

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA  
TERRE ET L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire : Biologie moléculaire des procaryotes

---

### Étude de la génotoxicité du pesticide « Topik 80 » *in vivo* (*Allium cepa* test)

---

Présenté par :

GHENNAM Sarra

HIMEUR Imen

NAFAA Houdna

Devant le jury composé de :

-Président (e) : Mm. BENBELKACEM S M. C. B

Université de Guelma

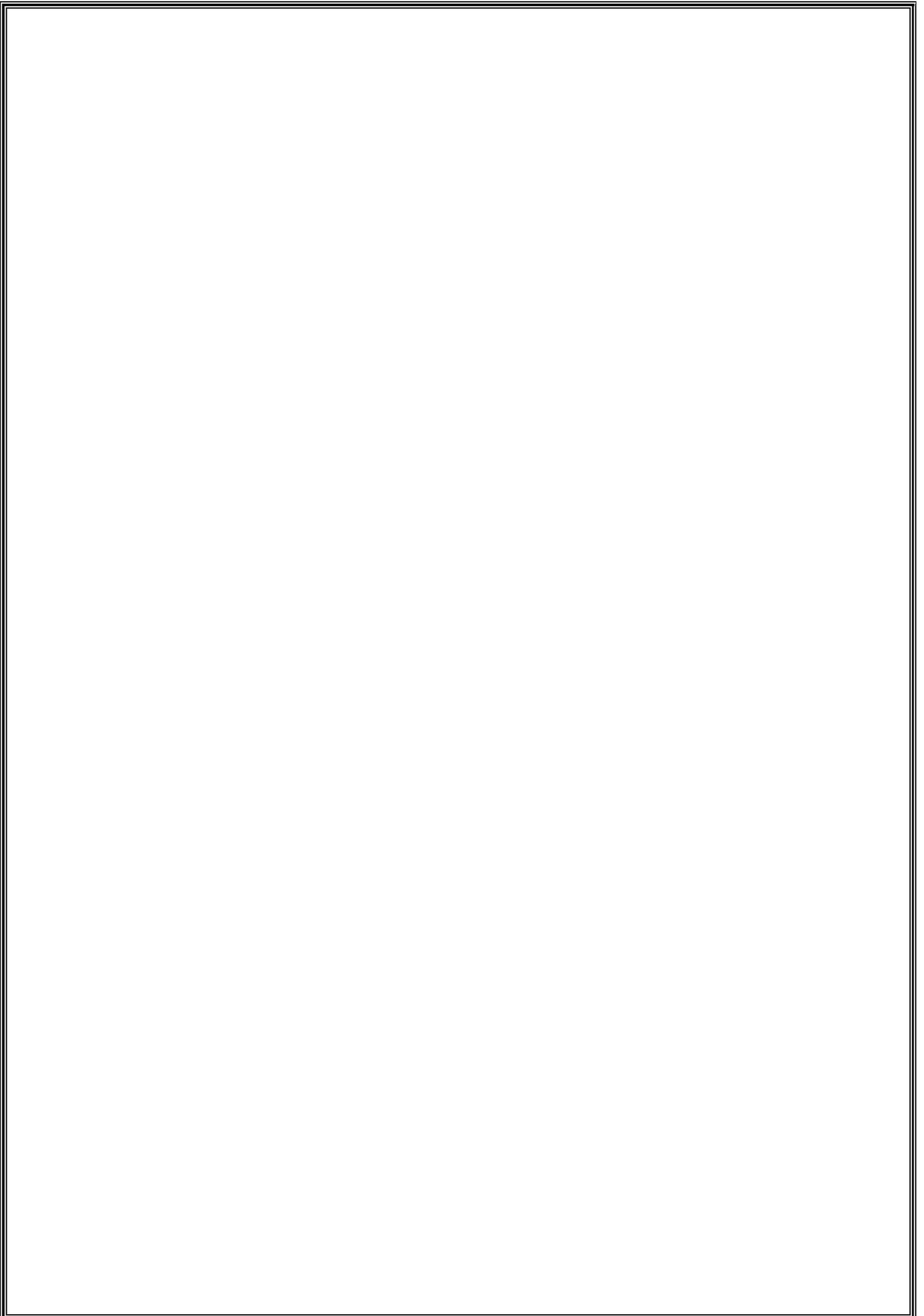
-Examineur : Mm. AMRI S M. A. A

Université de Guelma

-Encadreur : Mm. BOUMAZA Awatif M. A. A

Université de Guelma

Juin 2015



## *Remerciement*

*Merci Dieu*

*En préambule à ce mémoire, on souhaitait adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire, ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.*

*On tient à remercier sincèrement MADAME BOUMAZA, qui en tant qu'encadreur de ce mémoire ; s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Notre sincère gratitude va à madame BENBELKACEM S, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*Nos remerciements vont aussi à madame AMRIS, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

*Nous remercions, du fond du cœur, nos parents pour leur soutien et leur patience*

*Durant notre étude et pour leur aide et encouragement.*

*Nous remercions l'ensemble de l'équipe des laboratoires pédagogiques pour leur aide et disponibilité.*

*Un merci spécial pour nos collègues et amis.*

## Table des matières

Remerciement	
Sommaire	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	01
1.Historique.....	02
2. Définition.....	02
3. Composition des pesticides (conception).....	03
4. Les propriétés physico-chimiques des pesticides.....	04
5. Consommation planétaire.....	04
5.1. Consommation par continent.....	04
5.2. Consommations par pays.....	04
5.3. Consommation des pesticides en Algérie.....	05
6. Classification des pesticides.....	05
6.1. Le premier système de classification.....	05
6.2. Le deuxième système de classification.....	06
6.3. Classification selon le domaine d'utilisation .....	06
6.4. Classification selon la toxicité .....	07
7. Regroupement des pesticides .....	07
8. Voies d'exposition et de contamination aux pesticides.....	10
9. Les effets des pesticides.....	11
9.1. Effets sur la santé humaine .....	11

9.2. Impact sur l'environnement.....	12
10. Le pesticide Topik .....	13
10.1. Propriétés physiques et chimiques.....	14
10.2. Mode d'action.....	14
10.3. Les principaux avantages de l'utilisation topik.....	14
La génotoxicité.....	15
1. Définition.....	15
2. Les agents génotoxiques.....	15
3. Les tests de génotoxicité.....	15
3.1. Test d'Ames .....	16
3.2. Test de comètes.....	16
3.3. Test de micronoyaux.....	16
3.4. Test d'aberration chromosomique (AC).....	17
3.5. Test d' <i>Allium cepa</i> .....	17
3.5.1. L'oignon ( <i>Allium cepa</i> ).....	17
Matériel et méthodes.....	20
1. Matériel.....	20
1.1. Matériel biologique.....	20
1.2. Produits chimiques.....	20
2. Méthodes .....	20
2.1. Préparation du pesticide testé .....	20
2.2. Détermination de la CE <sub>50</sub> .....	20
2.3. Index mitotique et le test d'aberration chromosomiques .....	21
2.4. Observation microscopique .....	21
2.5. L'analyse statistique .....	22

Résultats et discussion.....	23
1.1. Test d'inhibition de l'élongation racinaire.....	23
1.2. Indice mitotique.....	24
1.3. Test d'aberration chromosomique.....	26
Conclusion.....	31
Annexes.....	32
Bibliographie.....	36

## Liste des tableaux

<b>Tableaux</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>Tableau.01.</b>	Consommation des pesticides par certains pays.	04
<b>Tableau.02.</b>	Commercialisation des pesticides en Algérie.	05
<b>Tableau.03.</b>	Classification des pesticides selon la toxicité.	07
<b>Tableau.04.</b>	Les différentes formes d'un pesticide.	08
<b>Tableau.05.</b>	Les différents types d'activité d'un pesticide.	09
<b>Tableau.06.</b>	Les principaux agents modifiant l'ADN.	15
<b>Tableau.07.</b>	Position systématique de l'oignon.	18
<b>Tableau.08.</b>	Effet du topik sur l'indice mitotique du méristème racinaire <i>d'Allium cepa</i> .	24
<b>Tableau.09.</b>	Les différents types d'aberrations chromosomiques.	27

## Liste des figures

Figures	Titres	pages
<b>Figure.01.</b>	La composition d'un pesticide.	03
<b>Figure.02.</b>	Les deux structures de l'atrazine.	09
<b>Figure.03.</b>	Principales voies d'entrée des pesticides.	10
<b>Figure.04.</b>	Modes d'exposition de l'Homme et des milieux par les pesticides.	11
<b>Figure.05.</b>	Processus de transfert des pesticides vers les différents compartiments de l'environnement.	13
<b>Figure.06.</b>	Structure chimique de clodinafop-propargyl.	13
<b>Figure.07.</b>	Caractères morphologiques de la plante : <i>Allium cepa</i> .	18
<b>Figure.08.</b>	Lots du traitement par différentes concentrations de Topik.	21
<b>Figure.09.</b>	Effet inhibiteur des différentes concentrations du Topik sur l'élongation racinaire de <i>Allium cepa</i> .	23
<b>Figure.10.</b>	Cellules méristématiques normales d' <i>Allium cepa</i> en division X40.	25
<b>Figure.11.</b>	Cellules méristématiques aberrantes d' <i>Allium cepa</i> en division X100.	28
<b>Figure.12.</b>	Autres anomalies chromosomiques des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> .	30

## Liste des Abréviations

**AC** : Aberration Chromosomique.

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique.

**CE<sub>50</sub>** : Concentration Efficace médiane.

**DDT** : Dichlorodiphényltrichloroéthane.

**DL<sub>50</sub>** : Dose Létale médiane.

**DT<sub>50</sub>** : Potential de Dégradation.

**FAO** : Food and Agricultural Organisation.

**His** : Histidine.

**IM** : Indice mitotique.

**ITGC** : Institut Technique des Grandes Cultures.

**Ma** : Matière active.

**MCN** : Micronoyaux.

**mg/l** : milligramme par litre.

**MMS** : Sulfates de Méthylméthane.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**pH** : potentiel Hydrogène.

**PVD** : Pays en Voie de Développement.

**USA** : États-Unis d'Amérique.

**UV** : Ultra-Violet.

---

## Résumé

L'effet toxique et génotoxique du pesticide Topik ont été étudiés en utilisant le test d'*Allium cepa*. La valeur d'EC<sub>50</sub> a été déterminée premièrement en évaluant l'inhibition de l'élongation racinaire. Différentes doses de concentrations variées du Topik ont été introduites aux racines de l'oignon pour évaluer l'index mitotique des cellules méristématiques d'*Allium cepa* et les aberrations chromosomiques. L'eau du robinet a été utilisée comme témoin. L'index mitotique et la fréquence des aberrations chromosomiques ont été calculés séparément pour chaque dose introduite. Les anomalies les plus observés étaient des fragments, c-mitose, des ponts et la perte de chromosomes. D'après les résultats obtenus, l'effet génotoxique du pesticide Topik sur l'organisme d'essai a été observé.

**Mots-clés:** Aberration chromosomique, *Allium cepa*, cytotoxicité, génotoxicité, index mitotique, Topik.

## Abstract

The toxic and genotoxic effect of Topik pesticide were investigated using *Allium cepa* test. The EC<sub>50</sub> value was determined first to evaluate the growth inhibition and then different doses of varied concentrations of Topik were introduced to onion roots to evaluate the mitotic index of *Allium cepa* root meristematic cells and the chromosome aberrations. Tap water was used as control. Mitotic index and mitotic chromosome aberrations frequencies were calculated separately for each dose introduced. The most observed abnormalities were fragments, c-mitosis, bridges and chromosome loss. According to the results obtained the genotoxic effect of Topik on the test organism was observed.

**Keywords:** chromosomal aberration, *Allium cepa*, cytotoxicity, genotoxicity, mitotic index, Topik.

**ملخص**

تم دراسة التأثير السمي و السمي الجيني للمبيد Topik باستعمال اختبار البصل *Allium cepa*. و تم تحديد قيمة التركيز الفعال المتوسط من خلال تقييم تثبيط الاستطالة الجذرية. أدخلت جرعات مختلفة من تركيز Topik لجذور البصل لتقييم مؤشر الانقسامية للخلايا الميرستيمية لل *Allium cepa* و التشوهات الكروموزومية. استخدمت مياه الحنفية كشاهد. تم حساب مؤشر الانقسامية و تيرة التشوهات الكروموزومية بشكل منفصل لكل جرعة مقدمة. التشوهات الأكثر ملاحظة كانت الكسور ، الانقسام-س ، الجسور و فقدان الصبغيات. من خلال النتائج المتحصل عليها، ملاحظة التأثير السمي الجيني للمبيد Topik على كائن الاختبار.

**كلمات البحث :** التشوهات الكروموزومية ، *Allium cepa* ، السمية الخلوية ، السمية الجينية ، مؤشر الانقسامية ، Topik.

## Introduction

L'utilisation des pesticides dans l'agriculture moderne a amélioré le rendement par l'inhibition des organismes causant les maladies et en agissant contre les ravageurs dans les champs et au cours du stockage des produits agricoles (1).

L'action mutagène et cancérigène des pesticides sur les animaux de laboratoire est bien connue et plusieurs études ont montré que l'exposition chronique à de faibles doses de pesticides peut causer des mutations. Les résidus de pesticides peuvent être présents dans les fruits et les légumes et représentent un risque pour la santé humaine. Des études ont montré que l'exposition chronique à de faibles niveaux de pesticides peut causer des anomalies congénitales et prénatales. En plus, l'exposition est associée à la cancérigénicité (2).

L'Algérie, en tant que pays utilisateur de produits phytosanitaires est aussi concernée par les effets néfastes des pesticides.

Dans le présent travail, Topik, un pesticide fréquemment utilisé en Algérie, a fait l'objet de l'étude. Pour ce faire, la toxicité du Topik est évaluée *in vivo* en utilisant *Allium cepa* comme modèle expérimental. Trois paramètres sont pris en considération :

- Effet inhibiteur de l'élongation racinaire sur *Allium cepa*.
- Effet sur l'index mitotique de la division cellulaire des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa*.
- Test des aberrations chromosomiques sur *Allium cepa*.

## La génotoxicité

### 1. Définition

La génotoxicité, appelée également toxicité génétique, est l'aptitude de certains agents (physiques ou chimiques) à provoquer l'apparition de dommages à l'ADN qui peuvent conduire à des mutations génétiques si ces lésions ne sont pas réparées. Il distingue des altérations macrostructurales (anomalies chromosomiques) avec perte ou gain de matériel génétique, et des altérations ponctuelles touchant la structure moléculaire (mutations) avec erreur de traduction (37).

### 2. Les agents génotoxiques

Les principaux agents modifiant l'ADN sont les agents physiques génotoxiques qui comprennent principalement les radiations ionisantes et la lumière ultraviolette. Les produits chimiques génotoxiques incluent les agents alkylants et les agents intercalants (tableau 06) (38).

**Tableau 06** : principaux agents modifiant l'ADN (38).

Agents chimiques génotoxiques	Agents physiques génotoxiques
<p><b>Les agents alkylants</b> (ou alcoylant) : exemple :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• le sulfate de méthylméthane (MMS).</li> <li>• l'éthylnitrosourée.</li> </ul> <p><b>les agents intercalants</b> : exemple :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• les anthracyclines.</li> <li>• les anthracénediones,</li> <li>• l'amsacrine.</li> <li>• l'actinomycine D.</li> <li>• l'acétate d'ellipticinium.</li> <li>• la mithramycines.</li> <li>• le bromure d'éthyl.</li> </ul>	<p><b>Les radiations ionisantes</b> :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• rayons X.</li> <li>• rayons gamma.</li> <li>• les ions lourds.</li> </ul> <p><b>Les radiations UV.</b></p>

### 3. Les tests de génotoxicité

Un grand nombre de tests ont été développés pour essayer d'obtenir des résultats plus rapides et à moindre cout. Ils sont basés sur le pouvoir mutagène des produits initiateurs. L'effet observé consiste dans la recherche des lésions d'ADN (formation d'adduits, rupture des brins d'ADN, réparation enzymatique), des mutations et des lésions chromosomiques (aberration, échange, formation de micronoyaux) (39).

Les différentes méthodes actuellement employées détectent (40) :

- ✓ L'activité mutagène dans les milieux biologiques : test d'Ames.
- ✓ Les modifications cytogénétiques dans les cellules humaines :
- ✓ Les aberrations chromosomiques.
- ✓ La recherche de micronoyaux.
- ✓ Les échanges de chromatides-sœurs.
- ✓ Test des comètes.
- ✓ La formation de liaisons sur l'ADN ou sur les protéines (adduits) où on distingue les adduits à l'ADN, les adduits aux protéines et les adduits à l'hémoglobine.

### 3.1. Test d'Ames

Le test d'Ames (ou mutatest) est devenu un outil incontournable pour identifier les mutagènes et les carcinogènes. Il permet d'évaluer si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations chez différentes souches de *Salmonella typhimurium*. Les souches utilisées dans le test sont des souches porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé : « histidine ». Cette mutation ( $\text{His}^-$ ) rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, ces mutations ( $\text{His}^-$ ) reversent spontanément vers ( $\text{His}^+$ ) et donc les cellules retrouvent leur capacité à pousser (41).

### 3.2. Test de comètes

L'essai *in vitro* d'électrophorèse sur gel en conditions alcalines de cellules isolées, aussi appelé test des comètes (en anglais, single cell gel electrophoresis assay ou comet assay) est un test qui permet de visualiser et de mesurer les cassures simples et doubles brins induites directement par un agent génotoxique, indirectement lors des processus de réparation des dommages et enfin lors des processus secondaires de fragmentation de l'ADN telle que l'apoptose. C'est une technique récente qui est considérée comme très efficace pour la détection de la génotoxicité à court terme de certains polluants. Suite à une migration électrophorétique, les noyaux dont l'ADN a subi des cassures prennent une forme de comète alors que les noyaux dont l'ADN n'est pas endommagé restent ronds (42).

### 3.3. Test de micronoyaux

Le test des micronoyaux (ou Test MCN) est une méthode d'évaluation des dommages chromosomiques qualitatifs et quantitatifs, particulièrement simple à mettre en œuvre. La facilité d'identification des micronoyaux et l'aptitude de ce test à rendre compte sans

ambiguïté des propriétés clastogénique des agents physiques ou chimiques, lui confère une place de choix dans l'évaluation du risque génotoxique. Il est d'ailleurs de plus régulièrement appliqué à l'évaluation *in vivo* du risque génotoxique (43).

### **3.4. Test d'aberration chromosomique (AC)**

Le test des aberrations chromosomiques, basé sur le fait que la majorité des agents génotoxiques ont des propriétés clastogènes, consiste à étudier les anomalies chromosomiques observées sur des cellules en métaphase après exposition à des agents mutagènes. Ces anomalies se produisent comme conséquence de cassures de l'ADN; les fragments peuvent rejoindre le chromosome à son emplacement original, à un autre emplacement ou ne pas rejoindre le chromosome (44).

### **3.5. Test d'*Allium cepa***

Le test d'*Allium cepa* a été utilisé par de nombreux chercheurs principalement comme un bio-indicateur de la pollution de l'environnement, testant des extraits bruts de cyanobactéries, ainsi que pour évaluer le potentiel génotoxique des plantes médicinales (45).

Le test *Allium cepa* est important car il est un excellent modèle *in vivo*, où les racines poussent en contact direct avec la substance d'intérêt permettant de prédire les dommages possibles à l'ADN des eucaryotes. Par conséquent, les données peuvent être extrapolées pour l'ensemble de la biodiversité animale et végétale (46).

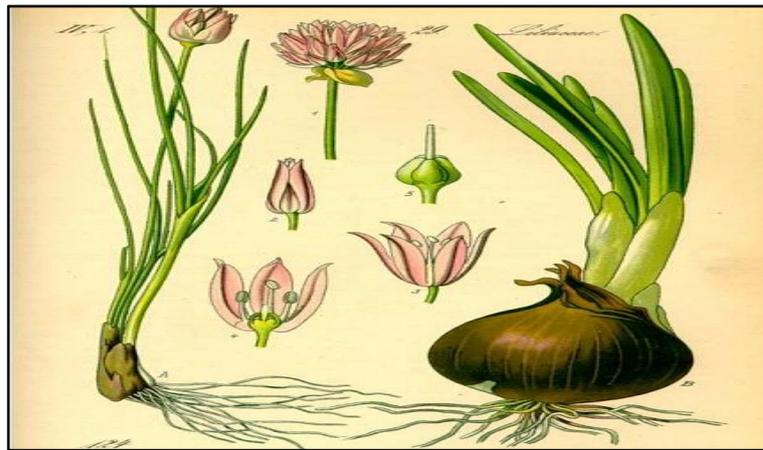
#### **3.5.1 L'oignon (*Allium cepa*)**

##### **A. Origine et définition**

L'oignon, tire son nom vernaculaire du latin unio qui signifie uni car l'oignon est l'une des races alliées dont le bulbe ne se divise pas. Son nom latin, *Allium cepa*, avait une origine celte : *all* signifie brûlant en référence aux propriétés de la plante. *Cepa* correspond au nom de la plante chez les romains (47). C'est une plante bisannuelle originaire de la région Sud-Ouest de l'Asie Centrale ; il fut l'un des premiers légumes cultivés par l'Homme depuis 5000 ans. Il apparaît dans toutes les civilisations : symbole d'intelligence dans l'ancienne Chine, l'oignon est cité dans la Bible et était largement consommé en Egypte. Les Romains l'ont introduit au Nord des Alpes. Au Moyen Age l'oignon était devenu alors l'un des légumes les plus répandus et les plus appréciés. Aujourd'hui, il est le condiment le plus fréquemment utilisé (48).

## B. Caractéristiques et classification botaniques de l'espèce

L'oignon est une espèce herbacée d'environ 80 cm de hauteur, vivace par son bulbe unique et volumineux, à tige jusqu'à 1m dressé et creuse à feuilles cylindrique d'un vert bleuâtre, elle possède également les fleurs blanches ou roses violacés, qui sont groupées en une grosse ombelle ronde munie de 2 à 4 bractées. Axe végétatif fortement comprimé et formant un bulbe charnu épais, jusqu'à 15 cm de largeur arrondies à arrondies aplaties, pelures intérieurs plus ou moins épaisses et charnues, pelures extérieure fin comme du papier, blanche, jaunâtre brune, rouge ou violette (49).



**Figure 07.** Caractères morphologiques de la plante : *Allium cepa* (49).

Dans la classification classique, il appartient à la famille des Liliaceae qui renferme 500 espèces et plus. Il s'agissait d'une des plus grandes familles de monocotylédones de la classification de Cronquist qui regroupait entre autres le lys, le muguet de mai et l'oignon (50).

**Tableau 07 :** position systématique de l'oignon (*Allium cepa*) (50).

La classification Classique	La classification Phylogénétique
Règne : Plantae	Règne : Plantae
Sous règne : tracheobionta.	Embranchement : Angiospermes
Embranchement : Spermatophytes	Classe : Monocotylédones : Liliidées
Classe : Liliopsida	Ordre : Asparagales
Sousclasse : liliidae	Famille : Alliaceae ou Amaryllidaceae
Ordre : Liliales	Genre : <i>Allium</i>
Famille : Liliaceae	Espèce : <i>cepa</i>
Genre : <i>Allium</i>	
Espèce : <i>cepa</i>	

**C. Caractéristiques génétiques**

Toute population d'*Allium cepa* possède ( $2X = 16$ ) chromosomes. Certains des cepa voisins ont des nombres différents : Delta Giant ( $3X = 24$ ) chromosomes et Beltsville's Bunching ( $4X = 32$ ) chromosomes (51).

## 1. Matériel

### 1.1. Matériel biologique

- **Allium cepa et conditions de croissance** : des bulbes de l'oignon *Allium cepa* sont obtenus du marché local à Guelma. Le diamètre des bulbes varie entre [3 et 3,5 cm], la couche externe des bulbes est éliminée ainsi que les anciennes racines avant de commencer l'expérience. Durant toutes les expériences réalisées, les bulbes sont incubés à l'obscurité à température ambiante.

### 1.2. Produits chimiques

Le pesticide utilisé est l'herbicide Topik (80g/l), une formulation commerciale de la substance active: prop-2-ynyl(R)-2-[4-(5-chloro-3-fluoropyridin-2-yloxy) phenoxy] propionate (52).

Le pesticide est aimablement fourni par l'ITGC de Guelma. Les autres produits chimiques utilisés sont obtenus de sigma (USA), BDH (Pool, UK) et Glaxo (Bombay, India).

## 2. Méthodes

### 2.1. Préparation du pesticide testé

Différentes concentrations du pesticide Topik sont préparées dans l'eau de robinet [40, 80, 120,160, 240] mg /ml. L'eau de robinet est utilisée comme contrôle négatif.

### 2.2. Détermination de la CE<sub>50</sub>

Pour ce test de toxicité, 6 bulbes sont utilisés et sont placés dans des pots remplis par chaque solution à tester de tel sort que la base de la racine principale se trouve plongée dans la solution. L'incubation se fait à l'obscurité pendant deux jours dans de l'eau de robinet puis dans le pesticide avec changement des solutions chaque 24h. Après 48 heures, la longueur des racines est mesurée. La moyenne de la longueur des racines traitées et contrôles est représentée en fonction du pourcentage d'inhibition de l'élongation racinaire relativement au contrôle négatif et les différentes concentrations du pesticide Topik. La concentration produisant 50% d'inhibition de la croissance des racines relativement au contrôle est calculée et exprimée comme étant la CE<sub>50</sub> (53).



**Figure 08.** Lots du traitement par différentes concentrations de Topik.

### 2.3. Index mitotique et le test d'aberration chromosomique

Les concentrations utilisées dans ce test sont basées sur la valeur de la  $CE_{50}$  déterminée dans le test de toxicité. Pour chaque oignon, 6 racines sont récupérées et fixées dans le mélange (éthanol/acide acétique, (3/1)) pendant 24 h, puis transférées à des tubes contenant l'éthanol 70% et conservées à 4°C jusqu'à l'utilisation.

Pour la préparation des lames, les racines sont hydrolysées dans l'HCl 1N à 60 °C pendant 8 min. Les racines sont colorées avec le réactif de feulgene puis sont bien écrasées et placées sur des lames avec une goutte d'acide acétique à 45%, puis couverts avec des lamelles (54).

### 2.4. Observation microscopique

Les lames sont observées au microscope optique. Pour l'index mitotique, 1000 cellules classées en interphase ou cellules en division (prophase (P), métaphase (M), anaphase (A), ou télophase (T)) sont calculées. L'index mitotique est exprimé comme étant le nombre des cellules en division par toutes les cellules.

$$MI = \frac{P+M+A+T}{\text{nombre totale des cellules}}$$

Un total de 100 cellules a été examiné pour l'étude des aberrations chromosomiques par chaque dose de pesticide. Les catégories suivantes d'aberrations ont été étudiées: fragments chromosomiques, c-mitose, pont, perte de chromosome, et autres aberrations (55).

### **2.5. L'analyse statistique**

Le pourcentage de l'inhibition de l'élongation racinaire et le pourcentage des cellules en division avec des aberrations à chaque dose de pesticide a été comparée à celle du contrôle négatif en utilisant le test de Student. Les valeurs obtenues sont considérées significatives si  $P \leq 0,05$ .

## 1. Historique

Avant la seconde guerre mondiale, les pesticides employés en agriculture étaient des dérivés de composés minéraux ou de plantes; arsenic, cuivre, zinc, manganèse, plomb, pyrèthre, roténone, sulfate de nicotine...que l'on retrouve en partie dans les cigarettes actuelles. Les armes chimiques de la première guerre mondiale comme le gaz moutarde composé de chlore assura un nouveau débouché industriel pour les pesticides, une fois le conflit terminé. Ainsi, les organochlorés firent leur apparition avec de nombreuses déclinaisons qui ont connu un énorme succès (3).

## 2. Définition

L'étymologie du mot pesticide s'est construite à partir du suffixe «-cide-» qui signifie « tuer » et de la racine anglaise «Pest» (animal, insecte ou plante nuisible) provenant du latin « Pestis » qui désignait le fléau en général ; Étymologiquement « tueurs de fléaux » (4).

Selon l'organisation des nations unies de l'alimentation et d'agriculture (FAO,1986), les pesticides est une appellation générique désigne l'ensemble des produits chimiques, naturels ou de synthèse, destinés à contrôler, attirer, repousser, détruire ou s'opposer au développement des organismes vivants (microbes, animaux ou végétaux) considérés comme indésirables pour l'agriculture, l'hygiène publique (par exemple les cafards dans les habitations), la santé publique (les insectes parasites (poux, puces) ou vecteurs de maladies telles que le paludisme), la santé vétérinaire, ou les surfaces non-agricoles (routes, aéroports, voies ferrées, réseaux électriques...) (5).

Selon viala A et Botta (2005), les pesticides contiennent des ingrédients actifs, qui s'attaquent aux organismes visés, et des adjuvants ; soit des additifs chimiques qui agiront en qualité de solvants, diluants ou émulsifiants. Ces adjuvants sont parfois plus toxiques que les ingrédients actifs eux-mêmes (6).

Outre la définition courante, les pesticides possèdent aussi une définition juridique. Deux termes désignent ces produits : « produits antiparasitaires » au niveau fédéral et « pesticides » au niveau provincial et on peut les appelés produits phytosanitaires ou phytopharmaceutiques (7).

## • Nomenclature

Un pesticide est désigné par son nom commun, par son nom chimique ou par son nom commercial. Le nom commun fait référence à l'ingrédient actif, le nom chimique désigne le nom de la structure chimique de l'ingrédient actif et le nom commercial représente le nom donné par le fabricant (8).

### 3. Composition des pesticides (conception)

Un pesticide est constitué de nombreuses molécules comprenant (figure 01) :

- **Une ou plusieurs matières actives (Ma)** : ce sont des éléments principales permettant l'efficacité du pesticide qui confèrent au produit l'effet poison désiré. La Ma peut également être reconnue grâce à un numéro de produit chimique, ainsi que grâce à un nom chimique.
- **Un diluant** : qui est une matière solide ou un liquide incorporé à une préparation et destiné principalement à diminuer la concentration de la matière active. Dans le cas d'une préparation liquide, il s'agira d'un solvant, d'argile ou de talc pour les préparations solides. Dans ce dernier cas le diluant est dénommé charge.
- **Un ou plusieurs additifs (adjuvants)** : ce sont des substances en théorie dépourvues d'activité biologique, mais qui sont susceptibles de modifier les propriétés du pesticide et d'en faciliter l'utilisation, l'application et le transport du produit permettant, par exemple, une meilleure pénétration dans le végétal. Ces adjuvants comprennent des stabilisants, des adhésifs, des colorants, des matières répulsives, des tensio-actifs, des émulsionnants et parfois des antidotes (9).

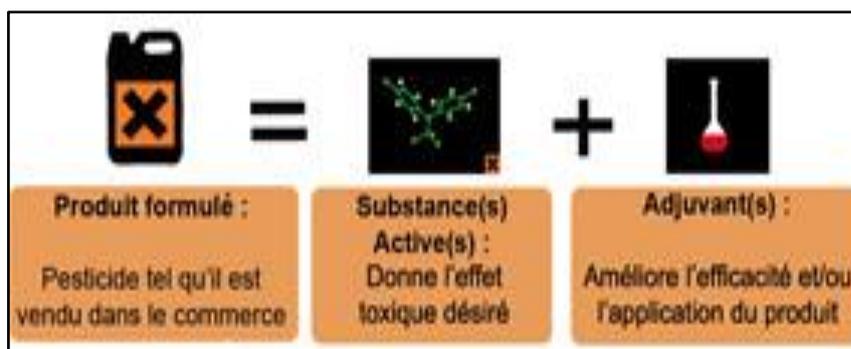


Figure 01. La composition d'un pesticide (9).

### 4. Les propriétés physico-chimiques des pesticides

Les pesticides regroupent une grande diversité de structures chimiques et chaque molécule constitue une entité qui se caractérise par un ensemble de propriétés bien spécifiques

(taille moléculaire, encombrement stérique, basicité ou acidité, constante de dissociation, coefficient de partage octanol-eau, solubilité dans l'eau, tension de vapeur). Le caractère hydrophobe d'un pesticide augmente lorsque sa solubilité dans l'eau diminue, et il en résulte une rétention plus intense par la matière organique du sol. La force d'attraction entre la molécule adsorbée et une surface argileuse est directement proportionnelle à son pôle dipolaire et inversement proportionnelle à sa constante diélectrique (10).

## 5. Consommation planétaire

Depuis 40ans, les pesticides touchent tous les pays et les capacités de production des pays en voie de développement (PVD) sont en pleine expansion. Ainsi, les pesticides touchent massivement les zones rurales des PVD où les malformations, cancers, désordres du système nerveux déciment une population qui souffre déjà de nombreux maux.

### 5.1. Consommation par continent

Elle est estimée d'être 100 000 t en Afrique et au Moyen-Orient, 200 000 t en Asie et 200 000 t en Europe de l'Est avec la Russie (11).

### 5.2. Consommations par pays

**Tableau 01** : consommation des pesticides par certains pays (11).

Pays ou région	Dose d'emploi (kg/ha)	Rang mondial (utilisation)	Rendement (t/ha)	Rang mondial production
Japon	10.8	1	5.5	1
Europe	1.9	2	6.4	2
U.S.A.	1.5	3	2.6	3
Amérique latine	0.22	4	2.0	4
Océanie	0.2	5	1.6	5
Afrique	0.13	6	1.2	6

### 5.3. Consommation des pesticides en Algérie

L'utilisation des pesticides en Algérie atteint les 6 000 à 10 000 tonnes par an d'où 15 à 20% des besoins normatifs ; les plus utilisés en Algérie sont les fongicides, insecticides et herbicides et c'est dans les régions ouest du pays que l'utilisation des fongicides et insecticides est la plus élevée et en région est, ce sont les herbicides (12).

**Tableau 02** : commercialisation des pesticides en Algérie (1975-1997) (12).

Années	75-79	80-84	85-89	90-93	94-97
Valeurs (en tonnes)	28270.2	22188.6	18064.6	8635.5	8328.48

## 6. Classification des pesticides

L'hétérogénéité de ce vaste ensemble de produits rend difficile toute classification. Certains auteurs préfèrent classer les produits selon la cible visée (insecticides, herbicides, fongicides...etc), le domaine d'utilisation, leur toxicité. Il y a alors plusieurs possibilités de classification (13).

**6.1. Le premier système de classification** repose sur le type de parasites à contrôler, on distingue trois grandes classes:

- **Les insecticides** : ce sont des substances actives ou des préparations destinées à détruire les insectes nuisibles par la perturbation des processus vitaux (respiration, système nerveux, motricité...) par action chimique. Ce sont souvent les pesticides les plus toxiques, ils peuvent présenter des risques pour la santé et l'environnement via notamment leur persistance (14).
- **Les fongicides** : ce sont des produits chimiques utilisés pour lutter contre les moisissures et les champignons parasites des végétaux. Ils sont le plus souvent de nature synthétique. Les fongicides les plus anciens sont le soufre, le cuivre et ses dérivés organiques comme la bouillie bordelaise ; un mélange de sulfate de cuivre et d'hydroxyde de calcium (15).
- **Les herbicides, désherbants, phytocides ou débroussaillants** : produits chimiques complexes destinés à détruire les plantes indésirables (aussi appelées mauvaises herbes ou adventices) qui entrent en concurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance. Ils sont de nature et mode d'épandage différent assez de celle des autres familles puisqu'ils sont déposés directement sur le sol, tandis que les autres produits sont plutôt pulvérisés sur la plante en croissance (16).

Outre, les trois grandes familles de pesticide mentionnées ci-dessus, différentes familles peuvent être citées comme par exemple (17) :

- Les molluscicides : produits destinés à éliminer les escargots et les limaces.
- Les rodenticides : produits employés contre les rongeurs (rats, souris, surmulots...)
- Les nématocides : produits destinés à lutter contre les nématodes.
- Les acaricides : contre les acariens.
- Les taupicides : contre les taupes.
- les parasitocides : contre les parasites.
- les bactéricides : contre les bactéries.

- les virucides : contre les virus.

**6.2. Le deuxième système de classification :** il tient compte de la nature chimique de la principale substance active majoritaire qui compose les produits phytosanitaires. Les principaux groupes chimiques sont (18) :

- **Les organochlorés :** parmi les plus anciens et les plus persistants, dont le fameux DDT (DichloroDiphénylTrichloroéthane) déjà évoqué. Ils sont surtout utilisés comme insecticides en agriculture et dans les métiers du bois.
- **Les carbamates :** fongicides et insecticides.
- **Les phénoxyalcanoïques :** herbicides (Exemple 2-4 D).
- **Les organo-azotés :** repérables par le suffixe « zine », principalement utilisés comme herbicides. (Exemple : atrazine, simazine, etc).
- **Les urées :** repérables par le suffixe « uron », utilisés comme herbicides et fongicides. (Exemple : diuron, isoproturon, etc).
- **Les organophosphorés :** eux aussi utilisés comme insecticides moins persistants que les précédents.
- **Les pesticides sulfonyles :** herbicides utilisés à des doses de quelques grammes par hectare seulement, contre quelques kilos pour les organoazotés par exemple.

**6.3. Classification selon le domaine d'utilisation :** Actuellement, les pesticides sont séparés en deux groupes, selon leurs utilisations (19):

- **Les pesticides à usage agricole ou produits phytosanitaires:** c'est l'usage le plus connu qui utilise le plus fort tonnage de matières actives pour la protection des végétaux contre les maladies et contre les organismes nuisibles aux cultures et assurer de bon rendement des produits alimentaires.
- **Les pesticides à usage non agricole ou biocides :** qui sont similaires aux premiers, utilisés en milieu non agricole pour détruire ou repousser les nuisibles, et en hygiène publique (lutte anti-vectorielle) et dans d'autres applications comme la conservation du bois, la désinfection, ou certains usages domestiques, ainsi que pour la santé humaine vis-à-vis des vecteurs de maladies (typhus, paludisme).

#### **6.4. Classification selon la toxicité**

L'organisation mondiale de la santé (OMS) classe les pesticides par dangerosité en se basant sur le danger que présentent les pesticides à court terme (toxicité aiguë) après

l'utilisation d'une dose létale  $DL_{50}$  médiane orale ou cutanée. Chaque pesticide est alors placé dans une des quatre classe: Extrêmement dangereux, hautement dangereux, modérément dangereux, peu dangereux (tableau 03) (20).

**Tableau 03** : classification des pesticides Selon la toxicité (20).

Classes		DL <sub>50</sub> rat mg/kg/poids corporel			
		Voie orale		Voie dermique	
		solide	liquide	solide	liquide
IA	Extrêmement dangereux	5 ou moins	20 ou moins	10 ou moins	40 ou moins
IB	Hautement dangereux	5-50	20-200	10-100	40-400
II	Modérément dangereux	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
III	Peu dangereux	Plus de 500	Plus de 2000	Plus de 1000	Plus de 4000

## 7. Regroupement des pesticides

Il est courant de désigner les pesticides selon des regroupements qui tiennent compte de la cible visée par le pesticide, de l'origine du produit, de sa structure chimique ainsi que de sa façon d'agir sur la cible et de son lieu d'action. Un pesticide peut donc être regroupé selon :

- son origine
- sa catégorie d'usage
- son groupe chimique
- son type de formulation
- son type d'activité
- son site ou mode d'action

### ➤ Origine

Les pesticides peuvent être regroupés en pesticides organiques ou inorganiques. Les pesticides organiques contiennent du carbone, alors que les inorganiques ne contiennent du carbone que sous forme de carbonate ou de cyanure. Ces derniers sont des dérivés à base d'arsenic, de mercure, de fluor, de soufre et de cuivre, ainsi que des dérivés du cyanure.

Les pesticides organiques peuvent être divisés en 3 groupes: pesticides de synthèses (développés au laboratoire et produits en usine), pesticides naturels (d'origine animale, microbienne ou végétale) et micro-organismes (21). Les pesticides inorganiques sont dérivés essentiellement de minéraux (22).

### ➤ Catégorie d'usage : Il existe plusieurs catégories d'usage parmi celles on cite (23):

- médicament topique pour les animaux.
- peinture à émondage.

- peinture antisalissure.
- Pheromone.
- préservateur du bois.
- régulateur de croissance des plantes.
- répulsif pour animaux.

➤ **Type de formulation :** La plupart des pesticides sont des produits formulés prêts à l'emploi. On développe une formulation dans le but de rendre le produit plus sécuritaire, plus efficace et plus pratique à l'utilisation, donc, la formulation d'un pesticide doit répondre à 3 objectifs essentiels:

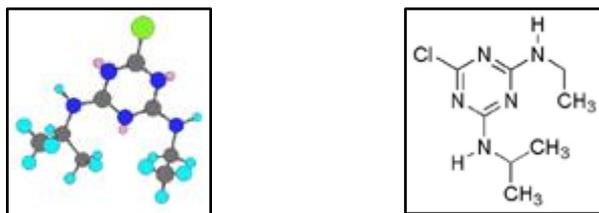
- ✓ assurer une efficacité optimale à la matière active.
- ✓ limiter les risques d'intoxication pour le manipulateur.
- ✓ rentabiliser la matière active.

Un même pesticide peut être disponible sous plusieurs formes: solide, liquide et gazeuse (tableau 04) (24).

**Tableau 04 :** Les différentes formes d'un pesticide (24).

Exemples de formulations	prêt à l'emploi ou non préparé	
	<b><u>Forme solide</u></b>	
Appât		prêt à l'emploi
Poudre		prêt à l'emploi
Poudre mouillable (WP)		non préparé
	<b><u>Forme liquide</u></b>	
Aérosol		prêt à l'emploi
Concentré émulsifiable (EC)		non préparé
Solution		non préparé
	<b><u>Forme gazeuse</u></b>	
Fumigeant		prêt à l'emploi

➤ **Groupe chimique :** Un groupe chimique est constitué de pesticides qui possèdent une structure chimique semblable. Par exemple, la structure chimique de l'atrazine, représentée ici de deux façons, permet de classer ce pesticide dans le groupe des triazines et tétrazines (figure 02) (25).



**Figure 02.** Les deux structures de l'atrazine (25).

- **Type d'activité :** Les herbicides, les fongicides et les insecticides peuvent être désignés selon leur façon d'agir sur les organismes indésirables (tableau 05) (26).

**Tableau 05 :** les différents types d'activité d'un pesticide (26).

<b>herbicide</b>	<b>propriétés</b>
De contact	Agit sur les parties de la plante avec lesquelles il entre en contact.
systemique	Absorbé par la plante, se déplace à l'intérieur de celle-ci.
sélectif	Ne contrôle que certaines plantes parmi celles qui sont traitées.
Non-sélectif	Contrôle toutes les plantes traitées.
résiduaire	Se dégrade lentement et contrôle les plantes pour une longue période.
<b>fongicide</b>	<b>propriétés</b>
préventif	Protège la plante en empêchant que la maladie se développe.
curatif	Réprime une maladie qui est déjà développée.
<b>insecticide</b>	<b>propriétés</b>
De contact	Agit lorsque l'insecte entre en contact avec le produit.
D'inhalation	Agit lorsque l'insecte respire le produit.
D'ingestion	Agit lorsque l'insecte se nourrit.

- **Site ou mode d'action :** Les pesticides peuvent être regroupés selon le site ou le mode d'action de l'organisme indésirable sur lequel ils agissent. Plusieurs sites ou modes d'action sont connus pour les herbicides, les insecticides ainsi que les fongicides:

Les insecticides contrôlent les insectes, ils interviennent en les éliminant ou en empêchant leur reproduction. Différents types existent comme : Les neurotoxiques. les régulateurs de croissance, ceux agissant sur la respiration cellulaire.

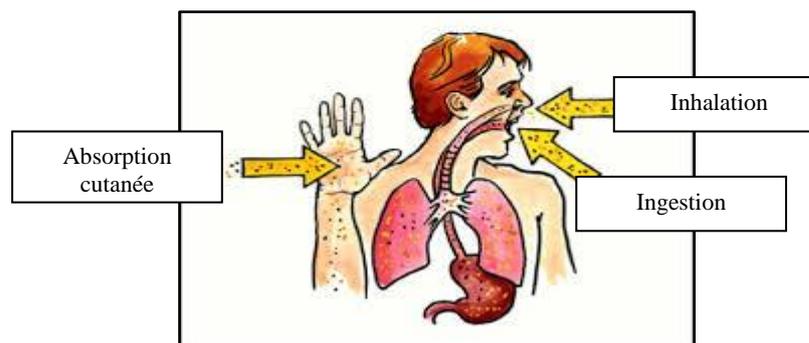
Les herbicides contrôlent les plantes, ils possèdent différents modes d'actions sur les plantes: les perturbateurs de la photosynthèse, les inhibiteurs de la division cellulaire, les inhibiteurs de la synthèse de cellulose, les inhibiteurs de la synthèse d'acides aminés.

Les fongicides contrôlent les champignons, ils peuvent agir différemment sur les plantes : les inhibiteurs respiratoires, les inhibiteurs de la division cellulaire, les perturbateurs de la biosynthèse des acides aminés ou des protéines et es perturbateurs du métabolisme des glucides (27).

## 8. Voies d'exposition et de contamination aux pesticides

Les principales voies d'entrées directes sont (figure 03) (28) :

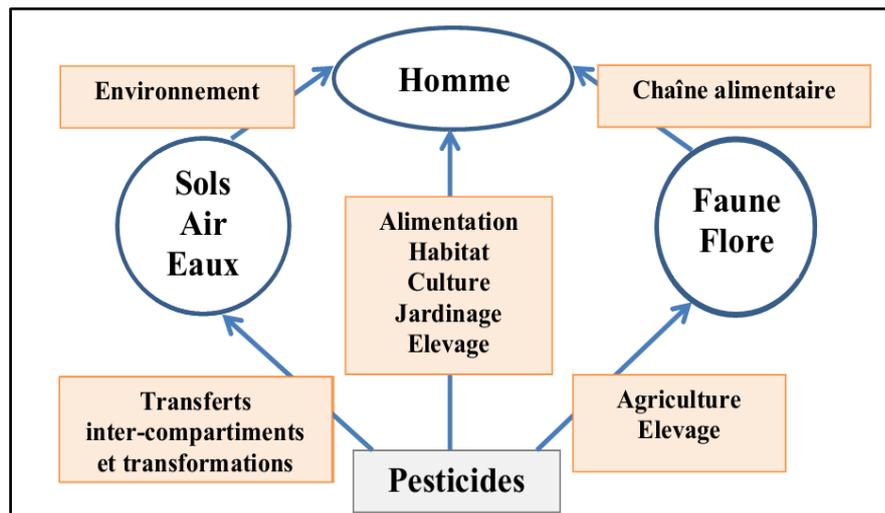
- **l'inhalation** par les voies respiratoires (nez, larynx, trachée, bronches, poumons et plèvre).
- **l'absorption** cutanée, à travers la peau.
- **l'ingestion** par le tube digestif (estomac, intestins).



**Figure 03.**Principales voies d'entrée des pesticides (28).

## 9. Les effets des pesticides

Les pesticides peuvent se retrouver dans les différents compartiments de l'environnement (Eau, air, sol, végétation). Les hommes, tout autant que la faune, sont en contact avec ces produits (figure 04). Les substances actives contenues dans ces produits sont susceptibles d'occasionner les risques à la fois sur la santé et l'environnement (29).



**Figure 04.** Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides (30).

### 9.1. Effets sur la santé humaine

La toxicité des pesticides est à aborder selon deux aspects : la toxicité aiguë (effets immédiats à forte dose à la suite d'une exposition unique) et la toxicité chronique (effets à long terme à faible dose à la suite d'expositions répétées). Actuellement, il existe de nombreuses données concernant la toxicité aiguë ; les connaissances sur la toxicité chronique demeurent limitées (31).

- **L'intoxication aiguë :** Elle est liée à une pénétration massive du produit dans l'organisme. Ses symptômes d'intoxication (digestifs, cardiovasculaires, respiratoires, nerveux) se manifestent généralement pendant l'exposition ou peu de temps après le contact (24 à 48 heures). Cette toxicité est généralement assez bien connue. Elle est évaluée par la dose létale 50 ( $DL_{50}$ ) qui représente la quantité de produit qui, après une seule absorption entraîne la mort de 50 % de l'échantillon d'organismes vivants testés (32).
- **L'intoxication chronique :** L'intoxication chronique survient après des absorptions longtemps répétées de faibles doses pendant plusieurs jours, plusieurs mois et même plusieurs années. Elle peut être aussi le résultat d'intoxications aiguës répétées. Les risques de ce type d'intoxication est souvent lié à la présence de pesticides résiduels dans différents milieux, dans ce cas les signes d'intoxication apparaissent souvent très tardivement. De plus, des études suggèrent que l'exposition à long terme aux pesticides à des effets multiples: favoriser le développement de certains types de cancers, perturbation du métabolisme, provoquer des déficits immunitaires, effets

neurologiques et neurocomportementaux. Certains pesticides pourraient avoir des effets perturbateurs du système endocrinien en interférant avec le processus hormonal et des effets sur la reproduction et le développement (33).

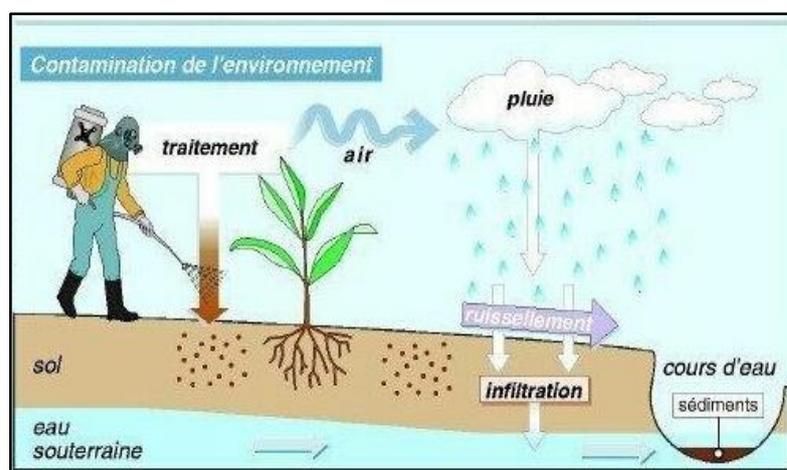
## 9.2. Impact sur l'environnement

L'impact d'un pesticide sur l'environnement dépend de (34) :

- propriétés de la molécule: sa toxicité, sa mobilité et sa vitesse de dégradation.
- la quantité de la matière active employée et de son mode d'application.
- les conditions météorologiques lors de l'application (pluie, vent, humidité...).

Les relations entre pesticides et environnement sont à double sens (35) :

- **Impact positif** : Les pesticides jouent un rôle primordial pour l'amélioration des rendements des cultures agricoles et pour la conservation des récoltes, que ce soit en traitements préventifs et/ou curatifs. Sans les produits phytosanitaires, les récoltes diminuerait de moitié (denrées alimentaires). De plus, l'emploi des pesticides permet de diminuer les coûts de production grâce à l'utilisation optimale des ressources.
- **Impact négatif (Problème de pollution et d'écotoxicité)** : Les pesticides peuvent se volatiliser (ils sont alors retrouvés dans l'air), être lessivés (présence dans les eaux de pluie), et ruisseler (d'où leur présence dans les eaux de surface ou les eaux souterraines), être absorbés par les plantes, les animaux ou les micro-organismes du sol (contamination des chaînes alimentaires) ou rester dans le sol. Alors, la toxicité des pesticides est directement liée à leur persistance ainsi qu'à leur bioaccumulation dans tous les compartiments de l'environnement (figure 05).



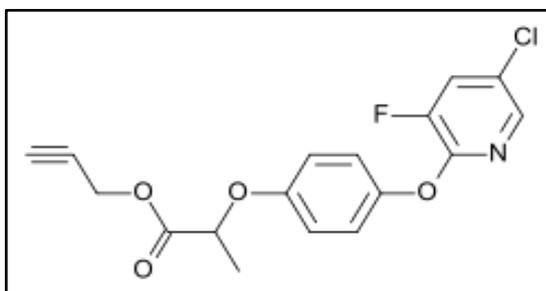
**Figure 05.** Processus de transfert des pesticides vers les différents compartiments de

L'environnement (36).

## 10. Le pesticide Topik

Topik est le nom commercial d'un herbicide sélectif, utilisé pour la lutte contre la folle avoine, phalaris et ray-grass dans les cultures de blés et triticales. Il augmente la métabolisation de la substance active en accélérant son hydrolyse par la plante [1]. L'herbicide étudié est constitué d'une seule matière active :

- **Clodinafop-propargyl** : c'est la matière active de l'herbicide qui agit par systémie en absorption foliaire, elle va au bout de 48h bloquer la croissance des mauvaises herbes qui cessent de concurrencer la culture de blé et dépérissent après quatre à six semaines. Avec une teneur de 80g/l. Sa formule brute est : (C<sub>14</sub> H<sub>11</sub> Cl FNO<sub>4</sub>) (figure 06) [2].



**Figure 06.** Structure chimique de clodinafop-propargyl [2].

### 10.1. Propriétés physiques et chimiques

- ✓ **Forme** : liquide clair légèrement à trouble.
- ✓ **Couleur** : jaune brun à brun foncé.
- ✓ **Odeur** : aromatique.
- ✓ **pH** : 4 - 8 à 1 % w/v.
- ✓ **Densité** : 1.075 g/cm<sup>3</sup> à 20 °C.
- ✓ **Hydro solubilité** : miscible.
- ✓ **Stabilité dans l'eau** : clodinafop-propargyl n'est pas persistant dans l'eau.
- ✓ **Stabilité dans le sol** : clodinafop-propargyl n'est pas persistant dans le sol.
- ✓ **Durée de demi-vie** : 5 jours. Ce paramètre, noté DT50, représente le potentiel de dégradation de cette substance active, et sa vitesse de dégradation dans le sol [3].

### 10.2. Mode d'action

Topik n'agit que sur les graminées. Celles-ci absorbent le produit par voie foliaire. La substance active migre vers les zones méristématiques, et inhibe l'Acétyl-Coenzyme A carboxylase et bloque la croissance des graminées sensibles dans les 48 heures suivant l'application [4].

**10.3. Les principaux avantages de l'utilisation topik**

Topik, donne un contrôle fiable dans des conditions climatiques variées. Le producteur peut être sûr que le produit fonctionne même dans des conditions défavorables. Il a un spectre d'application extrêmement large et une tolérance de la culture supérieure, il est compatible avec d'autres pesticides permettant au producteur de choisir des produits de partenaires les plus efficaces et les moins coûteuses [5].

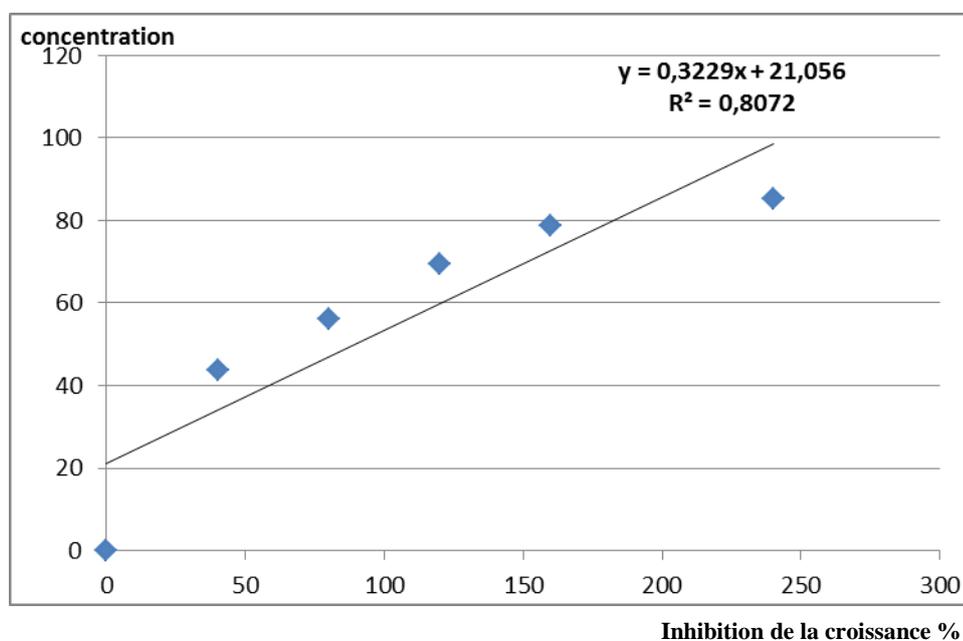
## 1. Résultats et discussion

Le test *Allium cepa* souvent été utilisé pour la détermination de la cytotoxicité et/ou les effets génotoxiques de différentes substances. Il est considéré comme une procédure standard pour un test rapide et la détection des niveaux de toxicité et de pollution dans l'environnement (56).

Dans la présente étude, La toxicité et la génotoxicité du pesticide Topik est évaluée par le test *Allium cepa* en prenant en considération trois paramètres : L'inhibition de l'élongation racinaire en déterminant la  $CE_{50}$ , l'effet sur l'index mitotique et l'étude des aberrations chromosomiques (57).

### 1.1. Test d'inhibition de l'élongation racinaire

La toxicité du Topik est évaluée en adoptant la méthode déterminant la  $CE_{50}$  qui correspond à la concentration qui diminue le pourcentage de l'élongation racinaire à 50%. Les résultats de ce test sont représentés dans la (figure 09) (58). On note une relation proportionnelle entre la concentration en pesticide et le pourcentage d'inhibition de l'élongation racinaire avec un coefficient de corrélation de  $r^2 = 0.807$  (effet dose-réponse). La concentration efficace de  $EC_{50} = 90.47$  mg/ml.



**Figure 09.** Effet inhibiteur des différentes concentrations du Topik sur l'élongation racinaire de *Allium cepa*.

## 1.2. L'indice mitotique (IM)

L'effet du Topik sur l'index mitotique du méristème racinaire d'*Allium cepa* est présenté dans le tableau L'index mitotique reflète la fréquence de la division cellulaire et il est considéré comme un paramètre important dans l'évaluation de la toxicité d'une substance en nous renseignant sur la possibilité de l'analyse génotoxicologique, parce que un index mitotique inférieur à 10 signifie qu'il n'y a pas suffisamment de cellules en division pour qu'elles soient analysées (59).

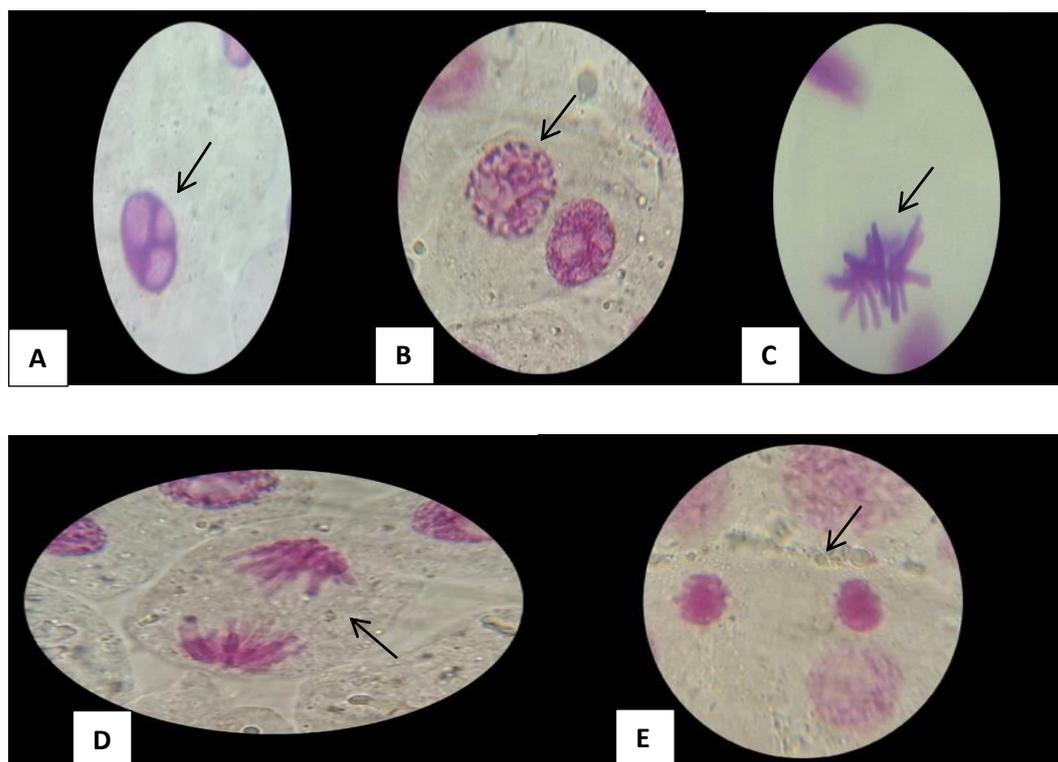
Les résultats obtenus dans notre étude sont présentés dans le (tableau 08).

**Tableau 08 :** Effet du Topik sur l'indice mitotique du méristème racinaire d'*Allium cepa*.

mg/l	Inter	Nombre des cellules en division					MI	MI%	Diminution %
		Pro	Mét	Ana	Télo	total			
00.00	236	663	37	33	110	843	0.843	100	00.00
40mg	446	388	3	23	327	741	0.741	87.90	- 12.1 **
80mg	451	427	0	8	148	583	0.583	69.16	- 30.84 ***
120mg	620	191	0	0	340	531	0.531	62.98	- 37.02 ***
160mg	699	42	0	4	403	449	0.449	53.26	- 46.47 ***
240mg	612	168	0	2	271	441	0.441	52.31	- 47.69 ***

Inter: Interphase, Pro: Prophase, Met: Metaphase, Ana: Anaphase, Telo: Telophase,  
MI: Index Mitotique. (\*\*): très significatif ( $p < 0.01$ ), (\*\*\*): très hautement significatif ( $p < 0.001$ ).

A partir du tableau 08, on remarque que l'interphase représente le stade le plus dominant, suivie de la prophase chez les cellules méristématiques de *A.Cepa*, tandis que l'anaphase et télophase représente une minorité, alors que les cellules en métaphase sont absentes aux concentrations 80 mg, 120 mg, 160 mg et 240 mg.



**Figure 10.** Cellules méristématiques normales d'*Allium Cepa* en division (X40).

A: interphase, B: prophase, C: metaphase, D: anaphase, E: telophase.

Une diminution significative de l'IM a été enregistrée avec toutes les concentrations testées et de manière dose-dépendante.

L'indice mitotique est un paramètre très utilisé pour la détermination des effets néfastes de plusieurs polluants, comme les métaux lourds tels que le cuivre, les gaz tel que le SO<sub>2</sub> ou les pesticides. Les niveaux d'une cytotoxicité d'un agent peuvent être déterminés par l'augmentation ou la diminution du MI (60).

Quand l'index mitotique diminue en dessous de 22% par rapport au témoin, cela est considéré comme « effet léthal » sur les organismes testées (61), alors qu'une diminution de l'index mitotique de 50% par rapport au témoin est habituellement un effet sublétal et est nommée « valeur limite de cytotoxicité » (62).

Selon Smaka-Kincl *et al.*, la diminution de l'IM d'*Allium Cepa* des cellules méristématiques peut être considérée comme signe de cytotoxicité (63). La réduction significative de l'IM notée dans la présente étude peut être due à l'inhibition de la synthèse de l'ADN ou le blocage dans la phase G2 du cycle cellulaire L'inhibition de la croissance des racines est généralement liée à l'activité méristématique apicale (64)

et à l'allongement cellulaire au cours de la différenciation (65). Selon (Acita O A et Matebesi L P ; 2010) la signification de l'index mitotique ne réside pas uniquement dans la possibilité de l'analyse toxicogénétique, mais il reflète lui-même la toxicité d'une substance testée (66). La diminution de ce paramètre est considérée comme un signe de toxicité par plusieurs auteurs. Donc, il est possible que la diminution observée de l'IM dans notre étude soit due à la toxicité du pesticide Topik qui peut inhiber la synthèse d'ADN (67).

### **1.3. Test d'aberration chromosomique**

Pour évaluer les anomalies chromosomiques par le test *de Allium cepa*, plusieurs types d'AC sont pris en compte dans les différentes phases de la division cellulaire (prophase, métaphase, anaphase et télophase). Cependant, cette analyse n'est pas simple à réaliser, car il nécessite une connaissance précise des phases de la division cellulaire et de leurs éventuelles anomalies.

L'analyse des différents types de AC, dans toutes les phases du cycle cellulaire, initialement proposée par Fiskesjö (68), permet une évaluation plus complète et précise, car elle favorise une meilleure enquête sur les actions des agents testés, concernant leurs effets clastogènes et / ou aneugènes sur l'ADN de l'organisme d'essai et même leur développement possible (69).

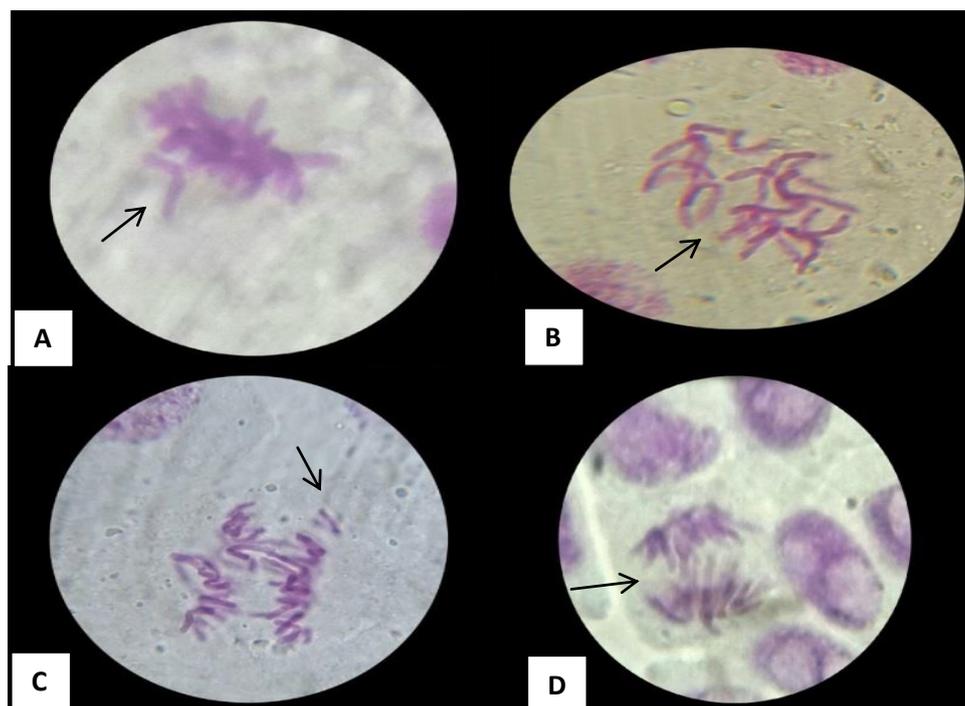
Les résultats du test d'aberration chromosomiques sont présentés dans le (tableau 09). Les aberrations chromosomiques: C-mitose, fragments, perte de chromosome, pont et autres ont été observée dans les cellules de la pointe racinaire de tous les groupes traités par le Topik.

**Tableau 09** : Les différents types d'aberrations chromosomiques.

mg/ml	Nb de cellules en division	Fragment %	C-mitose%	Ponts %	Perte %	Autres %	AC %
00.00	834	0.71	0.23	0.47	0.35	0.47	2.25
40	741	1.75	4.58	0.53	3.10	6.47	16.46***
80	583	6.34	5.83	2.91	7.03	2.91	25.04***
120	531	5.27	8.09	5.83	11.67	11.86	43.69***
160	449	0	20.68	0	0	12.91	33.40***
240	441	7.70	5.89	2.49	3.62	2.04	21.77***

AC: Aberration Chromosomique (\*\*\*) : très hautement significatif ( $p < 0.001$ ).

Les anomalies de la division cellulaire (tableau 09) rencontrées chez le témoin ne représentent que 2.25%. On observe une augmentation de la fréquence des AC avec les concentrations (40 mg, 80 mg et 120 mg) et une diminution avec les concentrations (160 mg, 240 mg) par rapport au témoin (tableau 09). Cela peut être dû à la diminution du nombre des cellules en division.



**Figure 11.** Cellules méristématiques aberrantes d'*Allium cepa* en division (X100).

A: fragment, B: C-mitose, C: perte de chromosome, D: ponts.

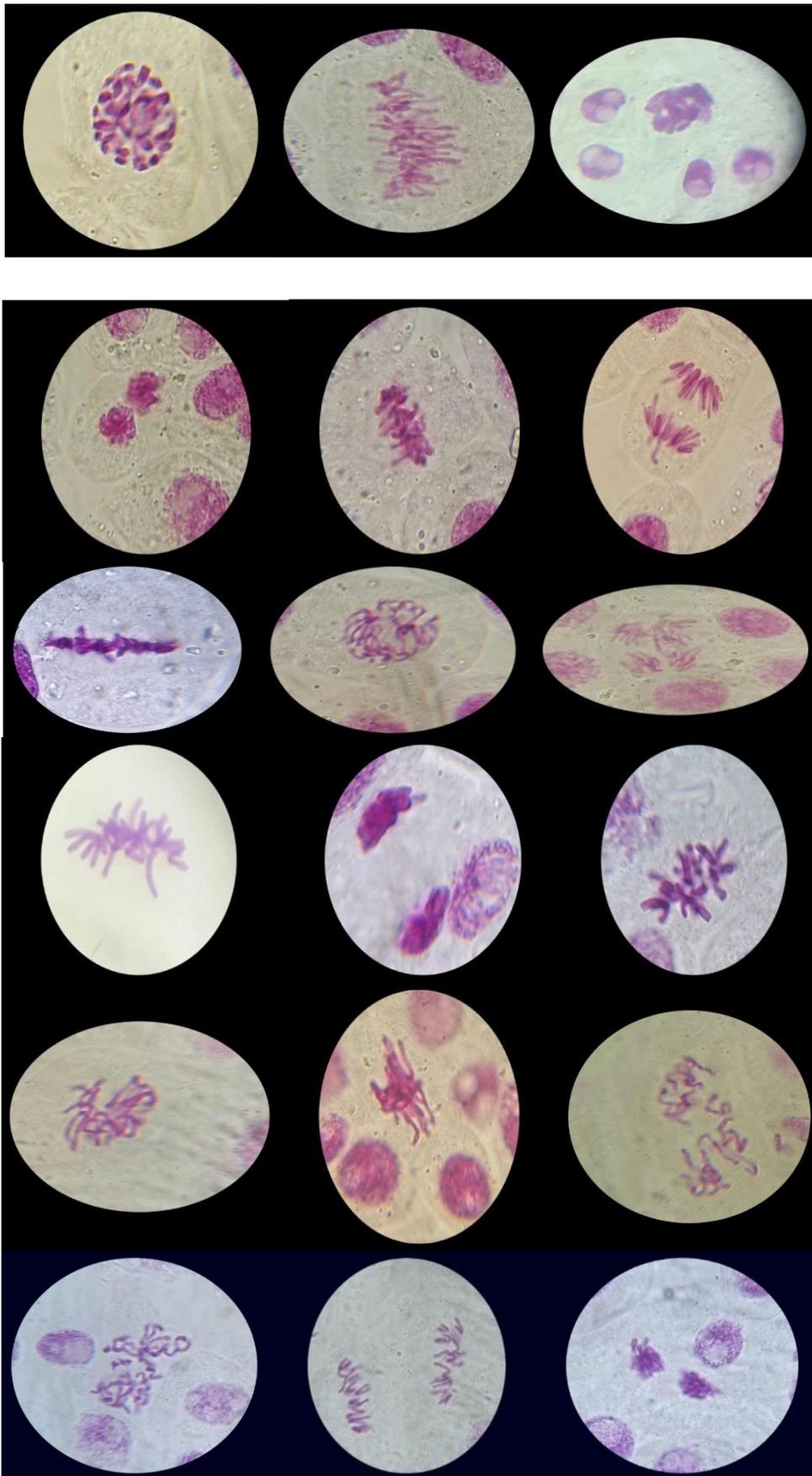
L'essai d'aberration chromosomique est l'un des méthodes directes capable de mesurer directement des mutations dans les systèmes exposés (70). Les AC se caractérisent par des changements dans la structure chromosomique ou dans le nombre total de chromosomes, qui peut se produire spontanément ou suite de l'exposition à des agents chimiques(71). On appelle une cellule aberrante, si au moins un chromosome est endommagé (72).

La présence de cellules en c-mitose indique l'action du pesticide Topik sur le fuseau mitotique (73). Le c-mitose indique des effets sur l'organisation de la chromatine, qui peut être liée à un déséquilibre des protéines responsables de la structure de la chromatine nucléaire (74).

Selon Fiskesjö (1988), C-mitose, l'anomalie la plus courante observée, peut se produire en raison de troubles au niveau des microtubules (75), cela signifie que le pesticide testé peut perturber le processus du cycle cellulaire normal en empêchant la biosynthèse de l'ADN et / ou la formation des microtubules (76). Des observations

similaires ont été fait par d'autres chercheurs en cas de c-mitose qui a été considéré comme le signe d'un effet toxique faible et peut être réversible (77).

Les ponts chromosomiques peuvent être dus à la rigidité et l'incapacité subséquente de la séparation de l'anaphase libre. Ces ponts sont habituellement formés par chromatides sœurs jointes qui restent ensemble jusqu'à la fin de l'anaphase ou télophase. Si ces liaisons deviennent trop forts, les chromatides peuvent se briser à proximité des points de connexion à l'anaphase (78). Selon Kabarity *et al*, les ponts de chromosomes étaient couramment observés durant l'anaphase et télophase. Les ponts remarqués dans les cellules étaient probablement formée par la fusion après rupture des chromatides ou subchromatides (79).



**Figure 12.** Autres anomalies chromosomiques des cellules méristématiques d'*Allium cepa*.

## Conclusion

En conclusion, le Topik a montré un effet génotoxique remarquable au niveau des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* en induisant majoritairement des fragmentations, des c-mitoses et des ponts.

La présente étude a démontré en plus l'utilité du test d'aberrations chromosomiques réalisé sur *Allium cepa* dans l'évaluation de la génotoxicité des mixtures chimiques.

En perspective, d'autres types de tests de génotoxicité sont recommandés en utilisant d'autres modèles expérimentaux pour donner plus de détails concernant le mécanisme précis de génotoxicité.

---

## Annexe A

### ➤ Préparation du colorant fulgene

- Ajouter 0,25 g fushine basique a 50 ml H<sub>2</sub>O bouillante à (100°C).
- Refroidissement 10 min (50°C).
- Ajouter 5 ml de 1N Hcl et agiter.
- Ajouter 0,5 g K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> et agiter avec l'agitateur.
- Conserver dans un flacon sombre et couvert avec du papier aluminium pendant une nuit à 4°C.
- Filtrer à l'obscurité à travers un papier filtre puis reconserver dans un flacon sombre pour 15 à 20 jours au maximum.

---

## Annexe B

### ➤ Clodinafop-propargyl

#### 1- Identité

- ✓ **Substance active** : Clodinafop-propargyl.
- ✓ **Source de l'information** : union européenne.
- ✓ **Activité biologique principale** : herbicide.
- ✓ **Famille chimique** : pyridinylphenylether.
- ✓ **Dénominations** :
  - **ISO** : variant du clodinafop.
  - **CIP** : 683.225.
  - **CAS** : 105512-06-9.
- ✓ **Noms chimiques** :
  - CA** : (R)-2-(4) [5-chloro-3-fluoro-2-pyridinyl]oxy phenoxy -propanoic acid 2-propynyl ester.
- ✓ **Formule brute**:  $C_{17}H_{13}ClFNO_4$ .
- ✓ **IUPAC** : prop-2-ynyl(R)-2-[4-(5-chloro-3-fluoropyridin-2-yloxy) phenoxy] propionate.
- ✓ **Pureté minimale**: 950g/kg.

#### 2- propriété physico-chimique

2-1 Etat physique : poudre blanche.

(source de l'information : union européenne).

2-2 Pression de vapeur (tension de vapeur) :  $3.19 \cdot 10^{-6}$  pa à 24°C.

(source de l'information : union européenne).

2-3 Constante de Henry :  $2.8 \cdot 10^{-4}$  pa\*m<sup>3</sup>/mole.

(source de l'information : union européenne).

---

2-4 Solubilité dans l'eau : 4mg/l à 24°C.

(source de l'information : union européenne).

- Acetate ethyl : 500g/l à 25°C.

(source de l'information : union européenne).

- acetone:500g/l à 25°C.

(source de l'information : union européenne).

- Dichloromethane : 500g/l à 25°C.

(source de l'information : union européenne).

- hexane : 7.5 g/l à 25°C.

(source de l'information : union européenne).

- methanol : 180 g/l à 25°C.

(source de l'information : union européenne)

- Octanole : 21g/L à 25 °C.

(source de l'information : union européenne).

- Toluene : 500g/L à 25°C.

(source de l'information : union européenne).

2.6 Coefficient de partage octanol/EAU

- Log p : 0.52 à 25°C et au PH de 7

(source de l'information : union européenne).

2.7 Vitesse d'hydrolyse (stabilité).

- Temps de demi-vie : 17.9 jour (s) à 25°C et au pH 4.

(source de l'information : union européenne)

- Temps de demi-vie : 26.8 jour (s) à 25°C et au pH 5.

(source de l'information : union européenne).

- Temps de demi-vie : 4.8 jour(s) à 25°C et au pH 7

(source de l'information : union européenne).

- Temps de demi-vie : 0.07 jour(s) à 25°C et au pH 9

(source de l'information : union européenne).

#### 2.8 vitesse de photolyse dans l'eau

- DT50 : 24.23 jours au pH de 5 à 25.
- Lumière : Lumière artificielle (xénon).

(source de l'information : union européenne).

#### 2.9 Rendement quantique de la photo transformation dans l'eau à $\lambda < 290$ nanomètres.

- $\Phi$  : 0.0237.

#### 2.10 Dissociation dans l'eau

- Absence de dissociation.

---

## Bibliographie

- (1). **Fondio L., 1998.** Etude du comportement des variétés d'oignon (*Allium cepa* L.) en Côte d'Ivoire. (Article proposé pour publication dans *Agronomie Africaine*).
- (2). **Fawole OA, Amoo SO, Ndhlala AR, Light ME, Finnie JF, Van Staden J.** Anti-inflammatory, anticholinesterase, antioxidant and phytochemical properties of medicinal plants used for pain-related ailments in South Africa. *J. Ethnopharmacol*, 127(2) 2010 p :235-241.
- (3). **Bidelman.T.F., 1988.** Atmospheric transport and air surface exchange of pesticides. *Water, air and soil pollution* .115: 115-166.
- (4). **Baily.R. & Wait.M., 1970.** Factors influencing the adsorption, desorption and movement of pesticides in soil. *Residue Reviews*, 32: 29-92.
- (5). **Craven C., Hoy S., 2005.** Pesticides persistence and bound residues in soil – regulatory significance, *Environmental Pollution* vol 133: 5-9.
- (6). **Viala A .et Botta A.,(2005).** *Toxicologie*,ed. Lavoisier (2ed),
- (7). **Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M.P., Coquet Y., 2005.** Les pesticides dans le sol : Conséquences agronomiques et environnementales. Editions France Agricole, 637 p.
- (8). **Domange N., 2005.** Etude des transferts de produits phytosanitaires à l'échelle de la parcelle et du bassin versant viticole (Rouffach, Haut- Rhin), Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur Strasbourg I. France. 285p.
- (9). **Diehl R.,1975.** *Agriculture générale des pesticides*.J,B, Bailliére.421p.
- (10). **Boucher C.G., Margoum C., 2003.** Contribution à l'étude du devenir des produits phytosanitaires lors d'écoulements dans les fosses, caractérisation physico-chimique et hydrodynamique, Thèse de doctorat Université Joseph Fourier- Grenoble I. France. 292p.
- (11). **Rance, L., 2007.** Analyse des statistiques sur les pesticides. Centre d'agriculture biologique du Canada.
- (12). **Lagadic L.Caquet T Amiard jC et Ramade F., 1997.** biomarqueur en écotoxicologie, aspect fondamentaux. Edition Masson.p.165-184.

- 
- (13). **Morejohn. S. ,1987.** Oryzalin, a dinitroaniline herbicide, binds to plant tubulin and inhibits microtubule polymerization in vitro. *Planta*, 172: 252-264.
- (14). **Snégarof f J. , 1997.** Les résidus d'insecticides or ganochlorés dans les sols et les rivières de la région bananière de la Guadeloupe. Rapport INRA.
- (15). **Kane A., 1997.** Effets des fongicides (Basamid, Cryptonol/ Enzone) et des endomycorhizes sur la croissance-et le développement de deux variétés d'oignon (red créole et early yellow texas"grano 502 prr) cultivées, sur un "sol infesté par *pyrenochaeta terrestris* au nord-ouest du Sénégal. Thèse de Doctorat, Université Cheikh Anta Diop, Sénégal, 107 p.
- (16). **Hayne D., Müller J., Carter S.** Pesticide and herbicide residues in sediments and seagrasses from the Great barrier Reef world heritage area and Queensland coast. *Marine Poll. Bull.*, 41 (7-12), 2000 p : 279-287.
- (17). **Brtles., 1988.** Guide des plantes du bassin méditerranéen Ed française p :252.
- (18). **López B. C., Gómez Á. S. , Rey G. M. , Cancho G B., Simal G J.** Determination of carbamates and organophosphorus pesticides by SDME–GC in natural water, *Analytical and bioanalytical chemistry.* vol 383 ( 4) , 2005 p: 557-561.
- (19). **OMS., 1991.** l'utilisation des pesticides en agriculture et ses conséquences pour la santé publique.Genève, 145 p.
- (20). **Arzul G., Quiniou F., Videau C. et Durand G., 2008.** La toxicité des pesticides varie selon le stade de développement des cultures de phytoplancton au moment de leur exposition. Poster GFP, Brest.
- (21). **Intra-cemagref. , 2005.**Expertise scientifique collective, pesticides agriculture et environnement réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux.
- (22). **Calvet R., 2002.** les pesticides dans le sol 55p.
- (23). **Leveau-M.Bouix., 1993.** Microbiologie industrielle, édition : Lavoisier, paris
- (24). **Bidelman.T.F., 1988.** Atmospheric transport and air surface exchange of pesticides. *Water, air and soil pollution* .115: 115-166.
- (25). **CONSOMASSION EUROPENNE., 2003.**les produits phytosanitaires, la santé et l'environnement,46p.
- (26). **Mehmet a.Oturan et Jean-marie Mouchel., 2007.**pesticide impacts

environnementaux, gestion et traitement.

- (27). **Intra-Cemagref., 2005.** Expertise scientifique collective, pesticides agriculture et environnement réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux.
- (28). **Samuuel, O ., Michaud, L.**L'utilisation de pesticide en milieu urbain :Risque à la santé et alternatives. Bulletin d'information toxicologique.Publication du centre de toxicologique du Québec et du centre Anti-poison du Québec.vol.16.numéro 2.2000, page 5-16.
- (29). **Egaas E., 2002.** effects of pesticid and health of humain p150.
- (30). **Directive européenne.** 91/414/CE du 15 juillet 1991.
- (31). **Dchemin J., 2006.** exposition humaine aux produits phytosanitaires et risques pour la santé humaine, note AESN.
- (32). **Samuel , O., Carrier, G., Pouliot, B., Sanfaçon, G.,1999.**Critères d'une intoxication et d'une exposition.Fichier des maladies à déclaration obligatoire.21 p.
- (33). **Effets chroniques des pesticides sur la santé.,2001.** état actuel des connaissances Janvier. Observatoire Régional de la Santé de Bretagne.
- (34). **S. Guimont ; 2005.** Devenir des pesticides dans les sols en fonction de l'état d'humidité et du mode de circulation de l'eau dans le sol, Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Lorraine, , France. 341p.
- (35). **Abdi. S.et Horia.H., 2004.** Effets des pesticides sur les caractéristiques physico-chimiques et microflore de l'eau potable de la région de guelma-Mem Ing Eco et Env.77p.(Uni.Annaba).
- (36). **Bellal.O.et Toubal.S.,2001.**la disoertion des pesticides dans l'environnement(Exposé)15p.
- (37). **Viala A .et Botta A., 2005.** Toxicologie,ed. Lavoisier (2ed), p 86.
- (38). **Bounias M., 1999.** Traité de toxicologie générale. Springer, ed.,p.804.
- (39). **Chine L., 2005.** Relations entre génotoxicité, mutagenèse et concéregenèse.Journées Nationales de Santé au Travail dans le BTP.Annales,28 :9-13

- 
- (40). **Ortega M.I.** Tests cytogénétiques : utilité en médecine du travail difficulté lors de son application ala surveillance des travailleurs.Politique scientifique Journée d'étude.ITUH-BRUXELLES.
- (41). **Maron D and Ames B.N., 1983** . Revised methods for the salmonella mutagenicity test.Muta.Res, 113 :173-215.
- (42). **Collins AR., 2004.** The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Mol Biotechnol* 26:249-261.
- (43). **Miller RC., 1973.** The Micronucleus Test as an in vivo Cytogenetic Method. *Environ Health Perspect* 6: 167-170.
- (44). **Natarajan A et Obe G., 1984.**Molecular mechanisms involved in the production of chromosomal aberrations.*Chromosoma*, 90 :120-127
- (45). **Bagatini M.D., Silva A.C.F. & Tedesco S.B. 2007.** Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 17, pp.444-447, ISSN 0102695X.
- (46). **Fiskesjö, G., 1985.** The *Allium*-test as a standard in environmental monitoring, *Hereditas*, 102, pp. 99-112.
- (47). **Boullard B., 2001.** Plantes médicinales du monde : Réalités et croyances. Edition ESTEM,Paris, France, 645 p.
- (48). **Fournier P., 1947.** Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France, Lechevalier,France, 1140 p.
- (49). **Van Der Meer QP., 1993.** *Allium cepa* L. cv. Groupe Common Onion. In: Siemonsma J.S., Kasem Piluek, 1993. Plant resources of South-East Asia. Pudoc Scientific publishers 8, 68-71.
- (50). **Tsukazaki H., Honjo M., Yamashita K. I., Ohara T., Kojima A., Ohsawa R., & Wako T., 2010.** Classification and identification of bunching onion (*Allium fistulosum*) varieties based on SSR markers. *Breeding science*, 60 (2), 139-152.
- (51). **Rouamba A, Sarr A & Ricroch A., 1997.** Dinamic management of genetic ressource of *Allium cepa* L. (Onion) in west Africa, *Acta Hort.* 433 : 185-189
- (52). **Hayes, W.J. and Lawes, E.R., 1991.**Handbook of pesticide toxicology, Vol 2 and 3,Classes of pesticide, Academic Press Inc,Toronto.
- (53). **Jahier J.,1992.** Technique de cytogénétique végétale. INRA, ed., Paris.P.181.
- (54). **Rank J, 2003.** The method of *Allium* anaphase-telophase chromosome aberration assays. *Ekologija* 1: 38- 42.

- 
- (55). **Fiskesjö G., 1985.** The Allium test as a standart in environmental monitoring. *Hereditas* 102: 99-112.
- (56). **Fiskesjö, G., 1984.** Allium test II: assessment of chemical's genotoxicity potential by recording aberrations in chromosomes and cell divisions in root tips of *Allium cepa* L. *Environ. Toxicol. Water Qual* : 9 , 235–241.
- (57). **Patra M. and Sharma, A., 2002.** Relative efficacy of *Allium cepa* and *Allium sativum* in anaphase-telophase test screening metal genotoxicity. *Biologia* 57: 409-414.
- (58). **Fiskesjö, G.,1993.** Allium test I: A 2–3 day plant test for toxicity assessment by measuring the mean root growth of onions (*Allium cepa* L.). *Environ. Toxicol. Water Qual* ; 8 , 461–470.
- (59). **El-Shabbaby OA, Abdel Migid HM, Soliman MI, Mashaly IA., 2003.** Genotoxicity screening of industrial waste water using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. *Pak J Biol Sci.*; 6: 23-28.
- (60). **Rank J., 2003.** The method of *Allium* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Ekologia*; 1: 38-42.
- (61). **Panneer selvam N., 1993.** A simple technique for the preparation of metaphase chromosome from *Allium cepa* by squash method. *Biol Education* 2: 117-118.
- (62). **Yildiz, M., & Arikani, E.S .2008.** Genotoxicity testing of quizalofop-P-ethyl herbicide using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *CARYOLOGIA*, 61(1), 45-52.
- (63). **Sharma, A. K. and Sharma, A., 1972.** *Chromosome Techniques – Theory and Practice*, University Park Press, Baltimore, MD, USA.
- (63). **Smaka-Kincl. K., 1990.** Cytological effects of the herbicide sencor on mitosis of *Allium cepa* . *Egypt J Bot* 33: 93-104.
- (64). **El-Yessiri, S.M., 2008.** Genotoxic Effect of Nickle Sulfate on The Dividing Cells Using *Allium cepa* . Thesis, Univ. of Garyonuis Faculty of science, Benghazi, Libya.
- (65). **RANK, J., NIELSEN, M.H. 1997.** *Allium* anaphase-telophase genotoxicity assay. Department of Environment, Technology and Social Studies, Roskilde University, Denmark.
- (66). **Acita O A et Matebesi L P ; 2010.** Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa* . *Cytologia* 2001; 66: 235–239.
- (67). **Ferrtti, D., Zerbini, I., 2007.** *Allium cepa* chromosome abberation and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. *Food Addit. Contam.* 24 (6): 561-572.

- 
- (68). **Leme DM, Marin-Morales MA., 2008.** Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water-a case study. *Mutat Res.*; 650: 80-86.
- (69). **Sudhakar R, Ninge Gowda N, Venu G., 2001.** Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa* . *Cytologia*; 66: 235–239.
- (70). **Rekha K, Dharman, AK., 2011.** Mitotic aberrations induced by sodium benzoate: a food additive in *Allium cepa* L. *Plant Arch.* ; 11: 945-947.
- (71). **Sharma, A.K.; Sharma A .,1980.** Chromosome Technique Theory and Practice, 3rd ed.; Butterworths: London, UK; p. 474.
- (72). **Grant, W.F., 1978.** Chromosome Aberration in plants as monitoring system, *Environmental Health Perspectives*, , 27: 37-43.
- (73). **Patil, B. C., & Bhat, T. G. I. ; 1992.** A comparative study of MH and EMS in the induction of chromosomal aberrations on lateral root meristem in *Allium cepa* L. *Cytologia*, 57, 259-264.
- (74). **Kowalska-Wochna, E. T. and Oscilowicz, A., 2002.** The mitotic activity of *Allium cepa* L. root cells and the disturbance of mitotic spindle formation induced by low doses of the herbicide stomp 330 EC. *Cell. Mol. Biol. Lett.*, 7 , 292–296.
- (75). **Fiskesjo G., 1988.**The *Allium* test-an alternative in environmental studies: The relative toxicity of metal ions.*Mutation Research*.Vol.197.pp 243-269.
- (76). **Fiskesjo G., 1997.** *Allium* test for screening chemical: Evaluation of cytologic parameters. In: *Plants the environmental studies*,Wang,W,JW Gorsuch and JS Hughes (Eds).CRC Lewis publishers,Boca, Raton, New York,pp 308-333.
- (77). **Firbas Peter and Amon Tomaz., 2013.** *Allium* chromosome aberration test for evaluation effect of cleaning municipal water with constructed wetland in Sweti Tomaz, Slovenia.*J. Bioremediation & Biodegradation*. Vol.4, issue-4.
- (78). **Grant, WF.,1982.** Chromosomal aberration assays in *Allium*. A report of the United States Environmental protection agency gene toxicity Program. *Mutation Research*, 99: 273-291.
- (79). **Olorunfemi,DI, Ehwre,EO.,2010.** Chromosomal aberration induced in root tips of *Allium cepa* by squeezed garri extract report and opinion 2(12),166-171.

## Webographie

- [1] : [http://eap.mcgill.ca/CPC\\_11\\_F.htm](http://eap.mcgill.ca/CPC_11_F.htm)
- [2] : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Triasulfuron>
- [3] : [http://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=orge\\_nu](http://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=orge_nu)
- [4] : <http://images.google.com/imgres?imgur1=http://geomart.phpnet.org/ADN.htm>
- [5] : <http://www.umc.edu.dz/theses/sc-terre/BOU4469.pdf>