

## L'INFLUENCE DES NITRATES ET DES NITRITES SUR LES ACTIVITÉS DE LA CATALASE ET DE LA PEROXYDASE AU COURS DE LA GERMINATIONS DES GRAINS DE *Triticum aestivum*

ANCA HUMĂ<sup>1\*</sup>, OVIDIU TOMA<sup>1</sup>, EUGEN UNGUREANU<sup>1</sup>, LUCIAN NEGURĂ<sup>1</sup>

**Mots-clef** : catalase, peroxydase, nitrates, nitrites, *Triticum aestivum*

**Résumé** : Nous avons procédé au traitement des grains de blé germinés (*Triticum aestivum*) par des solutions de nitrates et nitrites de différentes concentrations et nous avons suivi l'activité de deux enzymes, la catalase (E.C. 1.11.1.6) et la peroxydase (E.C. 1.11.1.7), suite à ce traitement. Les résultats expérimentaux montrent que les nitrates et les nitrites présentent une influence modificatrice sur l'activité enzymatique dans les grains en cours de germination.

### INTRODUCTION

Le peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) est une molécule impliquée dans de nombreuses conditions de stress, le contrôle de son niveau intracellulaire étant un processus très complexe. La connaissance approfondie des mécanismes de génération et de limitation du stress oxydatif s'avère bien difficile, surtout chez les végétaux. Les processus conduisant à des dommages photooxydatifs pendant le stress abiotique sont, la plupart du temps, singuliers pour les plantes et les cyanobactéries. L'élucidation de la nature de tels phénomènes photooxydatifs représente à l'heure actuelle un grand enjeu scientifique. La caractérisation de la réponse antioxydative pourrait approfondir les connaissances sur les processus photooxydatifs induits par un stress spécifique.

Les résultats des recherches effectuées durant de longues années, dans différentes conditions écologiques et climatiques, démontrent que les plus grands rendements des récoltes de blé se réalisent suite à l'utilisation des engrais azotés. Les nitrites et les nitrates font partie des composants principaux de ces engrais.

Les deux enzymes utilisées dans ce travail sont des enzymes du stress oxydatif, des protéines héminiques ayant toutes deux le rôle biologique de réduire le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée,  $H_2O_2$ ) à l'état d'eau ( $H_2O$ ) [Willekens et coll 1997]. À cette différence près, la catalase n'a qu'un seul substrat ( $H_2O_2$ ), alors que la peroxydase en possède deux, ayant la capacité d'utiliser  $H_2O_2$  comme oxydant pour d'autres substances.

Notre travail vise à déterminer l'influence des nitrates et des nitrites sur l'activité de la catalase et de la peroxydase, dans des grains de blé (*Triticum aestivum*) au cours de leur germination.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Pour la réalisation des expériences, nous avons utilisé des caryopses de blé (*Triticum aestivum*) imbibées auparavant pendant 12 heures dans de l'eau distillée. Nous avons procédé à deux variantes d'expérimentation :

- a) variante I – **témoin** – grains germinés dans de l'eau distillée ;
- b) variante II – les échantillons testés :
  - b1) grains germinés dans des solutions de **nitrates** concentrées à 10 mg/l, 20 mg/l et 30 mg/l ;
  - b2) grains germinés dans des solutions de **nitrites** concentrées à 1 mg/l, 5 mg/l et 10 mg/l.

Dans les grains de blé en cours de germination (la variante témoin et les variantes traitées avec les trois concentrations croissantes de nitrates et nitrites), nous avons déterminé l'activité de la **catalase** par la méthode de **titration iodométrique** [Artenie et Tănase 1981]. Ces déterminations ont été effectuées 48, 96, 144 et 192 heures après le traitement des grains germinés avec les solutions de nitrates et de nitrites. L'activité de la catalase a été exprimée en unités catalasiques/g de matériel frais/minute (U.C./g/min). On définit une **unité catalasique** ou unité d'activité de la catalase (U.C.) comme étant la quantité d'enzyme qui décompose une micromole d'eau oxygénée par minute (1  $\mu$ mole  $H_2O_2$ /min).

Les conditions ont été les mêmes dans le cas de la **peroxydase**, la méthode utilisée pour cette enzyme étant la méthode **photocolorimétrique** utilisant l'**orto-dianisidine** comme donneur de hydrogène [Möller et Ottolenghi 1966]. L'activité de la peroxydase a été exprimée par unités peroxidasiques/g de matériel frais/minute (U.P./g/min). On définit une **unité peroxydasique** ou unité d'activité de la peroxydase (U.P.) comme étant la quantité d'enzyme qui catalyse la décomposition d'une micromole d'eau oxygénée par minute dans des conditions optimales (1  $\mu$ mole  $H_2O_2$ /min).

Aussi bien pour la variante témoin que pour chacune des concentrations de nitrates et de nitrites, nous avons effectué cinq déterminations parallèles, les données expérimentales obtenues étant ultérieurement analysées statistiquement par le **test Student** [Snedecor et Cochran 1968].

## RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

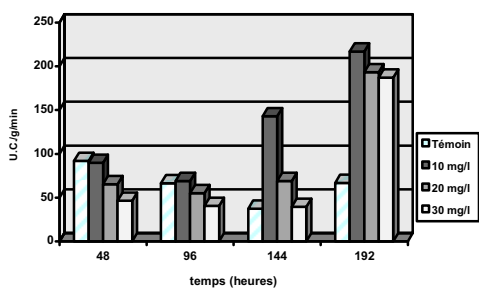
### Influence des nitrates sur l'activité de la catalase dans les grains de blé germinés

Les résultats expérimentaux obtenus par l'analyse comparative du témoin (grains germinés dans de l'eau distillée) avec les échantillons (grains germinés dans des solutions de nitrates de différentes concentrations) montrent une certaine influence des nitrates, traduite par la modification de l'activité catalasique à l'intérieur des grains de blé (Figure 1).

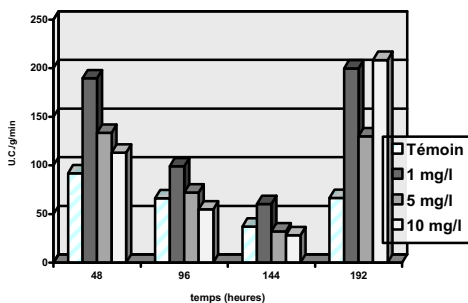
Après 48 heures de germination, on peut observer dans la figure 1 une diminution progressive de l'activité de la catalase sous l'influence des concentrations croissantes en nitrates. À la concentration maximale de ces derniers (30 mg/l), l'activité de l'enzyme diminue jusqu'à la moitié de l'activité déterminée pour le témoin.

Au bout de 96 heures de germination, la concentration de 10 mg/l a provoqué une légère augmentation de l'activité en comparaison avec le témoin, quoique cette activité soit très inférieure par rapport à celle observée à 48 heures pour la même concentration en nitrates.

Après 144 et 192 heures de germination, l'activité catalasique montre une très importante augmentation dans tous les échantillons traités aux nitrates. Dans les deux cas, l'activité maximale de l'enzyme est obtenue en utilisant une solution de nitrates ayant la concentration de 10 mg/l (Figure 1).



(1)



(2)

Figure 1&2. Variation de l'activité de la catalase (U.C./g/min) au cours du processus de germination des grains de blé (*Triticum aestivum*) traités avec différentes concentrations de nitrates (1) et de nitrites (2).

### Influence des nitrites sur l'activité de la catalase dans les grains de blé germinés

L'utilisation des solutions de nitrites de différentes concentrations (1mg/l, 5mg/l et 10 mg/l respectivement) a également mené à une modification de l'activité de la catalase, pour les mêmes grains de blé germinés.

Dans la figure 2, nous pouvons observer que pour une concentration minimale de nitrites administrée (1 mg/l), l'activité de l'enzyme atteint sa plus grande valeur, sur toute la période de germination.

Cette activité diminue avec l'augmentation de la concentration en nitrites à 5 mg/l, tout en restant à une valeur plus élevée que dans le cas du témoin, ceci de nouveau sur tout l'intervalle de temps.

Au bout de 192 heures de germination, on observe une brusque et importante augmentation de l'activité catalasique pour toutes les concentrations en nitrites utilisées (Figure 2).

### **Influence des nitrates sur l'activité de la peroxydase dans les grains de blé germinés**

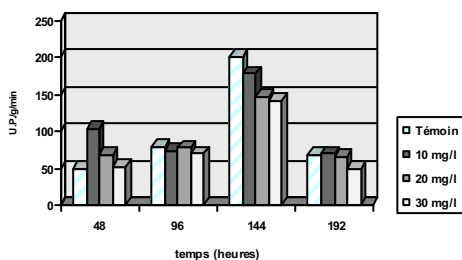
Sous l'influence des solutions de nitrates de concentrations croissantes (10 mg/l, 20 mg/l et 30 mg/l), l'activité de la peroxydase enregistre elle aussi différentes variations fonction de la teneur en nitrates et du temps de germination. Ces résultats sont présentés dans la figure 3.

Ainsi, à 48 heures de traitement, nous pouvons observer que l'activité peroxydasique dans les grains germinés a augmenté par rapport au témoin pour toutes les concentrations en nitrates administrées, la plus haute des valeurs étant enregistrée pour la concentration minimale de 10 mg/l de nitrates.

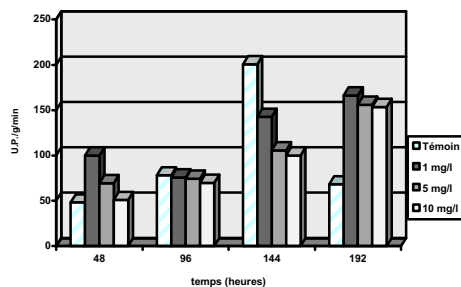
Après 96 heures de germination, la dynamique de l'activité de la peroxydase dans les grains traités aux nitrates est très semblable à celle observée pour les grains non traités (le témoin).

L'activité maximale de l'enzyme s'enregistre au bout de 144 heures de germination, aussi bien dans le cas du témoin que pour les trois échantillons.

Après 192 heures de germination, l'activité de la peroxydase est sensiblement inhibée par rapport à l'activité enregistrée pendant les autres périodes, indépendamment de la concentration en nitrates utilisée (Figure 3).



(1)



(2)

Figure 3&4. Variation de l'activité de la peroxydase (U.C./g/min) au cours du processus de germination des grains de blé (*Triticum aestivum*) traités avec différentes concentrations de nitrates (3) et de nitrites (4).

### **Influence des nitrites sur l'activité de la peroxydase dans les grains de blé germinés**

Après 48 heures de traitement aux nitrites, nous observons dans la figure 4 que l'activité de la peroxydase dans les grains germinés augmente en comparaison avec le témoin pour toutes les concentrations en nitrites administrées, l'activité la plus élevée étant enregistrée pour la concentration minimale de 10 mg/l.

Au bout de 96 heures à partir du début du processus de germination, la dynamique de l'activité peroxydasique dans les grains traités est très proche de celle observée dans le cas du

témoin (grains non traités). Les nitrites ont stimulé l'activité de l'enzyme pour les concentrations de 5 et de 10 mg/l.

Par la suite, à 144 heures a lieu une brusque augmentation de l'activité peroxydasique, le témoin enregistrant quant à lui la plus haute valeur d'activité de toute la période de germination. Indépendamment de la concentration en nitrites utilisée, l'activité enzymatique a baissé comparativement au témoin, tout en restant cependant beaucoup plus élevée que dans les échantillons analysés à 48 et à 96 heures de germination.

À l'intervalle de 192 heures, l'activité de la peroxydase pour le témoin baisse sensiblement en comparaison à celle enregistrée à 144 heures, cependant les différentes concentrations en nitrites provoquent des augmentations significatives de cette activité. Pratiquement, c'est à ce temps que nous rencontrons l'activité maximale de la peroxydase, pour toutes les concentrations en nitrites utilisées.

## CONCLUSIONS

Indépendamment de la concentration utilisée, les nitrates ont stimulé l'activité de la catalase pendant la fin de la période de germination des grains de blé.

La concentration minimale de nitrites administrée (1 mg/ml) provoque le maximum d'activité de la catalase sur toute la période de germination.

L'activité maximale de la peroxydase s'enregistre après 144 heures de germination, aussi bien dans le cas des grains non traités que pour ceux traités aux nitrites.

Les solutions de nitrites de différentes concentrations produisent des hausses significatives de l'activité de la peroxydase après un intervalle de temps de 192 heures.

## RÉFÉRENCES

1. Arteni Vlad, Tănase Elvira, 1981, *Practicum de biochimie generală*. Centrul de Multiplicare al Universității „Alexandru Ioan Cuza” din Iași, 135
2. Möller K.M. and Ottolenghi P., 1966, The oxidation of o-dianisidine by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and peroxidase at neutral pH. *Compts. Rend. Trav. Lab.*, Carlsberg, Vol. 35, 369.
3. Snedecor G.W., 1968, *Metode statistice aplicate în cercetările de agricultură și biologie*. Editura Didactică și Pedagogică, București, 187.
4. Willekens H., Chamnongpol S., Davey M., Schraudner M., Langebartels C., Van Montagu M., Inze D. and Van Camp W., 1997, Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defence in C3 plants. *EMBO Journal*, 16(16), 4806–4816.

1) Université «Alexandru Ioan Cuza», Iași, Roumanie

\* correspondance à adresser à : abiochim@yahoo.com