

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

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

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



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

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

---

# Étude de la génotoxicité du pesticide « Tilt 250 » *in vivo* (*Allium cepa* test)

---

Présenté par :

BOUGUERRA Yamina

BOUMAZA Nadjeh

Devant le jury composé de :

-Président (e) : DRIF Fahima

M. C. B

Université de Guelma

-Examineur : HEMICI Ahmed

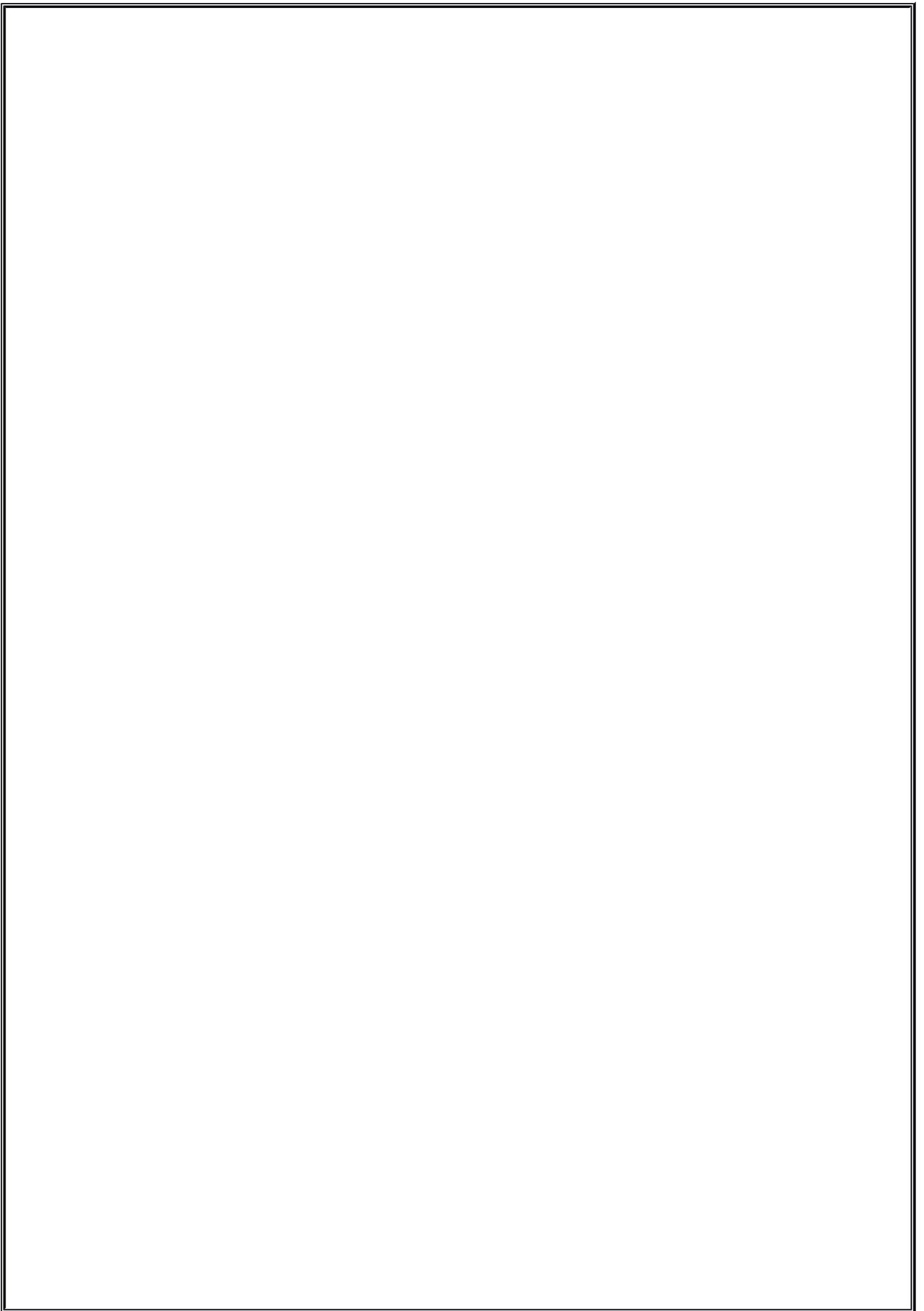
M. A. A

Université de Guelma

-Encadreur : BOUMAZA Awatif M. A. A

Université de Guelma

Juin 2015



## **Remerciement**

### *LE GRAND MERCI POUR ALLAH*

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

*Nous tenons premièrement à remercier sincèrement **Madame : Boumaza Awatif**, Directeur de mémoire, pour son intérêt et disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Notre sincère gratitude va à Madame Drif, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*Nos remerciements vont aussi à Monsieur Hemicí Ahmed, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

*Nous remercions, du fond du cœur, nos parents pour leur soutien et leur patience durant notre étude et pour leur aide et encouragement*

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

*Un merci spécial pour nos collègue et amis.*

## Sommaire

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des abréviations**

**Résumé**

**Introduction**

**Partie A : Synthèse bibliographique**

**I. Généralités sur les pesticides**

I.1. Historique.....	3
I.2. Définition .....	3
I.3. Classification des pesticides.....	4
I.3.1. Classification chimique.....	4
I.3.2. Classification par cible.....	6
I.3.3. Classification selon la dangerosité.....	6
I.3.4. Classification selon leurs utilisations.....	7
I.4. Les voies de pénétration des pesticides.....	7
I.4.1. Voies d'entrée directe:.....	8
I.4.2. Voies d'entrée indirecte:.....	8
I.5. Les modes d'exposition aux pesticides .....	8
I.5.1. Les expositions primaires (professionnels).....	8
I.5.2. Les expositions secondaires (non professionnels).....	9

## **II. Toxicité des pesticides**

II.1. La toxicité .....	10
II.1.1. Toxicité aiguë : .....	10
II.1.2. Toxicité chronique.....	10
II.2. Les facteurs influençant la toxicité des pesticides .....	10
II.3. Les effets des pesticides sur la santé.....	10
II.3.1. Effets sur la reproduction et le développement.....	11
II.3.2. Effets sur le système endocriniens.....	11
II.3.3. Effets neurologiques.....	11
II.3.4. Effets sur le système immunitaire .....	11
II.3.5. Effets dermatologiques.....	12
II.3.6. Cancers.....	12
II.4. L'impact des pesticides sur l'environnement .....	12
II.4.1. Contamination des eaux.....	12
II.4.3. Contamination des sols.....	13
II.5. La génotoxicité des pesticides .....	13
II.5.1. Définition de la génotoxicité.....	13
II.6. Les tests de génotoxicité .....	14
II.6.1. Test des micronoyaux.....	14
II.6.2. Test d'Ames.....	15
II.6.3. Test des comètes.....	16

II.6.4. Test d'aberration chromosomique.....	16
II.6.5. Echanges de chromatides sœurs.....	17
II.6.6. Les Adduits.....	17
II.6.7. Test d'Allium cepa.....	18

## **Partie B: Travail expérimental**

### **I. Matériel et méthodes**

I. 1. Matériel .....	21
I.1.1. Matériel biologique.....	21
I.1.2. Produits chimiques.....	21
I.2. Méthodes .....	22
I. 2. 1. Préparation du pesticide testé.....	22
I. 2. 2. Détermination de la CE <sub>50</sub> .....	22
I.2.3. Index mitotique et le test d'aberration chromosomiques.....	23
I.2.4. Observation microscopique et analyse.....	23
I.2.5. L'analyse statistique.....	23

### **II. Résultats et discussion**

II.1. Test d'inhibition de l'élongation racinaire.....	25
II.2. L'index mitotique (IM) .....	26
II.3. Test d'aberrations chromosomiques .....	28

### **Conclusion**

### **Références bibliographiques**

## Liste des tableaux

<b>Numéro du tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>page</b>
Tableau. 01	Classification chimique des pesticides	5
Tableau. 02	Classification des pesticides selon l'O.M.S	7
Tableau. 03	Classification systématique de l'oignon <i>Allium cepa</i>	18
Tableau. 04	Effet du Tilt sur l'index mitotique du méristème racinaire d' <i>Allium cepa</i>	26
Tableau. 05	Effet génotoxique du Tilt sur le méristème racinaire d' <i>Allium cepa</i>	29

## Liste des figures

Numéro de la figure	Titre	page
Figure. 01	les différents types de lésions primaires de l'ADN	14
Figure. 02	Formation des micronoyaux	15
Figure. 03	Photographie du noyau dans le test de comète	16
Figure. 04	Structure chimique du Propiconazole	21
Figure. 05	Lots du traitement par différentes concentrations de Tilt	22
Figure. 06	Effet inhibiteur des différentes concentrations du Tilt 250 sur l'élongation racinaire d' <i>Allium cepa</i>	25
Figure. 07	Cellules méristématiques racinaires d' <i>Allium cepa</i> en division régulière et normale	28
Figure. 08	Les types d'aberrations chromosomiques dans le méristème racinaire d' <i>Allium cepa</i> exposés au pesticide Tilt	30

## Liste des abréviations

**AC:** Aberration chromosomique.

**ACTA:** Association de Coordination Technique Agricole.

**ADN:** Acide Désoxyribonucléique.

**BCE:** European Central Bank.

**CE:** Concentré émulsifiable.

**CE:** Concentration Efficace

**CEC:** Commission of the European Community.

**DDE:** Direction Départementale de l'Équipement.

**DDT:** Dichloro-Diphényl-Trichlorétane.

**DL<sub>50</sub>:** Dose Létale.

**HCl:** Acide chlorhydrique.

**IM:** Index Mitotique.

**ITGC:** Instituts des Technologies des Grandes Cultures.

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

**pH:** potentiel d'hydrogène.

**SCE:** Echanges de Chromatides Sœurs.

## Résumé

L'effet toxique et génotoxique du pesticide Tilt 250 ont été étudiés en utilisant le test d'*Allium cepa*. La valeur d'EC50 a été déterminée premièrement en évaluant l'inhibition de l'élongation racinaire. Différentes doses de concentrations variées de Tilt ont été introduites aux racines de l'oignon pour évaluer l'index mitotique des cellules méristématiques d'*Allium cepa* et les aberrations chromosomiques. L'eau du robinet a été utilisée comme témoin. L'index mitotique et la fréquence des aberrations chromosomiques ont été calculés séparément pour chaque dose introduite. Les anomalies les plus observés étaient des fragments, c- mitose, des ponts et la perte de chromosomes. D'après les résultats obtenus, l'effet génotoxique du Tilt250 sur l'organisme d'essai a été observé.

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

## Abstract

The toxic and genotoxic effect of Tilt 250 pesticide were investigated using *Allium cepa* test. The EC50 value was determined first to evaluate the growth inhibition and then different doses of varied concentrations of Tilt were introduced to onion roots to evaluate the mitotic index of *Allium cepa* root meristematic cells and the chromosome aberrations. Tap water was used as control. Mitotic index and mitotic chromosome aberrations frequencies were calculated separately for each dose introduced. The most observed abnormalities were fragments, c-mitosis, bridges and chromosome loss. According to the results obtained the genotoxic effect of Tilt250 on the test organism was observed.

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

## المخلص

تمت دراسة التأثيرات السامة و السمية الجينية للمبيد Tilt250 باستخدام اختبار ال *Allium cepa*. أولاً، تم تحديد قيمة CE<sub>50</sub> من خلال تثبيط استطالة الجذر، حيث أدخلت جرعات مختلفة التركيز من المبيد Tilt250 إلى جذور البصل لتقييم مؤشر الانقسامية والتشوهات الكروموزومية من الخلايا الجذرية التي تحدث في *Allium cepa* حيث مياه الحنفية استعملت كشاهد. فتم حساب مؤشر الانقسامية و وتيرة التشوهات الكروموزومية بشكل منفصل لكل جرعة مختبرة. وقد لوحظت تشوهات من بينها قطع، الانقسام، الجسور وفقدان كروموزوم. و من النتائج التي تم الحصول عليها، هي أثر السمية الجينية Tilt250 على كائن الاختبار.

**الكلمات المفتاحية:** المبيد Tilt250، *Allium cepa*، سمية الخلايا، السمية الوراثية، مؤشر الانقسامية، انحراف الكروموزومات.

## Introduction

L'utilisation des pesticides dans l'agriculture moderne a amélioré le rendement par l'inhibition des organismes causant les maladies et en agissant contre les ravageurs dans les champs et au cours du stockage des produits agricoles (Taylor *et al*, 1997; Mackenzie *et al*, 1998).

L'action mutagène et cancérogène des pesticides sur les animaux de laboratoire est bien connue et plusieurs études ont montré que l'exposition chronique à de faibles doses de pesticides peut causer des mutations. Les résidus de pesticides peuvent être présents dans les fruits et les légumes et représentent un risque pour la santé humaine. Des études ont montré que l'exposition chronique à de faibles niveaux de pesticides peut causer des anomalies congénitales et prénatales. En plus, l'exposition est associée à la cancérogénicité (Ferretti *et al*, 2007 ; Subbarao, 1999).

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

Dans le présent travail, le Tilt 250, un pesticide fréquemment utilisé en Algérie, a fait l'objet de l'étude. Pour ce faire, la toxicité du Tilt est évaluée *in vivo* en utilisant *Allium cepa* comme modèle expérimental. Trois paramètres sont pris en considération :

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

## **Partie A : Synthèse bibliographique**

## I. Généralités sur les pesticides

### I.1. Historique

Les pesticides ont été reconnus depuis longtemps:

➤ Dès avant 2500 BCE, les humains ont utilisé des pesticides pour protéger leurs récoltes. Le premier pesticide utilisé est par l'époussetage du soufre élémentaire utilisé dans la Sumeria environ 4500 ans.

➤ Par le 15<sup>ème</sup> siècle, les produits chimiques toxiques comme l'arsenic, le mercure et le plomb ont été appliquées à des cultures pour tuer les parasites.

➤ Au 17<sup>ème</sup> siècle, le sulfate de nicotine a été extrait de feuilles de tabac pour l'utilisation d'un insecticide.

➤ Le 19<sup>ème</sup> siècle a vu l'introduction de deux autres pesticides naturels, pyrèthre, qui est dérivé de chrysanthèmes, la roténone qui est dérivé de la racine des légumes tropicaux.

➤ En 1939, Paul Müller a découvert que le DDT est un insecticide très efficace. Il est rapidement devenu le plus largement utilisé des pesticides dans le monde.

➤ Dans les années 1940, les fabricants ont commencé à produire de grandes quantités de pesticides de synthèse et leur utilisation s'est généralisée.

➤ Certaines sources estiment les années 1940 et 1950 pour le début de l'ère des pesticides.

➤ L'usage des pesticides a augmenté de 50 fois depuis 1950 et 2,3 millions de tonnes (2,5 millions de tonnes impériales) de pesticides industriels sont maintenant utilisés chaque année.

➤ Soixante-cinq pour cent de tous les pesticides dans le monde sont utilisés dans les pays développés, mais l'utilisation dans les pays en développement est de plus en plus élevée [1].

### I.2. Définition

L'étymologie du mot pesticide s'est construite sur le modèle de nombreux mots se terminant par le suffixe « -cide » et qui signifie « tuer ». On lui a adjoint la racine anglaise « pest » (animal, insecte ou plante nuisible) ou le mot français peste (fléau, chose pernicieuse qui corrompt et maladie) [2].

Le terme "pesticides" est une appellation générique couvrant toutes les substances ou produits qui éliminent les organismes nuisibles, qu'ils soient utilisés dans le secteur agricole ou dans d'autres applications. La substance ou le microorganisme qui détruit ou empêche les organismes nuisibles de s'installer sur les végétaux, parties de végétaux ou produits végétaux est dénommée substance active, à laquelle sont associés dans la préparation un certain nombre de «formulant» (mouillants, solvants, anti-mousses) qui la rendent utilisable par l'agriculteur (ACTA, 2005).

### I.3. Classification des pesticides

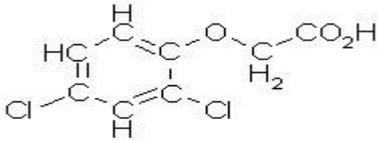
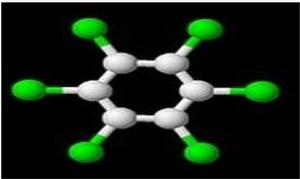
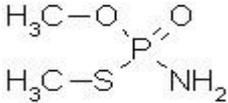
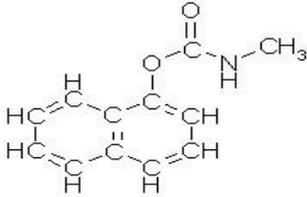
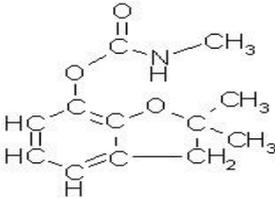
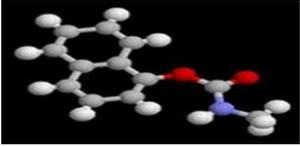
La classification des pesticides se base sur quatre critères selon : leur composition chimique, l'organisme vivant visé, leur dangerosité et leur usage (Elmouden, 2010).

#### I.3.1. Classification chimique

Dans cette classification les pesticides ont été répartis en trois catégories différentes, et cela selon les groupements chimiques fonctionnels qui les composent, on distingue alors :

- **Les organophosphorés :** Les organophosphorés sont des esters d'acide phosphorique ou d'acide thiophosphorique. Ils représentent le groupe le plus largement utilisé. Ils sont hautement toxiques pour les mammifères. Plusieurs organophosphorés possèdent à la fois une activité herbicide et acaricide, certains ont une action herbicide ou fongicide. Comparativement aux organochlorés, les organophosphorés ont un cycle de vie court et leurs caractéristiques physico-chimiques peuvent se modifier avec le temps (Chi Anh Ta, 1997).
- **Les organochlorés :** Les organochlorés sont des produits chimiques de la molécule de chlore et utilisés comme insecticides ou fongicides, qui par leur caractère persistant, bioaccumulable et hautement toxique car ils interfèrent avec plusieurs activités biologiques telle que la perturbation du système nerveux des animaux ainsi que de l'homme, ils sont actuellement très restreint ou interdit d'utilisation (Chi Anh Ta, 1997).
- **Les carbamates:** Les dérivés de l'acide carbamique forment un groupe de pesticides ayant une activité biocide. Cette famille comprend un grand nombre de composés chimique, et ils se concentrent également dans les tissus biologiques. Cependant, ils sont moins toxiques (Tableau.01) (Chi Anh Ta, 1997).

**Tableau. 01** : Classification chimique des pesticides [3].

Famille des molécules	Exemples	Modèle moléculaire
Les Organochlorés	<p>Le Lindane - le DDT le 2.4-D</p> 	<p>Le Lidane</p> 
Les Organophosphorés	<p>Le méthamidophos</p> 	
Les Carbamates	<p>Les Carbaryl</p>  <p>Le Carbofuran</p> 	<p>Le Carbaryl</p> 

### I.3.2. Classification par cible

Les pesticides se répartissent en plusieurs grandes familles d'utilisation pour lutter contre des organismes nuisibles aux cultures et à la salubrité ou assurer la conservation des produits végétaux ou la protection des bois:

- **Les herbicides** (désherbants, débroussaillants): utilisés pour détruire les adventices (mauvaises herbes) qui étouffent les végétaux cultivés.
- **Les insecticides** (et acaricides): destinés à éliminer les insectes qui se nourrissent ou pondent sur les cultures ou le bois ou posent des problèmes sanitaires (doryphores, pucerons, tordeuses, carpocapses, moustiques, blattes, termites, mites).
- **Les fongicides**: qui tuent ou inhibent la croissance des champignons microscopiques responsables de maladies cryptogamiques (cloque du pêcher, mildiou, tavelure, oïdium, tavelure, monilia.)
- **Les nématocides**: qui tuent les vers parasites (nématodes) qui parasitent les plantes et les arbres.
- **Les limacides**: qui tuent ou éloignent les limaces et les escargots qui ravagent les cultures maraichères.
- **Les rodenticides**: (ou raticides): utilisés pour tuer les rongeurs qui dévorent les récoltes ou posent des problèmes d'hygiène publique (rats, souris). Parmi les pesticides, les produits phytosanitaires sont ceux utilisés pour soigner ou prévenir les maladies des végétaux [4].

### 1.3.3. Classification selon la dangerosité

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) classe les pesticides par dangerosité (Tableau.02) en se basant sur leur dose létale médiane orale ou cutanée. Une mesure appelée DL50 est calculée en mesurant le nombre de milligrammes de matière active par kilogramme de masse corporelle, nécessaire pour tuer 50 pour cent (50%) d'un échantillon test d'animaux, souvent des rats [5].

**Tableau. 02:** Classification des pesticides selon l'O.M.S (Chabilleau *et al*, 2011).

Niveau de classification	Intitulé du niveau	DL50 pour le rat (mg/kg de poids corporel)	
		Voie orale	Voie cutanée
Ia	Extrêmement dangereux	< 5	< 50
Ib	Fortement dangereux	5 - 50	50 - 200
II	Modérément dangereux	50 - 2000	200 - 2000
III	Légèrement dangereux	> 2000	

#### I.3.4. Classification selon leurs utilisations

Actuellement, les pesticides sont séparés en deux groupes,

- **Les pesticides à usage agricole ou produits phytopharmaceutiques:** qui sont des substances chimiques minérales ou organiques, de synthèse ou naturelles. Elles sont utilisées pour la protection des végétaux contre les maladies et contre les organismes nuisibles aux cultures (Idrissi *et al*, 2010).

- **Les pesticides à usage non agricole:** ou biocides qui sont similaires aux premiers, utilisés par exemple en hygiène publique (lutte anti-vectorielle) et dans d'autres applications comme la conservation du bois, la désinfection, ou certains usages domestiques (Idrissi *et al*, 2010).

#### I.4. Les voies de pénétration des pesticides

Les produits phytosanitaires en général sont tous susceptible de pénétrer dans l'organisme par différentes voies.

**I.4.1. Voies d'entrée directe:** Les principales voies d'entrée directe sont:

▪ **Voie orale:** les intoxications les plus sévères se produisent lorsque le pesticide est accidentellement ingéré. L'absorption accidentelle se produit principalement par la contamination des mains ou d'aliments (Onil et Louis, 2001).

▪ **Voie respiratoire:** L'exposition par les voies respiratoires constitue la voie d'intoxication la plus rapide et la plus directe. Ce type de pénétration se fait par inhalation de poussières, fumées, gaz ou vapeurs, particules fines émises à la préparation du traitement et lors de la pulvérisation du brouillard de produit [4].

▪ **Voie cutanée:** C'est la voie principale de pénétration des produits. Certains produits sont susceptibles de traverser la peau, puis de passer dans le sang pour se fixer sur certains organes (foie, rate...) ou tissus (nerveux, graisseux) et aboutir, par conséquent, à des intoxications parfois très graves. De plus, la chaleur et la transpiration accélèrent très souvent ce phénomène de pénétration [6].

**I.4.2. Voies d'entrée indirecte:** Les principales voies d'entrée indirecte sont:

▪ **Le transfert de la mère au fœtus :** L'entrée dans le corps se fait par le transfert du pesticide à travers le placenta de la femme enceinte à l'enfant à naître [6].

▪ **Les résidus des pesticides présents dans les aliments:** La consommation involontaire de résidus de pesticides dans les aliments est une autre voie d'entrée. On trouve des résidus de pesticides, aussi bien naturels que de synthèse, dans tout ce que nous mangeons transformés à partir de ces denrées [6].

## **I.5. Les modes d'exposition aux pesticides**

L'exposition aux pesticides se caractérise par une multiplicité des voies d'exposition, on distingue généralement différentes types d'exposition :

### **I.5.1. Les expositions primaires (professionnels)**

Elles concernent les personnes manipulant les produits, au moment de la préparation, de l'application mais aussi du nettoyage des appareils de traitement. Les populations concernées sont bien évidemment les agriculteurs et les professionnels mais tout un chacun est également exposé lors de l'utilisation de produits à usages domestiques

ou d'entretien des jardins. Les pesticides utilisés dans les champs ou à domicile sont trop souvent entreposés sans précaution particulière dans les habitations et les membres de la famille peuvent y avoir facilement accès [7].

#### **I.5.2. Les expositions secondaires (non professionnels)**

Elles concernent l'ensemble de la population, qui est exposée aux résidus de l'usage de ces produits, au travers de son alimentation et de son environnement. Les données de surveillance des milieux dont on dispose aujourd'hui concernent principalement l'eau et les denrées alimentaires [7].



## **II. Toxicité des pesticides**

### **II.1. La toxicité**

La toxicité d'un pesticide indique dans quelle mesure le produit est dangereux. On distingue deux niveaux de toxicité :

**II.1.1. Toxicité aiguë :** une seule exposition suffit généralement pour causer une intoxication. Les effets se produisent immédiatement ou peu de temps après l'exposition et varient selon le pesticide en cause, la dose reçue, la voie d'absorption et la sensibilité de la personne [6].

**II.1.2. Toxicité chronique:** l'intoxication résulte d'expositions répétées à de faibles doses de pesticide et sur une longue période. Les symptômes peuvent se manifester après plusieurs mois, voire plusieurs années d'exposition (Jeroen *et al*, 2004).

### **II.2. Les facteurs influençant la toxicité des pesticides**

Les pesticides regroupent un grand nombre de spécialités de toxicité variable pour l'homme. Ces produits sont transformés en différents métabolites susceptibles d'engendrer d'autres répercussions sur l'organisme humain. Les principaux facteurs influant sur la toxicité des pesticides pour l'homme sont: la dose, les modalités d'exposition, le degré d'absorption, la nature des effets de la matière active et de ses métabolites et l'accumulation et la persistance du produit dans l'organisme (Ferragu *et al*, 2010).

### **II.3. Les effets des pesticides sur la santé**

Les pesticides sont utilisés pour lutter contre les insectes, les herbes ou encore les champignons. Mais leur toxicité ne se limite pas aux seules espèces que l'on souhaite éliminer. Ils sont également néfastes pour l'homme et l'environnement. Si les mécanismes d'actions des pesticides sur notre organisme sont complexes et encore mal connus, leurs effets eux, ont été mis en évidence. Troubles de la reproduction, perturbateurs endocriniens, troubles du système nerveux, effets sur le système immunitaire, effets dermatologiques et cancer (Onil et Louis, 2001).

**II.3.1. Effets sur la reproduction et le développement**

Bien qu'une telle démonstration ne puisse être facilement faite chez l'humain, plusieurs études animales indiquent que certains pesticides pourraient produire des effets sur la reproduction et/ou sur le développement. Parmi les effets possibles, nous pouvons noter les anomalies du développement embryonnaire qui incluent les lésions structurales et les lésions fonctionnelles (Onil et Louis, 2001).

**II.3.2. Effets sur le système endocriniens**

Les perturbateurs endocriniens sont définis comme des substances exogènes à l'organisme et qui interfèrent sur la synthèse et le fonctionnement d'hormones naturelles. La modification du fonctionnement endocrinien, qu'ils peuvent provoquer, peut avoir des conséquences délétères. Des effets ont été observés sur la faune sauvage, mais peu sur les humains (Onil et Louis, 2001).

**II.3.3. Effets neurologiques**

Plusieurs pesticides peuvent être responsables d'effets neurologiques et ce, tant lors d'une exposition aiguë que d'une exposition chronique. Les effets neurologiques découlant d'une intoxication aiguë sont relativement bien connus. Certains organophosphorés peuvent aussi causer une neuropathie retardée qui survient généralement suite à une intoxication aiguë très importante (Onil et Louis, 2001).

**II.3.4. Effets sur le système immunitaire**

Certaines études indiquent la probabilité d'une relation entre les pesticides et l'augmentation des risques de maladies infectieuses. La chute de production d'anticorps et des réactions d'hypersensibilité retardées pourrait aussi être associée à l'exposition à ces produits (Onil et Louis, 2001).

Les pesticides sont capables d'agir sur le système immunitaire selon différents mécanismes entraînant des pathologies immunitaires plus fréquentes chez l'enfant que chez l'adulte [9].

### **II.3.5. Effets dermatologiques**

Certains pesticides peuvent être responsables d'effets dermatologiques comme les dermatites de contact qui sont des réactions cutanées inflammatoires, aiguës ou chroniques, provoquées par un agent chimique, biologique ou physique. Ces réactions sont caractérisées par l'apparition de démangeaisons, de rougeurs et de lésions cutanées (Onil et Louis, 2001).

### **II.3.6. Cancers**

De nombreuses études épidémiologiques ont établi des liens plus ou moins importants entre l'exposition professionnelle aux pesticides et certaines formes de cancers. De faibles possibilités d'association ont aussi été faites pour le cancer du sein, du poumon, du pancréas, de la vessie, des testicules et de l'estomac (Onil et Louis, 2001).

Les premières recherches sur le rôle des pesticides dans les cancers sont basées sur le constat de différence de mortalité entre agriculteurs et autres catégories socioprofessionnelles pour certaines pathologies cancéreuses. Il s'agit des cancers des tissus hématopoïétiques, de l'estomac, de la peau, du cerveau. On s'intéresse actuellement aussi à la survenue de cancers chez l'enfant [8].

Les cancers constituent la deuxième cause de mortalité chez les enfants après les accidents domestiques (Savitz, 2001; Damstra, 2002; Nasterlack, 2007).

## **II.4. L'impact des pesticides sur l'environnement**

### **II.4.1. Contamination des eaux**

Une des conséquences environnementales majeures de l'agriculture intensive actuelle est la dégradation de la qualité des eaux. Les pesticides peuvent facilement pénétrer dans les sources d'eau. Différents auteurs ont mis en évidence des contaminations de produits phytosanitaires dans les eaux de surface et de profondeur de bassins viticoles (Lennartz *et al*, 1997; Louchard *et al*, 2001).

## **II.4.2. Contamination de l'air**

### **▪ Air extérieur**

La présence de pesticides est observée dans toutes les phases atmosphériques en concentrations variables. L'air et l'eau pouvaient être contaminés, de manière locale, mais aussi à distance des lieux de traitement. Cette contamination est chronique. Des composés peu volatils ou interdits ont parfois été observés.

### **▪ Air intérieur**

Les pesticides peuvent contaminer l'air intérieur non seulement suite à leur application ou leur stockage dans les logements mais également du fait du transport des produits utilisés à l'extérieur (agriculture, jardins, parcs) par l'intermédiaire des chaussures, des vêtements, des animaux domestiques ou par l'air.

## **II.4.3. Contamination des sols**

La contamination des sols par différentes substances, dont les pesticides, a été reconnue comme l'une des principales menaces qui pèsent sur les sols européens (CEC, 2002).

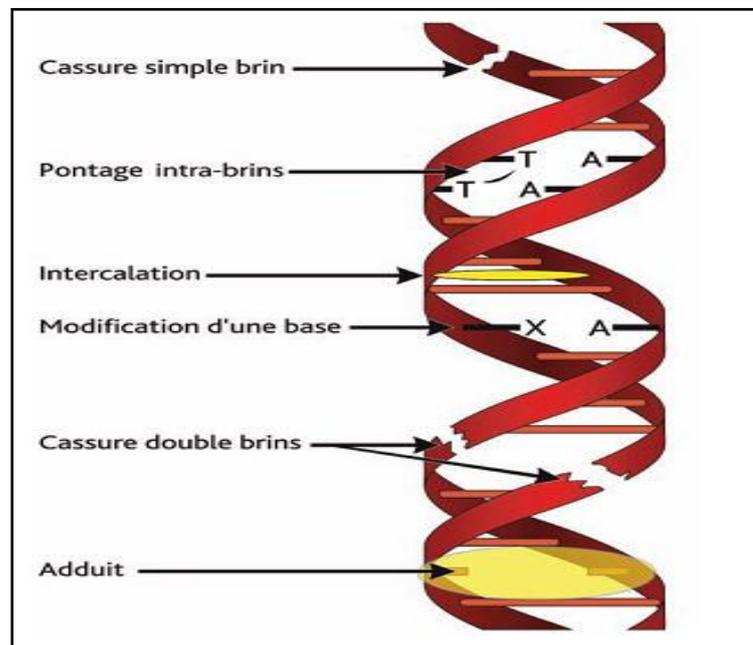
Les pesticides dans les sols peuvent provenir des activités agricoles mais également des activités d'entretien des espaces verts et jardins ou de désherbage des réseaux routiers et ferrés. La vitesse d'infiltration des pesticides dans le sol dépend du sol (humidité, taux de matière organique, pH) et du pesticide.

## **II.5. La génotoxicité des pesticides**

### **II.5.1. Définition de la génotoxicité**

La génotoxicité, appelée également toxicité génétique, représente la capacité de certains agents physiques, chimiques ou biologiques à provoquer l'apparition de dommages à l'ADN qui peuvent conduire à des mutations génétiques si ces lésions ne sont pas réparées. Ces agents sont qualifiés de mutagènes (Jerome et Celine, 2009). Un pesticide est considéré comme génotoxique lorsqu'il a la capacité d'altérer le matériel génétique des cellules. Plusieurs tests de génotoxicité ont permis de mettre en évidence le potentiel de

certains pesticides à induire des dommages au niveau des chromosomes et de l'ADN ou des mutations des gènes (figure.01) [10].



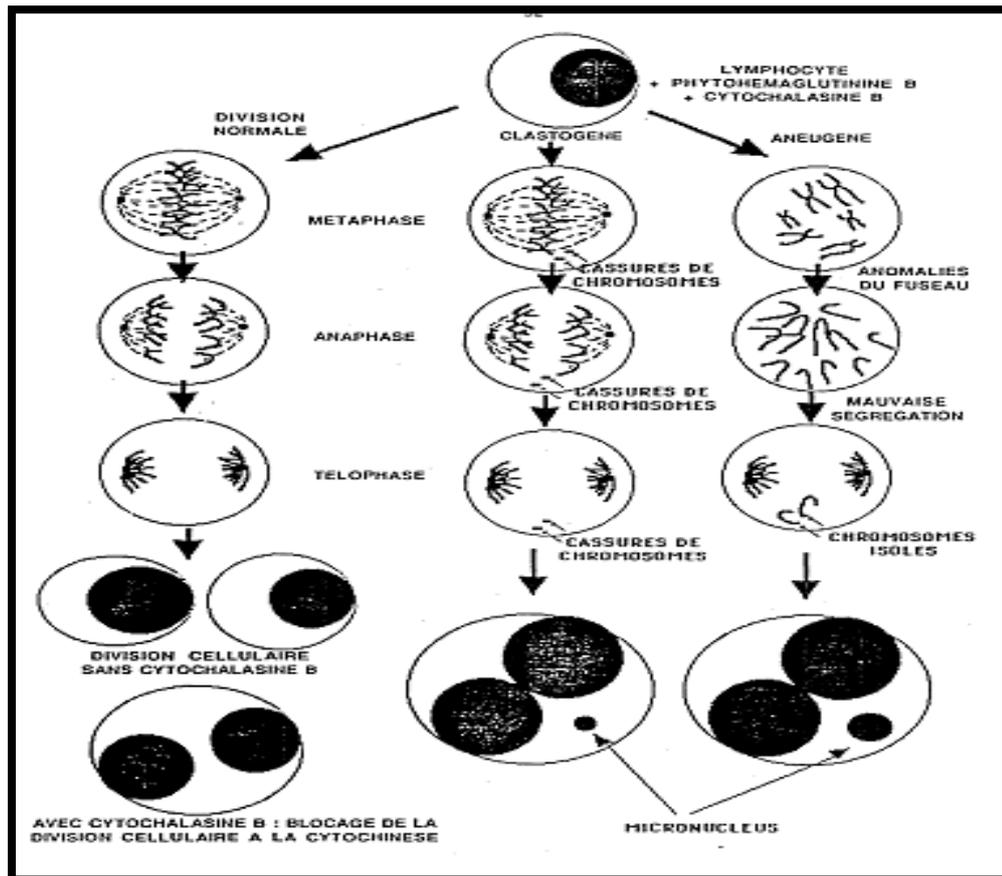
**Figure. 01:** les différents types de lésions primaires de l'ADN (Bickman et Smolen, 1994).

## II.6. Les tests de génotoxicité

Les tests de génotoxicité visent à mettre en évidence l'altération par des composés chimiques ou physiques du matériel génétique Acide Désoxyribo Nucléique (ADN et/ou chromosome). Ils ne visent pas à détecter directement des cellules cancéreuses, mais des cellules normales ayant subi une atteinte ou agression génotoxique (Fardel *et al*, 2009).

### II.6.1. Test des micronoyaux

Les micronoyaux sont des entités nucléaires indépendantes du noyau principal, provenant de la perte de fragments chromosomiques ou de chromosomes entiers pendant la division nucléaire, conséquences respectivement d'effets clastogènes (cassures double brin de la molécule d'ADN) ou d'effets aneugènes (altérations de l'appareil mitotique liées principalement à des interactions avec les protéines) (Figure.02) (Fardel *et al*, 2009).



**Figure. 02:** formation des micronoyaux (Schmid, 1975).

Le test des micronoyaux a donc pour objet de détecter et énumérer ces micronoyaux, dans des cellules traitées *in vitro* par l'agent génotoxique ou provenant d'une exposition *in vivo* (Fardel *et al*, 2009).

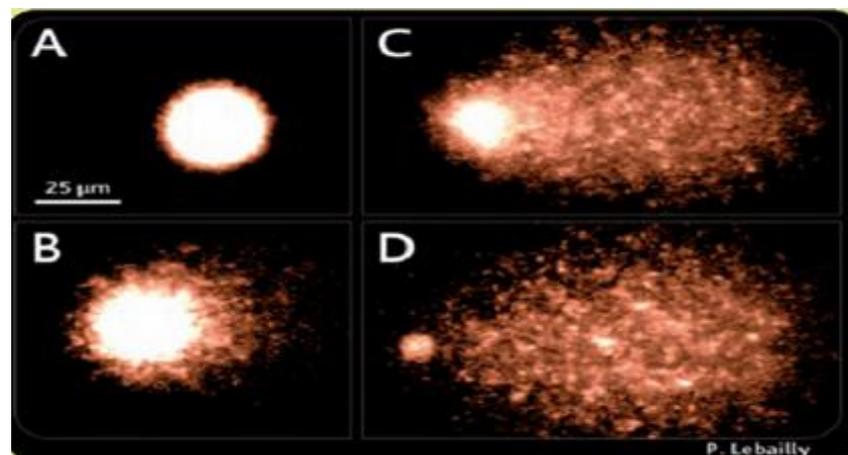
### II.6.2. Test d'Ames

Le test d'Ames (Maron et Ames, 1983) consiste à évaluer si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations chez différentes souches de *Salmonella typhimurium*. Ces souches sont porteuses d'une mutation préalablement induite dans un des gènes de la chaîne de biosynthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine, elles sont dites auxotrophes vis-à-vis de l'histidine (His-). Le nombre de clones bactériens His+, dits révertants, ayant poussé au bout de 48h sur le milieu de culture dépourvu d'histidine, est proportionnel au pouvoir mutagène de la substance testée. Afin de pouvoir détecter les génotoxiques indirects dits progénotoxiques, un système d'activation métabolique, la fraction S9, est ajouté au milieu de culture.

Cette fraction apporte les enzymes nécessaires (cytochromes P450) à l'activation métabolique des pro-génotoxiques (Maron et Ames, 1983).

### II.6.3. Test des comètes

Le test des comètes est une technique simple, rapide, et sensible permettant de quantifier les cassures simple et double brins de l'ADN et les sites alcali-labiles au niveau de cellules individualisées. Il permet de mesurer les cassures induites directement par un agent génotoxique ou lors des processus enzymatiques de réparation des dommages ou encore lors de processus secondaires de fragmentation de l'ADN intervenant par exemple au cours de la mort cellulaire programmée. Ce test consiste à séparer les noyaux des cellules isolées dans un champ électrophorétique, en milieu fortement alcalin. Les noyaux dont l'ADN a subi des cassures prennent alors une forme de comète tandis que les noyaux dont l'ADN n'est pas endommagé apparaissent sous forme d'un disque régulier. Une évaluation semi-quantitative (classement en quatre catégories) ou quantitative (évaluation du taille moment) des taux de dommages peut ensuite être réalisée (figure.03) (Ostling et Johanson, 1984).



**Figure. 03:** Photographie du noyau dans le test de comète :

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

### II.6.4. Test d'aberration chromosomique

Il s'agit de déterminer les anomalies du caryotype sur des cellules eucaryotes, liées à l'exposition à des composés génotoxiques entraînant des cassures d'ADN. Ce type de test

pouvoir être employé pour mesurer le potentiel génotoxique d'un composé *in vitro* ou *in vivo* (Cimino, 2006), mais aussi pour la surveillance du personnel exposé en médecine du travail (Vodicka *et al*, 2002 ; Mateuca *et al*, 2006).

Le caryotype est réalisé selon les techniques cytogénétiques habituelles en bloquant les cellules en métaphase à l'aide de colchicine; l'analyse d'un grand nombre de métaphases (au moins 200 par conditions) est souvent réalisée. Plusieurs types d'anomalies chromosomiques peuvent être détectées, notamment les anomalies du nombre de chromosomes (aneuploïdie qui peut correspondre à une augmentation du nombre de chromosomes appelée hyperploïdie ou au contraire à une diminution du nombre de chromosomes appelée hypoploïdie) les anomalies de structure des chromosomes (délétion, translocation, inversion). Les résultats sont rendus habituellement en % de métaphases présentant des aberrations (Fardel *et al*, 2009).

#### **II.6.5. Echanges de chromatides sœurs**

Le taux d'échange de chromatides sœurs (SCE) constitue un test à cours terme destiné à déceler les échanges réciproques d'ADN entre deux chromatides sœurs d'un chromosome se dédoublant. Le processus d'échange implique probablement une cassure et une réunion de l'ADN, Cet essai fait appel à un système qui permet de différencier les deux chromatides sœurs et ainsi de visualiser les échanges (Houk, 1992). Cependant, l'analyse des métaphases est longue et les conséquences des SCE sont mal connues (Vander Gaag *et al*, 1990).

#### **II.6.6. Les Adduits**

Les adduits aux protéines et à l'ADN sont de nouveaux marqueurs biologiques qui réalisent une véritable dosimétrie moléculaire. Il s'agit d'une technique récente et en plein développement dont la signification biologique n'est pas encore très claire.

La plupart des substances génotoxique ont la propriété de se lier sur certains sites moléculaires à l'intérieur de la cellule pour former des adduit. La « technique des adduits » permet de détecter ces liaisons aux macromoléculaires comme l'ADN (adduit à l'ADN) ou les protéines (adduit aux protéines, à l'hémoglobine), lors de l'exposition de l'organisme à des doses biologiquement actives d'agents génotoxique (Lohman, 1988).

### II.6.7. Test d'*Allium cepa*

- **L'oignon:**

L'oignon (*Allium cepa* L) est une monocotylédone appartenant à la famille des Liliacées qui renferme 500 espèces et plus (Tableau3). Elle est la plus cultivée (Jones et Mann, 1963). Toute population d'*Allium cepa* possède ( $2X = 16$ ) chromosomes (Van Der Meer *et al*, 1993).

**Tableau. 03:** Classification systématique de l'oignon (*Allium cepa*) (Van Der Meer *et al*, 1993).

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

Le test d'*Allium cepa* a été utilisé par de nombreux chercheurs principalement comme un bio-indicateur de la pollution de l'environnement (Bagatini *et al* 2009, Leme, 2009), testant des extraits bruts de cyanobactéries (Laughinghouse, 2007), ainsi que pour évaluer la potentiel génotoxique des plantes médicinales (Camparoto *et al* 2002; Knoll *et al* 2006; Lubini *et al* 2008; Fachinetto *et al* 2007; Fachinetto et Tedesco, 2009), car ce test utilise un modèle qui est suffisamment sensible pour détecter des substances qui provoquent des altérations innombrables chromosomiques.

Le test d'*Allium cepa* est important car il est un excellent modèle *in vivo*, où les racines poussent en contact direct avec la substance d'intérêt permettant d'éventuels dommages à l'ADN des eucaryotes à prédire. Par conséquent, les données peuvent être extrapolées pour l'ensemble de la biodiversité animale et végétale. L'analyse des altérations chromosomiques peut être égale à l'essai de mutagénicité principalement pour la détection

de modifications structurelles; cependant, il est possible d'observer des altérations chromosomiques numériques.

Le test *Allium cepa* est l'une des rares méthodes directes pour mesurer les dommages dans les systèmes qui sont exposés à des mutagènes ou cancérogènes potentiels, et permet l'évaluation des effets de ces dommages par l'observation des altérations chromosomiques. Pour cette entreprise, il est nécessaire que l'échantillon reste dans la division mitotique constante, cherchant à identifier les effets toxiques et les modifications sur un cycle cellulaire; et le test d'*Allium cepa* a été largement utilisé à cet effet. Il est avantageux d'utiliser le système de test *Allium cepa* depuis sa composante principale est une plante vasculaire, ce qui en fait un excellent modèle génétique pour évaluer les polluants environnementaux, la détection de mutagènes dans des environnements différents et d'évaluer de nombreux critères génétiques (mutations ponctuelles altérations chromosomiques). *Allium cepa* est distinctive en ce qui concerne son efficacité dans la détection des dommages génétiques et a été introduit par Levan, en 1938, pour aider observer des perturbations dans le fusible mitotique due à l'action de la colchicine.

## **Partie B: Travail expérimental**

## I. Matériel et méthodes

### I. 1. Matériel

#### I.1.1. Matériel biologique

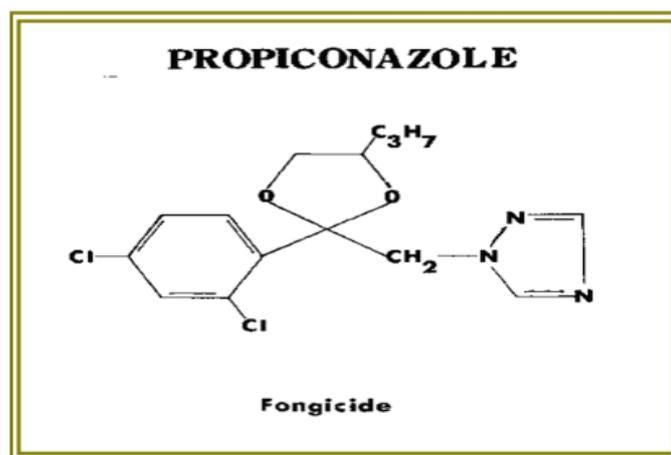
- *Allium cepa* et conditions de croissance:

Des bulbes de l'oignon *Allium cepa* ( $2n = 16$ ) sont obtenus du marché local à Guelma. Le diamètre des bulbes varie entre [5-8cm], la couche externe des bulbes est éliminée ainsi que les anciennes racines avant de commencer l'expérience. Durant toutes les expériences réalisées, les bulbes sont incubés à l'obscurité à une température ambiante (20-22 °C).

#### I.1.2. Produits chimiques

Le pesticide utilisé est le fongicide Tilt 250 EC, il appartient à la famille des Conazoles, qui sont des Triazoles, sa formule empirique est :  $C_{15}H_{17}Cl_2N_3O_2$  et son nom commercial chimique est: [(Dichloro-2,4 phényl)-2 propyl-4 dioxolanne-1,3 yl-2] méthyl-1 IH-triazole-1, 2,4) ; Sa formulation CE, Concentré émulsionnable, sa teneur en matière active est de 250g/l de Propiconazole (figure.4).

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



**Figure. 04:** Structure chimique du Propiconazole (Carter *et al*, 2007).

## I.2. Méthodes

### I. 2. 1. Préparation du pesticide testé

Différentes concentrations du pesticide Tilt sont préparées dans de l'eau de robinet (125, 250, 500, 625, 750mg/l) à partir d'une solution stock de (250g/l). L'H<sub>2</sub>O de robinet est utilisée comme contrôle négatif.

### I. 2. 2. Détermination de la CE<sub>50</sub>

Pour ce test de toxicité, 36 bulbes sont utilisés pour toutes les concentrations, y compris le contrôle négatif, 6 bulbes sont utilisées pour chaque concentration (figure 4). Ils sont placés dans des pots remplis par chaque dilutions 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 de robinet puis dans le pesticide avec changement des solutions chaque 24h. Après 4 jours de traitement, la longueur des racines est mesurée. La moyenne de la longueur des racines traitées et contrôles sont représentées en fonction du pourcentage d'inhibition de l'élongation racinaire et les différentes concentrations du Tilt. La concentration produisant 50% d'inhibition de la croissance des racines relativement au contrôle est calculée et exprimée comme étant CE<sub>50</sub>.



**Figure. 05:** lots du traitement par différentes concentrations de Tilt.

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

Les concentrations utilisées dans ce test sont basé sur la valeur de la CE<sub>50</sub> déterminée dans le test de toxicité.

Pour chaque oignon, 6 racines sont récupérées et fixées dans le mélange (éthanol/acide acétique, (3/1)) pendant 24 h, puis transférées à des tubes contenant l'éthanol 70% et conservées à 4<sup>0</sup>C jusqu'à l'utilisation (Fiskesjö, 1994 ; Knoll *et al*, 2006 ; Fachinetto *et al*, 2009).

Pour la préparation des lames, les racines sont hydrolysées dans l'HCl 1N à 60<sup>0</sup>C pendant 8 min.

Les racines sont colorées avec le réactif de feulgene puis sont bien écrasées et placées sur des lames avec une goutte d'acide acétique à 45%, puis couvert avec des lamelles (Guerra et Lopes, 2002).

### I.2.4. Observation microscopique et analyse

Les lames sont observées au microscope optique. Pour l'index mitotique, 1000 cellules classées en interphase ou cellules en division (prophase (p), métaphase (M), anaphase (A), ou télophase (T)) sont calculées. L'index mitotique est exprimé comme étant le nombre des cellules en division par toutes les cellules (Ozmen et Summer, 2004 ; Sehgal *et al*, 2006) selon la formule:

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

(p: prophase, M: métaphase, A: anaphase, T: télophase).

Un total de 100 cellules a été examiné pour l'étude des aberrations chromosomiques par chaque dose de pesticide. Les catégories suivantes d'aberrations ont été étudiées: fragments chromosomiques, c-mitose, pont, perte de chromosome, et autres aberrations (Ozmen et Summer, 2004).

### I.2.5. L'analyse statistique

Le pourcentage de l'inhibition de l'élongation racinaire et le pourcentage des cellules en division avec des aberrations à chaque dose de pesticide a été comparée à

celle du contrôle négatif en utilisant le test de Student. Les valeurs obtenues sont considérées significatives si  $P \leq 0,05$ .





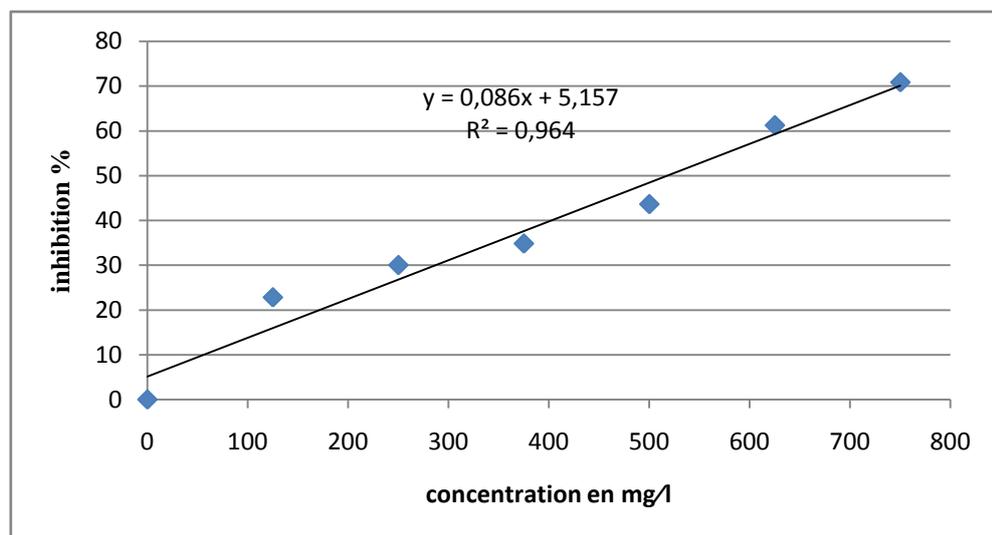
## II. Résultats et discussion

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

Dans la présente étude, La toxicité et la génotoxicité du pesticide Tilt 250 (formulation commerciale de Syngenta) est évaluée par le test *Allium cepa* en prenant en considération trois paramètres: L'inhibition de l'élongation racinaire en déterminant la  $CE_{50}$ , l'effet sur l'index mitotique et l'étude des aberrations chromosomiques.

### II.1. Test d'inhibition de l'élongation racinaire

La toxicité du Tilt 250 est évaluée en adoptant la méthode déterminant la  $CE_{50}$  qui correspond à la concentration qui provoque 50% de l'inhibition de l'élongation racinaire. Les résultats de ce test sont représentés dans la figure 6. On note une relation proportionnelle entre la concentration en pesticide et le pourcentage d'inhibition de l'élongation racinaire avec un coefficient de corrélation de  $r^2 = 0.964$  (effet dose-réponse). La concentration efficace  $CE_{50} = 518,49$  mg/l



**Figure. 06:** Effet inhibiteur des différentes concentrations du Tilt 250 sur l'élongation racinaire d'*Allium cepa*.

## II.2. L'index mitotique (IM)

L'effet du Tilt sur l'index mitotique du méristème racinaire d'*Allium cepa* est présenté dans le tableau 4. L'index mitotique reflète la fréquence de la division cellulaire et il est considéré comme un paramètre important dans l'évaluation de la toxicité d'une substance en nous renseignant sur la possibilité de l'analyse génotoxicologique, parce que un index mitotique inférieur à 10 signifie qu'il n'y a pas suffisamment de cellules en division pour quelles soient analysées (Rank. J, 2003).

**Tableau. 04:** effet du Tilt sur l'indice mitotique du méristème racinaire d'*Allium cepa*.

Concentration (mg/ L)	Inter	Nombre de cellule en division / 1000					MI	MI%	Augmentation(+) ou diminution(-) du MI %
		Pro	Méta	Ana	Telo	Total			
Témoin	150	374	2	3	176	555	0.555	100	00.00
125	375	450	112	54	9	625	0.625	112.61	+12.61 **
250	454	488	21	22	15	531	0.531	95.67	-4.33( ns)
375	546	255	109	74	10	454	0.454	81.80	-18.2 ***
500	580	408	6	5	1	420	0.420	75.67	-24.33 ***
625	677	208	47	32	36	323	0.323	58.19	-41.81 ***

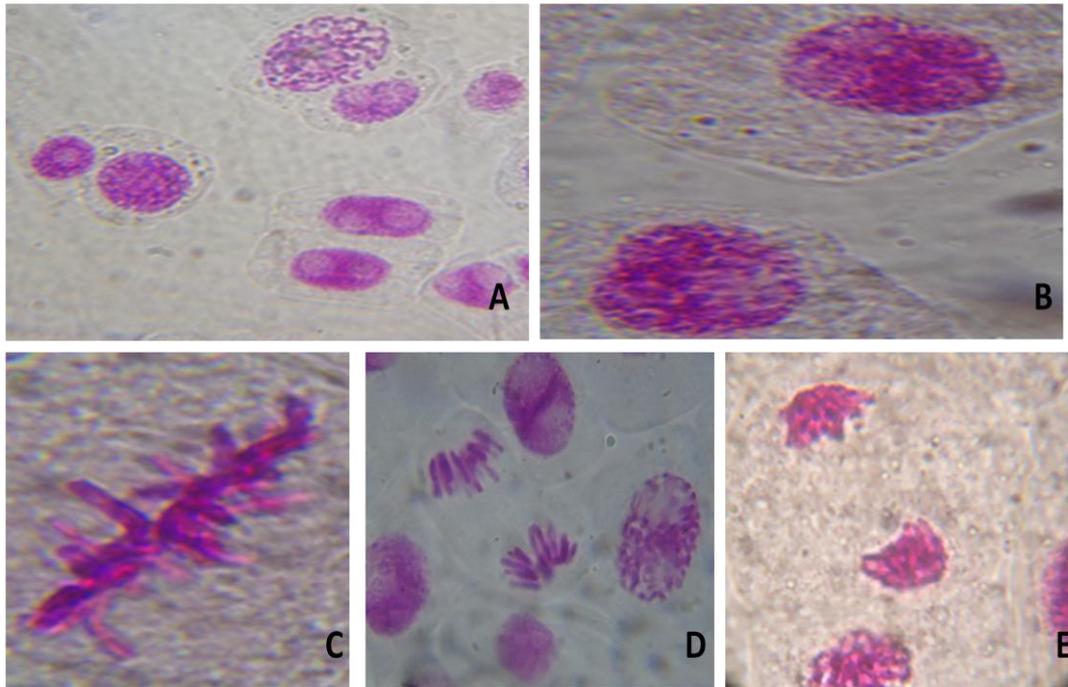
Inter: Interphase, Pro: Prophase, Met: Metaphase, Ana: Anaphase, Tel:Telophase, MI: Index Mitotique. (ns) : non significatif ( $p > 0.05$ ), (\*\*): très significatif ( $p < 0.01$ ), (\*\*\*) : très hautement significatif ( $p < 0.001$ ).

A l'exception de la dose 125 mg/l où l'index mitotique est augmenté significativement (+12.61 avec  $p < 0.01$ ), on note une diminution significative de l'index mitotique de manière dose-dépendent après l'exposition aux différentes concentrations du pesticide. L'inhibition de

la croissance des racines est généralement liée à l'activité méristématique apicale (Webster et Macleod, 1996), et à l'allongement cellulaire au cours de la différenciation (Fusconi *et al*, 2006). Selon (Acita O A et Matebesi L P; 2010), la signification de l'index mitotique ne réside pas uniquement dans la possibilité de l'analyse toxicogénétique, mais il reflète lui-même la toxicité d'une substance testée. La diminution de ce paramètre est considérée comme un signe de toxicité par plusieurs auteurs (Saxena P.N *et al*, 2005 ; Konuk. M *et al*, 2007 ; Yıldız *et al*, 2009 ; Acita O A et Matebesi L P, 2010). Donc, il est possible que la diminution observée de l'IM dans notre étude soit due à la toxicité du Tilt qui peut inhiber la synthèse d'ADN ou bloquer la phase G2 du cycle cellulaire (Tkalc. M *et al*, 2009).

Pour la dose 125mg/l, l'augmentation de l'IM peut signifier l'effet bénéfique du pesticides sur la croissance racinaire d'*Allium cepa* où l'élongation racinaire est augmentée. Une étude réalisée par (Konuk. M *et al*, 2007) sur le pesticide Boron en utilisant le test *Allium cepa* a montré des résultats semblables à ceux dans notre étude concernant l'augmentation de l'IM. Konuk. M *et al*, ont expliqué cette augmentation par le rôle améliorant de croissance du pesticide. Par contre, (Recep. L *et al*, 2010), dans leur étude portant sur la mutagenèse et la génotoxicité du pesticide Metolcarb, ont considéré l'augmentation de l'IM comme signe d'induction de la division cellulaire qui peut être un effet nuisible pour les cellules, en déclenchant une prolifération non contrôlée et par la suite un processus tumoral (Hoshina. MM, 2002). (Uhl. M *et al*, 2003) ont désigné des valeurs limites cytotoxiques pour l'IM : une diminution en dessous de 22% du contrôle négatif provoque des effets létaux sur l'organisme d'essai tandis qu'une baisse inférieure à 50% provoque des effets sublétaux.

La figure 7 représente les différentes phases de la division cellulaire au niveau de méristème racinaire d'*Allium cepa* après le traitement par le pesticide Tilt.



**Figure. 07:** Cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* en division régulière et normale : (A) interphase, (B) prophase, (C) métaphase, (D) anaphase, (E) télophase

### II.3. Test d'aberrations chromosomiques

Pour évaluer les anomalies chromosomiques par le test d'*Allium 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 la division cellulaire et de leurs éventuelles anomalies.

L'analyse des différents types des aberrations chromosomiques, dans toutes les phases du cycle cellulaire, initialement proposée par (Fiskesjö, 1985) permet une évaluation plus complète et précise, car elle favorise une meilleure enquête sur les actions des agents testés, concernant leurs effets clastogènes et / ou aneugènes sur l'ADN de l'organisme d'essai et même leur développement possible (Leme *et al*, 2008 ; Fernandes *et al*, 2007 ; Ateek *et al*, 2002 ; Boll *et al*, 2004).

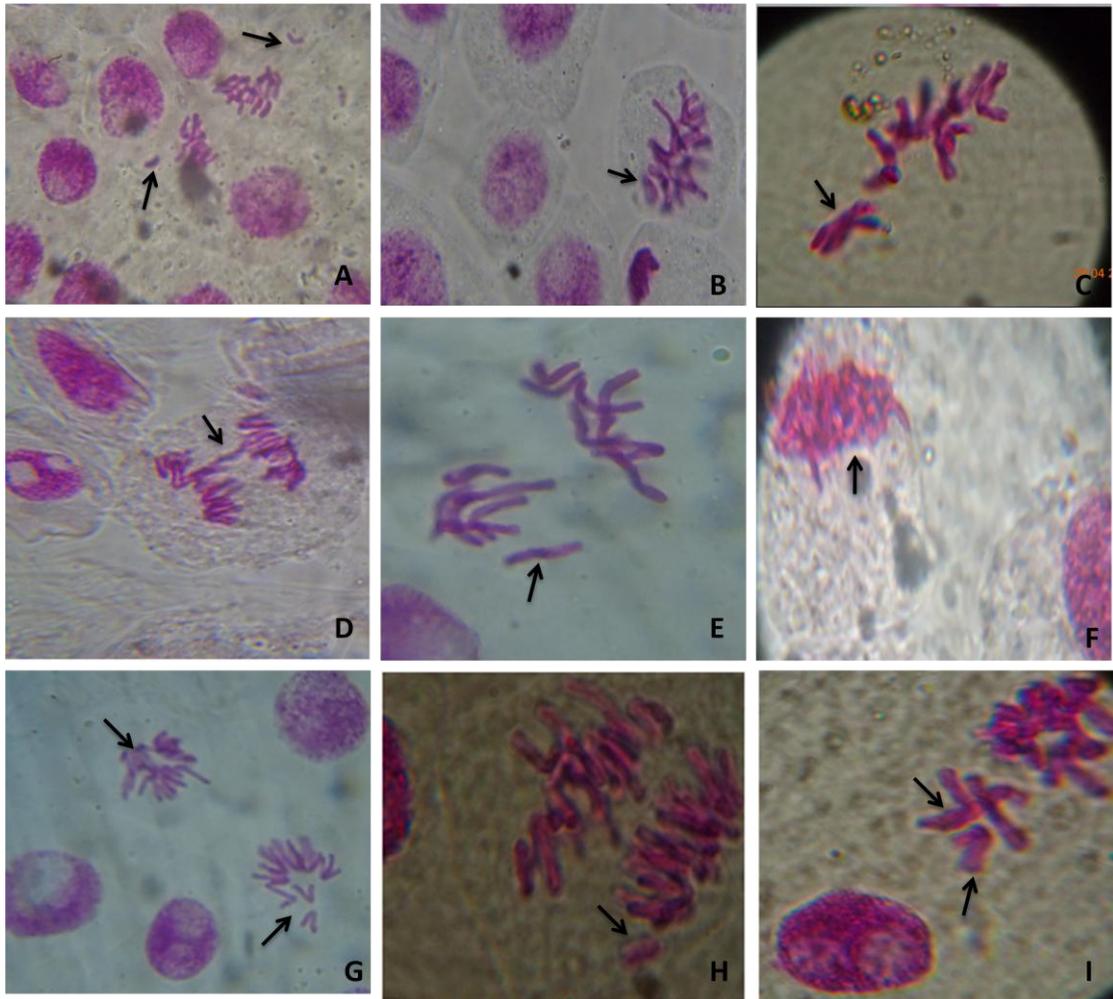
Les résultats du test des aberrations chromosomiques sont présentés dans le tableau.5. Les aberrations chromosomiques: c-mitose, fragments, perte de chromosome, pont et autres ont été observée dans les cellules de la pointe racinaire de tous les groupes traités par le Tilt.

**Tableau. 05:** Effet génotoxique du Tilt sur le méristème racinaire d'*Allium cepa*.

Concentrations (mg/l)	Nombre de cellule en division	Fragments %	c-mitose %	Perte de chromosome %	Ponts %	Autre %	AC%
Témoin	555	0.36	0	0.36	0	0	0.72
125	625	0.4	1.12	0.32	1.28	1.12	4.32**
250	531	2.4	1.69	0.56	0.56	0.75	6.02**
375	454	4.6	2.64	1.10	1.54	1.98	11.89***
500	420	6.4	3.33	1.90	3.81	1.98	17.38***
625	323	9.90	5.88	2.78	5.57	4.33	28.48***

AC: Aberration Chromosomique, (\*\*): très significatif ( $p < 0.01$ ), (\*\*\*): très hautement significatif ( $p < 0.001$ ).

Les types les plus courants d'effets génotoxiques d'aberrations chromosomiques observées étaient le C-mitose et les fragments chromosomiques; puis les ponts et la perte de chromosomes ainsi que autres aberrations moins fréquentes (Figure. 08). On note que l'augmentation du taux des aberrations chromosomiques est proportionnelle à l'accroissement des doses de Tilt.



**Figure. 08:** Les types d'aberrations chromosomiques dans le méristème racinaire d'*Allium cepa* exposés au pesticide Tilt : (A) anaphase avec perte de chromosome, (B) métaphase avec perte chromosome, (C) métaphase avec fragment chromosomique, (D) anaphase avec pont chromosomique, (E) métaphase irrégulière, (F) adhérence, (G) c-anaphase, (H) anaphase avec chromosome pause, (I) c-métaphase.

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

Les ponts de chromatine pourraient se produire au cours de la translocation et l'échange de chromatides inégale et provoquent des mutations structurelles chromosomiques.

Ce type d'anomalie a également été observé dans la mitose d'*Allium cepa* après les traitements avec des pesticides (Borboa. L, 1996; Plewa. MG *et al* 1996).

Les ponts peuvent être chromosomique due à la rigidité et l'incapacité subséquente de la séparation de l'anaphase libre. Ces ponts sont habituellement formés par chromatides sœurs jointes qui restent ensemble jusqu'à la fin de l'anaphase ou le télophase. Si ces liaisons deviennent trop fortes, les chromatides peuvent se briser (Gömürgen, 2005; Türkoglu, 2007 ; El-Ghamery *et al*, 2000; Luo *et al*, 2004).

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

Au vue de toutes ces données et les résultats obtenus, on, peut dire que notre étude a montré un effet génotoxique du Tilt 250.

## **Conclusion**

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

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

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



## **Références bibliographiques**

## **Bibliographies**

- ACTA, 2005. Index Phytosanitaire ACTA 2005.41ème. Association de Coordination Technique Agricole. France. pp. 820.
- Asita Okorie Asita et Matebesi L. P, 2010. Genotoxicity of hormoban and seven other pesticides to onion root tip meristematic cells, African Journal of Biotechnology Vol. 9 (27), pp. 4225-4232.
- Ateeq. B, M. Adul Farrah, M.N. Ali, W. Ahmad, 2002. Clastogenicity of pentachlorophenol, 2-4-D and butachlor evaluated by *Allium rot tip* test, Mutat. Res. 514 05–113.
- Bagatini, M.D, Fachinetto, J.M, Silva, A.C.F. & Tedesco, S.B, 2009. Cytotoxic effects of infusions (tea) of *Solidagomicroglossa* DC. (Asteraceae) on the cell cycle of *Allium cepa*, Brazilian Journal of Pharmacognosy, 19(2B), pp. 632-636, ISSN: 0102695X.
- Bolle. P, S. Mastrangelo, P. Tucci, M.G. Evandri, 2004. Clastogenicity of atrazine assessed with the *Allium cepa* test, Environ. Mol. Mutagen. 43 137–141.
- Borboa. L, C. De La Torre, 1996. The genotoxicity of Zn(II) and Cd(II) in *Allium cepa* root meristematic cells, New Phytol. 134 481–486.
- Bickman, J.W; Smolen, M.J, 1994. Somatic and heritable effects of environmental genotoxins and the emergence of evolutionary toxicology. Environmental Health Perspectives, 102, 25-28.
- Camparoto, M. L., Teixeira, R.O., Mantovani, M. S. & Vicentini, V.E.P, 2002. Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion root-tip and rat bone-marrow cells. Genetics and Molecular Biology, 25, pp. 85-89, ISSN 1415-4757.
- Carter, W. G, Tarhoni. M, Rathbone, A. J, and Ray, D. E, 2007. Differential protein adduction by seven organophosphorus pesticides in both brain and thymus. Hum Exp Toxicol. 26(4); 347-353
- CEC, 2002. Making the environment Healthier for Our Kids-An overview of environmental challenges to the health of North America's children.

- Chi Anh Ta, 1997. Effet des fibres alimentaire sur la mise en disponibilité des résidus de pesticides retrouvés dans la diète. Sciences des aliments et de Nutrition. Québec, 167 p.
- Chubilleau Catherine, Pubert Mélanie, Comte Julien, Giraud Julien, 2011. Pesticides et santé. 17 rue Salvador Allende, pp26.
- Cimino MC, 2006. Comparative overview of current international strategies and guidelines for genetic toxicology testing for regulatory purposes. Environ Mol Mutagen 47:362-390.
- Damstra, T, 2002. Potential effects of certain persistent organic pollutants and endocrine disrupting chemicals on the health of children. J ToxicolClinToxicol. 40(4); 457-465.
- El-Ghamery, A.A, El-Nahas, A.I, Mansour, M.M, 2000. The action of atrazine herbicide as an indicator of cell division on chromosomes and nucleic acid content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. Cytologia 65, 277–287.
- EL-Mouden.Omar, 2010. Quantification des résidus de pesticide sur la tomate et le poivron et l'étude de la dégradation de difenoconazole sous l'effet de photo-oxydants atmosphérique à l'interface solide / gaz. Environnement. Agadir: Ecole Nationale des Sciences Appliquées d'Agadir, 141 p.
- Fachineto, J.M., Bagatini, M.D., Silva, A.C.F. & Tedesco, S.B. (2007). Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*, Rev. bras. farmacogn., 17, 1, pp. 49-54, ISSN: 0102695X.
- Fachineto, J.M. et Tedesco, S.B , 2009. Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*, Rev. Bras. Pl. Med., 11,4, pp. 360-367, ISSN 1516-0572.
- Fardel.O -Vernhet.L –Nouvel. V – Jung. A.V. - Legrand-Iorans. A , 2009. Utilisation des tests de genotoxicite pour la surveillance de l'exposition des travailleurs dans l'industrie du traitement et recyclage des déchets, pp 73-82.

- Feretti D, Zerbini I, Zani C, Ceretti E, Moretti M Monarca S, 2007. *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. *Food Addit. Contam.* 24 (26): 561-572.
- Fernandes, T.C.C., D.E.C. Mazzeo, M.A. Marin-Morales, 2007. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide, *Pest. Biochem. Physiol.* 88 252–259.
- Fiskesjö, G, 1985. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring, *Hereditas* 102 99–112.
- Fiskesjö, G, 1994. The *Allium* Test II: Assessment of chemical's genotoxic potential by recording aberrations in chromosomes and cell divisions in root tips of *Allium cepa* L., *Environ Toxicol Water Qual*, 9, pp. 234-241.
- Fusconi, A., Repetto, O., Bona, E., Massa, N., Gallo, C., Dumas-Gaudot, E., Berta, G, 2006. Effect of cadmium on meristem activity and nucleus ploidy in roots of *Pisum sativum* L. cv. Frisson seedlings. *Environ. Exp. Bot.* 58, 253–260.
- Gomurgen A.N, 2005. Cytological effect of the potassium metabisulphite and potassium nitrate food preservative on root tips of *Allium cepa* L. *Cytologia*, 70: 119-128.
- Grant, W.F, 1992. *Cytogenetics Studies of Agricultural Chemicals in Plants in Genetic Toxicology an Agricultural Perspective*. Plenum Press, New York. pp. 335–378.
- Guerra, M. & Lopes, M.J.S, 2002. *Como observar cromossomos - Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana* (1). Ed. FUNPEC, Ribeiro Preto, SP.
- Hoshina, M.M., 2002. Evaluation of a possible contamination of the waters of the Claro River-municipality of Rio Claro, part of the Corumbatai River basin, with the mutagenicity tests using *Allium cepa*. State University of Sao Paulo, Rio Claro, SP (in Portuguese).
- Idrissi. M, Aït Daoud. N et Soulaymani Bencheikh. R, 2010. Pesticides, Définition et Classification. In : *Toxicologie Maroc. Rés Alia*, 8, rue Essanaani Maroc, pp.3.

- Jeroen Bolan, IreneKoomen, Joepvanlidth de Jeude et Jan Oudejans, 2004. Les pesticides : composition, utilisation et risques, pp.58.
- Jones HA., Mann LK, 1963.Onions arid their allies. Inter. Sc, New York, 32 p.
- Knoll, M.F., Silva, A.C.F., Tedesco, S.B. & Canto-Dorow, T.S, 2006. Effects of *Pterocaulonpolystachyum* DC. (Asteraceae) on onion (*Allium cepa*) root-tip cells.Genet. Mol. Biol., 29, 3, pp. 539-542, ISSN 1415-4757.
- Konuk, M, Liman, R, Cigerci, I.H, 2007. Determiration of genotoxic effect of boron on *Allium cepa* root meristematic cells. Pak. J. Bot. 39 (1), 73–79.
- Kurás M, Nowakowska J, Sliwinska E, Pilarski R, Ilasz R, Tykarska T, Zobel A, Gulewicz K, 2006. Changes inchromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium* test induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. *J Ethnopharmacol* 107: 211-221.
- Laughinghouse IV, H.D, 2007. Efeitoscitotóxicos e genotóxicos de extratosaquosos de cepas de *Microcystisaeruginosa* (Chroococcales, Cyanobacteria), Thesis, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, Sant Cruz do Sul, RS.
- Leme, D.M. & Marin-Morales, M.A, 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application, Mutation Research, 682, pp. 71–81, ISSN 0027-5107
- Leme.D.M, D.F. Angelis, M.A. et Marin-Morales, 2008. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium ceparoot cells*, Aquat. Toxicol. 88 214–219.
- Lennartz, B., Kamra, S., and Meyer-Windel, S, 1997. Field scale variability of solute transportprameters and related soils properties. *Hydrology and earth system Sciences*.4(801-811).
- Lohman P.H.M-Adducts, In: Baritsh H, hemminki K,O’NEIL I.K,1988. Methods for detecting DNA damaging agents in humans.lyon,IARC. IARC Scientific Publications n<sup>o</sup> 9, pp.13-20.

- Louchard, X, Voltz, M, Andrieux, P, and Moussa, R, 2001. Herbicide transport to surface waters at field and watershed scales in a Mediterranean vineyard area. *Journal of Environmental Quality*. 30(982-990).
- Luo, L.Z, Werner, K.M, Gollin, S.M, Saunders, W.S, 2004. Cigarette smoke induces anaphase bridges and genomic imbalances in normal cells. *Mutat. Res.* 554, 375–385.
- Mackenzie A, Ball SA, Virdee SR, 1998. Instant notes in Ecology. BIOS Scientific publishers page 288-290.
- Maron D.N, Ames B.N, 1983. Revised methods for the Salmonella mu-tagenicity test. *Mutation Research*, 113, 173-215.
- Mateuca R, Lombaert N, Aka PV, Decordier I and Kirsch-Volders M, 2006. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie* 88:1515-1531.
- Matsumoto ST, Mantovani MS, Malagutti MI, Dias AL, Fonseca I.C, Marin-Morales MA, 2006. Assessment of the genotoxic and mutagenic effects of chromium residues present in tannery effluents using the micronucleus and comet assay in *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in of *Allium cepa*. *Genetics and Molecular Biology*, 29: 148-158.
- Nasterlack, M, 2007. Pesticides and childhood cancer: an update. *Int J Hyg Environ Health*. 210(5); 645-657.
- Onil Samuel, et Louis Saint-Laurent, 2001. Guide de prévention pour les utilisateurs de pesticide en agriculture maraichère.
- Ostling O, Johanson KJ,1984. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Bio-physical Research Communications*, 123, 291-298.
- Ozmen, A. & Summer, S, 2004. Cytogenetic effects of kernel extracts from *Melia azedarach* L., *Caryologia*, 57, pp. 290–293.
- Plewa, M.J, E.D. Wagner, D.A. Stavreva, T. Gichner, 1996. Plant activation and its role in

environmental mutagenesis and antimutagenesis, *Mutat. Res.* 350 163–171.

- Rank, J, 2003. The method of *Allium* anaphase–telophase chromosome aberration assay. *Ekologija*, 38–42.
- Recep Liman, Dilek Akyıl, Yasin Eren, Muhsin Konuk, 2010. Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/Salmonella and *Allium* test. *Chemosphere* 80 1056–1061.
- Savitz, D. A, 2001. Environmental exposures and childhood cancer: our best may not be good enough. *Am J Public Health.* 91(4); 562-563.
- Saxena, P.N, Chauhan, L.K.S, Gupta, S.K, 2005. Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: Spectroscopic basis of chromosome damage. *Toxicology* 216, 244–252.
- SCHMID W, 1975. The micronucleus test. *Mutation Res.* 31:9-15.
- Sehgal, R, Roy, S. & Kumar, D.V.L, 2006. Evaluation of cytotoxic potential of latex of *Calotropis procera* and Podophyllotoxin in *Allium cepa* root model, *Biocell*, 30, 1, pp. 9- 13, ISSN 1667-5746.
- Subbarao NS, 1999. *Soil Microbiology* 4th edition Science publishers, inc. pp. 303 324.
- Taylor D, Green N, Stout G, 1997. *Biological Science.* 3rd edition Cambridge University Press, Australia.
- Tkalec M, K Malaric, M. Pavlica, B. Pevalek-Kozlina, Z. Vidakovic-Cifrek, 2009. Effects of radiofrequency electromagnetic fields on seed germination and root meristematic cells of *Allium cepa* L., *Mutat. Res.* 672 76–81.
- Turkoglu. S, 2007. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. *Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 626: 4-14.

- Uhl. M, M.J. Plewa, B.J. Majer, S. Knasmüller, 2003. Basic principles of genetic toxicology with an emphasis on plant bioassays, in: J.Maluszynska, M. Plewa (Eds.), *Bioassays in Plant Cells for Improvement of Ecosystem and Human Health: A Course Manual*, Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego, Katowice, pp. 11–30.
- Vander Gaag M.A, Gauthier L. et Noordsji A, 1990. Genotoxins in effluents: an efficient approach with in vivo tests in aquatic species. *Physiological and Biochemical Approaches to the Toxicological Assessment of Environmental Pollution*, ESCPB, Utrecht, 27-31 août 1990.
- Vander Meer QP, 1993. *Allium cepa* L. cv. Groupe Common Onion. In: Siemonsma J.S., Kasem Piluek, 1993. *Plant resources of South-East Asia*. Pudoc Scientific publishers 8, 68-71.
- Vodicka P, Stetina R, Koskinen M, Soucek P, Vodickova L, Hlavac P, Kuricova M, Necasova R and Hemminki K, 2002. New aspects in the biomonitoring of occupational exposure to styrene. *Int Arch Occup Environ Health* 75 Suppl: S75-85.
- Webster, P.L, MacLeod, R.D, 1996. The root apical meristem and its margin. In: Waishel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (Eds.), *Plant Roots. The Hidden Half*, second ed. Marcel Dekker, New York, pp. 51–76.
- Yıldız, M, Cigerci, I.H, Konuk, M, Fidan, A.F, Terzi, H, 2009. Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. *Chemosphere* 75, 934–938.

## Web graphie

[1] :[http://www.memoireonline.com/11/12/6459/m\\_Etude-sur-les-pesticides2.html](http://www.memoireonline.com/11/12/6459/m_Etude-sur-les-pesticides2.html)  
(consulté le 02/02/2015).

[2] :<http://www.technoscience.net/?onglet=glossaire&definition=3528>(consulté  
le 24/02/2015).

[3] :<http://eduterre.enslyon.fr/eduterreusages/nappe/html/Ressources/pesticides/pesticides>  
(consulté le 24/02/2015).

[4] :[http://www.officiel-prevention.com/protections-collectives-organisation-ergonomie/risquechimique/detail\\_dossier\\_CHSCT.php?rub=38&ssrub=69&dossid=506](http://www.officiel-prevention.com/protections-collectives-organisation-ergonomie/risquechimique/detail_dossier_CHSCT.php?rub=38&ssrub=69&dossid=506)(consulté le 24/02/2015).

[5] :<http://www.fao.org/agriculture/crops/obsolete-pesticides/what-dealing/obs-pes/fr/>  
(consulté le 24/02/2015).

[6] :[http://www.sustainlabour.org/documentos/fra34\\_2011.pdf](http://www.sustainlabour.org/documentos/fra34_2011.pdf) (consulté le  
16/02/2015).

[7] :<http://observatoire-pesticides.gouv.fr/index.php?pageid=64&print=true> (consulté  
le 10/02/2015).

[8] :[http://www.alterrebourgogne.org/arkotheque/client/alterre\\_bourgogne/\\_depot\\_arko/articles/373/pesticides-rt-2\\_doc.pdf](http://www.alterrebourgogne.org/arkotheque/client/alterre_bourgogne/_depot_arko/articles/373/pesticides-rt-2_doc.pdf)(consulté le 22/03/2015).

[9] :<http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00000732/01/merhi.pdf> (consulter le  
22.03.2015).

[10] : <http://www.sagepesticides.qc.ca/Infos/Glossaire.aspx> (consulter le 22.03.2015).