

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

UNIVERSITE 8 Mai 1945 de GUELMA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DES VIE ET DES SCIENCES
DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE SNV



Mémoire De Master

Domaine : science de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et cellulaire : Biologie Moléculaire de
procaryotes

**Thème: Etude de la génotoxicité du pesticide
*zoom in vivo - Allium Cepa Teste -***

Présenté par :

BOUDALIA Fatma

LABADLA Soumia

Membres de jury :

Présidente : Mme Benbelcassem	M.A.A	Université de Guelma
Encadreur : Mme. Boumaza. A	M.A.A	Université de Guelma
Examinatrice : Mme. Hamdiken. M	M.A.A	Université de Guelma

2014/ 2015

Remerciements

Tout d'abord, louange à « ALLAH » qui nous a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et qui nous a inspiré les bons pas et les justes réflexes, sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas aboutit

Mme Boumaaza Awatif, qui a fait preuve d'une grande patience et qui a été d'une grande aide dans la réalisation de ce travail, ses conseils, ses orientations ainsi que son soutien moral et scientifique, qui nous ont permis de mener à terme ce projet

Nous remercions également Mme Hamdikhen M professeur à l'université 8 mai 45 de Guelma de bien vouloir accepter de présider le jury.

Nos vifs remerciements sont adressés à Mme benbelkassme ; professeur à l'université 8 mai 45 de Guelma de bien vouloir juger ce travail.

Nous tenons à remercier tout le corps enseignant du département de Biologie de l'université 08 Mai 1945 Guelma pour la qualité de leur enseignement, et surtout nos enseignants.

Nous remercions aussi nos familles qui durant nos études nous ont toujours fait confiance et ont toujours cru en nous

A Tous nos ami(e)s et tous ceux qui nous ont aidés de près ou loin pour réaliser ce modeste travail.

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumés

Introduction

Partie I : Synthèse bibliographique

I. Généralité sur les pesticides

I.1. Historique	2
I.2. définition.....	3
I.3. Les différents formes des pesticides	4
I.4. classification des pesticides	4
I.4.1. première système de classification	5
I.4.2. deuxième système de classification	5
I.4.2.1 les pesticides organiques.....	5
I.4.2.2. les pesticides inorganiques.....	6
I.5. conception des pesticides.....	7
I.6. Utilisation des pesticides	7
I.6.1. en Algérie	8
I.7. l'intérêt de l'utilisation des pesticides	8
I.8. effets toxiques des pesticides	9
I.8.1. effets sur la santé humaine.....	9
I.8.1.1. cancérogénèse	9
I.8.1.2. effets sur la reproduction	9
I.8.1.3. perturbation du système endocrinienne.....	10

I.8.1.4. effets sur le système immunitaire.....	10
I.8.1.5. effets neurologique.....	10
I.8.2. impact environnemental écotoxicologique	10
I.8.2.1. effets nocifs sur la microflore du sol	11
I.8.2.2. effets nocifs sur les mammifères	11
I.8.2.3. effets nocifs sur les faunes aquatiques	11

II. La Génotoxicité

II.1. Définition	12
II.2. les tests de génotoxicité	12
II.2.1. le test d'Ames	12
II.2.2. le test de micronoyau	13
II.2.3. le test d'Aberration chromosomique	14
II.2.4 le test comète	15
II.2.5. le test Allium cepa	17

Partie 2 : Travail expérimental

I. Matériel et méthodes

I. Matériel.....	19
I.1.1. Matériel biologique.....	19
I.1.2. Produit chimique.....	19
I.2. Méthodes.....	20
I.2.1. Préparation du pesticide testé.....	20
I.2.2. Détermination de la CE50.....	20
I.2.3. Index mitotique et le test d'aberration chromosomiques.....	20
I.2.4. Observation microscopique et analyse.....	20
I.2.5.L' analyse statistique.....	21

II. Résultats et discussion

II.1. Test d'inhibition de l'élongation racinaire.....	22
--	----

II.2. Index mitotique (IM).....	23
II.3. Test d'aberration chromosomique.....	25

Conclusion

Annexe

Références bibliographiques

Liste des tableaux

Tableau. 1 Utilisation des Pesticides et principaux rendements de certains pays	9
Tableau. 2 Classification systématique de l'oignon (<i>Allium cepa</i>)	18
Tableau. 3 Effet du Zoom sur l'indice mitotique du méristème racinaire <i>d'Allium</i> <i>Cepa</i>	23
Tableau. 4 Effet génotoxique du Zoom sur le méristème racinaire <i>d'Allium cepa</i>	26

Liste des Figures

Figure. 1 Quantités des pesticides importés en Algérie en tonne de 1975 à 2007	8
Figure. 2 principe d'application du test d'Ames	13
Figure. 3 Principe d'application du test de micronoyau	14
Figure. 4 principe d'application du test de comète	16
Figure. 5 la structure chimique du dicamba	19
Figure. 6 la structure chimique du triasulfuran	19
Figure. 7 effet inhibiteur des différentes concentrations du Zoom sur l'élongation racinaires d' <i>Allium cepa</i>	22
Figure. 8 Cellules méristématiques racinaires d' <i>Allium cepa</i> en division régulière et normale	24
Figure. 9 Les types d'aberrations chromosomiques dans le méristème racinaire d' <i>Allium cepa</i> exposés au pesticide Zoom	27

Liste des abréviations

AC: Aberration chromosomique .

ADN : Acide désoxyribonucleotide .

MN : Micronoyaux.

DDT: Dichloro – Dphénil – Trichloré thane .

EC50 : La concentration qui diminue le pourcentage de l'élongation racinaire à 50%.

His : Histidine .

IM : Index mitotique .

ITGC: Instituts des Technologies des Grandes Cultures.

OMS : Organisation mondial de santé .

pH: Potentiel d'hydrogène.

SCGE : Simple cell gel electrophoreses essay .

TI : Tail length.

.

Résumé

L'effet toxique et génotoxique du pesticide Zoom ont été étudiés en utilisant le test d'*Allium cepa*. La valeur d'EC50 a été déterminée premièrement en évaluant l'inhibition de l'élongation racinaire. Différentes doses de concentrations variées du Zoom ont été introduits 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, cmitose, des ponts et la perte de chromosomes. D'après les résultats obtenus, l'effet génotoxique du pesticide Zoom sur l'organisme d'essai a été observé.

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

Abstract

The toxic and genotoxic effect of Zoom pesticide were investigated using *Allium cepa* test. The EC50 value was determined first to evaluate the growth inhibition and then different doses of varied concentrations of Zoom 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 Zoom on the test organism was observed.

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

المخلص

تمت دراسة التأثيرات السامة و السمية الجينية للمبيد zoom باستخدام اختبار البصل. اولاً, تم تحديد القيمة EC₅₀ من خلال تقييم تثبيط استطالة الجذر, حيث ادخلت جرعات مختلفة التركيز الى جذور البصل لتقييم مؤشر الانقسامية للخلايا الانشائية و التشوهات الكروموزومية للبصل, حيث مياه الحنفية استعملت كشاهد, فتم حساب مؤشر الانقسامية و وتيرة التشوهات الكروموزومية بشكل منفصل لكل جرعة مختبرة. و قد لوحظت تشوهات من بينها قطع, انقسام, الجسور و فقدان كروموزوم. و من النتائج التي تم الحصول عليها ايضاً هي ملاحظة تأثير السمية على كائن الاختبار.

الكلمات المفتاحية: السمية الوراثية, البصل, سمية الخلايا, مؤشر الانقسامية, التشوهات الكروموزومية, المبيد

.zoom

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 de produits agricoles (Taylor *et al.*, 1997; Mackenzie *et al.*, 1998).

L'action mutagène et cancérogène 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 cancérogénicité (Ferretti *et al.*, 2007 ; Subbarao, 1999).

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

Dans le présent travail, zoom est un pesticide fréquemment utilisé en Algérie, a fait l'objet de l'étude. Pour ce faire, la toxicité du Zoom 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*.

Partie I : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les pesticides

I.1. Historique

- 1990** Le Préfet de Bretagne met en place la Cellule d'orientation régionale pour la protection des eaux contre les pesticides (Corpep). Elle est chargée d'acquérir des connaissances et des moyens de lutte contre la pollution de l'eau par les pesticides.
- 15 juillet 1991** Publication de la Directive 91/414/CEE du Conseil des communautés européennes concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques.
- 15 février 1997** Publication au JO de l'interdiction de vente de l'atrazine et de la simazine pour les usages non agricoles avec une mise en oeuvre effective le 4 juillet 1997.
- 1998** Lancement du programme « Eau & pesticides, effet sur la santé et l'environnement », piloté par la Maison de la consommation et de l'environnement. [1].
- 1999** Lancement du programme national de recherche " Évaluation et réduction des risques liés à l'utilisation des pesticides" par le Ministère chargé de l'environnement.
- 2000** Programme interministériel agriculture environnement de lutte contre les pollutions de l'eau par les produits phytosanitaires : plan phyto 2000.
- Juillet 2002** La commission européenne adopte une communication « vers une stratégie thématique concernant l'utilisation durable des pesticides ».
- 30 septembre 2002** L'atrazine, désherbant du maïs est interdit à la commercialisation. Au 30 juin 2003 son utilisation devient interdite.

- 2004** Création de l'Observatoire des résidus de pesticides, administré par l'Afsset.
- 2005** Lancement de la charte « Jardiner au naturel, ça coule de source » signée par 25 jardinerie de la région rennais s'engageant à diminuer leurs ventes de pesticides au profit de la promotion auprès des particuliers de matériels plus écologiques. [2]
- Décembre 2005** Publication des résultats de l'Expertise scientifique collective réalisée par l'Inra et le Cemagref à la demande des ministères chargés de l'écologie et de l'agriculture " Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux".
- 4 et 7 avril 2005** Un arrêté préfectoral est pris dans chaque département breton afin d'interdire l'application de pesticides à moins d'un mètre de tout point d'eau.
- 28 juin 2006** Plan interministériel de réduction des risques liés aux pesticides 2006-2009
- 12 septembre 2006** Arrêté interministériel interdisant l'application de pesticides à moins de cinq mètres en bordure des points et cours d'eau listés sur les cartes IGN 1/25000
- 1er février 2008** 4 nouveaux arrêtés bretons viennent compléter l'arrêté interministériel du 12 septembre 2006 en ajoutant une interdiction de traiter aux pesticides dans et à moins d'un mètre de tous points d'eau (même temporairement à sec). (Ikeda et al, 2000).

I.2. Définition

Le mot pesticide composé de deux parties : le suffixe « cide » qui a pour origine le verbe latin « caedocader » qui signifie « tuer », on lui adjoint la racine anglaise « Pest » qui signifie animale ou plante nuisibles à la culture.(Lopez et al,2005).

L'article 2 de la loi Algérienne du journal officiel N° 87_17 du Aout 1987 relative à la protection phytosanitaire désigne par pesticide : « Toute substance ou mélange de substances destiné à repousser, détruire ou combattre les organismes nuisibles, en vue de protection ou de l'amélioration de la production végétale ». Le terme comprend les agents biologiques, les régulateurs de croissance, les correcteurs de carence, les défoliants, les

agents de dessiccation, les agents d'éclaircissements ainsi que les substances appliqués sur les cultures avant ou après récolte, pour protéger les produit contre la détérioration durant l'entreposage et le transport. (colin et *al*,2000).

Plusieurs autres termes et expression définissent les pesticides ainsi : produits phytosanitaires, produits antiparasitaires à usage agricole, produit agrisanitaires, produits agro pharmaceutiques, produits phytopharmaceutiques sont les autres dénominations de ce terme. (Aubertolj et *al*, 2005).

I.3. les différentes formes des pesticides

Les pesticides sont formulés sous forme liquide, solide ou gazeuse.

- Les formulations liquides incluent les suspensions (suspensions concentrées), les solutions, les concentrés émulsifiables, les suspensions en micro-capsules et les aérosols.

Exemple : pesticides Tilt, pesticide Topic.

- Les préparations solides comprennent les poussières, les particules, les granulés, les pastilles, les granules solubles, les poudres solubles, les appâts, les tablettes, les comprimés, les pâtes granulées et les poudres mouillables.

Exemple : pesticides Zoom.

- Les pesticides gazeux sont généralement des fumigants (ils peuvent être vendus sous forme de liquide ou de gaz). (Di corcia et *al*, 1991).

I.4. Classification des pesticides

En général les substances actives sont classées en fonction de la nature de l'espace à combattre (premier système de classification) et la nature chimique de la principale substance active (deuxième système de classification).

I.4.1. Premier système de classification

Il repose sur le type de parasites à contrôler. Il existe principalement trois grandes familles d'activités:

- ✓ **Les herbicides:** Ils représentent environ 4% des ventes totales des pesticides. Ils sont utilisés pour lutter contre les plantes parasites (ou « mauvaise herbes »), destinées à détruire ou à limiter la croissance des végétaux. Les herbicides sont moins toxiques que les insecticides.
- ✓ **Les insecticides:** Ils représentent environ 85% des ventes totales. Ce sont les premiers pesticides utilisés et les plus utilisés en Algérie. Ils sont destinés à détruire les insectes nuisibles. Les insecticides sont donc les pesticides les plus toxiques. (El mrabet.K, 2006).
- ✓ **Les fongicides:** Ils représentent environ 7% des ventes totales. Ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent de graves dommages aux végétaux cultivés. Ils combattent la prolifération des champignons pathogènes. Les fongicides sont moins toxiques que les herbicides et les insecticides. (Margoum.B, 2010).

Outre, ces trois grandes familles, d'autres peuvent être citées en exemple:

- ✓ **Les taupicides** contre les taupes.
- ✓ **Les acaricides** contre les acariens.
- ✓ **Les rodenticides** contre les rongeurs.
- ✓ **Les nématocides** contre les nématodes et les vers.
- ✓ **Les molluscicides** contre les mollusques, limaces et escargots.
- ✓ **Les corvicides** contre les corbeaux et tous les oiseaux ravageurs de cultures.

I.4.2. Deuxième système de classification

Le classement se fait en fonction de la nature chimique de la substance active, on distingue (Himel et *al*, 1990).

I.4.2.1. Les pesticides organiques:

- ✓ **Les organochlorés:** Les organochlorés sont des produits chimiques de la molécule de chlore et utilisés comme insecticides ou fongicides, qui par leur caractère persistant, bioaccumulable et hautement toxique car ils interfèrent avec plusieurs activités biologiques telle que la perturbation du système nerveux des animaux ainsi que de l'homme, ils sont actuellement très restreint ou interdit d'utilisation (Chi Anh Ta, 1997).

- ✓ **Organophosphoré:** Les organophosphorés sont des esters d'acide phosphorique ou d'acide thiophosphorique. Ils représentent le groupe le plus largement utilisé. Ils sont hautement toxiques pour les mammifères. Plusieurs organophosphorés possèdent à la fois une activité herbicide et acaricide, certains ont une action herbicide ou fongicide. Comparativement aux organochlorés, les organophosphorés ont un cycle de vie court et leurs caractéristiques physico-chimiques peuvent se modifier avec le temps (Chi Anh Ta, 1997).
- ✓ **Carbamates:** Ils sont issus de l'acide carbamique. Ils contrôlent les organismes nuisibles en agissant sur le système nerveux. (Ils perturbent la transmission des impulsions nerveuses en déstabilisant l'enzyme [cholinestérase] qui régule l'acétylcholine [un neurotransmetteur].).

En général, ils sont moins persistants dans l'environnement que la famille des composés organochlorés. Ils comprennent les insecticides, les herbicides et les fongicides. (E. Briusso et *al*, 2005).

- ✓ **Pyréthrénoïde:** Ils perturbent la transmission des impulsions nerveuses (ils augmentent le flux d'ions de sodium dans l'axone), ce qui stimule les cellules nerveuses et cause finalement la paralysie. Les pyréthrénoïdes sont stables sous le rayonnement solaire. (Ils ne se décomposent pas rapidement.). (Jokanoviés M, 2001).

I.4.2.2. Les pesticides inorganiques

En général ce sont des éléments chimiques qui ne se dégradent pas, leur utilisation entraîne souvent des graves effets toxicologiques sur l'environnement par accumulation dans les sols. Le plomb, l'arsenic et le mercure sont fort toxiques. (J. Boland et *al*, 2004).

- ✓ **Les biopesticides:** Ce sont des substances dérivées de plante ou d'animaux. Elles peuvent être constituées d'organismes tels que les moisissures, les bactéries, les virus, les nématodes, les composés chimiques dérivés des plantes, phéromones d'insectes.

La présence de certains groupements fonctionnelles et/ou atomes confère aux pesticides certaines propriétés physico-chimiques (ionisabilité, hydrophobie, solubilité,

persistance, par exemple. Le groupement donneur ou accepteur de protons d'un pesticide est susceptible de s'ioniser et un pesticide comprenant des atomes de chlore est généralement récalcitrant à la dégradation.

Toutefois, il est important de souligner que la croissance de la famille chimique à laquelle un pesticide appartient ne suffit pas à elle seule à la définition de ces propriétés ni à prédiction de son comportement dans l'environnement. (J.Boland et *al*, 2004).

I.5. Conception des pesticides

Un pesticide est composé d'un ensemble des molécules comprenant, une ou plusieurs matières actives à laquelle est dû tout ou en partie l'effet toxique.

Un diluant: qui est une matière solide ou liquide (solvant) incorporée à une préparation et destinée à en abaisser la concentration en matière active. Ce sont le plus souvent des huiles végétales dans le cas des liquides, de l'argile ou du talc dans le cas des solides.

Des adjuvants: qui sont des substances dépourvues d'activité biologique, mais susceptibles de modifier les qualités du pesticide et d'en faciliter l'utilisation d'intérêt. (J. Boland et *al*, 2004).

I.6. Utilisation des pesticides

I.6.1. En Algérie: Une enquête réalisée auprès des fellahs de la chambre d'agriculture d'Oran et de l'Institut de protection des végétaux de la wilaya d'Oran nous a montré que les pyréthrinoides, les organophosphorés et les carbamates sont les pesticides les plus utilisés en Algérie. Selon l'Institut Nationale de protection des végétaux, la plus grande quantité d'insecticides est utilisée pour la lutte antiacridienne. [3].

Le marché algérien en pesticides ne cesse pas d'augmenter ; en 2009, l'Algérie a importé 67 millions USD des pesticides et en 2008, 77 million USD contre 49,4 million USD en 2007. [4].

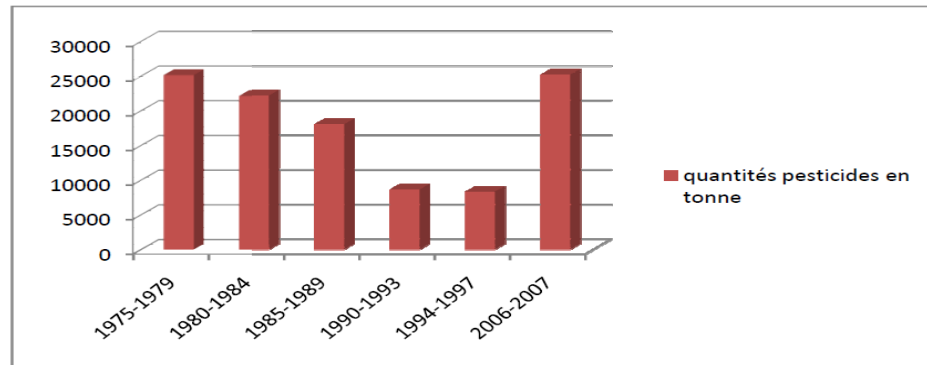


Figure 1: Quantités des pesticides importés en Algérie en tonne de 1975 à 2007. (Moussaoui et *al*, 2001).

I.7.intérêt de l'utilisation des pesticides

Les pesticides sont utilisés dans différents domaines:

- ❖ **Dans l'agriculture:** les pesticides sont utilisés pour lutter contre les insectes, les parasites, les champignons et les herbes estimés nuisibles à la production et la conservation de cultures et produits agricoles ainsi que pour le traitement des locaux.
- ❖ **Dans l'industrie:** en vue de la conservation des produits en cours de fabrication (textiles, papier) vis-à-vis des moisissures dans les circuits de refroidissement, vis-à-vis des algues et pour la désinfection des locaux.
- ❖ **Dans la construction:** pour protéger le bois et les matériaux.
- ❖ **En médecine:** contre le paludisme, malaria, typhus, et autre épidémies. (J. L. Capelo et *al*, 2000).

Les statistiques montrent qu'il existe une corrélation entre les rendements agricoles et les quantités des pesticides utilisés.

Tableau 01: Utilisation des Pesticides et principaux rendements de certains pays(J. L.Capelo et *al*, 2000).

Pays ou région	Dose d'emploi (Kg/ha)	Rang mondial d'utilisation	Rendement (tonne/ha)	Rang mondial production
Japon	10.08	1	5.5	1
Europe	1.90	2	3.4	2
USA	1.50	3	2.6	3
Amérique latine	0.22	4	2	4
Océanie	0.20	5	1.6	5
Afrique	0.13	6	1.2	6

I.8. Effets toxiques des pesticides

I.8.1. Effets sur la santé humaine

La toxicité d'un pesticide est son potentiel à produire des effets nocifs sur la santé, à court ou à long terme sont parmi les risque encourus lors de l'exposition à un pesticide. L'évaluation des effets toxiques des pesticides est complexe car de nombreux paramètres sont à considérer: la nature du composé, ses propriétés toxico-dynamiques, la durée d'exposition et ses variations, l'effet des mélanges, la nature libre ou liée des résidus ...etc. (Capkin E. et *al*, 2006).

I.8.1.1. Cancérogénèse

Plusieurs études expérimentales ou épidémiologiques laissent supposer un risque important d'atteinte par certaines formes de cancers à la suite de l'exposition chronique à certains pesticides couramment utilisés. Les types de cancers les plus souvent cités sont le cancer de cerveau, de poumons, de foie et de l'estomac, les carcinomes des tissus mous, les lymphomes non hodKiniens et la leucémie. (Capkin E. et *al*, 2006).

I.8.1.2. effets sur la reproduction

Les pesticides peuvent affecter la reproduction humaine en exerçant une toxicité directe sur les organes de reproduction ou en interférant avec la fonction hormonale. Les pesticides sont des agents susceptibles de porter atteinte au processus de fertilité masculine via une toxicité testiculaire. Il a été aussi remarqué que chez les femmes exposées à des pesticides, le risque de mortalité intra-utérine augmentait et que la croissance fœtale

diminuait, sans oublier les malformations congénitales et les anomalies du système nerveux central. (Cuppen J. et *al*, 2000).

I.8.1.3. Perturbation du système endocrinien

Selon l'OMS, un perturbateur endocrinien est une substance exogène ou un mélange qui altère les fonctions du système endocrinien et qui, de ce fait, induit des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, de ses descendants ou sous population. Certains pesticides altèrent le développement de la fonction reproductrice et affectent la fertilité masculine en provoquant une oligospermie ainsi que d'autres effets épidémiologiques (cancer de la prostate, des testicules, des seins...etc.). (Cuppen J. et *al*, 2000).

I.8.1.4. Effets sur le système immunitaire

L'exposition à ces produits augmente les risques d'atteinte par des maladies infectieuses en plus des effets comme la chute de production d'anticorps et des réactions d'hypersensibilité retardée. D'autre part, plusieurs pesticides communément utilisés pourraient supprimer la réponse normale du système immunitaire humain à l'invasion de virus, bactéries, des parasites et de tumeurs. (Cuppen J. et *al*, 2000).

I.8.1.5. effets neurologique

Les effets neurologiques constituent l'une des manifestations les plus fréquentes des intoxications aiguës par les pesticides. Les effets aigus surviennent à des doses importantes chez les hommes (agriculteurs), il s'agit de l'apparition d'un syndrome caractérisé par une paralysie des nerfs, une faiblesse musculaire proximale et respiratoire et, plus tard, des troubles neurocomportementaux, troubles neuro-dégénératifs (maladies de Parkinson). (Cuppen J. et *al*, 2000).

I.8.2. Impact environnemental: écotoxicologie

D'un point de vue écologique, les pesticides ne sont pas des produits anodins. En effet, ils sont responsables de nombreux effets toxiques secondaires causant des risques potentiels pour l'environnement. (Relyea R.A, 2009).

I.8.2.1. Effets nocifs sur la microflore du sol

La microflore est essentielle pour le maintien de la fertilité du sol. Or, même si les traitements sont le plus souvent appliqués sur les parties aériennes des plantes, plusieurs études ont montré que l'emploi massif des pesticides peut avoir des répercussion majeurs sur les autres invertébrés.(Relyea R. A, 2009).

I.8.2.2. Effets nocifs sur les mammifères

Les animaux absorbent les produits phytosanitaires via la nourriture ou l'eau d'alimentation, via l'air respiré ou à travers leur peau. Ayant franchi diverses barrières, le toxique atteint les sites du métabolisme ou il est stocké. Cette exposition peut engendrer chez les mammifères toute une gamme d'effets toxiques dont des baisse spectaculaires de fertilité souvent remarquées (Relyea R. A, 2009).

I.8.2.3. Effets nocifs sur les faunes aquatiques

Les produits phytosanitaires et leurs dérivés peuvent provoquer des dégâts importants sur la faune aquatique. En effets, même si les mortalités des poissons représentent les effets les plus spectaculaires, les autre composantes de l'écosystème aquatique comme les mollusques, les insectes, les petit crustacés, les algues et les plantes aquatiques sont aussi affectées par les effets néfastes des pesticides. (Relyea R. A, 2009).

II. La Génotoxicité

II.1. Définition

Les génotoxiques sont des molécules qui présentent un effet toxique sur le génome, en particulier une capacité d'altérer le matériel génétique. Ces altérations peuvent être soit directes en induisant une modification de l'ADN (mutations géniques) ou des chromosomes (mutations chromosomiques), soit indirectes comme la modification de la structure des nucléotides avant incorporation dans l'ADN ou l'inhibition des enzymes de synthèse ou de réparation (ADN polymérase, ligases, topoisomérases, etc.) (Mutations génomiques). (Favelier, 1995).

II.2. Les tests de génotoxicité

Un certain nombre des méthodes sont actuellement utilisées ou en cours d'évaluation. Il est utile de rappeler que pour qu'un test soit valable, il doit satisfaire aux conditions suivantes:

- Etre commode à réaliser et ne comporter aucun risque pour le sujet
- Fournir des résultats précis et reproductibles avec un minimum d'erreurs analytiques possibles
- Enfin, et surtout, l'information obtenue doit être quantitativement significative en termes de risques pour la santé d'un individu ou d'un groupe d'individus. (Kaldor J, 1988).

II.2.1. test d'Ames

Principe: Le test d'Ames est un test de mutation génique. Il consiste à examiner si une substance chimique est capable d'induire des mutations chez une bactérie : *Salmonella typhimurium* his⁻. (Maron D et al, 1983).

Les souches de *S. typhimurium* utilisées sont porteuses d'une mutation sur l'un des gènes gouvernant pour la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation his⁻, rend les souches incapables de se développer sur milieu de culture dépourvu d'histidine. Avec une fréquence propre à chaque souche, ces mutations "his⁻" peuvent réverter spontanément vers "his⁺". Les bactéries porteuses de cette mutation réverses, peuvent alors pousser sur milieu dépourvu de cet acide aminé. La fréquence de ces mutations réverses peut être

considérablement augmentée en exposant les bactéries à un agent mutagène. Le test d'Ames permet de quantifier l'induction de ces mutations réverses "his⁺".

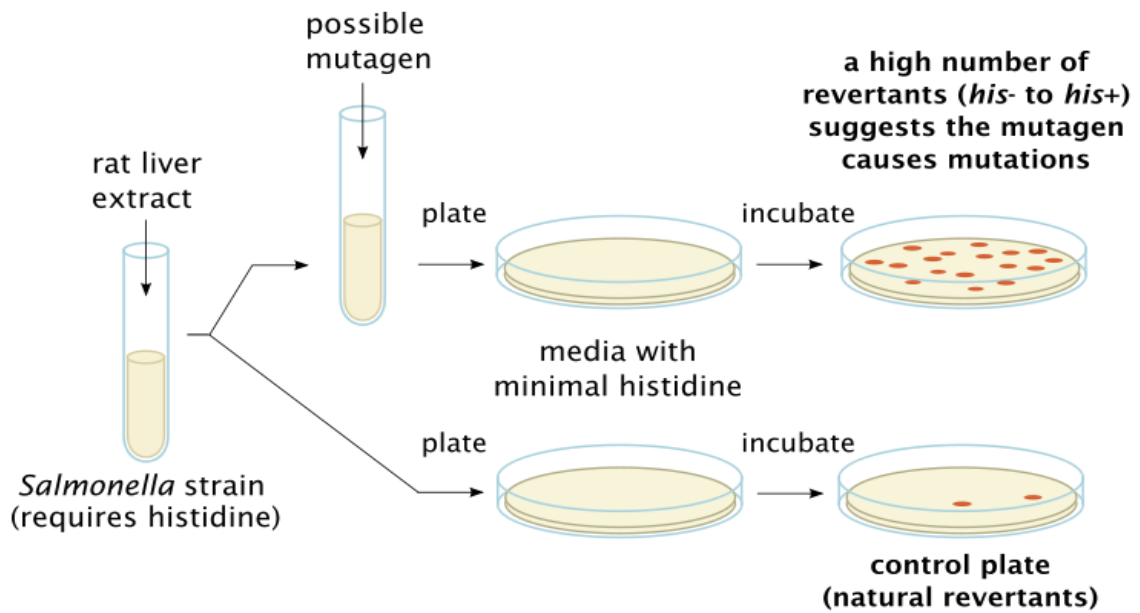


Figure 2: principe d'application du teste d'Ames. (Maron D et al, 1983).

II.2.2. test des micronoyaux (MN)

L'observation des micronoyaux en tant qu'indicateur de génotoxicité est apparue dans les années 1940, mais c'est dans les années 1970 que ce test a été développé sur un grand nombre d'organismes. Un micronoyau est défini dans le « Glossary of Genetics and Cytogenetics » de Rieger *et al.* (1968) comme « un petit noyau surnuméraire séparé du noyau principal de la cellule, formé pendant la télophase mitotique ou méiotique et constitué de chromosomes entiers ou de fragments acentriques d'ADN résultant de modifications structurales, spontanées ou expérimentales des chromosomes ». (Lauwerys *et al.*, 2007).

Principe : Suite à l'action de substances clastogène et/ou aneugènes, des micronoyaux peuvent apparaître dans le cytoplasme des cellules végétales ou animale. L'observation microscopique des cellules-filles méristématiques racinaires après coloration à l'acétorcéine permet le dénombrement de ces micronoyaux. Leur fréquence d'apparition est un marqueur très fiable de la présence d'agents génotoxiques dans un sol ou en milieu liquide. (Ortega, 2004).

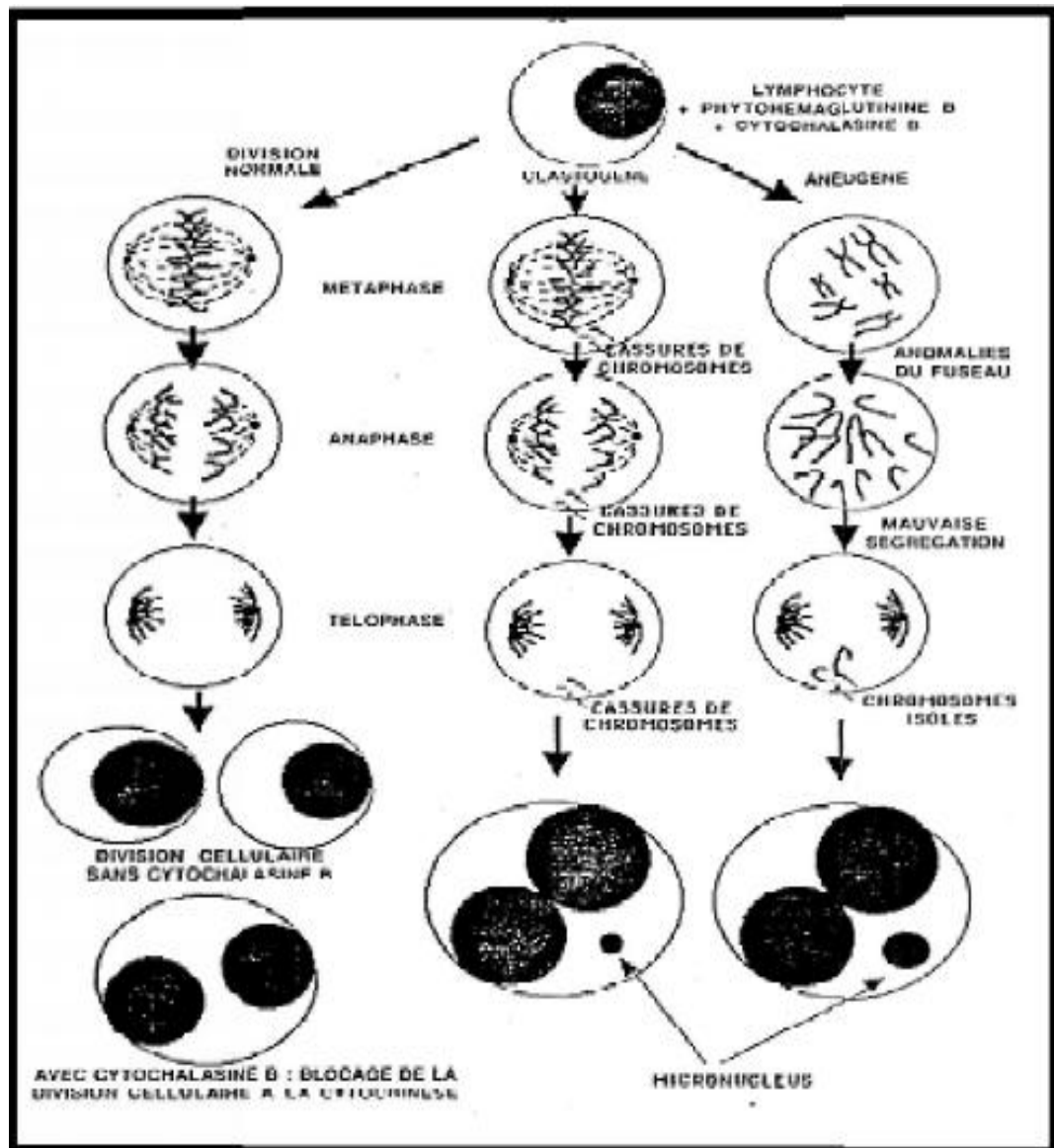


Figure 3: Formation des micronoyaux, (Schmid, 1975).

II.2.3. Test d'aberrations chromosomiques

Le test d'aberrations chromosomiques (CA pour chromosomal aberrations) consiste à étudier les anomalies de structure et de nombre des chromosomes. Les aberrations chromosomiques de structure sont secondaires à des cassures suivies ou non d'un recollement incorrect. Elles se traduisent par des fusions chromosomiques, des translocations (échanges de segment chromosomique), des délétions (pertes d'un segment chromosomique), des duplications (gains d'un segment chromosomique)...

Les aberrations chromosomiques sont également dues à un défaut de réparation des mésappariements. Les réarrangement chromosomiques sont fortement impliqués dans les processus de cancérogenèse faisant de ce test une méthode importante pour estimer le risque tumoral. (Solomon et *al*, 1991).

Le test des aberrations chromosomiques est également réalisé à partir de lymphocytes sanguins cultivés *in vitro*. Cependant, ce test peut être également réalisé sur d'autres types cellulaires en proliférations. La culture lymphocytaire est réalisée pendant environ 48 heures en présence de phytohémataglutinine, molécule stimulant la prolifération lymphocytaire. A la fin de la culture, un inhibiteur du fuseau mitotique de type colchicine est ajouté afin de bloquer les lymphocytes au stade de (pro) métaphase de la mitose.

La fréquence des aberrations chromosomiques correspond au nombre total d'aberrations pour 100 cellules analysées. Il est également possible de déterminer les anomalies numériques (gains ou / et pertes). Cette méthode est peu utilisée car elle exige des compétences et expertises spécifique et demande un travail conséquent.

Les inconvénients

- Les résultats sont souvent contradictoires pour le même agent, en raison de variations individuelles dans la fréquence de base des modifications de la structure
- Une méthode en cours d'évaluation, dont la technique n'est pas encore bien standardisée.
- L'absence de corrélation entre la présence de micronoyaux et la probabilité de survenue d'un cancer. (Nataragan et *al*, 1984).

Les avantages

- Une technique rapide et simple
- L'utilisation directe de cellules épithéliales, comme les cellules de l'expectoration, cibles directes de certains génotoxiques. (Nataragan et *al*, 1984).

II.2.4. Test de comète

Le test de comète ou « simple cell gel électrophorèses assay » doit son nom à la forme des images analysées au microscope. Il comporte une électrophorèse en micro gel

qui permet d'évaluer les lésions primaires de l'ADN (cassures doubles brin) cellule par cellule. Le traitement alcalin introduit par l'équipe de Singh (1988) permet de dénaturer l'ADN et de détecter ainsi les sites labiles alcalins, les cassures simples brin, les sites de réparation et les pontages. (Singh *et al*, 1988).

Ce test ne nécessitant pas de culture *in vitro* permet de détecter des lésions précoces de l'ADN. Cette méthode est généralement réalisée sur les lymphocytes sanguins, mais elle peut être utilisée sur n'importe quel type cellulaire (cellule nerveuses, cellule épithéliales, spermatozoïdes ...etc.). Les cellules peuvent être immédiatement traitées. Elles sont mélangées avec de l'agarose qui, étalé sur une lame de microscope en formant un gel. Ensuite, elles sont lysées avec un détergent et les protéines sont extraites par des solutions salines afin de libérer l'ADN. L'ADN nucléaire est généralement dénaturé en milieu alcalin (pH 13), puis subit une électrophorèse. Les fragments d'ADN nucléaires de petite taille migrent en direction de l'anode en formant une image de comète à l'avant des molécules d'ADN nucléaire intactes.

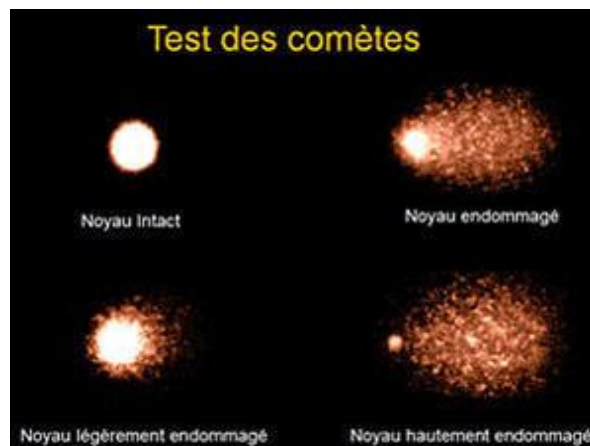


Figure 4: le noyau dans le test de comète. (Singh *et al* ., 1988).

Après l'électrophorèse, l'ADN est coloré avec un fluorochrome tel que le bromure d'éthidium. Dans le cas d'un traitement alcalin, une étape de neutralisation est réalisée avant la coloration. Au moins 50 cellules sont analysées avec un système d'analyse d'image afin de déterminer plusieurs paramètres associés aux lésions de l'ADN:

- Longueur de la comète (comet length ou CL) qui correspond à la longueur totale de la comète exprimée en μm .

- Longueur de la queue de la comète (tail length ou TL) mesurée du centre du noyau jusqu'à la fin de la queue (exprimée en μm) .
- Le pourcentage d'ADN migré dans la queue de la comète par apport à l'ADN total (tail DNA ou TD)
- Le moment de la queue de la comète qui correspond à la longueur de la queue multipliée par le pourcentage d'ADN.

Ce test est l'un des tests les plus utilisés en raison de la simplicité, de sa rapidité et de son faible coût.

II.2.5. Test *Allium cepa*

Les méristèmes racinaires des plantes présentent une grande sensibilité aux effets génotoxiques des composés chimiques et sont particulièrement de bons candidats pour les études cytogénétiques. (Zaka *et al*, 2002).

L'évaluation des propriétés anticancéreuses sur les apex racinaires de *Allium cépa* date de 1938 par les premiers travaux réalisés par levan (1938) en étudiant l'effet de la colchicine sur les mitoses racinaires d'*Allium*.

L'oignon (*Allium cepa* L) est une monocotylédone appartenant à la famille des Liliacées qui renferme 500 espèces et plus (Tableau 2). Elle est la plus cultivée (Jones et Mann, 1963). Toute population d'*Allium cepa* possède ($2X = 16$) chromosomes larges et longs (Van Der Meer *et al*, 1993), caractérisée par un haut pourcentage de division cellulaire, détection facile des aberrations chromosomiques après simple coloration.

Tableau 2: Classification systématique de l'oignon (*Allium cepa*) (Van Der Meer *et al*, 1993).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Spermatophyta
Classe	Liliopodia
Ordre	Liliales
Famille	Liliaceae
Genre	<i>Allium</i> L.
Espèce	<i>Allium cepa</i> L.

Le test d'*Allium cepa* a été utilisé par de nombreux chercheurs principalement comme un bioindicateur de la pollution de l'environnement (Bagatini *et al* 2009, Leme, 2009), testant des extraits bruts de cyanobactéries (Laughinghouse, 2007), ainsi que pour évaluer la potentiel génotoxique des plantes médicinales (Camparoto *et al* 2002; Knoll *et al* 2006; Lubini *et al* 2008; Fachinetto *et al* 2007; Fachinetto et Tedesco, 2009), car ce test utilise un modèle qui est suffisamment sensible pour détecter des substances qui provoquent des altérations innombrables chromosomiques. D'ailleurs, les cellules méristématiques végétales constituent un matériel d'une qualité inégalable pour l'étude de la mitose, Elles se rapprochent de ce qu'on pourrait appeler « la cellule isolée typique » ou « l'unité fondamentale ». (Ollivers, 1956).

Le test d'*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 d'éventuels dommages à l'ADN des eucaryotes à prédire. Par conséquent, les données peuvent être extrapolées pour l'ensemble de la biodiversité animale et végétale. L'analyse des altérations chromosomiques peut être égale à l'essai de mutagénicité principalement pour la détection de modifications structurelles; cependant, il est possible d'observer des altérations chromosomiques numériques.

Partie II : Travail expérimental

Matériel et méthodes

I. 1. Matériel

I.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 [5 et 8cm], 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.

I.1.2. Produits chimiques

Le pesticide utilisé est l'herbicide Zoom, il est composé de deux substances actives :

-Le dicamba (65,9%) : le nom d'identification est : Acide 3,6-dichloro-2-méthoxybenzoïque, sa formule chimique est : $C_8H_6Cl_2O_3$.

-Le triasulfuran (4,1%) : le nom d'identification est : 3-(6-méthoxy-4-méthyl-1,3,5-triazin-2-yl)-1-[2-(2-chloréthoxy)-phénylesulfonyl]-urée, sa formule chimique est $C_{14}H_{16}ClN_5O_5S$.

-Second nom commercial du produit Zoom de référence : LINTUR 70 WG. (Gustafson).

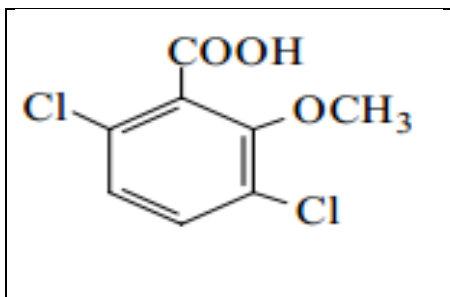


Figure 5 : la structure chimique du dicamba (Gustafson,1989).

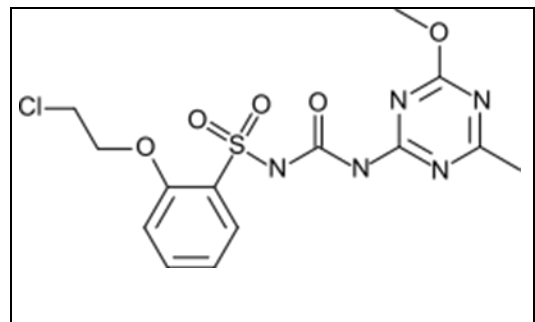


Figure 6: la structure chimique du Triasulfuran. (Gustafson ,1989).

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)

1.2. Méthodes :

I.2.1. Préparation du pesticide testé

Différentes concentrations du pesticide Zoom sont préparées dans l'eau de robinet [100, 200, 300, 400, 500] mg /ml. L'eau de robinet est utilisée comme contrôle négatif.

I.2.2. Détermination de la CE50

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 Zoom. La concentration produisant 50% d'inhibition de la croissance des racines relativement au contrôle est calculée et exprimée comme étant la CE₅₀.

I.2.3. Index mitotique et le test d'aberration chromosomiques

Les concentrations utilisées dans ce test sont basé sur la valeur de la CE₅₀ 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 (Fiskesjö, 1994 ; Knoll *et al*, 2006 ; Fachinnetto *et al*, 2009).

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 (Guerra et Lopes, 2002).

I.2.4. Observation microscopique et analyse

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 (Ozmen et Summer, 2004 ; Sehgal *et al*, 2006) selon la formule:

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

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 (Ozmen et Summer, 2004).

1.2.5. 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 $P \leq 0,05$.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

Le test *Allium cepa* a souvent été utilisé pour la détermination de la cytotoxicité et/ou les effets génotoxiques de différentes substances (Grand, 1982). Il est considéré comme une procédure standard pour un test rapide et la détection des niveaux de toxicité et de pollution dans l'environnement.

Dans la présente étude, La toxicité et la génotoxicité du pesticide Zoom est évaluée par le test *Allium cepa* en prenant en considération trois paramètres : L'inhibition de l'élongation racinaire en déterminant la CE50, l'effet sur l'index mitotique et l'étude des aberrations chromosomiques.

1. Test d'inhibition de l'élongation racinaire

La toxicité du zoom est évaluée en adoptant la méthode déterminant la CE50 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 5. 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 $r^2 = 0.96$ (effet dose-réponse). La concentration efficace $EC_{50} = 257,5$ mg/l.

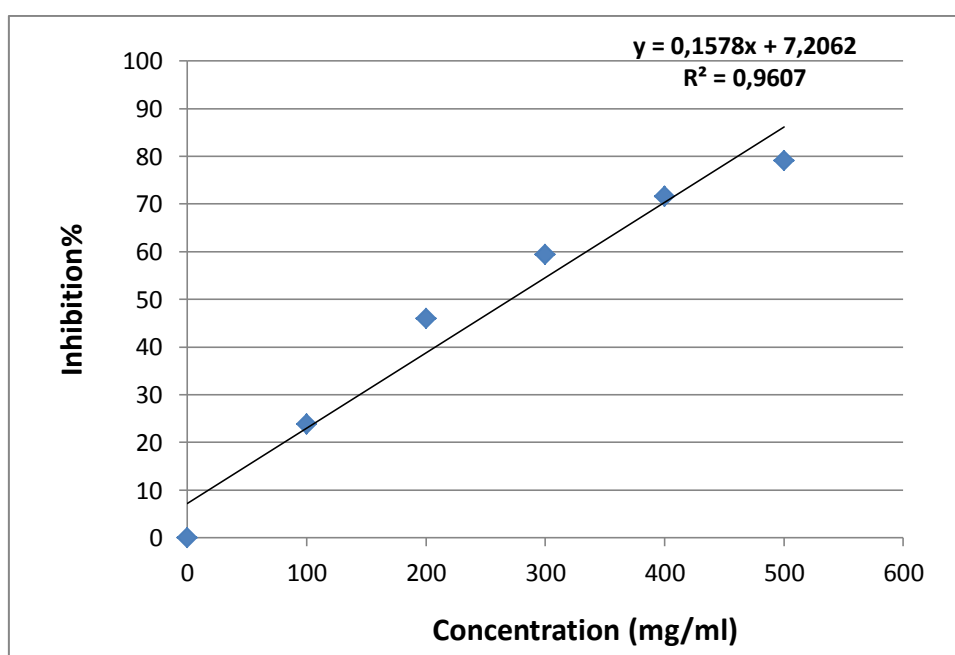


Figure 7: Effet inhibiteur des différentes concentrations du Zoom sur l'élongation racinaire d'*Allium cepa*.

2. L'indice mitotique (IM) :

L'effet du Zoom sur l'index mitotique du méristème racinaire d'*Allium cepa* est présenté dans le tableau 2 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.

Tableau 3: Effet du Zoom sur l'indice mitotique du méristème racinaire d'*Allium cepa*.

[mg/l]	Inter	Nombre de cellule en division / 1000				MI	MI%	Augmentation(+) ou diminution (-) du MI %
		Pro	Met	Ana	Telo			
00	9	61,6	1,2	15,1	13,1	0,91	100	00
100	16,7	60,5	0,3	9,5	13	0,833	91,54	-8,46**
200	21,4	47,6	00	11	20	0,786	86,37	-13,63***
300	23	51,4	0,5	5,1	20	0,773	84,94	-15,06***
400	23,3	56,7	3	5,1	14,6	0,767	84,28	-15,72***
500	35,3	28,5	4,7	7	24,5	0,647	70,87	-29,13***

Inter : Interphase, Pro : prophase, Met : Metaphase, Ana : Anaphase, Telo : Telophase, IM : Index mitotique. (**) si $p < 0,01$, (***) si $p < 0,001$.

On note une diminution significative de l'indice mitotique de manière dose-dépendante après l'exposition aux différentes concentrations du pesticide. L'inhibition de la croissance des racines est généralement liée à l'activité méristématique apicale (Webster et Macleod, 1996), et à l'allongement cellulaire au cours de la différenciation (Fusconi et al., 2006). 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. La diminution de ce paramètre est considérée comme un signe de toxicité par plusieurs auteurs (Saxena P.N et al, 2005 ; Muhsin K et al, 2007 ; vanya P et al, 2009 yildiz et al., 2009 ; Acita O A et Matebesi L P ; 2010). Donc, il est possible que la diminution observée de l'IM dans notre étude soit due à la toxicité du pesticide zoom qui peut inhiber la synthèse d'ADN ou bloquer dans la phase G2 du cycle

cellulaire. ont désigné des valeurs limites cytotoxiques pour l'IM : une diminution en dessous de 29% du contrôle négatif, à une ou plusieurs doses et ont été adjugés comme toxique pour les cellules de pointe oignon profondes. Une dépression de l'index mitotique a été enregistrée par de nombreux chercheurs à la suite d'un traitement avec des pesticides (Amer et de Farah, 1974; Panda et Sahu, 1985; Asita et Makhalemele, 2008). Cette diminution provoque des effets sublétaux sur l'organisme d'essai tandis qu'une baisse inférieure à 80% a des effets létaux.

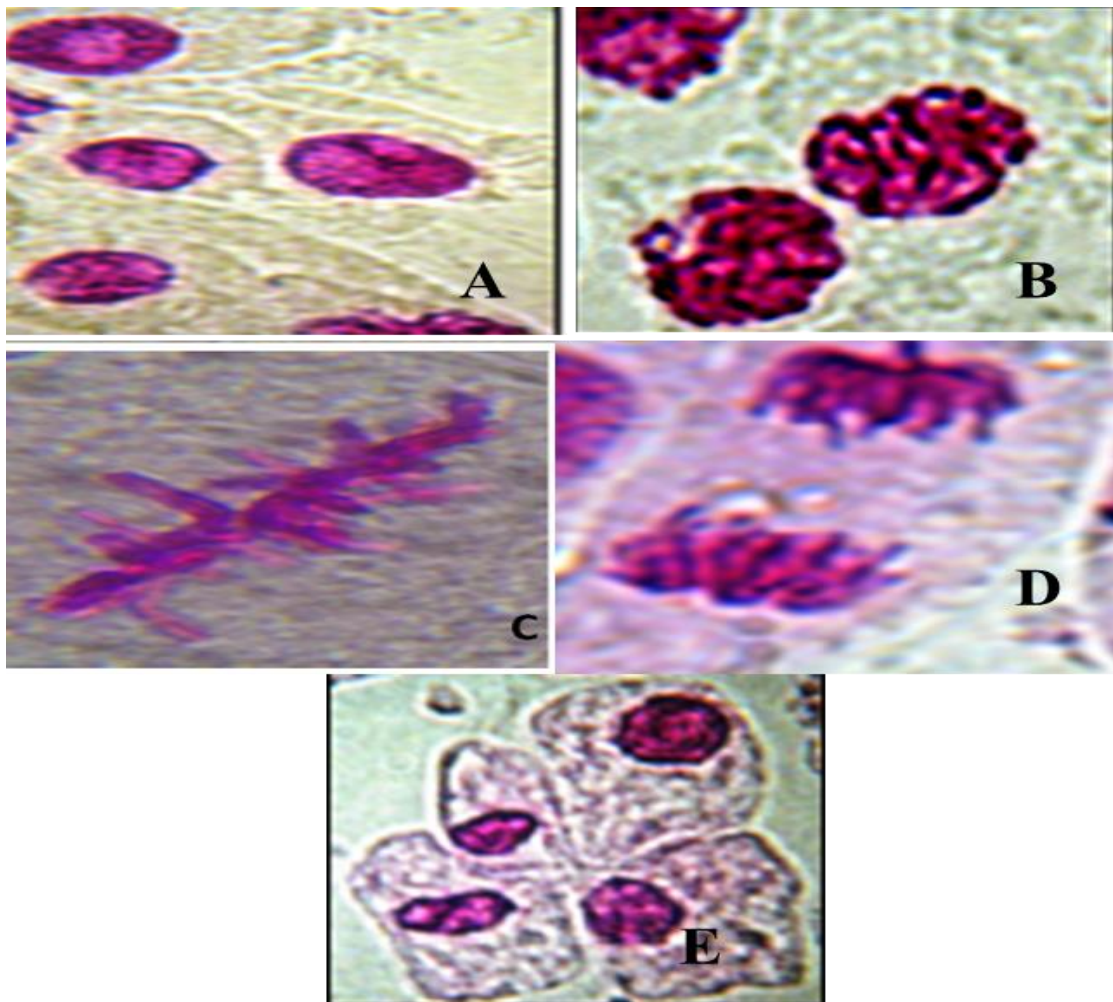


Figure8: Cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* en division régulière et normale : (A) interphase, (B) prophase, (C) métaphase, (D) anaphase, (E) télophase

3. Test d'aberration chromosomique :

Pour évaluer les anomalies chromosomiques par le test *d'Allium cepa*, plusieurs types de CA 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 Fiskesjö1985., 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.

Les résultats du test d'aberration chromosomiques sont présentés dans le tableau suivant. 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 zoom.

Les types les plus courants d'effets génotoxiques d'aberrations chromosomiques observées étaient le C-mitose et les fragments chromosomiques ; puis les ponts et la perte de chromosomes ainsi que autres aberrations moins fréquentes. On note que l'augmentation du taux des aberrations chromosomiques est proportionnelle à l'accroissement des doses de zoom (il ya une difference segneficative entre les différentes concentrations et le témoin).

Tableau 4 : Effet génotoxique du zoom sur le méristème racinaire d'*Allium*

Cepa.

[mg /l]	Nbrede cellules en division	Fragments	pont	c-mitose	perte	Autre	AC%
00	910	0,54	00	0,27	0,27	00	1,08
100	833	2,59	0,94	0,32	00	00	3,85
200	786	1,95	1,17	0,58	0,78	0,77	5,25
300	773	1,91	1,53	1,14	1,53	0,76	6,87
400	767	5,75	2,12	1,51	0,3	0,3	9,98
500	647	2,95	1,26	2,53	1,26	2,53	10,53***

Les ponts et les fragments chromosomiques, sont des indicateurs d'une action clastogène, tandis que les pertes de chromosomes, les retards, l'adhérence, la multipolarité et C-métaphases résultent d'effets aneugènes.

Les ponts de chromatine pourraient se produire au cours de la translocation et l'échange de chromatides inégale et provoquent des mutations structurelles chromosomiques. Ce type d'anomalie a également été observée dans la mitose d'*Allium cepa* après les traitements avec des pesticides.

Les ponts peuvent être chromosomique due 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 fin anaphase ou télophase. Si ces liaisons deviennent trop fortes, les chromatides peuvent se briser (Gömürgen, 2005; Türkoglu, 2008, El-Ghamery *et al*, 2000; Luo *et al*, 2004).

La présence de c-métaphase indique effets sur l'organisation de la chromatine, qui peut être liée à un déséquilibre des protéines responsables de la structure de la chromatine nucléaire (Kuraset *al*, 2006). Le présent essai montre que le pesticide zoom peut avoir des effets génotoxiques à une certaine dose. La présence de c-métaphase cellules était la preuve de l'action de la pesticides concernés sur le fuseau mitotique (Matsumoto *et al*, 2006).

Au vue de toutes ces donnée et les résultats obtenus, on, peut dire que notre études a montré un effet génotoxique du pesticide zoom qui présenté dans les figures suivant :

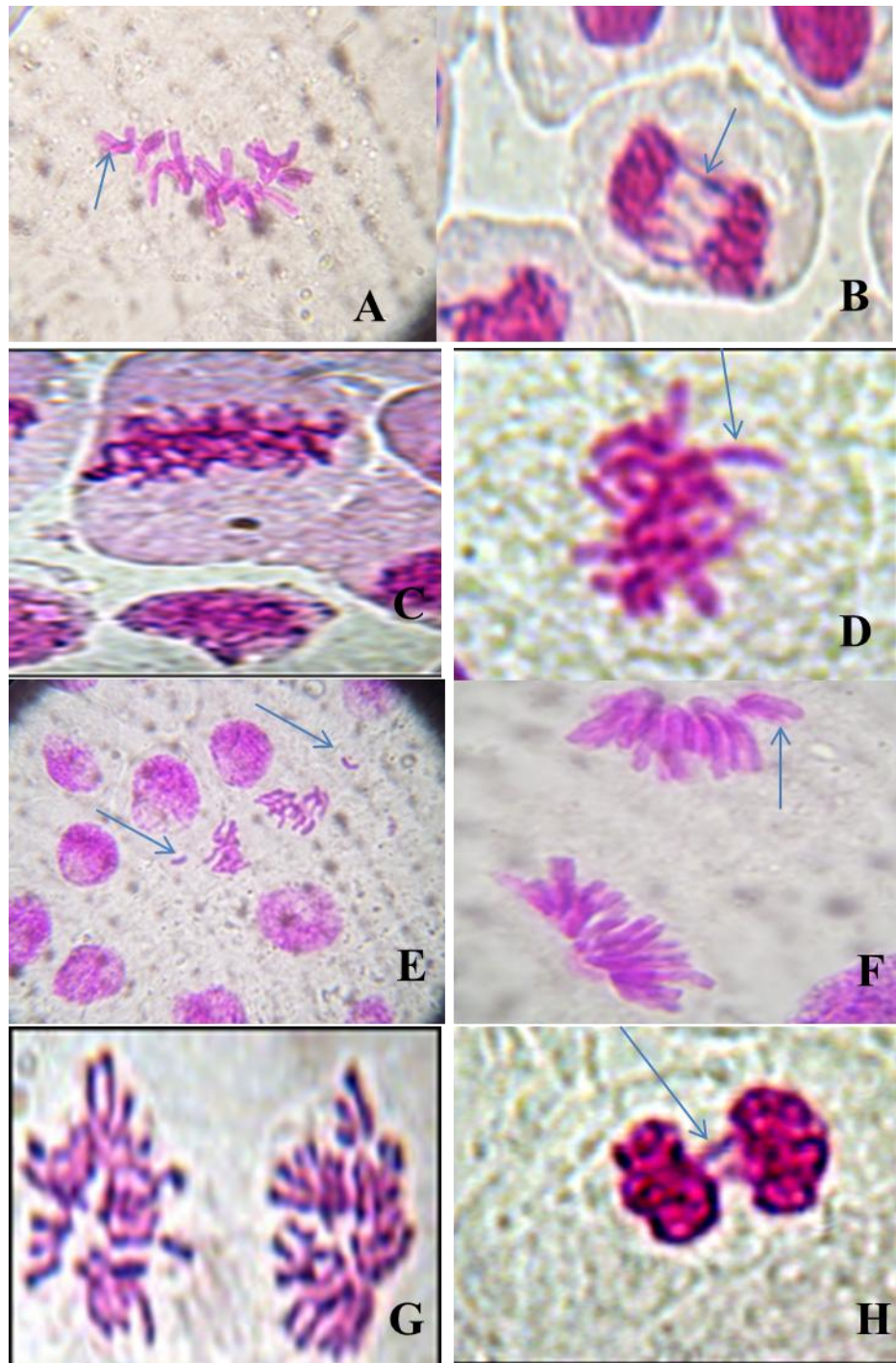


Figure 9 : les types d'aberration chromosomiques dans le méristème racinaire d'*Allium cepa* exposé au pesticide Zoom : (A) : métaphase avec chromosome perte, (B) : anaphase avec pont chromosomique , (C) : aberration de type c- métose, (D) : métaphase avec fragment chromosomique, (E) : anaphase avec chromosome perte, (F) : anaphase avec chromosome pause, (G,H) : autres aberration chromosomiques .

Conclusion

conclusion

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

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.

Références bibliographiques

References bibliographique

- Arias E.M., Lopez P.E., Martinez C.E., Simal G.J., Murut J.C., Garcia R.L. 2008. The mobility and degradation of ground water resources. *Agriculture, Ecosystems and Environment* vol 123:247-260.
- Ateeq B, M. Adul Farrah, M.N. Ali, W. Ahmad, Clastogenicity of pentachlorophenol, 2,4-D and butachlor evaluated by *Allium rot tip test*, *Mutat. Res.* 514(2002)05-113
- Aubertol J.N., Barbier J.M., Carpentier A., Gril J.J., Guichard L., Lucas P., Savary S., Savini I., VOLTZ M., 2005. Pesticides, agriculture et environnement : Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux ; Rapport d'Expertise scientifique collective, INRA ET CE MAGREF. France. 64 p.
- azedarach L., *Caryologia*, 57, pp. 290-293.
- Bagatini, M.D, Fachineto, J.M, Silva, A.C.F. & Tedesco, S.B, 2009. Cytotoxic effects of infusions (tea) of *Solidago microglossa* DC. (Asteraceae) on the cell cycle of *Allium cepa*, *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 19(2B), pp. 632-636, ISSN: 0102695X.
- BOLAND ; I. KOOMEN ; VAN LINDTH ; D.E. JEUDE ; J. OUDEJANS. les pesticides composition. utilisation et risques. Edition agro dok (2004).
- Bolle P, S. Mastrangelo, P. Tucci, M.G. Evandri, Clastogenicity of atrazine assessed with the *Allium cepa* test, *Environ. Mol. Mutagen.* 43 (2004) 137-141.
- Borboa L, C. De La Torre, The genotoxicity of Zn(II) and Cd(II) in *Allium cepa* root meristematic cells, *New Phytol.* 134 (1996) 481-486.
- Cabrera G.L. et Rodriguez D.M.G., 1999. Genotoxicity of leachates from a landfill using three bioassays. *Mutat. Res.*, 426 : 207-210.
- CALVET. Les pesticides dans le sol. édition France Agricole 2005.
- Camparoto, M. L., Teixeira, R.O., Mantovani, M. S. & Vicentini, V.E.P, 2002. Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion root-tip and rat bone-marrow cells. *Genetics and Molecular Biology*, 25, pp. 85-89, ISSN 1415-4757.
- Capkin E., Altinok I., Karatian S. 2006. Water quality and fish size affect toxicity of endosulfane, an organochlorine pesticides, to rainbow trout. *Chemosphere* vol 64 : 1793-1800.
- Chi Anh Ta, 1997. Effet des fibres alimentaire sur la mise en disponibilité des résidus de pesticides retrouvés dans la diète. *Sciences des aliments et de Nutrition*. Québec, p167.

- Colin F. 2000. Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires, cas de l'atrazine dans le bassin versant du Sousson (Gers , France) ,Thèse de doctorat , Unité de recherche mixte : CEMAGREF-ENGREF « structures et systèmes spatiaux » , Montpellier , France . 274 P.
- Corcia A., Marchetti M .1991 .Multiresidue method for pesticides in drinking water using a graphitized carbon black cartridge extraction and liquid chromatographic analysis, *Analytical chemistry*, vol 63 : 580 – 585 .
- Cuppen J .G .M . , Vanden Brink P .J . , Canps E., Vil K .F. Brock T .C.M .2000 . Impact of the fungicide carbendazim in fresh water microcosms. Water quality breakdown of particulate organic matter and responses of macro invertebrates. *Aquatic Toxicology* .vol 48 : 233 – 250 .
- El-Ghamery, A.A., El-Nahas, A.I., Mansour, M.M., 2000. The action of atrazine herbicide as an indicator of cell division on chromosomes and nucleic acid content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytologia* 65, 277–287.
- Fachineto, J.M. et Tedesco, S.B, 2009. Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*, *Rev. Bras. Pl. Med.*, 11,4, pp. 360-367, ISSN 1516-0572.
- Fachineto, J.M., Bagatini, M.D., Silva, A.C.F. & Tedesco, S.B. (2007). Efeito antiproliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*, *Rev. Bras. farmacogn.*, 17, 1, pp. 49-54, ISSN: 01 02695X.
- Favelier J., 1995. Manuel de Prévention des risques associés aux techniques biologiques. Elsevier Masson, ed., p.365 .
- Feretti D, Zerbini I, Zani C, Ceretti E, Moretti M, Monarca S, 2007. *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of Extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. *Food Addit. Contam.* 24 (26): 561-572.
- Fiskesjö G, The *Allium* test as a standard in environmental monitoring, *Hereditas* 102 (1985) 99–112.
- Fusconi, A., Repetto, O., Bona, E., Massa, N., Gallo, C., Dumas-Gaudot, E., Berta, G, 2006. Effect of cadmium on meristem activity and nucleus ploidy in roots of *Pisum*.

- Gömürgen AN 2005. Cytological effect of the potassium metabisulphite and potassium nitrate food preservative on root tips of *Allium cepa* L. *Cytologia* 70: 119-128.
- Guerra, M. & Lopes, M.J.S, 2002. Como observar cromossomos - Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana (1). Ed. FUNPEC, Ribeiro Preto, SP. Gulewicz, Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium test* induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC, *J. Ethnopharmacol.* 107 (2006) 211–221.
- Gustafson, D.I. 1989. Ground water Ubiquity Score: A Simple Method for Assessing Pesticide Leachability. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 8:339-357.
- Hildebrandt A. Guillamon M., Lacorte S., Tauler R., Barcelo D. 2008. Impact of pesticides used in agriculture and vineyards to surface and groundwater quality (North Spain) ; *water research* ISSN 0043 -1354 CODEN WATRAG. Vol .42, nº 13. 3315 – 3326.
- Himel C. M., Loats H. , Bailey G .W .1990 .pesticides of sprays. *Pesticides in the soil environment : processes, impacts and modeling*, SSSA Book series, vol 2 : 7 – 50.
- Ikeda K., Pant B ., Mishiro A . , Ozawa K., Masujima T. Et Sugiyama M., 2000. A convenient method for the evaluation of anti-tumor agents affecting the cell cycle. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 90 (5) : 574 – 576.
- Jahier J. , 1992. *Technique de cytogénétique végétale* .INRA, ed ., Paris. p .181 .
- Jakanoviés M. 2001. Biotransformation of organophosphorus compounds. *Toxicology* .vol 166 : 139 – 160 .
- Kaldor J., DAYN. E- epidemiological. Studies of the relation ship between carcinogenicity and DNA damage. In BARTCH H., HEMMINKI K., O'NEILL I. K – *Methods for detecting DNA damaging agents in humans*. Lyon, IARC, 1988, IARC scientific publication nº9 , pp 460- 467.
- Knoll, M.F., Silva, A.C.F., Tedesco, S.B. & Canto-Dorow, T.S, 2006. Affects of *Pterocaulon polystachyum* DC. (Asteraceae) on onion (*Allium cepa*) root-tip cells. *Genet. Mol. Biol.*, 29, 3, pp. 539-542, ISSN 1415-4757.
- Kuras M., Mowakowsha J., Sliwinska E. , Pilarski ., Ilasz R. , Tykaska T. , Zobel A .et Gulwisz K. , 2006. Change in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium Test* induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (willd.) DC. *Journal of Ethnopharmacology* .107: 211 – 221.

- Kuras M . , Mowakowsha J . , Sliwinska E . , Pilarski R . , Ilasz R . , Tykaskat . , Zobel A . et Gulwizs K . , 2006 . Change in chromosome structure , mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium Test* induced by bark water extract of *Uncariatonentosa* (willd.) DC . *Journal of Ethnopharmacology* .107 : 211 – 221 .
- Laughinghouse IV, H.D, 2007. Efeitos citotóxicos e genotóxicos de extratos aquosos de cepas de *Microcystis aeruginosa* (Chroococcales, Cyanobacteria), Thesis, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, Sant Cruz do Sul, RS.
- Lauwerys R., Haufroid V ., Huet P. et Lison D., 2007. Toxicologie industrielle et intoxication professionnelles . Elsevier Masson, ed., p.1252.
- Leme, D.F. Angelis, M.A. Marin-Morales, Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells, *Aquat. Toxicol.* 88 (2008) 214–219.
- Leme, D.M. & Marin-Morales, M.A, 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring:
- Levan A . , 1938 . The effect of colchicines on root tip mitosis in *Allium* . *Hereditas* , 24 :471 – 486 . In Deysson G . , 1956
- LOPEZ B .C . , GOMEZ A.S . , REY G .M , CANCHO G . , Sinal G J .2005
- Luo, L.Z., Werner, K.M., Gollin, S.M., Saunders, W.S., 2004. Cigarette smoke induces anaphase bridges and genomic imbalances in normal cells. *Mutat. Res.* 554, 375–385.
- Ma T.H (1995) Application of simple and officient plant bioassays for detection of ecotoxicity ,dans les actes du colloque
- Mackenzie A, Ball SA, Virdee SR, 1998. Instant notes in Ecology. BIOS Scientific MOUSSAOUI K; R. BOUSSAHEL ; Y TCHOLAK ; O. HAOUCHINE ; M. BENMAMI ; N. DALACHI ; Ecole nationale polytechnique. publishers page 288-290.
- Maron D , AMES B , 1983 . Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test . *Mutation Res* . , 113 , 173 – 215 .
- Nataragan A. et Obe G., 1984. *Molecular* .
- Olliviers H .R . , Etude cytotoxicologique de l'influence de divers agents physiques et chimiques sur les plantules de Blé . *Revvvv .Canad . Biol .* , 7 :35-159 . In Deysson G , 1956 . Ortega M.I . , 2004 . Tests cytogénétiques :utilité en médecine du travail Difficulté lors de son application à la surveillance des travailleurs .

- Ortega M.I., 2004. tests cytogénétique : utilité en médecine du travail difficulté lors de son application à la surveillance des travailleurs. politique scientifique journée d'étude. ITUH-Bruxelles.
- Ozmen, A. & Summer, S, 2004. Cytogenetic effects of kernel extracts from *Melia*
- Plewa M.J, E.D. Wagner, D.A. Stavreva, T. Gichner, Plant activation and its role in environmental mutagenesis and antimutagenesis, *Mutat. Res.* 350 (1996) 163–171.
- Politiques scientifiques journée d'étude . ITVH – Bruxelles .
- Relyea R . A 2009 . A cocktail of contaminants : How mixtures of pesticides at low concentration affect aquatic communities . *oecologia* , vol 159 (2) : 363 – 376 .
- *sativum* L. cv. Fris Asita Okorie Asita et Matebesi L. P, 2010. Genotoxicity of hormoban and seven other pesticides to onion root tip meristematic cells, *African Journal of Biotechnology* Vol. 9 (27), pp. 4225-4232. son seedlings. *Environ. Exp. Bot.* 58, 253–260.
- 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.
- SCHMID W, 1975. The micronucleus test. *Mutation Res*, 31:9-15.
- Sehgal, R, Roy, S. & Kumar, D.V.L, 2006. Evaluation of cytotoxic potential of latex of *Calotropis procera* and Podophyllotoxin in *Allium cepa* root model, *Biocell*, 30, 1, pp.9-12.
- Taylor D, Green N, Stout G, 1997. *Biological Science*. 3rd edition Cambridge University Press, Australia.
- Türkoglu S 2008. Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Food Chem Toxicol* 46: 2035-2041.
- Vander 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.
- Webster, P.L, MacLeod, R.D, 1996. The root apical meristem and its magrin. In: Waishel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (Eds.), *Plant Roots. The Hidden Half*, second ed. Marcel Dekker, New York, pp. 51–76.

- Yıldız, M, Cigerci, I.H, Konuk, M, Fidan, A.F, Terzi, H, 2009. Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. *Chemosphere* 75, 934–938.
- ZakaR . , ChenalC .etMisset M . T . , 2002 .study of external low irradiation dose effects on induction of chromosome aberration in pisumsativum root tip meristem ,*Mutat . Res .* , 517 : 87 – 99 .13, ISSN 1667-5746.

Web graphie

[1] Disponible sur : « <http://WWW.observatoire-pesticides.gouv.fr/index.php?pageid=61> » (consulté le 1^{ER} mars 2015).

[2] <http://observatoirepesticides.gouv.fr/index.php?pageid=64&print=true>
(consulté le 07/04/2015).

[3] http://www.officielprevention.com/protectionscollectivesorganisationergonomie/risquechimique/detail_dossier_CHSCT.php?rub=38&ssrub=69&dossid=506(consulté le 24/02/2015).

[4] http://www.sustainlabour.org/documentos/fra34_2011.pdf (consulté le 16/02/2015).

Annexe

Annexe

Préparation des concentrations du pesticide zoom :

-la première concentration contient 100 mg de pesticide zoom dans un 1000 ml d'eau de robinet

- la deuxième concentration contient 200 mg de zoom dans un 1000 ml d'eau de robinet

-la troisième concentration contient 300 mg de zoom dans un 1000 ml d'eau de robinet

- la quatrième concentration contient 400 mg de zoom dans un 1000 ml d'eau de robinet

-la cinquième concentration contient 500 mg de zoom dans un 1000 ml d'eau de robinet

▪ La dilutions d'éthanol 95 % :

pour diluée l'éthanol 95 % à éthanol 70% en prend 70 ml de éthanol 95% et compléter le volume par L'eau distille jusqu'a 100 ml .

Après 24 heures rincer 3 fois les racine de chaque tube par l'éthanol 70% puis verser 2 ,5 ml d'éthanol 70% puis conserver à 4C° pour une observation différée .

▪ La préparation du Hcl :

préparé Hcl 1N a partir de Hcl 12,236 N , poser 20 ml de l'eau distillée dans une bicher de 100 ml puis ajoutée 8,1726 ml de Hcl puis compléter le volume jusqu'a 100 ml avec H₂O d pour avoir Hcl 1N puis conserver dans un flacon à 4C° .

▪ La préparation du colorant feulgene :

- Mesurer 0,25 g fushine basique

50 ml H₂O d bouillir à 100C° puis refroidissent 10 min (50C°)

Puis ajouter 5 ml de 1N Hcl et agiter avec l'agitateur, ajouter 0,5 g de K₂S₂O₅et aussi agiter avec l'agitateur .

Conservée dans un flacon sombre et couvert avec du papier aluminium pendant une nuit à 4C° .

-Filtrer le colorant à travers un papier filtre puis conserver dans un flacon sombre pour 15 à 20 jours au max .