

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques Spécialité / Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Département : Biologie

Thème

Analyses physico-chimiques des eaux de sources et
activité biologique

Présenté par : -Belhouchi Mohamed Amin

- Mimouni Imane

-Nemouchi Wafa

-Zaoui Hadil

Devant la jury composé de :

Président (e) : BENOSMAN S.

M.C.B

Université de Guelma

Examinatrice : ABDAOUI W.

M.C.B

Université de Guelma

Encadreur : BENOURETH D.E

Pr

Université de Guelma

Juin 2022

Remerciements

Nous avons la joie, et le grand bonheur de présenter notre gratitude à nos parents, qui depuis notre naissance ont veillé à nous apprendre, à nous accompagner jusqu'à présent avec tout leur soutien moral et physique, afin de partager avec nous le fruit de notre succès.

Comme, c'est le grand moment de présenter nos sincères remerciements à nos professeurs enseignant qui ont nourri notre esprit de savoir et de connaissance, à leur tête Mr Benouareth D.E notre encadrant qui nous a beaucoup aidé quand à la réalisation de ce mémoire, Mme Khallef Messaouda pour son assistance pratique ainsi que l'équipe technique du laboratoire, en nous disposant du matériel nécessaire et guide pratique.

A la fin nous tenons à remercier aussi les membres de jury Mme Benosman S et Mme Abdaoui w qui sans hésitation ont pris la charge de l'évaluation de ce modeste travail.

Dédicaces

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,
A ma chère sœur Amina pour ses encouragements permanents, et
leur soutien moral,*

*A mes chers frères, Mouhi Eddine et Sohaib., et mon amie
Zablou pour leur appui et leur encouragement,*

*A tous mes professeurs qui m'ont aidé tout au long de mon parcours
universitaire, que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant
allégués, et le fruit de votre soutien infailible,
Merci d'être toujours là pour moi.*

Belhouchi Mohamed Amin

Je dédie ce travail de mémoire

A mes chers parents les deux être qui m'ont réservé la plus grande partie de leur vie pour m'offrir, tendresse, amour, affection, éducation qu'Allah le tout puissant les gardes toujours pour moi.

A mes deux sœurs Fousra et Nada mes amourettes qui m'ont prouvé tout le courage,

A mes grands-parents maternels qui étaient et sont toujours à mes côté avec leur soutien et leur bénédiction, longue vie pour eux inchallah.

A mes professeurs et enseignants qui nous ont accompagnés dans notre parcours universitaire beaucoup de santé et de bien-être.

Mimouni Imane

Je dédie ce projet de fin d'étude à :

Ma chère mère.

Mon cher père.

*qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de
m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

Mon frère Haithem.

Mes chères sœurs Hayem et Hana.

Mon cher oncle Fouad.

*Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de
mes études.*

Mes chères amies.

Pour leurs aides et support dans les moments difficiles.

Tous ceux qui nous ont aidés soit de près ou de loin.

Zaoui Hadil

Table des matières

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Liste des abréviations.

Résumés

Introduction 1

Partie Bibliographique

Chapitre I : l'eau

I.1 Définition de l'eau	2
I.1.1 Cycle Hydrologique	2
I.2 différents types des eaux à consommation	3
I.2.1 Eaux souterraines	3
I.2.2 Eaux de sources	3
I.3 Norme de qualité d'une eau potable	4
I.4 Les paramètres physico-chimiques	4
I.4.1 Température	4
I.4.2 Potentiel en hydrogène (pH)	5
I.4.3 Conductivité électrique	5
I.4.4 Turbidité	5
I.4.5 Oxygène dissous (OD)	6
I.4.6 Salinité	6
I.4.7 Titrage d'alcalinité (TA)	7
I.4.8 Titre alcalimétrique complet (TAC)	7
I.4.9 Demande chimique en oxygène (DCO)	8
I.4.10 Demande biochimique en oxygène (DBO)	8

Chapitre II : Génotoxicité	8
II.1 Généralités	8
II.2 Méthodes de détection de la génotoxicité	9
II.2.1 Test micronoyaux	9
II.2.2 Test de Comet	9
II.3 Avantages de l'utilisation des plantes supérieures dans les tests de génotoxicité	10
II.4 L' <i>Allium cepa</i>	11
II.5 Classification	12
II.5.1 Classification Classique	12
II.5.2 Classification Phylogénétique	12
II.6 Test <i>Allium cepa</i>	13
II.6.1 Importance du test	13
 Patrie Expérimentale	
Partie I : Analyse physico-chimiques	14
I.1 Cadre de l'étude	14
I.2 Echantillonnage	14
I.2.1 Matériels et méthodes de prélèvement	14
I.2.2 Prélèvement et Transport	15
I.3 Paramètres mesurés	15
I.3.1 Paramètre mesures sur train	15
I.3.2 Paramètre mesurés au laboratoire	15
I.3.2.1 Le pH, la conductivité, l'OD, la salinité	
I.3.2.2 La turbidité	16
• Mode opératoire	

I.3.2.3 Alcalinité (TA et TAC)	16
• Principe	16
• Réactifs	16
• Matériels	17
• Mode opératoire	17
○ Détermination du TA	17
○ Détermination du TAC	17
I.3.2.4 La DCO	18
I.3.2.5 La DBO ₅	19
• Mode opératoire	19
Partie II : Analyse de génotoxicité par test <i>Allium cepa</i>	20
II.1 Préparation des oignons	20
II.2 Fixation de bulbes	21
II.3 Coloration et préparation des lames	21
II.4 Examen microscopique	24
Résultats et discussion	25
Conclusion	46
Références bibliographique	48
Annexes	54

Liste des tableaux

Figures	Titres	Pages
1	Les normes physico-chimiques selon l'O.M. S (2011) JORA 2014 ; journal officiel de la république française (J.O.R.F ,2007)	4
2	Classification des eaux d'après leur pH	5
3	Classes de turbidité usuelles (NTU, néphélobimétrie turbidité unit)	5
4	Solubilité de l'oxygène dans l'eau en fonction de la température	6
5	Échelle de valeurs de DBO ⁵	7
6	Facteur de conversion de la DBO ⁵ en fonction du volume prise	19
7	Les valeurs des concentrations des différents anions en fonction du TA et TAC	26
8	Les résultats de l'eau testée (Héliopolis, Guelaat Bou Sbaa)	26
9	Les résultats physico-chimiques de l'eau testée (Héliopolis, Guelaat Bou Sbaa)	29
10	Les valeurs de la longueur des racines après 24h et 48h	30
11	L'effet de l'eau de robinet « contrôle négatifs » sur l'IM et les phases mitotique	31
12	L'effet de l'eau de Héliopolis sur l'IM et les phases mitotiques	32
13	L'effet de l'eau de Guelaat bou Sbaa sur l'IM et les phases mitotiques	32
14	Résultats de l'observation et l'IM des bulbes étudiés	33
15	Taux des Aberrations Chromosomiques des différentes phases dans les cellules méristématiques racinaire d' <i>A. cepa</i> traité par l'eau de robinet (contrôle négatif).	35
16	Taux des Aberrations Chromosomiques des différentes phases avec le% des perturbations en Anaphase et Télophase dans les cellules méristématiques racinaire d' <i>A. cepa</i> traité par l'eau de site Héliopolis	36
17	Taux des Aberrations Chromosomiques des différentes phases avec le% des perturbations en Anaphase et Télophase dans les cellules méristématiques racinaire d' <i>A. cepa</i> traité par l'eau de site Guelaat bou sbaa	36
18	Les moyennes des valeurs des différents types d'AC	37
19	Pourcentage des AC dans l'échantillon de contrôle négatif	42

20	Pourcentage des AC dans l'échantillon de Héliopolis	42
21	Pourcentage des AC dans l'échantillon de Gelaat bou Sbaa	43

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
1	Le cycle hydrologique	2
2	Les différents types de lésions primaires de l'ADN	8
3	Schéma de la formation des micronoyaux	9
4	Photographie du noyau dans le test de comète	10
5	Les différentes parties de la plante d'oignon	11
6	Des flacons en verre stérilisent pendant 20 min en 180° dans le four pasteur.	14
7	Le turbidimètre	16
7	DCO mètre	18
8	DBO mètre	19
9	Photographies originale montre la culture des bulbes dans l'eau à tester	20
10	Photographie montre l'étape de fixation des racines dans le Carnoy	21
11	Photographie de l'hydrolyse des racines dans l'HCL de 1N à 60° C dans le bain marie	22
12	La coloration de racine dans le Feulgen.	22
13	La disposition de racine sur la lame.	23
14	Lame prête à l'observation microscopique	23
15	Photographie originale montre la morphologie racinaire après l'incubation dans les échantillons à essayer	29
16	Cellules méristématiques normales d' <i>Allium Cepa</i> en division (X40) régulière et normale	34
17	Photographie montres des exemples de prophase irrégulière	38
18	Photographies montrent quelque type d'AC dans la métaphase	39
19	Photographies montrent les quelque types d'AC en anaphase	41
20	Photographies montres les types de la polarisation de défaut en télophase	42

Liste des abréviations

°C	<i>Degré Celsius</i> , l'unité de température
μS/Cm	Unité de conductivité en micro siemens par <i>centimètre</i>
A	Anaphase
AC	Aberration chromosomiques
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
CO₂	Dioxyde de carbone ou anhydride carbonique
CO₃²⁻	ions carbonates
DBO⁵	La demande biochimique en oxygène
DCO	La demande chimique en oxygène
ER	élongation racinaire
G	Guelaat bou Sbaa
H	le site Héliopolis
H⁺	un <i>ion</i> hydrogène
H₂O	Monoxyde de dihydrogène
HCL	L'acide chlorhydrique
HCO₃⁻	ions bicarbonate
IM	Indice mitotique
KOH	L'hydroxyde de potassium
M	Métaphase
meq / L	milliéquivalent par litre ou en degré français, unité pour mesurer l'alcalinité
mg . l⁻¹	milligrammes d'oxygène (O ₂) par litre d'eau
mg/l	Milligramme par litre, unité pour mesure l'OD
NTU	Unité de turbidité par néphélométrie
OD	L'oxygène dissous
OH⁻	L'hydroxyde
OMS	<i>L'organisation mondiale de la santé</i>
P	Prophase
pH	Le potentiel en hydrogène
S.m⁻¹	Siemens par mètre, les unite de conductivite

SD	Standard division (écart type)
T	Télophase
T(-)	le contrôle négatif
TA	Titre Alcalimétrique
TAC	Titre alcalimétrique complet

Résumé

Afin d'évaluer les effets génotoxiques dans les eaux de consommations de la ville de Guelma, nous avons analysé la qualité physico-chimique de deux eaux de sources de (Héliopolis et Guelaat Bou Sbaa). Pour confirmer leur qualité et leur potabilité nous avons mesuré certains paramètres au niveau de laboratoire de l'université de Guelma tel que (la salinité, la température, le pH, la conductivité électrique, l'Oxygène dissous, la turbidité et l'alcalinité) et certains paramètres organiques (DBO⁵ et DCO). Et par l'utilisation du test d'allium *cepa* nous avons pu constater une présence d'aberrations chromosomiques comme (la perte de chromosome, les ponts, les micronoyaux, les fragments chromosomiques...), ce qui nous a permis de faire une étude statique des valeurs de l'indice mitotique. Les résultats obtenus ont montré que les plantes supérieures sont très importantes dans la détection de la génotoxicité.

Mots clés : génotoxicité, paramètres physico-chimiques et organiques, qualité de l'eau, allium *cepa*, Aberrations chromosomique, Indice mitotique.

الملخص

بغرض تقييم تأثيرات السمية الجينية لمياه الشرب لمدينة قالمة قمنا بتحليل الجودة الفيزيائية والكيميائية لمياه منبعين (هيليوبوليس وقلعة بوضبع) للتأكد من جودتهما وقابليتهما للاستهلاك بواسطة بعض العناصر التي قمنا بإجرائها على مستوى مخبر جامعة قالمة منها (درجة الملوحة، درجة الحرارة، درجة الحموضة، التوصيل الكهربائي، الاكسجين المذاب، التعكر والقلوية. وبعض العناصر العضوية (الطلب على الاكسجين الكيميائي والطلب على الاكسجين البيوكيميائي). وباستخدام اختبار البصل تمكنا من ملاحظة وجود انحرافات صبغية كفقدان الكروموزومات، الجسور، النوى الصغيرة، شظايا الكروموزومات مما سمح لنا بإجراء دراسة احصائية لمؤشر الانقسام. اظهرت النتائج المتحصل عليها ان النباتات العليا مهمة جدا في الكشف عن السمية الوراثية.

الكلمات المفتاحية : السمية الوراثية، العناصر الفيزيوكيميائية والعضوية، نوعية المياه، البصل، الانحرافات الصبغية، مؤشر الانقسام.

Abstract

In order to evaluate the genotoxic effects in the consumption waters of the city of Guelma, we analyzed the physico-chemical quality of two spring waters of (Heliopolis and Guelaat Bou Sbaa) to confirm their quality and their potability with the help of certain parameters carried out at the level of laboratory of the university of Guelma such as (the salinity, temperature, pH, electrical conductivity, dissolved oxygen, turbidity and alkalinity) and some organic parameters

(BOD5 and COD). In addition, by the use of the test of *Allium cepa* we were able to note a presence of chromosomal aberrations as (loss of chromosome, bridges, micronuclei, chromosomal fragments...), which allowed us to make a static study of the values of the mitotic index. The results obtained showed that higher plants are very important in the detection of genotoxicity.

Key words: genotoxicity, physicochemical and organic parameters, water quality, *Allium cepa*, chromosomal aberrations, mitotic index.

Introduction

L'eau est indispensable à l'existence de la vie, il n'y a aucune forme de vie sur terre qui puisse vivre sans elle ; certaines peuvent survivre longtemps en son absence mais aucune ne survivra sans elle. L'eau est une condition si importante que même les astrophysiciens avancent l'existence de la vie sur d'autres planètes où il n'y a pas d'eau liquide. Elle couvre un tiers de la superficie de la terre, 72% pour être exact, et le corps humain constitue de $\pm 2/3$ du poids corporel de l'adulte et spécialement chez les enfants. Il y a une différence de concentration de l'eau dans les organismes elle varie d'un organe à l'autre et selon les cellules et leur fonction [1].

Parmi les différents bio-essais réalisés sur des organismes vivants, ils se distinguent ceux qui utilisent des plantes supérieures comme modèles pour évaluer les effets biologiques des substances environnementaux. En plus d'être efficaces dans la détermination des risques toxicologiques dans les programmes de surveillance de la toxicité, ils présentent des caractéristiques importantes telles qu'une sensibilité élevée, moins de réponses faussement négatives, un faible coût, ne nécessitant pas l'approbation des commissions d'éthique, et étant aussi efficaces que les tests effectués sur des modèles animaux ou même sur des cellules humaines. (Larissa,F., et al 2017).

Parmi les modèles végétaux les plus utilisées pour la détection des génotoxicité des composés étudiés y'a l'*Allium cepa*, *Tradescantia* et *Vicia faba*, car elles permettent d'une confirmation pratique des effets des substances à tester sur le cycle cellulaire de son matériel biologique exposés aux agents toxiques.

L'objectif de ce travail est d'évaluer la potabilité d'eau de deux sources qui situent aux environs de la commune de Guelma et sont couramment utilisées par la population. Ainsi, cette étude a le but d'évaluer la génotoxicité de ces sources à l'aide du test d'*Allium cepa* et les aberrations chromosomiques après une analyse de quelques paramètres physico-chimiques et organique.

Partie
Bibliographique

Chapitre 01

I.1 Définition de l'eau

L'eau est un liquide incolore transparent, chimiquement il est constituée de molécules H_2O . Ce composé, très stable, mais aussi très réactif, bien qu'il se trouve dans les trois états de la matière : liquide, solide et gazeuse, le terme eau est employé au sens restreint d'eau à l'état liquide, ou pour désigner une solution aqueuse diluée.

I.1.1 Le cycle hydrologique

Le cycle hydrologique est un modèle conceptuel qui décrit le stockage et le mouvement de l'eau entre la biosphère, l'atmosphère, la lithosphère et l'hydrosphère. Sur cette planète, l'eau peut être stockée dans l'un des réservoirs suivants : atmosphère, océans, lacs, rivières, sols, glaciers, champs de neige et eaux souterraines.

L'eau se déplace d'un réservoir à l'autre par le biais de processus tels que l'évaporation, la condensation, les précipitations, le dépôt, le ruissellement, l'infiltration, la sublimation, la transpiration, la fonte et l'écoulement des eaux souterraines. Les océans fournissent la majeure partie de l'eau évaporée que l'on trouve dans l'atmosphère. De cette eau évaporée, seuls 91 % retournent dans les bassins océaniques par le biais des précipitations. Les 9% restants sont transportés vers des zones situées au-dessus des masses continentales où des facteurs climatologiques induisent la formation de précipitations. Le déséquilibre qui en résulte entre les taux d'évaporation et de précipitation sur les terres et dans les océans est corrigé par le ruissellement et l'écoulement des eaux souterraines vers les océans. (Petersen *et al.*, 2014)

(Fig.1).

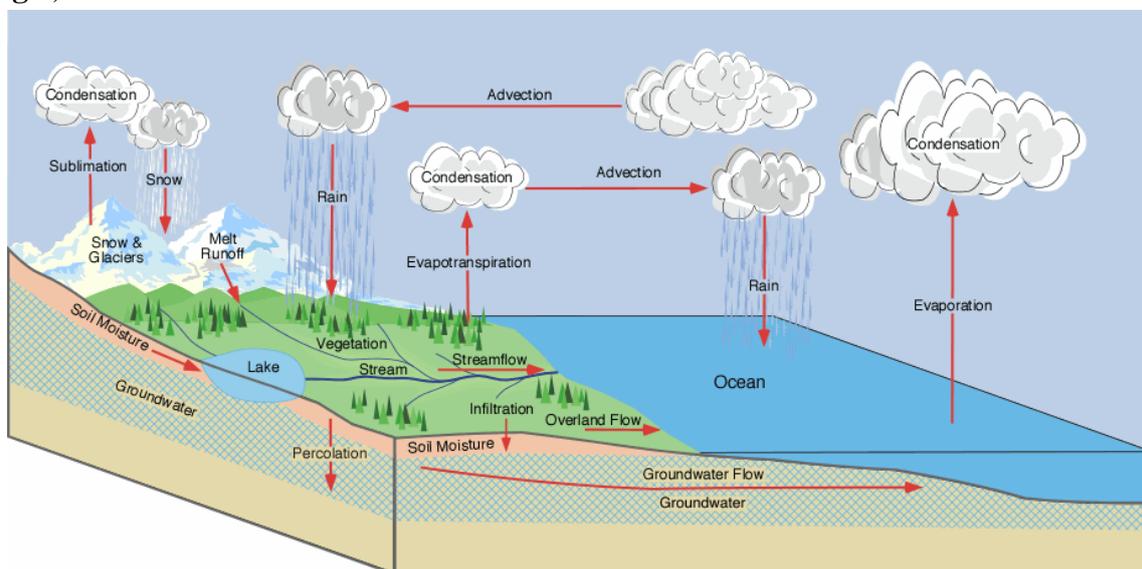


Figure 1 : Le cycle hydrologique. (Petersen *et al.*, 2014)

I-2 Différent types des eaux à consommation

D'après la définition donnée par l'OMS, une eau de boisson saine ne présente aucun risque notable pour la santé d'une personne qui la consommerait sur toute la durée de sa vie.

Une eau potable exige l'absence du microorganisme (bactéries, virus) et parasites, et certaine substance chimique et toxique. A l'inverse, en trouve qu'il y a des substances peut être jugée nécessaire comme les oligoéléments qui sont indispensable au corps humain. (**John et Donald, 2010**).

I.2.1 Eau souterraine

Les eaux souterraines peuvent contenir un bon pourcentage d'eau douce (eau potable) des collectivités rurales. Cependant elle contient des éléments pouvant avoir des effets indésirables sur la santé des êtres vivants, comme des microorganismes pathogènes, des substances indésirables et même des substances toxique (**Yapo et al., 2010 ; Jang et al., 2012**). Ces substances proviennent des milieux physiques où se trouve ou bien des déchets des certaines activités humaine.

Deux points hydrogéologiques :

- Nappes phréatique ou alluviales : Plus profondes et alimentées directement par les précipitations pluvieuses ou les écoulements d'eau en dessus.
- Nappes captives : Plus profondes que le premier et séparées de la surface par une couche imperméable, l'alimentation de ces nappes est assurée par l'infiltration sue leurs bordures. (**Abda, 2015**).

I.2.2 Eaux de sources

Une eau de source est une eau qui sort naturellement d'une source. C'est également le nom donné à une catégorie d'eau embouteillée dont les caractéristiques doivent respecter une réglementation qui varie selon les pays. En général, elle doit être d'origine souterraine, ayant bénéficié d'une protection contre la pollution, et n'ayant subi ni traitement chimique, ni adjonction.

I.3 Norme de qualité d'une eau potable

La qualité de l'eau de consommation humaine, doit répondre à des normes strictes et conformes à des valeurs guides, qu'on ne doit pas dépasser dictées par l'organisation mondiale de la santé et le conseil supérieur du secteur d'hygiène publique. elles sont des valeurs calculées en fonction de la dose journalière de substance tolérable pour un poids corporel donnée , sans avoir des risques sanitaires durant une vie. (**Mazzuoli ; 2012**).

A ce jour, il existe 63 critères de potabilité de l'eau, que l'on peut regrouper en 5 grands paramètres. (**Tab. 1**)

Tableau 1 : Les normes physico-chimiques selon l'O.M. S (2011) JORA 2014 ; journal officiel de la république française (J.O.R.F ,2007).

Paramètres physicochimiques	Unité	Normes O.M.S	Normes Algériennes	Normes Françaises
Température	°C	/	25 °C	25 °C
pH	/	6.5 - 8	6.5 - 9	6.5 - 9
Conductivité électrique à 20 °C	µS/Cm	/	2800	≥ 180 et ≤1000
Turbidité	NTU	1	8	2
OD	mg/l	/	8	/

I.4 Les paramètres physico-chimiques

I.4.1 Turbidité

La turbidité est l'inverse de l'impidité, elle est reliée à la transparence de l'eau, due à l'abondance de certaines particules en suspension tel que : les grains de silice, les matières organiques, l'argile et d'autres microorganismes ...etc. Il existe plusieurs méthodes pour mesurer la turbidité (la méthode des gouttes de mastic, ou celle de Jackson« candle turbidimètre ou bien un turbidimètre). Elle s'exprime en NTU (unité de turbidité par néphélométrie). (**Jean cloud, 1983**), (**Rodier et al., 2009**) (**Tab. 2**).

Tableau 2 : Classes de turbidité usuelles (NTU, néphélobimétrie turbidité unit).[2]

NTU \leq 5	Eau clair
$5 < \text{NTU} < 30$	Eau légèrement trouble
NTU $>$ 30	Eau trouble

I.4.2 Température

La température de l'eau varie naturellement au cours de l'année selon les saisons et les sites géographiques. Elle est importante surtout pour la solubilité des Gaz et des sels, elle est liée avec la conductivité électrique. (Rodier *et al.*, 2005), (Rodier *et al.*, 2009).

I.4.3 Conductivité électrique

La conductivité permet la conduction de courant électrique de l'eau, elles sont proportionnellement liées à la concentration ionique. Sachant que la température à une action sur la mobilité des ions et des sels. Cette mesure permet d'évaluer rapidement le degré de minéralisation d'une eau. Elle s'exprime par $\Omega^{-1} \cdot m^{-1}$ ou $S \cdot m^{-1}$ (Hébert et Légaré, 2000), (El Morhit, 2009).

I.4.4 Potentiel en hydrogène (pH)

Le pH est une indication qui montre l'acidité ou l'alcalinité de l'eau. Sa détermination constitue les mesures de la concentration des ions H^+ et OH^- qui existent dans l'eau. Ce paramètre est important pour la condition de grands nombres d'équilibre physico-chimique. (Aroya, 2011). (Tab.3)

Tableau 3 : Classification des eaux d'après leur pH. [2]

Acidité forte \rightarrow présence d'acides minéraux ou organiques dans les eaux naturelles	pH $<$ 5
pH neutre	pH = 7
Neutralité approchée \rightarrow majorité des eaux de surface	$7 < \text{pH} < 8$
Majorité des eaux souterraines	
Alcalinité forte, évaporation intense	pH = 8

I.4.5 Oxygène dissous (OD)

C'est un paramètre utile pour estimer la quantité de matières organique dans l'eau. Il est nécessaire à toute vie aquatique. Il provient principalement de la photosynthèse, l'atmosphère et dans les phénomènes de dégradation de la matière organique. Sa teneur s'exprime en $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ou en pourcentage de saturation en oxygène. La teneur en oxygène dissous dans l'eau par oxydation à travers un élément microbiologique. Et la teneur diminue quand la température augmente ou que la pression atmosphérique diminue avec l'altitude. (L'équipe technique de RéFEA), (Morin *et al.*, 2017). (Tab. 4)

Tableau 4 : Solubilité de l'oxygène dans l'eau en fonction de la température. [2]

Température	Solubilité
5	12.4
10	10.9
20	8.8

I.4.6 Salinité

La salinité explique la chlorosité de l'eau qui est le pourcentage de chlorure dans l'eau. Les chlorures existent dans toutes les eaux à des concentrations très variables dont l'origine peut être une percolation à travers les terrains salés, des infiltrations des eaux marines dans les nappes phréatiques ou profondes, des rejets humains (urines), des industries extractives (industrie pétrolières, houillères...) et surtout les industries de sel (saline). De la soude et de la potasse. (Ziani, 2017).

I.4.7 Demande chimique en oxygène (DCO)

La DCO est un paramètre utilisé pour caractériser une eau (normes AFNOR NF T90-101, ISO 15705). Elle donne une indication sur les quantités de substances chimiquement oxydables présentes dans l'eau. Elle correspond à la consommation en oxygène de la solution au cours d'une réaction d'oxydation permettant d'estimer non seulement sa charge polluante mais également les substances biologiquement difficile à se dégrader tel que : le mercure, l'acide sulfurique et le sulfate d'argent. Elle s'exprime en $\text{mg d'O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$. (Morin *et al.*, 2017).

I.4.8 Demande biochimique en oxygène (DBO)

La demande biochimique en oxygène sur 5 jours ou DBO_5 , est un paramètre utilisé pour caractériser une eau (normes NF en 1899, NF T90-103). Elle exprime la quantité d'oxygène

nécessaire à la dégradation de la matière organique biodégradable d'une eau par le développement de micro-organismes. (Morin et al, 2017, équipe technique RéFEA). (Tab.5)

Tableau 5 : Échelle de valeurs de DBO₅. [2]

Situation	DBO ₅
Eau naturelle pure et vive	<1
Rivière légèrement polluée	1 < c < 3
Egout	100 < c < 400
Rejet station d'épuration efficace	20 c < 40

I.4.9 Titre alcalimétrique complet (TAC)

Le TAC donnant l'alcalinité totale d'eau, il mesure les espèces basiques dans l'eau (ions hydroxydes OH⁻, ions carbonates CO₃²⁻ et ions bicarbonate HCO₃⁻).

Le TAC est un indicateur de pouvoir tampon de l'eau faces aux substances acides. Il existe une relation entre le pH et le TAC, une eau dont le ph est inférieur à 8.3, le TAC correspond à la concentration des ions bicarbonates HCO₃⁻. (**Bengaibona, 2010**).

I.4.10 Titrage d'alcalinité (TA)

Le titre alcalimétrique permet d'apprécier la concentration de tous les carbonates et bicarbonates dans l'eau. La formation d'une couche de carbonate pour protéger les canalisations contre certains risques de corrosion nécessite une alcalinité minimale. Le titre alcalimétrique complet, donnant l'alcalinité totale de l'eau (pas seulement l'alcalinité due au bicarbonate et au carbonate), ne doit pas être inférieur à 50°F (10°C) (**Bergal, et al., 2022**) (**Benslimane, 2015**)

Chapitre II : Génotoxicité

II.1 Généralité

La génotoxicité est un terme utilisé pour désigner les effets d'une substance mutagène qui détruit le matériel génétique d'une cellule (ADN, ARN), ce qui a une incidence sur leur intégrité. De tels effets dangereux des rayonnements ionisants (provoquant des dommages et cassures sur ADN) , des substances chimiques (qui se lient à ADN grâce à des enzymes en formant des adduits qui sont responsables à des cassures ,pontage d'ADN, Erreurs de réplication, substitution de base.) (**Fig.2**), et des polluants environnementaux peuvent conduire à des lésions mineures dans des sites particuliers de la molécule d'ADN ou à des anomalies chromosomiques majeures, qui peuvent inclure la duplication, l'insertion ou la suppression de l'information génétique et peuvent déclencher l'apparition de diverses maladies chez l'hôte, y compris le cancer. Ces lésions de l'ADN peuvent conduire à la mort cellulaire si les dommages sont très importants les lésions peuvent aussi être réparées par la machinerie cellulaire par cinq voies principales : 1) la réparation directe ; 2) la réparation par excision des bases ; 3) la réparation cellulaire par excision des nucléotides (NER) ; 4) la réparation des mésappariements ; 5) la réparation des cassures simple/double brin. (**Sharmistha et al., 2021**)

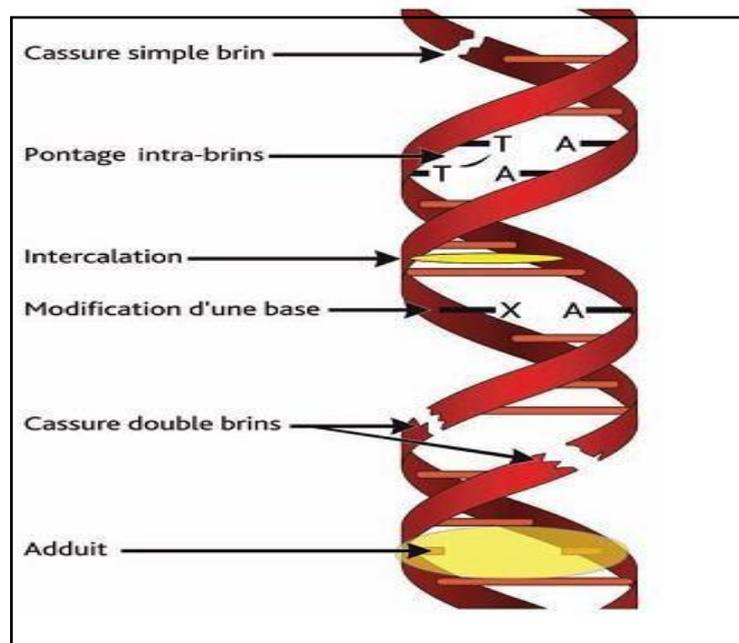


Figure. 2 : Les différents types de lésions primaires de l'ADN (**Bickman et Smolen .1994**).

II.2 Méthodes de détection de la génotoxicité

Pour l'identification des agents causant des dommages à l'homme, il y a plusieurs tests qui utilisés sur des microorganismes, des insectes et des plantes (Waters *et al.*, 1988). Parmi lesquels, les tests sur les végétaux présentent un rapport très efficace et satisfait, qui permet d'évaluer de nombreux critères ; les plus souvent mentionnés sont les mutations, la formation de micronoyaux et les aberrations chromosomiques. (Souguir, 2009).

II.2.1 Test micronoyaux

Le test des micronoyaux sur plantes supérieures, en particulier *Vicia faba*, *Tradescantia sp.* et *Allium cepa* est très utilisé à cause de sa simplicité, sa fiabilité et sa reproductibilité, dans la génotoxicité. Il est défini dans le « Glossary of Genetics and Cytogenetics » de (Rieger *et al.*, 1968) comme un petit noyau séparé et apparu dans le cytoplasme de la cellule, qui a été formé pendant la division cellulaire mitotique ou méiotique (télaphase) et constitué de chromosomes entiers centromériques (pertes chromosomiques) ou de fragments acentriques d'ADN (cassures chromosomiques) (Fig.3) résultant de modifications structurales, spontanées ou expérimentales des chromosomes. Ils peuvent être témoins d'une instabilité génétique, ou d'un biomarqueur d'effet montrant des lésions chromosomiques, à partir d'une observation microscopique se fait après une coloration à l'acéto-orcéine qui permet le dénombrement de ces micronoyaux. (Foltete, 2010).

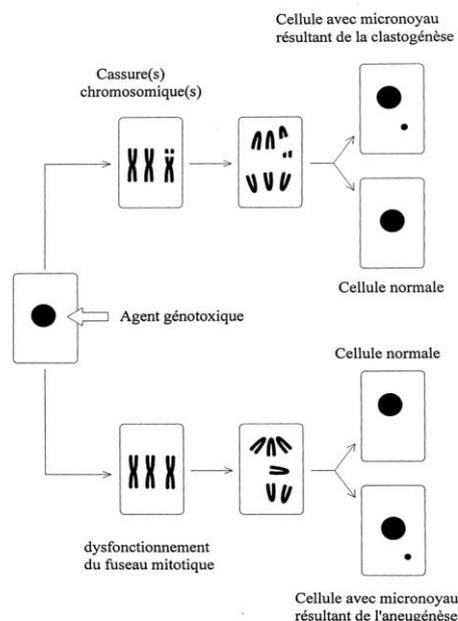


Figure 3 : Schéma de la formation des micronoyaux d'après (Fenech 1997)

II.2.2 Test de Comet :

Ce test permet de mesurer les ruptures de brins d'ADN dans des cellules individuelles. Il est basée sur le principe que l'ADN fragmenté migre plus rapidement que l'ADN intact dans un champ électro phorétique, en milieu fortement alcalin à travers une matrice d'agarose ou en utilisant. En cas de rupture de brin, l'ADN migre vers l'anode formant une image ressemblant à la queue d'une comète en utilisant un colorant fluorescent, permettant un examen microscopique. Alors que les noyaux dont l'ADN n'est pas endommagé apparaissent comme des disques réguliers (Cordelli *et al.*, 2021) (Fig.4). Ce test peut être appliqué à tous les types de cellules eucaryote (Tice *et al.*,1991), y a compris les cellules végétales (Cerda *et al.*,1993).

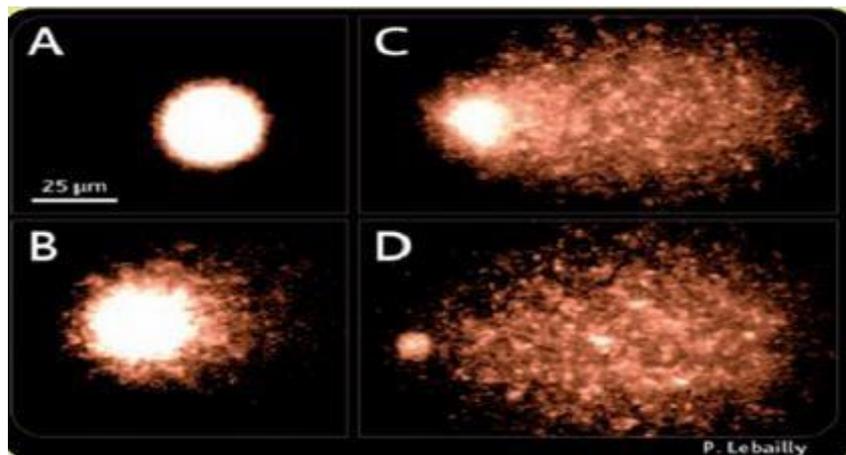


Figure. 4 : Photographie du noyau dans le test de comète :

(A) noyau intact, (B) légère comète, (C) comète, (D) noyau atypique (Ostling et Johanson, 1984).

II.3 Avantages de l'utilisation des plantes supérieures dans les tests de génotoxicité

- Les plantes supérieures sont un matériau très important pour l'évaluation de la toxicité en général, et en particulier la génotoxicité de substances chimiques et même physique. Et pour surveiller aussi divers les polluants présents dans l'environnement. Parmi ces avantages.
- L'un des grands avantages des plantes, qui se rapporte plus particulièrement à Vicia et à Allium, est présent toute l'année. (Grant, 1982b).
- Les réponses des végétaux et les animaux aux agents mutagènes/cancérogènes sont semblables (Clive et Spector, 1978).

- Les deux systèmes de division cellulaire la mitose et la méiose sont présents chez les plantes. Qui se caractérise par une grande taille au niveau de leur chromosome (Grant, 1982a).
- Nombreuses parties végétales comme les feuilles, les racines, les bourgeons, les fleurs, etc...peuvent être utilisées pour examiner les effets génotoxiques : ... (Grant, 1993).
- Plusieurs critères de génotoxicité peuvent être détecter par les plantes : mutations, cassures de chromosomes, aberrations chromosomiques, échanges de chromatides sœurs, etc... (Grant, 1994). (Cotelle. 1999).

II.4 L'Allium cepa

L'oignon est une espèce herbacée, vivace par son bulbe unique (composé des bases épaissies des feuilles s'enveloppant les unes dans les autres). Cette plante originaire d'Asie centrale et de Palestine est l'un des premiers (depuis 5000ans) légumes cultivés par l'homme. Aujourd'hui, l'oignon est cultivé un peu partout dans le monde mais il est surtout présent dans les zones tempérées (Hamdini, 2009).

L'oignon, prend son nom vernaculaire du latin *unio* qui signifie uni car l'oignon est l'une des rares alliées dont le bulbe ne se divise pas. Le nom latin, *Allium cepa*, aurait une origine celte : all signifie brûlant en référence aux propriétés de la plante. *Cepa* correspond au nom de la plante chez les romains. (Bencherif et Bouaziz, 2018). (Fig.5)

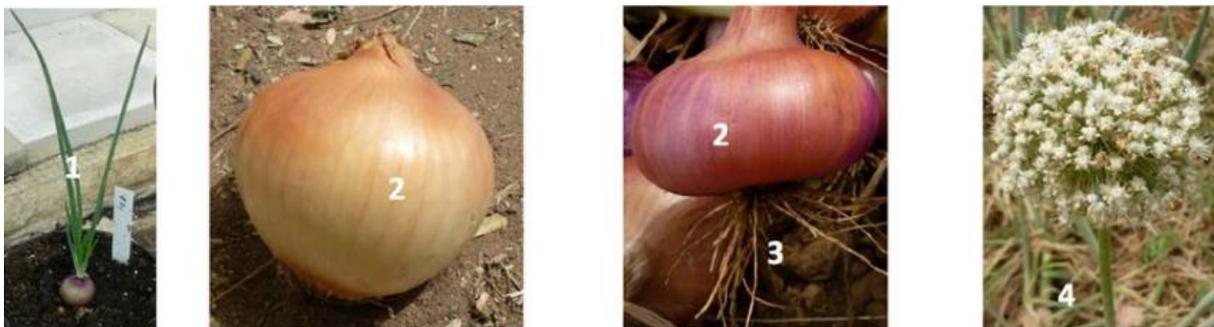


Figure 5 : Les différentes parties de la plante d'oignon

The different parts of the onion. 1. Feuilles — leaves ; 2. Bulbe — bulb ; 3. Racines — roots ; 4. Hampe florale qui porte les inflorescences à son sommet — inflorescences carried by the flower stem (Rabiou *et al.*, 2015)

II.5 Classification

Allium cepa est l'une des espèces comestibles d'un grand genre (*Allium*) composé de plus de 700 espèces. (Burnie *et al.*, 1999)

Dans la classification classique, il appartient à la famille des Liliaceae. 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. L'apparition de la classification phylogénétique a fait éclater cette famille qui ne constituait pas un groupe monophylétique. La sous-famille des Alliaceae est alors devenue une famille, à laquelle l'oignon appartient, dans la classification phylogénétique.

II.5.1 La classification Classique :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermatophytes

Classe : Liliopsida

Ordre : Liliales

Famille : Liliaceae

Genre : *Allium*

Espèce : *cepa*

II.5.2 La classification Phylogénétique :

Règne : Plantae

Clade : Angiospermes

Clade : Monocotylédones : Liliidées

Clade : Asparagales

Famille : Alliaceae

Genre : *Allium*

Espèce : *cepa* (Ruchot, 2002)

II.6 Test *Allium cepa*

Le test *Allium cepa* est un test qui a été utilisé par de nombreux chercheurs pour évaluer le potentiel de génotoxicité de plusieurs types d'agents chimiques, physiques et biologiques, ce test a été utilisé comme bio-indicateur de pollution environnementale (**Bagatini et al., 2009; Leme & Marin-Morales, 2009**), testant des extraits bruts de cyanobactéries (**Laughinghouse, 2007**), ainsi que pour évaluer le potentiel génotoxique des plantes médicinales (**Camparoto et al., 2003; Knoll et al., 2006 ; Fachinetto et al., 2007; Lubini et al., 2008; Fachinetto et al., 2009; Fachinetto & Tedesco, 2009 ; Dalla Nora et al., 2010**), car ce test utilise un modèle suffisamment sensible pour détecter d'innombrables substances qui provoquent des altérations chromosomiques.

Le test *Allium cepa* est l'une des rares méthodes directes pour mesurer les dégâts dans des systèmes qui sont exposés à des mutagènes ou des agents cancérigènes potentiels et permet d'évaluer les effets de ces dommages par l'observation d'altérations chromosomiques. Pour cette étude, il est nécessaire que l'échantillon reste en division mitotique constante, en cherchant à identifier les effets toxiques et les altérations sur un cycle cellulaire ; et le test *Allium cepa* a été largement utilisé à cette fin. Il est avantageux d'utiliser le système de test *Allium cepa* puisque son principal composant est une plante vasculaire, ce qui en fait un excellent modèle génétique pour l'évaluation des polluants environnementaux, la détection des mutagènes dans différents environnements et l'évaluation de nombreux points génétiques (mutations ponctuelles des altérations chromosomiques). (**Levan, 1938**)

II.6.1 Importance du test

L'*allium cepa* est un test important car c'est un excellent modèle *in vivo*, où les racines ont la capacité de pousser en contact direct avec la substance d'intérêt permettant de prédire d'éventuelles dégradations de l'ADN des eucaryotes. Par conséquent, les données peuvent être extrapolées pour toute la biodiversité animale et végétale. L'analyse des altérations chromosomique peut être pareil au test de mutagénicité principalement pour la détection des altérations structural ; cependant, il est possible d'observer les altérations numérique des chromosomes comme dans le test *Allium cepa* est l'une des rares méthodes directes de mesure des dommages dans les systèmes exposés à des mutagènes ou potentiellement carcinogènes, et permet d'évaluer les effets de ces dommages par l'observation des altérations chromosomiques. (**Camparoto et al., 2003; Knoll et al., 2006 ; Fachinetto et al., 2007; Lubini et al., 2008; Fachinetto et al., 2009; Fachinetto & Tedesco, 2009 ; Dalla Nora et al., 2010**)

Partie Expérimentale

Chapitre I : Paramètres physico-chimiques

I.1 Cadre de l'étude

Dans le but de procéder à une analyse physico-chimique et une étude microbiologique des eaux souterraines à Guelma, il convient d'avoir des connaissances précises sur les conditions de prélèvement et de son importance pour la fiabilité des résultats.

Notre étude est fondée sur l'échantillonnage de deux eaux souterraines (Guelaa et Héliopolis) et permettant à la fois une étude de chaque échantillon et une comparaison entre deux échantillons.

I.2 Echantillonnage

I.2.1 Matériels et méthodes de prélèvement

Les eaux des deux sites sont prélevées au 22 février 2022 dans des récipients en plastique (pour une analyse physicochimique) et en des flacons en verre stérilisés (**Fig.6**) dans le but d'éviter toute contamination possible dans l'analyse biologique, après une étude qui a été analysées sur le terrain : la température et pH qu'ont été mesuré sur site.



Figure 6 : Des flacons en verre stérilisent pendant 20 min en 180° dans le four pasteur.

II.2.2 Prélèvement et transport

Les échantillons sont scellés et étiquetés de façon à indiquer la date, l'heure et le lieu de l'échantillon. Puis ils sont transportés au laboratoire de biologie moléculaire de faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université 08 Mai 1945 et conservés à 4°C. À partir de quelques paramètres physico-chimiques et biologiques qu'on peut déduire la qualité de l'eau par rapport aux normes de l'organisation mondiale de la santé.

I.3 Paramètres mesurés

À partir de quelques paramètres physico-chimiques et biologiques qu'on peut déduire la qualité de l'eau par rapport aux normes de l'organisation mondiale de la santé.

I.3.1 Paramètres mesurés sur terrain

Le pH est déterminé à l'aide d'une bandelette **pH**, et la température est mesurée à l'aide d'un multi paramètre de marque **HANNA (HI 9829)**

I.3.2 Paramètres mesurés au laboratoire

Avec un multi paramètre de la marque HANNA (HI 9829) on a mesuré la conductivité, la salinité, l'OD, la température et le pH.

La turbidité par un turbidimètre néphélométrique de la marque AQUA LYTIC (AL450T-IR), la DBO₅ a été déterminée à l'aide d'un DBO mètre de la marque OXITOP BOX. Qui permet de caractériser la pollution globale d'une eau. Et un DCO mètre de la marque AQUA LYTIC (AL 125).

I.3.2.1 La turbidité

Elle mesure alors l'intensité lumineuse du faisceau transmis après traversée du milieu. L'appareil utilisé est le turbidimètre néphélométrique de la marque **AQUA LYTIC (AL450T-IR)**. (Fig.7).



Figure 7 : Le turbidimètre

- **Mode opératoire**

- On met l'échantillon dans une cuve qui doit être essuyé à l'aide d'un papier absorbant pour enlever les gouttes d'eau.
- la cuve est placée dans les puits de mesure et fermer le capot.
- lire et noter le résultat affiché.

Les résultats sont exprimés en NTU.

I.3.2.2 Alcalinité (TA et TAC)

- **Principe**

Ces déterminations sont basées sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par un acide minéral dilué, en présence d'un indicateur coloré.

- **Réactifs**

- Acide sulfurique 0.02 N.
- Solution de phénolphthaléine dans l'alcool à 0.5% (voir acidité).
- Solution de vert de bromocrésol et de rouge de méthyle :

- Vert de bromocrésol 0.2 g.
- Rouge de méthyle 0.0015g.
- Ethanol à 90 % q.s.p 100 cm³.

- Eau d'ionisée exempte d'anhydride carbonique libre (par ébullition de 15 min).

- **Matériels**

-Ph mètre.

-Burette.

-Agitateur magnétiques.

-Fiole.

-Eprouvette.

- **Mode opératoire**

- **Détermination du TA**

Prélever 100 ml d'eau à analyser dans une fiole conique. Ajouter 1 à 2 gouttes de solution alcoolique de phénol phtaléine. Une coloration rose doit alors se développer. Dans le cas contraire le TA est nul, (pH < 8.3) verser ensuite doucement l'acide dans la fiole à l'aide d'une burette, en agitant constamment, et ceci jusqu'à décoloration complète de la solution (Ph 8.3).

Soit V le volume d'acide utilisé pour obtenir le virage.

- **Détermination du TAC**

Utiliser l'échantillon traité précédemment ou le prélèvement primitif s'il n'y a pas eu de coloration. Ajouter 2 gouttes de solution de vert de Bromocreasol et de rouge de méthyle et titrer de nouveau avec le même acide jusqu'à disparition de la coloration bleu verdâtre et apparition de la couleur rose (pH 4.5). Le dosage doit être effectué rapidement pour réduire les pertes de CO₂ qui pourraient entraîner une élévation du Ph de virage. Soit V' le volume d'acide 0.02 N versé depuis le début du dosage. (**Rodier et al., 2009**).

I.3.2.3 La DCO

La demande chimique en O² a été déterminée à l'aide d'un DCO mètre de la marque AQUA LYTIC (AL 125) (Fig.8)



Figure 8 : DCO mètre

- **Mode opératoire**

- Utiliser deux tubes de la gamme 0-150.
- Agitation des deux tubes à 2 minutes.
- Puis agitation de l'eau de l'échantillon.
- On injecte 2 ml d'échantillon dans chaque tube.
- On met les tubes dans le réacteur chauffé pendant 2 heures de temps à 150 °C.
- Laisser les tubes refroidir à l'air libre pendant environ 30 minutes.
- On fait la lecture.

I.3.2.4 La DBO₅

La DBO₅ a été déterminée à l'aide d'un DBO mètre (**Fig.9**) de la marque **OXITOP BOX**. Qui permet de caractériser la pollution globale d'une eau.



Figure 9 : DBO mètre

- **Mode opératoire**

On remplit 432 ml d'échantillon d'eau dans des flacons spécialisés pour le DBO mètre et on ajoute deux pastilles de KOH et on place les flacons dans l'appareil pendant 5 jours pour obtenir les résultats de tableau. (**Tab 6**)

Tableau 6 : Facteur de conversion de la DBO 5 en fonction du volume prise.

Portée de mesure	Quantité	Facteur
0-40	432 ml	1
0-80	365 ml	2
0-200	250 ml	5
0-400	164 ml	10
0-800	97 ml	20
0-2000	43,5 ml	50
0-4000	22,5 ml	100

La valeur réel est calculée comme suit : $DBO_5 \text{ (mg O}_2\text{/L)} = \text{Valeur lue} \times \text{facteur}$:

Chapitre II : Test *Allium cepa*

II.1 Préparation des oignons

Les oignons utilisés pour cette étude ont été achetés au marché local de Guelma, leur diamètre est entre 3-4cm, les eaux de deux sites ont échantillonnées dans des flacons stériles en verre, transporter au laboratoire de la faculté du 8 mai 1945 pour la conservation au réfrigérateur à 4°C.

Nous avons commencé à préparer les oignons en pelant la couche extérieure et enlevant les vieilles racines, après avoir les racines desséchées. Ont mis les bulbes d'oignons dans des gobelets en plastique dans l'eau de robinet, 5 bulbes pour chaque échantillon [5 pour contrôle négatif ; 5 pour la source d'Héliopolis ; 5 pour la source de Guelaat bou Sbaa] d'une façon où les racines soit immerger. On les-laisse élonger dans un endroit avec un minimum de lumière et aérez pendant 24h, et puis change l'eau de 3 échantillons par l'eau à examiner (**Fig.10**) :

Enchantellent 01 : avec l'eau de robinet pour contrôle négatif.

Enchantellent 02 : avec l'eau de source d'Héliopolis.

Enchantellent 03 : avec l'eau de source de Guelaat bou Sbaa.

On les-laisse pour 48h (ce que signifie proche de cycle cellulaires).



Figure 10 : Photographies originale montre la culture des bulbes dans l'eau à tester.

II.2 Fixation de bulbes

On prélève les deux derniers centimètres des racines et on découpe 5 racines de chaque bulbe pour avoir 25 racines par échantillon ; on place les racines immédiatement dans un fixateur de Carnoy pendant 24h à 4°C (**Fig.11**), puis dans l'éthanol à 96% jusqu'à l'observation microscopique.



Figure 11 : Photographie montre l'étape de fixation des racines dans le Carnoy.

II.3 Coloration et préparation des lames

Pour l'observation microscopique on prend 5 racines de chaque groupe d'essai. La préparation commence par l'hydrolyse des racines pendant 8 minutes dans HCL de 1N à 60° C (**Fig.12**), puis transférer dans l'eau distillée pendant 5 minutes avec le changement de l'eau 3 fois (5minutes/fois).



Figure 12 : Photographie de l'hydrolyse des racines dans l'HCL de 1N à 60° C dans le bain marie.

Pour la coloration ça se fait par le Feulgen pendant 25 minutes en obscurité (**Fig.13**), puis déplacé les racines dans l'eau distillé pendant 2 minutes dans l'obscurité. Puisque les racines sont photosynthétiques.



Figure 13 : La coloration de racine dans le Feulgen.

Dans la partie de préparation des lames on pose les racines sur la lame et à l'aide d'un papier filtre on coupe la partie plus foncée sur la lame directement (**Fig.14**), puis le coupé on petits morceaux.



Figure 14 : La disposition de racine sur la lame.

Mettre une goutte de 45% d'acide acétique glacial et couvrir par lamelle et appuie soigneusement par le papier filtre pour exclure les bulles d'air. Enfin à l'aide du vernis transparent scellé les bords de lamelle pour éviter son mouvement et l'évaporation de l'eau. (**Fig.15**).

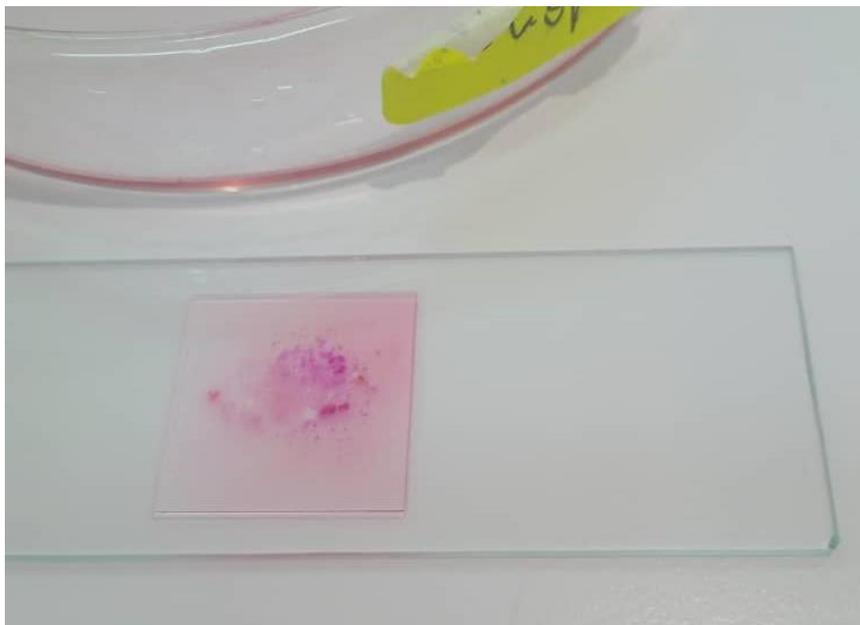


Figure 15 : Lame prête à l'observation microscopique.

II.4 Examen microscopique

Après préparation des lames, ces lames sont observé au microscope optique en utilisant objectif (X40) de la marque 'Optika'. Et pour l'index mitotique en utilisant objectif (X60)

Pour l'IM ; 1000 cellules comptés en division : Métaphase (M), Anaphase (A), Téléphase (T) et Prophase (P) pour chaque lame, et exprimée en pourcentage

$$IM = \frac{P+M+A+T}{\text{nombre total des cellules}}$$

Les cellules ont été examiné pour l'étude des aberrations chromosomiques pour chaque échantillon, donc pour l'AC on a 100 cellules en métaphase anaphase téléphase par lame ont examinées les d'aberration chromosomique étudiées sont fragment C-métaphase pont et perte chromosomique et autres.

Les cellules ont été examinées également pour l'étude des aberrations chromosomiques pour chaque échantillon. Pour cela 100 cellules en métaphase anaphase téléphase par lame sont examinées. Les types d'aberration chromosomique observes sont : Micronoyau , Perturbation du noyau , binucleaire , polyploïde , Adhérence C- (métaphase/anaphase) , pont et perte chromosomique ou les deux en (métaphase / anaphase) , métaphase / anaphase avec un fragment chromosomique , ou sous forme irrégulière , Alignement ou polarisation par défaut en anaphase , prophase irrégulière , polarisation de défaut en téléphase .

Résultats et discussion

Partie I : Résultats de paramètres physicochimiques

I.1 Température

Les températures enregistrées sont compris entre 18,63 à 19,01 °C, donc les valeurs obtenues confirment à la norme (< 25 °C).

I.2 pH

Les valeurs des pH est environ [7.07-7.22] avec une moyenne de 7.14 pour les deux eaux. L'analyse de ces eaux et dévoilé que le pH est proche de la neutralité. Ses valeurs ont été dans les normes dictées par la réglementation national et international (pH varie de 6.5 à 9) (O.M.S ,2011 ; JORA, 2014 ; JORF ,2007).

I.3 Oxygène dissous

L'OD est un facteur important par le fait qu'il conditionne l'état de plusieurs sels minéraux et la dégradation de la matière organique naturelle (HCEFLCD, 2007). Les concentrations d'OD obtenus varies entre (1,89 et 2,68 mg / L), donc on peut déduire que ces eaux sont légèrement sous oxygénées et ne dépassent pas les normes Algériennes qui est égale à 8.

I.4 Conductivité

Cette mesure permet la minéralisation d'une eau, et les deux échantillons ont montré que :

Pour l'échantillon 1 (Guelaat bou Sbaa), nous avons obtenus 945 μ S /cm et pour l'échantillon 2 (Héliopolis), nous avons obtenus 1084 μ S /cm. Ses deux valeurs restent inférieure à les normes algériennes (2800 μ S/cm) et française (\leq 1000 μ S/cm).

Donc on constate que les deux échantillons sont acceptables par rapport aux normes nationales et internationales.

I.5 Turbidité

On constate que les eaux étudiées sont des eaux claires, ceci est due à l'infiltration de l'eau dans le sol. Les valeurs sont situées entre (0.07 et 0.39) NTU. La plus grande valeur appartient à l'échantillon 1 (source Guelaat bou Sbaa).

Les deux valeurs sont au-dessous de la norme (< 5 NTU), la source d'Héliopolis à la turbidité la plus faible.

I.5 Salinité

La salinité désigne le caractère salin de l'eau, elle varie considérablement d'une saison à une autre et d'une région à une autre.

Des études montrent une corrélation positive entre la conductivité et la salinité. Et les résultats obtenus pour les deux sources varient entre 0.47 (ou 945 $\mu\text{S}/\text{cm} = 0.945 \text{ dS/m}$) pour Guelaaat bou Sbaa et 0.54 (ou 1084 $\mu\text{S}/\text{cm} = 1.084 \text{ dS/m}$) pour Héliopolis, cela veut dire un taux modéré de salinité peut être utilisé si une filtration modérée est effectuée.[3]

I.6 Détermination du TA et TAC

TA : Exprime le teneur en carbonate (CO_3^{2-}) en °F.

TAC : exprime le teneur en bicarbonate (HCO_3^-) et carbonate (CO_3^{2-}) en °F.

Ce tableau (Tab.7) résume les valeurs des concentrations des différents anions en fonction du TA et TAC.

Tableau 7 : Les valeurs des concentrations des différents anions en fonction du TA et TAC

Alcalinité	Hydroxyde	Carbonate	Bicarbonate
TA = 0	0	0	TAC
TA < TAC/2	0	2TA	TAC - 2TA
TA = TAC/2	0	2TA	0
TA > TAC/2	2TA - TAC	2 (TAC - TA)	0
TA = TAC	TA	0	0

- Pour l'échantillon Guelaa bou Sbaa

Le TA de notre eau est nul ($\text{pH} < 8,3$), puisque la coloration rose n'a pas apparue après l'ajout du phénophtaléine à notre échantillon et on a aussi l'eau est potable.

$$\text{TA} = 0 \text{ méq/L donc : } [\text{OH}^-] = 0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} , \quad [\text{CO}_3^{2-}] = 0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$$

Pour le bicarbonate on mesure le TAC. Et selon la loi, on déduit :

$$\text{TAC} = (40 - 0,5) \cdot 0,02 \cdot 10 = 7,9 \text{ méq/L}$$

$$\text{Alors : } [\text{HCO}_3^-] = \text{TAC} = 7,9 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$$

- **Pour l'échantillon de Héliopolis**

L'apparition de la couleur rose, c'est-à-dire TA est non nul ($\text{pH} > 8,3$). On détermine le TA et TAC. Donc :

$$\text{TA} = (0.1 * 0.02 * 1000) / 100 = 0.02 \text{ méq/ L}$$

$$\text{TAC} = (40 - 0,5) * 0,02 * 10 = 7.9 \text{ méq/ L}$$

Les résultats confirment la formule suivante : $\text{TA} < \text{TAC}/2$.

Alors : $[\text{OH}^-] = 0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $[\text{CO}_3^{2-}] = 0.04 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $[\text{HCO}_3^-] = 7.86 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

TA et TAC en °f : ($1^\circ \text{ f} = 1/5 \text{ méq/ 4}$)

Tableau 8 : Les résultats de l'eau tester (Héliopolis, Guelaat Bou Sbaa)

Echantillon	TA en (méq/ L)	TA en (°f)	TAC en (méq/ L)	TAC en (°f)
Guelaa	0	0	7.9	39.5
Héliopolis	0.02	0.1	7.9	39.5

Partie II : Résultats du test *Allium cepa*

II.1 Introduction

Les résultats de ce test sont présentés dans les tableaux et les histogrammes suivants. La caractérisation de la cytotoxicité et de la génotoxicité des eaux de source prélevées a été évaluée par l'analyse de l'élongation racinaire avec le test d'*Allium cepa* qui est souvent utilisé pour la détermination de la cytotoxicité et/ou les effets génotoxiques de différentes substances (**Liman et al., 2012**) qui base sur les valeurs de l'indice mitotique et la fréquence des aberrations chromosomiques respectivement.

II.2 Observation macroscopique des bulbes « à l'œil nu »

L'observation morphologique à l'œil nu des racines des bulbes d'*Allium cepa* incubées dans l'eau de source pendant les 48 heures, ne montrent aucune anomalie, ces racines présentent une croissance normale (gardent leurs forme initiale et structure normale). (**Fig.16**)



Figure 16 : Photographie originale montre la morphologie racinaire après l'incubation dans les échantillons à essayer.

La seule différence remarquée entre les trois échantillons est la longueur des racines qui ont poussées dans cette période.

II.3 La longueur des racines

La longueur des racines de l'*Allium cepa* mesurée avant et après traitement par les eaux (Tab.10), peuvent être un caractère macroscopique des paramètres cytogénétique, et dans notre expérience les racines incubées dans l'eau de robinet pendant les premières 24h sont utilisées comme contrôle négatif avaient une longueur moyenne de $1,37 \pm 0,62$ pour les trois échantillons, et pour les 48h ou on a incubé dans l'eau des deux sites et l'eau de robinet comme contrôle négatif, les racines avaient une longueur moyenne de $2,34 \pm 0,45$ pour les racines qui ont poussées dans l'eau de robinet, et pour les autres racines y'avaient une longueur moyenne de 2.66 ± 0.5 pour l'eau Héliopolis; et de 2.49 ± 0.28 pour l'eau de Guelaat bou Sbaa.

Tableau 10 : Les valeurs de longueur des racines poussées pendant 24h et les 48h.

	Contrôle (-)	Héliopolis	Guelaat bou Sbaa
Moyenne des longueurs \pm SD	$1,37 \pm 0,62$		
ER pour les premières 24h dans l'eau de robinet	<ul style="list-style-type: none"> • 1.4 • 0.7 • 1 • 0.9 • 0.6 	<ul style="list-style-type: none"> • 2 • 1.7 • 2 • 1.2 • 1.6 	<ul style="list-style-type: none"> • 1 • 1.2 • 1.4 • 1.3 • 1.7
Moyenne des longueurs \pm SD	$2,34 \pm 0,45$	2.66 ± 0.5	2.49 ± 0.28
ER pour les 48h dans l'eau à tester	<ul style="list-style-type: none"> • 2.8 • 2.5 • 2.7 • 1.8 • 1.8 	<ul style="list-style-type: none"> • 3.2 • 1.9 • 3.2 • 2 • 3 	<ul style="list-style-type: none"> • 2.5 • 2.7 • 2.5 • 2.5 • 2.2

ER : élongation racinaire **SD :** écart type

D'après les résultats, le taux de croissance des racines de l'*Allium cepa* après 24h à l'eau de robinet a des valeurs proches; et après 48h dans l'eau à tester y'a une petite différence dans les valeurs, ou les racines du Héliopolis ont poussées en longueur plus que celles de Guelaat bou Sbaa, et pour le contrôle a les valeurs les plus faibles. Il est évident, d'après ces résultats du taux de croissance après 24, 48hrs que la croissance des racines dans l'eau de robinet a cette

diminution à cause de probabilité de traitement d'eau de robinet par produits chimiques qui peuvent avoir une relation avec cette étude et ces résultats .

II.4 L'indice mitotique

Le teneurs de la toxicité d'un composé a testé peut être déterminées sur la base de l'augmentation ou la diminution de l'IM, qui peut être utilisé en tant que paramètre de la cytotoxicité dans les études de surveillance biologique de l'environnement (**Fernandes et al., 2007**) .Les effets des échantillons d'eau sur l'indice mitotique des racines d'*Allium cepa* après 48h de l'incubation sont présentés dans **les tableaux 11.12.13** . L'indice mitotique le plus élevé obtenu au cours de cette étude est celui des racines d'oignons exposées dans les échantillons d'eau du Guelaat bou Sbaa avec une moyenne de $26.53\% \pm 7.8$, et pour l'Héliopolis une moyenne de $20\% \pm 1.68$, et du contrôle négatif avec une moyenne de $19.32\% \pm 2.3$ comme la valeurs la plus moins dans les échantillons.

Tableau 11 : L'effet de l'eau de robinet « contrôle négatifs » sur l'IM et les phases mitotique

	Prophase	Metaphase	Anaphase	Télophase	IM
T1	13,32	0,38	0,86	0,24	17,47%
T2	14,29	1,01	0,83	1,84	18,63%
T3	17,83	0,72	0,36	1,62	20,52%
T4	15,79	0,39	0,09	0,98	17,27%
T5	16,15	2,66	0,98	2,96	22,75%
±SD	±1,74	±0,95	±0,38	±1,01	±2,30

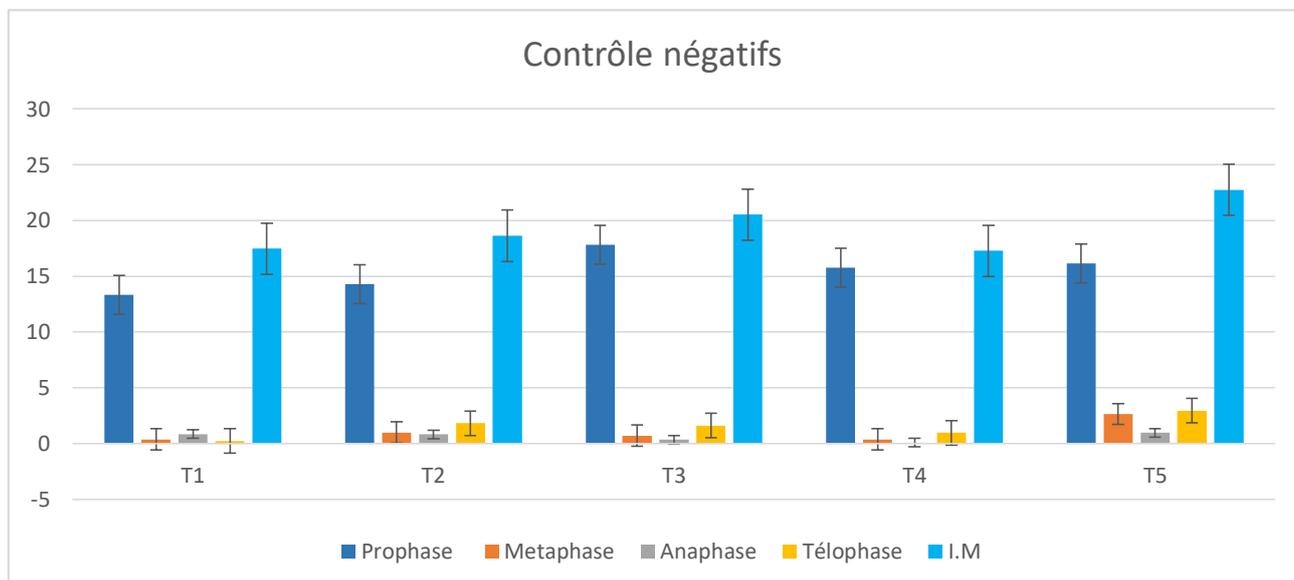


Tableau 12 : L'effet de l'eau de Héliopolis sur l'IM et les phases mitotiques.

	Prophase	Metaphase	Anaphase	Télophase	I.M
H.p 1	17,93	0,69	0,89	1,68	21,20%
H.p 2	18,64	1,59	0,89	1,99	23,23%
H.p 3	19,13	0,78	0,68	0,98	21,57%
H.p 4	23,69	0,64	0,18	0,64	25,25%
H.p 5	17,44	0,53	0,17	0,26	18,4%
±SD	±2,50	±0,42	±0,36	±0,71	±2,54

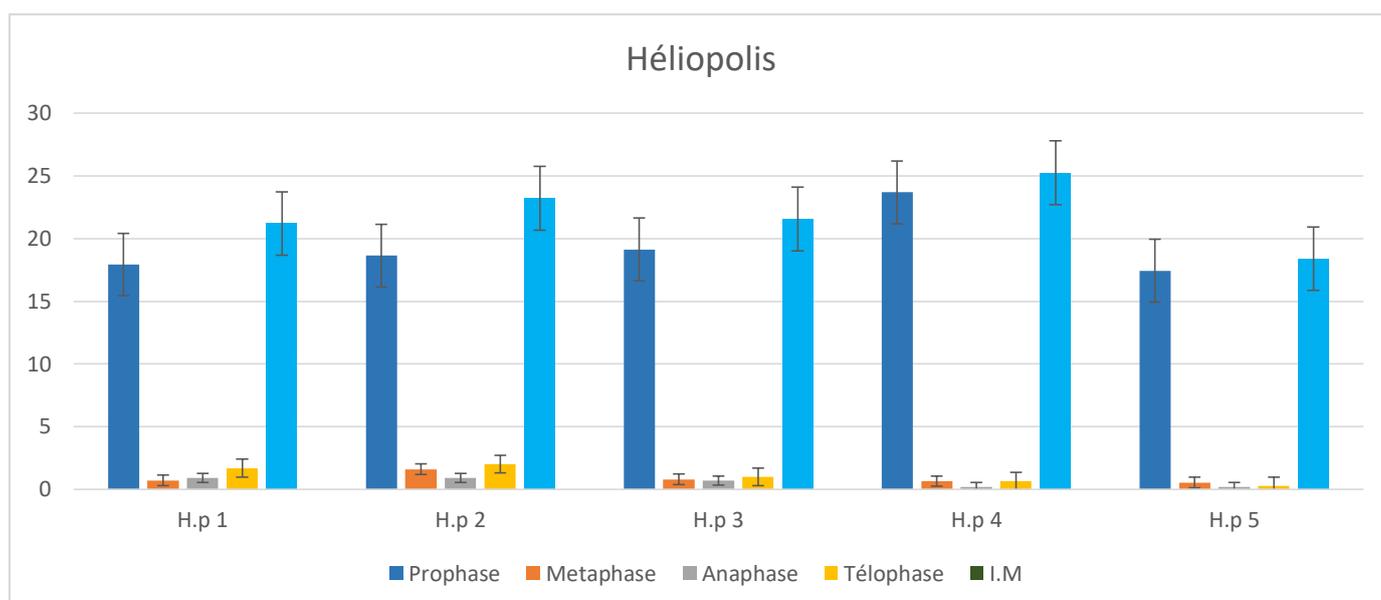


Tableau 13 : L'effet de l'eau de Guelat bou Sbaa sur l'IM et les phases mitotiques.

	Prophase	Metaphase	Anaphase	Télophase	I.M
G1	17,37	1,29	0,99	1,19	20,84%
G2	32,95	1,13	0,47	1,7	36,26%
G3	21,09	2,25	1,5	2,91	27,77%
G4	19,8	1,15	1,24	4,46	26,67%
G5	21,51	0,99	0,89	1,29	21,11%
S.D	±6,04	±0,51	±0,39	±1,38	±6,28

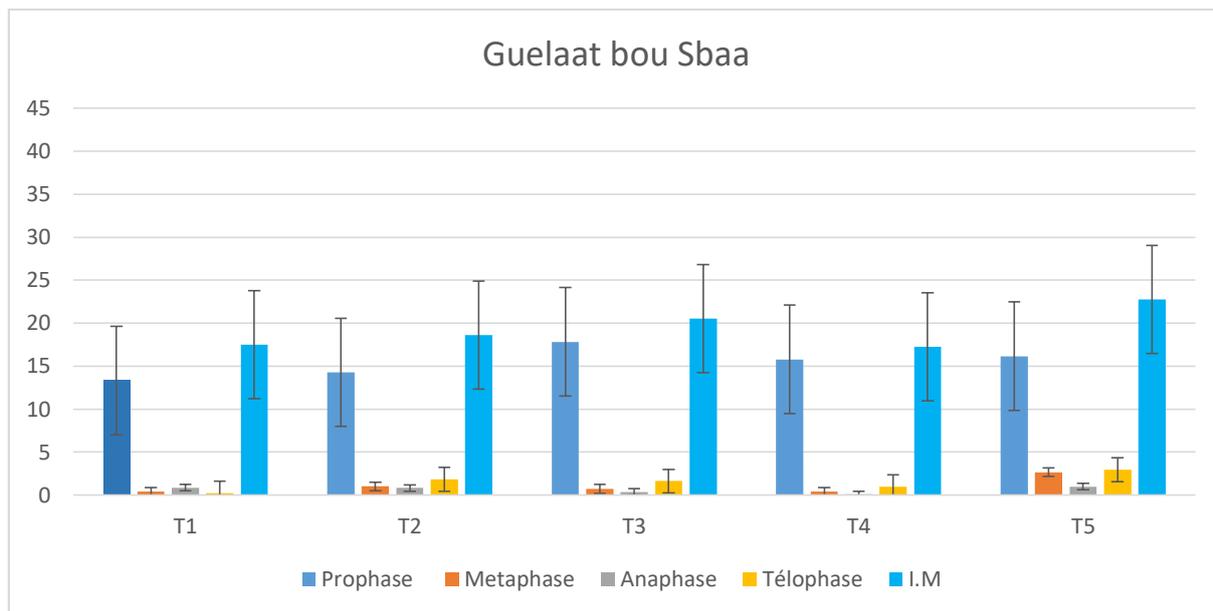


Tableau 14 : Résultats générale de l'observation et l'IM des bulbes étudiés.

	Nombre des cellules totales	Nombre des cellules en division	Indice Mitotique
Contrôle (-)	5278	1157	21,93%
Héliopolis	5244	1391	26,53%
Guelaat bou Sbaa	5258	1017	19,33%

Dans les dernières études, la diminution de l'IM indique que la croissance et développement des organismes exposés ont été affectés par les composants d'échantillons testés. (**Tipirdamaz et al., 2003 ; ElShahaby et al. 2003 ; Gana et al., 2008; Liman et al., 2010**). La diminution de ce paramètre est considérée comme un signe de toxicité par plusieurs auteurs (**Saxena P.N et al., 2005**) ; les résultats des tableaux montrent une variation en pourcentage dans les phases mitotiques ou la valeur la plus faible est celle du Guelaat bou sbaa. Donc, il est possible que la diminution observée de l'IM dans notre le contrôle (-) est due à des produits chimiques utilisés dans le traitement de l'eau de robinet.

Des photos des cellules en division ont été prises (**Fig.17**), parmi les 1000 cellules analysées, nous avons recherché les cellules en différentes phases de division sous microscope optique, pour calculés les indices mitotiques.

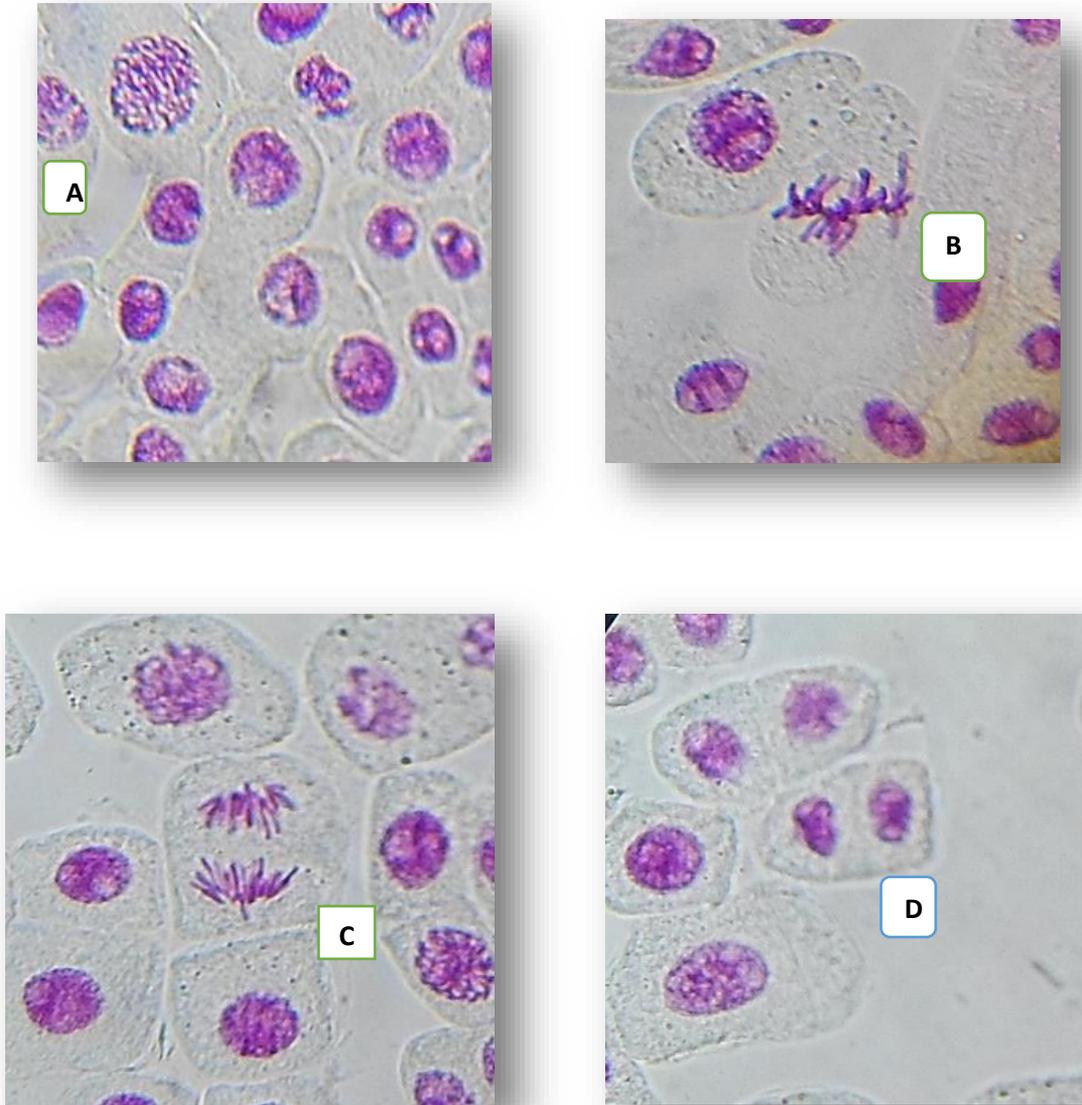


Figure 17: Cellules méristématiques normales d'*Allium Cepa* en division (X40) régulière et normale.

(A) prophase, (B) métaphase, (C) anaphase, (D) télophase.

II.5 Aberration chromosomique AC

L'évaluation des anomalies chromosomiques existants dans l'*Allium cepa* par ce test se fait par la prise en compte les différentes AC existent dans les différents stades du cycle cellulaire (prophase, métaphase, anaphase et télophase). L'étude des résultats de ce test nécessite la connaissance précise des anomalies qui se trouvent durant toutes les phases de division cellulaire.

Pour le pourcentage des AC de notre travail est réalisé par le mis en compte 100 cellules ont des différentes type d'anomalies (C-mitose, fragments, perte de chromosome, pont, perturbation du noyau, et autres) ; puis on calcule par :

$$AC\% = \frac{\text{Anaphases} + \text{Télophase}}{\text{nombre totale des anomalies}} \times 100$$

Les aberrations chromosomiques qu'ont été observés sont présentés dans les tableaux suivants (**Tab.15**), un tableau contient les valeurs des AC existent pour chaque échantillon ; le tableau résume tous les résultats de ce travail par la moyenne des pourcentages.

Tableau 15 : Taux des Aberrations Chromosomiques des différentes phases dans les cellules méristématiques racinaire d'*A. cepa* traité par l'eau de site Guelaat bou Sbaa.

	Nb des cellules	Prophase	Métaphase	Anaphase	Télophase	Autres	AC% de A +T
T(-) 1	103	7,21%	21.35%	14.44 %	9.7%	43,27 %	0.28%
T(-) 2	100	7,42%	23 %	16%	9%	42,58%	0.25 %
T(-) 3	101	6,85%	24.75 %	20.79%	5.94%	41,15 %	0.26 %
T(-) 4	104	7,14%	23.04 %	19.23 %	7.69 %	42,86%	0.26%
T(-) 5	100	7,28%	22 %	17 %	10%	43,86%	0.27 %

A : anaphase

T : télophase

T(-) : le contrôle négatif

AC : aberration chromosomique

On note que les anomalies de la métaphase (comprend C-métaphase avec perte du chromosome, méta avec pont chromosomique et méta irrégulière) ont les pourcentages les plus élevés avec une moyenne de 22.82% ±2.25, puis on classe l'anaphase (anaphase avec pont chromosomique, perte de chromosome, anaphase irrégulière, alignement en anaphase et polarisation de défaut

en ana) avec une moyenne de $17.49 \% \pm 2.36$; et télophase a la moyenne la plus faible avec $8.46 \% \pm 1.74$.

Tableau 16 : Taux des Aberrations Chromosomiques des différentes phases avec le% des perturbations en Anaphase et Télophase dans les cellules méristématiques racinaire d'*A. cepa* traité par l'eau de site Hélio polis.

	Nb des cellules	Prophase	Métaphase	Anaphase	Télophase	Autres	AC% de A +T
H 1	102	8,26%	21.49 %	15.68 %	8.82%	49,58 %	0.24%
H 2	104	7,69%	18.62 %	15.38%	8.65%	46,15%	0.24 %
H 3	101	6,80%	31.68 %	10.89%	6.93%	40,86%	0.17 %
H 4	103	7,35%	28.71 %	6.93 %	7.92 %	44,13%	0.14%
H 5	107	7,07%	25.23 %	15.88 %	9.34%	42,46%	0.25 %

A : anaphase

T : télophase

H : le site Hélio polis

AC : aberration chromosomique

Pour le site Hélio polis on note que le pourcentage des anomalies A+T est diminué (moyenne de $0.20\% \pm 0.03$) si on compare avec le T(-) « $0.26\% \pm 0.02$ », et pour les phases cellulaire de cette échantillon on trouve que la métaphase prend le pourcentage le plus élevés avec une moyenne de $25.14 \% \pm 3.67$, puis l'anaphase avec une moyenne de $12.95\% \pm 3.8$ et la plus faible est télophase qui a $8.33 \% \pm 1.84$ au moyenne. (**Tab.17**)

Tableau 17 : Taux des Aberrations Chromosomiques des différentes phases avec le% des perturbations en Anaphase et Télophase dans les cellules méristématiques racinaire d'*A. cepa* traité par contrôle négatif.

	Nb des cellules	Prophases	Métaphase	Anaphase	Télophase	Autres	AC% de A +T
G 1	102	6.57%	22.54 %	18.62 %	10.78%	41.46%	0.29%
G 2	101	3.07%	23.76 %	21.78%	8.91%	42.47%	0.30 %
G 3	106	7.27%	24.52 %	17.92%	6.6%	43.67 %	0.24 %
G 4	103	5.65%	23.3 %	17.47 %	12.62 %	40.95 %	0.30%
G 5	108	7.40%	23.14 %	14.81 %	10.18 %	44.45 %	0.25 %

A : anaphase

T : télophase

G : le site Guelaat bou Sbaa

AC : aberration chromosomique

Le tableau montre une moyenne des AC de A+T par une valeur de $0.27\% \pm 2.92$ qui est supérieure à celle du contrôle négatif ; les autres phases on classe la métaphase on premier par une moyenne de $23.45\% \pm 2.08$, y'a de l'anaphase qui avait $18.12\% \pm 1.79$ et la télophase en dernière classe avec $9.82\% \pm 3.01$.

D'après les trois tableaux et tableau 4 on observe une augmentions de la fréquence des AC de 'A+T' avec l'échantillon du site « Guelaat bou Sbaa », et une diminution avec l'échantillon du site Héliopolis par rapport au contrôle négatif. Donc, ces résultats convient de souligner que la cytotoxicité trouvée dans les résultats du site « Guelaat bou Sbaa » pourrait être due aux paramètres physico-chimique car on a remarqué que l'eau de ce site a une valeur de turbidité plus que celle de Héliopolis, mais y'a la possibilité d'avoir une contamination industrielle et/ou agricole (**Park et al.,2001**) car le site de prélèvement est près aux zone d'agriculture, donc la source peut contenir des déchets d'agriculture (tels que les pesticides...). (**Tab.18**)

Tableau 18 : Les moyennes des valeurs des différents types d'AC.

	Autre	Prophase	Métaphase	Anaphase	Télophase	total anomalies	A.C/éch
Contrôle (-)	44,97%	7,49%	25,14%	12,97%	8,33%	517/5278	9,79%
Héliopolis	43,11%	7,18%	22,83%	17,49%	8,46%	508/5258	9,66%
Guelaat bou Sbaa	41,64%	6,94%	23,45%	18,12%	9,81%	520/5244	9,91%

II.5 Les anomalies à la cour du cycle cellulaire

II.5.1 Les anomalies de prophase

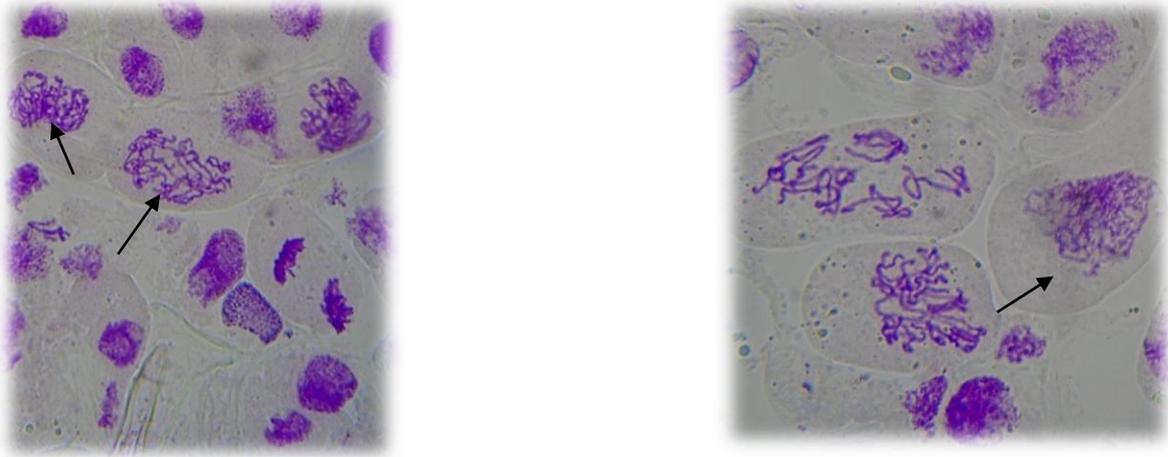


Figure 15 : Photographies montres des exemples de prophase irrégulière (Héliopolis).

Après la duplication du matériel génétique la cellule peut avoir un dérèglement de la chromatine qu'est lié à un défaut des protéines responsables de la structure nucléaire de la chromatine. (**Kuras *et al.*, 2006**) et cela supporte les résultats de *Z. cortunum* où des C-métaphase ont été observés ; le fuseau mitotique perturbé conduit à la présence de la C-mitose dans les cellules (**Matsumoto *et al.*, 2006**).

II.5.2 Les anomalies de métaphase

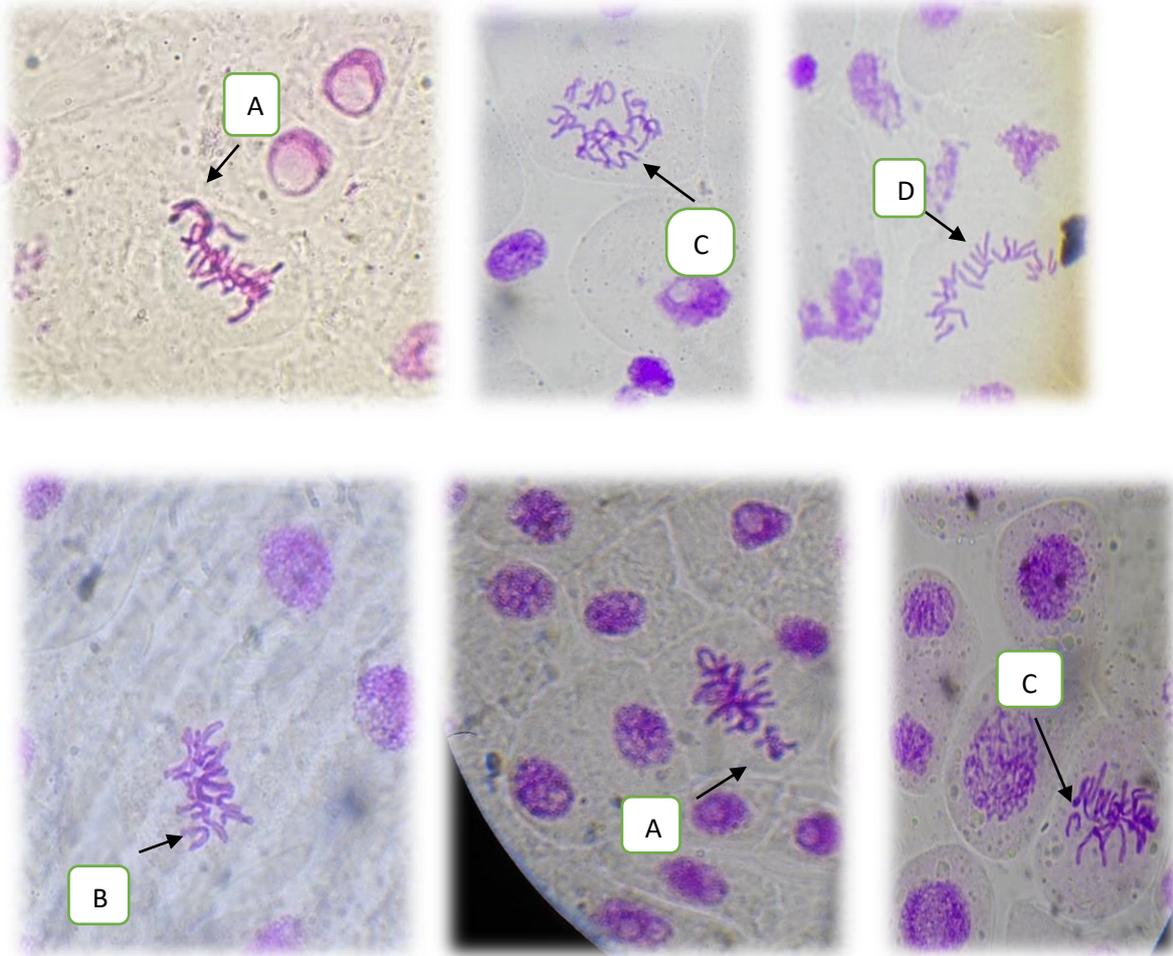


Figure 16: Photographies montrent quelque type d'AC dans la métaphase (Héliopolis)

(A : perte de fragment chromosomique ; B : perte de chromosome ; C : c-méta ; D : méta irrégulière)

La présence d'une mutagénicité dans les échantillons peut provoquer une perturbation du fuseau mitotique résultant un effet de C-mitose. Les chromosomes extrêmement condensés et séparés sont utilisés dans les études de caryotype de l'espèce, car ils permettent d'observer la morphologie de chaque chromosome individuellement. La présence de c-mitose produit des chromosomes retardataires qui ne sont pas attachés au fuseau. La formation de c-mitose, retard des chromosomes et la multipolarité peut être due à la perturbation dans la formation du fuseau, ce qui implique une activité génotoxique. (Dorbi.S et Maache.Y.;2019).

II.5.3 Les anomalies de l'anaphase

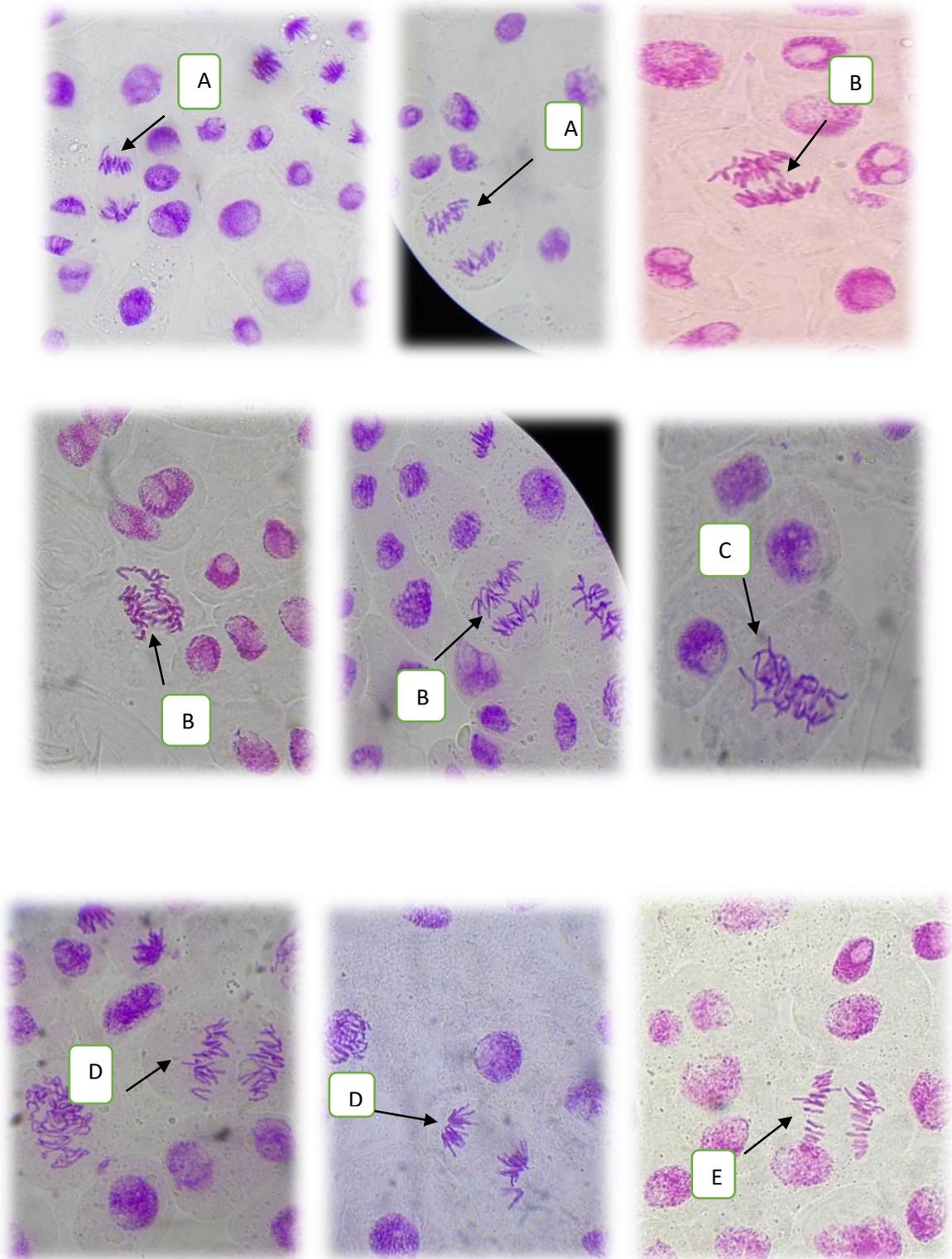


Figure 17 : Photographies montrent les quelques types d'AC en anaphase (Guelaat bou Sbaa).

A : ana avec pert du chromosome ; B : pont chromosomique ; C : alignement en anaphase

D : ana avec perte du fragment chromosomique ; E : ana irreguliere

II.5.4 Les anomalies de télophase

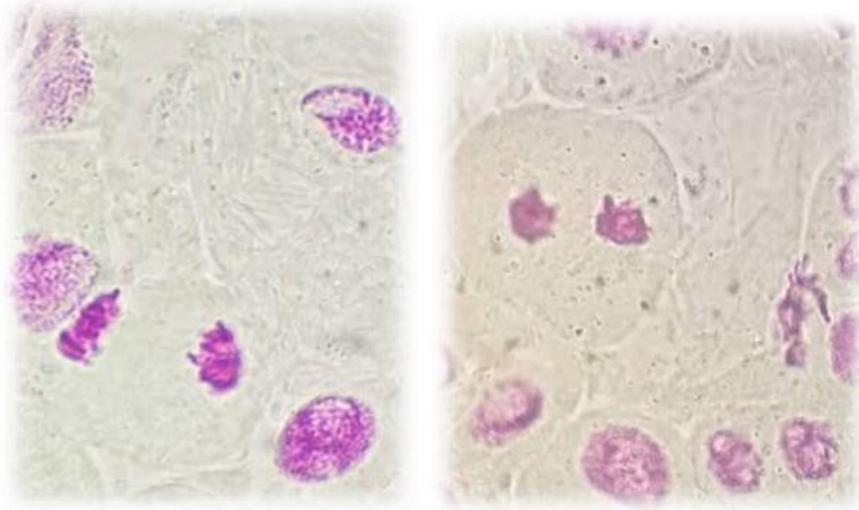
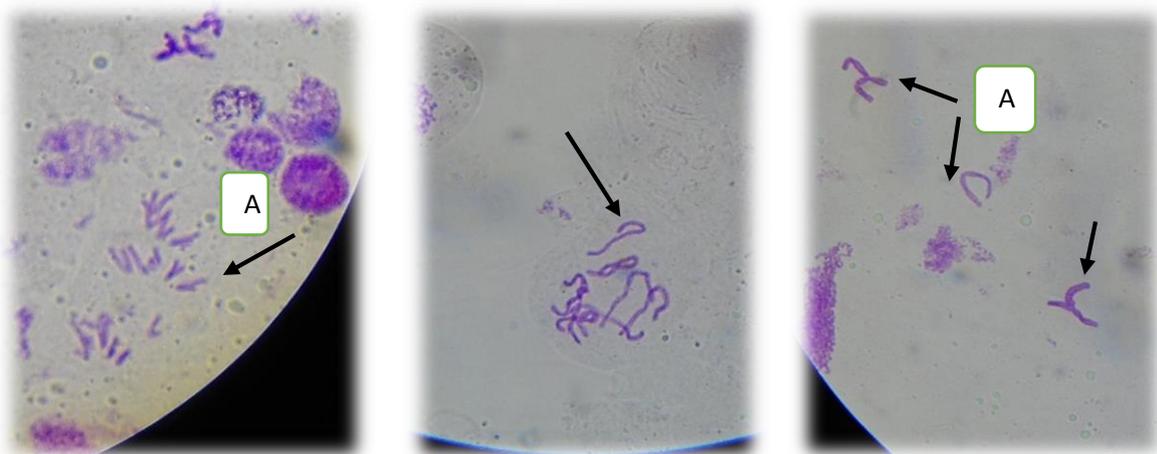


Figure 17 : Photographies montres les types de la polarisation de défaut en télophase(Guelaat bou Sbaa).

Les aberrations perturbation anaphase-télophase pourrait se produire sur la formation des microtubules qui peuvent se présenter en fonction de l'inhibition de la polymérisation de la tubuline (Kuriyama et Sakai. 1974 ; Kumari *et al.*, 2009).

II.5.5 Autres aberrations observés



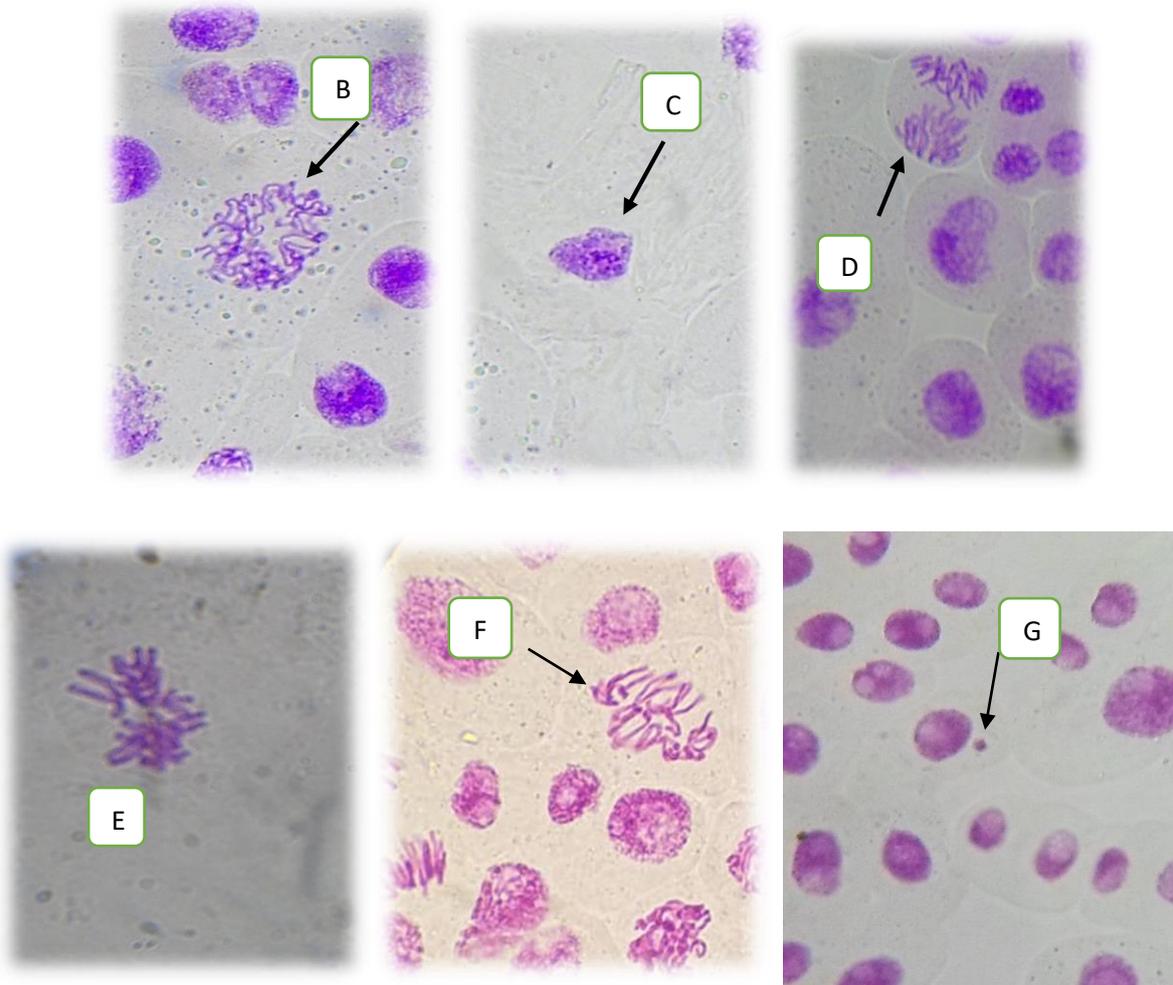


Figure 18 : photographies montres autres types d’anomalies observés au microscope X60
(Héliopolis et Guelaat bou Sbaa)

Le test d’aberration chromosomique est l’un des méthodes directes capable de mesurer directement des mutations et endommagement du matériel génétique dans les systèmes exposés (**Rekha, K., et al., 2011**). Les AC se caractérisent par un changement qui peut toucher la structure des chromosomes ou le nombre total de chromosomes, qui peut se produire spontanément ou suite de l’exposition à des agents chimiques. (**Sharma, A.K. ; Sharma A, 1980**). Le **tableau19** suivant résume le pourcentage de l’aberration observée dans cette étude

Tableau 19 : Pourcentage des AC dans l'échantillon de contrôle négatif

Phase	Nom d'aberration	Pourcentage
prophase	Prophase irrégulier	9,15%
Métaphase	Ponts chromosomique	2,05%
	Perte de chromosomes	4,45%
	Ponts et perte de chromosomes	3,21%
	Métaphase avec chromosomes fragmenté	4,95%
	Métaphase irrégulier	4,20%
	C-Métaphase	6,90%
Anaphase	Ponts chromosomique	2,79%
	Perte de chromosomes	5,05%
	Ponts et perte de chromosomes	1,78%
	Chromosome on pause	0%
	Anaphase avec chromosomes fragmenté	4,67%
	Anaphase irrégulier	5,50%
	C-Anaphase	1,84%
	Alignement	1,15%
	Polarisation de défaut	3,87%
Télophase	polarisation de défaut	12,85%
Autre	Micro noyau	5,85%
	Perturbation de noyau	1,17%
	Bi nucléaire	2,98%
	Polyploïdes	2,23%
	Plaque équatoriale perturbée	2,78%
	Adhérence	10,06%

Tableau 20 : Pourcentage des AC dans l'échantillon de Héliopolis

Phase	Nom d'aberration	Pourcentage
Prophase	Prophase irrégulier	10,78%
Métaphase	Ponts chromosomique	0,98%
	Perte de chromosomes	7,84%
	Ponts et perte de chromosomes	0,98%
	Métaphase avec chromosomes fragmenté	1,96%
	Métaphase irrégulier	2,94%
	C-Métaphase	4,9%
Anaphase	Ponts chromosomique	1,96%

	Perte de chromosomes	3,92%
	Ponts et perte de chromosomes	2,94%
	Chromosome on pause	0%
	Anaphase avec chromosomes fragmenté	0,98%
	Anaphase irrégulier	5,88%
	C-Anaphase	0%
	Alignement	0,98%
	polarisation de défaut	1,96%
Télophase	Polarisation de défaut	13,72%
Autre	Micro noyau	8,82%
	Perturbation de noyau	0,98%
	Bi nucléaire	7,84%
	Polyploïdes	5,88%
	Plaque équatoriale perturbée	3,92%
	Adhérence	9,8%

Tableau 21 : Pourcentage des AC dans l'échantillon de Guelaat bou Sbaa.

Phase	Nom d'aberration	Pourcentage
Prophase	Prophase irrégulier	9,85%
Métaphase	Ponts chromosomique	1,05%
	Perte de chromosomes	5,48%
	Ponts et perte de chromosomes	1,89%
	Métaphase avec chromosomes fragmenté	3,17%
	Métaphase irrégulier	3,83%
	C-Métaphase	7,95%
Anaphase	Ponts chromosomique	2,33%
	Perte de chromosomes	4,28%
	Ponts et perte de chromosomes	3,16%
	Chromosome on pause	1,02%
	Anaphase avec chromosomes fragmenté	1,19%
	Anaphase irrégulier	6,91%
	C-Anaphase	0,98%
	Alignement	0%
	polarisation de défaut	2,86%
Télophase	Polarisation de défaut	15,12%
Autre	Micro noyau	2,86%
	Perturbation de noyau	1,05%
	Bi nucléaire	9,89%
	Polyploïdes	2,86%
	Plaque équatoriale perturbée	3,08%
	Adhérence	9,09%

Les résultats des tableaux et les figures indiquent que les échantillons d'eau sont génotoxique en basant sur l'aberration sue : ponts, perte, perturbation du noyau, les phases de division qui sont irrégulière, et surtout la perturbation en anaphase et télophase.

Les aberrations ponts peuvent être le résultat de la condensation des chromosomes et l'échec de séparation des chromosomes au cours de l'anaphase. Ce type d'aberration est généralement formé par une liaison entre les chromatides sœurs qui restent attachés durant l'anaphase et jusqu'à la fin de télophase. (**Abda, 2015**).

Les aberrations C-mitose Selon Fiskesjö (1988), est l'anomalie la plus courante observée, peut se produire en raison de troubles au niveau des microtubules (**Fiskesjo G., 1988**), cela signifie que l'échantillon testé peut contenir des substances cytotoxiques qui peut perturber le processus du cycle cellulaire normal en empêchant la biosynthèse de l'ADN et / ou la formation des microtubules (**Fiskesjo G, 1997**).

Pour les adhérences se forment ou les chromosomes perdent leur capacité à se déplacer et se coincent dans un seul endroit (un des deux poles), ainsi perdent leur capacité à se rendre à leur destination finale, il se produit ce qu'on appelle les stickiness ou adhérences, et aussi à cause de la liaison sous-chromatide entre les chromosomes (**Mesi et al., 2013**).

L'induction des chromosomes vagabonds conduit à la libération et séparation d'un nombre inégal de chromosomes dans le noyau, ensuite peut causer la formation des noyaux de tailles inégales au cours de la formation des cellules filles ou prends des formes irrégulières à l'interphase (**El-Ghamery et al., 2000**).

La ségrégation anormale des chromatides et polarisation de défauts en anaphase/télophase résultent également de l'action de substances chimiques sur l'organisation des microtubules. Ces altérations sont observées à la suite d'une liaison incorrecte du fuseau mitotique au centromère des chromosomes (**Freitas AS, et al., 2016**), ou du raccourcissement et de l'allongement de certains microtubules du fuseau mitotique en décalage avec les autres microtubules. Une disjonction inégale des chromosomes peut ainsi se produire (chromosomes non orientés, Figure 17), donnant naissance à des micronoyaux lorsque ces chromosomes ne peuvent pas être réincorporés dans le noyau principal avec les autres chromosomes

Conclusion et perspective

Conclusion

L'eau, est certainement la ressource naturelle la plus précieuse pour l'homme. Est un élément indispensable à la vie et le développement socioéconomique des pays. L'eau est aussi la cause de graves maladies, c'est pour cela qu'une eau avant d'être consommée doit avoir subit un traitement et respecter des normes.

A propos de notre étude qui a porté essentiellement sur l'évaluation de la qualité physico-chimique des eaux de consommations de la ville de Guelma. Et à partir de quelques paramètres analysés au niveau de laboratoire de l'université de Guelma, on pourrait dire que nos résultats obtenus dans l'ensemble sont conformes à la réglementation nationale et internationale en matière de potabilité d'eau.

Et à partir de cette étude nous avons conclu que :

∴ Les analyses physico-chimiques montrent que ces sources d'eau sont des eaux conformes à celle des normes Algérienne, française et ainsi qu'à L'O.M.S.

∴ Le pH de ces eaux est neutre, leur degré de minéralisation est moyen, leur température est acceptable.

∴ leur teneurs en matière organique (DBO⁵ et DCO) : la teneur de la DBO⁵ est plus élevée pour les deux eaux , ces résultats ne répond pas aux normes de qualité d'une eau potable et la teneur de la DCO pour l'échantillon de(Héliopolis) répond au norme et celle de(Guelaat bou Sbaa) sa valeur dépasse la norme cela indique que cette eau est pollué.

∴ Ces eaux sont également dans les normes de la mesure de TAC et TA

∴ Pour la turbidité, les résultats des deux eaux répond aux normes, et que ces deux eaux considérée comme des eaux limpides.

D'après le test d'*Allium cepa* et à partir des résultats d'indice mitotique qui montrent que les résultats du GUELAAT BOU SBAA aux des valeurs les plus faible que celles d'HELIOPOLIS et pour le test d'aberrations chromosomique qui indique aussi que l'échantillon du GUELAAT BOUSBAA a des valeur de génotoxicité plus que l'échantillon d'HELIOPOLIS une corrélation entre la valeur de la turbidité et les résultats de génotoxicité dans notre étude ; corrélation démontré par les travaux de ABDA 2015

Comme perspectives, nous envisageons des études plus approfondie sur :

- Etude des autres sources d'eaux dans la région de Guelma.
- Analyse des autres paramètres physico-chimiques.
- Evaluation des effets génotoxiques avec d'autres tests sur des modèles procaryotes et eucaryotes.

Références bibliographique

Références

- A.Bergal, W.Boumaraf, A.Delimi, D.E Benouareth (2022). Quality control of surface water of Mexa dam and its suitability for irrigation (El Tarff region). *Ukraine Journal of Ecology*, (2022), 12(2) Page 04.
- ABDA A. (2015). Traitement des eaux de surface et les risques génotoxiques des sous-produits de chloration. Thèse de doctorat université de Guelma
- Bonciu, E., Firbas, P., Fontanetti, C. S., Wusheng, J., Karaismailoğlu, M. C., Liu, D., Menicucci, F., Pesnya, D. S., Popescu, A., Romanovsky, A. V., Schiff, S., ŚLusarczyk, J., de Souza, C. P., Srivastava, A., Sutan, A., & Papini, A. (2018). An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. *Caryologia*, 71(3), 191–209.
- Arouya,k. (2011). Pollution des eaux impact des eaux usées sur la qualité des eaux de surfaces, Édition universitaire européenne. 124 pages.
- Benslimane.M, Hamimed, A.,Khalidi., ElZerey, W.(2015). Methodological approach to the evaluation of the water management policy in wetlands in the case of Chott Chergui (southwest Algeria). *LARHYSS Journal*.
- Bickman, Smolen, (1994).Somatic and heritable effects of environmental genotoxins and the emergence of evolutionary toxicology.*Environmental Health Perspectives*, 102, 2528.
- Burnie G, Forrester S, Greig D, Guest S, Harmony M, Hobley S, Jackson G, Lavarack P, Melanie L, Donald RM, Macoboy S, Molynenx B, Moodie D, Moore J, North T, Newan D, Pienaar K, Purdy G, Silk J, Ryan S and Schien G , (1999). *Botanica: The illustrated A-Z of over 10,000 garden plants*, (3 rd Ed.), Random House Australia Pty Ltd, New South Wales, pp 74.
- Cerda H, Hofsten BV, Johanson KJ. 1993. Identification of irradiated food by
- Clive D, Spector JFS (1978) Comparative chemical mutagenesis: an overview. In : *Proceedings of comparative chemical mutagenesis workshop*, De Serres F.J. (Eds.), National Institute for Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC. Dans Cotelle, S. (1999). Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures (Thèse de doctorat) Université Paul Verlaine – Metz, France. Repéré à <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01775709/document>.

- Communities, EUR-14315. Pp 401-405 dans Cotelle S., Ferard J.F. (1999). The Comet Assay in Genetic Ecotoxicology. *Environ Mol Mutagen*, 34(4), 246-255.
- Cordelli E, Bignami M, Pacchierotti F, (2021). Comet assay: a versatile but complex tool in genotoxicity testing. *Toxicology Research*, 10(1), 68–78. ([https://academic.oup.com/toxres/article/10/1/68/6047181.](https://academic.oup.com/toxres/article/10/1/68/6047181))
- Cotelle S., Ferard J.F. (1999). The Comet Assay in Genetic Ecotoxicology. *Environ Mol Mutagen*, 34(4), 246-255.
- Cotelle, S. (1999). Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures (Thèse de doctorat) Université Paul Verlaine – Metz, France. Repéré à <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01775709/document>.
- Dalila Ziani (2017). Quantification de la pollution anthropique des eaux souterraines de l'aquifère de Ain Djasser. *Est Algerien* ; P 07.
- DORBI Souhila ;et MAACHE yasmine , dans mémoire de Master (Activités génotoxiques et anti-génotoxiques, de l'extrait éthanolique de trois plantes médicinales sur le cycle cellulaire de l'allium cepa) en 2019 . Université Mohammed -Seddik Benyahia – Jijel. 63 pages.
- El Morhit M (2009). Hydrochimie, element traces métalliques et indices écotoxiques sur les différents composantes d'un écosystème estuarien (Bas loukos).thèse de doctorat.
- El-Ghamery et all 2000: in These Abda.A page 102
- El-Shahaby, O. A., Abdel Migid, H. M., Soliman, M. I., & Mashaly, I. A. (2003). Genotoxicity screening for industrial wastewater using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6, 23–28.
- Fenech M. 1997. The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleis method. *Mutat. Res.* 392 :11-18. Dans Foltete, A. S. (2010). Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia faba* (Fabaceae) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués (Thèse de doctorat) Université Paul Verlaine – Metz, France. Repéré à <http://docnum.univ-lorraine.fr/public/UPV-M/Theses/2010/Foltete.Anne-Sophie.SMZ1020.pdf>.
- Fiskesjo G., 1988.The Allium test-an alternative in environmental studies: The relative toxicity of metal ions.*Mutation Research*.Vol.197.pp 243-269..The Allium test-an alternative in environmental studies: The relative toxicity of metal ions.*Mutation Research*.Vol.197.pp 243-269.

- 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.
- Foltete , A. S. (2010). Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia faba* (Fabaceae) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués (Thèse de doctorat) Université Paul Verlaine – Metz, France. Repéré à <http://docnum.univ-lorraine.fr/public/UPV-M/Theses/2010/Foltete.Anne-Sophie.SMZ1020.pdf>.
- Freitas AS, Cunha IMF, Andrade-Vieira LF, Techio VH. Effect of SPL (spent pot liner) and its main components on root growth, mitotic activity and phosphorylation of histone H3 in *Lactuca sativa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2016;124:426-434. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2015.11.017 ; in: Larissa Fonseca Andrade Vieira and Graciele Lurdes Silveira , *Cyto(Geno)Toxic Endpoints Assessed via Cell Cycle Bioassays in Plant Models*
- Gana, J. M., Ordonez, R., Zampini, C., Hidalgo, M., Meoni, S., & Isla, M. I. (2008). Industrial effluents and surface waters genotoxicity and mutagenicity evaluation of a river of Tucuman, Argentina. *Journal of Hazardous Material*, 155, 403–406.
- Grant WF (1982a) Chromosome aberration assays in *Allium*. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox program. *Mutation Research* 99:273-291 dans Cotellet, S. (1999). Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures (Thèse de doctorat) Université Paul Verlaine – Metz, France . Repéré à <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01775709/document>.
- Grant WF (1993) Plants as detectors of atmospheric mutagens. In: *Handbook of hazardous materials*, Anonymous Academic Press, pp 591-609 dans Cotellet, S. (1999). Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures (Thèse de doctorat) Université Paul Verlaine – Metz, France. Repéré à <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01775709/document>.
- Grant WF (1994) the present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mutation Research* 310:175-185 dans Cotellet, S. (1999). Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures (Thèse de doctorat) Université Paul Verlaine – Metz, France. Repéré à <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01775709/document>.
- Hamdini S., 2009 - La culture d'oignon, Université sidi Med Ben abdellah Fès, Licence.
- Hébert S et Légaré S (2000) .Suivi de la qualité des rivières et petits cours d'eau. Québec, direction de suivi de l'état de l'environnement, ministère de l'environnement : Env-2001-0141, rapport=Q E-123,24 P.

- JOHN P., DONALD A., (2010). Microbiology, 3^{ème} edition, 1216p.
- Kuras M., Nowakowska J., Sliwinska E., Pilarski R., Ilasz R., Tykarska T., Zobel A et Gulewicz K. (2006). Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium Test* induced by bark water extract of *Uncariatomentosa* (Willd). DC. Journal of Ethnopharmacology. 107 : 211-221.
- Kuriyama et Sakai. 1974 ; Kumari et al., (2009). In These Abda. A page 102.
- Larissa, F.A.V et Graciele, L.S. (2018) .Cyto (Geno) Toxic Endpoints Assessed via Cell Cycle Bioassays in plant Models dans Tülay, A.Ç.(dir.), Cytotoxicity (p.278)
- Levan, A., (1938). The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*, Hereditas, 24, pp. 471- 486, ISSN 0018-0661.
- Liman, R., Akyıl, D., Eren, Y., & Konuk, M. (2010). Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/Salmonella and *Allium* test. Chemosphere, 80, 1056– 1061.
- Liman, R., Gökçe, U.G., Akyıl, D., Eren, Y., Konuk, M., 2012. Evaluation of genotoxic and mutagenic effects of aqueous extract from aerial parts of *Linaria genistifolia* subsp. *genistifolia*. Rev. bras. farmacogn. 22, 541–548. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000028>.
- Matsumoto S.T., Mantovani M.S., Malagutti M.I., Dias A.L., Fonseca I.C., Marin-Morales M.A. (2006). Assessment of the genotoxic and mutagenic effect of chromium residues present in tannery effluents using the micronucleus and comet assay in *Oreochromis niloticus* and chromosomes aberrations in of *Allium cepa*. Genet. Mol. Biol. 29 :148–158
- Mazzuoli, L.S.(2012). La gestion durable de l'eau Ressource Qualité Organisation 2^{ème} Ed 256 p Dunod.
- Mémoire de fin d'études Présenté par : Bencherif khadidja Bouaziz sabah (Les effets du fongicide Prévicure sur l'index mitotique de l'oignon (*Allium cepa*)).
- Mesi A., Kopliku D., Neziri A. et Golemi S., (2013). Correlative evaluation between nickel ion concentrations doped in some riverside water bodies of Nen-Shkodra lowland and root growth of *Allium cepa* (L.). Asian J. Chem. 25(5). 2687-2689.
- Microelectrophoresis of DNA from single cells. In: Leonardi M, Belliaro JJ, Raffi JJ, editors.
- NADIA Morin-Crini, Giuseppe Trunfio, Peter Winterton, Giongicomo Torri, Nicolas Louvard, Sarah Girardot, Xavier Hutinent et Grégorio Crini(2017). Paramètres chimiques

et biologiques et procédés d'épuration innovants. Chapitre 4 paramètres de l'eau et rejets industriels. P 512.

- Ostling O, Johanson KJ, (1984). Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 123, 291-298.
- Park et al 2001 dans la thèse de abda ahlem
- Petersen, J., Sack, D., & Gabler, R. E. (2014). *Fundamentals of Physical Geography* (2^{ème} édition). (Chapter 8: Introduction to the Hydrosphere Cengage Learning).
- Rabiou A., Yacoubou B., Toudou A., Mahamane S. Et Jean-Pierre B., 2015 *Biologie, diversité et outils pour l'analyse de la diversité génétique de l'oignon, Allium cepa L.* (synthèse bibliographique).
- Recent advances of new methods of detection of irradiated food. *Proceedings of the*
- Rekha K, Dharman, AK, 2011. Mitotic aberrations induced by sodium benzoate: a food additive in *Allium cepa L.* *Plant Arch*; 11: 945-947.
- Rieger R, Michaelis A, Green M. 1968. *A glossary of genetics and cytogenetics*, 3rd Eds. London: Allen and Unwin. 507 p. dans Foltete, A. S. (2010). *Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez Vicia faba (Fabaceae) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués* (Thèse de doctorat) Université Paul Verlaine – Metz, France. Repéré à <http://docnum.univ-lorraine.fr/public/UPV-M/Theses/2010/Foltete.Anne-Sophie.SMZ1020.pdf>.
- Rodier J, legube B, Merlet (2009). *L'analyse de l'eau*, 9^{ème} édition, p 1579, édition, Ed dunod.
- Rodier J. (1984). *L'analyse de l'eau : eau naturelles, eau résiduares, eau de mer*, 7^{ème} édition, Dunod, Bordas paris. P 134.
- Rodier J., Bazin C., Broutin J., Chambon P., Champsaur H., Rodi L (2005). *L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer*, Chime, physico-Chimie, microbiologie, biologie, interpretation et résultats. Ed. Dunod Paris. P 1384.
- Ruchot H., 2002 – *L'oignon Allium cepa*, Faculté libre des sciences et technologies L3SVA.
- Saxena, P.N, Chauhan, L.K.S, Gupta, S.K, (2005). Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: Spectroscopic basis of chromosome damage. *Toxicology* 216, 244–252.
- Sharma, A.K.; Sharma A., 1980. *Chromosome Technique Theory and Practice*, 3rd ed.; Butterworths: London, UK; p. 474.

- Sharmistha,Ch. , Taruneet,K. , Sapna ,J. , Chandresh ,S. , Shailendra ,A. (2021). genotoxicity in connection to infertility and cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 345 . <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009279721001678?via%3Dihub>.
- Souguir, D. (2009). Modifications métaboliques, moléculaires et génotoxicité induites par le cadmium chez *Vicia faba* (Thèse de doctorat) Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II ; Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand II, France ; Université du 7 Novembre, Carthage, Tunisie. Repéré à <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00725461/document>.
- Tice RR, Andrews PW, Hirai O, Singh NP. 1991. The single cell gel (SCG) assay: an electrophoretic technique for the detection of DNA damage in individual cells. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 283: 157-164. Dans Cotelle S., Ferard J.F. (1999). The Comet Assay in Genetic Ecotoxicology. *Environ Mol Mutagen*, 34(4), 246-255. https://www.researchgate.net/publication/276168878_Cotelle_S_Ferard_JF_1999_Comet_assay_in_genetic_ecotoxicology_A_review_Environmental_and_Molecular_Mutagenesis_34_246-255.
- Tipirdamaz, R., Gömürgen, A. N., Olankaya, D., & Doğan, M. (2003). Determination of toxicity of pulp-MIII effluents by using *Allium* test. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 9(1), 93–97 . Univ Mouhamed V.Agdal, Rabat; 232p.
- Vander Meer QP, (1993). *Allium cepa* L.cv.Groupe Common Onion.In: Siemonsma J.S., KasemPiluek. *Plant resources of South-East Asia*. PudocScientific publishers 8, 68-71.
- Waters, M. D., Stack, H. F., Brady, A. L., Lohman, P. H., Haroun, L. And Vinio, H. (1988) Use of computerized data listing and activity profiles of genetic and related effects in the review of 195 compounds. *Mut. Res.* 205 ; 1067-1074. Dans Souguir, D. (2009). Modifications métaboliques, moléculaires et génotoxicité induites par le cadmium chez *Vicia faba* (Thèse de doctorat) Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II ; Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand II, France ; Université du 7 Novembre, Carthage, Tunisie. Repéré à <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00725461/document>.
- Workshop, Ancona, 24-26 September 1991. Luxembourg : Commission of the European.
- Yapo OB, Mambo V, Seka A Ohou MJA, Konan F, Gouzile V, Tidou A. S,Kouame KV et Houenou P. 2010 Evaluation de la qualité d'eau de puits à usage domestique dans les quartiers défavorisés de quatre communes d'Abidjan (Côte d'Ivoire) : Koumassi, Marcory, Port-Bouet et Treichville. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 4(2) :289-307.

Site web :

[1] Usages : eau dans organisme. (2017). Www.Cnrs.Fr. Retrieved December 11, 2017, from <https://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doseau/decouv/usages/eauOrga.html> consulté le 30/05/2022.

[2]https://www.oieau.fr/ReFEA/fiches/AnalyseEau/Physico_chimie_PresGen.pdf consulté le 25/04/2022

[3] Risque de Salinité - Lenntech. (2021). <https://Www.Lenntech.Fr/>.
<https://www.lenntech.fr/applications/irrigation/salinite/irrigation/salinite-risque-irrigation.htm?fbclid=IwAR2G4gKHx2yXk7NFPLg7euBcoe4H3xjBOx1t34O0ks5EdExENf5nUP23Tu0>. Consulté le 28/05/2022

[4]Cotelle,S.,etFérard,J.F.(1999,January).https://www.researchgate.net/publication/276168878_Cotelle_S_Ferard_JF_1999_Comet_assay_in_genetic_ecotoxicology_A_review_En_vironmental_and_Molecular_Mutagenesis_34_246-255. Consulté le 28/05/2022

Annexes

Annexe 01

Préparation de solution 0.02 N d'acide sulfurique

On convertit à une concentration molaire (demander parmi l'information du site) par la relation :

$$N = p \cdot M \rightarrow M = N/p$$

P : nombre équivalent, est généralement contrôlée par H_3O^+ , OH^- , *les électrons*

M : concentration molaire

Pour connaître le P selon la formule : $H_2SO_4 \rightarrow SO_4^{2-} + 2 H_3O^+$ Donc **p = 2**

Alors $M = 0.02 / 2 = 0.01$

Et à l'aide d'un site : https://www.periodni.com/preparation_of_solutions.php, on va connaître combien de volume on est besoin pour préparer la solution.

Annexe 02

La solution HCl (1N) à 8%

Préparation de 100 ml

HCl	8.17 ml
Eau distillé	91,83 ml

Dans une éprouvette, il faut mettre un peu d'eau distillée pour éviter la chaleur exothermique d'HCl, puis on met 8,17 ml d'HCl (en utilisant une micropipette de 100 – 1000 μ L, pour prendre 170 μ L, et 8 ml avec une pipette graduée de 10 ml) et complété jusqu'à 100 ml d'eau distillé.

Annexe 03

La solution d'Acide Acétique Glacial à 45%

Préparation de 100 ml

Acide acétique glacial 45 ml

Eau distillé l 55 m

Pour la manipulation des acides, il faut être sous la hotte, et pour mieux mesurer les volumes utiliser l'éprouvette en tant que le Bécher.

Annexe 04

La solution de Carnoy

Préparation de : 10 ml

Acide acétique glacial 2,5 ml

Éthanol pure (96%) 7,5 ml

Le Carnoy est composé d'éthanol 96% et d'acide acétique glacial, dans les proportions respectives : (3V /1V) c'est-à-dire volume d'éthanol 3fois d'acide .

Annexe 05

Réactif de Feulgen

Préparation de 50ml

Fushine basique	0,25 g
Eau distillé	50 ml
HCl (1N)	5 ml
$K_2S_2O_5$	0,5 g

Ajouter à 0,25 g de Fushine basique 50 ml d'eau distillée bouillante (100°), attendre 10 minutes jusqu'à ce que le mélange atteint une température de 50°C puis ajouter 5 ml d'une solution 1N d'HCl et mixer puis ajouter 0,5 g de métrasulfite de Potassium $K_2S_2O_5$, couvrir la solution par papier aluminium et la conservée à 4°C. Après 24h la solution est filtrée et peut être utilisé.