

## L'ACTIVITÉ DE LA SUPEROXYDE DISMUTASE ET DE LA PEROXYDASE DANS LES FEUILLES DE GRAND ROSEAU (*PHRAGMITES COMMUNIS*), DANS LES LACS DE LA RIVIÈRE CIRIC

ANCA NEGURĂ<sup>1\*</sup>, SIMONA DUNCA<sup>1</sup>, MARIUS ȘTEFAN<sup>1</sup>,  
LUCIAN NEGURĂ<sup>2</sup>, NICOLAE ȘTEFAN<sup>1</sup>

**Mots-cléf** : superoxyde dismutase, peroxydase, *Phragmites communis*, pollution

**Résumé** : Notre travail a suivi l'activité de deux enzymes du stress oxydatif, la superoxyde dismutase (SOD) et la peroxydase (POD), dans les feuilles de grand roseau (*Phragmites communis*) provenues de plantes ayant atteint la maturité, qui poussent dans les lacs sur le parcours de la rivière Ciric. Parmi les quatre lacs considérés dans l'étude, nous avons remarqué des valeurs élevées de l'activité SOD dans les plantes provenues du lac Ciric I, comparativement aux valeurs normales pour cette enzyme. Cette croissance d'activité pourrait représenter une réponse des plantes au stress oxydatif, apparu probablement dans des conditions de faible pollution de ce lac. Pour toutes les plantes issues de tous les lacs étudiés, la peroxydase n'a pas présenté des valeurs d'activité pouvant soulever le problème de quelconque pollution.

### INTRODUCTION

Dans la recherche de définir et mesurer les effets des polluants sur un écosystème, les réponses antioxydatives des plantes, causées directement ou indirectement par la formation d'espèces réactives d'oxygène, représentent de nos jours un domaine scientifique de grand intérêt. Afin de minimiser les effets nocifs des espèces réactives d'oxygène, les plantes possèdent des systèmes de défense antioxydative, aussi bien enzymatiques que non-enzymatiques. La défense enzymatique est représentée par la catalase (CAT, EC 1.11.1.6), la peroxydase (POD, EC 1.11.1.7), la superoxyde dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), l'ascorbate peroxydase (AP, EC 1.11.1.11), la déhydroascorbate réductase (DR, EC 1.8.5.1), la glutathion réductase (GR, EC 1.6.4.2) et par la monodéhydroascorbate réductase (MR, EC 1.6.5.4).

Dans le présent travail nous avons étudié l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) et de la peroxydase (POD), dans les feuilles de grand roseau (*Phragmites communis*) provenues de quatre lacs sur le parcours de la rivière Ciric (du nord au sud Dorobanți, Aroneanu, Ciric I Ciric II) Les cinq sites de prélèvement d'échantillons ont été : Base nautique Dorobanți, Digue Dorobanți, Digue Aroneanu, Lac Ciric I sud et Lac Ciric II sud).

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel végétal a été représenté par des feuilles de grand roseau (*Phragmites communis*) provenues de plantes ayant atteint la maturité, récoltées au mois de septembre 2006 à partir de cinq sites de prélèvement : Base nautique Dorobanți, Digue Dorobanți, Digue Aroneanu, Lac Ciric I sud et Lac Ciric II sud). Les procès biochimiques étudiés concernent spécialement l'activité des systèmes enzymatiques, notamment ceux ayant un rôle dans la défense antioxydative de la plante. Dans les extraits végétaux, nous avons déterminé les activités de la superoxyde dismutase et de la peroxydase, ainsi que la concentration totale en protéines. Les valeurs présentées sont chacune le résultat de la moyenne arithmétique de trois déterminations, après calcul de l'erreur standard et du coefficient de variation.

L'activité de la superoxyde dismutase (SOD) est déterminée à partir de la capacité de cette enzyme d'inhiber la réduction du nitro blue tetrazolium par les radicaux libres superoxyde, générés en milieu de réaction par la photoréduction de la riboflavine [Iordăchescu, 1988]. Le dosage est colorimétrique par absorbance à 560 nm.

L'activité de la peroxydase a été mesurée par la méthode colorimétrique [Möller, 1966], basée sur la mesure (au photocolorimètre, longueur d'onde  $\lambda = 540$  nm) de l'intensité de la couleur du produit d'oxydation de l'ortho-dianisidine, produit obtenu sous l'action de la peroxydase en présence du peroxyde d'hydrogène.

La détermination des protéines totales a été réalisée par la méthode Bradford [Bradford, 1976], en utilisant l'albumine sérique bovine (BSA) comme standard.

Pour chacune des deux enzymes, nous avons d'abord mesuré l'activité, mesurée en unités/gramme matériel végétal/minute. Pour une plus exacte interprétation des données, nous avons par la suite rapporté cette activité au contenu total des protéines solubles (mesuré en mg protéines/g matériel végétal), en obtenant de cette façon l'activité spécifique de l'enzyme, qui se mesure en unités/mg protéines. Ces dernières valeurs nous ont servi, comparativement aux données dans la littérature de spécialité, à interpréter nos résultats.

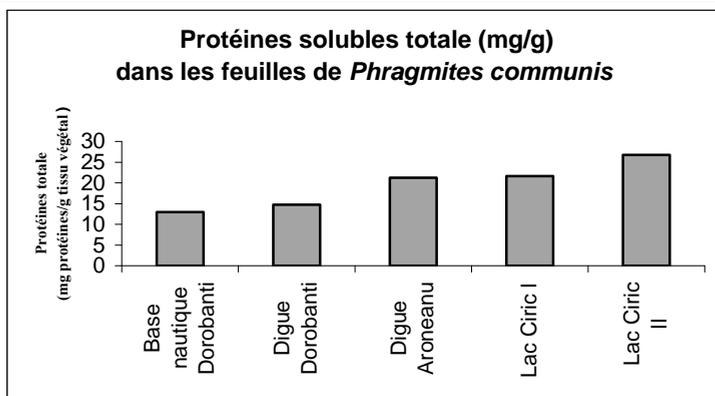
## RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

### I) Détermination de la quantité totale de protéines dans le matériel végétal

La quantité totale de protéines solubles est une valeur indispensable pour l'évaluation de l'activité spécifique de chaque enzyme. Nous avons par conséquent commencé nos expériences par cette détermination pour chaque échantillon prélevé. Les moyennes de ces résultats pour chaque site de prélèvement, ainsi que les erreurs standard et les coefficients de variation, sont présentées dans le tableau I et dans la figure 1.

**Tableau I. Quantité totale de protéines dans les échantillons prélevés**

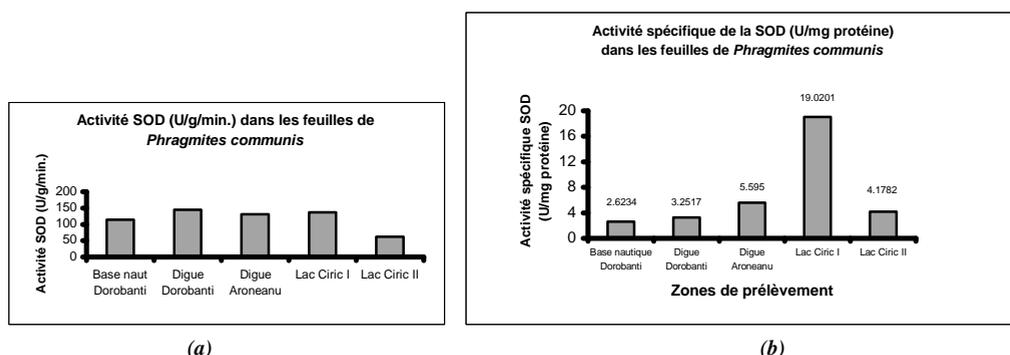
Site de prélèvement	Quantité moyenne de protéines (mg/g matériel végétal)	Données statistiques
Base nautique Dorobanți	12,9523	ES = ± 0,0576 CV = 1,3342
Digue Dorobanți	14,7413	ES = ± 0,0714 CV = 1,4537
Digue Aroneanu	21,2133	ES = ± 0,0374 CV = 0,5298
Lac Ciric I	21,6266	ES = ± 0,0171 CV = 0,2372
Lac Ciric II	26,7100	ES = ± 0,032 CV = 0,3610



**Figure 1. Quantité totale de protéines solubles (mg protéines per gramme de matériel végétal utilisé) dans les feuilles de *Phragmites communis***

### II) Détermination de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)

L'activité de la superoxyde dismutase (SOD) en unités/gramme/minute est présentée dans la figure 2, alors que son activité spécifique, rapportée à la quantité totale de protéines solubles, est présentée dans la figure 3. Nous allons utiliser l'activité spécifique (unités/mg protéine) dans l'interprétation des résultats.



(a) et activité spécifique de la SOD (U/mg protéine) (b) dans les feuilles de *Phragmites communis*

La superoxyde dismutase est une enzyme « clé » dans la protection antioxydative des plantes. Dans la figure 3, nous pouvons observer que son activité spécifique enregistre des valeurs comprises entre 2,6234 et 19,0201 U/mg protéine.

La plus haute valeur de l'activité spécifique de la SOD (19,0201 U/mg protéine) a été observée dans les feuilles de grand roseau collectées dans le lac Ciric I, cette activité étant 6-7 fois supérieure à celle obtenue dans les plantes de la zone Dorobanți (Digue Dorobanți = 3,2527 U/mg protéine ; base nautique Dorobanți = 2,6234 U/mg protéine), ainsi que 3-4 fois plus grande que celle observée chez les plantes du lac Ciric II (4,1782 U/mg protéine) ou du lac Aroneanu (5,5950 U/mg protéine).

Certains résultats dans la littérature de spécialité (Pietrini et colab., 2003) montrent que, dans les plantes de *Phragmites australis* qui poussent dans des sites non-polués, plantes utilisées en tant que contrôles dans les expériences de contamination au cadmium, l'activité spécifique de la SOD a des valeurs environnant les 12,5 U/mg protéine. En comparant nos résultats avec les auteurs susmentionnés (Pietrini et colab., 2003), nous pouvons affirmer que seulement les plantes provenues du lac Ciric I présentent une activité de la SOD plus élevée comparativement aux valeurs normales. Ce résultat démontre d'un coté une grande capacité antioxydante des plantes de *Phragmites communis*, et d'un autre coté une réponse de ces plantes au stress oxydatif provoqué, probablement, dans les conditions de faible pollution de ce lac.

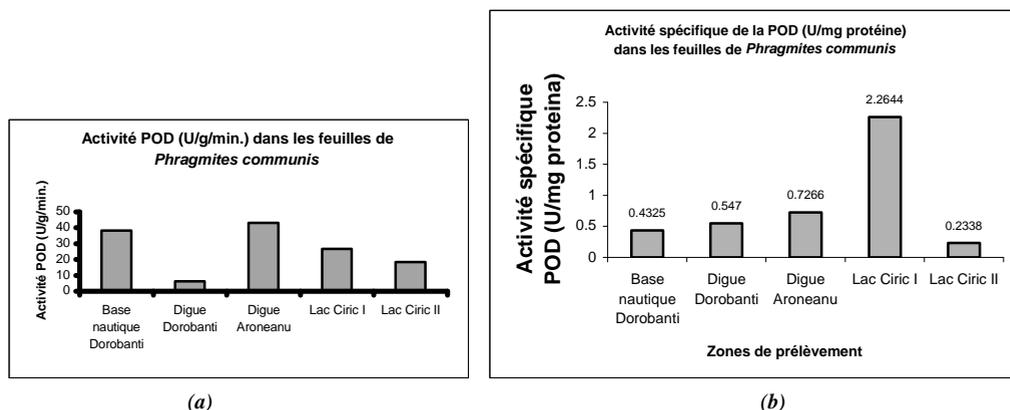
### III) Détermination de l'activité de la peroxydase (POD)

En analysant comparativement l'activité spécifique de la peroxydase (POD) (Figure 5), obtenue dans les feuilles de *Phragmites communis* provenues des plantes des mêmes 5 lacs (mêmes sites de prélèvement), nous pouvons constater que l'activité spécifique de la POD a enregistré des valeurs considérablement plus faibles, entre 0,2338 et 2,2644 Unités/mg protéine.

La valeur maximale de l'activité spécifique de la peroxydase est elle aussi caractéristique aux plantes provenues du lac Ciric I, alors que la valeur minimale vient en provenance du lac Ciric II. Contrairement à la SOD, l'activité spécifique de la POD a été double, voire triple, pour le grand roseau provenu des lacs Dorobanți et Aroneanu, comparativement à la valeur minimale du lac Ciric II.

Des recherches similaires concernant l'activité de la peroxydase chez l'espèce *Phragmites australis* ont été mené en Hongrie (Fediuc, E. et Erdei, L., 2002), dans le but d'étudier la toxicité du cadmium sur les enzymes du stress oxydatif. Les auteurs ont démontré qu'en cultures de

cellules de *Phragmites australis* réalisées dans le laboratoire et considérées comme des lots contrôles, l'activité peroxydasique spécifique a été de 24 U/mg protéine. En comparant nos résultats avec cette valeur, nous pouvons apprécier que l'activité spécifique POD dans nos échantillons, indépendamment du site de prélèvement, ne présente pas des valeurs pouvant susciter le problème d'une quelconque pollution.



(a) (b)  
**Figure 2. Activité SOD (U/g/min) (a) et activité spécifique de la SOD (U/mg protéine) (b) dans les feuilles de *Phragmites communis***

## CONCLUSIONS

Les valeurs des activités spécifiques de la superoxyde dismutase (SOD) et de la peroxydase (POD) indiquent une grande capacité antioxydative des plantes de grand roseau (*Phragmites communis*).

Chez les plantes provenues du lac Ciric I l'activité spécifique de la SOD enregistre des valeurs supérieures aux valeurs normales. Cette croissance d'activité peut représenter une réponse de ces plantes au stress oxydatif provoqué, probablement, dans les conditions de faible pollution de ce lac.

Indépendamment du site de prélèvement, l'activité spécifique de la POD ne présente pas des valeurs pouvant susciter le problème d'une quelconque pollution.

## RÉFÉRENCES

- Iordăchescu D., Dumitru I.F., 1988, Biochimie practică, ed. 2a, Univ. București, p. 132.  
 Bradford, M.M., 1976, A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248.  
 Möller K.M., 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*, 35, 369-389.  
 Pietrini F., Iannelli M.A., Pasqualini S., Angelo Massacci A., 2003, Interaction of Cadmium with Glutathione and Photosynthesis in Developing Leaves and Chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudell, *J. Plant Physiol.*, 133, 829-837.  
 Fediuc E., Erdei L., 2002, Physiological and biochemical aspects of cadmium toxicity and protective mechanisms induced in *Phragmites australis* and *Typha latifolia*, *J. Plant Physiol.*, 159, 265-271.

- 1) Université «Alexandru Ioan Cuza», Iași, Roumanie  
 2) Université de Médecine et Pharmacie « Gr.T.Popa », Iași, Roumanie  
 \* abiochim@yahoo.com