

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique
جامعة 08 ماي 1945
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie Et Sciences De La Terre Et De
L'univers
Département De Biologie



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

Thème

**Etude de La génotoxicité et le stress oxydant des
eaux de Oued Seybouse Guelma (*Allium cepa* Test)**

Présenté par :

- ❖ Hamida Halima
- ❖ Bendafer Amina

Devant le jury composé de :

Présidente :	Dr. Cherairia M.	MCA	Université de Guelma
Examinatrice :	Dr. Boussenane H.	MCB	Université de Guelma
Encadrante :	Dr. Boumaza A.	MCB	Université de Guelma

Juin 2024



Remerciements

Avant toutes choses, nous remercions « ALLAH » de nous avoir donné L'ambition, la santé, la force, la persistance et le courage pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à remercier sincèrement notre encadrante Mme BOUMAZA AWATIF, pour sa disponibilité ainsi que ses conseils judicieux, ses orientations et ses encouragements durant toute la période de réalisation de ce travail.

Nous remercions chaleureusement à Mme CHERAIRIA M, pour avoir accepté la présidence du jury de la défense pour cette mémoire.

Nous remercions également Mme BOUSSENANE H, pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Nous souhaiterions également remercier nos professeurs de la faculté des sciences de la Nature et de la vie pendant les cinq années de notre parcours.

Nos remerciements vont aussi à toutes les techniciennes de laboratoires pour leur aide et disponibilité tout au long de la période du travail.

À toute les étudiants de la promotion

À toutes personnes ayant contribué de près ou de loin au bon déroulement de ce modeste travail.





Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À celle qui m'a offert des sentiments d'amour et de gratitude qui remplissent mon cœur. Tu es la bougie qui a illuminé ma vie avec chaleur et espoir, l'amie à qui je parle sans peur ni hésitation. Merci pour chaque moment que nous avons passé ensemble, pour chaque conseil et soutien que tu m'as donné, et pour tout l'amour que tu m'as donné. J'espère être toujours une partie de ta vie comme tu es une partie indispensable de la mienne. Ma mère « Bariza » que j'aime.

À l'homme courageux et fort, celui qui a toujours été là, qui m'a enseigné les véritables valeurs de la vie, celui qui m'a soutenu en toute circonstance.

Mon père « Ibrahim » que j'aime.

À ma chère sœur « Karima », mon âme sœur, pour son soutien constant, son soutien infini, et sa présence à chaque instant. Merci pour tout ce que tu fais pour moi et pour tout l'amour que tu me montres.

À tous mes frères « Bilal, Amar et Samir », à l'épouse de mon frère, « Khawla »,

À mes petits, les enfants de mes frères, notre joie et notre bonheur dans la famille, « Abderaouf, Ibtihal et Abdelmohaimen ».

À ma chère binôme admirable « Amina », courageuse pour son amour et sa collaboration avec moi dans ce travail jusqu'à la dernière ligne de notre plan.

*À toutes mes amies « Loubna, Imane, Rayane », ma cousine « Hadil » et mes proches qui m'ont toujours soutenue et conseillée,
À tous ceux qui ont contribué à me mener là où je suis aujourd'hui.*

Halima.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*À l'âme pure et parfumée de ma chère mère "Habiba",
Ma précieuse mère, tu as toujours été mon modèle dans cette vie. Tu m'as donné l'amour et l'espoir, et tu m'as enseigné la patience et la confiance pour avancer malgré les difficultés. Combien j'aurais souhaité que tu sois avec moi aujourd'hui pour partager ma joie de ma remise de diplôme et voir la fierté dans tes yeux.*

Maman, aujourd'hui je grimpe les échelons du succès et trace mon chemin de mes propres mains. Je prie Dieu qu'Il ait pitié de toi et te fasse habiter en Son vaste paradis.

*À mon très cher père "Ibrahim",
Qui a offert son soutien et son amour pour moi, et a sacrifié tant pour mon succès, je suis vraiment reconnaissante de ta présence dans ma vie. Que Dieu te protège, te garde et prolonge ta vie.*

*À mes frères "Abderraouf" et "Raid",
Que Dieu vous garde comme des piliers dans cette vie. Je vous souhaite une vie remplie de bonheur et de joie, Je prie Dieu de vous protéger*

*À ma chère sœur de mon cœur, "Soundous",
Mon baume pour mes blessures et compagne de mon âme, je te souhaite réussite, épanouissement et bonheur dans ta vie. Que Dieu te conserve pour moi, ma chère.*

*À mes belles cousines Hind, Amira et Malak,
Je vous souhaite réussite et succès dans vos études.
Celui qui apporte joie et bonheur à sa famille, Mohammed Taki Que Dieu te protège et te garde.*

*À ma partenaire, Halima,
Mon amie, avec qui nous avons lutté ensemble et avons donné de notre mieux pour achever ce travail, je suis reconnaissante que tu aies été ma compagne dans ce succès. Je te souhaite une vie heureuse pleine de joie et de bonheur.*

*À mes amies Loubna, Rayane et Imane,
Je suis très reconnaissante pour la vie qui nous a réunies et les années
d'études agréables que nous avons passées ensemble.*

Amína.

Liste d'abréviations

Ra: Radium.

U: Uranium.

Cs: Césium.

I: Iode.

Sr: Strontium.

MO: Matières organiques.

MOD: Matières organiques dissoutes.

SH : Substances humiques.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

UV: Ultraviolette.

T: thymine.

C: Cytosine.

G: Guanine.

A: Adenine.

ADN: Acide désoxyribonucléique.

SSB: Single strand binding.

DSB: Double strand break.

His: Histidine.

SCGE: Single cell gel électrophorase.

A. cepa: *Allium cepa*.

Km2: kilomètres carrés.

Cm: Centimètres.

ES: Eau synthétique.

AC: Aberrations chromosomiques.

IM: Indice Mitotique.

I: Interphase.

P: Prophase.

M: Métaphase.

A: Anaphase.

T: Télophase.

PH: Potentiel hydrogène.

CAT: Catalase.

ml : Millilitre.

M: Mol.

H₂O₂: Eau oxygénée.

Min: Minutes.

UV Vis: Ultraviolette visible.

Kg: Kilogramme.

SH: Sulfure analogue a hydroxyle.

nm: Nanomètre.

TCA: Trouble des conduites alimentaires.

μL: Micro litre.

MDA: Malondialdéhyde.

TBA: Acide 2-thiobabaturique.

mVpH: Potentiel hydrogène millivolt.

ORP: Potentiel d'oxydoréduction.

DO: Oxygène dissous.

$\mu\text{S/cm}$: Conductivité.

$\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$: Résistivité.

Tds: Taux des matières dissoute.

PSU: La salinité.

FNU: La turbidité.

EOR: Les espèces réactives de l'oxygène.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les effets des pollutions industrielles selon le type de substances émises.....	7
Tableau 02 : Classification d'oignon (<i>Allium cepa</i>).....	19
Tableau 03 : Paramètres physicochimiques des stations d'échantillonnage.....	28
Tableau 04 : Longueurs des racines d' <i>Allium cepa</i> exposées aux différents échantillons d'eau.....	29
Tableau 05 : Effet des différents échantillons d'eau sur l'indice mitotique et les phases mitotiques des cellules méristémiques des racines d' <i>Allium cepa</i> , et le Nombre Totale des Aberrations (NTA).....	30
Tableau 06 : paramètres du stress oxydant au niveau des racine d' <i>Allium cepa</i> traités avec les différents échantillons d'eau.....	33

Liste des figures

Figure 01 : Les principales sources naturelles et anthropique des polluants de l'eau.....	6
Figure 02 : Diversité des altérations de l'ADN en terme de lésions et de mutations.....	14
Figure 03 : Schéma de test d'Ames.....	15
Figure 04 : Photographie du noyau dans le test de comète.....	16
Figure 05 : Principe de l'essai de micronoyau avec blocage de cytokinèse.....	17
Figure 06 : Présentation des différents types d'aberrations chromosomique observés en dosimétrie biologique.....	18
Figure 07 : Schématisation de la balance entre les ERO et les antioxydants.....	20
Figure 08 : Carte géographique présente la zone étudiée.....	21
Figure 09 : Echantillonnage à partir d'un cours d'eau.....	22
Figure 10 : Site de prélèvement station 01 (Medjez Amar).....	23
Figure 11 : Site de prélèvement station 02 (Héliopolis).....	23
Figure 12 : Site de prélèvement station 03 (Boumahra Ahmed).....	24
Figure 13 : Site de prélèvement station 04 (Nadhor).....	24
Figure 14 : Bulbes cultivés dans différents échantillons.....	25
Figure 15 : Pourcentage des élongations relatives par rapport au contrôle négatif et les pourcentage d'inhibition de l'élongation racinaire.....	29
Figure 16 : les différentes phases mitotiques normales chez <i>Allium cepa</i> : (a) Interphase, (b) Prophase, (c)Métaphase, (d) Anaphase, (e) Télophase.....	32
Figure 17 : les différentes aberrations chromosomiques observées dans les extrémités des cellules racinaires d' <i>A. cepa</i> exposé à différentes concentrations de l'extrait aqueux d'EAZC.....	32
Figure 18 : Relation entre l'IM et le NTA (%).....	33
Figure 19 : paramètres du stress oxydant au niveau des racines d' <i>Allium cepa</i> traités avec les différents échantillons d'eau.....	34

Résumés

La rivière de Oued Seybouse, située dans la région du nord-est de l'Algérie est sujette à diverses formes de pollution, principalement dues aux rejets industriels, agricoles et urbains. Ces polluants peuvent avoir des effets nocifs sur la faune, la flore et la santé humaine. L'étude de la génotoxicité de l'eau est essentielle pour comprendre l'impact des polluants sur le matériel génétique des organismes vivants. Dans la présente étude, on a utilisé le test d'*Allium cepa*, comme méthode bien établie pour détecter les effets génotoxiques des polluants environnementaux. Des échantillons d'eau ont été prélevés à quatre stations de Oued Seybouse. Les bulbes d'*Allium cepa* (oignons) ont été exposés à ces échantillons, et des analyses cytotoxique et cytogénétiques ont été menées pour évaluer les effets toxiques et les anomalies chromosomiques et d'autres signes de génotoxicité. Trois paramètres de stress oxydant sont aussi analysés : l'activité enzymatique du catalase, le taux du GSH et la peroxydation lipidique par le dosage de l'MDA. Les résultats ont montré un effet génotoxique élevé par la diminution de l'indice mitotique et l'augmentation du nombre total des aberrations (NTA). Ces effets néfastes ont été accompagnés de l'augmentation du stress oxydant au niveau des racines d'*Allium cepa* traitées avec les échantillons d'eau des différentes stations d'Oued Seybouse. Cela signifie que les eaux d'Oued Seybouse sont hautement cytotoxique et génotoxique, ce qui les rend dangereuses pour l'irrigation et la santé humaine.

Les mots clés : *Allium cepa* test, pollution d'eau, génotoxicité, stress oxydant.

ملخص

يتعرض نهر وادي سيبوز، الواقع في المنطقة الشمالية الشرقية من الجزائر، لمختلف أشكال التلوث، ويرجع ذلك أساساً إلى التصريفات الصناعية والزراعية والحضرية. ويمكن أن يكون لهذه الملوثات آثار ضارة على الحيوانات والنباتات وصحة الإنسان. تعد دراسة السمية الوراثية للمياه أمراً ضرورياً لفهم تأثير الملوثات على المادة الوراثية للكائنات الحية. في هذه الدراسة، تم استخدام اختبار *Allium cepa*، كوسيلة راسخة للكشف عن التأثيرات السمية الجينية للملوثات البيئية. تم أخذ عينات المياه من أربع محطات في واد السيبوز. تم تعريض بصيالات *Allium cepa* لهذه العينات، وتم إجراء التحليلات السامة للخلايا والجينات الخلوية لتقييم التأثيرات السامة والتشوهات الصبغية وغيرها من علامات السمية الجينية. تم أيضاً تحليل ثلاثة معلمات للإجهاد التأكسدي: النشاط الأنزيمي الكاتالاز، ومستويات GSH وبيروكسيد الدهون عن طريق قياس MDA. أظهرت النتائج وجود تأثير عالي السمية الجينية من خلال انخفاض مؤشر الانقسام الفتيلي وزيادة العدد الكلي (NTA). وقد ترافقت هذه التأثيرات الضارة مع زيادة في الإجهاد التأكسدي على مستوى جذور *Allium cepa* المعالجة بعينات مائية من مختلف محطات وادي السيبوز. وهذا يعني أن مياه وادي سيبوز شديدة السمية للخلايا والسمية الجينية، مما يجعلها خطرة على الري وصحة الإنسان..

الكلمات المفتاحية : *Allium cepa*، تلوث المياه، السمية الجينية. الإجهاد التأكسدي

Abstract

Oued Seybouse river, located in the North-Eastern region of Algeria, is subject to various forms of pollution, mainly due to industrial, agricultural and urban discharges. These pollutants can have harmful effects on fauna, flora and human health. The study of water genotoxicity is essential to understand the impact of pollutants on the genetic material of living organisms. In the present study, *Allium cepa* test was used, as a well-established method to detect the genotoxic effects of environmental pollutants. Water samples were taken at four stations in Oued Seybouse. *Allium cepa* bulbs were exposed to these samples, and cytotoxic and cytogenetic analyzes were conducted to evaluate toxic effects and chromosomal abnormalities and other signs of genotoxicity. Three oxidative stress parameters are also analyzed: catalase enzymatic activity, GSH levels and lipid peroxidation by measuring MDA. The results showed a high genotoxic effect through the decrease in the mitotic index and the increase in the total number of aberrations (NTA). These harmful effects were accompanied by an increase in oxidative stress at the level of *Allium cepa* roots treated with water samples from the different stations of Oued Seybouse. This means that water of Oued Seybouse is highly cytotoxic and genotoxic, making it dangerous for irrigation and human health.

Key words: *Allium cepa* , water pollution, genotoxicity, oxidative stress

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste d'abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumés

Introduction.....1

Chapitre N°1 : Synthèse bibliographique

I. Pollution :

1. Définition de la pollution.....	3
2. Types de la pollution	3
2.1. Pollution chimique.....	3
2.2. Pollution physique.....	4
2.3. Pollution microbiologique.....	4

II. Pollution de l'eau :

1. Définition de la pollution de l'eau.....	5
2. Mode de pollution de l'eau.....	5
2.1. Pollution ponctuelle.....	5
2.2. Pollution diffuse.....	5
2.3. Pollution accidentelle ou aigue.....	5
3. Sources de la pollution de l'eau.....	6
3.1. Industrielle.....	7
3.2. Agricole.....	7
3.3. Domestique.....	8
3.4. Urbaine.....	8
3.5. Naturelle.....	8
3.6. Atmosphérique.....	8
4. Principaux polluants de l'eau.....	9
4.1. Les matières organiques.....	9
4.2. Les matières fertilisantes.....	9
4.3. Les métaux lourds (ETM).....	9
4.4. Les pesticides.....	10
5. Impact environnementales de la pollution des eaux.....	10

6. Impact sur la santé humaine de la pollution des eaux.....	11
--	----

III. Génotoxicité :

1. Définition de la génotoxicité.....	11
2. Agent mutagènes et mécanismes d'action.....	11
2.1. Agents physique.....	12
2.2. Agents chimiques.....	13
3. Types de dommages de l'ADN induites par les substances mutagènes	13
4. Tests du génotoxicité :	
1. Test d'Ames.....	14
2. Test de comète.....	15
3. Test micronoyaux.....	16
4. Test des aberrations chromosomiques.....	17
5. Test d' <i>Allium cepa</i>	18
IV. Le stress oxydant.....	19
V. Relation entre la génotoxicité et la pollution.....	20
VI. Présentation de la zone d'étude.....	21

Chapitre N°02 : matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes :

I.1.Echantillonnage.....	22
I.2. Test d' <i>Allium cepa</i> pour la cytotoxicité et la génotoxicité.....	24
I.2.1. Organisme d'essai et conditions de croissance.....	24
I.2.2. Indice mitotique et aberrations chromosomiques.....	25
I.2.3. Observation microscopique.....	25
I.3. Evaluation du stress oxydant.....	26
I.3.1. Préparation des échantillons.....	26
I.3.1.1. Activité de la catalase.....	26
I.3.1.2. Dosage du glutathion.....	27
I.3.1.3. Dosage de l'MDA.....	27
I.4. Analyse statistique.....	27

Chapitre N°03 : Résultats et discussion

1. Paramètres physico-chimiques des échantillons d'eau.....	28
2. Test d' <i>Allium cepa</i> pour la cytotoxicité et la génotoxicité.....	29
3. Paramètres du stress oxydant.....	33

<i>Conclusion et perspectives</i>	36
---	----

<i>Références bibliographiques</i>	37
--	----

Annexe

Introduction

Introduction

L'eau est une ressource précieuse et vitale pour la vie. Elle couvre les trois quarts de notre planète, mais seulement 0,014 % de cette eau est douce, se trouvant principalement dans les eaux de surface telles que les rivières, les lacs et les étangs. L'eau joue un rôle crucial dans divers domaines, notamment l'approvisionnement en eau potable, l'agriculture, l'industrie, la production d'électricité et les usages domestiques. Cependant, les ressources en eau douce sont vulnérables à plusieurs formes de pollution, provenant de sources industrielles, urbaines et agricoles, ce qui entraîne des dommages pour l'humanité et son environnement, y compris la faune et la flore. Ces menaces ont sensibilisé la communauté internationale et ont incité les scientifiques à examiner la contamination des milieux aquatiques (**Benkaddour, 2018**).

La génotoxicité est un terme utilisé pour désigner les substances chimiques ou les facteurs capables de causer des altérations génétiques (des dommages à l'ADN ou aux chromosomes). Cette branche de toxicologie utilise des tests permettant de déterminer les altérations génétiques irréversibles, ainsi que ceux fournissant des preuves indirectes de dommages à l'ADN (**Phillips et Arlt, 2009 ; Luan et Honma, 2022**).

Le test *Allium cepa* est couramment utilisé comme un indicateur à court terme et rentable de la toxicité pour surveiller la pollution de l'eau dans de nombreuses régions du monde. Cet essai biologique peut fournir des informations précieuses sur la présence de composés génotoxiques et/ou mutagènes dans les eaux de surface et les sédiments des écosystèmes aquatiques (**Hirapure et al., 2021**).

L'objectif de cette étude était d'évaluer la toxicité et les effets génétiques des eaux de la rivière d'Oued Seybouse, qui est le plus long fleuve en Algérie, en utilisant le test *d'Allium cepa*. Le principal problème associé à l'Oued Seybouse est qu'il est un dépotoir pour divers types de déchets tels que les eaux usées, les pesticides agricoles et les déchets industriels. De plus, ses eaux sont largement utilisées pour l'irrigation, ce qui représente un grand danger.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la toxicité et les effets génotoxique des eaux d'Oued Seybouse en utilisant le test *d'Allium cepa*. Certains paramètres de stress oxydant sont aussi analysés afin d'avoir une idée concernant les mécanismes possibles de toxicité.

Le document est organisé en deux parties : une partie bibliographique présentant des données théoriques concernant la pollution des eaux, la génotoxicité et sa relation avec les stress oxydant.

La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude, et présente les résultats obtenus ainsi que leur discussion, puis une conclusion et perspectives concernant l'étude réalisée.

Chapitre 01 :
Synthèse bibliographique

I. Pollution :

1. Définition de la pollution :

La pollution peut être décrite comme une altération ou une perturbation de l'environnement, souvent causée par l'introduction de substances ou de matières extérieures. Ses effets peuvent être modificateurs ou destructeurs vis-à-vis du fonctionnement du milieu, selon la nature ou la quantité du polluant (**Genin, 2003**).

2. Types de la pollution :

2.1. Pollution chimique :

La pollution chimique est sans doute la plus courante, la plus perceptible et la plus variée. Elle concerne principalement les contaminations par des composés inorganiques, tels que (**Hartemann, 2013**) :

- Les chlorures de sodium et les nitrates, principalement dérivés des engrais agricoles, des déchets domestiques et industriels. Présents dans de nombreuses sources souterraines, ils deviennent dangereux après conversion en nitrites, qui peuvent provoquer une méthémoglobinémie et servir de précurseurs aux nitrosamines, substances cancérigènes.
- Les phosphates, issus des détergents et des engrais. Ils contribuent de manière significative au phénomène d'eutrophisation, ayant des répercussions environnementales et sanitaires considérables.
- Les métaux lourds (plomb, mercure, cadmium) d'origine industrielle ou artisanale, s'accumulent en certains endroits des cours d'eau ou des zones côtières et sont concentrés par la faune aquatique (poissons, coquillages). Ils entraînent des cas d'intoxication chez l'Homme.

Par ailleurs, les contaminants organiques sont potentiellement innombrables: détergents, produits phytosanitaires, solvants, hydrocarbures. Ils sont liés aux activités humaines, ils créent des problèmes différents selon leur solubilité, leur rémanence et leur devenir dans les eaux, les sols et la chaîne alimentaire (**Hartemann, 2013**).

Hormis des accidents (sub) aigus ponctuels ou des phénomènes cumulatifs, les molécules organiques causent de plus en plus d'inquiétude du fait de leur présence ubiquitaire, polyvalente et insidieuse, se manifestant par des effets écologiques avérés et des effets sanitaires réels ou potentiels à long terme (cancers, altérations endocriniennes) (**Hartemann, 2013**).

2.2. Pollution physique :

Diverses formes de pollution affectent les ressources en eau :

2.2.1. Pollution thermique :

La pollution "thermique" résulte du rejet dans les milieux aquatiques (rivières, eaux côtières) de grandes quantités d'eau utilisées pour le refroidissement, notamment lors de la production d'énergie électrique par les centrales thermiques ou nucléaires. L'augmentation excessive de la température de l'eau des rivières peut perturber l'équilibre biologique des écosystèmes aquatiques, affectant les espèces de poissons et favorisant la prolifération d'amibes libres, nocives pour les personnes qui se baignent (**Hartemann, 2013**).

2.2.2. Pollution radioactive :

La pollution radioactive implique, d'une part, des émetteurs de rayonnement alpha (^{226}Ra , ^{234}U , ^{238}U), généralement d'origine naturelle et parfois présents dans les eaux souterraines de zones géographiques spécifiques, en particulier dans les régions granitiques en ce qui concerne le radon. D'autre part, les émetteurs bêta sont généralement associés à des activités humaines (^{90}Sr , ^{134}Cs , ^{131}I), et la contamination radioactive peut résulter de déversements d'eau volontaires ou accidentels, ou même de retombées atmosphériques. La plupart des radionucléides ont tendance à être facilement absorbés par des particules telles que les sédiments aquatiques ou les boues des stations d'épuration (**Hartemann, 2013**).

2.3. La pollution microbiologique :

Les polluants microbiologiques sont nombreux et divers : les moisissures, les bactéries, les virus, les pollens, les substances allergènes des chats, des chiens, les acariens, les blattes, etc. Les réservoirs de cette pollution sont multiples dans les espaces clos : les tapis, les revêtements muraux, les matériaux d'isolation, les installations sanitaires, les systèmes de distribution d'eau, les systèmes de climatisation et de ventilation, etc. La chaleur, l'humidité, parfois liées à des fuites d'eau ou à une mauvaise étanchéité, une mauvaise maintenance des installations d'eau chaude et de climatisation, ainsi que la présence d'une personne malade, tous ces facteurs contribuent à la présence et à la multiplication des agents microbiologiques (**Dassonville et al., 2014**).

II. Pollution de l'eau :

1. Définition de la pollution de l'eau :

L'eau joue un rôle crucial après l'air dans la survie de l'humanité sur Terre. L'eau que nous utilisons est constituée d'eau de surface comme les rivières, les lacs, les mers et d'eau souterraine (Jeng, 2007).

La pollution de l'eau fait référence à l'introduction ou à la présence de substances nocives ou inacceptables dans une quantité suffisante pour altérer les indicateurs de qualité de l'eau du milieu naturel (Benson, 2008).

2. Mode de la pollution de l'eau :

2.1. Pollution ponctuelle :

Il s'agit d'une pollution ponctuelle qui provient d'un endroit facilement identifiable, comme le point de rejet d'un effluent ou une zone contaminée. C'est une source permanente et habituellement responsable d'émissions polluantes considérables (Clément, 2011).

2.2. Pollution diffuse :

Les polluants diffus sont principalement issus de sources municipales ou agricoles, mais sont généralement liés à diverses activités. L'écoulement des eaux transporte ces polluants et les retrouve dans les rivières, les cours d'eau et les calottes. Il est beaucoup plus compliqué de repérer les sources de pollution diffuse en raison de leur dispersion à travers tout le territoire et de leur apparition intermittente. En effet, pendant les périodes de pluie, les polluants sont plus présents dans les cours d'eau. Ainsi, lorsque l'eau circule sur le territoire contaminé, les sols, les substances chimiques adsorbées et les substances dissoutes sont acheminés vers les cours d'eau. Les sources de pollution diffuse sont d'autant plus difficiles à évaluer qu'elles subissent des modifications physiques, chimiques et biologiques tout au long de leur circulation. Les sources de pollution diffuse prises séparément ont généralement peu d'effets sur l'écosystème. Il s'agit davantage de l'impact cumulatif de tous ces polluants qui engendre de graves problèmes environnementaux. Jusqu'à présent, les activités agricoles sont perçues comme étant principalement responsables de la production des émissions de polluants diffusés (Nguyen et al., 2018).

2.3. Pollution accidentelle ou aigue :

Pollutions accidentelles sont à l'origine de dommages spectaculaires provoqués par les déversements de produits chimiques, d'eaux usées ou d'effluents d'élevage, qui impactent l'approvisionnement en eau potable et la faune aquatique (modification brutale de l'écosystème,

qui est parfois en partie détruit par exemple: C'est parfois plusieurs kilomètres de rivière polluée lors d'un accident et une mortalité piscicole avérée) (Ropars-Collet *et al.*, 2018).

3. Sources de la pollution de l'eau :

Différentes source et voies sont à l'origine de la pollution de l'eau (Figure 01) ;

Les sources et les voies naturelles: A. les retombées océaniques et les sels; B. le lessivage des sols et l'érosion; C. la dissolution minérale par les eaux souterraines; D. les processus biogéochimiques dans les écotones; E. les processus au sein des masses d'eaux; F. l'évaporation.

Les sources anthropiques et leurs voies: G. la pollution atmosphérique; H. la libération directe des eaux des mines, I. la sortie des eaux usées urbaines; J. le rejet des déchets industriels dans les eaux; K. les eaux de ruissellement provenant des terres agricoles; L. les eaux de ruissellement provenant des zones urbaines; M. Les eaux de ruissellement provenant des résidus des mines; N. le lessivage des sols contaminés aux eaux souterraines; O. la lixiviation de résidus de mines des eaux souterraines, des décharges de polluants P. Les fuites; Q. les libérations des déchets vers les eaux souterraines. R. les canalisations; S. Les barrages

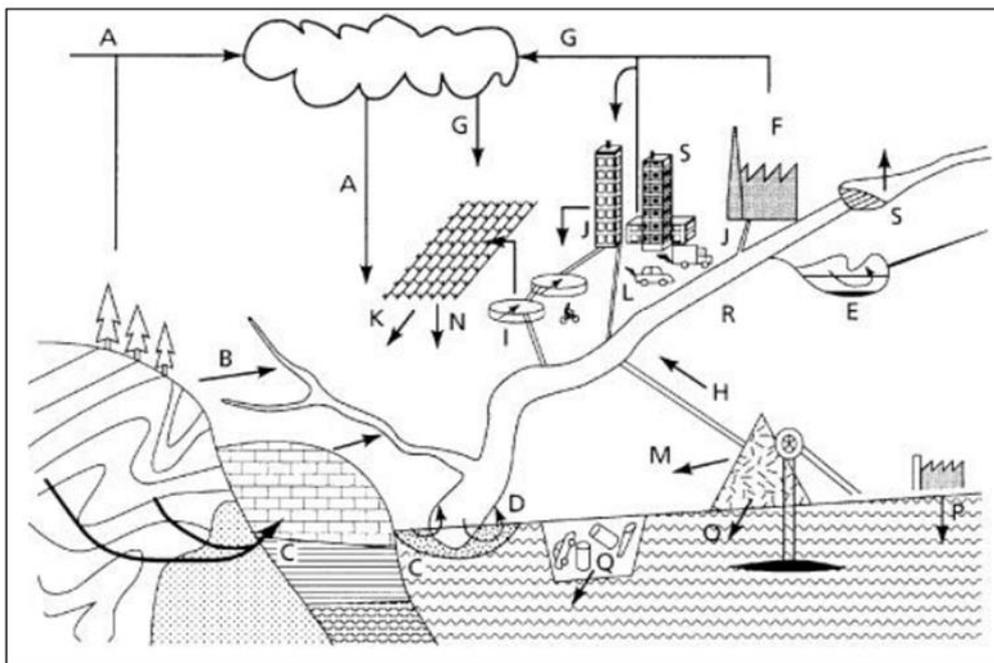


Figure 01 : Les principales sources naturelles et anthropiques des polluants de l'eau
(Meybeck, 2001)

3.1. Industrielle :

Elle est caractérisée par une très grande diversité, suivant l'utilisation de l'eau dans les processus (refroidissement, lavage, extraction, mise en solution, etc.) et l'activité de l'usine (chimie, traitement de surface, agroalimentaire, etc.). On peut donc retrouver dans l'eau, qui est un bon solvant, tous les sous-produits possibles de l'activité humaine :

- matières organiques et graisses ;
- hydrocarbures ;
- acides, bases, produits chimiques divers ;
- eau chaude ;
- matières radioactives (**Genin, 2003**).

Tableau 01: diversité des effets des pollutions industrielles selon le type de substances émises (**Genin, 2003**):

Le type de substance rejetée	Les effets
l'augmentation de température	une modification des peuplements animaux et végétaux (développement anarchique d'algues, etc.)
le colmatage des substrats par des dépôts minéraux fins issus des eaux de lavage de scieries de pierre	la disparition quasi complète de la faune d'invertébrés benthiques
les teneurs importantes en matières organiques dans l'eau	développement sur le substrat d'un film unique et total de bactéries, vorticelles", ou champignons
les fuites de réservoirs de toxiques\ lessivage d'aires de traitement du bois par les pesticides (scieries)	la disparition de la majeure partie de la faune
rejet de composés du cuivre, lessivage de zones traitées aux herbicides	la destruction des réseaux trophiques par inhibition de la production primaire

3.2. Agricole :

L'agriculture est le principal fournisseur alimentaire et un contributeur majeur au développement économique. Cependant, elle est également la principale cause de pollution de l'eau à l'échelle mondiale, étant responsable du déversement de grandes quantités de pesticides, de nutriments, de matières organiques, de résidus médicamenteux, de sédiments, de drainage salin induisant la salinisation et l'alkalinisation, ainsi que de microplastiques et de pathogènes,

qui peuvent empoisonner la flore et la faune ainsi que menacer la santé humaine. Cette pollution de l'eau est exacerbée par la réduction du flux dans les masses d'eau, largement due aux besoins agricoles en irrigation des cultures (**Evans et al., 2019**).

3.3. Domestique :

Ce type de pollution émane des habitations et est généralement transporté par un système d'assainissement. Ce système collecte les déchets de chaque foyer ou lieu d'activité et les achemine vers une station de traitement des eaux usées.

Les caractéristiques de cette pollution comprennent des concentrations élevées de matières organiques, des minéraux tels que l'azote et le phosphore, des agents détergents, ainsi que des micro-organismes fécaux (**Genin, 2003**).

3.4. Urbaine :

Dans les zones urbaines, les origines de la pollution sont aisément identifiables : elles proviennent principalement des rejets des stations d'épuration, des égouts pluviaux ainsi que des débordements des réseaux d'assainissement. La pollution urbaine diffuse, issue du ruissellement de surface, est en grande partie canalisée et déversée de manière ponctuelle dans les cours d'eau (**Hébert et Légaré, 2000**).

3.5. Naturelle :

Cependant, et grâce en particulier aux avancées technologiques et analytiques qui ont permis des mesures de plus en plus précises pour de nombreux polluants, il a été démontré que certains polluants présents dans les eaux et les sols peuvent aussi être d'origine naturelle. Ces polluants dits géogéniques sont généralement présents dans des zones où ils sont naturellement présents. Ce phénomène naturel est le résultat de processus géologiques. Par exemple, lorsque l'eau entre en contact avec les minéraux, cela peut entraîner des concentrations inhabituelles en métaux lourds (par exemple, l'arsenic...). Les irrptions volcaniques, les épanchements sous-marins d'hydrocarbures... peuvent également causer des pollutions (**Arris, 2008; Record, 2011**).

3.6. Atmosphérique :

La pollution atmosphérique est un mélange complexe de plus de 200 aérocontaminants. Elle peut être d'origine naturelle ou résultant de l'activité humaine, également appelée pollution anthropique. Les substances émises peuvent être naturelles telles que les radiations ou chimiques telles que les gaz, les particules, les émissions, ou biologiques telles que les pollens, les spores et les champignons.

Dans le cadre de la pollution anthropique, on distingue les polluants primaires résultant des fuites directes des tuyaux d'échappement, des cheminées ou des terres agricoles. Ces polluants se dispersent, se mélangent et se déplacent pour se transformer en composés différents appelés polluants secondaires (Ces réactions chimiques sont le résultat d'une transformation chimique des polluants primaires, dépendant de la température et donc des variations climatiques), tels que l'ozone ou les nitrates d'ammonium (**Charpin *et al.*, 2016 ; Houdouin, 2019**).

4. Les principaux polluants de l'eau :

4.1. Les matières organiques :

La qualité de l'eau est évaluée en fonction de la matière organique (MO), qui provient de différentes sources, mais principalement de l'humus. C'est une substance dissoute présente dans les sols du bassin versant et dans la colonne d'eau, à la suite de processus tels que la lixiviation et le lessivage. Dans tous les écosystèmes aquatiques, la matière organique dissoute (MOD) est très présente, qu'elle soit allochtone ou pédogénique, c'est-à-dire issue du lessivage des sols et de processus géologiques, ou autochtone ou aquagénique, produite par l'activité biologique et la productivité des algues. On peut la répartir en deux catégories : (i) les substances non humiques, et (ii) les substances humiques (SH) (**Benkaddour, 2018**).

4.2. Les matières fertilisantes :

Les engrais sont définis comme des produits qui assurent ou améliorent la nutrition des plantes. Les amendements font également partie des matières fertilisantes, car ils aident à maintenir ou à développer la fertilité des sols, en modifiant, en améliorant et en préservant les propriétés physiques, chimiques et/ou biologiques du sol. Cela permet de stimuler les processus naturels des plantes ou du sol pour faciliter l'absorption des éléments nutritifs par les plantes ou améliorer leur résistance aux pressions environnementales non vivantes (**Duménil, 2020**). L'utilisation excessive d'engrais et leur absorption par le sol entraînent leur mélange avec les eaux souterraines et les eaux des vallées et les polluent.

4.3. Les métaux lourds :

Les métaux lourds se trouvent dans différentes fractions de la phase solide, et ils peuvent être mesurés en utilisant une méthode de dissolution séquentielle sélective. En raison des activités humaines, comme les déchets industriels et municipaux, les niveaux de métaux lourds dans les eaux souterraines et de surface ont donc augmenté (**Tessier *et al.*, 1979 ; Gove *et al.*, 2001**).

Leur spéciation et leur concentration déterminent la toxicité de ces métaux ou métalloïdes, tels que le plomb ou l'arsenic. Afin de déterminer leur toxicité, il est nécessaire de saisir la « bioaccessibilité » et la « biodisponibilité » du plomb ou de l'arsenic dans une molécule donnée, dans un environnement identifié. Le terme "bioaccessibilité" fait référence à la partie d'une substance dans une matrice qui peut être libérée dans les sucs gastro-intestinaux (chez l'homme) et donc être absorbée dans le corps et avoir des effets potentiels. La fraction « biodisponible » est la seule à atteindre la circulation sanguine et les organes cibles où elle peut être toxique (**Pourret, 2021**).

4.4. Les pesticides :

Les pesticides sont utilisés dans le monde entier, principalement dans le secteur agricole, afin de lutter contre des organismes nuisibles et préserver les récoltes (**Jestin-Guyon et Raheison-Semjen, 2024**).

Les pesticides sont utilisés pour tuer les parasites et contrôler les mauvaises herbes en utilisant des composants chimiques ; ils peuvent donc également être toxiques pour d'autres organismes, y compris les oiseaux, les poissons, les insectes bénéfiques, et les plantes non ciblées, en plus de l'air, de l'eau, du sol et des cultures. De plus, la pollution par les pesticides se propage au-delà des plantes ciblées, entraînant une pollution environnementale. Ces résidus chimiques affectent la santé humaine à travers la pollution environnementale et alimentaire. De plus, les facteurs liés au changement climatique influencent l'application des pesticides, entraînant une augmentation de leur utilisation et de leur pollution (**Tudi et al., 2021**).

5. Impact environnementales de la pollution des eaux :

Le rejet direct des eaux usées dans l'environnement comporte de nombreux risques pour la survie des organismes et l'équilibre écologique. Par exemple, un excès d'azote et de phosphore peut causer l'eutrophisation, une augmentation de la croissance végétale qui diminue la quantité d'oxygène dissous, entraînant ainsi la mort à long terme de nombreux êtres vivants aquatiques tels que les poissons et les crustacés. Les traces métalliques telles que le mercure et l'arsenic présents dans ces eaux peuvent avoir des conséquences néfastes sur les organismes vivants les plus vulnérables en raison de leur toxicité même à faibles doses, entraînant des troubles et des problèmes. Anomalies dans leurs activités physiologiques (alimentation, respiration et reproduction) (**Ivanowsky, 2016**).

6. Impact sur la santé humaine de la pollution des eaux :

L'eau joue un rôle essentiel dans la vie des êtres humains. Les problèmes d'eau insuffisante ou de mauvaise qualité sont responsables de nombreuses maladies à travers le monde, en particulier dans les pays en développement où 80% des maladies sont causées par l'eau (Sy *et al.*, 2017; Adjagodo *et al.*, 2017). On peut classer les maladies hydriques en six catégories distinctes :

La transmission des maladies par l'eau (parasites, bactéries, virus) ;

Le manque d'eau entraîne des infections de la peau et des yeux ;

Les maladies provoquées par un invertébré aquatique ;

Les maladies provoquées par un insecte qui fourmille près de l'eau.

Chaque année, 4 milliards de cas de diarrhée, ainsi que des millions d'autres maladies, sont associés à un manque d'eau propre pour la consommation humaine, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Chaque année, 1,7 million de personnes sont concernées. Ils décèdent des diarrhées, la majorité des enfants de moins de cinq ans. Les maladies liées à l'eau ont un impact considérable sur la santé humaine, tout comme la pollution causée par les rejets de produits chimiques dans l'eau provenant de diverses activités. Selon l'UNICEF, environ 60% des décès des enfants à travers le monde sont causés par des maladies infectieuses ou parasitaires, principalement liées à la pollution de l'eau (Some *et al.*, 2014 ; Rouamba *et al.*, 2016).

III. Génotoxicité :

1. Définition de la génotoxicité :

La génotoxicité se définit comme étant la capacité de certains agents, appelés "génétoxiques", à causer des dommages à l'ADN pouvant entraîner des mutations géniques ou chromosomiques. Ces dommages, une fois incorporés dans le génome, peuvent avoir des conséquences néfastes sur la santé des organismes exposés et/ou de leur descendance : mortalité embryonnaire, malformations congénitales, infertilité, cancers, etc. En raison de la grande variété des substances impliquées, de leur omniprésence dans l'environnement et des conséquences démo-écologiques potentielles, notamment sur la survie ou le renouvellement de certaines populations sauvages (Cachot et Dégremont, 2009).

2. Agent mutagènes et mécanismes d'action :

Les facteurs génotoxiques peuvent se présenter sous des formes physiques, chimiques ou biologiques. Les agents mutagènes d'origine physique incluent principalement les

rayonnements ionisants à haute énergie tels que les rayons X ou gamma, ainsi que les rayonnements non ionisants comme la lumière ultraviolette. Quant aux agents mutagènes d'origine biologique, ils comprennent notamment des virus tels que les rétrovirus (**Cachot et Dégremont, 2009**).

2.1. Agents physique :

2.1.1. Les radiations ultraviolettes (UV) ou les rayonnements non ionisants :

Les radiations ultraviolettes (UV) sont classées en trois groupes, en fonction de la longueur d'onde: les UVC (190 à 280 nm), les UVB (280 à 320 nm) et les UVA (320 à 400 nm) (**Pfeifer et Besaratinia, 2012**). Le rayonnement UVA semble être plus efficace pour induire la formation de dommages oxydatifs sur les bases et les molécules de l'ADN dans les cellules isolées et la peau, ainsi que sur les protéines de liaison à l'ADN (**Cadet, 2015**).

Les composés photopyrimidiniques résultant des rayons ultraviolets UVB et UVA sont fondamentaux dans les dommages causés à l'ADN par la lumière. Ces altérations nucléiques résultantes augmentent le risque de mutations et de développement du cancer de la peau (**Pfeifer et Besaratinia, 2012; Cadet, 2015**).

Au laboratoire, la lumière ultraviolette est employée pour provoquer des mutations, notamment en favorisant la formation de dimères de bases pyrimidiques (T, C), entraînant ainsi des altérations génétiques. Les effets les plus graves de l'exposition aux UV comprennent les transitions de GC à AT, les mutations ponctuelles, les délétions et la création de dommages oxydatifs à l'ADN (**Ravanat et al., 2001; Ding et al., 2008**).

2.1.2. Les radiations ionisantes :

Les radiations ionisantes sont un agent environnemental délétère. Leurs interactions physico-chimiques avec l'ADN cellulaire produisent une variété de lésions primaires, telles que les cassures simple brin (SSB), les cassures double brin (DSB), les pontages ADN-protéines et les dommages aux bases puriques et pyrimidiques. La DSB est généralement considérée comme ayant des conséquences biologiques plus importantes que la SSB, car elle peut entraîner directement des aberrations chromosomiques, une perte de matériel génétique et la mort cellulaire. L'évaluation des DSB est une étape essentielle dans l'examen de la séquence des événements conduisant aux effets mutagènes, carcinogènes et létaux des radiations. Un certain nombre de méthodes biophysiques et biochimiques ont été utilisées pour quantifier les DSB induites par les radiations dans l'ADN cellulaire. Cependant, le test de comète neutre (électrophorèse sur gel de cellules uniques) est préféré en raison de sa simplicité, de sa rapidité et de son potentiel à mesurer les dommages à l'ADN et l'hétérogénéité de la réponse au niveau de la cellule unique (**Attia et al., 2011**).

2.2. Agents chimiques :

2.2.1 Les agents alkylants :

Les agents alkylants sont omniprésents. Ils sont générés endogènement pendant le métabolisme et se trouvent dans l'air, l'eau et les aliments, bien que généralement à des concentrations faibles (**Drablos et al., 2004**). Ils sont des entités électrophiles pouvant réagir avec des groupements nucléophiles de l'ADN ou des protéines et y transférer de manière covalente des groupements alkyles (méthyles ou éthyles) (**Pourquier, 2011**) sur les atomes d'azote ou d'oxygène des bases de l'ADN telles que l'adénine, la guanine et la cytosine. Selon le nombre de sites réactifs qu'ils ciblent, ces agents peuvent causer différents types de dommages : les alkylants monofonctionnels produisent des adduits simples sur un brin d'ADN, tandis que les alkylants bifonctionnels peuvent créer des adduits à l'intérieur d'un brin, entre brins ou entre l'ADN et les protéines. Ces altérations sont très nocives pour la cellule car elles perturbent des processus biologiques essentiels comme la réplication et la transcription. De plus, elles entraînent des cassures double brin et des mésappariements, pouvant conduire à des mutations ou à la mort cellulaire (**Fu et al., 2012**).

2.2.2. Les analogues de bases :

Ce sont des molécules qui présentent des structures similaires aux bases azotées normales, mais avec des propriétés légèrement différentes en ce qui concerne l'appariement des bases. Leur efficacité est optimale dans des conditions d'utilisation spécifiques, et elles sont généralement plus efficaces sur des cellules en phase de multiplication active (**Kozmin et Schaaper, 2007**).

2.2.3. Les agents intercalant :

Les agents intercalant sont des molécules caractéristiques, constituées de plusieurs noyaux aromatiques accolés. Leur forme plane leur permet de se glisser au cœur de la double hélice de l'ADN, entre deux plans de paires de bases successifs. Cette déformation perturbe le fonctionnement normal des systèmes enzymatiques, ce qui entrave la réplication et la transcription de l'ADN. Ces agents sont également responsables de coupures mono et bi-caténares de l'ADN, selon le type d'agent intercalant. Ce phénomène découle de leur capacité à produire des radicaux libres ou à inhiber l'action des topoisomérases, indispensables à la transcription de l'ADN (**Champoux, 2001**).

3. Les types de dommages de l'ADN induites par les substances mutagènes :

Il existe différentes catégories de dommages à l'ADN, dont les lésions primaires, qui sont le premier stade après l'action d'un agent génotoxique. Ces dommages sont les accumulations

de l'ADN, les pontages et les cassures de simple brin. Par la suite, les mutations géniques comme les additions, les délétions ou les substitutions de bases provoquées par les composés mutagènes. La catégorie finale regroupe les dommages ou les mutations chromosomiques qualifiées de qualitatives, qui modifient la structure des chromosomes par des cassures double brin, des réarrangements ou des translocations. Ces effets sont appelés "effets qualitatifs". Contrairement aux effets aneugènes qui entraînent des erreurs de répartition de chromosomes entiers lors des divisions, les effets clastogènes sont moins fréquents (Fornace et Kohn, 1976; Schlegel *et al.*, 1986; Orsière *et al.*, 2005). Les effets des agents mutagènes sont résumés dans le schéma ci-dessous :

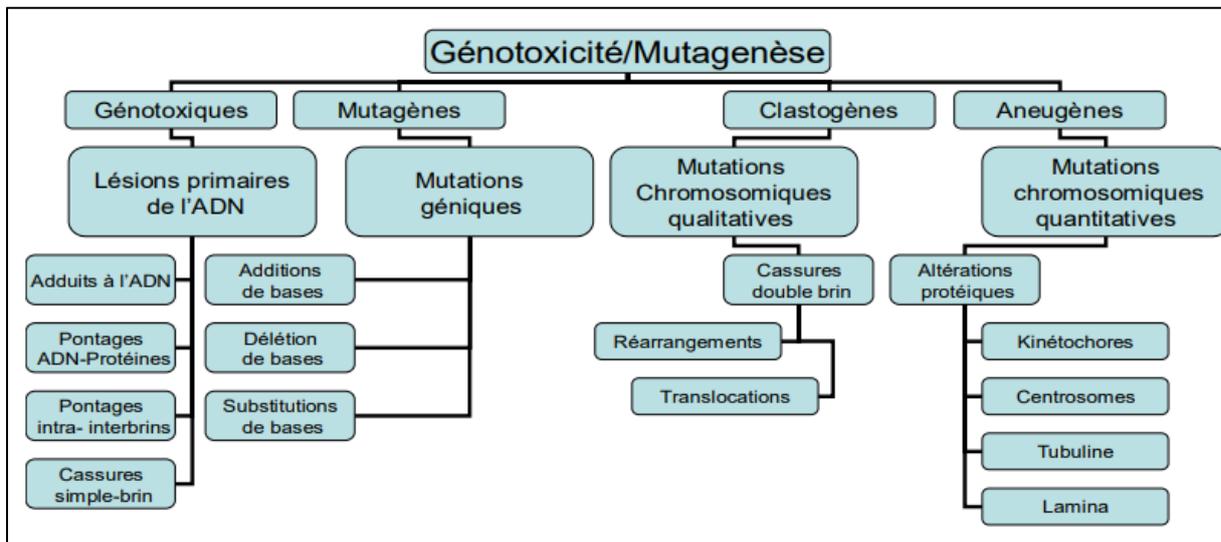


Figure 02 : Diversité des altérations de l'ADN en terme de lésions et de mutations (Orsière *et al.*, 2005).

4. Tests du génotoxicité :

4.1. Test d'Ames :

Le test d'Ames est une méthode de toxicologie génétique *in vitro* qui vise à détecter la mutagenicité des produits chimiques en utilisant différentes souches de *Salmonella typhimurium* ou *Escherichia coli* (Guy, 2014). Ce test simple et rapide repère les mutations inverses chez les bactéries (Levin *et al.*, 1982; Gupta *et al.*, 2009).

Les souches de *Salmonella* utilisées ont des mutations dans des gènes de la voie de biosynthèse de l'histidine, ce qui les rend dépendantes de cette substance. Lorsqu'elles sont cultivées sur un milieu minimal d'agar contenant peu d'histidine, seules les bactéries capables de retrouver leur indépendance vis-à-vis de l'histidine (his (+)) peuvent former des colonies. L'ajout d'un mutagène à la plaque entraîne généralement une augmentation du nombre de colonies

réversibles par plaque, proportionnelle à la dose de mutagène (figure 03) (Mortelmans et Zeiger, 2000). Ce test s'est révélé efficace pour détecter les mutations génétiques pertinentes ainsi que la plupart des causes héréditaires de tumeurs chez les rongeurs (Guy, 2014).

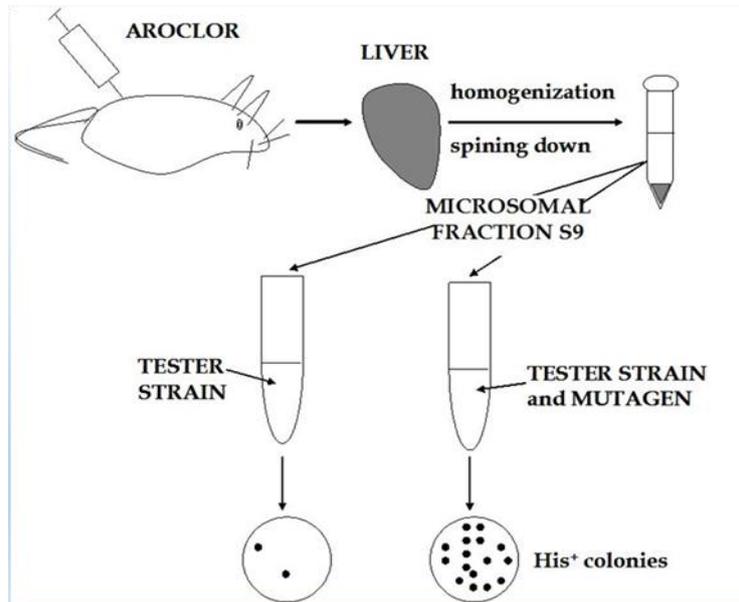


Figure 03 : schéma de test d'Ames (Sikora *et al.*, 2012).

4.2. Test de comètes :

Le test de comète, également connu sous le nom d'électrophorèse sur gel à cellule unique (SCGE), est une technique simple et sensible utilisée pour identifier les cassures de brin d'ADN. Ces cassures peuvent provenir de diverses sources, notamment de la modification directe de l'ADN par des agents chimiques ou leurs métabolites, des processus tels que la réparation par excision de l'ADN, la réplication, la recombinaison ou l'apoptose (Moller *et al.*, 2000). Dans ce test, un petit nombre de cellules sont suspendues dans un gel d'agarose mince sur une lame de microscope, lysées, électrophorèses, puis colorées avec un colorant fluorescent se liant à l'ADN. Les cellules présentant un dommage accru de l'ADN présentent une migration accrue de l'ADN chromosomique du noyau vers l'anode, ressemblant à la forme d'une comète (figure 04). Sous sa forme alcaline, qui est principalement utilisée, différents types de dommages à l'ADN tels que les cassures de brin simple, les cassures de brin double, les sites labiles à l'alcali et les sites de réparation par excision incomplète entraînent une migration accrue de l'ADN. En revanche, des liaisons croisées telles que l'ADN-ADN ou l'ADN-protéine peuvent entraîner une diminution de la migration de l'ADN. Différentes versions du test de comète ont été

développées pour détecter des modifications spécifiques de bases d'ADN (Speit et Hartmann, 2005).

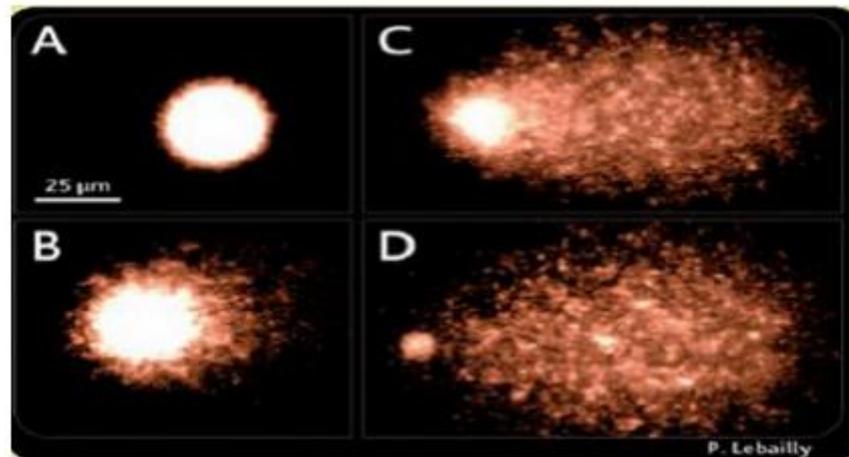


Figure 04 : Photographie du noyau dans le test de comète : (A) noyau intact, (B) légère comète, (C) comète, (D) noyau atypique (Ostling et Johanson, 1984).

4.3. Test des micronoyaux :

Le test des micronoyaux *in vivo* est utilisé depuis environ 40 ans et est devenu l'une des méthodes les plus courantes pour examiner la génotoxicité causée par différentes substances chimiques et physiques, notamment les dommages chromosomiques. Les substances testées sont généralement appliquées de manière topique sur de petits mammifères, et les effets sont évalués par analyse directe de la moelle osseuse. En surveillant les dommages chromosomiques pendant la transition de la métaphase à l'anaphase, les micronoyaux sont formés suite à la perte de matériel génétique lors de la division cellulaire (figure 05), contenant des fragments chromosomiques sans centromère et/ou des chromosomes entiers non inclus dans les noyaux filles pendant la division. Toutes ces caractéristiques rendent le test des micronoyaux extrêmement approprié pour le dépistage toxicologique de routine (Schmid, 1975 ; Orsière *et al.*, 2008 ; Sommer *et al.*, 2020).

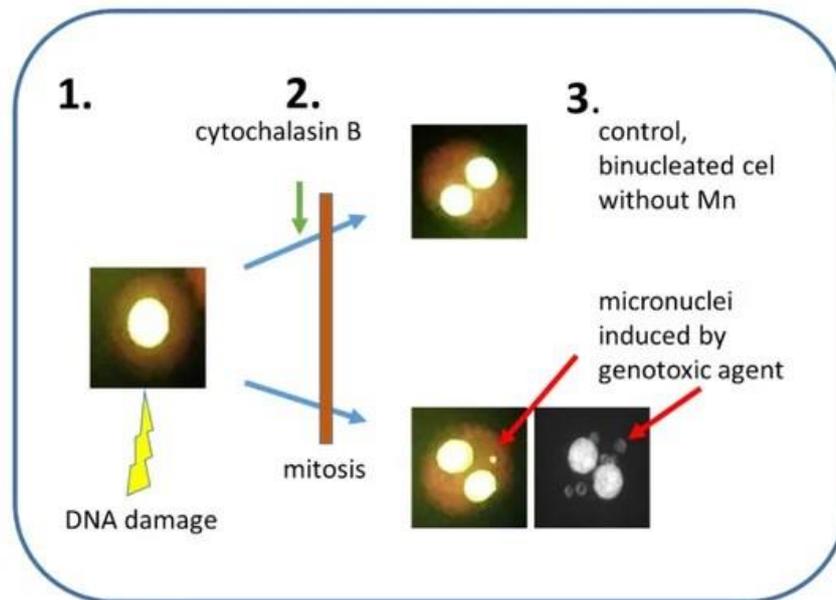


Figure 05 : Principe de l'essai de micronoyaux avec blocage de la cytokinèse. 1. Noyau avec de l'ADN endommagé. 2. Inhibition de la cytokinèse par l'ajout de cytochalasine B. 3. La fréquence des micronoyaux est évaluée uniquement dans les cellules binucléées. Partie supérieure : cellules binucléées de contrôle sans micronoyaux. Partie inférieure : deux cellules binucléées avec 1 ou 6 micronoyaux visibles dans le cytoplasme (Sommer *et al.*, 2020).

4.4. Test d'aberration chromosomique :

Les aberrations chromosomiques sont reconnues comme un biomarqueur important de l'exposition humaine aux radiations ionisantes et aux produits chimiques génotoxiques, constituant ainsi un outil très important pour la biomonitoring environnementale (Ana Paula *et al.*, 2014).

Les aberrations chromosomiques se caractérisent par des changements dans la structure chromosomique ou dans le nombre total de chromosomes, qui peuvent survenir aussi bien spontanément que suite à une exposition à des agents physiques ou chimiques. Il existe deux types d'aberrations (figure 06):

Les altérations chromosomiques structurelles peuvent être induites par plusieurs facteurs, tels que les ruptures d'ADN, l'inhibition de la synthèse d'ADN et la réplication de l'ADN altéré.

Les aberrations chromosomiques numériques, telles que l'aneuploïdie et la polyploïdie, sont des conséquences de la ségrégation anormale des chromosomes, qui peuvent survenir soit spontanément soit par l'action d'agents aneugéniques .

Pour évaluer les anomalies chromosomiques par le test *A.cepa*, plusieurs types d'aberrations chromosomiques 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 elle nécessite une connaissance précise des phases de division cellulaire et de leurs éventuelles anomalies (Leme, 2009).

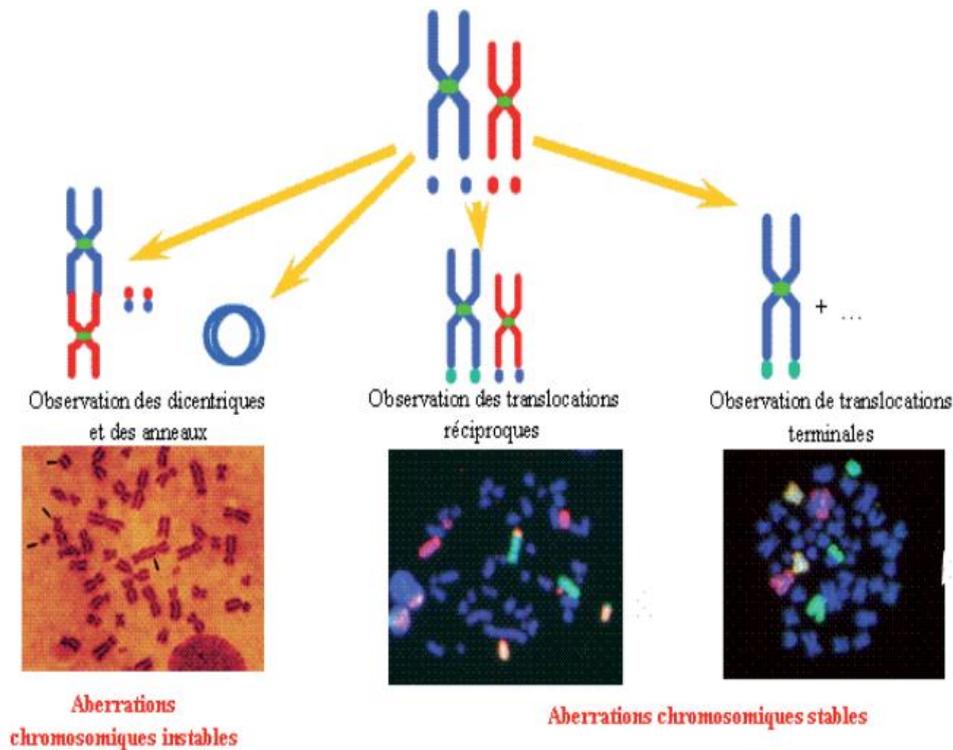


Figure 06 : Présentation des différents types d'aberrations chromosomiques observés en dosimétrie biologique (Grégoire *et al.*, 2010).

4.5. Test d'*Allium cepa* :

Parmi les autres organismes vivants, *Allium cepa* est perçu comme un modèle *in vivo* de qualité supérieure, approprié pour évaluer la toxicité et les effets génétiques. Le modèle expérimental *A. cepa* est un bioindicateur performant en raison de sa grande taille génétique et du faible nombre de chromosomes ($2n = 16$). Ces caractéristiques facilitent l'analyse de divers paramètres tels que l'indice mitotique, les micronoyaux et les aberrations chromosomiques (incluant les divisions cellulaires anormales, les ponts, les fragments et les bourgeons). En outre, les chromosomes d'*A. cepa* sont morphologiquement proches des cellules mammaires, ce qui permet d'établir une corrélation très bonne entre les systèmes cellulaires végétaux et mammifères. *A. cepa* est encore largement employé pour évaluer la toxicité cellulaire et génétique des sols et des eaux contaminées par les pesticides et les herbicides, ainsi que les médicaments vétérinaires et les bioproduits. Ainsi, de nombreux auteurs ont suggéré depuis des décennies le test *Allium cepa* comme étant le test standard pour les études environnementales (Alias *et al.*, 2023).

A. cepa est une plante bisannuelle avec des racines adventives et fibreuses et 3 à 8 feuilles glauques et distiques. Le bulbe est constitué de bases de feuilles charnues et élargies disposées en cercles concentriques. La base de la feuille extérieure se dessèche et devient mince et de couleur variée, formant la couche protectrice, tandis que les bases des feuilles intérieures s'épaississent lorsque le bulbe se développe. Le bulbe mature peut être globuleux, ovoïde ou allongé et sa taille varie en fonction du cultivar (Marrelli *et al.*, 2018).

Tableau 02 : Classification d'oignon (*Allium cepa*) (Sampath Kumar *et al.*, 2010).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Ordre	Asparagales
Famille	Alliaceae
Genre	<i>Allium</i>
Espèce	<i>A. cepa</i>
Parties comestibles	feuilles, fleurs, graines, racine.

IV. Le stress oxydant :

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives (ou radicalaires) de l'oxygène (ERO) et les capacités de défense antioxydantes. Les ERO ont longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène et impliquées dans de nombreuses pathologies (Baudin, 2020).

Dans les conditions quotidiennes normales, les espèces réactives oxygénées (ERO) sont produites en faible quantité comme des médiateurs tissulaires ou des résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cela sous le contrôle de systèmes de défense adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces conditions, on dit que la balance pro-oxydant/anti-oxydants est en équilibre. Cette dernière peut être rompue pour diverses raisons en faveur du système pro-oxydant, et est alors à l'origine d'un stress oxydant (Favier, 2003).

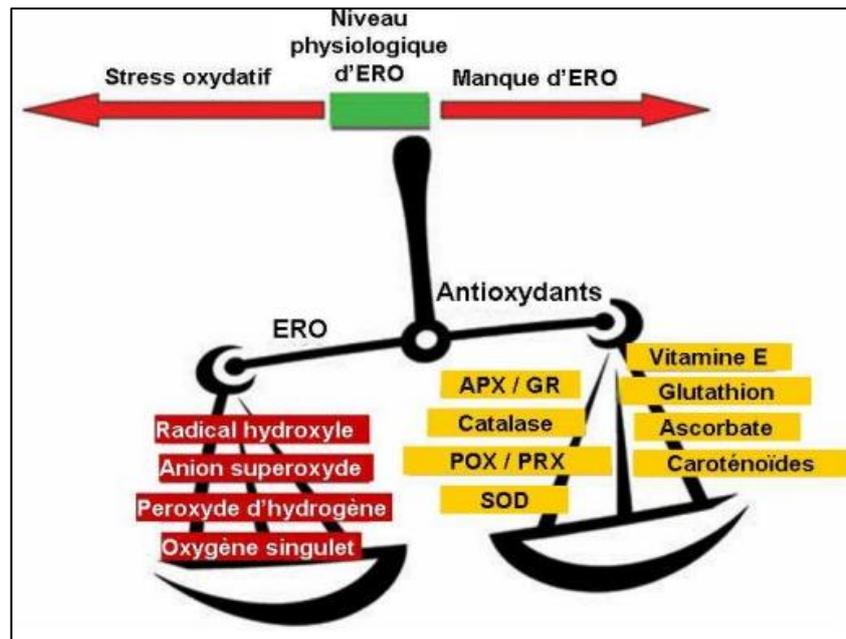


Figure 07 : Schématisation de la balance entre les ERO et les antioxydants (pourrut *et al.*, 2008).

V. La relation entre la génotoxicité et la pollution :

Le contrôle actuel de la toxicité des micropolluants dans les environnements aquatiques se limite à l'évaluation de leur toxicité aqueuse. L'impact de la pollution de l'eau sur la santé à moyen et long terme n'est pas étudié dans les contrôles de routine et reste un domaine de recherche. La communauté scientifique a pris conscience du risque génotoxique associé aux molécules mutagènes et cancérigènes.

Le développement des études génotoxiques dans les zones à risque environnemental ou contaminées a permis l'identification et l'évaluation des risques génotoxiques ainsi que le développement de méthodes et de tests pour leur quantification. Initialement, des tests ont été développés pour évaluer le potentiel génotoxique des produits chimiques, qui étaient sensibles et faciles à mettre en œuvre. La recherche de conditions de test plus représentatives a conduit au développement de tests *in vivo* pour les organismes supérieurs et aquatiques, applicables à la fois sur des échantillons bruts et *in situ* (Godet *et al.*, 2005).

In vitro

Les tests *In Vitro* sur les eucaryotes ou les procaryotes se concentrent sur la détection des mutations génétiques et chromosomiques ou des adduits d'ADN. Ces systèmes miniaturisés nécessitent de faibles volumes d'échantillons et sont adaptés à la détection de la génotoxicité à

grande échelle ainsi qu'à l'analyse d'extraits concentrés et contaminés. Cependant, ils sont moins adaptés pour prédire l'impact environnemental des micropolluants (Godet *et al.*, 2005).

VI. Présentation de la zone d'étude :

L'Oued Seybouse est l'une des rivières les plus importantes en Algérie. Elle s'étend sur environ 240 km, traverse sept wilayas (Guelma, Annaba, Souk Ahras, El Tarf, Oum El Bouaghi, Constantine et Skikda) et 68 municipalités, dont 30 sont entièrement incluses dans son bassin, et partiellement pour les autres (Fraga *et al.*, 2022).

C'est le deuxième plus grand bassin hydrographique en Afrique du Nord, après le bassin de la rivière Medjerda dans la partie orientale. La rivière Seybouse prend sa source avant d'entrer dans la commune de Guelma (20 km), par la confluence des rivières Charf et Bouhamdane. Elle traverse ensuite une ouverture relativement étroite et pénètre dans le vaste bassin de Guelma, s'étendant clairement d'ouest en est sur toute sa longueur (Charchar *et al.*, 2017).

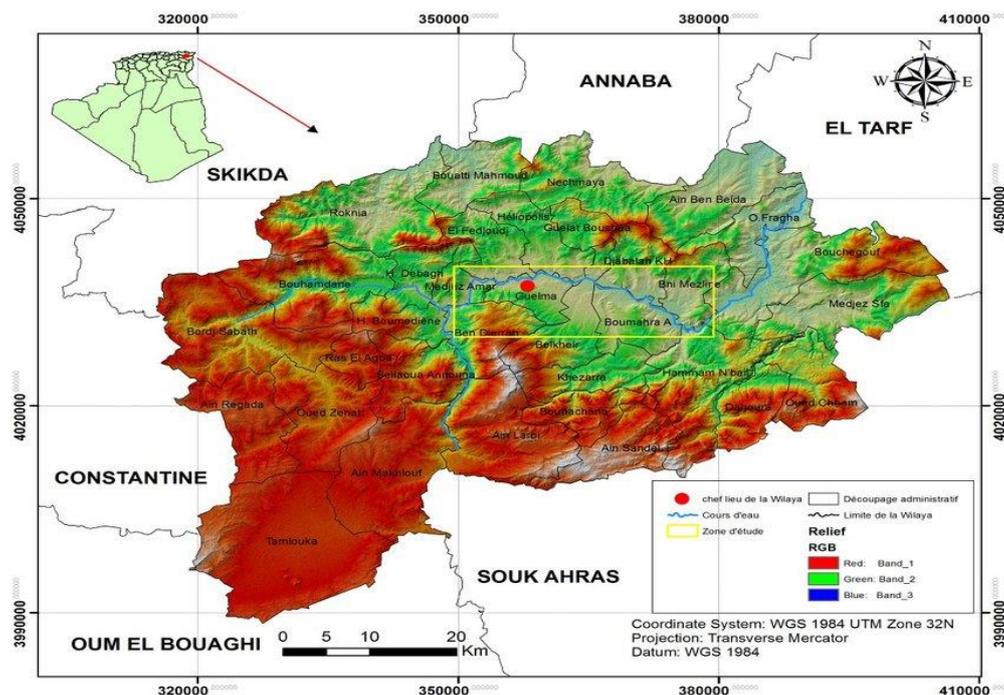


Figure 08 : Carte géographique présente la zone étudiée (Aissaoui *et al.*, 2017).

Chapitre 02 :
Matériel et méthodes

I. Matériels et méthodes :

I.1.Echantillonnage

La collecte des échantillons d'eau est réalisée à partir d'Oued Seybouse (Guelma) qui draine l'un des principaux bassins versants de l'Algérie, ce bassin situé au Nord-est de l'Algérie et couvre une superficie totale d'environ 6471Km², c'est le bassin le plus vaste après celui de la Madjerda de la partie orientale de l'Afrique du Nord (**Reggam et al., 2015**).

Seybouse est situé entre la confluence de l'Oued Charef et l'Oued Bouhamdane et prend naissance de la commune de Medjez Amar à l'Ouest de la ville de Guelma.

Les échantillons d'eau sont prélevés en mois de Février 2024, dans des bouteilles en verre propres de 250 ml à partir de quatre stations différentes dont leurs valeurs GPS ont été notées. Les flacons sont immergés à une profondeur de 20 cm de la surface pour éviter les obstacles naturels ou artificiels (figure 09). Les échantillons sont prélevés manuellement à des points fixes, les flacon sont ouverts sous l'eau et dirigés dans le sens opposé au courant. Ensuite, le bouchon est placé sous l'eau pour éviter les bulles d'air et s'assurer que le récipient n'est pas complètement rempli.

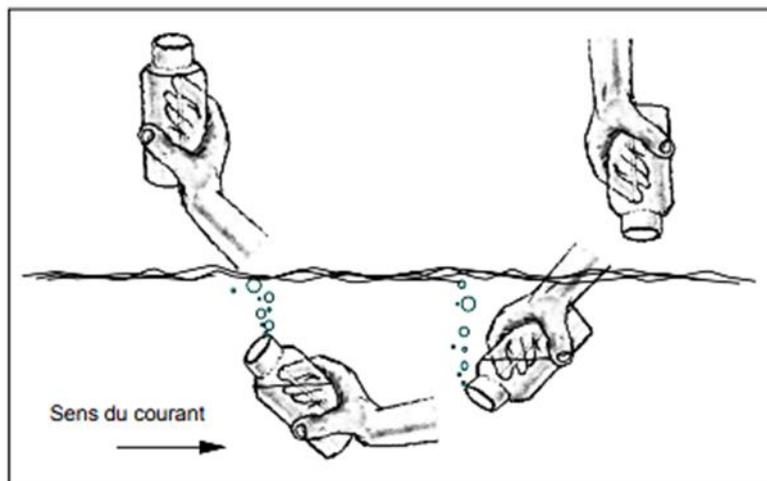


Figure 09 : Echantillonnage à partir d'un cours d'eau (**Héber et Légaré, 2000**).

Une sonde multiparamètres a été utilisée pour déterminer leurs paramètres physicochimiques *in situ*.

Station 01 : Medjez Amar (36.444065N,7.329673E) qui est le point de confluence de l'oued Charef et de l'oued Bouhamdane, formant ainsi le début de la rivière Seybouse. La rivière traverse la commune de Medjez Amar entourée de terres agricoles le long de ses rives.



Figure 10 : Site de prélèvement station 01 (Medjez Amar).

Station 02 : Héliopolis (36.484889N,7.438796E) est une zone avec une activité agricole, impliquant l'utilisation d'engrais et de pesticides agricoles qui s'infiltrent à travers le sol dans les eaux souterraines et celles de la rivière, en raison de la présence de terres agricoles le long des rives de la rivière. De plus, les eaux usées domestiques et les déchets urbains sont déversés dans la rivière.



Figure 11 : Site de prélèvement station 02 (Héliopolis).

Station 03 : Boumahra Ahmed (36.468494N,7.534475E), c'est une zone avec une activité agricole intensive, ce qui implique une utilisation massive d'engrais. On y trouve également une usine de marbre et une usine de tomates en conserve qui rejettent leurs déchets dans la rivière. De plus, il y a deux usines de carreaux : l'une déverse directement ses déchets dans la rivière et l'autre dans l'oued Bousera, qui se jette dans l'oued Seybouse. Les eaux usées des habitants et les déchets urbains contribuent également à la pollution.



Figure 12 : Site de prélèvement station 03 (Boumahra Ahmed).

Station 04 : Nador (36.419567 N,7.615260 E) est entourée de terres agricoles de tous les côtés, ce qui signifie que l'utilisation excessive d'engrais et de pesticides agricoles qui s'infiltrent dans le sol peut causer la pollution des eaux de la rivière en raison de son passage à travers ces terres. En outre, les eaux usées des canaux d'égout sont déversées dans la rivière. Nador est la dernière zone traversée par l'oued Seybouse après son passage par Medjez Amar, Héliopolis et Boumahra Ahmed.



Figure 13 : Site de prélèvement station 04 (Nador).

Les prélèvements sont conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation.

I.2. Test d'*Allium cepa* pour la cytotoxicité et la génotoxicité

I.2.1. Organisme d'essai et conditions de croissance :

Des bulbes d'oignons ont été obtenus d'un marché local à Guelma et ils sont choisis selon leur taille (environ 3 à 4 cm de diamètre) et leur apparence. Les écailles extérieures et les anciennes racines ont été éliminées avec précaution avant de commencer l'expérience. Durant toutes les expériences réalisées, les bulbes sont incubés à l'obscurité à température ambiante.

Pour ce test de toxicité, un total de 25 bulbes est utilisé pour tous les échantillons, y compris le contrôle négatif (eau synthétique), 5 bulbes sont utilisés pour chaque échantillon.

Les bulbes 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 2 jours dans de l'eau synthétique (ES), puis pendant 48 heures dans les échantillons avec changement des solutions chaque 24 heure. Après 4 jours de traitement, la longueur des racines est mesurée. Les pourcentages d'inhibition de l'élongation racinaire sont représentés en fonction des différentes stations de prélèvement en comparaison avec l'eau synthétique considérée comme contrôle négatif.



Figure 14 : Bulbes cultivés dans différents échantillons

I.2.2. Indice mitotique et aberrations chromosomiques :

L'indice mitotique (IM) et les aberrations chromosomiques (AC) sont déterminés sur les racines d'*Allium cepa* traitées précédemment par les échantillons d'eau des quatre stations et l'eau synthétique. Les extrémités des racines de chaque groupe d'essai ont été immédiatement placées dans un fixateur éthanol/acide acétique, (3/1) pendant 24 h à 4°C, puis conservées dans l'éthanol 70% à 4°C jusqu'à utilisation. Pour l'observation microscopique, trois lames ont été préparées pour chaque groupe d'essai et codées. Les pointes des racines ont été hydrolysées pendant 8 minutes dans de l'HCL 1N à 60 °C et colorées par la réaction de Feulgen, puis les 2 mm apicaux ont été écrasées dans une goutte d'acide acétique à 45% sur les lames, et des lamelles sont abaissées avec précaution pour exclure les bulles d'air. Les lamelles ont été scellées aux lames avec un vernis à ongles clair (Boumaza *et al.*, 2016).

I.2.3. Observation microscopique :

Les lames sont observées au microscope optique ($\times 40$). Pour l'indice mitotique, 1000 cellules classées en interphase (I) et cellules en division : prophase (P), métaphase (M), anaphase (A) et télophase (T) sont calculées. L'indice mitotique est exprimé comme étant le nombre des cellules en division par toutes les cellules selon la formule :

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

Les cellules sont aussi examinées à ($\times 60$) pour l'étude des aberrations chromosomiques pour chaque station en comparaison avec l'ES. Les catégories suivantes d'aberrations ont été étudiées : fragments chromosomiques, c-mitose, pont, perte de chromosome, et autres aberrations.

I.3. Evaluation du stress oxydant

I.3.1. Préparation des échantillons

I.3.1.1. Activité de la catalase :

Les racines fraîches de chaque traitement ont été homogénéisées dans un mortier avec 0,05 M tampon phosphate de sodium (pH 7,8) à la fin de l'expérience. L'homogénat a été centrifugé à $10\,000 \times g$ pendant 20 min à $4^\circ C$ et le surnageant a été utilisé pour analyser l'activité enzymatique du catalase (CAT).

L'activité du CAT a été testée selon la méthode de **Zhang *et al.* (2005)**. L'activité CAT a été déterminée par un spectrophotomètre UV-Vis dans 2,8 ml de mélange réactionnel contenant 1,5 ml de tampon phosphate de sodium 0,05 M (pH 7,8), 1 ml d'eau distillée et 0,3 ml de H_2O_2 0,1 M. préparé immédiatement avant l'utilisation, puis 0,2 ml d'extrait enzymatique ont été ajoutés. L'activité du CAT a été mesurée en surveillant la diminution de l'absorbance à 240 nm à des intervalles de 0,5 min jusqu'à 2 min en fonction de la consommation de l' H_2O_2 . L'activité enzymatique de la catalase est calculée selon la formule suivante :

$$K = \frac{2.303}{T} \times \log (A_1/A_2)$$

Dont :

K : Constante de vitesse de la réaction d'ordre 1.

T : Intervalle de temps en minute.

A1 : Absorbance à t_0

A2 : Absorbance à t_1

L'activité enzymatique de la catalase = K/n (K/g) où n représente la quantité de tissu en gramme dans le volume utilisé de l'échantillon testé (**Zhang *et al.*, 2005**).

I.3.1.2. Dosage du glutathion

Le dosage de glutathion réduit est effectué selon la méthode de **Ellman G., (1959)** au niveau du des racines fraîches. La méthode du dosage de glutathion est basée sur l'évaluation de la réduction du réactif d'Ellman par les groupes (SH) en formant l'acide 2-nitro-5-mercaptobenzoïque ; ce dernier est caractérisé par une coloration jaune intense, ce qui permet sa quantification spectrophotométrique à 412 nm. Les racines sont homogénéisées dans du tampon phosphate de potassium pH8 (0.1M). 0.5 ml de TCA à 10% sont mélangés avec 0.5 ml d'échantillon. Le mélange est agité de temps en temps pendant 15 minutes. Après 15 minutes, les tubes sont centrifugés 5 minutes à 2000 tpm. D'autres tubes sont préparés pour le mélange réactionnel : 100µl de réactif d'Ellman (0.396g/100ml de tampon) sont ajoutés à 1.7 ml de tampon, ensuite, 200 µl de surnageant sont additionnés et la lecture se fait après 5 minutes à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. Les concentrations du glutathion réduit sont exprimées en µmol par gramme de tissu. Elles sont déduites à partir d'une gamme étalon de glutathion préparée dans les mêmes conditions que le dosage (**Ellman, 1959**).

I.3.1.3. Dosage de l'MDA :

Le niveau de peroxydation lipidique a été exprimé en fonction du malondialdéhyde (MDA) selon (**Qin et al., 2010**). Les échantillons frais de chaque traitement ont été homogénéisés dans 5 mL d'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % avec dans un mortier. Les homogénats ont été centrifugés à $4\ 000 \times g$ pendant 20 min. Pour chaque aliquote de 2 mL du surnageant, 2 mL de 0,6 % d'acide 2-thiobarbiturique (TBA) dans 10 % de TCA a été ajoutée. Les mélanges ont été chauffés au bain marie pendant 20 min puis refroidi rapidement dans un bain de glace. 2 ml de n butanol sont ajoutés aux différents tubes. Après agitation rigoureuse, les tubes sont centrifugés à $4\ 000 \times g$ pendant 10 min, l'absorbance du surnageant a été enregistré à 532 nm. La peroxydation lipidique a été exprimée en tant que teneur en MDA en nmol par g de poids frais et calculé à partir d'une gamme préparée sous les même conditions avec une solution de «1,1,3,3-tetraoxypropane» qui donne le MDA après son hydrolyse (**Qin et al., 2010**).

1.4. Analyse statistique

L'étude statistique est réalisée en appliquant le test d'ANOVA en ligne pour faire la comparaison entre les différentes stations. On considère que la différence est significative à $p < 0.05$.

Chapitre 03 :
Résultats et discussion

Résultats et discussion

Dans la présente étude, la toxicité et la génotoxicité des échantillons d'eau prélevés à partir d'Oued Seybouse sont évaluées par le test *Allium cepa* en prenant en considération trois paramètres: l'inhibition de l'élongation racinaire et l'effet sur l'index mitotique, l'étude des aberrations chromosomiques et l'évaluation de quelques paramètres du stress oxydant.

1. Paramètres physico-chimiques des échantillons d'eau :

La conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$) et le pH, le Potentiel d'oxydoréduction, Oxygène dissous, le taux des matières dissoutes, la salinité et la turbidité ont été mesurés *in situ*. Les résultats des paramètres physico-chimiques sont présentés dans Tableau 3.

Tableau 03 : paramètres physicochimiques des stations d'échantillonnage

	Station1	Station 2	Station 3	Station 4
MVpH	-62.3	-52.9	-50.0	-38.1
pH	8.29	8.12	8.06	7.86
ORP	156.2	157.1	156.1	157.1
DO	81.3%	73.1%	74.0%	76.8%
mg/L DO	8.09	7.18	6.98	7.31
$\mu\text{S}/\text{cm}$	1011	1042	1088	1047
$\mu\text{S}/\text{cm}^a$	785	821	894	853
$\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$	0.0010	0.0010	0.0009	0.0010
mg/L tds	505	521	544	523
PSU	0.50	0.52	0.54	0.52
FNU	432	303	380	244

Les résultats sont en corrélation avec le degré de charge des échantillons d'eau testé. Les niveaux de pH des échantillons d'eau étaient légèrement alcalin et variait entre 7,86 et 8,29. La conductivité électrique de l'eau est un indicateur simple et utile de sa salinité ou du sel total contenu. Les valeurs de conductivité les plus élevées ont été détectés dans la station 3 (Boumahra Ahmed), puis la station 4 (Nadhör) et 2 (Héliopolis). Ces résultats ne sont pas surprenant puisque les eaux usées de la décharge municipale contiennent souvent des niveaux

élevés de sels dissous (**Radić et al., 2010**). Les valeurs DO des échantillons d'eaux étaient plus élevés dans la station S1 puis S4 que les stations S2 et S3, probablement en raison des taux des rejets en matières organique (**Radić et al., 2010**).

2. Test d'*Allium cepa* pour la cytotoxicité et la génotoxicité :

Selon **Boumaza A et al., (2016, 2024)**, lorsque l'élongation racinaire diminue, cela implique une diminution critique de la prolifération cellulaire, conduisant à l'arrêt du cycle cellulaire, ce dernier est considéré comme signe d'effets toxiques. Les racines d'oignon (*A. cepa*) exposées à l'eau synthétique pendant 48 h (témoin négatif) avait une longueur moyenne de 4.92 cm (Tableau 04) et présentait une morphologie normale.

Tableau 04 : Longueurs des racines d'*Allium cepa* exposées aux différents échantillons d'eau

Echantillons	ES	station 1	station 2	station 3	station 4
Longueurs des racines	4.92±0.38 ^a	3.58±0.97 ^b	4.33±0.61 ^c	4.67±0.60 ^a	4.42 ^c ±0.49 ^c

Chaque valeur représente la moyenne ± l'écart type avec n=5. ES : Eau synthétique, Station 1 Medjez Amar, Station 2 Héliopolis, Station 3 Boumahra Ahmed, Station4 : Nadhor. Les valeurs avec des lettres différentes désignent une différence significative entre les stations et le contrôle négatif.

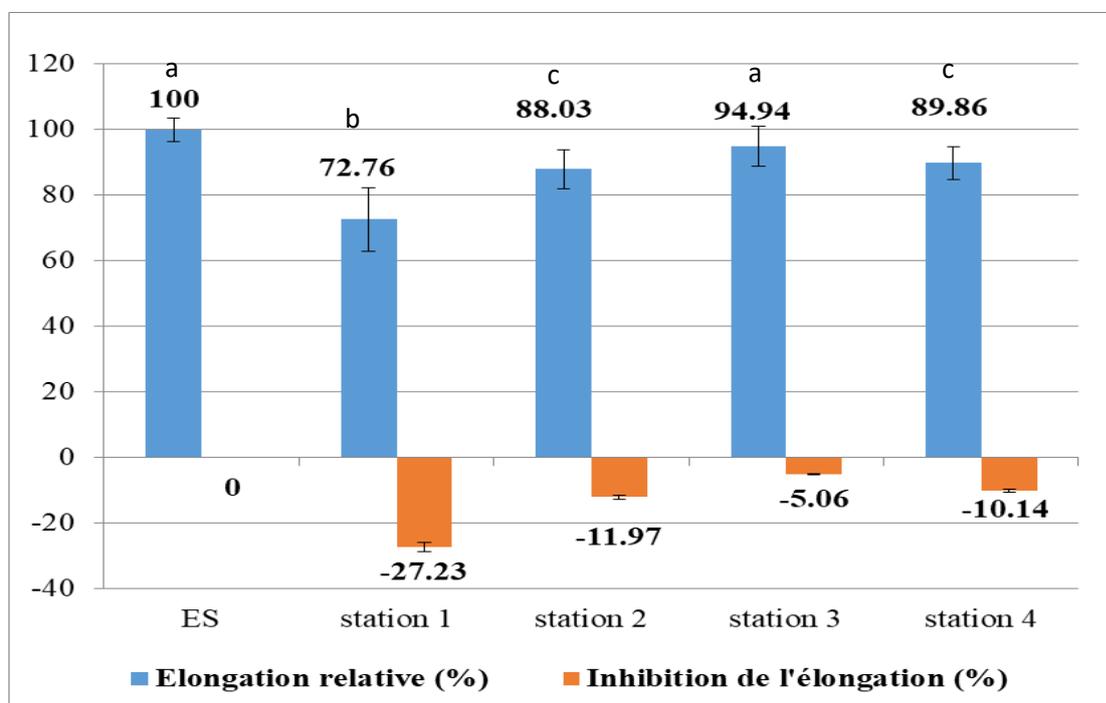


Figure 15 : Pourcentage des élongations relatives par rapport au contrôle négatif et les pourcentages d'inhibition de l'élongation racinaire.

Chaque valeur représente la moyenne ± l'écart type avec n=5. ES : Eau synthétique, Station 1

Medjez Amar Station2 : Héliopolis, Station3 : Boumahra Ahmed, Station4 : Nadhor. Les valeurs avec des lettres différentes désignent une différence significative entre les stations et le contrôle négatif.

Les échantillons collectés des stations S1, S2, S3 et S4 avaient des longueurs de racines relativement réduites de 27.23, 11.97, 5.06 et 10.14% respectivement par rapport au contrôle négatif (figure 15). Des racines jaunâtres et curvées sont observées uniquement avec les échantillons des stations S2, S3 et S4, mais la différence est significative uniquement dans les stations S1, S2 et S4 par rapport au témoin négatif. Selon Boumaza *et al.*, (2024), la diminution de l'élongation racinaire est un signe de toxicité et de diminution de la vitesse de division cellulaire.

Pour l'étude de génotoxicité, l'indice mitotique et les aberrations chromosomiques sont déterminés. L'indice mitotique des cellules méristématiques d'*A. cepa* traitées avec les différents échantillons d'eau a été significativement diminué par rapport au contrôle négatif (Tableau 05). L'indice 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 ou une matrice en nous renseignant sur la possibilité de l'analyse génotoxicologique, parce qu'un pourcentage des cellules en division inférieur à 10 signifie qu'il n'y a pas suffisamment de cellules en division pour qu'elles soient analysées (Rank, 2003).

Les résultats de la présente étude (Tableau 05) ont montré une diminution considérable de l'indice mitotique avec les échantillons des quatre stations par rapport au contrôle négatif. Cependant, le pourcentage des cellules en division reste supérieur à 10 sauf pour la station 3 où il n'a pas dépassé 9%.

Tableau 05 : effet des différents échantillons d'eau sur l'indice mitotique et les phases mitotiques des cellules méristématiques des racines d'*Allium cepa*, et le Nombre Totale des Aberrations (NTA)

Echantillons	IM (%)	I (%)	Phases mitotiques (%)				NTA (%)
			P	M	A	T	
ES	6.09±1.45 ^a	39.1±0.34	40.3	10.2	1.5	8.9	3.44 ^a
S1	3.13±1.02 ^b	68.7±1.23	27.5	1.02	2.78	0	11.89 ^b
S2	3.74±0.45 ^c	62.6±2.24	29.65	5.43	1.8	0.52	13.87 ^b
S3	0.89±0.21 ^d	91.1±3.07	5.43	2.87	1.89	0.67	38.98 ^c
S4	1.56±0.68 ^e	84.4±1.78	13.22	1.12	0.67	0.59	27.45 ^d

Chaque valeur représente la moyenne ± l'écart type avec n= 3. ES : Eau synthétique, Station 1

Medjez Amar Station2 : Héliopolis, Station3 : Boumahra Ahmed, Station4 : Nadhor. Les valeurs avec des lettres différentes désignent une différence significative entre les stations et le contrôle négatif

Concernant les pourcentages des phases mitotiques, on note une répartition normale pour les racines traitées avec l'ES. Cependant, on note que le pourcentage de l'interphase augmente avec les autres échantillons où les valeurs les plus élevées sont enregistré avec la S3 puis la S4. Concernant les cellules en division, les pourcentages des phases : anaphase et télophase sont aussi très faibles. Ce résultat signifie que ces deux échantillons sont les plus toxiques et provoquent un blocage du cycle cellulaire. Selon **Leme D et Marin-Morales, (2009)** et **Owolarafe T et al., (2020)**, l'IM est un paramètre précieux pour déterminer la cytotoxicité d'un agent sur *A. cepa*. Par conséquent, la diminution observée du l'IM des racines d'*A. cepa* est considérée comme un effet cytotoxique qui a conduit à l'inhibition de la croissance des racines. Cela indique un retard du cycle de division cellulaire qui est confirmé par la diminution significative du pourcentage de cellules en division par rapport au contrôle négatif et l'accumulation de cellules en interphase. L'accumulation importante des cellules en interphase et l'augmentation du pourcentage de prophase dans les cellules en division peuvent s'expliquer par un dysfonctionnement des points de contrôle, ce qui peut entraîner la mort cellulaire (**Sabeen et al., 2020**).

Concernant les aberrations chromosomiques (AC) chez *A. cepa*, une augmentation significative du pourcentage du NTA a été observée avec les échantillons d'eau testés par rapport au témoin négatif. La valeur la plus élevée est noté au niveau de la station S3 suivie par la station S4 (Tableau 05). La figure 16 montre les différentes phases mitotiques normales chez *Allium cepa* et la figure 17 montre les différentes aberrations chromosomiques et mitotiques observées dans les extrémités des cellules racinaires d'*A. cepa* exposé aux différents échantillons d'eau testés.

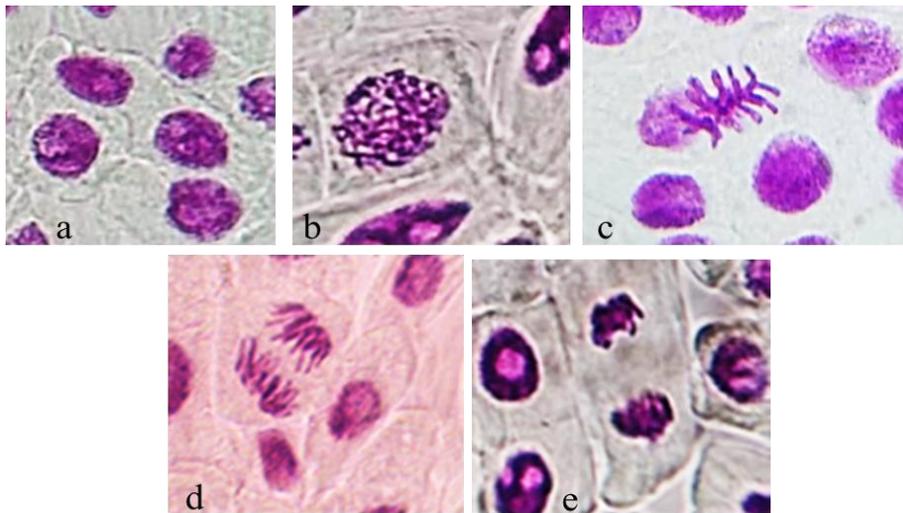


Figure 16 : les différentes phases mitotiques normales chez *Allium cepa* : (a) Interphase, (b) Prophase, (c)Métaphase, (d) Anaphase, (e) Télophage.

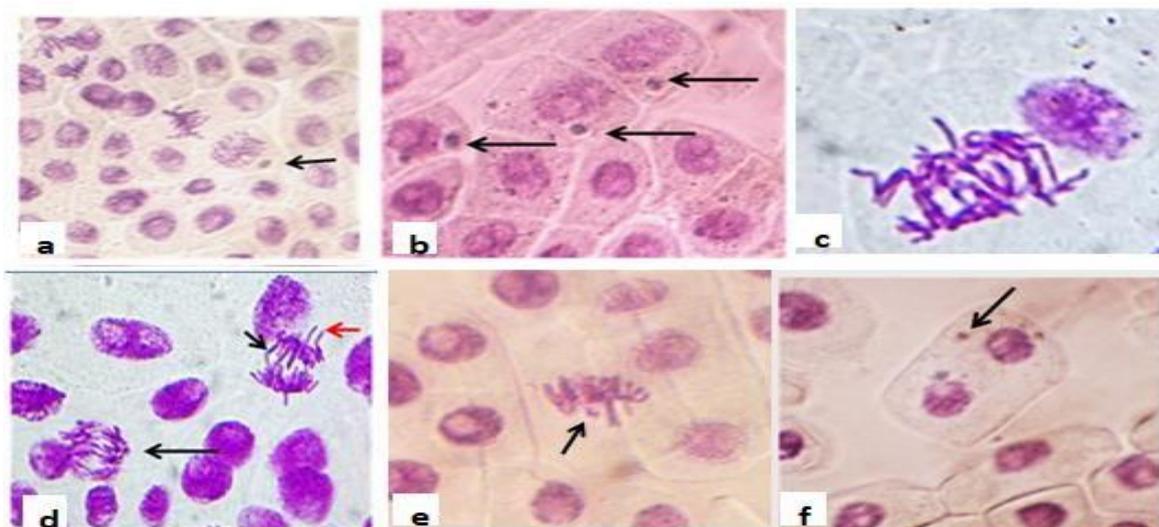


Figure 17 : les différentes aberrations chromosomiques observées dans les extrémités des cellules racinaires d'*A. cepa* exposé à différentes concentrations de l'extrait aqueux d'EAZC (a) C- métaphase + chromosome vagabond et retardataire en anaphase, (b) micronoyau, (c) Canaphase + chromosome retardé, (d) ponts (flèche noire) + chromosomes vagabond (flèche rouge), (e) cassures, (f) Cellule binucléée avec des micronoyaux. (g) Cellule polynucléée (h) : prophase avec micronoyau (i) nucléoles fragmentés.

En analysant la relation entre le pourcentage du NTA et l'IM, on note qu'ils sont inversement proportionnels (Figure 18). Si le pourcentage du NTA augmente, l'IM diminue.

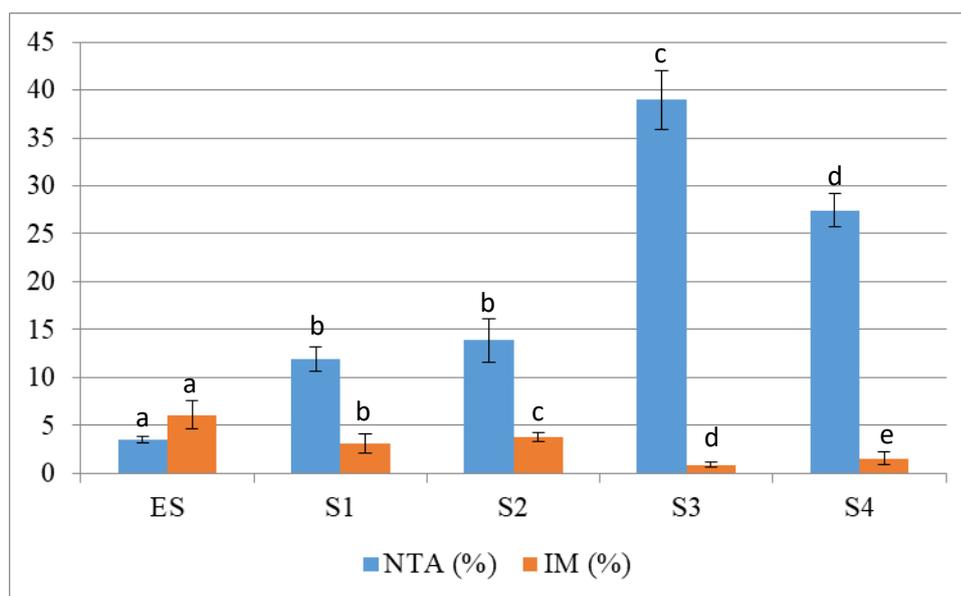


Figure 18 : Relation entre l'IM et le NTA (%)

ES : Eau synthétique, Station 1 Medjez Amar, Station2 : Héliopolis, Station3 : Boumahra Ahmed, Station4 : Nadhor. Les valeurs avec des lettres différentes désignent une différence significative entre les stations et le contrôle négatif

3. Evaluation des paramètres du stress oxydant

Les résultats des paramètres du stress oxydant sont présentés dans le tableau 06.

Tableau 06 : paramètres du stress oxydant au niveau des racine d'*Allium cepa* traités avec les différents échantillons d'eau

Echantillons	CAT (K.g ⁻¹ PF)	GSH (nmol.g ⁻¹ PF)*10 ²	MDA (μmol.g ⁻¹ PF)
ES	0.23±0.031 ^a	0.87±0.054 ^a	0.54±0.017 ^a
S1	0.15±0.011 ^b	0.52±0.010 ^b	0.97±0.053 ^b
S2	0.15±0.009 ^b	0.47±0.018 ^b	1.08±0.084 ^b
S3	0.50±0.024 ^c	0.26±0.055 ^c	1.63±0.201 ^c
S4	0.39±0.035 ^d	0.35±0.027 ^d	1.29±0.124 ^d

Chaque valeur représente la moyenne ± l'écart type avec n= 3. ES : Eau synthétique, Station 1 Medjez Amar Station2 : Héliopolis, Station3 : Boumahra Ahmed, Station4 : Nadhor. Les valeurs avec des lettres différentes désignent une différence significative entre les stations et le contrôle négatif

La figure 19 montre les paramètres du stress oxydant au niveau des racines d'*Allium cepa* traités avec les différents échantillons d'eau.

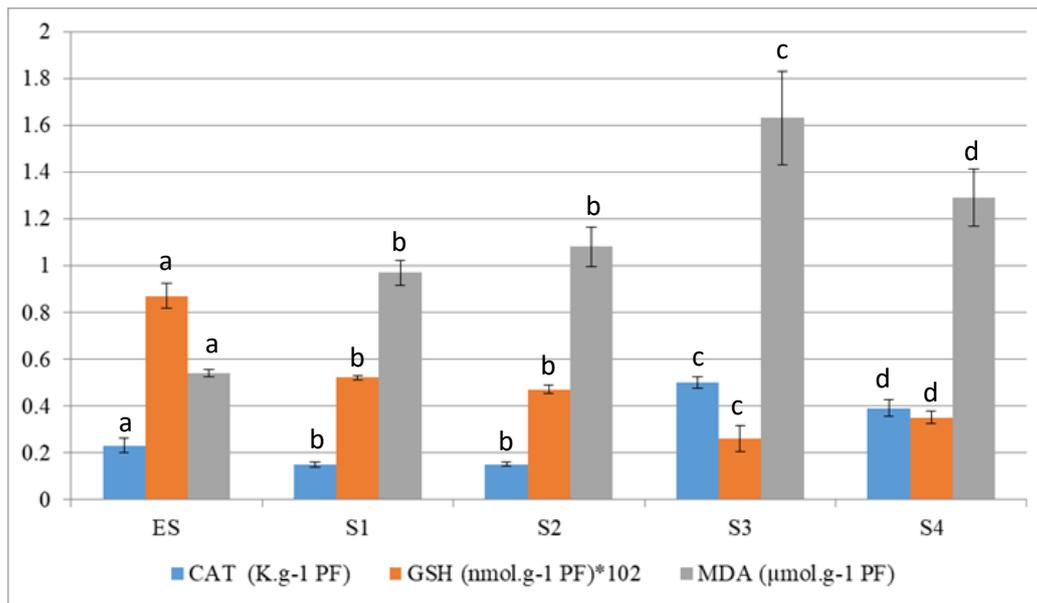


Figure 19 : paramètres du stress oxydant au niveau des racines d'*Allium cepa* traités avec les différents échantillons d'eau

ES : Eau synthétique, Station 1 Medjez Amar Station2 : Héliopolis, Station3 : Boumahra Ahmed, Station4 : Nadhor. Les valeurs avec des lettres différentes désignent une différence significative entre les stations et le contrôle négatif

On note que l'activité du catalase diminue dans les stations S1 et S2, alors qu'elle augmente significativement dans les stations S3 et S4. La CAT est un antioxydant majeur qui réduit le peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire et détruit non seulement le peroxyde d'hydrogène, mais empêche également la formation d'autres espèces cytotoxiques de l'oxygène. L'augmentation de l'activité du CAT est un mécanisme de défense cellulaire contre le stress oxydant alors que la diminution de son activité peut être due à son endommagement suite à la production sévère du stress oxydant (Boumaza et al., 2024).

Concernant la GSH, sa concentration a diminué significativement par rapport à l'ES dans toutes les stations et de manière aigue au niveau de la S3. Le GSH est le thiol intracellulaire majoritaire. Dans les conditions physiologiques normales, il est présent essentiellement sous sa forme réduite. La mesure du taux GSH/GSSG est une bonne méthode pour évaluer le stress oxydant dans l'organisme. Le potentiel antioxydant du glutathion est dû à son habilité à donner l'hydrogène ce qui lui permet de réduire les radicaux libres, et certaines espèces réactives telles que HOCl et ONOO⁻. GSH est aussi capable de chélater les ions cuivreux et ferreux, ce qui inhibe la réaction de Fenton. In vivo, GSH constitue ainsi la première ligne de défense contre la toxicité des métaux (Haleng et al., 2022). La déplétion du GSH réduit peut être expliquée par son utilisation contre les stress oxydant et sa transformation en sa forme oxydée (GSSG).

Le dosage de l'MDA a pour objectif d'estimer le taux d'endommagement de la membrane des racines en fonction de la peroxydation lipidique. Les résultats montrent une augmentation significative de la peroxydation lipidique dans toutes les stations d'échantillonnage. La valeur la plus élevée est observée au niveau de la station S3 où nous avons déjà enregistré le NTA % le plus élevé. Ces résultats indiquent que les échantillons d'eau testés produisent indirectement des ROS et provoquent un déséquilibre entre la production de ROS et la défense antioxydante, conduisant à une augmentation de la peroxydation lipidique et le stress oxydatif dans les racines (Qin et al., 2010)

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

La présente étude a pour but d'évaluer les effets cytotoxiques et génotoxiques des eaux d'Oued Seybouse, en utilisant le test d'*Allium cepa* et aussi évaluer le stress oxydant au niveau de ses racines.

Les résultats ont montré un effet génotoxique élevé. Une diminution de l'indice mitotique et une augmentation de l'indice d'anomalies (AC) étaient les signes les plus importants de l'effet génotoxique. Ces effets néfastes ont été accompagnés de l'augmentation du stress oxydant au niveau des racines d'*Allium cepa* traitées avec les échantillons d'eau des différentes stations d'Oued Seybouse. Cela signifie que les eaux d'Oued Seybouse sont hautement cytotoxique et génotoxique, ce qui les rend dangereuses pour l'irrigation, car les substances toxiques pourrait entrer dans la chaîne alimentaire et provoquer des maladies dues aux phénomènes de bioamplification et de bioaccumulation.

On peut conclure que les essais biologiques de toxicité/génotoxicité devraient constituer un outil essentiel dans l'évaluation de la toxicité des eaux avant leur utilisation. Ils devraient également être utilisés pour surveiller les eaux de surface et leur qualité, car cela fournirait des données utiles à l'évaluation des risques. Cette étude a montré l'utilité de combiner l'analyse physico-chimique avec les méthodes cytogénétiques et l'évaluation du stress oxydant pour mieux comprendre la toxicité des produits chimiques, des polluants et leur influence sur la santé.

En perspective, des études de toxicité approfondies sont nécessaires pour plus de compréhension des mécanismes de toxicité en générale et une analyse des constituants en polluants chimiques et organiques est très recommandée pour déterminer les agents en cause et les sources réelles de pollution des eaux d'Oued Seybouse. L'application de d'autres tests de génotoxicité avec d'autres modèles expérimentaux pourrait être utile dans ce cas.

Identifier la composition des eaux d'Oued Seybouse en polluants permet de fournir des options de nettoyage ou de traitement pour résoudre les risques environnementaux et pour la santé publique. En outre, la surveillance et la gestion continues de la qualité de l'eau sont essentielles au maintien de la santé écologique de l'écosystème.

Références bibliographiques

A

- Adjagodo A, Kelomè NC, Vissin EW, Agbossou E. (2017).** Pollution Physique Et Bactériologique De L'eau Du Fleuve Dans La Basse Vallée De L'ouémé Pendant Les Périodes De Basses Et Hautes Eaux Au Bénin. *European Scientific Journal*, ESJ.volume :(13). 35.
- Aissaoui, M.; Benhamza, M.; Guettaf, M. (2017).** Caractéristiques hydro-chimiques des eaux de l'oued Seybouse-Cas de la région de Guelma (Nord-est Algérien) (Hydro-chemical characteristics of the Seybouse river —Case study of the Guelma region (Northeast of Algeria)). *Rev. Sci. Technol. Synthèse*, volume : (35), pages : (178–186).
- Arris S, (2008).** Etude Expérimentale de l'Élimination des Polluants Organiques et Inorganiques par Adsorption sur des Sous-Produits de Céréales, Thèse de Doctorat, Université de Constantine, P5.
- Ana Paula A. Guimarães, Adriana C. Guimarães, Diego Á. Alcântara , Luiz Raimundo Cunha , Patrícia L. Lima , Marne C. Vasconcellos , Raquel C. Montenegro , Bruno M. Soares , Marucia M. Amorim , and Rommel R. Burbano (2014).** Chromosomal Aberration Test Utilities In Vitro and In Vivo. *researchgate* .10.1007/978-1-4939-1068-7_7.
- **Attia, A. M. M., Nabil, G. M., Frankenberg, D., & Frankenberg-Schwager, M. (2011).** Measurement of X-ray-induced DNA double-strand breaks at various stages of the cell cycle using the total fluorescence as a comet assay parameter. *Radiation Physics and Chemistry*, volume: 80(11), pages: (1178–1185).

B

- Benson N. (2008).** *Encyclopedia of Global Warming and Climate Change*. Ed. S. Philander. Thousand Oaks. CA: Sage Publications Inc .volume:3, pages: (813-817).
- Benkaddour.B, (2018),** Contribution à l'étude de la contamination des eaux et des sédiments de l'Oued Chélif (Algérie), thèse doctorat, Université de Perpignan, pages : (9-21).
- **Boumaza, A., Ferdi, S., Sbayou, H., Touhami, F. K., Belmahi, M. H., & Benlatreche, C. (2016).** Therapeutic Effect of *Zygophyllum cornutum* on Metabolic Disturbances, Oxidative Stress in Heart Tissue and Histological Changes in Myocardium of Streptozotocin-induced Dabetic Rats. *Journal of Life Sciences*, Volume: (10), page: 192.

C

- Cachot J. (coord.), Dégremont C., (2009).** La génotoxicité : quel risque pour les espèces aquatiques ? Fascicule Seine-Aval. volume : (2.2), page : 36.
- Cadet J, Douki T, Ravanat JL. (2015).** Oxidatively generated damage to cellular DNA by UVB and UVA radiation. *Photochem Photobiol.* volume: (91), pages: (55-140).
- Champoux, J.J. (2001).** DNA Topoisomerases: structure, function, and mechanism. *Annu.Rev. Biochem.*, volume: (70), pages: (369-413).
- Charchar.N, Bouchaala.L, Gherib A Aissaoui A, Houhamdi M, (2017).** Assessment of OuedSeybouse Pollution by Anionic Surfactants andtheir Ecotoxicological Effects on the Freshwater Crustaceans Caseof *Daphnia magna*, *Research & Reviews: Journal of Ecology and Environmental Sciences.* Volume: 5(2).
- Charpin, D., Pairon, J.-C., Annesi-Maesano, I., Caillaud, D., de Blay, F., Dixsaut, G., ... Dalphin, J.-C. (2016).** La pollution atmosphérique et ses effets sur la santé respiratoire. Document d'experts du groupe pathologies pulmonaires professionnelles environnementales et iatrogéniques (PAPPEI) de la Société de pneumologie de langue française (SPLF). *Revue Des Maladies Respiratoires*, volume: (33), pages : (484–508).
- Clément P. (2011).** Synthèse des connaissances sur l'origine et la disponibilité du cadmium dans les eaux continentales, Synthèse documentaire. Page :(6-7).

D

- Ding, W., Hudson, L.G., Sun, X., Feng, C.and Liu, K.J. (2008).** As (III) inhibits ultraviolet radiation-induced cyclobutane pyrimidine dimer repair via generation of nitric oxide in human keratinocytes. *Free Radic. Biol. Med.* Volume: (45), pages: (1065–1072).
- Dassonville C., Mandin, C., & Kirchner, S. (2014).** Pollutions à l'intérieur des espaces clos : sources, niveaux et impact sanitaire. Volet 1 : contaminants biologiques. *Archives Des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, Volume :75(4), pages : (433–441).
- Drabløs, F., Feyzi, E., Aas, P. A., Vaagbø, C. B., Kavli, B., Bratlie, M. S., Krokan, H. E. (2004).** Alkylation damage in DNA and RNA—repair mechanisms and medical significance. *DNA Repair*, Volume : 3(11), pages : (1389–1407).

-Duménil R (2020). Les matières fertilisantes et les supports de culture ont-ils des effets nocifs sur la santé humaine ou animale et sur l'environnement ?. Pour mémoire. Volume : (21), pages : (105-108).

E

- **Ellman G. (1959)**. Tissu sulf hydryl groups. Arch biochem biophys. Volume: (82), pages: (70-77).

-**Evans, A. E., Mateo-Sagasta, J., Qadir, M., Boelee, E., & Ippolito, A. (2019)**. Agricultural water pollution: key knowledge gaps and research needs. Current Opinion in Environmental Sustainability, Volume: (36), pages: (20–27).

F

-**Fornace, A.J. and Kohn, K.W. (1976)**. DNA-protein cross-linking by ultraviolet radiation in normal human and xeroderma pigmentosum fibroblasts, Biochim. Biophys. Acta, Volume: (435), pages: (95-103).

-**Fraga, A., Ketif, A., Sifi, K., & Laifa, A. (2022)**. Spatio-Temporal Variation of Some Physico-Chemical Parameters of Water in Lower Seybouse River (Northeastern Algeria), Journal of Bioresource Management, Volume: 9(4), pages: (8-23).

-**Fu, D., Calvo, J. A., & Samson, L. D. (2012)**. Balancing repair and tolerance of DNA damage caused by alkylating agents. Nature Reviews Cancer, Volume: (12), pages: (104-120).

G

-**Genin B, ; Chauvin C. ; Ménard F. (2003)**. Cours d'eau et indices biologiques: pollution, méthodes, IBGN. Volume: (1), page : (221).

-**Godet, Vasseur, Sabut, (2005)**. Essais de génotoxicité in vitro et in vivo applicables à l'environnement hydrique réseau. Revue des sciences de l'eau / journal of Water science, Volume :6 (3), pages : (285–314).

-**Gove L., Nicholson, F.A., Beck A.J., (2001)**. Movement of water and heavy metals (Zn, Cu, Pb and Ni) through sand and sandy loam amended with biosolids under steady-state hydrological conditions. Biosour. Technol. Volume: (78), pages: (171–179).

-**Grégoire E, Gruel G, Martin C, Roch-Lefèvre S, Vaurijoux A, Voisin P, Roy L.(2010).** Impact des facteurs individuels et environnementaux sur le taux d'aberrations chromosomiques de type translocations Partie 1 : âge, sexe, tabac, alcool.radioprotection. Volume : (45), pages : (153-169).

-**Gupta P., Mathur N., Bhatnagar P., Nagar P. and Srivastava S. (2009).** Genotoxicity evaluation of hospital wastewaters. Ecotoxicol Environ Saf . Volume: 72(7), pages: (1925-1932).

-**Guy R.C. (2014).** Ames test. Encyclopedia of toxicology. Volume: (3), pages: (187-188).

H

-**Hartemann P. (2013).** Eau de consommation risque, santé.Sciences Eaux & Territoires. Volume (1), pages : (14 – 21).

-**Hébert, S. et S. Légaré, (2000).** Suivi de la qualité des rivières et petits cours d'eau, Québec,Direction du suivi de l'état de l'environnement, ministère de l'Environnement, envirodoq no ENV-2001-0141, rapport n° QE-123, 24 p.

-**Houdouin V. (2019).** Quel est l'impact de la pollution atmosphérique sur l'asthme de l'enfant ? What is the impact of air pollution on children's asthma. Bull Acad Natl Med. Volume: (203), pages: (57-62).

-**Hirapure P. V., Paranjape S. A., Sarodaya V. S., Mehere B. A and Upadhye V. J. (2021).** Evaluation of Cytotoxicity and Genotoxicity of Water from Nag River, Nagpur, India. Nature Environment and Pollution Technology. An International Quarterly Scientific Journal. Volume: (20), pages: (1817-1823).

I

-**Ivanowsky A. (2016).** Ouvrages d'assainissement des eaux et qualité du milieu récepteur en zone urbaine. Cas de rejets dans la Marque à Villeneuve d'Ascq. Thèse de Doctorat. Université de Lille 1 (France), page 229 .

J

-**Jeng H. (2007)**. Encyclopedia of Cancer and Society. Ed. Graham Colditz. , Los Angeles: Sage Publications Inc. Volume: (2), pages: (695-697).

- **Jestin-Guyon N, Raheison-Semjen C. (2024)**. Exposition aux pesticides et maladies respiratoires chroniquesPesticide exposure and chronic respiratory diseases. Revue des Maladies Respiratoires. Volume : 41(5), Pages : (343-371).

K

-**Kozmin, S. G., & Schaaper, R. M. (2007)**. Molybdenum cofactor-dependent resistance to N-hydroxylated base analogs in Escherichia coli is independent of MobA function. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, Volume: (619), pages: (9–15).

L

-**Leme , Marin-Morales, (2009)**. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. Mutation Research/Reviews in Mutation Research. Volume: (682), pages: (71–81).

- **Leme, D. M., & Marin-Morales, M. A. (2009)**. Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application. Mutation research/reviews in mutation research, page: (73).

-**Levin, D. E., Yamasaki, E. and Ames, B. N. (1982)**. A new Salmonella tester strain, TA97, for the detection of frameshift mutagens. A run of cytosines as a mutational hot-spot. Mutat Res. Volume: (94), pages: (315-330).

-**Luan, Y., Honma, M. (2022)**. Genotoxicity testing and recent advances. Genome Instability & Disease. Volume: (3), pages: (1–21).

M

-**Marrelli, M., Amodeo, V., Statti, G., & Conforti, F. (2018).** Biological Properties and Bioactive Components of *Allium cepa* L.: Focus on Potential Benefits in the Treatment of Obesity and Related Comorbidities. *Molecules*, Volume: 24(1), page: 119.

-**Meybeck Michel H. (2001).** Encyclopedia of Global Change: Water Quality. Ed. Andrew S. Goudie. Oxford University Press: www.oxfordreference.com.edlis.ied.edu.hk/views/ENTRY.html?subview=Main&entry=t178.e0459.

-**Moller P, Knudsen LE, Loft S, et al. (2000).** The comet assay as a rapid test in biomonitoring occupational exposure to DNA-damaging agents and effect of confounding factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* Volume: (9), page: (1005–1015).

-**Mortelmans, K. and Zeiger, E. (2000).** The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research.* Volume: (455), pages: (29–60).

N

-**Nguyen, P., Toumbou, B., Duchesne, S., Kokutse, N. & Villeneuve, J.-P. (2018).** Évaluation de l'impact de la pollution diffuse sur la qualité de l'eau en rivière avec données restreintes : cas d'application du bassin versant de la rivière Cau. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, Volume : 31(3), pages : (293–312).

O

-**Orsière T, Iarmarcovai G, Botta A. (2008).** Les micronoyaux, un biomarqueur de susceptibilité ? Are micronuclei a biomarker of susceptibility?. *Doi.org.* Volume: (69), pages: (475-484).

-**Ostling, O., & Johanson, K. J. (1984).** Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Volume: 123(1), pages: (291–298).

- **Owolarafe, T. A., Salawu, K., Ihegboro, G. O., Ononamadu, C. J., Alhassan, A. J., & Wudil, A. M. (2020).** Investigation of cytotoxicity potential of different extracts of *Ziziphus mauritiana* (Lam) leaf *Allium cepa* model. *Toxicology Reports*, Volume: (7), pages: (816-821).

P

- **Pfeifer, G. P., Besaratinia, A. (2012).** UV wavelength-dependent DNA damage and human non-melanoma and melanoma skin cancer. *Photochem. Photobiol. Sci.* Volume: 11(1), pages: (90–97).

- **Phillips, D. H., & Arlt, V. M. (2009).** Genotoxicity: damage to DNA and its consequences. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*, pages: (87–110).

-**Pourret O;. (2021).** Pourquoi les scientifiques cherchent-ils à s'affranchir du terme " métaux lourds " ? The Conversation. fahal-03690206f.

-**Pourrut B., Perchet G.,Silvestre J.,Cecchi M.,Guirese M.et Pinelli E.(2008).** -Publishers, pages : (115–136).

- **Pourquier P. (2011).** Agents alkylantsAlkylating agents.*Bulletin du Cancer.* Volume : 98(11), Pages : (1237-1251).

Q

- **Qin R , Jiao Y, Zhang S, Jiang W, Liu D. (2010).** Effects of aluminum on nucleoli in root tip cells and selected physiological and biochemical characters in *Allium cepa* var. *agrogarum* L.*BMC Plant Biology*, Volume: (10), page: (225). <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/10/225>

R

-**Ravanat, J.-L., T. Douki and J. Cadet (2001).** "Direct and indirect effects of UV radiation on DNA and its components." *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* Volume: (63), pages: (88- 102).

- **Reggam, A., Bouchelaghem H., Houhamdi M. (2015).** Qualité Physico-Chimique des Eaux de l'Oued Seybouse (Nord-Est de l'Algérie): Caractérisation et Analyse en Composantes Principales (Physico-chemical quality of the waters of the Oued Seybouse (Northeastern

Algeria): Characterization and Principal Component Analysis). *J. Mater. Environ. Sci.* Volume: 6 (5), pages: (1417-1425).

-**Ropars-Collet C., Le Goffe P., Rieusset F. (2018).** Pollutions accidentelles des eaux de surface : une application des modèles de comptage. *Économie & prévision.* Volume: (1), pages : (1-18).

-**Rouamba, J., Nikiema, E., Rouamba, S., & de Charles Ouedraogo, F. (2016).** Accès à l'eau potable et risques sanitaires en zone périphérique de Ouagadougou, Burkina Faso. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 64, S211.

-**RECORD, (2011).** Méthodes isotopiques d'identification de l'origine des polluants métalliques et organiques dans les milieux : état de l'art et approche critique d'application, page : (115), n°09-138/1A.

S

- **Sabeen, M., Mahmood, Q., Bhatti, Z. A., Irshad, M., Bilal, M., Hayat, M. T., & Shahid, N. (2020).** Allium cepa assay based comparative study of selected vegetables and the chromosomal aberrations due to heavy metal accumulation. *Saudi journal of biological sciences*, Volume: 27(5), 1368-1374.

-**Sampath Kumar K. P., Bhowmik D., Tiwari P. (2010).** Allium cepa: a traditional medicinal herb and its health benefits. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.* Volume: 2(21), pages: (283–291).

-**Schlegel, R., MacGregor, J.T.and Everson, R.B. (1986).** Assessment of cytogenetic damage by quantitation of micronuclei in human peripheral blood erythrocytes. *Cancer Research*, Volume: (46), pages: (3717–3721).

-**Schmid, W. (1975).** The micronucleus test. *Mutation Research.* Volume: (31), pages: (9-15).

-**Sikora, A, Janion, C, Grzesiuk, E. (2012).** Bacterial Systems for Testing Spontaneous and Induced Mutations. *IntechOpen.* Volume: (10), page: (5772/50471).

-**Some, Y., Soro, T., & Ouedraogo, S. (2014).** Étude de la prévalence des maladies liées à l'eau et influences des facteurs environnementaux dans l'arrondissement de Nomgr-Masson :

cas du quartier Tanghin (Ouagadougou-Burkina Faso). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, volume : 8(1), page: 289.

-**Sommer, S., Buraczewska, I. Kruszewski, M. (2020).** Micronucleus Assay: The State of Art, and Future Direction. *Int J Mol Sci.* volume: (24;21), pages: (1534).

-**Speit, G. Hartmann, A. (2005).** The comet assay: a sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage. *Methods Mol Biol.* Volume: (291), pages: (85-95).

-**Sy I, Traoré D, Diène AN, Koné B, Lô B, Faye O, Utzinger J, Cissé G, Tanner M. (2017).** Eau potable, assainissement et risque de maladies diarrhéiques dans la Communauté Urbaine de Nouakchott, Mauritanie. *Santé Publique.* volume : (29), pages :(741–750).

T

-**Tessier A., Campbell, P.G.C., Bisson M., (1979).** Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal. Chem.* Volume: (51), pages: (848–851).

- **Tudi, M., Daniel Ruan, H., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., Phung, D. T. (2021).** Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, volume: 18(3), page: 1112.

Z

-**Zhang HY, Jiang YN, He ZhY, Ma M. (2005):** Cadmium accumulation and oxidative burst in garlic (*Allium sativum*). *J Plant Physiol.* Volume: (162), pages: (977-984).

Annexe

Annexe

1- Préparation de l'eau synthétique :

- dans un bécher mettez 200 ml eau distillée et ajouté 60 mg de CaSO_4 ,
- puis agiter avec un barreau magnétique sur l'agitateur à 60°C jusqu'à dissolution,
- ajouter un sous agitation 60 mg MgSO_4
- puis 96 mg NaHCO_3 , puis 4 mg KCL ,
- compléter le volume à 1 litre après avoir dissoudre les reactif.

2- Préparation du 40 ml de carnoy :

- Ethanol absolu 30 ml.
- Acide acétique glaciale 10 ml.

3- Préparation de 100 ml d'ethanol 70% :

- 30 ml eau distillée.
- 70 ml ethanol absolu.

4- Préparation de HCL 1N :

- mettez 10 ml d'eau distillée,
- puis on ajoute 8.17 ml HCL concentré (37%),
- puis on complète le volume à 100 ml avec eau distillée.

5- Préparation d'acide acétique glaciale 45% :

- mettez 27.5 ml eau distillée,
- puis complétez le volume à 50ml avec l'acide acétique glaciale.

6- Préparation de colorant feulgen :

- faire bouillir 100 ml eau distillée,
- ajouter 0.5 g fushine basique avec agitation par un barreau magnétique,
- laisser refroidir à 50°C avec agitation continue,
- rajouter 10 ml HCL 1N,
- rajouter 1 g $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ puis agitation 15 minutes,
- laisser reposer au frigo 24h dans un flacon sombre couvert avec aluminuim,
- puis filtrer avec papier filtre.

7- Préparation de DTNB :

- 6ml de SPB.
- 24mg de DTNB.

8- Préparation de TCA 10% :

- 2mg de TCA.
- 20ml d'eau distillée.

9- Préparation de PBS :

- 2g de NaCl .
- 350mg de NaHPO₄.
- 50mg de KCL.
- 65.5mg de KH₂PO₄.

10- Préparation de SPB :

- 1.5g de Na₂HPO₄ dans 250ml eau distillée.
- 1.96g de NaH₂PO₄ dans 250ml eau distillée.