

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 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité/Option: Biologie Moléculaire et Cellulaire
Département: Biologie

Thème : Effets cytotoxiques et génotoxiques des extraits aqueux de
Zygophyllum cornutum et *Atractylis gummifera* sur *Allium cepa*

Présenté par :

- ❖ Fecih Nour El Houda
- ❖ Guetitni Moufida
- ❖ Maghmoul Samiha

Devant le jury composé de :

Président: Dr. Merabet Rym

Examineur : Dr. Khallef Messaouda

Encadreur : Dr. Boumaza Awatif

Université de Guelma

Université de Guelma

Université de Guelma

Juin 2018

Remerciements

Avant toutes choses, nous remercions Allah, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience pour accomplir ce modeste travail.

*Nous tenons à exprimer toutes nos reconnaissances et nos gratitudees à notre encadreur, **Dr.A.BOUMAZA**,
Vous nous avez fait le très grand honneur de diriger ce travail et de nous guider tout au long de son élaboration.*

Nous sommes reconnaissantes pour votre appui, disponibilité, vos critiques et du respect que vous nous avez témoigné durant tout ce temps.

*Veillez trouver ici le témoignage de nos
Remerciements les plus sincères.*

*Notre respect le plus profond s'adresse à la présidente de jury
Dr. R.MERABET*

Pour avoir accepté de présider le jury de notre modeste travail. Que vous soyez assurée de nos entières reconnaissances.

*Nos sincères remerciements vont également au membre du jury :
Dr. M.KHALLEF*

Nous vous remercions vivement de nous faire l'honneur de consacrer une partie de votre temps précieux pour examiner ce modeste travail.

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

*À tous les étudiants de la promotion 2018
À toute personne qui a participé de près ou de loin
À la réalisation de ce travail.*

Dédicace

Je dédie ce travail

A mon Père Achour, l'homme d'exception, mon guide spirituel

A ma mère Maalala Fatîha, ma force et ma source de valeurs

A mon frères : Younes

A toute ma famille, proche ou éloignée.

MOUFIDA



A mon Père Hocine, l'homme d'exception, mon guide spirituel

A ma mère Mounira GAMRI, ma force et ma source de valeurs

*A ma sœurs : Lamia et mes frères : Nadir, Haythem,
Mohamed Asser, Mahmoud*

A Oncle Riyad, Okba

A toute ma famille, proche ou éloignée

NOUR EL HOUDA



A mon Père Amar, l'homme d'exception, mon guide spirituel

A ma mère Lwiza Dridi, ma force et ma source de valeurs

*A ma famille : Safia, Hamza, Besma, Ramzi, Amani,
Amal, Salman, Nour eldine, Mawada, Amjad*

SAMIHA

A tous nos amis proches



Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of *Zygophyllum cornutum* and *Atractylis gummifera* using *Allium cepa* assay

Abstract:

The potential genotoxic effects of aqueous extracts of *Zygophyllum cornutum* and *Atractylis gummifera*, commonly used in traditional medicine to treat a variety of disease conditions, was investigated using *Allium cepa* assay. Both extracts of 2, 4, 6, 8, 10 and 12 mg/mL were tested on root meristems of *A. cepa* to determine effective concentration (EC₅₀) as a parameter of cytotoxicity. Synthetic water was used as negative control. The results showed a dose-dependent decrease in roots growth with both plants, but it was more remarkable with *A. gummifera*. According to the obtained effective concentration₅₀ values, *Z. cornutum* (9.38 mg/ml) was considered less toxic than *A. gummifera* (5.38 mg/ml). Based on effective concentration₅₀ corresponding values, three concentrations were used for each plant to evaluate the genotoxic effects on *A. cepa*. The results showed that mitotic index decreased as the concentrations of the extract increased. A dose-dependent increase of total chromosome aberrations was also observed. The results of this study suggested that the aqueous extracts of *Zygophyllum cornutum* and *Atractylis gummifera* exerted significant genotoxic and mitodepressive effects at the tested concentrations.

Key words: *Allium cepa*, *Atractylis gummifera*, Chromosome aberrations, cytotoxicity, genotoxicity, Mitotic index, *Zygophyllum cornutum*

Effets cytotoxiques et génotoxiques des extraits aqueux de *Zygophyllum cornutum* et *Atractylis gummifera* sur *Allium cepa*

Résumé:

Les effets génotoxiques potentiels des extraits aqueux de *Zygophyllum cornutum* et d'*Atractylis gummifera*, qui sont couramment utilisées en médecine traditionnelle pour traiter une variété de pathologies, sont étudiés à l'aide du test *Allium cepa*. Les deux extraits sont testés sur des méristèmes racinaires d'*A. Cepa* à différentes concentrations (2, 4, 6, 8, 10 et 12 mg/mL) pour déterminer la concentration efficace₅₀ comme paramètre de cytotoxicité. L'eau synthétique est utilisée comme témoin négatif. Les résultats ont montré une diminution dose-dépendante de la croissance des racines avec les deux plantes, mais elle était plus remarquable avec *A. gummifera*. D'après les valeurs de concentration efficace₅₀ obtenues, *Z. cornutum* (9,38 mg/ml) était considéré moins toxique que *A. gummifera* (5,38 mg / ml). Sur la base des valeurs correspondantes de la concentration efficace₅₀, trois concentrations ont été utilisées pour chaque plante afin d'évaluer les effets génotoxiques sur *A. cepa*. Les résultats ont montré que l'indice mitotique diminuait à mesure que les concentrations de l'extrait augmentaient. Une augmentation dose-dépendante des aberrations chromosomiques totales a également été observée. Les résultats de cette étude suggèrent que les extraits aqueux de *Zygophyllum cornutum* et d'*Atractylis gummifera* exercent des effets génotoxiques et mitodépressifs importants aux concentrations testées.

Mots clés: *Allium cepa*, *Atractylis gummifera*, Aberrations chromosomiques, cytotoxicité, génotoxicité, Indice mitotique, *Zygophyllum cornutum*,

تأثيرات السمية الخلوية و السمية الوراثية للمستخلصات المائية ل *Zygophyllum cornutum* و *Allium cepa* على *Atractylis gummifera*

ملخص:

يتم دراسة التأثيرات السمية الوراثية المحتملة للمستخلصات المائية ل *Zygophyllum cornutum* و *Atractylis gummifera* ، والتي تستخدم بشكل شائع في الطب التقليدي لعلاج مجموعة متنوعة من الأمراض ، باستخدام اختبار *Allium cepa*. يتم اختبار كلا المستخلصات على الخلايا الإنشائية الجذرية من *A. Cepa* بتركيزات مختلفة (2 ، 4 ، 6 ، 8 ، 10 و 12 ملغ / مل) لتحديد EC50 كعامل السمية الخلوية . يتم استخدام المياه الاصطناعية ك شاهد سلبي. أظهرت النتائج انخفاض في استطالة الجذور مع كل من النبتتين حسب الجرعة، لكنه كان أكثر حدة مع *A.gummifera*. استنادا إلى قيم EC50 التي تم الحصول عليها، *Z. cornutum* (9.38ملغ/مل) اعتبر أقل سمية من *A. gummifera* (5.38ملغ/مل). على أساس القيم EC50 لكل نبتة ، تم استخدام ثلاثة تركيزات لتقييم آثار السمية الوراثية على *A. cepa*. أظهرت النتائج أن مؤشر الانقسام انخفض مع زيادة تركيز المستخلص . كما لوحظ زيادة تعتمد على الجرعة في مجموع التشوهات الصبغية. تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن المستخلصات المائية ل *Zygophyllum cornutum* و *Atractylis gummifera* تمارس تأثيرات سمية جينية خافض لسرعة الانقسام الخلوي عند التراكيز المختبرة.

الكلمات المفتاحية: *Atractylis gummifera*, *Allium cepa*, تشوه الكرومات , السمية الخلوية, السمية الوراثية , مؤشر الانقسامية, *Zygophyllum cornutum*.

Liste des abréviations

INT	Interphase
PRO	Prophase
MET	Métaphase
ANA	Anaphase
DL ₅₀	Dose Létale
CE	Concentré émulsifiable
SCE	Echanges de Chromatides Soeurs.
IM	Indice mitotique
PM	phase mitotique
AC	Aberration chromosomique
BrdU	5-bromodésoxyuridine
PISC	programme international de la sécurité chimique
PENU	programme de l'Environnement des Nations Unies
SIPF	Suspension intégrale de plantes fraîches
ACT	Taux des Aberrations Chromosomiques Totales

Liste des figures

Numéro	Titre	page
Figure. 01	<i>Z. cornutum</i> Coss	8
Figure. 02	<i>Z. cornutum</i> Coss selon Bailey Hortorium	9
Figure. 03	<i>A. gummifera</i> L	10
Figure. 04	<i>A. gummifera</i> L	11
Figure. 05	les différents types de lésions primaires de l'ADN	15
Figure. 06	Photographie du noyau dans le test de comète	16
Figure. 07	Lots de traitement par différentes concentrations des extraits des plantes.	22
Figure. 08	Effet inhibiteur des différentes concentrations de <i>Z. cornutum</i> et <i>A. gummifera</i> sur l'élongation racinaire d' <i>Allium cepa</i>	26
Figure. 09	Les cellules méristématiques racinaires d' <i>Allium cepa</i> en division régulière et normale	29
Figure.10	Les types d'aberrations chromosomiques dans le méristème racinaire d' <i>Allium cepa</i> exposés aux <i>Z. cornutum</i> et <i>A. gummifera</i>	30-31

Liste des tableaux

Numéro	Titre	page
Tableau. 01	Effet de <i>Z. cornutum</i> et <i>A. gummifera</i> sur l'élongation racinaire	25
Tableau. 02	Effets des plantes sur les phases mitotiques (PM) et l'index mitotique (IM) des cellules méristématiques racinaires d' <i>A. cepa</i>	27
Tableau. 03	Taux des Aberrations Chromosomiques Totales (ACT) dans les cellules méristématiques racinaire d' <i>A. cepa</i> traités par <i>Z. cornutum</i> et <i>A. gummifera</i>	28

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I. Généralité sur les plantes médicinales :	3
I.1. Définition.....	3
I.2. Eléments actifs des plantes médicinales.....	3
I.3. Utilisation des plantes médicinales en Algérie.....	3
I.4. Phytothérapie.....	4
I.4.1. Tisanes.....	4
I.4.2. Poudres et gélules.....	4
I.4.3. Extraits hydroalcooliques des plantes fraîches ou alcoolatures....	5
I.4.4. Suspension intégrale de plantes fraîches.....	6
I.4.5. Autres.....	6
I.5. Toxicité des plantes médicinales.....	6
II. Les plantes étudiées	8
II.1. <i>Zygophyllum cornutum</i>	8
II.1.1. Présentation et taxonomie.....	8
II.1.2. Description botanique.....	8
II.1.3. Usage thérapeutique.....	9
II.1.4. Etude ultérieurs et composition chimique.....	9
II.2. <i>Atractylis gummifera</i>	10
II.2.1. Présentation et taxonomie.....	10
II.2.2. Description botanique.....	11
II.2.3. Usage thérapeutique.....	11

II.2.4.	Composition chimique.....	12
II.2.5.	Toxicité du chardon à glu.....	13
III.	La génotoxicité	15
III.1.	Définition.....	15
III.2.	Tests génotoxiques.....	15
III.2.1.	Test de comète.....	16
III.2.2.	Test du micronoyau.....	16
III.2.3.	Test des aberrations chromosomiques.....	17
III.2.4.	Echanges entre chromatides sœurs (SOS).....	17
III.2.5.	Test Allium cepa.....	17

Chapitre II : Travail expérimental

I.	Matériel et méthodes	21
I.1.	Collection des plantes.....	21
I.2.	Préparation des extraits.....	21
I.3.	Test Allium cepa	21
I.3.1.	Conditions expérimentales	21
I.3.2.	Test d'inhibition de l'élongation racinaire et détermination de la CE50.....	21
I.3.3.	Test de génotoxicité.....	22
I.3.4.	Analyse de l'indice mitotique (IM), des phases mitotiques (PM) et des aberrations chromosomiques (AC).....	23
I.4.	Analyse statistique.....	23
II.	Résultats et discussion	25
II.1.	Test d'inhibition de l'élongation racinaire et détermination de la CE50.....	25
II.2.	Analyse de l'indice mitotique (IM), des phases mitotiques (PM) et des aberrations chromosomiques (AC).....	26

Conclusion..... 33

Références bibliographiques..... 35

Annexe

Introduction

Introduction

L'utilisation croissante d'herbes médicinales est une preuve évidente de l'intérêt du public à avoir des alternatives à la médecine conventionnelle. Cependant, malgré les avantages thérapeutiques profonds que possèdent les plantes médicinales, certains de leurs constituants se sont révélés potentiellement toxiques, mutagènes, cancérigènes et tératogènes (Ping *et al.*, 2012). L'utilisation à long terme d'herbes pour traiter ou gérer les maladies peut induire des dommages cellulaires (Oyedare *et al.*, 2009) et augmenter ainsi les effets secondaires et les toxicités potentiels des plantes médicinales, d'où la nécessité de les évaluer. *Zygophyllum cornutum* et *Atractylis gummifera* sont des plantes médicinales communément utilisées en Algérie dans la gestion traditionnelle de différentes maladies. Elles ont été rapportées pour avoir une grande valeur médicinale, mais aussi certains de leurs constituants phytochimiques sont considérés comme potentiellement toxiques (Larabi1 *et al.*, 2012; Boumaza *et al.*, 2016).

L'objectif du présent travail est d'évaluer la toxicité et la génotoxicité des extraits aqueux de ces deux plantes en utilisant le test *Allium cepa*. Trois paramètres sont considérés dans ce test :

- 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*

CHAPITRE I : Synthèse bibliographique

I. Généralité sur les plantes médicinales

I.1. Définition :

D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (Bruneton, 1987).

Une définition officielle est donnée par la jurisprudence française: "une plante est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal, c'est-à-dire que les plantes sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales. Dans le seul cas où ces deux conditions sont réunies, alors la plante appartient à l'usage pharmaceutique. Elles sont considérées comme des médicaments et leur vente est exclusivement réservée aux pharmaciens (Bruneton, 1987).

I.2. Eléments actifs des plantes médicinales :

Ce n'est que récemment que les éléments actifs à l'origine des actions thérapeutiques des plantes ont été isolés et étudiés. Parmi ces composés, l'homme utilise dans son arsenal thérapeutique principalement des hétérosides, des alcaloïdes, des huiles essentielles et des tanins. Les végétaux nous fournissent aussi des vitamines, des oligoéléments et des antibiotiques (Digest, 1997).

I.3. Utilisation des plantes médicinales en Algérie :

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine (Dutertre, 2011). En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées : racine, feuille, fleur (Dutertre, 2011). D'après (Hordé 2014), les plantes médicinales sont utilisées par l'homme depuis près de 7 000 ans et que certains animaux les consomment aussi dans un but thérapeutique. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne, les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important (Elqaj *et al.*, 2007). Leurs

préparations à base végétales contiennent un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fins thérapeutiques (Farnsworth et *al.*, 1986).

En Algérie, les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle. Elles sont largement employées dans divers domaines de la santé. Dans les années dernières, la phytothérapie est très répandue pour traiter plusieurs maladies : diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables (Benhouhou, 2005).

I.4. Phytothérapie :

La Phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes - ou la seule "partie active" de ces plantes - ayant des propriétés thérapeutiques. Ces plantes sont appelées "plantes médicinales".

I.4.1. Tisanes

En phytothérapie traditionnelle, les plantes peuvent être utilisées fraîches ou, beaucoup plus fréquemment, sèches. C'est en général une partie bien précise de la plante qui est employée, en conformité avec les préconisations des pharmacopées (racine, feuille, fleurs, etc.), la composition chimique d'une plante étant rarement uniforme. Ces parties de plantes, entières ou finement broyées dans un sachet-dose (alias infusette), sont utilisées pour l'obtention d'une tisane que l'on peut préparer par infusion (on verse de l'eau chaude sur la plante), par macération (la plante est laissée plus ou moins longtemps au contact de l'eau froide), ou par décoction (la plante est laissée plus ou moins longtemps au contact de l'eau portée à ébullition) (Bruneton., 1999).

I.4.2. Poudres et gélules

Des procédés plus récents permettent de fabriquer des formes plus « modernes », en particulier des poudres, qu'elles soient obtenues par un broyage classique ou par cryobroyage. Ces poudres totales, qui peuvent ensuite être conditionnées sous la forme de gélule, ou autre forme, sont présentées par leurs adeptes comme représentant « l'intégralité » le « totum » du végétal. Cela n'est pas faux, mais cela doit être pris en compte en termes de sécurité : leur composition diffère de celle des tisanes traditionnelles (qui ne comportent en principe que les substances hydrosolubles de la plante), et l'on s'écarte donc de « l'usage traditionnel bien établi ». On ne peut donc pas exclure qu'elles conduisent à l'absorption de substances toxiques (ou à des concentrations trop élevées en actifs) (Bruneton ., 1999).

I.4.3. Extraits hydroalcooliques des plantes fraîches ou alcoolatures

Un autre procédé, l'extraction, permet l'obtention d'une forme pulvérulente (extrait sec, atomisat), pâteuse (extrait mou) ou liquide (extrait fluide, teinture, teinture-mère) concentrée en principes actifs. Après le broyage de la plante, la poudre obtenue est traitée par un solvant, par simple contact ou par lixiviation. On utilise généralement de l'eau ou un alcool, ou un mélange hydro-alcoolique de titre variable, le plus souvent à chaud. Le solvant est choisi en fonction de la solubilité des principes actifs recherchés. Cette extraction permet d'isoler tous les actifs et de conserver leur éventuelle synergie d'action. Le liquide (soluté) ainsi obtenu est ensuite filtré afin d'éliminer le résidu insoluble (marc). Puis une phase d'évaporation — généralement sous vide pour éviter une élévation trop forte de la température - élimine tout ou partie du solvant. La forme ainsi obtenue :

1. est une forme concentrée en principes actifs ;
2. peut être ajustée à une teneur fixe en principe actif (pour assurer une reproductibilité de l'action) ;
3. peut être incorporée dans une forme galénique permettant un usage aisé, y compris en ambulatoire (gélules, comprimés, solutions buvables, etc).

Bien entendu, les plantes utilisées pour ces préparations doivent être de bonne qualité (en général conforme aux standards de la Pharmacopée). L'extraction peut en effet, selon la nature du solvant utilisé, éliminer une partie des contaminants (ex.: pesticide) ou au contraire les concentrer ...

Lorsque l'extrait est un extrait hydro-alcoolique de titre élevé, il est généralement nécessaire que la toxicité du “ médicament de phytothérapie ” qu'il permet d'obtenir soit évaluée avant sa commercialisation.

Il existe également un troisième solvant: la glycérine végétale. On obtient alors une triple extraction (eau/alcool/glycérine) qui permet d'obtenir une préparation proche du totum de la plante et avec un titrage alcoolique diminué. (Bruneton ., 1999)

I.4.4. Suspension intégrale de plantes fraîches

La suspension intégrale de plantes fraîches (SIPF) est une galénique mise au point dans les années 80 en même temps que le cryobroyage, ayant la particularité de conserver le totum de la plante. Généralement conçu à partir des plantes issues de l'agriculture biologique, les SIPF sont des solutions de suspension hydro-alcoolique où les plantes sont vivantes (Bruneton., 1999).

I.4.5. Autres utilisation des plantes médicinales

On dénombre encore les teintures mères homéopathiques, les macérats glycélinés de bourgeons, les ampoules buvables, les huiles essentielles qui constituent une discipline distincte, l'aromathérapie et les hydrolats (ou eaux florales quand il s'agit de fleurs), obtenus, comme pour la plupart des huiles essentielles, par distillation à la vapeur d'eau (Bruneton., 1999)

I.5. Toxicité des plantes médicinales :

La toxicité des plantes médicinales peut être expliquée par :

- La toxicité intrinsèque des constituants : Les plantes médicinales sont des mélanges complexes de molécules diverses. Leur composition, souvent mal définie, est formée de molécules pourvues d'une activité biologique notoire, entre autres, des hétérosides, des alcaloïdes, des anthocyanes, des tannins et des stéroïdes. Comme toutes les molécules bioactives, ces constituants peuvent à un certain degré de concentration, présenter une toxicité intrinsèque : telle que la composition des produits végétaux qui varie de multiples façons, la teneur de ces constituants qui peut naturellement varier d'une préparation à une autre (Zekkour., 2008).
- L'identification imprécise des composants : Une préparation à base de plantes peut devenir toxique lorsqu'un de ses constituants, qui est susceptible d'avoir des effets toxiques graves, n'est pas identifié ou est mal identifié : En 1991 et 1992, la substitution de *Stephania tetrandra* par *Aristolocha fangchi* dans une préparation amaigrissante a été la cause de néphropathies graves chez des consommatrices (Zekkour., 2008).

- Les altérations : La toxicité peut être aussi liée à la présence de composants qui altèrent chimiquement les préparations à base de plantes, qu'il s'agisse de végétaux ou de substances chimiques médicamenteuses (Zekkour., 2008).
- Les contaminations : Les produits à base de plantes médicinales peuvent contenir des contaminants toxiques, tels que les pesticides et les métaux lourds ainsi que des pollens, des champignons microscopiques et des moisissures, susceptibles de causer des réactions allergiques et/ou toxiques (Zekkour., 2008).

II. Plantes étudiées

II.1. *Zygophyllum cornutum* :

En Algérie, plusieurs plantes sont traditionnellement utilisées pour traiter le diabète, parmi lesquelles on note *Z. cornutum* Coss, objet de notre étude.

II.1.1. Présentation et taxonomie :

Z. cornutum Coss, connue sous le nom de « Bougriba » est une espèce du genre *Zygophyllum* de la famille des *Zygophyllaceae* distribués dans les régions arides et semi arides de l'Afrique. *Z. cornutum* est réparti principalement en Algérie (Biskra, Elouad), au Maroc et en Tunisie. Nous présentons ci dessous sa classification (Quezel *et al.*, 1962)

Règne : Plante

Division: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

Ordre: Zygophyllales

Famille: Zygophyllaceae

Genre: *Zygophyllum*

Espèce: *Zygophyllum cornutum*



Figure 01: *Z. cornutum* Coss (Farid Baba Aissa, 1991)

II.1.2. Description botanique :

C'est une plante vivace qui pousse en broussons ramifiés, à feuilles composées par deux folioles cylindriques et charnues de même couleur que les rameaux. A l'aisselle des feuilles naissent de très petites fleurs blanches à 5 pétales. Les fruits composés de cinq segments cornus au sommet, prennent une coloration ocre-violacé à maturation (Ozenda *et al.*, 1963) (Figure 02).

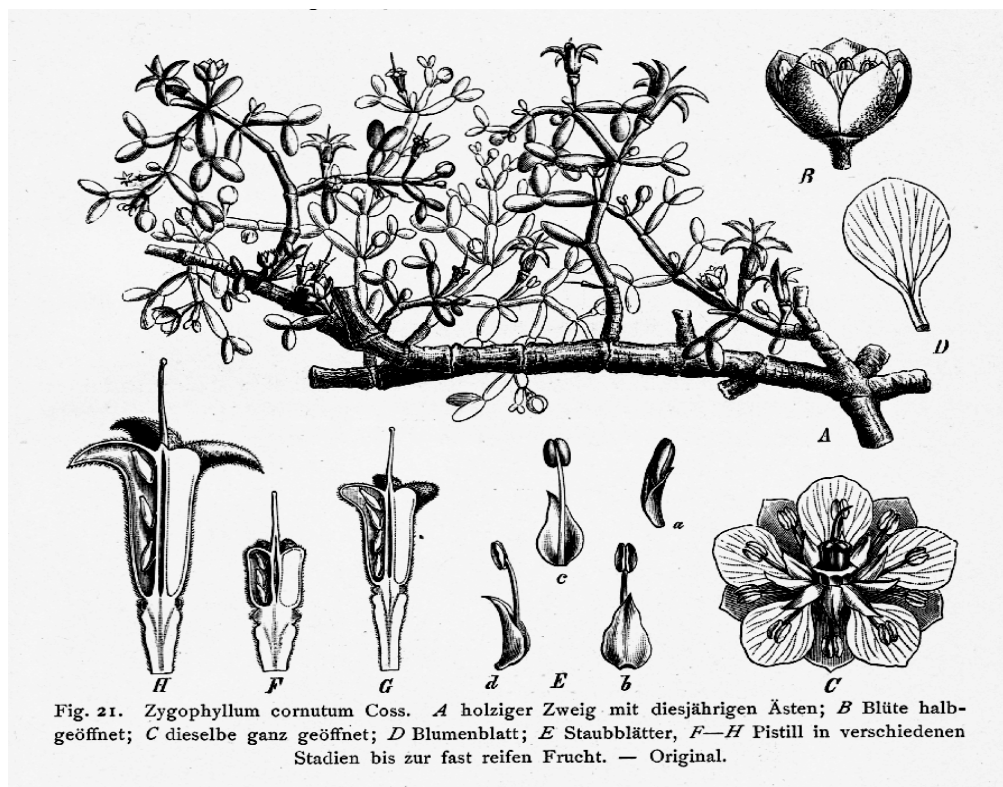


Figure 02: *Z. cornutum* Coss selon (Bailey Hortorium., 2008).

II.1.3. Usage thérapeutique :

La plante est utilisée dans la médecine traditionnelle comme un remède pour les rhumatismes, la goutte, asthme et comme diurétique (Amal., Moustafa., 2007). En Algérie, plusieurs plantes sont traditionnellement utilisées pour traiter le diabète sucré, parmi lesquelles on note *Z. cornutum* Coss, plante médicinale traditionnellement utilisée et scientifiquement évaluée pour son activité antidiabétique : *Z. cornutum* (Perez, 1958)

II.1.4. Etudes ultérieures et composition chimique :

Depuis que Perez C a effectué une étude de l'activité antidiabétique de *Z. cornutum*, Bougriba de Tunisie, en 1958, où son efficacité remarquable testé sur le lapin a été rapportée, cette plante qui fait l'objet de notre étude et selon nos meilleures connaissances n'a jamais été valorisée du point de vue génotoxique. Des études faites sur d'autres espèces du genre *Zygophyllum* ont montré leur activité antidiabétique et antihyperlipidémique. L'espèce « *Z. gaetulum* » étudiée par Jaouhari J.T., sur des patients diabétique de type 2 en 1998 et sur des rats hyperglycémiques en 1999 fait l'exemple. « *Z. coccineum* » testée sur des rats diabétiques par (Hamdy A *et al.*, 2001) était considérablement hypoglycémique avec un effet amélioratif

contre le dysfonctionnement rénal et inhibiteur des dommages du foie associés au diabète. Eddouks M., en 2002 a rapporté l'effet de « *Z. album* » contre le diabète sucré, l'hypertension et les maladies cardiaques. Concernant les constituants phytochimiques, le zygophylline, l'acide quinovique et les glycosides sont les majeurs composés décrits chez les espèces de *Zygophyllum* (Smati *et al.*, 2004). D'autres études ont montré la présence des triterpènes saponines dans certaines espèces du genre « *Zygophyllum* » (Hani *et al.*, 1995 ; Ahmad V.U. *et al.*, 1992).

II.2. *Atractylis gummifera*

Traditionnellement utilisé pour arrêter l'hémorragie et pour faciliter l'accouchement, *A. gummifera* L. (*chardon à glu*) peut provoquer, d'après plusieurs travaux, une hépatite aiguë, une hypoglycémie sévère et une insuffisance rénale (Hami *et al.*, 2010).

II.2.1. Présentation et taxonomie

L'*A. gummifera* L est une plante de la famille des *Astéracées* connue sous le nom de chardon à glu ; les Arabes la dénomment *Addâd* (ou *Leddâd*), *choûk el-eulk'* (*chardon à glu* à masticatoire) C'est une plante de la région méditerranéenne retrouvée en Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie) et au sud de l'Europe (Italie, Grèce, Espagne et Portugal) (Ahid *et al.*, 2012). Nous présentons si dessous sa classification :

Embranchement : Embryophytes

Classe : Angiospermes

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Atractylis*

Espèce : *Atractylis gummifera* L (Dupont *et al.*, 2015).

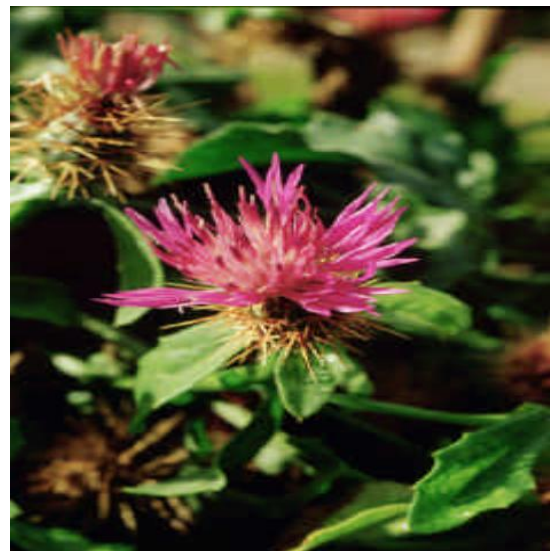


Figure 03 : *A gummifera* L (Skalli *et al.*, 2002)

II.2.2. Description botanique :

C'est une plante herbacée, épineuse, odorante, vivace par ses parties souterraines très développées (un rhizome flexueux et des racines pivotantes). Elle ressemble fortement à l'artichaut sauvage (Ahid *et al.*, 2012). Elle comporte en effet, deux parties :

- Une partie aérienne formée par la tige, les feuilles, les fleurs et les fruits.
- Une partie souterraine représentée par un volumineux rhizome, pivotant et charnu (Bensalah *et al.*, 2001) (Figure04).



Figure 04 : *A. gummifera* (Ahid *et al.*, 2012)

II.2.3. Usage thérapeutique:

La racine séchée est en vente libre chez les herboristes ; elle est utilisée pour un objectif médicinal ou destinée à être mâchée ou consommée dans des brûle-parfums pour son action insectifuge (Larrey. 1994). Sur le plan thérapeutique, le chardon à glu est utilisé en fumigation contre le rhume, les vertiges et céphalées, en infusion contre les hémorragies pendant l'accouchement, comme antisiphilitique et contre les furoncles, comme purgatif et vomitif et comme vermifuge (Eichholzer. *et al.*, 1980 ; Capdevelle et Darracq., 1980 ; Georgiou *et al.*, 1988).

II.2.4. Composition chimique

II.2.4.1. Partie souterraine :

D'après l'étude de Lefranc, 1866, l'analyse de la partie souterraine d'*A. gummifera* L. récoltée en avril et desséchée à l'air, a donné les proportions suivantes pour les composants ci-dessous :

- Inuline (46,5%).
- Sucres (8%).
- Cellulose (25%).
- Matière minérales (4.5%).
- Eau (4%).

Aussi, il existe d'autres composés cités ci-dessous :

- Des hétérosides diterpénique (attractyloside et carboxyattractyloside).
- Des hétérosides flavonoïdique (orientine, homo-orientine, corymboside, néocorymboside).
- L'asparagine.
- De nombreux acides aminés (acide aspartique et glutamique, proline, leucine, valine, et tryptophane).
- Divers acides organiques (acide acétique, isovalérianique, oxalique et malique).
- Trace d'huile essentielle.

En plus, Lefranc, 1866 a fait une étude même sur les cendres de la racine de *Atractylis gummifera* L.; cette racine répand en brulant, une odeur très forte de caramel, les éléments de ce résidu sont : La chaux, de la soude, de la magnésie, de la potasse et du fer d'une part, d'autre part, de l'acide chlorhydrique, de l'acide sulfurique, de l'acide carbonique et de la silice (Lefranc., 1866).

II.2.4.2. Feuilles :

- Dans les feuilles : des flavonoïdes dérivés de la luteoline, orientine et homo-orientine (présents aussi dans la partie souterraine) et l'isoschaftoside (dérivés de l'apigénine) ont été décrits (Aït Youssef., 2006 ; Hammiche *et al.*, 2013).

- Suc de la feuille : L'analyse du suc des feuilles d'*A. gummifera* L. montre les mêmes constituants de la racine à l'exception de : l'inuline, l'asparagine, l'atractylate de potasse; mais plus de la chlorophylle (Lefranc., 1866).

II.2.5. Toxicité du chardon à glu

II.2.5.1. Fréquence des intoxications du chardon à glu en Algérie

Une centaine de cas d'intoxications par l'*A. gummifera* L. sont rapportés dans la littérature (Hamouda *et al.*, 2004 ; Ahid *et al.*, 2012).

En Algérie, selon le bilan du centre anti-poisons d'Alger (période 1991 à 2009), cette plante occupe la 1^{ère} position parmi les plantes responsables d'intoxications (Ahid *et al.*, 2012).

Aussi, une autre étude dans une période de 12 ans d'activité (1991 à 2002) révèle que sur 867 appels relatifs aux plantes, 110 concernent le Chardon à glu soit près de 13%; et que sur 46 décès recensés imputables aux plantes, 34 (dont 32 d'enfants), sont causés par le chardon à glu soit 74 % (Ahid *et al.*, 2012 ; Hammiche *et al.*, 2013).

Une enquête au niveau des régions de Sétif (Est de l'Algérie) montre que le Chardon à glu vient en deuxième position avec 17,50 % d'intoxications dues aux plantes (Ahid *et al.*, 2012 ; Bouzidi *et al.*, 2002).

Ainsi, une autre enquête réalisée à Tlemcen en 2014, révèle que le Chardon à glu occupe 13% des empoisonnements due aux plantes (2 cas parmi 15 cas d'intoxication par les plantes) (Berrezoug *et al.*, 2014).

II.2.5.2. Principes actifs responsables de l'intoxication :

La toxicité de la plante est liée à la présence de deux substances, l'atractyloside et le carboxyatractyloside qui sont capables d'inhiber la phosphorylation oxydative mitochondriale et le cycle de Krebs (Larrey, 2001).

Toutes les parties de la plante contiennent de l'atractyloside à des concentrations décroissantes de la racine aux feuilles, en passant par la tige, les bractées, la fleur et la graine et enfin la feuille en contient le moins (Ahid *et al.*, 2012 ; Bellakhdar, 1997 ; Charnot, 1945 ;

Chardon *et al.*, 1964 ; Pinto *et al.*, 2002). Ce sont les parties aériennes de la plante qui sont les moins toxiques (Bellakhdar, 1997 ; Charnot, 1945).

La toxicité dépend de la dose, de l'âge de sujet, de la quantité et de la nature de la substance alimentaire ingérée (Ahid *et al.*, 2012).

Une étude concernant la détermination des teneurs en atractyloside dans les racines d'*A. gummifera* L., montre que 260 g de racine sèche correspondent à la DL50 chez le rat par voie orale, et que pour les voies intra-péritonéale, intramusculaire, et sous-cutanée, seulement 10 à 35 g permettent d'atteindre la DL50. Chez l'homme, il n'existe pas de données concernant les doses létales de l'atractyloside et la transposition des données animales à l'homme ne peut être appliquée en raison de l'absence de données relatives à son volume de distribution dans l'organisme (Larabi *et al.*, 2012).

Il n'y a pas de données dans la littérature concernant l'embryotoxicité, ni la fœtotoxicité des principes actifs du chardon à glu3. La toxicité fœtale de cette plante particulièrement abondante dans le pourtour méditerranéen, ainsi que son passage transplacentaire, ne sont pas connus (Skalli *et al.*, 2002 ; Madani *et al.*, 2006 ; Hamouda *et al.*, 2000)

III. Génotoxicité

III.1. Définition

L'information génétique, codée chimiquement dans l'ADN, est maintenue, reproduite et transmise aux générations successives avec une grande fidélité. Des dommages à l'ADN peuvent se produire à travers le processus biologique normal ou à la suite de l'interaction de l'ADN, que ce soit directement ou indirectement, avec des produits chimiques, agents physiques ou biologiques (Young, 2002).

La toxicologie génétique ou génotoxicité est l'étude de la toxicité de substances sur l'acide désoxyribonucléique (ADN), causant directement des lésions ou mutations (Figure 05). On distingue différents types de mutations: Les mutations germinales, mutations géniques, les mutations chromosomiques.

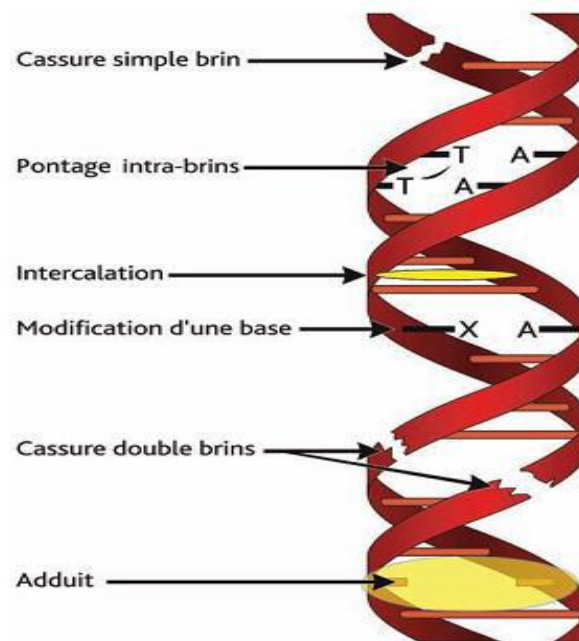


Figure 05: les différents types de lésions primaires de l'ADN (Bickman et Smolen, 1994).

III.2. Tests génotoxiques

Les tests de génotoxicité sont appliqués depuis longtemps dans le monde pour la surveillance du risque mutagène/cancérogène chez des travailleurs exposés à des agents génotoxiques. Ils sont un outil, le seul pour l'instant, pour pouvoir évaluer les effets précoces,

prédictifs du risque de cancer, de l'exposition à des agents génotoxiques (Eslava, 2004). Il est nécessaire de tester les effets mutagénique de plantes utilisées dans la médecine traditionnelle.

Les tests sont nombreux avec différentes spécificités.

III.2.1. Test de comète

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 alcalilabiles 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 semiquantitative (classement en quatre catégories) ou quantitative (évaluation du taille moment) des taux de dommages peut ensuite être réalisée (figure 06) (Ostling et Johanson, 1984).

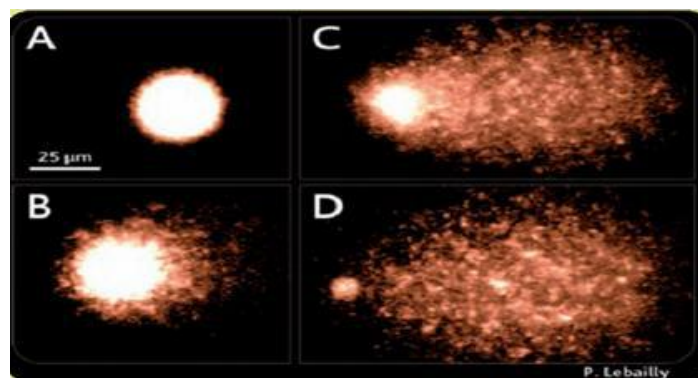


Figure. 06: Photographie du noyau dans le test de comète :

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

III.2.2. Test du micronoyau

Les micronoyaux sont constitués de chromosomes entiers perdus au cours de la mitose (phénomène aneugène) ou de fragments chromosomiques acentriques exclus du noyau de la cellule fille pendant la division cellulaire (phénomène clastogène). Le test évalue

l'exposition à des agents clastogènes et/ou aneugènes. C'est à la fois un test de mutations chromosomiques et de mutations géniques (Eslava, 2004). Les tests du micronoyau ont émergé comme l'une des méthodes préférées pour l'évaluation des dommages de chromosome (Fenech, 2000).

III.2.3. Test des aberrations chromosomiques

Le test des aberrations chromosomiques, basé sur le fait que la majorité des agents génotoxiques ont des propriétés clastogènes, consiste à étudier les anomalies chromosomiques observées sur des cellules en métaphase après exposition à des agents mutagènes (Natarajan et Obe, 1984).

III.2.4. Echanges entre chromatides sœurs (ECS)

L'échange entre chromatides sœurs (*sister chromatid exchange, SCE*) reflète des réarrangements de l'ADN à l'intérieur d'un même chromosome ; il s'agit d'un échange complet et réciproque entre les deux chromatides sœurs survenus une mitose réalisées in vitro (Ortega, 2004).

Les techniques permettant la visualisation des SCE impliquent l'exposition des cellules à la 5-bromodésoxyuridine (BrdU), un analogue de la thymine, durant deux réplication successives, de telle façon que les chromosomes des cellules en seconde division possèdent l'une des chromatides dont un des brins de l'ADN seulement a un incorporé de la BrdU, tandis que l'autre à incorporé dans les deux brins (Léonard, 1990).

De telles chromatides dont les deux brins de l'ADN ont incorporé de la **BrdU**, ne se colorent plus normalement ou montrent une coloration beaucoup plus pale lorsqu'on utilise des colorants appropriés. La chromatine ayant incorporé de la BrdU montre une altération des liaisons entre l'ADN et la protéine non-histones (Léonard, 1990).

III.2.5. Test *Allium cepa*

Les produits chimiques génotoxiques utilisés à de nombreuses fins dans les procédés de fabrication peuvent être trouvés dans des compartiments environnementaux tels que l'air, l'eau, les sols et les sédiments. Les produits chimiques peuvent entrer dans l'environnement à partir des eaux usées rejetées, des émissions atmosphériques, lors de la consommation des produits et des sites de déchets domestiques et industriels.

Le test *A. cepa* a été utilisé par de nombreux chercheurs principalement comme bioindicateur de la pollution de l'environnement (Bagatini *et al.*, 2009; Leme et Marin-Morales, 2009); extraits de cyanobactéries (Laughinghouse, 2007), ainsi que pour évaluer la génotoxicité potentiel des plantes médicinales (Camparoto *et al.*, 2003 ; Knoll *et al.*, 2006 ; Fachinnetto *et al.*, 2007 ; Lubini *et al.*, 2008 ; Fachinnetto *et al.*, 2009 ; Fachinnetto et Tedesco, 2009 ; Dalla Nora *et al.*, 2010), parce que ce test utilise un modèle suffisamment sensible pour détecter d'innombrables substances qui provoquent des altérations chromosomiques.

Allium cepa L, membre des Alliaceae (Dupond et Guignard, 2007) est un système de bioessais validé par le programme international de la sécurité chimique (**PISC**) et le programme de l'Environnement des Nations Unies (**PENU**), comme un test efficace et standard pour le criblage chimique et le contrôle *in situ* de la génotoxicité des substances environnementales (Cabrea et Rodriguew, 1999) et notamment des substances anticancéreuses (Kuras *et al.*, 2006).

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

D'ailleurs, les cellules méristématiques végétales constituent un matériel d'une qualité inégalable pour l'étude de la mitose. Elles se rapprochent de ce qu'on pourrait « la cellule isolée typique » ou « l'unité fondamentale » (Olliviers, 1948).

III.2.5.1. Avantages :

L'évaluation des propriétés anticancéreuses sur les apex racinaires de *A. cepa* L date de 1938 par les premiers travaux réalisée par Levan (1938) en étudiant l'effet de la colchicine sur les mitoses racinaires d'*Allium*. Ce test présente plusieurs avantages en :

- **Cytologie :**
 - Nombre chromosomique réduit ($2n=16$).
 - Chromosomes large et longue.
 - Haut pourcentage de division cellulaire.
 - Détection facile des aberrations chromosomiques.
 - Coloration facile.

- **Manipulation :**

- Matériel végétal disponible toute l'année.
- Facile à cultiver dans les laboratoires.
- Relativement rapide.

- **Résultats :**

- Bonne corrélation avec les cellules mammifères.
- Extrapolation sur les cellules animales (Juchimiuk et Maluszynska, 2004).
- Fournit des résultats comparables à un certain nombre de systèmes : lentille, algue unicellulaire et *Nitorca spinipes* (crustaceae) (fiskesjo, 1989).

III.2.5.2. Inconvénient :

Les tests de bioessais utilisant *A. cepa* L comme modèle expérimental présentent quelques inconvénients qui se résument au fait qu'*A. cepa* L. est hautement sensible et fournit ce qu'on appelle de faux positifs résultats en comparant aux autres systèmes spécialement les organisations supérieures tel que les poissons (Fiskesjo, 1989).

CHAPITRE II: Travail expérimental

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1. Collection des plantes

Nous présentons ci-dessous les informations relatives à la récolte des plantes médicinales étudiées dans le présent travail, *Zygophyllum cornutum* Coss et *Atractylis gummifera* L. Les espèces sélectionnées sont collectées dans leurs habitats naturels entre le mois de Février et Mars 2018. Pour *Z. cornutum*, la récolte est effectuée au Sahara Algérien dans la région d'El-Bayad (wilaya d'El-Oued). Pour *A. gummifera*, la récolte est effectuée à la région de Hammam Debagh (Bni-aadi), Wilaya de Guelma. Les plantes sont identifiées par Pr. Benzyan Ghania, laboratoire de Biotechnologie Végétale, université Ferhat Abbas, Sétif. La partie aérienne (feuilles, fleurs et tiges) de *Z. cornutum*, et la partie souterraine de *A. gummifera* sont collectées et séchées à l'abri de la lumière du soleil puis broyées en poudre pour qu'elles soient prêtes à l'utilisation.

I.2. Préparation des extraits

Durant toute l'expérience, les extraits des deux plantes sont fraîchement préparés par décoction pendant 10 minutes dans de l'eau synthétique (voir annexe) à différentes concentrations (2, 4, 6, 8, 10 et 12 mg/ml). Après refroidissement à température ambiante, les extraits sont filtrés avec du papier filtre pour éliminer les particules des poudres puis les filtrats sont utilisés dans le test d'*Allium cepa*.

I.3. Test *Allium cepa*

I.3.1. Conditions expérimentales

Le test d'*Allium cepa* a été réalisé selon la procédure décrite par (Fiskesjo G., 1985) et (Rank J., 2003). Des bulbes d'oignon (*A. cepa* L., $2n = 16$) sont obtenus du marché local à Guelma. Le diamètre des bulbes varie entre [5 et 8 cm]. La couche externe des bulbes est éliminée ainsi que les anciennes racines avant de commencer les expériences. Durant toutes les expériences réalisées, les bulbes sont incubés à l'obscurité à une température ambiante.

I.3.2. Test d'inhibition de l'élongation racinaire et détermination de la CE50

Pour ce test de toxicité, 35 bulbes sont utilisés pour chaque plante et pour toutes les concentrations, y compris le contrôle négatif (eau synthétique), 5 bulbes sont utilisés pour

chaque concentration (figure 07). Ils 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.



Figure 07 : lots de traitement par différentes concentrations des extraits des plantes

L'incubation se fait à l'obscurité pendant 2 jours dans de l'eau synthétique puis dans l'extrait 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 de l'extrait testé. La Concentration Efficace (CE) produisant 50% d'inhibition de la croissance des racines relativement au contrôle est calculée et exprimée comme étant CE50. A la fin de chaque expérience, les bulbes sont ré-incubés dans de l'eau synthétique pour vérifier la capacité de récupération de la croissance racinaire.

I.3.3. Test de génotoxicité

Ce test est réalisé avec trois concentrations de chaque extrait, choisies selon la valeur de la CE50. L'eau synthétique est utilisée comme contrôle négatif. Cinq oignons sont exposés à chaque concentration dans les mêmes conditions de laboratoire décrites ci-dessus. Pendant les 24 premières heures, les oignons sont cultivés dans l'eau synthétique, puis ils sont exposés aux extraits pendant 48 h, ce qui est proche de deux cycles cellulaires. Les solutions d'essai sont changées chaque 24 h et à la fin de l'exposition, les oignons sont préparés pour la microscopie. Les extrémités des racines de chaque groupe de test ont été immédiatement placées dans un fixateur de Carnoy pendant 24 h à 4 ° C, puis conservées dans de l'éthanol à 70% à 4°C jusqu'à utilisation. Pour l'observation microscopique, cinq lames sont préparées pour chaque groupe de test. Les pointes des racines ont été hydrolysées pendant 8 min dans

de l'HCl 1N à 60 ° C puis colorées par la réaction de Feulgen ; les 2 mm apicaux sont écrasés dans une goutte d'acide acétique à 45% et les lamelles sont soigneusement abaissées pour exclure les bulles d'air. Les lamelles sont scellées sur les lames avec du vernis à ongles transparent. (Fiskesjö, 1994 ; Knoll *et al.*, 2006 ; Fachinetta *et al.*, 2009).

I.3.4. Analyse de l'indice mitotique (IM), des phases mitotiques (PM) et des aberrations chromosomiques (AC)

Pour l'IM et les PM, les différents stades de la mitose sont comptés dans 4000-5000 cellules par concentration et exprimés en pourcentage selon (Kwankua *et al.*, 2010). 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:

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

Les AC (ponts, ruptures, adhérence, C-mitose et autres) sont analysés dans 500 cellules en division pour chaque groupe de test.

I.4. Analyse statistique

Toutes les données sont exprimées en moyenne \pm SD. Les différences statistiquement significatives entre les données du contrôle négatif et les différentes concentrations des extraits sont déterminées par le test ANOVA suivie du test Dunnett bilatéral. La régression linéaire pour la détermination de la concentration efficace 50% (CE50) est effectuée en utilisant XLSTAT pour Windows. Le niveau de signification statistique est déterminé à $p \leq 0.05$.

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

Les plantes supérieures, comme *A. cepa*, sont acceptées comme des modèles génétiques importants pour évaluer les effets toxiques et génotoxiques telles que les aberrations chromosomiques et les perturbations du cycle mitotique (Grant, 1982). Dans la présente étude, la toxicité et la génotoxicité de deux plantes médicinales : *Z. cornutum* et *A. gummifera* est évaluée par le test *Allium cepa* en prenant en considération trois paramètres: l'inhibition de l'élongation racinaire en déterminant la CE50, l'effet sur l'index mitotique et l'étude des aberrations chromosomiques.

II.1. Test d'inhibition de l'élongation racinaire et détermination de la CE50

La toxicité des plantes étudiées est évaluée en adoptant la méthode déterminant la CE₅₀ qui correspond à la concentration qui provoque 50% de l'inhibition de l'élongation racinaire. L'effet des plantes est résumé dans le tableau 1.

Tableau.1 : Effet de *Z. cornutum* et *A. gummifera* sur l'élongation racinaire

Concentration (mg/ml)	Longueur moyenne des racines (%) ± SD	Inhibition de l'élongation racinaire (%)
<i>Z. cornutum</i>		
Contrôle négatif -96h	100.77 ± 7.51a	0.00
2	98.21 ± 2.29a	2.54
4	78.79 ± 1.37b	21.81
6	67.66 ± 2.31c	32.78
8	61.15 ± 4.91c	39.22
10	49.72 ± 3.22d	50.54
12	41.66 ± 2.76d	58.52
<i>A. gummifera</i>		
Contrôle négatif -96h	100.77 ± 7.51a	0.00
2	81.78 ± 1.44b	18.84
4	57.43 ± 2.31c	43.01
6	23.62 ± 2.49d	76.38
8	24.58 ± 5.80d	75.43
10	19 ± 0.78e	80.95
12	12.10 ± 0.57f	87.78

Les courbes d'inhibition de l'élongation racinaire en fonction des différentes concentrations des plantes étudiées (figure 08) nous ont permis de déterminer pour chaque plante la concentration efficace EC₅₀ : *Z. cornutum* (9.38 mg/ml) et *A. gummifera* (5.38

mg/ml). Selon les valeurs de l'EC₅₀, on peut conclure que *A. gummifera* est plus toxique que *Z. cornutum*. Aucun changement macroscopique n'a été observé avec *Z. cornutum*, mais avec les concentrations 8, 10 et 12 mg/ml de *A. gummifera*, les extrémités des racines deviennent brunes à sombre. Du point de vu toxicité, il semble que ces concentrations soient toxiques pour *A. cepa* (Wierzbicka, 1988 ; Antonsiewicz, 1990). L'inhibition de l'élongation des racines est généralement liée à l'activité méristématique apicale et à l'allongement cellulaire pendant la différenciation (Wierzbicka, 1988). La coloration légèrement brune et foncée dans les racines peut indiquer le retard de croissance et la cytotoxicité (Yıldız M *et al.*, 2009).

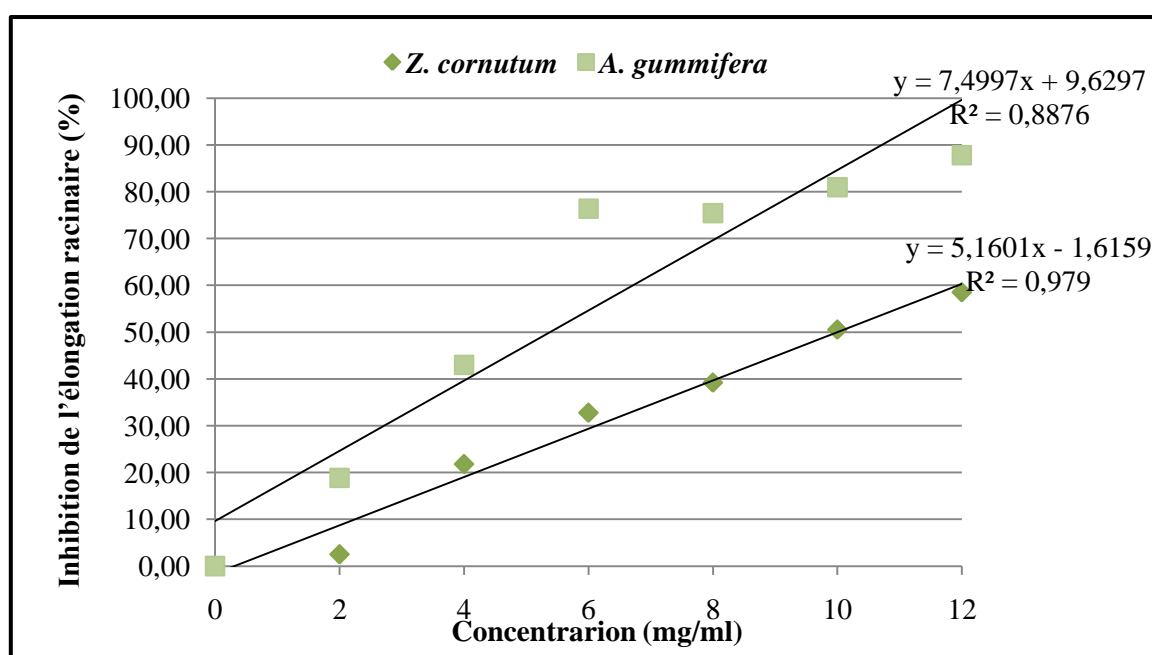


Figure.08 : Effet inhibiteur des différentes concentrations de *Z. cornutum* et *A. gummifera* sur l'élongation racinaire d'*Allium cepa*.

II.2. Analyse de l'indice mitotique (IM), des phases mitotiques (PM) et des aberrations chromosomiques (AC)

Le tableau 2 montre l'effet des plantes testées sur les phases mitotiques (PM) et l'index mitotique (IM) des cellules méristématiques racinaires d'*A. cepa*. Les deux plantes ont nettement diminué l'IM avec la majorité des concentrations testées. Les effets inhibiteurs étaient dose-dépendants et significatifs par rapport au contrôle. Les niveaux décroissants de l'IM étaient accompagnés d'une augmentation de l'indice PM pour la phase (**Int + Pro**) par rapport au témoin. L'indice mitotique est un paramètre fiable pour identifier la cytotoxicité, son augmentation ou sa diminution détermine les niveaux de cytotoxicité d'un agent chimique

(Fernandes, 2007 ; Liman *et al.*, 2015). Des IM inférieurs à ceux du témoin peuvent indiquer que la croissance et le développement des organismes exposés ont été affectés par les composés d'essai. D'autre part, l'augmentation des IM est le résultat de l'induction de la division cellulaire, et peut être considéré comme un événement préjudiciable aux cellules en conduisant à la prolifération non contrôlée et la formation de tumeurs (Saxena *et al.*, 2005 ; Fernandes, 2007). Selon (Mesi et Koplukua, 2013), la diminution en dessous de 50% induit un effet subléthal sur l'organisme d'essai alors qu'en dessous de 22% provoque un effet léthal.

Tableau. 2 : Effets des plantes sur les phases mitotiques (PM) et l'index mitotique (IM) des cellules méristématiques racinaires d'*A. cepa*.

Plantes	Concentration (mg/ml)	IM (moyenne ± SD) (%)	Moyenne des Phases Mitotiques PM (%) ± SD*			
			Int + Pro	Met	Ana	Tel
<i>Z. cornutum</i>	Contrôle-48h	100.34 ± 2.52a	78.97 ± 6.27a	3.73 ± 0.65a	3.57 ± 0.32a	13.73 ± 4.58a
	6	83.56 ± 0.3b	85.64±2.21a	3.41±1.25b	3.87±1.33a	7.08±1.23b
	10	77.49 ± 2.66c	87.68±1.53a	5.45±0.75a	2.89±0.41a	3.26±0.65bc
	12	65.12 ± 1.02d	94.74±0.2b	1.98±0.47b	0.99±0.21b	2.29±0.57c
<i>A. gummifera</i>	2	67.92 ± 2.48b	77.63±3.21a	9.26±1.67a	4.26±0.83a	8.85±1.3b
	6	58.19 ± 1.4c	82.32±1.37ab	4.8±0.3bc	3.66±0.48ab	9.22±1.04b
	12	22.38 ± 2.44d	95.12±1.65c	2.14±0.91c	1.39±0.39c	1.35±0.61c

Int : interphase, Prophase : Pro, Métaphase : Met, Anaphase : Ana, Télophase : Tel. *Les pourcentages de avec la même lettre ne présentent aucune différence significative entre eux (p > 0.05)

La diminution de l'indice mitotique indique que les plantes testées peuvent arrêter la croissance cellulaire et ils peuvent interférer dans le cycle cellulaire normal conduisant à une diminution du nombre des cellules en division (Fernandes, 2007). Selon (Sadia *et al.*, 1994), la diminution de l'indice mitotique indique un effet mitodepressif entraînant l'inhibition de l'accès cellulaire à la mitose ou l'inhibition de certaines protéines spécifiques du cycle cellulaire comme site cible des composés phytochimiques contenus dans les plantes étudiées et qui inhibent l'ADN polymérase et autres, ou un blocage dans la phase G2 du cycle cellulaire. Ceci s'explique par un effet antimitotique. Par conséquent, cela peut être dû à la diminution du niveau d'ATP ou à la suppression de la production d'énergie (Fernandes, 2007). Il a été reporté dans plusieurs études que *A. gummifera* contient un composé hautement toxique qui est l'atractyloside. Il s'agit d'un hétéroglucoside diterpénique à structure kaurène dont le mécanisme d'action est une inhibition de la phosphorylation oxydative, au niveau du complexe ATP/ADP translocase, qui empêche la formation d'ATP et

ainsi la production de l'énergie (Obatomi DK., 1998 ; Larabi I. A. *et al.*, 2012). Ces données supportent nos hypothèses et nous donnent une idée sur le mécanisme possible de génotoxicité due à cette plante, bien que toxique reste très utilisée par la population Algérienne. D'une autre part, *Z.cornutum* est connue par sa richesse en dérivés flavonoïques : saponines, alcaloïdes et tanins (Boumaza A. *et al.*, 2016). Ces composés sont reportés dans différentes études d'avoir des effets antimitotique et génotoxiques (Grover I *et al.*, 1999 ; Khakdan *et al.*, 2015 ; Atoyebi *et al.*, 2015).

La suppression de l'activité mitotique est souvent utilisée pour évaluer la cytotoxicité. L'action mitodepressive sur la division cellulaire peut être la cause de la réduction de l'indice mitotique dans les racines de *A. cepa* (Mesi *et al.*, 2013). Lorsque les fréquences des phases mitotiques à différentes concentrations des plantes ont été comparées au groupe témoin, des résultats statistiquement significatifs sont observés. La dépression mitotique peut être due à l'inhibition de la synthèse de l'ADN et de la formation des microtubules ou de l'arrêt du cycle de 24 h d'*A. cepa* dans les phases G1 et G2. Les enzymes cibles potentielles qui méditent ces processus biologiques comprennent l'ADN polymérase, l'ADN gyrase, l'ARN polymérase et les kinases. En général, la fréquence de Met, Ana et Tel a été diminuée par rapport au témoin et de manière dose-dépendante alors qu'il y a augmentation de la phase Int-Pro. Cela peut indiquer que ces plantes influencent la séquence de la division mitotique. Ils peuvent être considérés comme inhibiteurs pré-métaphase. Les résultats des taux des aberrations chromosomiques dans les cellules méristématiques racinaires d'*A. cepa*, après traitement avec différentes concentrations des plantes pendant 48 h sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3: Taux des Aberrations Chromosomiques Totales (ACT) dans les cellules méristématiques racinaire d'*A. cepa* traités par *Z. cornutum* et *A. gummifera*

Plantes	Concentration (mg/ml)	Moyenne des ACT (%) ± SD	
<i>Z. cornutum</i>	Contrôle-48h	0	2.52 ± 0.68c
		6	3,85 ± 0.34b
		10	5,25 ± 0.56a
		12	6,87 ± 0.93a
<i>A. gummifera</i>	Contrôle-48h	0	2.52 ± 0.68d
		2	13.81 ± 2.13c
		6	32.35 ± 3.76b
		12	48.67 ± 4.23a

*Les pourcentages avec la même lettre ne présentent aucune différence significative entre eux (p >0.05)

On note une augmentation significative des AC avec toutes les concentrations testées par rapport au contrôle. Cette augmentation était dépendante de la dose. Les types d'anomalies observées étaient les fragmentations (qui semblent être le type le plus fréquent), les ponts, les C-mitosis, les laggards et les stickiness, les anaphase avec chromosome perte, Lésions nucléaires doubles dans une cellule binucléée, métaphase avec fragment chromosomique, C-mitose, Métaphase irrégulière, adhérence, C- anaphase, anaphase avec chromosome pause, lésions nucléaires, métaphase enchainée, vacuolisation cellulaire, anaphase collante, anaphase bipolaire, C- métaphase, anaphase multipolaire, anaphase avec chromosome mal orientés.

Selon (Türkoglu *et al.*, 2008), les ponts, les stickinesses et les fragments sont dus au dysfonctionnement de la chromatine. Les ponts entre chromosome et/ou chromatide pourraient se produire pendant la translocation d'un échange inégal de chromatides ou en raison de la présence de chromosomes dicentriques. Ces ponts provoquent des mutations chromosomiques structurelles (El-Ghamery *et al.*, 2000). D'autre part, les laggards sont considérée comme une aberration de type chromatide et attribuée à l'effet des polluants environnementaux sur la dégradation ou le déploiement de l'ADN chromosomique, sur la condensation de l'ADN et sur l'enchevêtrement des interactions entre chromosomes (El-Ghamery *et al.*, 2000). Ils sont un signe commun des effets hautement toxiques sur les chromosomes et le type irréversible qui conduisent probablement à la mort cellulaire. Les stickiness peuvent être causées par une liaison subchromatide entre chromosomes ou les chromosomes perdent leurs capacités de mouvement et se bloquent n'importe où et ne peuvent pas aller à la destination finale. Cela peut aussi être expliqué par l'adhésion physique des protéines chromosomiques. Les C-mitoses et les laggards sont dus à l'échec du fuseau chromosomique (Mesi *et al.*, 2013).

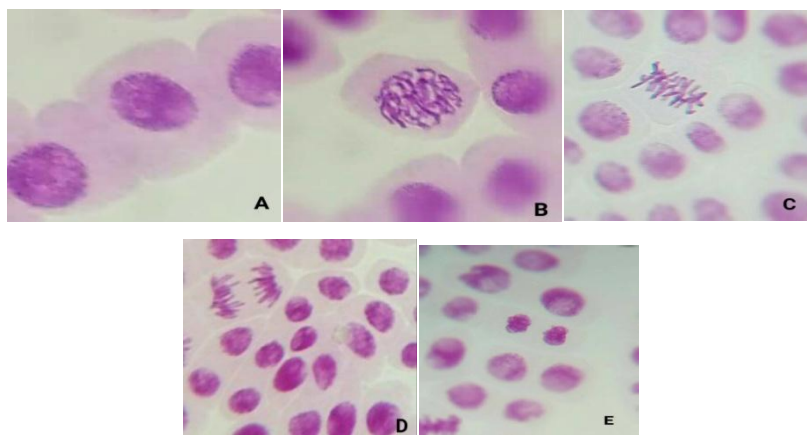
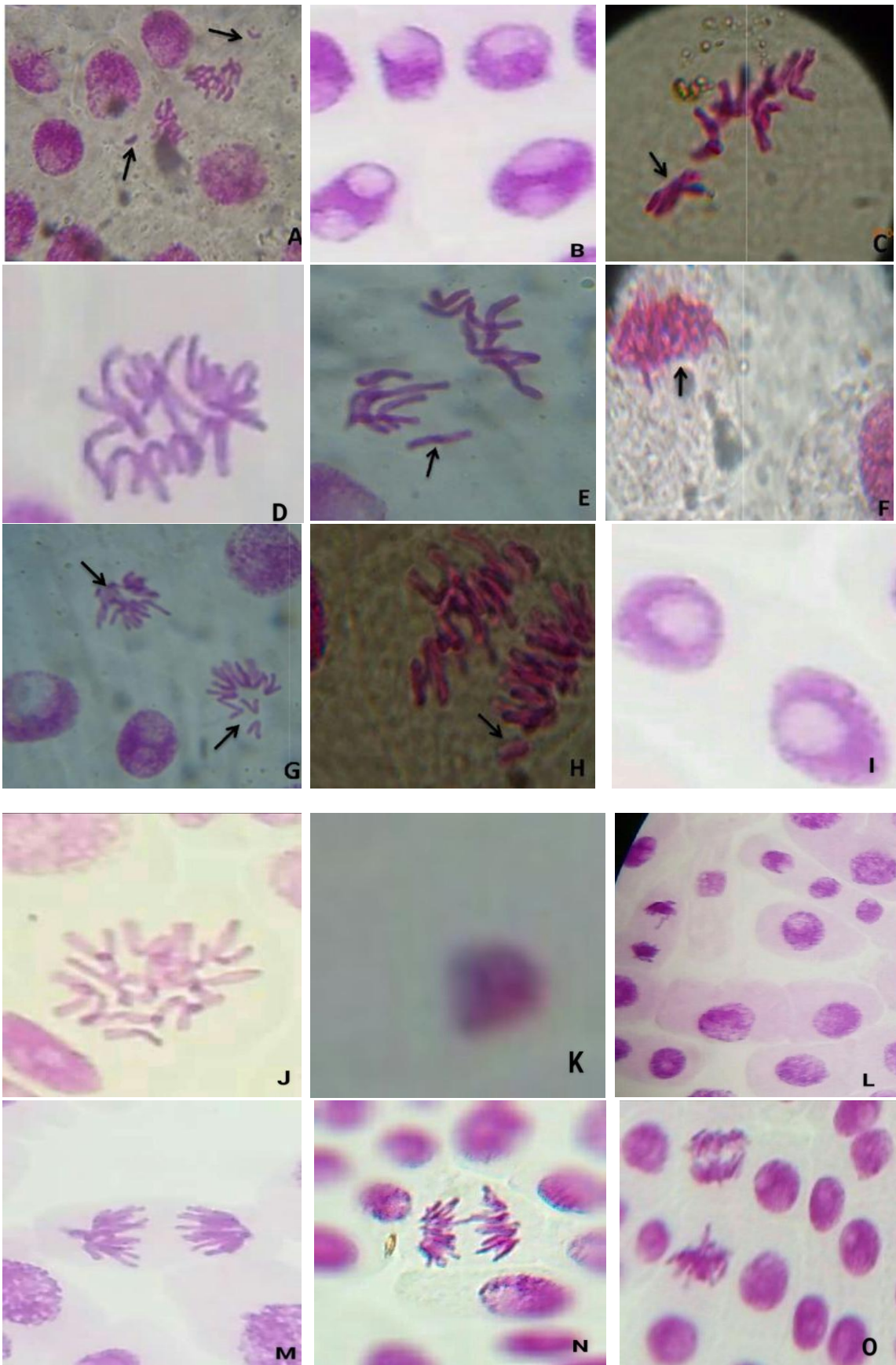


Figure.09 : les cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* en division régulière et normale : (A) interphase, (B) prophase, (C) métaphase, (D) anaphase, (E) télophase.



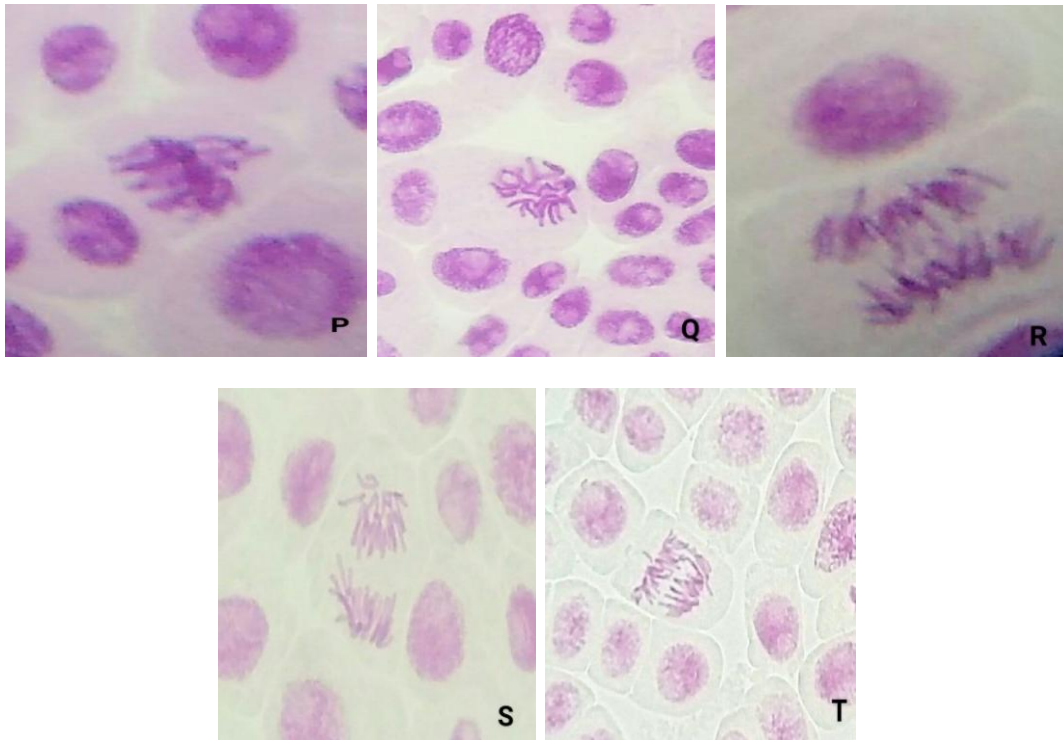


Figure. 10: Les types d'aberrations chromosomiques dans le méristème racinaire d'*Allium cepa* exposés aux *Z. cornutum* et *A. gummifera* : (A) Anaphase avec chromosome perte, (B) Lésions nucléaires doubles dans une cellule binucléée, (C) métaphase avec fragment chromosomique, (D) C-mitose, (E) Métaphase irrégulière, (F) adhérence, (G) C- anaphase, (H) anaphase avec chromosome pause, (I) lésions nucléaires, (J) métaphase enchainée, (K) Vacuolisation cellulaire, (L) laggard anormale, (M) Anaphase collante, (N) pont unique, (O) anaphase bipolaire, (P) chromosome laggard, (Q) C- métaphase, (R) anaphase multipolaire, (S) chromosome laggard, (T) anaphase avec chromosome mal orientés.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

En conclusion, les résultats présentés dans cette étude indiquent que *Z. cornutum* et *A. gummifera* ont des effets cytotoxiques et génotoxiques sur *Allium cepa*. Il faut signaler que *Z. cornutum* est moins toxique par rapport à *A. gummifera* qui a provoqué des effets toxiques plus importants même à des concentrations basses.

En général, les deux plantes ont diminué l'indice mitotique qui a toujours été accompagné par des niveaux plus élevés de l'index Int-Pro et un niveau inférieur d'index des autres phases mitotiques. Cette constatation implique que la réduction de l'IM pourrait être le résultat d'une inhibition du cycle cellulaire, ralentissant ainsi la progression par mitose. Plus de cellules ont été arrêtées à l'étape d'interphase-prophase ce qui a conduit à la réduction des vitesses de division cellulaire. La génotoxicité était évidente dans les formes des aberrations chromosomiques et mitotiques dans les cellules. Ces résultats confirment l'idée que le test *Allium cepa* sert d'excellent système de surveillance pour détecter les substances susceptibles de poser un risque génétique. Cependant, des rapports complets doivent être fournis sur les effets indésirables lors l'abus ou la mauvaise utilisation de ces plantes. En plus, d'autres tests de génotoxicité sont recommandés pour approfondir nos connaissances à propos de ces plantes et pour déterminer leurs mécanismes de toxicité exactes et leurs constituants précis qui en sont responsables.

Références bibliographiques

Ahid S., Ait El Cadi M., Meddah B., Cherrah Y. (2012). *Atractylis gummifera* L: de l'intoxication aux méthodes analytiques. *Ann Biol Clin* 2012.7 (3): 263-8.

Aït Youssef M. (2006). *Plantes médicinales de Kabylie.* Ibis Press. Paris. ISBN: 2-910728-57 9.

Akyil R., Eren D et Konuk Y. (2010). Testing of mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/Salmonella and Allium test. *Chemosphere* 80: 1056–1061.

Amal L.f., M.Y Moustafa. (2007). Phytochemical and Toxicological Studies of *Zygophyllum album*. *Journal of Pharmacology and Toxycology.* 2 (3): 220-237.

Antonsie-wiez D. (1990). Analysis of the cell cycle in the root meristem of *Allium cepa* under the influence of *Leda krin*. *Folia Histochemica and Cytobiologia.* 26, 79-96.

Atoyebis M., Oyeyemi T., Daudab A et Bakarea A. (2015). Genotoxicity and anti-genotoxicity of aqueous extracts of herbal recipes containing *Luffacylindrica* (L), *Nymphaea lotus* (L) and *Spondiasmombin* (L) using the *Allium cepa* (L) assay. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* Vol. 9(15), pp. 492-499.

Baba Aïssa F. (1999). *Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb.* Ed. Librairie Moderne-Rouiba Alger.

Bagatini MD., Fachinetto J.M., Silva A.C.F et Tedesco S.B. (2009). Cytotoxic effects of infusions (tea) of *Solidago microglossa* DC. (Asteraceae) on the cell cycle of *Allium cepa*, *Brazilian Journal of Pharmacognosy.* 19(2B): pp: 632-636. ISSN: 0102695X.

Bellakhdar J. (1997). *La pharmacopée marocaine traditionnelle: Médecine arabe ancienne et savoirs populaires.* Paris. Casablanca: Ibis Press. Editions Le Fennec. 764 p. ISBN: 2-910728-03- X.

Benhouhou S. (2005). *Institut agronomique national.* Alger (Algérie).

Bensalah N., Zaghdoudi I., Zhioua M., Hamouda C., Amamou M., Thabet H. (2001). Quelques spécialités de chez nous: Intoxications par les plantes. le chloralose et le méthanol. *Le journal officiel de l'académie américaine de la toxicologie vétérinaire et humaine.*

Berrezoug H., Berradia A. (2014). Contribution à la prise en charge des intoxications par les végétaux : aide à la diagnose des plantes toxiques de la région de Tlemcen [Mémoire pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie]. *Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.*

Bickman J.W., Smolen M.J. (1994). Somatic and heritable effects of environmental genotoxins and the emergence of evolutionary toxicology. *Environmental Health Perspectives.* 102. 2528.

Boumazza A., Ferdi S., Sbayou H., Khelifi Touhami Fatima et Habib Belmahi and Cherifa Benlatreche M. (2016). Therapeutic Effect of *Zygophyllum cornutum* on Metabolic Disturbances, Oxidative Stress in Heart Tissue and Histological Changes in Myocardium of Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Journal of Life Sciences* 10:192-197.

Bouzidi A., Mahdeb N., Allouche L et Houcher B. (2002). Études épidémiologiques sur les plantes toxiques dans les régions de Setif et Bordj Bouarreridj. *Bulletin d'information toxicologique*.

Bruneton J. (1987). Éléments de phytochimie et de pharmacognosie. Ed. Tec. Lavoisier.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3^{ème} ed. Paris. France. 1120p.

Cabrera G.L et Rodriguez D.M.G. (1999). Genotoxicity of leachates from alandfill using three bioassays. *Mutat.Res.426* : 207-210.

Camparoto M.L., Teixeira R.O., Mantovani MS et 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. P: 85-89. ISSN 1415- 4757.

Chardon G., Viala A., Vignais P et Stanislas E. (1964). L'intoxication par le chardon à glu. *Atractylis gummifera* L. essai de traitement du chien intoxiqué par un extrait [Poisoning due to the birdlime thistle, *Atractylis Gummifera* L. Attempt at treatment of the dog poisoned by an extract]. *Thérapie*. 19:1313– 1322.

Charnot A. (1945). La Toxicologie au Maroc [Mémoires de la Société des sciences naturelles du Maroc.]. Rabat. N° 47 (vol. 826).

Digest R. (1997). Encyclopédie des plantes médicinales.

Dupond F., Guignard JL. (2007). Botanique : Systématique moléculaire. Elsevier Masson. Ed, France. 14^e édition. P : 286.

Dupont F., Guignard JL. (2015). Botanique: Les familles de plantes. 16^e édition. Elsevier Masson. 1 vol. XV-388 (Abrégés de pharmacie). ISBN: 9782294741173.

El-Ghamery AA., El-Nahas AI et Mansour MM .(2000). The action of atrazine herbicide as an inhibitor of cell division on chromosomes and nucleic acids content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytologia* 65: 277–287.

Elqaj M., Ahami A et Belghyti D. (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.

Eslava O.M. (2004). Genotoxicity tests: Usefulness in occupational health Difficulties encountered in their application to the workers medical survey. *Archives of Public Health*. 62.

71-81.

Fachineto J.M., Bagatini M.D., Silva A.C.F et Tedesco S.B. (2007). Anti-proliferative effect of infusions of *Achyrocline satureioides* on the *Allium cepa* cell cycle. 17. 1. p: 49-54. ISSN: 0102695X.

Fachineto J.M., Ourique A., Lubini G., Tedesco S.B., Silva A.C.F et Beck R.C.R. (2008). Tretinoin-loaded polymeric nanocapsules: evaluation of the potential to improve the antiproliferative activities on *Allium cepa* root-tip compared to the free drug.

Fachineto J.M., 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 15160572.

Farnsworth N.R., Akerele O., Bingel AS., Soejarto D.D et Guo Z. (1986). Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé. 64(2) : 159-164.

Fenech M. (2000). The in vitro micronucleus technique. *Mutation Research.* 455:81–9.

Fernandes TCC., Mazzeo DEC and Marin-Morales MA. (2007). Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *PesticBiochemPhysiol.* 88:252–259.

Fiskesjö G. (1985). The *Allium* test as a standard in environmental monitoring, *Hereditas* 102 99–112.

Fiskesjö G. (1993). The *Allium cepa* in wastewater monitoring. *Environ. Toxicol. Water.* 8: 291-298.

Fiskesjö. (1994) .The *Allium* Test II: Assesment 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.

Grover IS et Kaur S (1999). Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the *Allium* root anaphase aberration and micronucleus assays. *Mutat Res* 426:183-188.

Hami H., Soulaymani A., Skalli S., Mokhtari A., Sefiani H et Soulaymani R. Intoxication par *Atractylis gummifera* L. Données du centre antipoison et de pharmacovigilance du Maroc.

Hammiche V. (2013). Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. © Springer- Verlag. France, Paris.

Hamouda C., Amamou M., Thabet H., Yacoub M., Hedhili A., Bescharnia F., Ben Salah N., Zhioua M., Abdelmoumen S et El Mekki Ben Brahim N.(2000). Plant poisonings from herbal medication admitted to a Tunisian toxicologic intensive care unit. 1983-1998. *Veterinary and human toxicology* (3). 42:137.

Hamouda C., Hédhili A., Ben Salah N., Zhioua M et Amamou M. (2004). A review of acute poisoning from *Atractylis gummifera* L. *Vet Hum Toxicol* .46(3): 144-6.

Hani A.M.E., Shaker K.H., Pollmann k et Seifert K. (1995). Triterpenoid saponins from *Zygophyllum* species. *Phytochemistry* Volvo n 4 pp:1233-1236.

Juchimiuk J., Maluszynska J. (2004). Transformed roots of *Crepis capillaris* a sensitive system for the evaluation of the clastogenicity of abiotic agents. *Mutation Research*. 565 : 129-138.

Khakdan F., Piri K et Keyhanfar M. (2015). Evaluation of Cytotoxicity and Genotoxicity of Aqueous Extract of *Althea kurdicawith Allium* test, *Bull. Env.Pharmacol. Life Sci. Vol 4* [4]80-85ISSN 2277-1808.

Knoll M.F., Silva A.C.F., Tedesco S.B et Canto Dorow T.S. (2006).Effects of *Pterocaulonpolystachyum* DC.(Asteraceae) on onion (*Allium cepa*) roottipcells.*Genet.Mol. Biol.* 29, 3. pp. 539542. ISSN 14154757.

Kuras M., Nowakowska J., Sliwinska E., Pilarski R., Ilasz R., Tykarska T., Zobel A et Gulewicz K. (2006). Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium* Test induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd). DC. *Journal of Ethnopharmacology*. 107 : 211-221.

Kwankua W., Sengsai S., Kuleung C et Euawong N. (2010). Sunlight decreased genotoxicity of azadirachtin on root tip cells of *Allium cepa* and *Eurosia bicolor*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73: 949–954.

Larabi A .,Azzouz M., Abtroun R., Reggabi M et Alamir B. (2012). Déterminations des teneurs en atractyloside dans les racines d’*Atractylis gummifera* L. provenant de six régions d’Algérie.

LarabiIslam A., Azzouz M., Abtroun R., Reggabi M et Alamir3 B. (2012). Déterminations des teneurs en atractyloside dans les racinesd’*Atractylis gummifera* L. provenant de six régions d’Algérie. *Ann Toxicol Anal.*; 24(2): 81-86.

Larrey D. (2001).Plantes médicinales :intérêt thérapeutique et risque d’hépatotoxicité. *Encycl méd chir(édition scientifique et médicales Elsevier.Paris)*.

Laughinghouse IV H.D. (2007). Efeitos citotóxicos e genotóxicos d’extratos aquosos de cepas de *Microcystis aeruginosa* (Chroococcales, Cyanobacteria).Thesis, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC. Sant Cruz do Sul. RS.

Lefranc E. (1866). Etude botanique. Chimique et toxicologique sur l'*Atractylis gummifera* L. (EI haddad des arabes). Paris. Librairie Germer- Bailliere.

Leme D.M & Marin-Morales M.A. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. Mutation Research. 682. P: 71–81. ISSN 0027-5107 4757.

Leonard A. (1990). Les mutagènes de l'environnement et leurs effets biologiques. Masson, ed. Paris. P: 306.

Levan A. (1938). The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*, Hereditas. 24. p: 471-486. ISSN 0018-0661.

Madani N., Sbaï H., Harandou M., Boujraf S., Achour S., Khatouf M et Kanjaa N. (2006). Intoxication par le chardon à glu chez une femme enceinte. La Presse Médical. 35(12):1828–1830.

Mesi A., Kopliku D., Neziri A. et Golemi S., (2013). Correlative evaluation between nickel ion concentrations doped in some riverside water bodies of Nen-Shkodra lowland and root growth of *Allium cepa* (L.). *Asian J. Chem.* 25(5). 2687-2689.

Natarajan A et Obe G. (1984). Molecular mechanisms involved in the production of chromosomal aberrations. Chromosoma. 90: 120-127.

Obatomi DK. (1998). Biochemistry and toxicology of the diterpenoid glycoside. Atractyloside. Food ChemToxicol. 36: 335–346.

Olliviers H.R. (1948). Etude cytotoxicologiques de l'influence de divers agents physiques et chimiques sur les plantules de Blé. Rev. Cand. Biol. 7 :35-159. In Deysson G.1956.

Ortega M.I. (2004). Test cytogénétiques : utilité en médecine du travail Difficulté lors de son application à la surveillance des travailleurs. Politique Scientifique Journée d'étude. ITUH-Bruxelles.

Ozenda P. (1977). Flore du Sahara. 2ème édition (Ed du Centre National de la Recherche Scientifique). Paris. 318-320.

Ozmen A., Summer S. (2004). Cytogenetic effects of kernel extracts from *Meliaazedarach*L., *Caryologia.* 57. pp. 290–293.

Pinto Da Cunha M., Geubel A. (2002). Phytothérapie et hépatotoxicité. Louvain médical" - Vol. 121. No: 10. P: 407-414.

Rank J. (2003). The method of *Allium* anaphase–telophase chromosome aberration assay. Ekologija, 38–42.

Saxena PN., Chauhan LK et Gupta SK. (2005). Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: spectroscopic basis of chromosome damage. *Toxicology*. Dec 15; 216(2-3):244-52.

Sehgal R., Roy S et 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. 913. ISSN 16675746.

Skalli S., Alaoui I., Pineau A., Zaid A et Soulaymani R. (2002). L'intoxication par le chardon à glu (*Atractylis gummifera* L). À propos d'un cas clinique [Revue Santé publique].

Türkoğlu Ş. (2012). Determination of genotoxic effects of chlorfenvinphos and fenbuconazole in *Allium cepa* root cells by mitotic activity, chromosome aberration, DNA content, and comet assay. *PesticBiochemPhysiol* 103: 224-230.

Wierzbicka M. (1988). Mitotic disturbances induced by low doses of inorganic lead. *Caryologia*, 41: 143-163.

Yıldız M., Ciğerci İH., Konuk M., FatihFidan A et 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.

Young R. (2002). Genetic toxicology. Web resources. *Toxicology*.173:103– 121.

Zaka R., Chenal C et Misset M.T. (2002). Study of external low irradiation dose effects on induction of chromosome aberrations in *Pisum sativum* root tip meristem. *Mutat. Res*. 517: 87-99.

Annexe

I. Préparation du HCL 1N à partir de l'HCl 12.236 N:

- Mesurer un volume de 8.1726 ml HCl,
- Mettre dans un bécher 20 ml de l'H₂O distillée (H₂O_d)
- Ajouter 8.1726 ml HCl.
- Compléter le volume restant avec de l'H₂O distillée pour avoir 100 ml HCL 1N.
- Conserver dans un flacon à 4°C.

II. Préparation du Feulgen :

- 0.25 g fushine basique.
- 80 ml H₂O_d bouillante (à 100°C).
- Refroidissement 10 min (50°C).
- Ajouter 5 ml de 1N HCl et agiter.
- Ajouter 0.5 g K₂S₂O₄ et agiter avec l'agitateur.
- Conserver dans un flacon sombre pendant une nuit à 4°C.
- Filtrer à l'obscurité à travers du papier filtre puis reconcevez dans un flacon sombre pour 15 à 20 jours au maximum.

III. Préparation de l'eau synthétique :

- MgSO₄, 60 mg /l.
- NaHCO₃, 96 mg /l.
- KCL, 4 mg/l.
- CaSO₄, 60 mg /l (Agitation avec la chaleur 45°C).
- mesurer les produits.
- mètre les produits dans un bécher avec l'eau distillée.
- Agiter 10 min.
- Mètre la solution dans une éprouvette graduée puis compléter le volume à 1000 ml avec de H₂O_d.