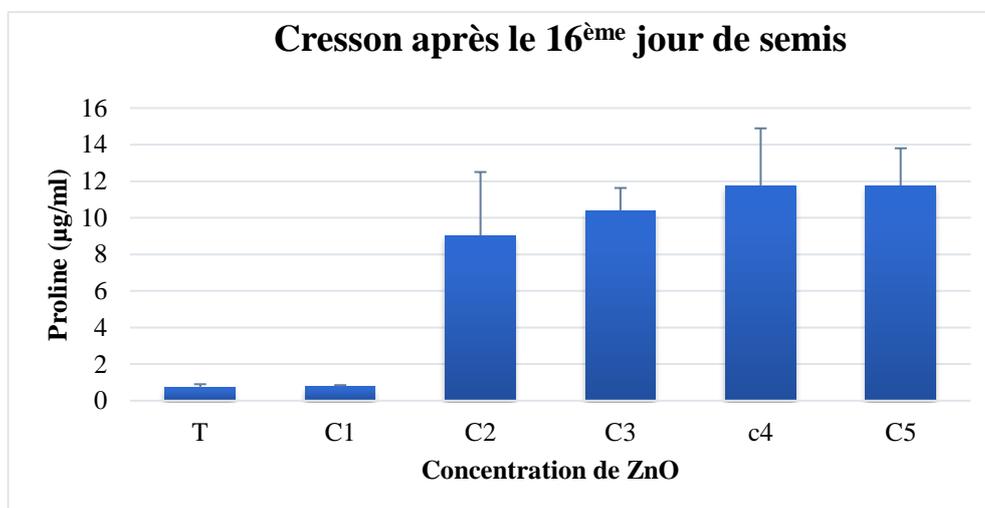
Le test de Kruskal-Wallis a démontré qu'il y a une différence significative de l'effet de concentration de NPs ZnO sur le taux de la proline du colza ( $p < 0.01$ ). Le test de Dunn a fait ressortir 4 groupes homogènes, le groupe A formé par la C5 (la plus faible en taux de proline), le groupe AB par (C2 et C3) et le groupe BC par la concentration du témoin et C1 enfin le groupe C représenté par C4 (taux de proline le plus élevé).



**Figure 22 : Variations des taux de proline (µg/ml) pour le colza en fonction des concentrations de NPs ZnO.**

### III.3.1.3 Cresson

Le taux de la proline le plus élevé est dosé pour C5 ( $11.15 \pm 2.06$  µg/ml) et le taux le plus faible pour le témoin T ( $0.78 \pm 0.21$  µg/ml) (fig. 23).



**Figure 23 : Variations du taux de la proline (µg/ml) pour le cresson en fonction des concentrations de NPs ZnO.**

Le test de Kruskal-Wallis a montré une différence significative de l'effet de la concentration de NP ZnO sur le taux de proline du cresson ( $p < 0.05$ ). Le test de Dunn a conduit à une différence significative entre le groupe (A) représenté par le témoin et le groupe C qui est représenté par les concentrations C4 et C5 (tab. 12).

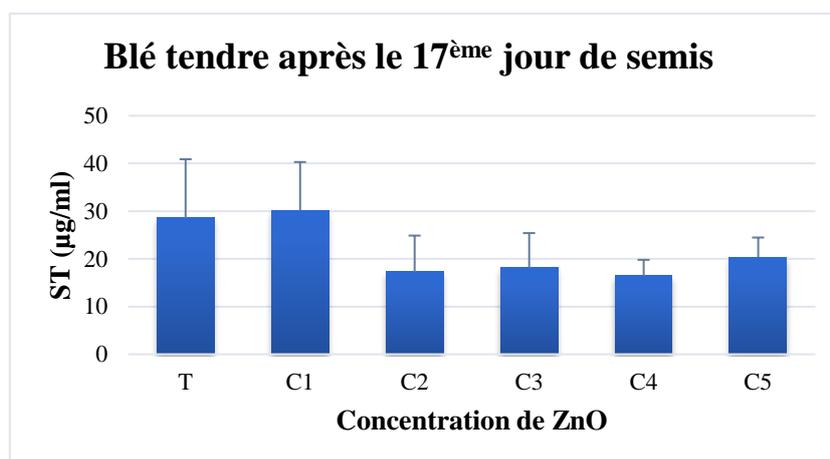
**Tableau 12 : groupes homogènes du test de Dunn (taux de proline ( $\mu\text{g/ml}$ ) du cresson).**

Echantillon	Groupes		
Proline ( $\mu\text{g/ml}$ )   T	A		
Proline ( $\mu\text{g/ml}$ )   C1	A	B	
Proline ( $\mu\text{g/ml}$ )   C2	A	B	C
Proline ( $\mu\text{g/ml}$ )   C3		B	C
Proline ( $\mu\text{g/ml}$ )   C4			C
Proline ( $\mu\text{g/ml}$ )   C5			C

### III.3.2 Effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux des sucres totaux

#### III.3.2.1 Blé tendre

La teneur moyenne de sucre la plus élevée est dosée pour la concentration C1 ( $90.16 \pm 10.14 \mu\text{g/ml}$ ) et le plus faible pour C4 ( $16.46 \pm 3.33 \mu\text{g/ml}$ ) dans la partie aérienne de blé tendre (**fig. 24**)

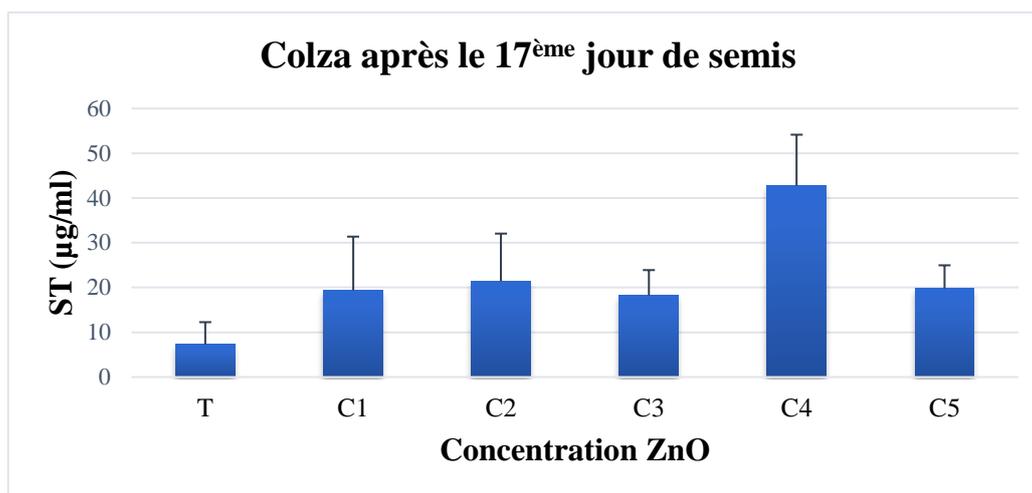


**Figure 24 : Variations des taux de sucres totaux ( $\mu\text{g/ml}$ ) du blé tendre en fonction des concentrations de NPs ZnO.**

La variabilité du taux de sucre totaux en fonction des différentes concentrations de NPs ZnO, testée par le test de Kruskal-wallis, n'a pas montré de différence significative ( $p > 0.05$ ).

#### III.3.2.2 Colza

Pour le colza, la moyenne la plus élevée du taux de sucres totaux est enregistrée pour C4 ( $42.72 \pm 11.42 \mu\text{g/ml}$ ) et la plus faible pour le témoin ( $7.27 \pm 4.99 \mu\text{g/ml}$ ) (**fig. 25**).

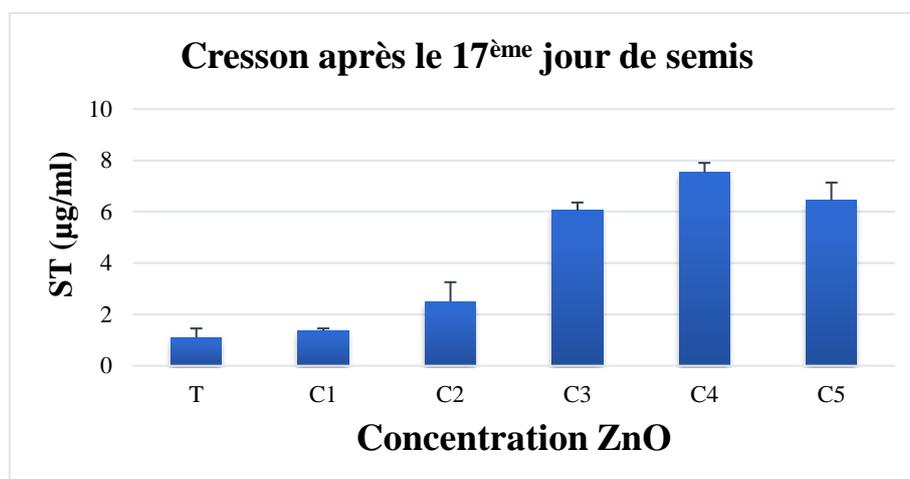


**Figure 25 : Variation des taux des sucres totaux (µg/ml) du colza en fonction des concentrations de ZnO.**

La variabilité de taux de ST du colza est confirmée par l'analyse de la variance (ANOVA) qui a révélé un effet significatif ( $p < 0,01$ ). Le test de Newman-Keuls isole 2 groupes homogènes : le premier groupe (A) est formé par C4 (le taux le plus élevé), le deuxième regroupe (B) est représenté par C2, C1, C3, C4 et C5. La différence significative est révélée par le test de Dunnett ( $p < 0,01$ ) qui a prouvé qu'il y a une différence significative entre le témoin et la C4.

### III.3.2.3 Cresson

Sur la **figure 26** apparaît le taux moyen le plus élevé de sucres totaux pour C4 ( $7.53 \pm 0.36$  µg/ml) et le plus faible pour le témoin ( $1.09 \pm 0.36$  µg/ml) pour la partie aérienne de cresson.

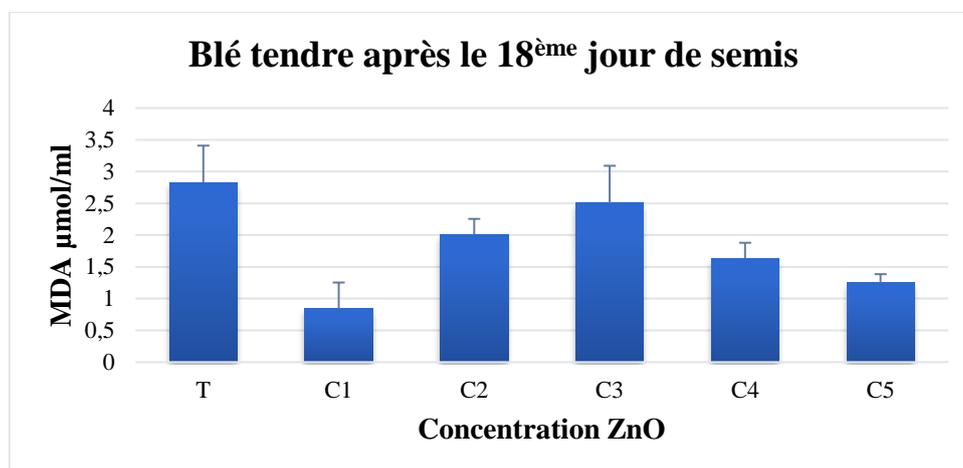


**Figure 26 : Variations des taux des sucres totaux (µg/ml) du cresson en fonction des concentrations de NPs ZnO.**

### III.3.3 Effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux de malondialdéhyde (MDA)

#### III.3.3.1 Blé tendre

Les teneurs moyennes les plus élevées de MDA sont constatées pour le témoin ( $2.82 \pm 0.58$   $\mu\text{mol/ml}$ ), alors que les plus faibles sont enregistrées pour C1 ( $0.82 \pm 0.41$   $\mu\text{mol/ml}$ ) (**fig. 27**).

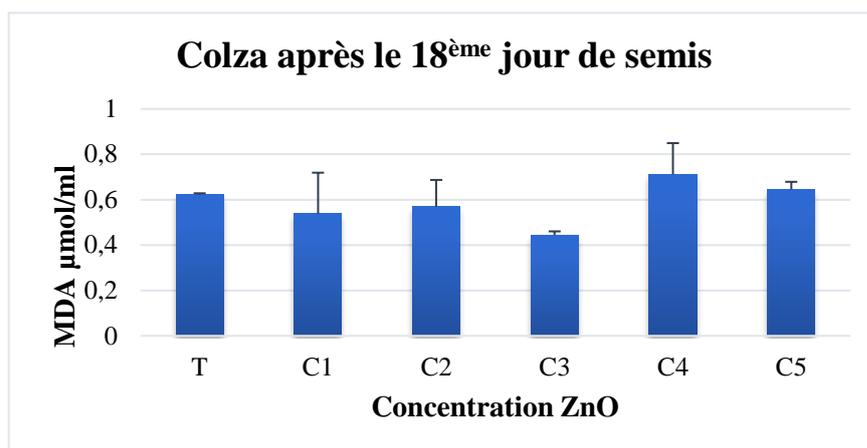


**Figure 27 : Variations des taux de malondialdéhyde (MDA ( $\mu\text{mol/ml}$ )) du blé tendre en fonction des concentrations de NPs ZnO.**

Cette variation est confirmée par l'analyse de la variance qui a révélé un effet significatif ( $p < 0,01$ ). La comparaison des moyennes à l'aide du test de Newman-Keuls fait ressortir 3 groupes homogènes : le premier formé par le témoin et la C3, le deuxième par C2 et C4. C5. La C1 se détache dans un groupe à part. En effet, le test de Dunnett a révélé une différence hautement significative entre le témoin et C1 et significative entre le témoin et la C5.

#### III.3.3.2 Colza

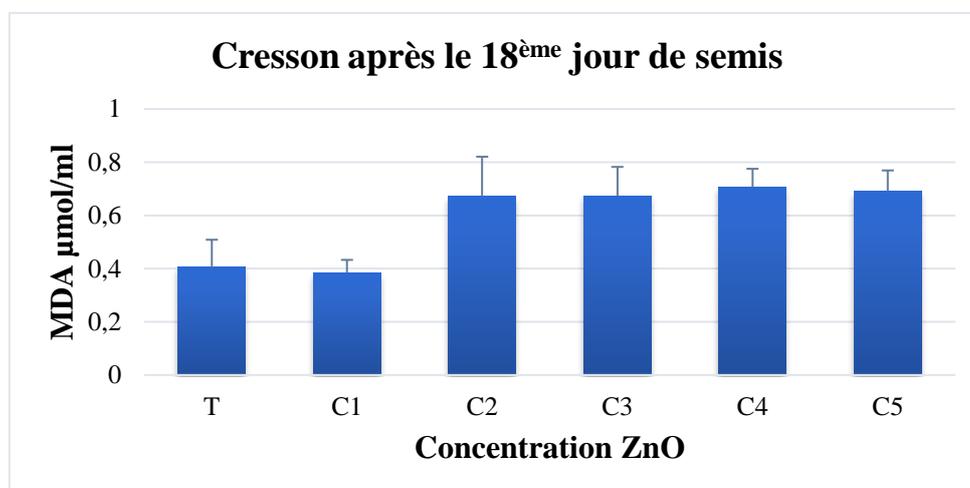
La **figure 28** montre que les valeurs maximales sont enregistrées à C4 ( $0.7 \pm 0.13$   $\mu\text{mol/ml}$ ), alors que les minimales sont enregistrées pour C3 ( $0.44 \pm 0.01$   $\mu\text{mol/ml}$ ). La comparaison des moyennes via le test de Dunn fait ressortir 3 groupes homogènes ; le (A) formé par C3, le (AB) par le témoin C1, C2 et C3. Les deux concentrations C4 et C5 se détachent dans un groupe (C) à part.



**Figure 28 : Variations des taux de MDA ( $\mu\text{mol/ml}$ ) du colza en fonction des concentrations de NPs ZnO.**

### III.3.3.3 Cresson

Selon la **figure 29** les valeurs maximales de MDA sont constatées pour C4 ( $0.71 \pm 0.06 \mu\text{mol/ml}$ ), tandis que les valeurs minimales sont enregistrées au niveau de la C1 ( $0.39 \pm 0.04 \mu\text{mol/ml}$ ).



**Figure 29 : Variation des taux de MDA ( $\mu\text{mol/ml}$ ) du cresson en fonction des concentrations de NPs ZnO.**

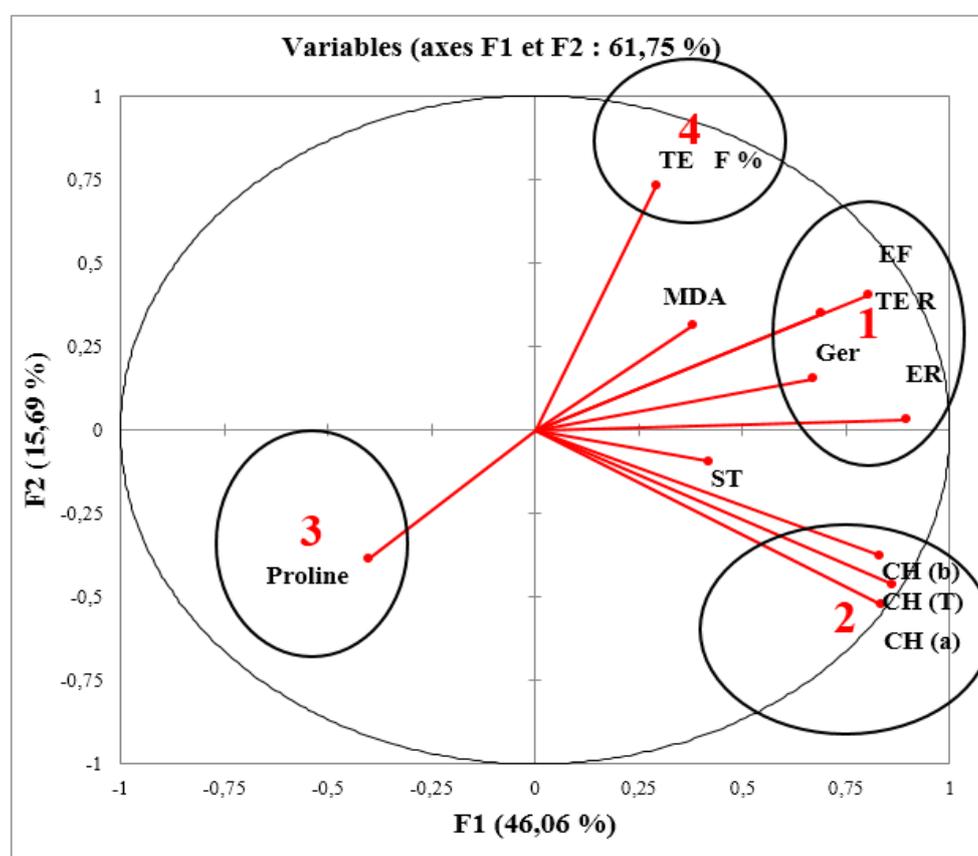
Cette variation est confirmée par l'analyse de la variance qui a révélé un effet significatif ( $p < 0,01$ ). La comparaison des moyennes par le test de Newman-Keuls fait ressortir 2 groupes homogènes, le premier (A) formé par C4, C5, C3 et C2 et le second (B) se détache de (A), formé du témoin et C1. En effet, le test de Dunnett a révélé une différence significative entre le témoin et les concentrations C4, C5, C3 et C2.

### III.4 Corrélation entre les différentes variables étudiées pour chaque espèce

Afin de faire ressortir les différentes corrélations qui pourraient exister entre les paramètres biométriques, les paramètres physio-morphologiques et les paramètres biochimiques (marqueurs de stress) en fonction des concentrations en NPs ZnO, une analyse en composantes principale (ACP) a été réalisée pour les 3 espèces étudiées.

#### III.4.1 Blé tendre

Les résultats de l'analyse en composantes principales (**fig. 30**) montrent que les deux premiers axes ont respectivement des taux d'inertie de 46.06% et 15.69%.



**Figure 30 : Carte factorielle des deux premiers axes de l'analyse en composantes principales (les variables de modèle végétal blé tendre).**

L'examen du premier plan factoriel (**fig.30**) et des contributions relatives des variables aux axes permet de constater l'existence de quatre ensembles de variables à fortes contributions relatives (1,2,3 et 4) :

**L'ensemble 1**, localisé du côté positif des deux axes 1 et 2, il contribue fortement à la formation du facteur F1 via les variables suivantes : la germination, l'élongation racinaire, l'élongation foliaire et la teneur en eau des racines de blé tendre. Leurs corrélations à l'axe F1 sont respectivement : 0.671 ; 0.897 ; 0.803 ; 0.690.

**L'ensemble 2**, situé du côté négatif de l'axe F2 et du côté positif de l'axe F1 dont les variables suivantes contribuent fortement à la constitution de ce dernier : la chlorophylle (a), la chlorophylle (b), la chlorophylle totale (T). Leurs corrélations à l'axe F1 sont respectivement : 0.835 ; 0.830 ; 0.860.

**L'ensemble 3**, situé du côté négatif des deux axes I et II, et donc s'opposant à l'ensemble I, contient la variable proline dont la corrélation à l'axe I de cette variable est ( $p < 0.01$ ) : -0.402.

**L'ensemble 4**, localisé du côté positif des deux axes 1 et 2, contribue fortement à la formation de l'axe II du côté positif. Il est corrélé à la variable teneur en eau de la partie foliaire, dont la contribution relative à sa formation est de 0.731.

Les deux variables MDA et les sucres totaux sont des variables « mal représentées » sur le premier plan factoriel.

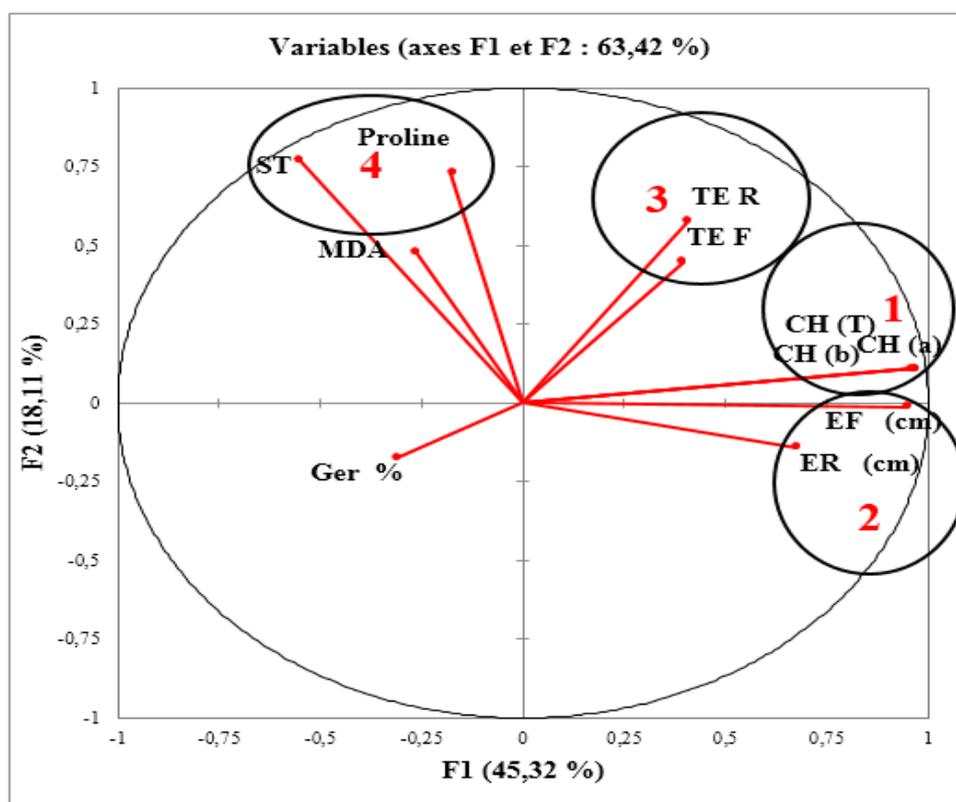
### III.4.2 Colza

Les résultats de l'analyse en composantes principales (**fig. 31**) montrent que les deux premiers axes ont respectivement des taux d'inertie de 45.32% et 18.11%.

L'examen du premier plan factoriel (**fig.31**) et des contributions relatives des variables aux axes permet de constater l'existence de quatre ensembles de variables à fortes contributions relatives (1,2,3 et 4) :

**L'ensemble 1**, localisé du côté positif des deux axes 1 et 2, il contribue fortement à la formation du facteur F1 par les variables suivantes : la chlorophylle (a), la chlorophylle (b), la chlorophylle totale (T). Leurs corrélations à l'axe sont respectivement ; 0.962 ; 0.970 ; 0.966.

**L'ensemble 2**, situé du côté négatif de l'axe F2 et du côté positif de l'axe F1 dont les variables suivantes contribuent fortement à la formation de ce dernier : l'élongation foliaire, et l'élongation racinaire de colza. Leurs corrélations à l'axe sont respectivement ; 0.951 et 0.676.



**Figure 31 : Carte factorielle des deux premiers axes de l'analyse en composante principale (les variables de modèle végétal colza).**

**L'ensemble 3**, localisé du côté positif des deux axes 1 et 2, contribue fortement à la formation de l'axe II. Il est formé par les variables : la teneur des feuilles en eau et la teneur des racines de colza en eau. Leurs corrélations à l'axe F2 sont respectivement 0.449 et 0.581.

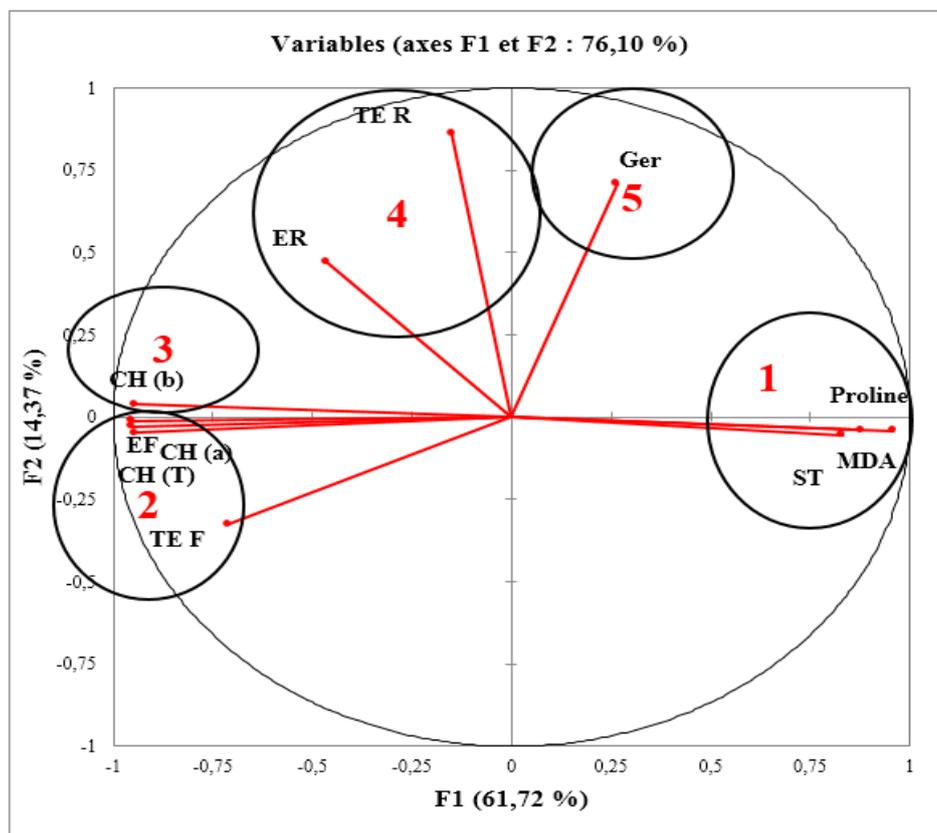
**L'ensemble 4**, localisé du côté négatif de F1 et du côté positif de F2, contribue fortement à la formation de l'axe II. Il est formé par les variables : proline et sucres totaux. Leurs corrélations à l'axe F2 sont respectivement : 0.730 ; 0.774.

Les variables germination et MDA dans le modèle végétal colza sont « mal représentées » sur le premier plan factoriel.

### III.4.3 Cresson

Les résultats de l'analyse en composantes principales (**fig. 32**) montrent que les deux premiers axes ont respectivement des taux d'inertie de 61.72 % et 14.37%.

L'examen du premier plan factoriel (**fig. 32**) et des contributions relatives des variables aux axes permet de constater l'existence de cinq ensembles de variables à fortes contributions relatives (1, 2, 3, 4 et 5) :



**Figure 32 : Carte factorielle des deux premiers axes de l'analyse en composante principales (les variables de modèle végétal cresson).**

L'ensemble 1, localisé du côté négatif de l'axe F2 et du côté positif de l'axe F1 dont contribue fortement à la formation de ce dernier. Il contient les variables suivantes : le MDA, la proline et les sucres totaux. Leurs corrélations à l'axe F1 sont respectivement : 0.830 ; 0.876 ; 0.958.

L'ensemble 2, situé du côté négatif des deux axes F2 et F1 dont contribue fortement à la formation de ce dernier axe. Il contient les variables suivantes : l'élongation foliaire, la chlorophylle (a), la chlorophylle (T) et la teneur en eau de la partie foliaire de cresson. Leurs corrélations à l'axe F1 sont respectivement : -0.945, -0.952, -0.953 et -0.710.

L'ensemble 3, situé du côté positif de l'axe F2 et du côté négatif de F1. Il contient seulement la variable chlorophylle (b) qui est fortement corrélée à l'axe F1 (-0.947).

L'ensemble 4, situé du côté négatif de l'axe F1 et du côté positif de l'axe F2, dont contribue fortement à la formation de ce dernier, formé par l'élongation racinaire et la teneur en eau des racines de cresson. Leurs corrélations à l'axe sont respectivement : 0.470; 0.862.

L'ensemble 5, situé du côté positif des deux axes F1 et F2. Il contient seulement la variable germination qui est fortement corrélée à l'axe F2 (0.708).

# **Chapitre IV :**

## **Discussion**

## IV Discussion

Dans cette partie seront interprétés les résultats de chaque paramètre évalué séparément afin de discuter l'impact NPs ZnO sur les trois espèces végétales étudiées, le blé tendre, le colza et le cresson.

### IV.1 Taux de germination

Les réponses germinatives ont été largement utilisées comme indicateurs de phytotoxicité dans les sols (**Tiquia et Tam, 1998**).

Toutes les concentrations de NPs de ZnO testées n'ont entraîné aucun effet significatif sur la germination des graines des trois espèces étudiées malgré un effet stimulant la germination qui semble avoir lieu pour les faibles concentrations C1 (0.035 g/kg) et C2 (0.175 g/kg) pour le blé tendre les concentrations C1(0.035 g/kg), C4 (4.375 g/kg) et C5 (21.875 g/kg) pour le colza. Les résultats publiés relatifs aux effets des NPs ZnO sur la germination divergent en fonction des espèces choisies. **Awasthi et al. (2017)** rapportent, dans une étude sur le blé tendre dans un milieu hydroponique où les concentrations de ZnO (9 nm des NPs hexagonales et pour la taille des agglomérats sphériques  $13\pm 2$  nm) sont très faibles, une augmentation significative de la germination (10 mg/l, 25 mg/l, 50 mg/l et 100 mg/l).

**Iloa et al. (2020)**, dans leurs travaux sur l'orge, concluent aussi à une augmentation significative de la germination des graines d'orge sous de faibles concentrations (1, 2 et 4 mg/L) de NPs ZnO (31nm). **Xiang et al. (2015)** ont observé que les NPs ZnO, à des concentrations de 1 à 80 mg/L, affectaient de manière insignifiante la germination des graines de chou chinois. De plus, **Raliya et al. (2015)** ont rapporté que la germination des graines de tomate n'était pas affectée par les NPs ZnO à des concentrations allant jusqu'à 750 mg/kg.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **García-Gómez et al. (2018)** qui ont appliqué les NPs ZnO dans des sols calcaires et acides pour vérifier l'effet sur la germination de neuf de graines, ils ont suggéré qu'il n'y avait pas d'effets nano-spécifiques sur les plantes lorsque les NPs ZnO étaient appliqués aux sols selon les recommandations de **Wang et al. (2013, 2016) in García-Gómez et al., 2018**.

De toutes ces observations, il en ressort donc que le taux de germination semble dépendre de la concentration d'exposition et de l'espèce choisies (**Iloa et al., 2020**).

## IV.2 Elongation racinaire

L'effet de NPs ZnO sur l'élongation racinaire semble être différent pour les 3 espèces, blé tendre, colza et cresson. La C5 (21.875 g/kg) testée a entraîné une diminution significative ( $p < 0.01$ ) par rapport aux autres concentrations et au témoin pour le blé tendre. Alors que, les concentrations C2 (0.175 g/kg), C3 (0.875 g/kg), C4 (4.375 g/kg) et C5 (21.875 g/kg) ont entraînés une diminution significative ( $p < 0.01$ ) par rapport au témoin et la C1 (0.035 g/kg) pour le Colza. En effet, **Mousavi Kouhi et al. (2014)** dans leur étude sur le colza exposés à de faibles concentrations (5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 250 et 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) de NPs ZnO avec des tailles  $< 50$  nm dans un milieu hydroponique, soulignent une diminution de la longueur des pousses et des racines.

Pour le cresson l'effet des concentrations de NPs ZnO sur l'élongation racinaire n'est pas significatif ( $p > 0.05$ ), ce qui contredit les résultats de l'étude faite par **Mielcarz-Skalska et Smolińska (2018)** sur la même espèce (NPs ZnO : taille  $< 100$  nm à une concentration de 100 mg/kg), où ils ont remarqué une diminution significative de la longueur racinaire.

Le fait que le taux de germination n'ait été affecté de manière significative par aucun traitement, alors que l'élongation racinaire était retardée de manière dose-réponse, suggère que le tégument peut empêcher le passage de substances chimiques affectant la germination, tandis que les radicules s'étendant à travers le tégument sont en contact direct avec le milieu (**Lin et Xing, 2007**).

## IV.3 Elongation foliaire

L'effet des NPs ZnO sur l'élongation foliaire est similaire pour les 3 plantes ; les concentrations C4 (4.375 g/kg) et C5 (21.875 g/kg) de NPs ZnO ont provoqué une diminution significative ( $p < 0.05$ ) comparativement au témoin et la C1 (0.035 g/kg), pour le colza et le blé tendre, et un effet significatif ( $p < 0.01$ ) des mêmes concentrations pour le cresson.

Pour le colza, il est clair que l'élongation racinaire est plus sensible aux concentrations que l'élongations foliaire. Étant donné que les radicules s'étendant du tégument de la graine doivent d'abord être exposées au milieu d'essai, leur retard est plus prononcé que celui des pousses (**Sresty et Rao, 1999**). Alors que le blé et le cresson n'ont pas réagi de façon similaire, la réponse serait probablement liée au type de système racinaire des plantes.

#### IV.4 Teneur en Eau

L'effet des concentrations des NPs ZnO sur la teneur en eau des racines était significatif pour les trois espèces. La concentration C4 (4.375 g/kg) et C5 (21.875 g/kg) ont considérablement réduit la teneur en eau des racines pour le blé tendre et seulement la C5 pour le colza. En revanche, les concentrations C2 (0.175 g/kg) et C3 (0.875) semblent bénéfiques pour ces deux espèces. Les effets toxiques pourraient être partiellement dus à la libération de  $Zn^{2+}$  par les NPs ZnO dans le sol (Cornelis et al., 2014). Par ailleurs, pour le cresson, la concentration C4 aurait présenté un effet sévère sur la teneur en eau des racines.

L'effet de NPs ZnO sur la teneur en eau des parties foliaires du blé tendre et du colza n'était pas significatif, dû probablement à l'importance du système racinaire par rapport aux feuilles de blé. Par contre le cresson a montré une réponse significative pour la concentration C5 (21.875 g/kg).

Xiaoping Wang et al. (2016) ont rapporté un effet inhibiteur de concentration de NPs ZnO (inférieure à 50 nm) sur la biomasse des racines et des feuilles d'Arabidopsis cultivé pendant 4 semaines, alors que nos résultats pour les deux espèces blé tendre et cresson n'ont montré aucune corrélation entre la teneur en eau racinaire et foliaire et l'augmentation des concentrations en NPs ZnO (fig. 30 et 32). Néanmoins, la figure 31 montre une corrélation entre la teneur en eau racinaire et foliaire pour le colza.

#### IV.5 Chlorophylle

Les cercles de corrélation des 3 espèces (fig. 30, 31 et 32) montrent une forte corrélation entre le taux de la CH (a), CH (b) et de CH (T). Néanmoins, la réponse des 3 espèces aux NPs ZnO vis-à-vis des teneurs en chlorophylle était spécifique pour chacune d'elles.

Si les résultats des 3 types de chlorophylle étaient non significatifs pour le blé tendre, en revanche, le colza et le cresson ont montré des réponses significatives. Cette étude a présenté à une augmentation significative de taux de chlorophylle pour la concentration C1(0.035 g/kg), pour les deux espèces (cresson et colza). Tandis que les concentrations C4 (4.375 g/kg) et C5 (21.875 g/kg) semblent avoir un effet toxique, en plus de ces deux concentrations, la C3 (0.875 g/kg) a démontré une diminution significative du taux de chlorophylle pour le cresson. Ainsi les faibles concentrations semblent avoir un effet stimulant sur l'élaboration de la chlorophylle. Cependant, le stress environnemental pourrait provoquer la modification de la concentration en chlorophylle et affecter par la suite la santé des plantes (Sriprapat et al., 2011).

La coopération de Chl (a) et Chl (b) pourrait aider au transfert d'électrons dans le photosystème I. La forte concentration de Zn perturbe l'enveloppe des chloroplastes et l'intégrité du système membranaire de la thylakoïde (**Jin et al., 2008**). Il est suggéré que les NPs ZnO peuvent avoir une forte biotransformation dans les plantes (**Ma et al., 2015**), et elles peuvent causer des dommages en se transformant en ions Zn et induire la diminution de la teneur en chlorophylle.

Les cercles de corrélation (**fig. 30 et 31**) ont montré une forte corrélation entre le taux de la chlorophylle et l'élongation racinaire et selon **Kummerova et al. (2001)**, les modifications des pigments de la photosynthèse pourraient être liées à des dommages racinaires.

Le zinc intervient dans la synthèse des pigments photosynthétiques tels que la chlorophylle. Cependant, une quantité excessive de Zn provoque une chlorose des tissus des feuilles et des pousses et génère des espèces réactives de l'oxygène (**Pramanick et al., 2017**).

D'après **Wang et al. (2016)**, les plantes dicotylédones sont plus sensibles que les monocotylédones aux concentrations excessives du zinc et certains chercheurs préconisent cette hypothèse en raison du déplacement des contaminants à un stade précoce de développement, des racines aux pousses.

#### IV.6 Proline

L'exposition des 3 espèces végétale à des concentrations croissantes de NPs ZnO conduit à une augmentation significative de la teneur en proline chez le blé et le cresson par rapports à leurs témoins, en concordance avec les résultats obtenus par **Rayhaneh et al. (2016)** pour une étude effectuée sur la tomate. Ces résultats confirment aussi les conclusions de **Rao et Shekhawat (2014)** qui ont également signalé une augmentation progressive de la teneur en proline de *Brassica juncea* (moutarde brune) exposé aux concentrations 200, 500 et 1000 mgL<sup>-1</sup> de NPs ZnO. **Aslam et al. (2017)** avancent que la proline joue également un rôle important pendant le stress oxydatif en tant que chélateur de métaux.

Le colza a répondu différemment vis-à-vis des mêmes concentrations ; le taux de proline a augmenté dans le témoin et la C1, mais il a diminué pour les concentrations C2, C3 et C5. **Ben Rejeb et al. 2012 ; Shahla et al. (2018)** suggèrent que la réduction de la proline peut être due au piégeage des ROS (radicaux libres de l'oxygène) par la proline.

L'accumulation de proline sous stress chez de nombreuses espèces végétales a été corrélée à la tolérance au stress. Sa concentration s'est avérée généralement plus élevée dans les plantes tolérantes au stress comme *Atriplex lentiformis* que dans les plantes sensibles à ce dernier (**Goni et al., 2018**). Plusieurs chercheurs ont souligné qu'il existe une relation directe entre la synthèse

de la proline et le développement d'une résistance au stress chez les plantes, telles que le tabac, le blé, les agrumes, la canne à sucre et différentes autres plantes (**Krasavina et al., 2014**).

#### IV.7 Sucres totaux

Les résultats de la teneur en sucres totaux du blé tendre n'ont montré aucune modification ( $p > 0.05$ ) et de même pour le taux de la chlorophylle. Dans une étude sur le concombre, **Zhao et al. (2014)**, constatent que la photosynthèse dans les feuilles n'est pas réduite par l'augmentation des concentrations des NPs ZnO et la composition glucidique du fruit n'a pas été modifiée. Pourtant, il a déjà été rapporté qu'une activité photosynthétique réduite entraîne une diminution de la concentration de sucres solubles et souvent une accumulation d'amidon dans les feuilles (**Goodman et al., 1986**).

Concernant le cresson et le colza, les résultats obtenus montrent une augmentation significative du taux de sucres avec l'augmentation des concentrations de NPs ZnO. Depuis longtemps, il est connu que le taux des sucres augmente considérablement chez les plantes soumises aux différents types de stress. Ceci a été vérifié par **Chunyang (2003) in Soltani (2014)**, chez des arbres adultes d'eucalyptus sous différents stress hydriques.

Les principaux sucres solubles accumulés sous stress sont : le glucose, fructose et le saccharose (**Hare et al. 1998**), et ces derniers semblent jouer un rôle très important dans le maintien d'une pression de turgescence qui est à la base des différents processus contrôlant la vie d'une plante.

#### IV.8 Malondialdéhyde (MDA)

Une augmentation significative du taux de MDA avec l'accroissement des concentrations de NPs ZnO est enregistrée pour le cresson, qui a présenté des teneurs maximales de d'accumulation de MDA à partir de la C2 (0.175 g/kg) par rapport au témoin, alors que le taux maximal de MDA est enregistré pour les concentrations C4 (4.375 g/kg) et C5 (21.875 g/kg) pour le colza.

Des travaux antérieurs ont montré que les effets toxiques des NPs ZnO sur les plantes sont probablement causés par l'induction d'un stress oxydatif chez les plantes (**Bandyopadhyay et al., 2015**). L'exposition des plantes aux métaux lourds induit le stress oxydatif dans les plantes, en particulier le déclenchement de la peroxydation des lipides membranaires (**Anjum et al., 2012**). L'augmentation du niveau de MDA indique des dommages aux membranes cellulaires (**García-Gómez et al., 2008**).

L'accroissement des teneurs en proline et en MDA avec l'augmentation de la concentration en ions métalliques indique une corrélation entre la génération de radicaux libres et l'accumulation de la proline (**Meenakshi et al., 2006**). La proline protège les cellules végétales des dommages de peroxydation lipidique (**Alves et al., 2018**). Cela est confirmé par la corrélation entre ces deux paramètres (**fig. 32**).

D'autre part, le blé tendre a démontré que le taux le plus important de MDA est constaté au niveau du témoin ; cette observation corrobore celles rapportées pour le pois chiche en absence de zinc (témoin) présentant également des niveaux de MDA les plus élevés, révélant ainsi l'importance du zinc pour l'intégrité de la biomembrane (**Burmana et al., 2013**). Ceci est en accord avec l'observation précédente où il a été rapporté que le zinc exerce un effet stabilisant et protecteur sur les biomembranes contre les altérations de la perméabilité oxydative et membranaire (**Bettger et O'Dell, 1981**). Pour notre étude, seule la plus faible concentration C1 (0.035 g/kg) de NPs ZnO semble être efficace pour diminuer le taux de MDA dans le blé tendre.

# **Conclusion et perspectives**

## Conclusion

Notre contribution a eu pour objectif la mise en évidence de l'impact des nanoparticules de NPs ZnO sur la croissance et le développement des trois espèces végétales proposées par les normes des essais écotoxicologiques, le blé tendre, le colza et le cresson, par le suivi de la variation de quelques paramètres biométriques, physio-morphologiques et biochimiques. Les essais ont été effectués en pots contenant du terreau artificiel additionné de nanoparticules de ZnO à différentes concentrations et ensemencés par les trois espèces végétales. Après une durée de 15 à 18 jours de développement, les résultats obtenus nous permettent d'aboutir à diverses observations. Les espèces étudiées ont montré des sensibilités plus au moins différentes aux NPs ZnO évaluées par les paramètres biométriques, physio-morphologiques et biochimiques.

Le cresson a été la seule espèce végétale qui a montré des taux élevés de biomarqueurs de stress (MDA et Proline), une corrélation positive dose-réponse a été observée. Le colza a montré presque la même réponse que le cresson à l'exception avec MDA qui n'était pas en corrélation avec la proline et aux sucres totaux, ainsi que la teneur en eau des feuilles et l'élongation racinaire. Concernant le blé tendre, seuls certains paramètres ont été affectés (ER, TER, la proline et MDA) suite à l'exposition au NPs ZnO et la réponse n'a pas suivi un schéma dose-réponse régulier.

Pour les deux espèces végétales, blé tendre et colza, on n'a pas observé une corrélation positive entre l'augmentation de la concentration de NPs ZnO et la réponse des plantes. Nous avons observé que les concentrations C2 (0.175 g/kg), C3 (0.875 g/kg), C4 (4.375 g/kg) et C5 (21.875 g/kg) ont montré des effets toxiques pour le cresson. Par contre ces effets toxiques se sont manifestés chez le blé tendre et le colza pour les concentrations C4 (4.375 g/kg) et C5 (21.875 g/kg) seulement. La plus faible concentration en NPs ZnO C1 (0.035 g/kg) a provoqué une augmentation de taux de chlorophylle pour le cresson et le colza et une diminution significative de MDA pour le blé tendre.

La grande variabilité observée dans les réponses rend difficile de définir un mécanisme d'action. Des différences étaient prévisibles et attendues car l'altération des paramètres biochimiques dépend fortement des propriétés physico-chimiques du substrat, des espèces végétales et de l'état végétatif.

L'impact des nanoparticules métalliques est fortement lié à leurs formes géométriques, paramètres non pris en compte dans cette étude. De même, la toxicité des nanoparticules dépend de la taille ou de l'état d'agglomération. Ces deux observations ont fait l'objet de publications.

De ce fait, les différentes conditions expérimentales peuvent également induire des résultats de d'écotoxicité différents. Il faut aussi signaler que notre expérience a porté sur une durée relativement courte et des concentrations très fortes (C4 (4.375 g/kg) et C5 (21.875g/kg)) par rapport à ceux rapportés par la littérature.

## Perspectives

Cette première approche nécessite un approfondissement de l'aspect expérimental afin de mieux cerner l'influence des NPs ZnO sur la germination et le développement de diverses espèces végétales. Des perspectives d'étude s'imposent et nous nous proposons les investigations suivantes :

- ✓ Caractériser les particules NPs ZnO du point de vue taille, forme, surface, agglomération...
- ✓ Quantifier les biomarqueurs de stress enzymatique comme la catalase (CAT), la peroxidase (POX) et la superoxyde dismutase (SOD)...ect
- ✓ Quantifier l'impact sur les antioxydants de la plante ;
- ✓ Qualifier le Zn et le ZnO dans le milieu et les différentes parties racinaires et aériennes de la plante (translocation et bioaccumulation) ;
- ✓ Définir la concentration exacte qui a un effet bénéfique sur différentes espèces végétales ;
- ✓ Définir la concentration exacte qui a un effet toxique sur différentes espèces végétales ;
- ✓ Prolonger la durée d'exposition des végétaux aux PNs Zn ;
- ✓ Etendre l'étude à d'autres réponses biologiques et biomarqueurs ;
- ✓ Observer l'effet combiné des NPs ZnO avec d'autres paramètres environnementaux comme la température, la lumière, la nature du substrat...

# **Références Bibliographiques**

## References Bibliographiques

- **Al Mahrouqi, D., Al Riyami, S., Barry, M.J., 2018.** Effects of Zn and Ti nanoparticles on the survival and growth of sclerophrys arabica tadpoles in a two-level trophic system. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 101(5): 592–597.
- **Ali, D., Alarifi, S., Kumar, S., Ahamed, M., Siddiqui, M.A., 2012.** Oxidative stress and genotoxic effect of zinc oxide nanoparticles in freshwater snail *Lymnaea luteola* L. *Aquat. Toxicol.* 124(125): 83–90.
- **Alves, R. de C., A.S., de Medeiros, M.C.M. Nicolau, A.P. Neto, F. de Assis oliveira, L.W. Lima, P.L. Gratão., 2018.** The partial root-zone saline irrigation system and antioxidant responses in tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry.* 127: 366-379.
- **An, J., Zhou, Q X., Sun, Y B., Xu, Z Q., 2009.** Ecotoxicological effects of typical personal care products on seed germination and seedling development of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Chemosphere*, 76(10): 1428–1434.
- **Andre, C.M., Larondelle, Y., Evers, D., 2010.** Dietary antioxidants and oxidative stress from a human and plant perspective: a review. *Curr. Nutri. Food Sci.*, 6: 2–12.
- **Anjum, N.A., Ahmad, I., Mohmood, I., Pacheco, M., Duarte, A.C., Pereira, E., Umar, S., Ahmad, A., Khan, N.A., Iqbal, M., 2012.** Modulation of glutathione and its related enzymes in plants' responses to toxic metals and metalloids. a review. *Environ. Exp. Bot.* 75: 307–324.
- **Araújo, A.P.C., Lima, V.S., de Andrade Vieira, J.E., Mesak, C., Malafaia, G., 2019.** First report on the mutagenicity and cytotoxicity of ZnO nanoparticles in reptiles. *Chemosphere* 235: 556–564
- **Arezki Benali, 2021** Blé : L'Algérie a importé plus d'un million de tonnes en deux semaines, en majorité de France. Site web (<https://www.algerie-eco.com/2021/01/30/ble-lalgerie-a-importe-plus-dun-million-de-tonnes-en-deux-semaine-en-majorite-de-france>).
- **Aslam, M., Saeed, M.S., Sattar, S., Sajad, S., Sajjad, M., Adnan M., Sharif, M.T., 2017.** Specific Role of Proline Against Heavy Metals Toxicity in Plants. *Int. J. Pure App. Biosci.* 5(6): 27-34.
- **Awasthi, A., Sonu, B., Lokesh, K J., Garima, A., Kumud, K A., and Kamlendra, A., (2017).** Effect of ZnO Nanoparticles on Germination of *Triticum aestivum* Seeds. *journal macromolecular symposia.* 376: 1700043 (1-5).
- **Bandyopadhyay,S., Plascencia-Villa,G., Mukherjee,A., Rico,C.M.,J osé-Yacamán, M., Peralta Videá,J.R., et al., 2015.** Comparative phytotoxicity of ZnO NPs, bulk ZnO, and ionic zin conto the alfalfa plants symbiotically associated with *Sinorhizobium meliloti* in soil. *Sci.Total.Environ.* 515–516: 60–69.
- **Batsmanova L. M., Gonchar L. M., Taran N. Y., and Okanenko A. A.,2013.** Using a colloidal solution of metal nanoparticles as micronutrient fertilizer for cereals. *Proceedings of the International Conference Nanomaterials*, 2(4): 2
- **Ben Rejeb, K., Abdely, C., Saviour, A. 2012.** La proline, un acide aminé multifonctionnel impliqué dans l'adaptation des plantes aux contraintes environnementales. *Biologie Aujourd'hui*, 206 (4) : 291–299.
- **Bernhardt E.S., Colman B.P., Hochella M.F., Cardinale B.j., Nisbet R.M., Richardson C.J., Yin L. 2010.** An ecological perspective on nanomaterial impacts in the environment. *J. Environ. Qual.*, 39: 1–12.

- **Bettger, W.J., O'Dell, B.L. 1981.** A Critical Physiological Role of Zinc in the Structure and Function of Biomembranes. Minireview: *Life Sciences* 28: 1425–1438.
- **Borm, P., Klaessig, F.C., Landry, T.D., Moudgil, B., Pauluhn, J., Thomas, K., Trottier, R., Wood, S., 2006a.** Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part V: role of dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles. *Toxicological Sciences* 90 (1): 23-32.
- **Borm, P., Robbins, D., Haubold, S., Kuhlbusch, T., Fissan, H., Donaldson, K., Schins, R., Stone, V., Kreyling, W., Lademann, J., Krutmann, J., Warheit, D., Oberdorster, E., 2006b.** The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Particle and Fibre Toxicology* 14:3-11.
- **Boulal, H., Zaghouane, O., EL Mourid, M., et Rezgui, S., 2007.** Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blés et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Ed. ITGC, INRA, ICARDA, Algérie, 176 p
- **Burmana U., Mahesh S., Praveen- Kumarc Central Arid, (2013).** Effect of zinc oxide nanoparticles on growth and antioxidant system of chickpea seedlings. *Journal Toxicological & Environmental Chemistry*. 95(4) :605-612.
- **Casals, E., S. Va'zquez-Campos, N.G. Bastu's, Puntos, V., 2008.** Distribution and potential toxicity of engineered inorganic nanoparticles and carbon nanostructures in biological systems. *Trends in Analytical Chemistry*, 27(8): 672-683.
- **Chellali B., 2007.** Marché mondial des céréales : L'Algérie assure sa sécurité alimentaire. <http://www.lemaghreb.dz.com/admin/folder01/une.pdf>.
- **Chupani, L., Niksirat, H., Velí sek, J., Star a, A., Hradilov a, S., Kola rík, J., 2018.** Chronic dietary toxicity of zinc oxide nanoparticles in common carp (*Cyprinus carpio* L.): tissue accumulation and physiological responses. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 147: 110–116.
- **Clément D., 2010.** Identification des critères du grain de blé (*Triticum aestivum* L.) favorables à la production de bioéthanol par l'étude d'un ensemble de cultivars et par l'analyse protéomique de lignées isogéniques waxy. Thèse de Doctorat, Université Blaise Pascal, 275 p.
- **Cornelis, G., Hund-Rinke, K., Kuhlbusch, T., vandenBrink, N., and Nickel, C., 2014.** Fate and bioavailability of engineered nanoparticles in soils: a review. *Crit. Rev. Env. Sci. Technol.* 44: 2720-2764.
- **De Souza, J.M., de Oliveira Mendes, B., Guimar aes, A.T.B., de Lima Rodrigues, A.S., Chagas, T.Q., Rocha, T.L., Malafaia, G., 2018.** Zinc oxide nanoparticles in predicted environmentally relevant concentrations leading to behavioral impairments in male swiss mice. *Sci. Total Environ.* 613: 653–662.
- **Doke, S., Guha, M., 2014.** Garden cress (*Lepidium sativum* L.) Seed - An Important Medicinal Source: A Review. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 4(1):69-80.
- **Doussinault, G., Kaan, F., Lecomte, C., et Monneveux, P., 1992.** Les céréales à paille : présentation générale. In : Gallais A. et Bannerot H. (Eds.), Amélioration des espèces végétales cultivées. Ed. INRA, Paris, pp. 13- 21
- **Emami-Karvani, Z., Chehrazi P., 2011.** Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on gram-positive and gram-negative bacteria. *Afr. J. Microbiol. Res.* 5 (12): 1368-1373.
- **Fahmy, S., Abdel-Ghaffar, F., Bakry, F., Sayed, D., 2014.** Ecotoxicological Effect of Sublethal Exposure to Zinc Oxide Nanoparticles on Freshwater Snail *Biomphalaria alexandrina*; *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 67:192–202.
- **FDS, Sigma Aldrich 2006** : Fiche de données et de sécurité.

- **Fuchs, j., Gilles, W., 2018.** Institut de recherche de l'agriculture biologique (FiBL).
- **Gagné, F., Turcotte, P., Auclair, J., Gagnon, C., 2013.** Sublethal Effects of Silver Nanoparticles and Dissolved Silver in Freshwater Mussels. *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol.* 158: 22–28.
- **Gaiser, B. K., Fernandes, T. F., Jepson, M., Lead, J. R., Tyler, C. R., and Stone, V., 2009.** Assessing exposure, uptake and toxicity of silver and cerium dioxide nanoparticles from contaminated environments. *Environ Health 8 Suppl 1*: S2.
- **Gamzikova, O., Savitskaya, VA., 1979.** On cold hardiness and drought resistance of durum wheat. *Siber Vest Sel'sk-Khoz Nauki*; 54: 18-22
- **García-Gómez, C., Ana, O., Demetrio, G., Mar Babín, María, DF., 2018.** Comparative study of the phytotoxicity of ZnO nanoparticles and Zn accumulation in nine crops grown in a calcareous soil and an acidic soil. *Science of the Total Environment*; 644:770–780.
- **Garcia-Sanchez, S., Bernales, I., Cristobal, S., 2015.** Early response to nanoparticles in the Arabidopsis transcriptome compromises plant defence and root-hair development through salicylic acid signalling. *BMC Genom*, 16 (1): 341.
- **Garg, N., Manchanda, G., 2009.** ROS generation in plants: Boon or bane? *Plant Biosyst*; 143: 81–96.
- **Ghosh, M., Ghosh, I., Godderis, L., Hoet P., et Mukherjee, A., 2019.** Génotoxicité des nanoparticules modifiées dans les plantes supérieures. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 842 : 132-145.
- **Gokavi, S., Malleshi, N.G., Guo, M., 2004.** Chemical composition of garden cress (*Lepidium sativum*) seeds and its fractions and use of bran as a functional ingredient. *Plant Food Hum. Nutr.* 59: 105–111.
- **Goni, O., Quille, P., O'Connell, S., (2018).** Ascophyllum nodosum extract biostimulants and their role in enhancing tolerance to drought stress in tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry*., 12: 63-73.
- **Goodman, R. N., Kiraly, Z., Wood, K. R. 1986.** The Biochemistry and Physiology of Plant Disease; University of Missouri Press: Columbia.
- **Gottschalk, F., and Nowack, B., 2011.** The release of engineered nanomaterials to the environment. *J. Environ Monit.* 13(5): 1145-1155.
- **Grara, N., Bouloudenine, M., Khaldi, F., Zenir, Z., Abdemadjid, S., 2015.** Caractérisation Morphophysique de la Toxicité du ZnO (Nanoparticule manufacturée) sur l'escargot l'*Helix aspersa* bioindicateur de pollution de l'environnement. *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (9) : 2596-2603.
- **Hackenberg, S., Scherzed, A., Technau, A., Kessler, M., Froelich, K., Ginzkey, C., Koehler, C., Burghartz, M., Hagen, R., and Kleinsasser, N., 2011.** Cytotoxic, genotoxic and pro inflammatory effects of zinc oxide nanoparticles in human nasal mucosa cells *in vitro*. *Toxicol In Vitro* 25(3): 657-663.
- **Hao, L., Chen, L., 2012.** Nano-architecture and material designs for water splitting photoelectrodes. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 80: 103 -110.
- **Hare P. et Cress W. A., 1998.** Metabolic implication of stress induced proline accumulation in plants. *Plant growth Regul.* 21 : 79-102.
- **Hariharan, C., 2006.** Photocatalytic degradation of organic contaminants in water by ZnO nanoparticles: Revisited. *Applied Catalysis A*: 304(10) :55-61
- **Hernandez-Viezcas, J.A., Castillo-Michel, H., Servin, A.D., Peralta-Videa, J.R., Gardea-Torresdey, J.L., 2011.** Spectroscopic verification of zinc absorption and distribution in the desert plant *Prosopis juliflora-velutina* (velvet mesquite) treated with ZnO nanoparticles. *Chem. Eng. J.* 170: 346–352.

- **Hodges, DM., DeLong, JM., Forney, CF., Prange, RK., 1999.** Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta* 207: 604–611
- **Hongbo, Ma., Phillip, L., Williams, b., Stephen, A., Diamond, A., 2013.** Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles. *Environmental Pollution* 172: 76-85.
- **Jayarambabu, N., et Rao., KV., 2019.** Nanomatériaux issus de la biotechnologie pour la promotion et la protection de la croissance des plantes. *Applications de la nanobiotechnologie dans la protection des plantes*, Springer, Cham, Suisse. 35-48
- **Jeng, H. A. and Swanson, J., 2006.** Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng* 41(12): 2699-2711.
- **Jiang, W., Yang, K., Vachet, R.W., Xing, B., 2010.** Interaction between Oxide Nanoparticles and Biomolecules of the Bacterial Cell Envelope as Examined by Infrared Spectroscopy. *Langmuir*. 26:18071–18077.
- **Jin, X.F., Yang, X.E., Islam, E., Liu, D., Mahmood, Q., Li, H., Li, J., 2008.** Ultrastructural changes, zinc hyperaccumulation and its relation with antioxidants in two ecotypes of *Sedum alfredii* Hance. *Plant Physiol. Biochem.* 46 (11): 997-1006.
- **Kah, M., Kookana, R.S., Gogos, A., Bucheli, T.D., 2018.** A critical evaluation of nanopesticides and 681 nanofertilizers against their conventional analogues. *Nature Nanotechnology* 13: 677–684. 682.
- **Kahru, A., and Savolainen, K., 2010.** Potential hazard of nanoparticles: from properties to biological and environmental effects. *Toxicology*. 269(2-3): 89-91.
- **Karazhiyan, H., Razavi, S.M.A., Phillips, G.O., 2011.** Extraction optimization of a hydrocolloid extract from cress seed (*Lepidium sativum*) using response surface methodology. *Food Hydrocolloids*, 25(5): 915- 920.
- **Kaya, H., Aydin, F., Gürkan, M., Yilmaz, S., Ates, M., Demir, V., Arslan, Z., 2015.** Effects of zinc oxide nanoparticles on bioaccumulation and oxidative stress in different organs of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 40 (3): 936–947.
- **Keller, A.A., Lazareva, A., 2014.** Predicted Releases of Engineered Nanomaterials: From Global to 690 Regional to Local. *Environ. Sci. Technol. Lett.* 1 :65–70.
- **Keller, A.A., McFerran, S., Lazareva, A., Suh, S., 2013.** Global lifecycle releases of engineered nanomaterials. *J. Nanopart. Res.* 15:1692–1708.
- **Kousar, S., Jahan, N., Rehman, K., and Nosheen, S., 2011.** Antilipidemic activity of *Coriandrum Sativum* . *Bioscience Research*, 8(1): 08-14.
- **Krasavina, M.S., Burmistrova, N.A., Raldugina, G.N., 2014.** The Role of Carbohydrates in Plant Resistance to Abiotic Stresses. *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance*: 1: 229-270.
- **Kuhn, H., Lorek, J., Kwaaitaal M., et al., 2017.** Les composants clés de différentes voies de défense des plantes sont indispensables pour la résistance à l'oïdium du triple mutant *Arabidopsis mlo2 mlo6 mlo12* ". *Frontiers in Plant Science* , 8 : 1-19.
- **Kulvietis, V., Zalgevičienė, V., Didziapetriene, J., and Rotomskis, R., 2011.** "Transport of nanoparticles through the placental barrier." *Tohoku J Exp Med*, 225(4): 225-234.
- **Kummerova, M., Kmentova, E., Koptíkova, J., 2001.** Effect of fluoranthene on growth and primary processes of photosynthesis in faba bean and sunflower. *Rostl. Vyroba* 47 (8): 344-351.

- **Kurepa, J., Paunesku, T., Vogt, S., Arora H., Rabatic, B. M., Lu, J., 2010.** Uptake and distribution of ultrasmall anatase TiO<sub>2</sub> Alizarin red S nanoconjugates in *Arabidopsis thaliana*. *Nano Lett*, 10: 2296-2302.
- **Lanone, S., Boczkowski, J., 2010.** Les sources de nanoparticules. *Elsevier Masson. Revue française d'allergologie*, 50 : 211-213
- **Lin D. and Xing B., 2007.** Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*, 150: 243-250.
- **Lin, D., and B. Xing. 2007.** Phytotoxicity of Nanoparticles: Inhibition of Seed Germination and Root Growth. *Environmental Pollution* 150: 243-250.
- **Lipovsky, A., Nitzan, Y., Gedanken, A., Lubart, R., 2011.** Antifungal activity of ZnO nanoparticles: the role of ROS mediated cell injury. *Nanotechnology* 22 (10): 105101.
- **Lipovsky, A., Tzitrinovich, Z., Friedmann, H., Applerot, G., Gedanken, A., Lubart, R., 2009.** EPR study of visible light-induced ROS generation by nanoparticles of ZnO. *The Journal of Physical Chemistry C* 113 (36):15997-16001.
- **Lona, P., Inese, K., Anastasija, P., Marija, J., Vjačeslavs, G., et Marina K., 2020.** L'impact des nanoparticules d'oxyde de zinc sur la cytotoxicité, la génotoxicité et l'expression des miARN chez les semis d'orge (*Hordeum vulgare* L.). *Journal du monde Scientifique*, 20 :1-13
- **López-Moreno M. L., G. de La Rosa, J. A. Hernández-Viezcas et al., 2010.** Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO<sub>2</sub> nanoparticles on soybean (*Glycine max*) plants. *Environmental Science & Technology*, 44(19) :7315-7320.
- **M. Rizwan, S. Ali, MF Qayyum et al., 2017.** Effet des nanoparticules de métal et d'oxyde métallique sur la croissance et la physiologie des cultures vivrières d'importance mondiale : un examen critique. *Journal of Hazardous Materials* , 322 : 2-16 .
- **Ma, C., White, J.C., Dhankher, O.P., Xing, B., 2015.** Metal-based nanotoxicity and detoxification pathways in higher plants. *Environ. Sci. Technol.* 49 (12): 7109-7122.
- **Ma, H., Kabengi, N.J., Bertsch, P.M., Unrine, J.M., Glenn, T.C., Williams, P.L., 2011.** Comparative phototoxicity of nanoparticulate and bulk ZnO to a free-living nematode *Caenorhabditis elegans*: the importance of illumination mode and primary particle size. *Environmental Pollution*. 159 (6): 1473-1480.
- **Mahdavi, S., Jalali, M., Afkhami, A., 2012.** Removal of heavy metals from aqueous solutions using Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, ZnO, and CuO nanoparticles *J.Nanopart.Res.*14:1–18.
- **Meenakshi, C., Umesh Kumar, J., Mohammed, A K., Sunaina, Z., Tasneem, F., 2006.** Effect of heavy metal stress on proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Spirulina platensis*-S5. *Elsevier, Ecotoxicology and Environmental Safety*. 66: 204-209.
- **Mehennaoui, K. 2017.** Understanding the impact of engineered nanoparticles *Gammarus* sp. as a valuable non-vertebrate model? Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, 257p
- **Mehennaoui, K., Georgantzopoulou, A., Felten, V., Andrei, J., Garaud, M., et al. 2016.** *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda) as a model organism to study the effects of silver nanoparticles. *Science of Total Environment*. 566-567: 1649-1659.
- **Miao, A.J., Zhang, X.Y., Luo, Z., Chen, C.S., Chin, W.C., Santschi, P.H., Quigg, A., 2010.** Zinc oxide engineered nanoparticles: dissolution and toxicity to marine phytoplankton. *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (12): 2814-2822.

- **Mielcarz-Skalska, L., Smolińska, B., 2018.** Beata Response of *Lepidium sativum* to soil contamination with zinc in molecular and nanoparticle form. *J Word scientific news* .114 :55-67.
- **Mousavi Kouhi SM., Lahouti, M., Ganjeali, A., et Entezari, MH., 2014.** Phytotoxicité comparative des nanoparticules de ZnO, des microparticules de ZnO et du Zn<sup>2+</sup> sur le colza (*Brassica napus L.*): enquêter sur une large gamme de concentrations. *Toxicologique et environnemental Chimie*, 96, (6) : 861-868.
- **Mudunkotuwa, I.A., Rupasinghe, T., Wu, C.-M., Grassian, V.H., 2012.** Dissolution of ZnO nanoparticles at circumneutral pH: a study of size effects in the presence and absence of citric acid. *Langmuir* 28 (1): 396-403
- **Nations, S., Long, M., Wages, M., Canas, J., Maul, J.D., Theodorakis, C., Cobb, G.P., 2011.** Effects of ZnO nanomaterials on *Xenopus laevis* growth and development. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74 (2): 203–210.
- **Oberdorster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., 2005.** Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicol.* 2(8):1-35.
- **Parent, C., Capelli, N., Dat, J., 2008.** Formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes Reactive oxygen species, stress and cell death in plants. *Comptes Rendus Biologies.* 331 (4) :255–261.
- **Peng, Y.H., Tsai Y.C., Hsiung, C.E., Lin, Y.H., Shih, Y., 2017.** Influence of water chemistry on the environmental behaviors of commercial ZnO nanoparticles in various water and wastewater samples. *J. Hazard. Mater.* 322: 348–356.
- **Pramanick, P., Chakraborty, A., Sen. Raychaudhuri, S., 2017.** Phenotypic and biochemical alterations in relation to MT2 gene expression in *Plantago ovata* Forsk under zinc stress. *Bio. Metals.* 30(2): 171-184.
- **Prasad T. N. V. K. V., Sudhakar, P., Sreenivasulu Y., 2012.** Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition..* 35( 6): 905–927.
- **Qin, B., M. Wang, H.-X. Lui, H.-X. Xiao, Y. Zhang et Wang, L.-F., 2019.** Identification et caractérisation d'un gène candidat potentiel conférant une sensibilité à l'oïdium chez l'hévéa. *Phytopathologie.* 109 (7) : 1236-1245.
- **Raikova O. P., Panichkin L. A., and Raikova N. N., 2006.** Studies on the effect of ultrafine metal powders produced by different methods on plant growth and development. Nanotechnologies and information technologies in the 21st century. *Proceedings of the International Scientific and Practical Conference*,108–111, Moscow, Russia.
- **Raliya R., R. Nair, S. Chavalmane, W.-N. Wang et P. Biswas, (2015).** Évaluation mécaniste de la translocation et de l'impact physiologique des nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de zinc sur la plante de tomate (*Solanum lycopersicum L.*), *Metallomics*.7, (12):1584-1594.
- **Rao, S., and Shekhawat, G. S. 2014.** Toxicity of ZnO engineered nanoparticles and evaluation of their effect on growth, metabolism and tissue specific accumulation in *Brassica juncea*. *J. Environ. Chem. Eng.* 2: 105– 114.
- **Rayhaneh, A., Maryam, N., Mohammad S., 2016.** Impact of zinc and zinc oxide nanoparticles on the physiological and biochemical processes in tomato and wheat. *Botany*.95: 5.

- **Reed, R.B., Ladner, D.A., Higgins, C.P., Westerhoff, P., Ranville, J.F., 2012.** Solubility of nano-zinc oxide in environmentally and biologically important matrices. *Environmental Toxicology and Chemistry* 31 (1): 93-99.
- **Sapkota, A., Anceno, A.J., Baruah, S., Shipin, O.V., Dutta, J., 2011.** Zinc oxide nanorod mediated visible light photoinactivation of model microbes in water. *Nanotechnology* 22 (21) : 5703-5707.
- **Sarikami, G., and Yanmaz, R., 2011.** Effects of cultivar and developmental stage on glucosinolates in garden cress (*Lepidium sativum* L.). *J. of Medicinal Plants Research*, 5(17): 4388-4392.
- **Schwab F., Zhai G., Kern M., Turner A., Schnoor J.L., Wiesner M.R., 2015.** Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants. *Critical review Nanotox.* 10: 257–278
- **Scott N., Chen H. 2002.** Nanoscale science and engineering for agriculture and food systems. *National Planning Workshop November 18–19 Washington DC.*
- **Selivanov V. N. and Zorin E. V., 2001.** Sustained Action of ultrafine metal powders on seeds of grain crops. *Perspekt. Materialy.*, 4:66–69.
- **Sewelam N., Kazan K., Schenk P.M. 2016.** Global plant stress signaling: reactive oxygen species at the cross-road. *Front. Plant Sci.*7: 187.
- **Shahla, H., Zahra, A., Shahram, P., Nazi N., 2018.** Investigation of ZnO nanoparticles on proline, anthocyanin contents and photosynthetic pigments and lipid peroxidation in Soybean . *IET Nanobiotechnology.* 13(1) :66-70
- **Shahzad, K., Khan, M.N., Jabeen, F., Kosour, N., Chaudhry, A.S., Sohail, M., Ahmad, N., 2019.** Toxicity of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) in tilapia (*Oreochromis mossambicus*): tissue accumulation, oxidative stress, histopathology and genotoxicity. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 16 (4): 1973–1984.
- **Shang, Y., Hasan, MK., Ahammed, GJ., Li, M., Yin H., et Zhou, J., 2019.** Applications de la nanotechnologie dans la croissance des plantes et la protection des cultures : une revue. *Molécules* , 24,(14) : 2558.
- **Sharma, VK., Sayes, CM., Guo, B., et al., 2019.** Interactions entre les nanoparticules d'argent et d'autres nanoparticules métalliques dans des conditions pertinentes pour l'environnement. Une revue, *Science of the Total Environment.*653 : 1042-1051.
- **Sheela, T., Nayaka, Y.A., Viswanatha, R., Basavanna, S., Venkatesha, T.G., 2012.** Kinetics and thermodynamics studies on the adsorption of Zn(II), Cd(II) and Hg(II) from aqueous solution using zinc oxide nanoparticles. *Powder Technol.*217:163–170.
- **Shukla, A., Dasgupta, N., Ranjan, S., Singh, S., et Chidambaram, R., 2017.** La nanotechnologie pour la prévention de l'anémie et de l'ostéoporose : du concept au marché. *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* 31(5) : 863-879.
- **Simon-Deckers A., Loo, S., Mayne-L'Herm Saite, M., Herlin-Boime, N., Menguy, N., Reynaud, C., Gouget, B., et Carriere, M., 2009.** Size-, Composition- and Shape-Dependent Toxicological Impact of Metal Oxide Nanoparticles and Carbon Nanotubes toward Bacteria. *Environmental Science & Technology* 43(21): 8423-8429.
- **Soltani, AA., 2014** Ecologie de l'ailante glanduleux (*Ailanthus altissima*) dans la région de Constantine. Mémoire de Magiste, Université de Frère Mentouri Constantine. P 86

- **Song, W., Zhang, J., Gu, J., Zhang, J., Ding, F., Li, L., Sun, Z., 2010.** Role of the dissolved zinc ion and reactive oxygen species in cytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Toxicol. Lett.* 199 (3) : 389-397.
- **Sresty, T.V.S., and K.V.M. Rao. 1999.** Ultrastructural Alterations in Response to Zinc and Nickel Stress in the Root Cells of Pigeon Pea. *Environmental and Experimental Botany* 41: 3-13.
- **Sriprapat,W., Kullavanijaya, S., Techkarnjanaruk, S., Thiravetyan, P., 2011.** Diethylene glycol removal by *Echinodorus cordifolius* (L.): the role of plant-microbe interactions. *J. Hazard Mater.* 185 (2): 1066-1072.
- **Srivastava, V., Deepak G., Yogesh C S., 2013.** Synthèse, caractérisation et application de nanoparticules d'oxyde de zinc (n-ZnO). *Céramique Internationale.* 9803-9808.
- **Stephen D. Ebbs and Leon V. Kochian.1997.** Toxicity of Zinc and Copper to Brassica Species: Implications for Phytoremediation. *Journal of Environmental Quality.*26: 767- 781
- **Suresh, P., Vijaya, J.J., Kennedy, L.J., 2015.** Photocatalytic degradation of textile dyeing wastewater through microwave synthesized Zr-AC, Ni-AC and Zn-AC. *React. Kinet. Mech. Catal.* 114: 767-780.
- **Tiquia, M.S. and Tam, N.F.Y. 1998.** Elimination of phytotoxicity during cocomposting of spent pig-manure sawdust litter and pig sludge. *Bioresource Technol.* 65: 43-49.
- **Tuncay, O., Esiyok, D., Yag mur, B., Bülent Okur, B., 2011.** Yield and quality of garden cress affected by different nitrogen sources and growing period. *Afr. J. Agric. Res.* 6: 608–617.
- **Vale Gonçalo , Kahina Mehennaoui , Sebastien Cambier , Giovanni Libralato , Stéphane Jomini e , Rute F. Domingos a,f., 2016.** Manufactured nanoparticles in the aquatic environment biochemical responses on fresh water organisms: A critical overview. *Aquatic Toxicology* .170:162–174
- **Vermeulen, S.J., Aggarwal, P.K., Ainslie A., et al., 2012.** Options de soutien à l'agriculture et à la sécurité alimentaire dans le cadre du changement climatique. *Environmental Science & Policy.*15(1) : 136-144.
- **Vieira, J.E.A., de Oliveira Ferreira, R., dos Reis Sampaio, D.M., da Costa Araújo, A.P., Malafaia, G., 2019.** An insight on the mutagenicity and cytotoxicity of zinc oxide nanoparticles in *Gallus gallus domesticus* (*Phasianidae*). *Chemosphere* 231:10–19.
- **Wang M E, Zhou Q X, 2005.** Single and joint toxicity of chlorimuron-ethyl, cadmium, and copper acting on wheat *Triticum aestivum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 60(2): 169–175.
- **Wang Z., Xie X., Zhao J., Liu X., Feng W., White J.C. 2012.** Xylem- and phloem-based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). *Environ. Sci. Techn.*, 46: 4434-4441.
- **Wang, F., Liu, X., Shi ,Z., Tong, R., Adams, CA.,2016.** Chemosphere Arbuscular mycorrhizae alleviate negative effects of zinc oxide nanoparticle and zinc accumulation in maize plants in a soil microcosm experiment. *Chemosphere.* 147: 88-97
- **Wang, M.E., Zhou, Q.X., 2006.** Effects of herbicide chlorimuron-ethyl on physiological mechanisms in wheat (*Triticum aestivum*). *Ecotox. Environ. Safe.* 64:190–197.

- **Xia, T., Zhao, Y., Sager, T., George, S., Pokhrel, S., Li, N., Schoenfeld, D., Meng, H., Lin, S., Wang, X., Wang, M., Ji, Z., Zink, J.I., Mädler, L., Castranova, V., Lin, S., Nel, A.E., 2011.** Decreased dissolution of ZnO by iron doping yields nanoparticles with reduced toxicity in the rodent lung and zebrafish embryos. *ACS Nano*. 5(2):1223-35.
- **Xiang L., H.-M. Zhao, Y.-W. Li (2015).** Effets de la taille et de la morphologie des nanoparticules d'oxyde de zinc sur la germination des graines de chou chinois," *Environmental Science and Pollution Research* . 22(14) :10452–10462.
- **Xiaoping Wang, Xiyu Yang, Siyu Chen, Qianqian Li, Wei Wang, Chunjiang Hou, Xiao Gao, Li Wang and Shucui Wang, 2016.** Zinc Oxide Nanoparticles Affect Biomass Accumulation and Photosynthesis in Arabidopsis. *Frontiers in plant science*.6 :1243.
- **Yadav, S.K., 2010.** Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South Afr. J. Bot.* 76:167–179.
- **Yamabi, S., Imai, H., 2002.** Growth conditions for wurtzite zinc oxide films in aqueous solutions. *Journal of Materials Chemistry* 12 (12): 3773-3778.
- **Yu, L.-p., Fang, T., Xiong, D.-w, Zhu, W.-t, Sima, X.-f., 2011.** Comparative toxicity of nano-ZnO and bulk ZnO suspensions to zebrafish and the effects of sedimentation, OH production and particle dissolution in distilled water. *J. Environ. Monit.* 13: 1975–1982.
- **Zhang L., Jiang Y., Ding Y., Daskalakis N., Jeuken L., Povey M., York D. W. 2010.** Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. coli*. *J.Nanopart. Res.* 12(5):1625-1636.
- **Zhang, S., Song, J., 2018.** Geochemical cadmium anomaly and bioaccumulation of cadmium and lead by rapeseed (*Brassica napus* L.) from noncalcareous soils in the Guizhou Plateau. *Sci. Total Environ.* 644: 624–634.
- **Zhang, X., Fang, A., Riley, C. P., Wang, M., Regnier, F. E., and Buck, C., 2010.** Multi-dimensional liquid chromatography in proteomics-a review. *Anal Chim Acta* 664(2): 101-113.
- **Zhang, X.D., et al., 2018b.** Identification of Cd-responsive RNA helicase genes and expression of a putative BnRH 24 mediated by miR158 in canola (*Brassica napus*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 157:159–168.
- **Zhao, L., Jose, R. PV., Cyren, M., Rico, Jose A., Hernandez-Viezcas, Youping, S., Genhua N., Alia, S., Jose E. Nunez, Maria, DG., Jorge L, GT., 2014.** CeO<sub>2</sub> and ZnO Nanoparticles Change the Nutritional Qualities of Cucumber (*Cucumis sativus*). *J. Agricultural and Food Chemistry*. 2 (13):2752-9.
- **Zhu, X., Zhu, L., Duan, Z., Qi, R., Li, Y., Lang, Y., 2008.** Comparative toxicity of several metal oxide nanoparticle aqueous suspensions to Zebrafish (*Danio rerio*) early developmental stage. *J. Environ. Sci. Health* .43: 278–284.

**INTITULÉ : Etude comparative de la phytotoxicité des nanoparticules de ZnO sur trois modèles végétaux ; le blé tendre (*Triticum aestivum* L.), le colza (*Brassica napus* L.) et le cresson (*Lepidium sativum* L.)****Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie fondamentale et Appliquée****RESUME :**

L'utilisation croissante de nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs ZnO) et leur rejet dans l'environnement a créé le besoin d'évaluer leur impact sur la croissance et le développement des plantes. Comprendre les effets des nanoparticules est crucial pour l'évaluation des potentiels risques environnementaux pour la sécurité alimentaire et la santé humaine, car les plantes sont à la fois fondamentales pour les écosystèmes et la principale source alimentaire de l'Homme. L'objectif de cette étude est l'évaluation des effets toxiques des NPs ZnO sur la germination des graines, la croissance des pousses (élongation racinaire et foliaire), les paramètres physio-morphologiques (teneur en eau racinaire et foliaire et la teneur en chlorophylle) et les paramètres biochimiques, y compris la proline, les sucres totaux et la malondialdéhyde (MDA). Les tests ont été menés sur trois espèces, le blé tendre (*Triticum aestivum* L.), le colza (*Brassica napus* L.) et le cresson (*Lepidium sativum* L.), cultivées dans des pots contenant du terreau artificiel contaminé par des NPs ZnO à des concentrations de 0, 0.035, 0.175, 0.875, 4.375 et 21.875 g/kg de ZnO. Les résultats révèlent que les nanoparticules ZnO n'ont aucun effet sur la germination des graines. Seul le cresson a montré des taux élevés de biomarqueurs de stress (MDA et proline) et de sucres totaux avec une corrélation dose-réponse positive. Le colza a fourni des réponses similaires à celles du cresson à l'exception du MDA qui n'est pas corrélé à la proline et aux sucres totaux, ainsi qu'à la teneur en eau des feuilles et l'élongation racinaire. Quant au blé tendre, les paramètres élongation racinaire, la teneur en eau des racines, la proline et le malondialdéhyde (MDA) ont été affectés mais la réponse n'a pas affiché le schéma dose-réponse prévue. Les concentrations 0.175, 0.875, 4.375 et 21.875 g/kg ont provoqué des effets toxiques pour le cresson. Par contre pour le blé tendre et le colza, seules les concentrations 4.375 et 21.875 g/kg, ont engendré des effets. La plus faible concentration en NPs ZnO (0.035 g/kg) a provoqué une augmentation du taux de chlorophylle pour le cresson et le colza puis une diminution significative du MDA pour le blé tendre. Ainsi, via les paramètres évalués, les trois espèces végétales testées ont répondu différemment à l'exposition aux NPs ZnO.

**Mots clés :** ZnO, nanoparticules, blé tendre, colza, cresson, sucre totaux, MDA, chlorophylle, élongation racinaire et foliaire, teneur en eau des racines et des feuilles.

**Laboratoire de recherche :** Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt)

Jury d'évaluation :

<b>Président du jury :</b>	<b>TOUATI Laid</b>	<b>MCA</b>	<b>UFM Constantine 1</b>
<b>Rapporteur :</b>	<b>AFRI-MEHENNAOUI- F-Z</b>	<b>Professeur</b>	<b>UFM Constantine 1</b>
<b>Co-rapporteur :</b>	<b>CHARCHAR Nabil</b>	<b>MCA</b>	<b>CRBt</b>
<b>Examineur :</b>	<b>BAZRI Kamel Eddine</b>	<b>MCA</b>	<b>UFM Constantine 1</b>

**Date de soutenance :** .....

