

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
Département de : Biologie



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

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

Thème

Effet génotoxique de l'herbicide «Roundup TURBO» « *Allium cepa* test »

Présenté par :

BOUDJAHM Roumayssa

DJAMA Mounira

DOGHMANE Mayssa

Devant le jury composé de :

| | | | |
|-------------|----------------|-------|----------------------|
| Président : | Mr. BAALI S. | M.A.A | Université de Guelma |
| Examineur : | Dr. TABET M. | M.A.B | Université de Guelma |
| Encadreur : | Dr. BOUMAZA. A | M.C.B | Université de Guelma |

Septembre 2020

REMERCIEMENT

Avant tout, nous tenons à remercier «Allah» le tous puissant, pour nous avoir donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

*Nos remerciements et notre respect à **Baali Salim** pour avoir accepté la présidence du jury de ce mémoire. Que vous soyez assurée de nos entières reconnaissances.*

*On exprime notre profonde gratitude à Mme **Boumaaza Awatif** (M.A.B. université de Guelma) qui nous a fait l'honneur d'avoir veillé et diriger ce travail. Nous avons eu le privilège de bénéficier de son enseignement, de sa disponibilité, sa patience et de ses conseils pertinents.*

*Nous exprimons également notre remerciement au membre du jury **Tabet Mouna***

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

*Nos vifs remerciements s'adressent aussi à Mme **Khallef Messaouda** (M.C.B. Université de Guelma) pour son soutien, son aide et ses précieux conseils.*

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.

Merci

Dédicace

*À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, celui qui
s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi*

*mon père **EL-HADI***

*À maman DJAMAÀ pour son amour, et qu'elle m'a
toujours accordé en témoignage de ma
reconnaissance envers sa confiance ses sacrifices et
sa tendresse*

*À mes chers frères **LAZHER, HOUSSEM, ALI,
FATEH***

À mes chères sœurs, ses maris et ses enfants

*:**FATIMA, AMEL, SAIDA, HAYET***

*Aucun mot, ni aucun signe ne pourront décrire votre
implication dans mon épanouissement, je vous
remercie pour tout le soutien, l'encouragement, et
l'amour*

*À mes nièce : **AYA et HIND***

Source de joie et de bonheur

À tous mes amis et mes camarades

***MAISSA**, Pour sa patience, son soutien et ses
efforts dans la réalisation de ce travail, Je suis
reconnaissant de vous avoir avec moi, **AYMEN**,
merci énormément pour ton aide plus que précieux*

*À ma tante **AICHA***

Merci pour vos efforts pendant tous ces jours

*À tous gens qui m'ont aidé de près ou de loin
accomplir ce travail*

MOUNIRA

Dédicace

A l'âme de mon père :

*Ce travail est dédié à mon père **FARID** qui décédé trop tôt voilà 21 ans qui s'il était avec nous serait resté à mes côtés, m'encouragé et était fier de moi.*

J'espère que, du monde qui est sien maintenant il apprécie cet humble geste comme preuve de l'amour de de la part d'une fillette qui a toujours priée pour être fier d'elle.

A ma mère

Aucune dédicace ne serait exprimée mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

*Je vous remercie maman **AICHA** pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours, Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de votre innombrable sacrifices, puisse dieu le très haut vous accorder la santé, bonheur et longue vie.*

A mon Mari

*À l'homme de ma vie, celui qui 'est toujours avec moi pour me voir réussir. À mon soutien de joie et mon bonheur, mon mari **ABD EL KADER** pour l'encouragement et l'aide qu'il m'a toujours accordé.*

*A mon adorable famille et surtout **MARWA**, merci pour leur amour et encouragement.*

*A mon binôme **MOUNIRA** et sa famille pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail.*

*A mes amis **MERIEM, MARWA ET KARIMA** et **IMEN***

MAYSSA

Dédicace

*En premier lieu je remercie **Allah** le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.*

*Je dédié ce modeste travail a les deux êtres qui m'ont donné la vie, qui mon vu grandir, qui m'ont transmis tout le savoir et qui était pour moi une cour veillant pendant toute ma vie, les deux que je ne pourrais jamais assez remercie, à ma mère **Razika** et mon père **Abd elhak** que dieu vous procure bonne santé et longue vie.*

*A mon frère **Nadjib** et à mes sœurs **Imène** et la petite rose **Nour** pour leurs soutiens moral et leurs encouragement.*

A toute ma famille grande et petite.

*A la mémoire de mon grand-père **Mohammed** et ma grand-mère **Teldja**.*

A tous mes collègues et mes amies. A tous ceux que j'ai connus et aimés.

Enfin a tout qui mon aidée de loin ou de prés pour réaliser ce modeste travail je vous dis merci.

Roumayssa

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumés

INTRODUCTION 1

Partie Bibliographique

Chapitre 1 : Les pesticides

1.Définition 3

2.Composition et formulation 4

2.1.Composition 4

2.2.Formulation 4

2.2.1.Formulation solide 4

2.2.2Formulations liquides 5

3.Classifications des pesticides 6

3.1.Classification en fonction de leurs cibles d'actions 6

3.2.Classification selon la nature chimique 7

3.2.2.Pesticides inorganiques 8

4.Le pesticide Roundup 9

5.Définition de glyphosate 9

6.Les propriétés physico chimiques 9

7.Devenir de glyphosate dans l'environnement 10

7.1Le sol 10

7.1.1L'adsorption de glyphosate 10

7.1.2La désorption de glyphosate 11

7.1.3La dégradation de glyphosate 11

7.2L'eau 12

7.3La végétation 12

8.Mode D'action De Glyphosate 12

Chapitre 2 : La génotoxicité.

1.Définitions 14

2.Les mutations 14

2.1Mutation germinale 14

2.2.Mutations géniques 15

| | |
|--|----|
| 2.3.Mutation chromosomique | 15 |
| 3.Le lien entre mutagenèse et cancérogènes | 16 |
| 4.Les tests de la génotoxicité | 17 |
| 4.2.Le test des comètes | 18 |
| 4.3.Le test des micronoyaux | 19 |
| 4.4.Test des aberrations chromosomiques | 20 |
| 4.5.Test d'échange de chromatides sœurs | 21 |
| 4.6.Le test d' <i>Allium cepa</i> | 22 |

Partie Expérimentale

Chapitre 1: Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| I.Matériel et méthodes | 24 |
| 1.Matériel biologique | 24 |
| 1.1. <i>Allium cepa</i> et conditions de croissance | 24 |
| 1.2.Produits chimiques | 24 |
| 2.Méthodes | 25 |
| 2.1Préparation du pesticide testé | 25 |
| 2.2.Détermination de la CE50 | 25 |
| 2.3.Indices mitotique et le test d'aberration chromosomiques | 25 |
| 2.4.Observation microscopique et analyse | 25 |
| 2.5.L'analyse statistique | 26 |

Chapitre 2 : Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| II.Résultats et discussion | 27 |
| 1.Test d'inhibition de l'élongation racinaire | 27 |
| 2.L'index mitotique | 30 |
| 3.Test d'aberrations chromosomique | 33 |
| Conclusion | 42 |
| Références bibliographiques : | 44 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1: les formulations solides | 5 |
| Figure 2: les formulation liquide..... | 5 |
| Figure 3: Le devenir du glyphosate dans le sol..... | 11 |
| Figure 4: Mécanisme d'action du glyphosate : inhibition de la 5énolpyruvylshikimate-3phosphate synthétas..... | 13 |
| Figure 5: Les différents types des mutations géniques. | 15 |
| Figure 6: Les différents types de la mutation chromosomique | 16 |
| Figure 7: principe d'application de test d'Ames | 18 |
| Figure 8: Différent degré d'altération primaire de l'ADN : test des comètes..... | 19 |
| Figure 9: le principe de test des micronoyaux | 20 |
| Figure 10: les différentes formes d'aberrations chromosomiques | 21 |
| Figure 11: Principe de l'incorporation de BrdU durant la culture cellulaire destinée à la mise en évidence des ÉCS | 21 |
| Figure 12: Formule chimique du glyphosate et les sels de potassium du glyphosate | 24 |
| Figure 13: Moyennes de croissance spécifique des racines d' <i>Allium cepa</i> exposées au glyphosate (Roundup TM) par rapport au contrôle | 27 |
| Figure 14: Longueurs moyennes des racines d' <i>Alluim. Cepa</i> cultivées à des concentrations variables du pesticide et du contrôle. | 28 |
| Figure 15: Les effets des traitements au glyphosate isopropylamine sur l'activité mitotique des cellules de bout de racine d' <i>A. Cepa L.</i> après 24 h et 48 h. | 32 |
| Figure 16: Les effets du glyphosate sur la mitose des cellules de l'extrémité des racines d' <i>Allium cepa.</i> | 35 |
| Figure 17: Anomalies chromosomiques produites par Round up dans les pointes des racines de <i>Vicia faba.</i> | 38 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1: quelques structures chimiques caractéristiques de certaines familles des pesticides | 7 |
| Tableau 2: Caractéristiques physico chimiques du glyphosate | 10 |
| Tableau 3: Nature des effets détectés par les principaux tests de génotoxicité | 17 |
| Tableau 4: Classification systématique de l'Oignon (Allium cepa) | 22 |
| Tableau 5: Effet de diverses doses de glyphosate sur la longueur des racines d'A. Cepa | 29 |
| Tableau 6: L'effet du glyphosate et Roundup dans l'Allium cepa. | 30 |
| Tableau 7: Indice mitotique (IM) des cellules de l'extrémité des racines d'Allium cepa | 31 |
| Tableau 8: Index mitotiques des cellules des extrémités des racines d'Allium cepa, exposées à différentes concentrations de glyphosate..... | 32 |
| Tableau 9: La fréquence des aberrations chromosomiques (ACs) induites par diverses doses de glyphosate, dans les cellules de l'extrémité des racines d'A. cepa. | 34 |
| Tableau 10: La fréquence des aberrations chromosomiques (ACs) induites par glyphosate isopropylamine et Roundup dans les cellules de l'extrémité des racines d'A. cepa | 36 |
| Tableau 11: Fréquence des aberrations chromosomiques et des cellules hyperploïdes dans les méristèmes radiculaires de C. capillaris après traitement avec les herbicides Roundup | 37 |

Liste des abréviations

AC : aberration chromosomique

ADN : acide désoxyribonucléique

ALPHYT : Algérienne des phytosanitaires

AMPA : Acide Amino Méthyl Phosphonique

AMI : indice mitotique de l'anaphase

ARN : Acide ribonucléique

A549 : cellules épithéliales basales alvéolaires humaines adénocarcinomiques

BrdU : de bromodésoxyuridine

CE50 : la concentration efficace médiane

DL50 : Dose Létale 50 ; c'est la quantité d'une matière, administrée en une seule fois, qui cause la mort de 50 % d'un groupe d'animaux

DPVCT : La Direction de la Protection des Végétaux et du Contrôle Technique

DT : temps de demi-vie

EPSP : Enol Pyruvyl Shikimate Phosphate Synthétase

ESC : les échanges de chromatide sœurs

FPG : Technique fluorescence - photolyse – Giemsa

GM : cultures génétiquement modifié

GMI : indice mitotique générale

HAP : Les hydrocarbures aromatiques polycycliques

HBG : herbicides à base de glyphosate

HIS- : la bactérie auxotrophes d'acide aminé histidine

HIS+ : la bactérie phototrophe d'acide aminé histidine

HPLC : chromatographie liquide haute pression

IM : index mitotique

IPA : isopropylamine

JEG3 : les cellules de Lignée du choriocarcinome humain

MA : Matière active

MMI : indice mitotique de la métaphase

MMS : méthyle methanesulfonate

MN : Micronoyaux

PEP : phosphoenolpyruvate

PMI : indice mitotique de la prophase

PNUE : Programme des Nations unies pour l'environnement

Ppm : partie par million

ROS : Les espèces réactives de l'oxygène

S3P : shikimate-3-phosphate

TDAH : trouble de déficit de l'attention

TMI : indice mitotique de la télophase

USEPA : United States Environmental Protection Agency

UV : ultra violé

Résumé

Le but du présent travail était d'évaluer les effets toxiques et génotoxiques de l'herbicide « Roundup TURBO » par l'exploitation du test d'*Allium cepa*. En raison des circonstances actuelles (la pandémie du virus corona « Covid-19 »), nous n'avons pas pu achever le travail. Nous avons décrit la démarche expérimentale suivie lors de la réalisation de notre étude, puis nous avons présenté et discuté les données et les résultats de quelques recherches précédentes réalisées et publiées par différents chercheurs.

Selon ces études, Roundup a montré un effet cytotoxique et génotoxique remarquable au niveau des cellules méristématiques racinaires chez les plantes utilisées comme système de test *in vivo*. On conclut que l'utilisation non contrôlée de cet herbicide présente un risque potentiel non seulement sur les plantes traitées mais aussi sur une variété d'organismes y compris l'être humain.

Mots clés : Roundup, génotoxicité, *Allium cepa* test

Abstract

The aim of this work was to evaluate the toxic and genotoxic effects of the herbicide "Roundup TURBO" using the *Allium cepa* test. Due to the current circumstances (the corona virus Covid-19 pandemic), we were unable to complete this work. We described the experimental approach followed during the realization of our study, then we presented and discussed the data and the results of some previous researches carried out and published by different researchers.

According to these studies, Roundup showed a remarkable cytotoxic and genotoxic effect at the root of meristematic cells in the plants used as an *in vivo* test system. It is concluded that the uncontrolled use of this herbicide presents a potential risk not only for treated plants but also to a variety of organisms including humans.

Key words: Roundup, genotoxicity, *Allium cepa* test

المخلص

كان الهدف من هذا العمل هو تقييم التأثيرات السامة والسمية الجينية لمبيد الأعشاب "Roundup TURBO" من خلال استغلال اختبار *Allium cepa*. لكن نظرًا للظروف الحالية أي وباء كورونا Covid-19، لم تتمكن من إكمال العمل. وصفنا المنهج التجريبي المتبع أثناء تحقيق دراستنا، ثم عرضنا وناقشنا بيانات ونتائج بعض الأبحاث السابقة التي أجراها ونشرها باحثون مختلفون. وفقًا لهذه الدراسات، أظهر Roundup عن وجود تأثير سام للخلايا وسمية جينية ملحوظة على مستوى الخلايا الإنشائية الجذرية في النباتات المستخدمة كنظام اختبار في الجسم الحي. وخلص إلى أن الاستخدام الغير منضبط لمبيدات الأعشاب يمثل خطرًا محتملاً ليس فقط على النباتات المعالجة ولكن أيضًا على مجموعة متنوعة من الكائنات الحية بما في ذلك البشر

الكلمات المفتاحية: Roundup، السمية الجينية، اختبار *Allium cepa*

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Pendant des siècles, la lutte contre les organismes responsables de dégâts sur les cultures était réalisée à l'aide de compositions très diverses, à base de cendres de bois, de sciure, d'eau de chaux ou de décoctions de plantes...etc. De nos jours, ces anciennes méthodes d'élimination des nuisibles ont été abandonnées au profit des produits phytosanitaires **(Dominique Munaron,2004)**.

Les produits phytosanitaires sont des substances chimiques qui contribuent de façon nécessaire et souvent indispensable à la protection, à la régularité et à la qualité de la production agricoles **(Moussaoui, 2010)**.

En Algérie, l'usage des insecticides, de fertilisants, des engrais, des détergents et d'autres produits phytosanitaires se répand de plus en plus avec le développement de l'agriculture, mais aussi dans le cadre des actions de lutte contre les vecteurs nuisibles Ces divers types de traitements par les pesticides se font généralement pour parer à l'urgence, mais sans souci aucun des conséquences environnementales directes et des conséquences sanitaires sur le long terme liées aux infiltrations de ces substances non dégradables dans les sols, dans les sources et les nappes, puis vers les écosystèmes: les végétaux, les animaux et nécessairement l'homme **(Bouziani, 2007)**.

Les herbicides ont été introduits dans l'agriculture (et l'horticulture) principalement pour lutter contre les mauvaises herbes qui rivalisent avec les cultures pour les nutriments et la lumière du soleil, ce qui entraîne une baisse du rendement et de la qualité des cultures **(Derpsch, 1998)**.

Le glyphosate est un moyen efficace de lutte contre toutes les mauvaises herbes, même les plus vivaces. L'utilisation de dés herbants à base de glyphosate s'est généralisée dans le monde du fait des multiples avantages présentés par cette substance active pour lutter contre les adventices présents dans une large gamme de rotations de cultures. Mais cette utilisation n'est pas sans conséquences sur la santé des agriculteurs et des consommateurs ainsi que sur l'environnement. Les conséquences environnementales concernent notamment le sol, l'eau, les produits agricoles destinés à la consommation qui peuvent aussi être contaminés par le glyphosate **(brahimi et najeh,2017)**.

La plupart des pesticides sont faits à partir d'un amalgame de substances chimiques, dont beaucoup sont toxiques, même seules. Connaître le type de formulation peut également être important pour déterminer la toxicité d'un produit.

Roundup est un pesticide fréquemment utilisé en Algérie, a fait l'objet de la présente étude. Le but était d'étudier la toxicité et la génotoxicité du Roundup en utilisant *Allium cepa* comme modèle expérimental.

Malheureusement, cette étude n'a pas été achevée à cause des conditions imposées par la pandémie du Corona virus. Nous avons juste préparé les échantillons du pesticide et mis au point le test d'*Allium cepa* dans un essai primaire avant de lancer l'essai principal. Pour les raisons suscitées, nous allons présenter en résumé et discuter des résultats de certaines études similaires portant sur la toxicité et la génotoxicité du Roundup et/ou son principe actif : le glyphosate

Ce mémoire s'organise en deux parties, une synthèse bibliographique décrivant le cadre scientifique dans lequel s'inscrit ce travail, en commençant par une présentation des pesticides, puis la toxicité en générale et les tests de génotoxicité utilisés.

La deuxième partie décrit le travail expérimental qui a été envisagé en premier pour la réalisation de notre étude, et présente la discussion des résultats de quelques études antérieures publiées portant sur l'évaluation de l'effet génotoxique de Roundup ou du glyphosate.

Partie Bibliographique

Chapitre 1 : Les pesticides

Les pesticides sont devenus omniprésents dans notre société moderne. Leur développement a contribué à améliorer la qualité de vie, mais il a aussi fait naître de nouveaux dangers.

Dans notre pays, l'usage des insecticides, des fertilisants, des engrais, des détergents et autres produits phytosanitaires se répand de plus en plus avec le développement de l'agriculture, mais aussi dans le cadre des actions de lutte contre les vecteurs nuisibles.

La fabrication des pesticides en Algérie a été assurée par des entités autonomes de gestion des pesticides : Asmidal (Moubydal). Mais avec l'économie du marché actuelle, plusieurs entreprises se sont spécialisées dans l'importation d'insecticides et divers produits apparentés. Environ 400 produits phytosanitaires sont homologués en Algérie, dont une quarantaine de variétés sont largement utilisées par les agriculteurs. L'Algérie utilise 6000 à 10000 T/an de pesticides, ce qui fait de l'Algérie un grand consommateur de pesticides (**Bouziane, 2007**). En effet, selon les données de l'Union des Industries de la Protection des Plantes (UIPP, 2009) et de la FOASTAT (2014), le marché algérien des pesticides représente 6,09 % du marché africain, qui, à son tour, représente 4,14% du marché mondial. (**Belhadi et al., 2015**).

1. Définition

Le terme de 'pesticide' est utilisé pour désigner les produits chimiques agricoles utilisés à des fins phytosanitaires. Un pesticide est une substance qui est sensée prévenir, détruire, repousser ou contrôler tout ravageur animal et toute maladie causée par des microorganismes ou encore des mauvaises herbes indésirables. Les pesticides peuvent agir sur les ravageurs et sur les micro-organismes par le contact direct, l'ingestion ou par d'autres sortes d'exposition effective pendant les phases de croissance.

Certains pesticides sont utilisés pour tuer des insectes qui nuisent aux humains, par ex. des moustiques, ou sont administrés aux animaux pour lutter contre les parasites externes (les ectoparasitocides), par ex. les tiques. Exclusion est également faite des produits chimiques agricoles qui agissent sur les processus de vie des plantes tels que les régulateurs de croissance, les défoliants, les dessiccants, les agents qui réduisent la mise à fruits, les inhibiteurs de pousses ou les préservateurs de bois (**Boland et Florjin, 2004**).

2. Composition et formulation

2.1. Composition

Les pesticides ou « produits phytosanitaires » sont des préparations contenant une ou plusieurs substances actives (produit chimique toxique) Cependant la composition d'une formulation pesticide ne se limite pas qu'à (aux) la (les) matière (s) active (s), elle comprend également.

- *Un solvant* qui est un produit chimique utilisé pour dissoudre la ou les Matière (s) active (s) (MA) pour les rendre liquides, il peut être lui-même toxique et a sa propre classification de risque, par exemple, le toluène et le xylène .
- *Un surfactant* qui est l'abréviation d'agent actif de surface, appelée aussi humecteur, épandeur et collant dont le rôle est d'augmenter l'émulsion, la diffusion et les propriétés humectantes des formulations liquides pour permettre au pesticide de coller aux parasites ou de s'étendre de manière plus uniforme sur les feuilles et les surfaces de la plante.
- *Un adjuvant* qui est un produit chimique ajouté à un pesticide pour en accroître l'efficacité, Il n'est actif qu'en présence des MA des pesticides.
- *Un vecteur* qui est un solide inerte utilisé pour diluer la MA du pesticide pour en faciliter l'application.
- *Des coloris et des marqueurs olfactifs* qui donnent au pesticide une odeur ou un goût désagréable pour réduire les risques d'ingestion du produit par accident ; Des colorants sont également utilisés pour enrober les semences, afin de faire la distinction entre les semences traitées et non traitées ; Les granules sont parfois colorés afin de les rendre visibles sur le sol pour pouvoir mieux contrôler et corriger les taux d'application et de propagation. **(Bettiche, 2016).**

2.2. Formulation

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

2.2.1. Formulation solide

La formulation solide peut être divisée en deux types : prête à l'emploi et concentrée qui doit être mélangée avec de l'eau pour être appliquée.

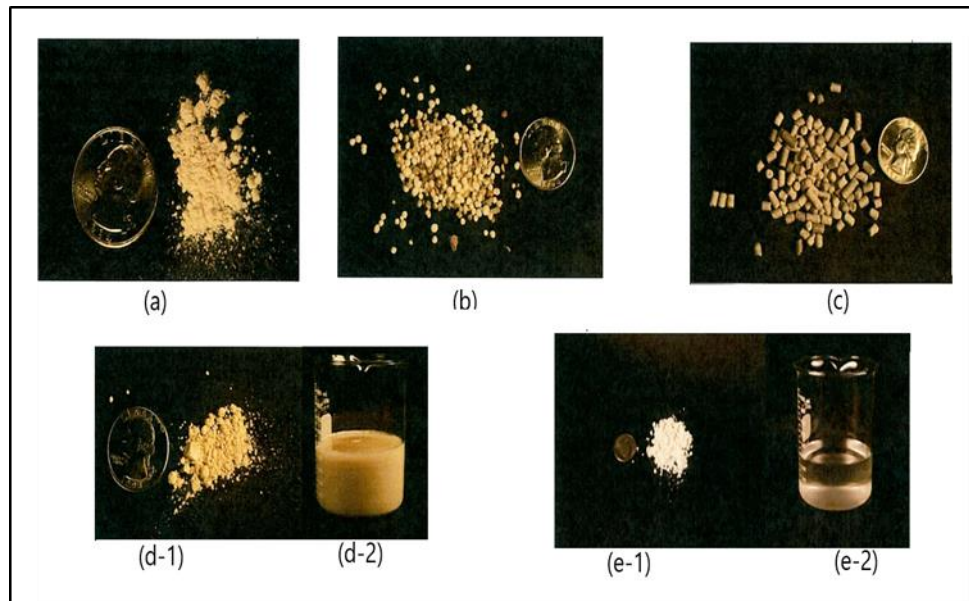


Figure 1: les formulations solides (Martin *et al.*, 2016).

(a) : poussière, (b) : granulés, (c) : granulés, (d-1) Poudres mouillables avant le mélange, (d-2), Poudres mouillables après le mélange (e-1) : Granulés dispersibles dans l'eau avant le mélange (e-2) : Granulés dispersibles dans l'eau après le mélange.

2.2.2 Formulations liquides

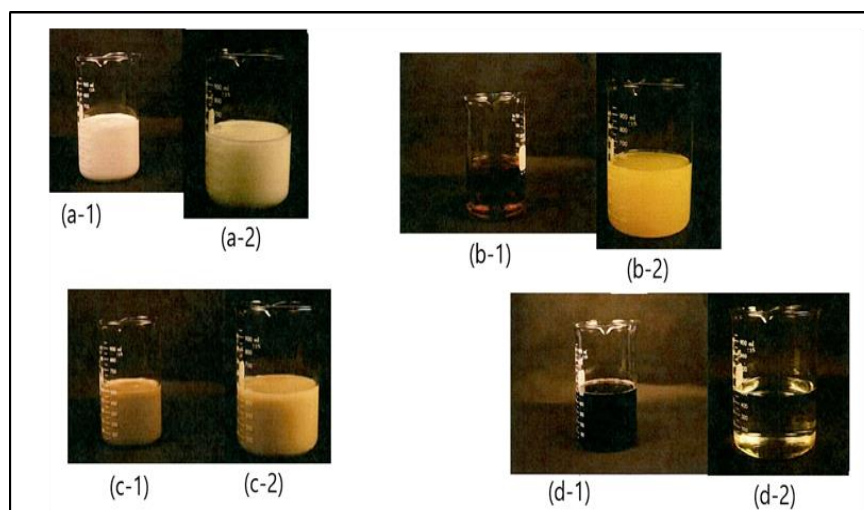


Figure 2: les formulation liquide (Martin *et al.*, 2016).

(a-1) : liquide fluide avant le mélange, (a-2) : liquide fluide après le mélange, (b-1) : microencapsulé avant le mélange, (b-2) : microencapsulé après le mélange, (c-1) Concentrés émulsifiables avant le mélange, (c-2) Concentrés émulsifiables après le mélange, (d-1) solutin avant le mélange, (d-2) solution après le mélange.

Les quatre formulations liquides courantes sont mélangées à un support suivent généralement de l'eau, mais dans certains cas, les étiquettes peuvent autoriser l'utilisation d'huile végétale, de carburant diesel, de kérosène ou d'un autre mazout léger comme support (Scott *et al.*, 2007).

3. Classifications des pesticides

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe. D'une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose.

3.1. Classification en fonction de leurs cibles d'actions

3.1.1. Les insecticides

Sont utilisés pour lutter contre les insectes. Ils interviennent en les éliminant ou en empêchant leur reproduction. Les différents types des insecticides sont les neurotoxiques, les régulateurs de croissance et ceux qui agissent sur la respiration cellulaire (El fadil , 2016).

3.1.2. Les herbicides

Ils sont utilisés pour lutter contre les adventices des cultures ou « mauvaises herbes ». Ces dernières rentrent en compétition avec les plantes sur la lumière, l'eau, l'espace et les ressources nutritives (Arrabet , 2014).

Les herbicides possèdent différents modes d'actions sur les plantes, ils peuvent être des perturbateurs de la régulation d'une hormone, « l'auxine » (principale hormone agissant sur l'augmentation de la taille des cellules), de la photosynthèse ou encore des inhibiteurs de la division cellulaire, de la synthèse des lipides, de cellulose ou des acides aminés.

3.1.3. Les fongicides

Permettent quant à eux de combattre la prolifération des maladies des plantes provoquées par des champignons ou encore des bactéries. Ils peuvent agir différemment sur les plantes soit en inhibant le système respiratoire ou la division cellulaire, soit en perturbant la biosynthèse des acides aminés, des protéines ou le métabolisme des glucides. Le fongicide le plus ancien et le plus courant est le soufre et ses dérivés (la bouillie bordelaise) ainsi que le cuivre, le triazole et le benzène.

3.2. Classification selon la nature chimique

Parmi les pesticides agricoles, on peut faire la distinction entre les composés inorganiques, les produits organiques synthétisés et les biopesticides.

3.2.1. Les produits organiques

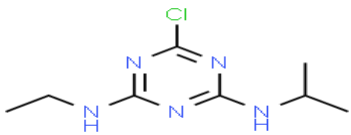
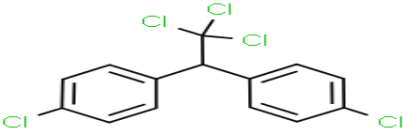
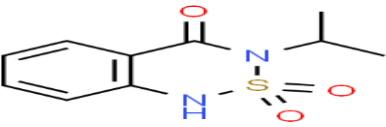
Qui sont très nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques dont il existe actuellement plus de 80 familles ou classes chimiques.

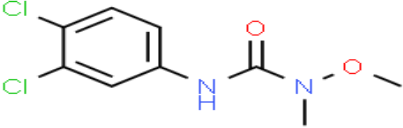
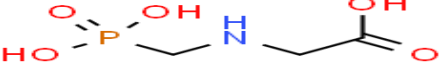
Les pesticides organiques les plus courants sont : (Calvet, 2005)

- Les organochlorés
- Les organophosphorés ;
- Les carbamates ;
- Les triazines ;
- Les urées substituées

Les structures chimiques caractéristiques de certaines familles sont présentées dans le tableau ci-dessus :

Tableau 1: quelques structures chimiques caractéristiques de certaines familles des pesticides

| Famille chimique | Exemple de pesticides |
|------------------|--|
| Triazine |  <p style="text-align: right;">Atriazine</p> |
| Organochloré |  <p style="text-align: right;">DDT</p> |
| Acides et amines |  <p style="text-align: right;">Bentazone</p> |

| | |
|-------------------------------------|---|
| <p>Les urées substituées</p> |  <p>Linuron</p> |
| <p>Organophosphoré</p> |  <p>Glyphosate</p> |

3.2.2. Pesticides inorganiques

Qui sont peu nombreux, sont des pesticides très anciens dont l'emploi est apparu bien avant le début de la chimie organique de synthèse. En général les pesticides inorganiques sont des éléments chimiques qui ne se dégradent pas. Leur utilisation entraîne souvent de graves effets toxicologiques sur l'environnement par accumulation dans les sols tel que : le plomb, l'arsenic et le mercure qui sont fort toxiques (**Boland et Florijn., 2004**)

3.2.3. Biopesticides

Les biopesticides sont des substances dérivées de plantes ou d'animaux. Elles peuvent être constituées d'organismes tels que les :

- Les moisissures ;
- Les bactéries ;
- Les virus ;
- Les nématodes ;
- Les composés chimiques dérivés de plantes ;
- Les phéromones d'insectes

4. Le pesticide Roundup

Le Roundup est un herbicide total et non sélectif produit par la compagnie Monsanto et dont la substance active principale est le glyphosate. Ce dernier est un herbicide dérivé d'un acide aminé (la glycine) découvert et breveté par les chimistes de Monsanto en 1969. Roundup est l'herbicide le plus vendu dans le monde depuis au moins 1980 (Muzaurieta,2008).

5. Définition de glyphosate

Le glyphosate [N- (phosphonométhyl) glycine], couramment vendu dans la formulation commerciale dénommée Roundup, est un herbicide fréquemment utilisé sur les terres cultivées et non cultivées du monde depuis son introduction dans les années 1970 (De Roos *et al.*, 2005).

Le glyphosate est un herbicide systémique à large spectre utilisé pour la suppression non sélective des mauvaises herbes (Chan et Mahler, 1992), agissant principalement comme un inhibiteur compétitif de l'acide 5-énolpyruvoylshikimique-3-phosphate synthase, une enzyme essentielle à la synthèse des acides aminés aromatiques chez les plantes (Li et Long, 1987).

Généralement appliqué sur les parties foliaires des mauvaises herbes, le glyphosate peut pénétrer dans les plantes par quatre voies potentielles : les feuilles ou autres tissus verts, les racines, le tronc ou les pousses émergeant de la racine ou du tronc. Après être entré dans les plantes, il est rapidement transféré vers des régions de croissance active au sein de la plante. (Kanissery *et al.*, 2019).

Il est disponible sous diverses formes chimiques, telles que le sel d'isopropylamine, le sel d'ammonium, le sel de diammonium, le sel de diméthyl ammonium et le sel de potassium (Gillezeau *et al.*, 2019), dans des concentrés solubles dans l'eau et des granules solubles dans l'eau. Les impuretés pertinentes dans les concentrés techniques de glyphosate sont le formaldéhyde, le N-nitrosoglyphosate et la N-nitroso-N-phosphonométhyl glycine. Des tensioactifs et des acides sulfurique et phosphorique peuvent être ajoutés aux formulations de glyphosate (Wayne, 2016).

6. Les propriétés physico chimiques

Le glyphosate, dérivé de la glycine, dont les caractéristiques physico-chimiques sont données dans l'encadré ci-dessous (tableau 2). C'est une molécule qui se distingue par la

présence de deux groupements acides, l'un carboxylique, l'autre phosphonique. Ceci lui confère quatre états de dissociation suivant le pH (Al rajab, 2007).

Le glyphosate est très soluble dans l'eau par rapport aux solvants organiques. Il est amphotère, selon la variation du pH il peut être porteur d'une charge positive, être globalement neutre ou porteur d'une ou plusieurs charges négatives (Labad, 2018).

Tableau 2: Caractéristiques physico chimiques du glyphosate (Labad, 2018).

- **Nom chimique :** N-(phosphonomethyl) glycine (IUPAC).
- **Famille chimique :** acide aminé.
- **Poids moléculaire :** 169,1 g/mol.
- **Forme physique :** cristaux solides sans couleur.
- **Tension de vapeur :** 13,1 μ Pa à 25 °C.
- **Point de fusion :** 200 °C.
- **Densité :** 1,74 g/ml.
- **Constante de Henry :** $4,27 \times 10^{-9}$ Pa m³ mole⁻¹ à 25°C.
- **Solubilité dans l'eau :** 10,5 g l⁻¹ à 20°C et pH de 2 ; 11,6 g l⁻¹ à 25°C.
- **Coefficient de partage octanol/eau :** log P : -3,2 à 25°C.
- **Stabilité :** -dans l'eau : DT de quelques jours à 91 jours.
- -dans le sol : DT50 3-174 jours.
- **pKa :** pKa1 0.8 ; pKa2 3 ; pKa3 6 ; pKa4 11.

7. Devenir de glyphosate dans l'environnement

7.1 Le sol

Appliqué en pulvérisation foliaire pour lutter contre les mauvaises herbes, le glyphosate peut se retrouver dans différents bassins de sol et sites non ciblés (Kanissery *et al.*, 2019).

7.1.1 L'adsorption de glyphosate

Le glyphosate perd sa phytotoxicité lorsqu'il rentre en contact avec le sol La perte d'activité est due à une forte liaison du glyphosate dans les sols (Arraj, 2017), Le mécanisme d'adsorption pourrait impliquer l'établissement de liaisons hydrogènes entre le groupement

phosphonate du glyphosate et des groupements hydroxyles de composés phénoliques contenus dans les substances humiques (Ndjouhou, 2012)

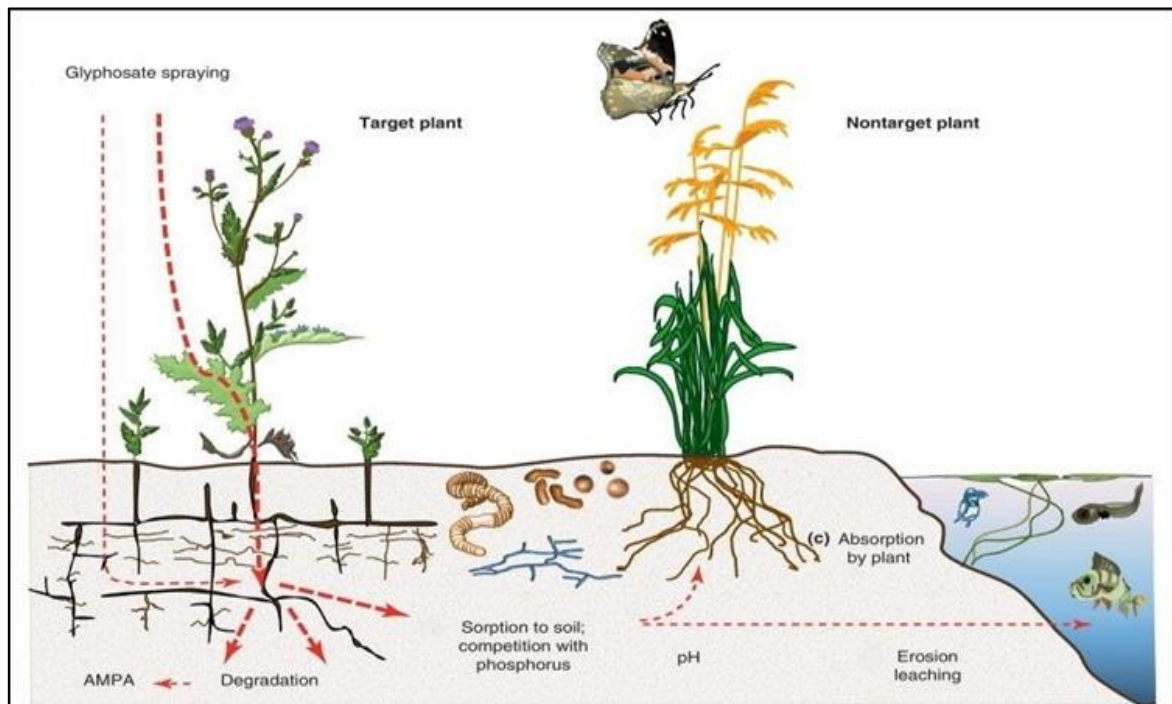


Figure 3: Le devenir du glyphosate dans le sol (Helander *et al.*, 2012)

7.1.2 La désorption de glyphosate

Le phosphate excédentaire dans les engrais et autres amendements du sol provoque la désorption du glyphosate. Si le phosphate appliqué dépasse les montants requis par les plantes, le phosphate s'accumule dans le sol et va donc occuper les sites d'adsorption de la matrice du sol en raison de sa forte adsorption dans les sols. Cela conduit à une capacité réduite à retenir le glyphosate. (Gimsing *et al.*, 2004).

7.1.3 La dégradation de glyphosate

Le glyphosate était facilement dégradé dans le sol semble être principalement microbienne (Sprankle *et al.*, 1975), le glyphosate contient une liaison C-P est considérée comme très stable et difficile à rompre chimiquement. (Rueppel *et al.*, 1977 ; Sprankle *et al.*, 1975), beaucoup de bactéries sont capables de casser pour libérer le P inorganique (Bois., 2010).

Le métabolite principal est l'acide amino-méthyl-phosphonique (AMPA). Plusieurs métabolites mineurs, ce qui représente moins de 1% de la quantité totale de glyphosate

appliqué, ont également été identifiés (acide N méthylaminométhylphosphonique, la glycine, l'acide N, N-diméthyl-amino-méthyl-phosphonique et l'acide hydroxyméthylphosphonique (**Rueppel et al., 1977**)).

7.2 L'eau

En raison de son adsorption dans le sol, Le glyphosate ne se déplace pas facilement de la plupart des sols vers les eaux souterraines ou de surface. Le glyphosate atteint les eaux de surface à travers les pluies et le ruissellement, le glyphosate et son métabolite, l'acide aminométhyl-phosphonique (AMPA), sont parmi les pesticides les plus détectés (**Laamari., 2017**) dans les ressources en eau superficielles.

7.3 La végétation

Le glyphosate qui adhère à la surface de la végétation à partir des gouttelettes de pulvérisation est soit absorbé par la plante, soit emporté par la plante vers le sol par les précipitations. Le glyphosate absorbé par les plantes est soit exsudé des racines soit lessivé des résidus végétaux (**Dukke., 2019**)

Le glyphosate seul a une mauvaise absorption dans les plantes et est donc normalement vendu sous forme de sel - les plus courants étant les sels d'isopropylamine, de trimésium, d'ammonium et de sodium, combiné à un surfactant pour faciliter sa pénétration dans les surfaces des plantes et améliorer son efficacité (**Kanissery et al., 2019**).

8. Mode d'action de Glyphosate

Le glyphosate est normalement un herbicide à action lente qui peut prendre plusieurs jours à plusieurs semaines pour tuer une plante. Il est facilement transféré des sites d'absorption (normalement le feuillage) aux puits métaboliques, tels que les méristèmes, les feuilles en développement et les organes de stockage. La plupart des plantes ne dégradent pas métaboliquement le glyphosate (**Dekker, 1995**)

Le caractère non sélectif de l'activité du glyphosate a particulièrement séduit les chercheurs et sa découverte a été suivie par de multiples études biochimiques visant à élucider le mécanisme d'action de la substance. C'est ainsi qu'en 1980, la cible du glyphosate fut identifiée ; il s'agit d'une enzyme, la 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphonate synthase (EPSPS), essentielle à la voie de synthèse des acides aminés aromatiques, Cette enzyme est majoritairement située dans les chloroplastes (**Solomon et Thompson., 2003**). Cette voie métabolique n'existe pas chez les insectes, les poissons, les oiseaux et les mammifères y

compris l'homme. Le mode d'action du glyphosate n'est donc pas applicable à ces espèces (Loius, 2013).

En bloquant cette étape de la voie métabolique, l'herbicide induit une accumulation d'acide shikimique, Il en résulte, une diminution du taux de synthèse protéique et de la formation de certains composés phénoliques. La cessation de la croissance aboutit à la mort de la plante. (Naili, 2014)

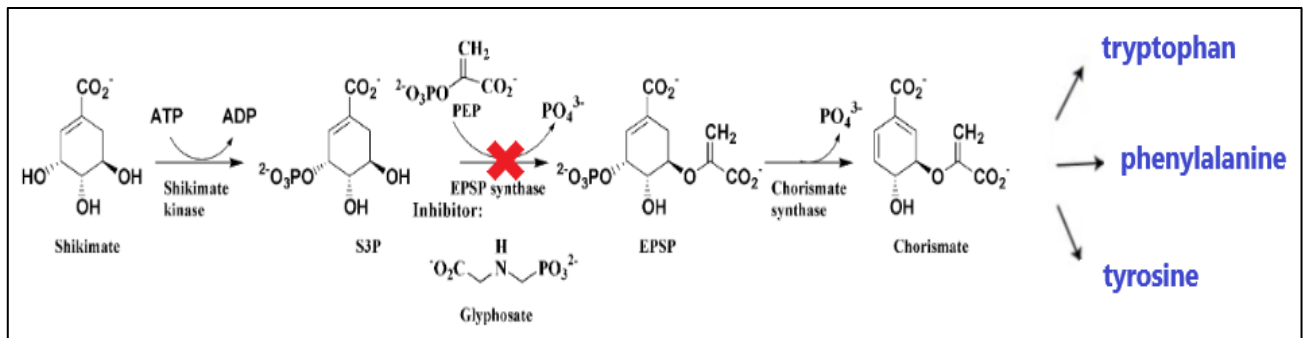


Figure 4: Mécanisme d'action du glyphosate : inhibition de la 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphonate synthétase (Priestman *et al.*, 2005)

La 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphonate synthase (EPSPS) catalyse le transfert de la fraction énonpyruvyle de pyruvate de phosphoénol (PEP) au 5-hydroxyle du shikimate-3-phosphate (S3P). Le glyphosate est un inhibiteur compétitif avec le PEP et se lie à côté de S3P dans le site actif d'EPSPS (Pastoureau, 2007) et l'empêche de faire sa fonction.

Chapitre 2 : La génotoxicité.

1. Définitions

La génétique est l'étude de la structure moléculaire et de la fonction du matériel génétique, alors que l'étude même de la toxicité spécifique des agents sur le matériel génétique est appelée la génotoxicologie.

La génotoxicité est la capacité des produits toxiques (physiques, chimiques ou biologiques) à produire des changements dans le matériel génétique des organismes exposés. La toxicologie génétique ou génotoxicité est l'étude de la toxicité de substances sur l'acide désoxyribonucléique (ADN), causant directement des lésions ou mutations dans laquelle le composé d'origine ou son métabolite interagit avec le matériel génétique, ou indirectement suite à une activation métabolique par les enzymes du foie (**Pham, 2011**).

Les agents génotoxiques ont le potentiel de provoquer un changement héréditaire de la structure ou la séquence du matériel génétique au niveau de l'acide nucléique, du gène ou du chromosome (**Perera, 1984**). Ils possèdent un effet clastogène (causer des fragments, des cassures) lorsqu'ils causent des anomalies de structure, résultats des cassures des chromosomes, et un effet aneugène (nombre de chromosomes erroné) lorsqu'ils causent des anomalies dans la répartition du nombre des chromosomes pendant la division cellulaire (**Pham, 2011**).

2. Les mutations

Une mutation est une modification héréditaire qui apparaît dans les séquences de nucléotide d'un chromosome (**Dajoz, 2012**). La mutagenèse peut résulter des altérations du matériel génétique et notamment pour ce qui concerne les lésions de l'ADN, de la défaillance, héréditaire surtout, acquise parfois, des systèmes cellulaires constitutifs de réparation qui peuvent alors être inefficaces ou réaliser une réparation fautive ce qui laisse en place une mutation germinale, génique ou chromosomique (**Botta, 2013**).

On distingue différents types de mutations :

2.1 Mutation germinale

Les mutations germinales, c'est-à-dire celles survenant dans un gamète, s'agit d'une modification de structure irréversible et qui peut être transmissible d'une génération à l'autre. Elles peuvent être perpétuées tant par la multiplication végétative que sexuée et correspond à l'apparition d'individus nouveaux ou mutants (**Feingold, 1986**).

2.2. Mutations géniques

C'est une altération de la séquence nucléotidique de l'ADN qui sert soit à l'arrêt de la synthèse d'une protéine, ou la modifier produisant ainsi une protéine inactive. La substitution est la mutation génique la plus fréquente, qui consiste à remplacer un nucléotide par un autre (**Krahn et al., 2010**). L'addition d'une base unique (insertion) ou la perte d'une base (délétion) unique font aussi partie de ce type de mutations illustrées dans la (**figure 5**)

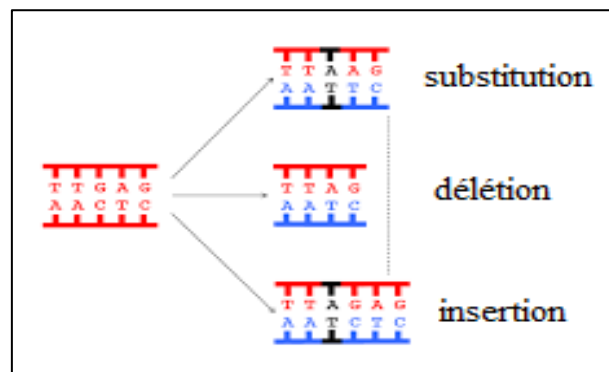


Figure 5: Les différents types des mutations géniques (**Hanna, 2015**).

2.3. Mutation chromosomique

Les agents toxiques clastogènes engendrant une ou plusieurs mutations sur plusieurs dizaines de kilo bases se traduisant par des cassures chromosomiques suivies ou non de réarrangements (**Botta, 2013**). Les mutations chromosomiques correspondent à la perte (délétion), à l'addition (insertion) de fragments chromosomiques ou à l'inversion et la translocation réciproque illustrée dans la **figure 6**.

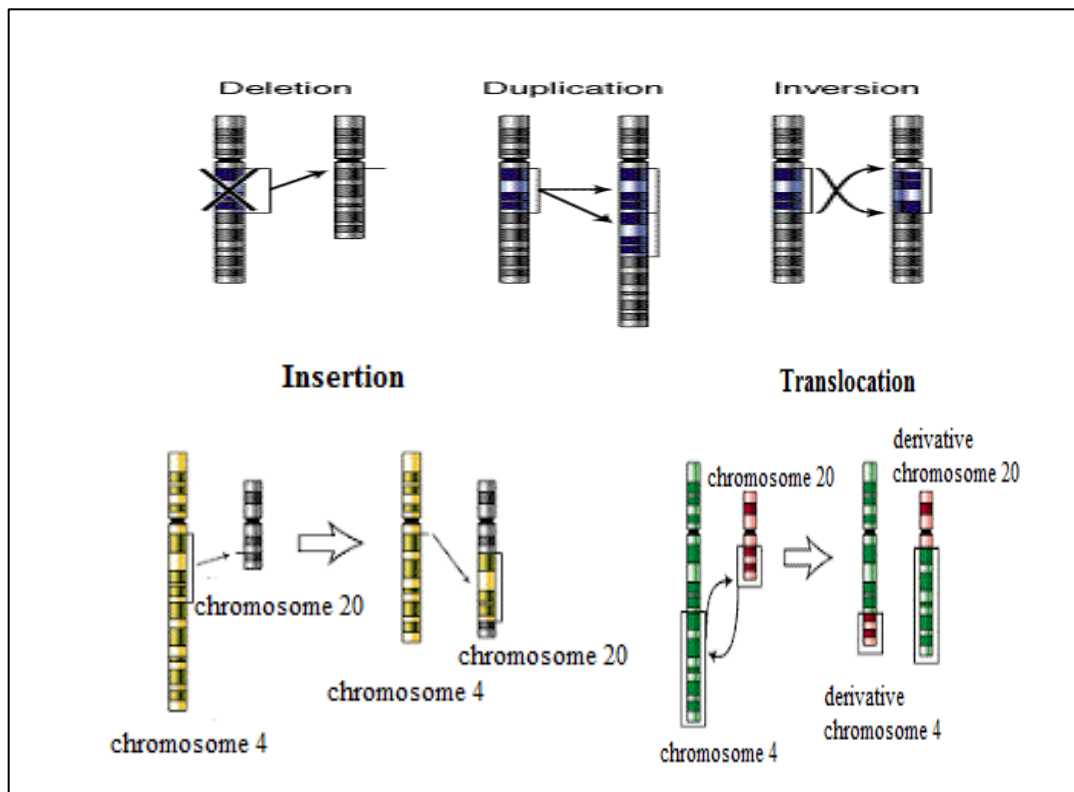


Figure 6: Les différents types de la mutation chromosomique (Meyer, 2020)

3. Le lien entre mutagenèse et cancérogenèse

La relation entre génotoxicité, mutagenèse et cancérogenèse peut être simplifiée de la manière suivante :

- Les agents environnementaux exogènes initiant des dommages directs ou indirects vis-à-vis du génome sont la clé de la génotoxicité (Hoeijmakers, 2001).
- La principale cible moléculaire des cancérogènes est l'ADN.
- L'activation des proto-oncogènes en oncogènes est lié à leur mutation.
- L'inactivation des gènes suppresseurs de tumeur est liée également à leur mutation (Plumejeaud, 2002).
- L'accumulation d'altérations génétiques modifiant l'activité de gènes bien spécifiques impliqués dans le contrôle de la prolifération, la différenciation, la sénescence cellulaire, la réparation de l'ADN, la surveillance du génome et l'apoptose est la clé de la cancérogenèse (Hoeijmakers, 2001)

La batterie des tests de toxicité génétique actuelle est basée sur cette relation entre mutagenèse et cancérogenèse. Par conséquent, les tests de mutagénicité continuent d'être utilisés comme dépistage potentiel des cancérogènes, et les résultats sont utilisés à des fins réglementaires dans le monde entier, par exemple, le test de mutagénicité de Salmonella, bien

qu'utile, n'est pas fiable. Jusqu'à ce que ce test, ou un autre test, démontre une corrélation quantitative et qualitative entre le pouvoir mutagène et le pouvoir cancérigène (**Andrews *et al.*, 1978**).

4. Les tests de la génotoxicité

Divers tests et stratégies de génotoxicité ont été développés pour évaluer le risque de survenue des trois types de dommages génétiques responsables de pathologies humaines : les mutations géniques (modifications d'une ou de quelques paires de bases dans un seul gène), les mutations chromosomiques de structure (translocations et inversions consécutives à des cassures double-brins directes ou indirectes) et les mutations aneugènes (qui induisent une perte de chromosomes entiers) (**Dearfield *et al.*, 2002**).

Les objectifs des différents tests de génotoxicité sont d'une part d'identifier des agents génotoxiques, mais également de déterminer leurs modes d'action moléculaires et cellulaires (bioactivation, nature des interactions avec l'ADN, modifications de bases, cassures de brins, pontages, intercalations, substitutions, addition ou délétion de paires de bases, cassures chromatidiennes ou chromosomiques, pertes de chromosomes entiers...) (**Dearfield *et al.*, 2005**).

La nature des effets détectés par les principaux tests de génotoxicité est montrée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3: Nature des effets détectés par les principaux tests de génotoxicité (**Fardel *et al.*, 2009**)

| Le type de test | Exposition a des agent génotoxique | Effet génotoxique | Effet mutagène |
|--|------------------------------------|-------------------|----------------|
| Test d'Ames (urines) | + | - | - |
| Test des comètes (leucocytes Sanguins, cellules buccales...) | + | + | - |
| Test d'échange des chromatides Sœur (lymphocytes sanguins) | + | + | - |
| Aberration chromosomique (Lymphocytes sanguins) | + | + | + |
| Test des micronoyaux (Lymphocytes sanguins) | + | + | + |

Le test de Ames :

Le test d'Ames consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *Salmonella typhimurium*. Les souches utilisées sont porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation His⁻ rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, ces mutations His⁻ reversent spontanément vers His⁺ et donc les cellules retrouvent leur capacité à pousser sur un milieu dépourvu d'histidine (Fardel *et al.*, 2009)

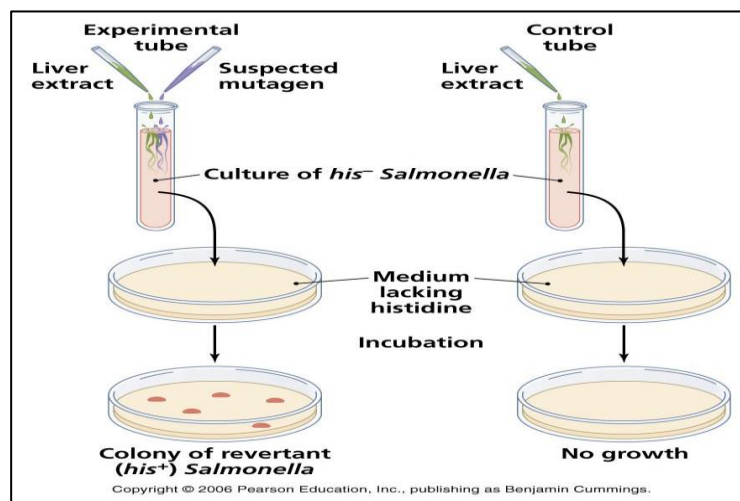


Figure 7: principe d'application de test d'Ames (Science Policy, 2015)

4.2. Le test des comètes

C'est un test détectant les cassures de l'ADN, cette technique permet de quantifier de manière sensible les cassures survenues sur un simple brin d'ADN ou les deux brins d'ADN. Elle ne nécessite pas l'extraction de l'ADN. L'analyse se fait sur des noyaux isolés et nécessite donc de pouvoir disposer des cellules isolées. Dans cette technique, les cellules sont incluses dans de l'agarose sur des lames de microscope, lysées dans une solution alcaline de force ionique élevée puis soumises à une électrophorèse en conditions alcalines. Durant l'électrophorèse, l'ADN présentant des cassures migre de manière hétérogène. Cette migration, d'autant plus importante que les cassures sont nombreuses, se traduit après marquage fluorescent par une image ressemblant à une comète présentant une tête renfermant l'ADN intact et une queue renfermant l'ADN fragmenté (Figure 8).

Cette méthode permet d'étudier les dommages occasionnés à l'ADN de cellules en culture, mais également à partir de prélèvements de cellules sanguines ou obtenues par biopsies *in vivo* (Bouchon et Lemoine., 2003).

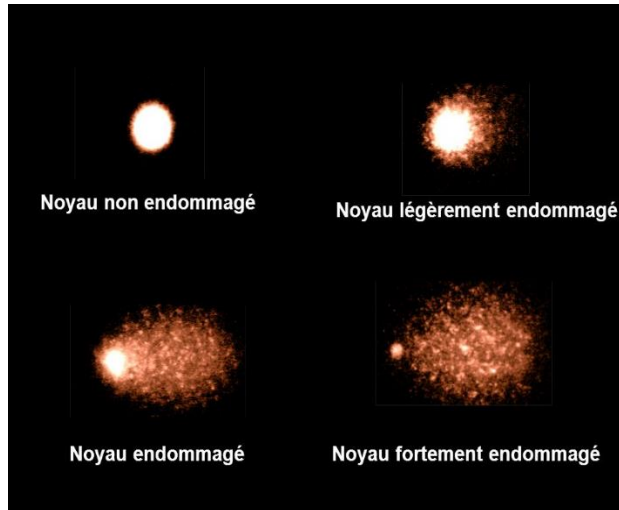


Figure 8: Différent degré d'altération primaire de l'ADN : test des comètes (Chiffolleau, 2014)

4.3.Le test des micronoyaux

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

Les tests des micronoyaux ont 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* (par exemple des lymphocytes de rongeurs ou de sujets humains exposés à l'agent génotoxique) (Mateuca *et al.*, 2006).

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

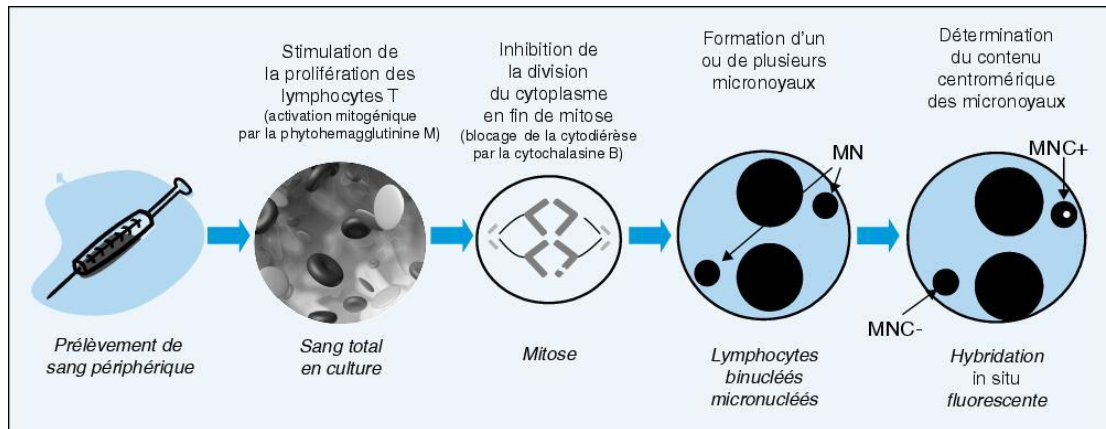


Figure 9: le principe de test des micronoyaux (Iarmarcovai *et al.*, 2007).

4.4. Test des aberrations chromosomiques

L'essai d'aberration chromosomique *in vitro* est destiné à détecter les substances qui provoquent des aberrations chromosomiques structurales dans des cellules de mammifère cultivées. Les aberrations structurales peuvent être de deux types : chromosomiques ou chromatiques.

Cet essai permet de détecter les aberrations chromosomiques pouvant résulter d'évènements clastogènes. L'analyse de l'induction d'une aberration chromosomique doit être effectuée sur des cellules en métaphase. Il est donc indispensable que les cellules des cultures traitées et des cultures témoins atteignent le stade de la mitose. Pour les nanomatériaux manufacturés, il peut s'avérer nécessaire d'apporter certaines adaptations spécifiques à cette Ligne directrice.

Des cultures cellulaires d'origine humaine ou provenant d'autres mammifères sont exposées au produit chimique d'essai, en présence et en l'absence d'une source exogène d'activation métabolique, à moins que les cellules utilisées ne soient dotées de capacités métaboliques idoines. Après avoir été exposées au produit chimique d'essai, les cultures de cellules sont, à intervalles préétablis, traitées par un agent bloquant la métaphase (par exemple la colchicine ou le Colcemid®), récoltées et entées. Les cellules en métaphase sont soumises à un examen microscopique permettant de déceler les aberrations chromatidiques et chromosomiques (Ocde, 1997).

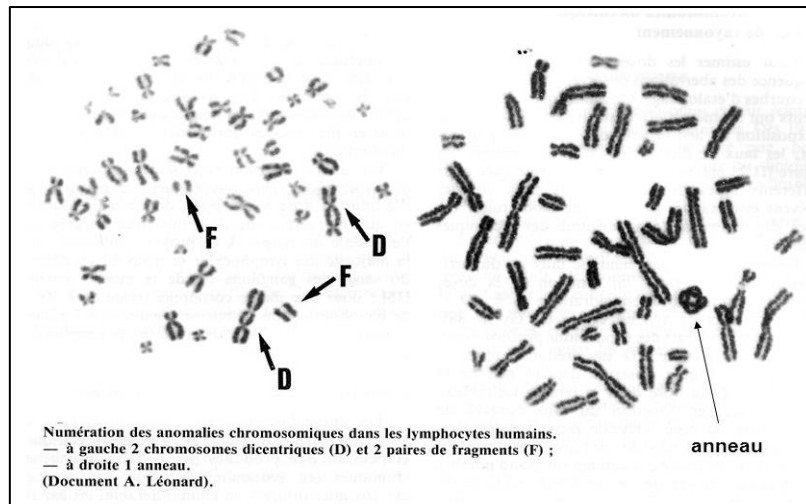


Figure 10: les différentes formes d'aberrations chromosomiques (Balosso, 2012)

4.5. Test d'échange de chromatides sœurs

Le test est basé sur l'incorporation de bromodésoxyuridine (BrdU), analogue de thymine en phase S (González-Torres *et al.*, 2014 ; Bégin,1998).

Les cellules sont ensuite traitées avec de la colchicine pour arrêter la division cellulaire en métaphase (Schrader, 2003), Les cellules sont ensuite traitées avec de la colchicine pour arrêter la division cellulaire en métaphase (Schrader, 2003), suite à la récolte des chromosomes, la révélation des ÉCS se fait par la technique FPG (fluorescence - photolyse - Giemsa) adaptée de (Perry et Wolff, 1974), les résultats sont obtenus après deux cycle de réplication (figure 11).

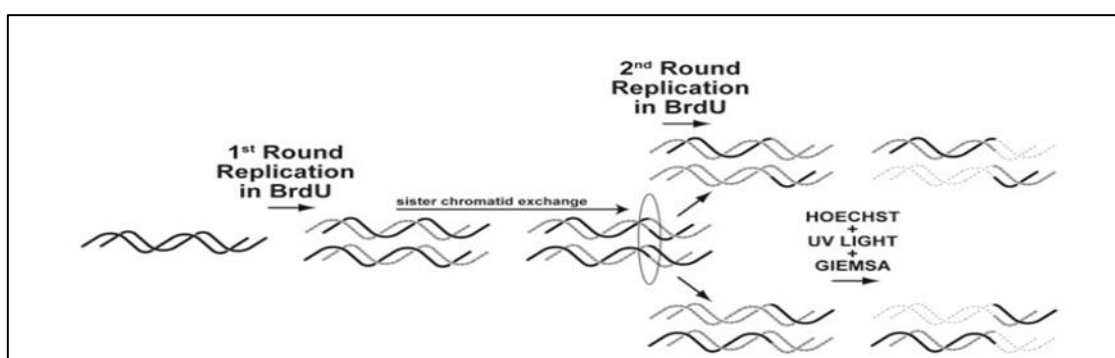


Figure 11: Principe de l'incorporation de BrdU durant la culture cellulaire destinée à la mise en évidence des ÉCS (Stults *et al.*, 2014).

Ligne noire : brin d'ADN non substitué par BrdU et Ligne grise : brin d'ADN substitué par le BrdU

4.6. Le test d'*Allium cepa*

L'oignon (*Allium cepa* L) est une monocotylédone appartenant à la famille des Liliacées qui renferme 500 espèces et plus (Tableau 3). Elle est la plus cultivée (**Jones H.A., Mann L.K., 1963.**) Toute population d'*Allium cepa* possède ($2X = 16$) chromosomes larges et longs (**Vander, 1993**) caractérisée par un haut pourcentage de division cellulaire, détection facile des aberrations chromosomiques après une simple coloration.

Tableau 4: Classification systématique de l'Oignon (*Allium cepa*) (**Vander,1993**).

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

Le test sur *Allium cepa* a été introduit par Levan (**Levan, 1938**), pour étudier les effets de la colchicine sur la croissance des racines et a ensuite été utilisée comme méthode standard dans l'étude des aberrations chromosomiques (**Grant, 1982**)

Afin de déterminer les effets génotoxiques et cytotoxiques des produits chimiques sur l'environnement et peut-être l'homme, de nombreux auteurs ont analysé leur toxicité sur les racines d'*Allium cepa* (**Obute et al., 2016**).

Un des paramètres évalués dans ce test est l'indice mitotique (IM). L'IM est utilisé comme paramètre pour évaluer la cytotoxicité de plusieurs agents. IM significativement inférieur au contrôle négatif peut indiquer altérations résultant de l'action chimique sur la croissance et le développement de l'organisme exposé. En revanche, des IM plus élevés que les contrôles négatifs indiquent une augmentation de la division cellulaire, qui peut être nocif pour les cellules et entraîner des troubles de la prolifération cellulaire et même à la formation de tumeurs dans les tissus (**Leme,2009**). Autres paramètres analysés dans le test *Allium cepa*

étaient la présence d'aberrations chromosomiques et formation de micronoyaux, indiquant un potentiel génotoxique du composé testé et altération des racines et de leur longueur qui pourraient indiquer un potentiel de toxicité du composé testé (**Leme, 2009**).

Le test *Allium cepa* est important car c'est un excellent modèle *in vivo*, où poussent les racines en contact direct avec la substance d'intérêt (c'est-à-dire l'effluent ou le mélange médicamenteux complexe testé) permettant de prédire d'éventuels dommages à l'ADN des eucaryotes. Par conséquent, les données peuvent être extrapolées pour toute la biodiversité animale et végétale (**Fiskesjö, 1985**).

Il a été validé par une étude collaborative internationale entre le Programme des Nations Unies pour l'Environnement, l'Organisation Mondiale de Santé (OMS), et US l'Agence de Protection de Environnement (USEPA) comme test efficace pour la surveillance génétique (**Badmus et al., 2013**).

Il peut être avantageux d'utiliser le test *Allium* modifié car il a besoin de plus basses concentrations pour donner une réponse spécifique par rapport aux méthodes plus anciennes, qui signifie que dans certaines conditions, il est plus sensible que le test original (**Khanna et Sharma, 2013**).

Le test *Allium Cepa* semble être une méthode rapide, peu coûteuse et facile à manipuler, et, comme d'autres tests de mutagenicité à court terme, convient particulièrement à l'analyse de mélanges complexes de contaminants et pour révéler des effets synergiques. Pour ces raisons, cette approche chimique/biologique permet d'étudier des aspects différents mais complémentaires de la contamination des milieux complexes et des aliments et pourrait être utile pour évaluer les risques de cancer lié à l'alimentation (**Feretti et al., 2011**).

Partie Expérimentale

Chapitre 1: Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

1.1. *Allium cepa* et conditions de croissance

Des bulbes de l'oignon *Allium cepa* sont obtenus du marché local à Guelma. Le diamètre des bulbes varie entre [5 et 8cm], la couche externe des bulbes est éliminée ainsi que les anciennes racines avant de commencer l'expérience. Durant toutes les expériences réalisées, les bulbes sont incubés à l'obscurité à température ambiante.

1.2. Produits chimiques

Le pesticide utilisé est l'herbicide : **Roundup Turbo**, il est composé d'une substance active : **Le glyphosate** (450 g/l) : le nom d'identification est : Acide-(phosphonométhyl) glycine, dont la formule chimique est : $C_3H_8NO_5P$ et les **sels de potassium de Glyphosate (607g/l)** : le nom d'identification est : N-(phosphonométhyl) glycine monopotassium salt, dont la formule chimique est $C_3H_7KNO_5 P$.

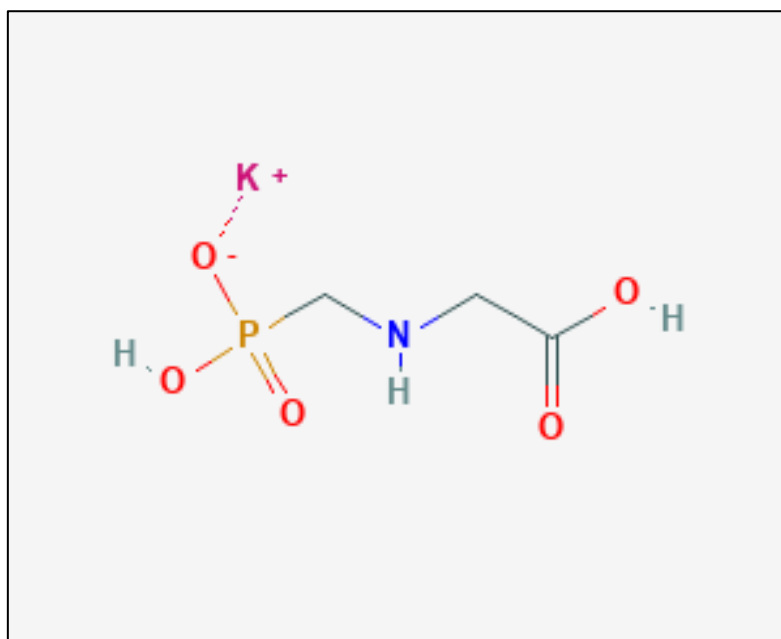


Figure 12: Formule chimique du glyphosate et les sels de potassium du glyphosate (PubChem, 2008)

2. Méthodes

2.1. Préparation du pesticide testé

Différentes concentrations de l'herbicide « Roundup turbo » sont préparées dans l'eau de robinet [100, 150, 200, 250, 500] mg/ml en Glyphosate. L'eau de robinet est utilisée comme contrôle négatif.

2.2. Détermination de la concentration efficace médiane (CE50)

Pour ce test de toxicité, 6 bulbes sont utilisés et sont placés dans des pots remplis par chaque solution à tester de tel sort que la base de la racine principale se trouve plongée dans la solution. L'incubation se fait à l'obscurité pendant deux jours dans de l'eau de robinet puis dans le pesticide avec changement des solutions chaque 24h. Après 48 heures, la longueur des racines est mesurée. La moyenne de la longueur des racines traitées et contrôles est représentée en fonction du pourcentage d'inhibition de l'élongation racinaire relativement au contrôle négatif et les différentes concentrations de l'herbicide Roundup. La concentration produisant 50% d'inhibition de la croissance des racines relativement au contrôle est calculée et exprimée comme étant la CE50.

2.3. Index mitotique et le test d'aberration chromosomiques

Les concentrations utilisées dans ce test sont basé sur la valeur de la CE50 Déterminée dans le test de toxicité. Pour chaque oignon, 6 racines sont récupérées et fixées dans le mélange (éthanol/acide acétique, (v/v),(3/1)) pendant 24 h, suit à un rinçage par l'eau distillé 3 fois, puis transférées à des tubes contenant l'éthanol 70% et conservées à 40C jusqu'à l'utilisation (Fiskesjö, 1994 ; Knoll *et al.*; 2006 ; Bagatini *et al.*, 2009). Pour la préparation des lames, les racines sont hydrolysées dans l'HCl 1N à 60° C pendant 8 min. Les racines sont colorées avec le réactif de Feulgen puis sont bien écrasées et placées sur des lames avec une goutte d'acide acétique à 45%, puis couverts avec des lamelles (Lopes, 2002).

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 sont à étudier : fragments chromosomiques, c-mitose, pont, perte de chromosome, et autres aberrations (Ozmen et Summer, 2004).

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 $P \leq 0,05$

Chapitre 2 : Résultats et discussion

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, le but était d'étudier la toxicité et la génotoxicité de l'herbicide Roundup TURBO 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.

Malheureusement, cette étude n'a pas été achevée à cause des conditions imposées par la pandémie du Covid-19. Nous avons juste mis au point le test d'*Allium cepa* dans un essai primaire, après lequel tout le matériel biologique et chimique ainsi que les réactifs sont préparés pour lancer l'essai principal.

Pour les raisons suscitées, nous allons présenter et discuter des résultats de certaines études similaires portant sur la toxicité et la génotoxicité de l'herbicide **Roundup** et/ou son principe actif : **Glyphosate**

1. Test d'inhibition de l'élongation racinaire

Il existe de nombreuses expériences menées sur la toxicité du glyphosate et son effet sur l'allongement des racines de diverses espèces végétales et racines d'*Allium cepa*, où les résultats ont montré que le glyphosate inhibe l'élongation des racines. Dans une étude de (Ogeleka *et al.*, 2016) concernant les conséquences phytotoxiques à court terme du glyphosate (Roundup™) sur la croissance d'*Allium cepa*. Il a été montré qu'il n'y avait pas de croissance à la concentration la plus élevée de 10 mg /l de glyphosate (figure 14.), Tandis que les autres concentrations (5, 2.5, 1.25 et 0.625 mg/L) ont enregistré une croissance graduelle.

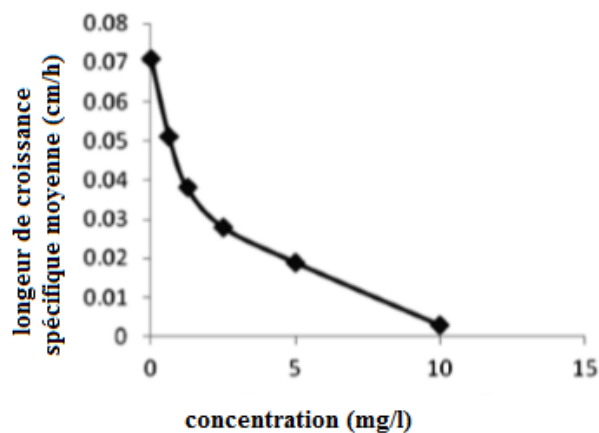


Figure 13: Moyennes de croissance spécifique des racines d'*Allium cepa* exposées au glyphosate (Roundup™) par rapport au contrôle (Ogeleka *et al.*, 2016).

L'effet du glyphosate était plus visible à la concentration 10 mg/l où la croissance était plus inhibée et le pourcentage du taux de croissance.

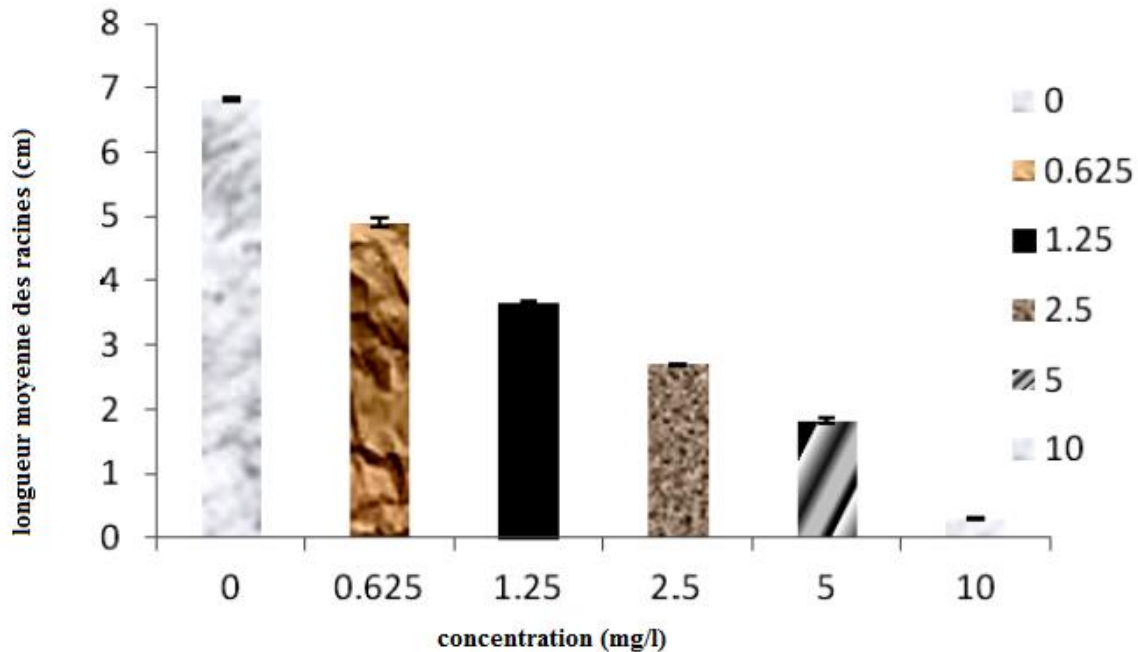


Figure 14: Longueurs moyennes des racines d'*Allium cepa* cultivées à des concentrations variables du pesticide et du contrôle.

Les longueurs moyennes des racines d'*Allium cepa* obtenues pour Roundup allaient de 0,29 à 4,9 cm tandis que le témoin 6,82 cm, où il apparaît sur la **figure 14** que le pourcentage d'allongement des racines à 10 mg/l a enregistré la diminution la plus faible par rapport aux autres concentrations et au témoin. Ces résultats (**figure 13 et 14**) signifient que l'effet du glyphosate dépend de la concentration, parce que l'élongation racinaire a été inhibée à la concentration la plus élevée.

Une autre étude de (**Çavusoglu, 2011**) sur les effets toxiques du glyphosate sur *Allium cepa* a montré que le traitement des racines avec du glyphosate entraînait une diminution de la longueur des racines et du poids des graines.

Chaque groupe contient 25 graines. Les graines du groupe I (groupe témoin) ont été traitées avec de l'eau du robinet, les graines du groupe II ont été traitées avec 100 mg/l du glyphosate, les graines du groupe III ont été traitées avec 250 mg/l du glyphosate, les graines du groupe IV ont été traitées avec 500 mg/l de glyphosate.

Tableau 5: Effet de diverses doses de glyphosate sur la longueur des racines d'A.
Cepa (Çavusoglu, 2011).

| Temps de traitement (heure) | Groupes | Min | Max | Moyenne ± SD |
|-----------------------------|------------|------|------|--------------|
| 72 | Groupe I | 4,40 | 5,90 | 5,14 ± 0,42a |
| 72 | Groupe II | 3,00 | 4,90 | 3,93 ± 0,45b |
| 72 | Groupe III | 2,70 | 3,70 | 3,24 ± 0,25c |
| 72 | Groupe IV | 1,50 | 2,60 | 2,23 ± 0,23d |

Après 72 heures, une inhibition de la croissance des racines et du poids des graines traitées avec la dose la plus élevée de glyphosate (500 mg/l), a été observée et une augmentation graduelle du poids et de la longueur pour les autres doses. Cette diminution indique l'effet du glyphosate sur la croissance des racines, ce qui indique à son tour la toxicité de cet herbicide.

Dans une étude de (De Marco *et al.*, 1992) sur l'importance du type de sol pour l'induction des micronoyaux et la croissance des racines primaires de *Vicia Faba* traitées avec le glyphosate et d'autres herbicides. Après quatre jours de traitement avec le glyphosate à des concentrations de : 35 ppm, 70ppm, 105ppm, 140ppm, 350ppm, 700ppm. 1050ppm et 1400 ppm, une diminution significative de la croissance des racines a été observée avec les concentrations : 350ppm, 700ppm. 1050 ppm, alors qu'elle est complètement inhibée à la concentration la plus élevée de 1400 ppm.

Selon les résultats de ces études, on peut dire que le glyphosate affecte l'élongation des racines d'*Allium cepa*, et son effet dépend de la concentration utilisée. 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).

2. L'index mitotique

L'index mitotique, paramètre estimant la fréquence des division cellulaire et considéré comme indicateur de la cytotoxicité (**Truta et al., 2011**). Rank *et al.*, (1993), ont étudié la génotoxicité potentielle de l'herbicide Roundup et de son principe actif, le sel de glyphosate isopropylamine (IPA) qui est utilisé à trois doses différentes (720,1440 et 2880 µg/l) (**tableau 6.**).

L'index mitotique a été calculé à partir de l'observation des mitoses dans 400 cellules par oignon. Le test montre qu'il y a une diminution significative de l'indice mitotique pour la concentration la plus élevée du Roundup (1,44 et 2,88 mg.l⁻¹) provoquant ainsi une augmentation significative des aberrations chromosomiques.

Tableau 6: L'effet du glyphosate et Roundup dans l'*Allium cepa*. (**Rank et al., 1993**)

| L'agent | Concentration (µg.l ⁻¹) | Index mitotique |
|---------------------------|-------------------------------------|-----------------|
| Contrôle | | 21,8±4,3 |
| Glyphosate isopropylamine | 720 | 21,8± 4,1 |
| | 1440 | 24,6±5,5 |
| | 2880 | 25,2±5,2 |
| MMS | 10 | 23,4+3,4 |
| Contrôle | | 32,0+3,6 |
| Roundup ^a | 720 | 26,2±5,4 |
| | 1440 | 28,2±6,6 |
| | 2880 | 24,2±6,7 |
| MMS | 10 | 26,6+3,9 |

- Pour chaque concentration, cinq oignons ont été exposés et 100 cellules anaphase / télophase ont été analysées par oignon.
- ^a Calculé en glyphosate isopropylamine.

- MMS :contrôle positif

Dans l'étude de (Çavuşoğlu *et al.*, 2011) sur l'effet toxique du glyphosate sur les cellules d'*Allium cepa*, le glyphosate est appliqué avec trois dose différentes (100,250 et 500 mg.l⁻¹) (**tableau 7**). Les résultats de cette étude ont révélé que l'effet du glyphosate sur l'IM des cellules des extrémités des racines d'*Allium cepa* dépend des doses utilisées.

Tableau 7: Indice mitotique (IM) des cellules de l'extrémité des racines d'*Allium cepa* (Çavuşoğlu *et al.*, 2011)

| Groupes | Numéro des racines | IM | % |
|-------------------|--------------------|---------------------------|------|
| Groupe I | 10 | 776,80±13,99 ^a | 7,76 |
| Groupe II | 10 | 697,32±21,95 ^b | 6,97 |
| Groupe III | 10 | 625,84±16,25 ^c | 6,25 |
| Groupe IV | 10 | 544,40±30,80 ^d | 5,44 |
| Valeurs P | | ≤0,001 | |

Groupe I (groupe témoin) ont été traitées avec de l'eau du robinet, **groupe II** ont été traitées avec 100 mg l⁻¹ de glyphosate, **groupe III** ont été traitées avec 250 mg l⁻¹ de glyphosate, **groupe IV** ont été traitées avec 500 mg l⁻¹ glyphosate.

L'IM a été calculé en analysant 1000 cellules / extrémité de la racine (pour un total de 10 000 cellules/traitement) et le pourcentage de l'IM calculé pour chaque groupe de traitement. Toutes les valeurs sont la moyenne ± ET.

a-d: La signification statistique entre les moyennes a été réalisée en utilisant une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) suivie de Duncan comme test (P <0,05). Les moyennes avec la même lettre (verticalement) ne sont pas significativement différentes au niveau P <0,05.

Ces données sont en accord avec les résultats des autres auteurs (Acar *et al.*, 2010) qui suggèrent que le glyphosate IPA provoque une diminution de l'activité mitotique uniquement à des concentrations élevées et sous exposition à long terme.

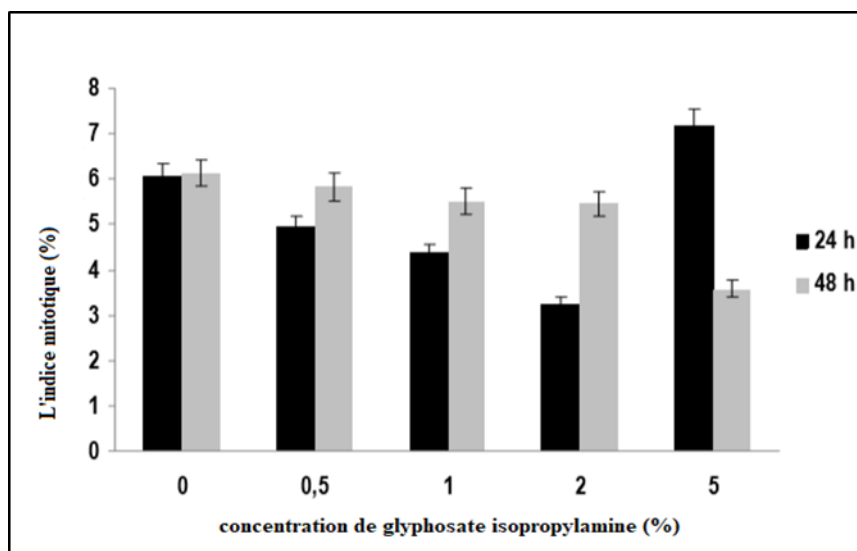


Figure 15: Les effets des traitements au glyphosate isopropylamine sur l'activité mitotique des cellules de bout de racine d'*A. Cepa* L. après 24 h et 48 h (Acar *et al.*, 2010).

Dans une étude récente de Seir et Jesús (2019) sur la cytotoxicité de glyphosate en utilisant l'*Allium cepa* comme bio-indicateur, les résultats sont montrés par le **tableau 8**:

Tableau 8: Index mitotiques des cellules des extrémités des racines d'*Allium cepa*, exposées à différentes concentrations de glyphosate (Seir et Jesús, 2019).

| Concentration de glyphosate $C_3H_8NO_3P(mg.L^{-1})$ | Index mitotique | | | | |
|--|---------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|---------------|
| | GMI | PMI | MMI | AMI | TMI |
| 0 | $17,4 \pm 2,9^a$ | $7,4 \pm 2^a$ | $3,8 \pm 1^a$ | $3,8 \pm 1,4^a$ | $2,4 \pm 0,5$ |
| 5 | $8,8 \pm 2,1^b$ | $5,2 \pm 0,4^{a,b}$ | $2,4 \pm 1,6^{a,b}$ | $1,2 \pm 0,44^{b,c}$ | 0 |
| 10 | $7,4 \pm 1,6^{b,c}$ | $4,6 \pm 0,5^{b,c}$ | $1,8 \pm 1,3^{a,b}$ | $1,2 \pm 0,44^{b,c}$ | 0 |
| 15 | $6,4 \pm 3^{b,c}$ | $2,4 \pm 1,6^{c,d}$ | $1,6 \pm 0,54^b$ | $2,4 \pm 1,9^{a,b}$ | 0 |
| 25 | $4,2 \pm 1,3^{c,d}$ | $2,8 \pm 0,8^{b,c,d}$ | $1,0 \pm 0,7^b$ | $0,4 \pm 0,5^{b,c}$ | 0 |
| 30 | $1,6 \pm 1,34^d$ | $0,8 \pm 1,3^d$ | $0,6 \pm 0,54^b$ | $0,2 \pm 0,4^c$ | 0 |

Les moyennes \pm valeurs SD avec une lettre différente de chaque colonne indiquent des différences statistiquement significatives, selon le test Tukey HSD (P 0,05). (\pm) = écart type. GMI = indice mitotique général. PMI = indice mitotique Prophase. MMI = indice mitotique en métaphase. AMI = indice mitotique anaphase. TMI = indice mitotique télophase.

Une inhibition évidente a été observée dans le processus de mitose, car les valeurs obtenues dans l'index mitotique général (GMI) avec l'utilisation de glyphosate sont considérablement inférieures à ceux du témoin. En comparant les résultats de l'indice mitotique du Prophase (PMI) avec les autres indices des différentes phases : index mitotique en métaphase (MMI), index mitotique anaphase (AMI) et index mitotique télophase (TMI), un pourcentage plus important de la population de cellules mitotiques a été observé dans la prophase, ce qui peut signifier que la majorité des cellules mitotiques s'arrêtent à cette phase.

On conclut que le glyphosate a des effets néfastes sur la division des cellules méristématiques d'*Allium cepa*.

3. Test d'aberrations chromosomique

Pour évaluer les anomalies chromosomiques par le test d'*Allium cepa*, plusieurs types d'ACs sont prises 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 ACs 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.

Selon l'étude de (Çavusoglu, 2011), les effets toxiques du glyphosate sur les cellules d'*Allium cepa* ont été étudiés, aussi les changements dans l'anatomie racinaire des graines d'*A. Cepa* traité au glyphosate on était examiné. Le glyphosate a été appliqué avec trois doses différentes (100, 250 et 500 mg/l). Les effets du glyphosate sur la fréquence des aberrations chromosomiques (ACs) ont été donnés dans le **tableau 9**.

Tableau 9: La fréquence des aberrations chromosomiques (ACs) induites par diverses doses de glyphosate, dans les cellules de l'extrémité des racines d'*A. cepa* (Çavusoglu, 2011).

| Groupe s | Doses (mg/l) | Cellules mitotiques | Fragment | Chromosome collant | Ponts | Distribution inégale de chromatine |
|----------|--------------|---------------------|---------------|--------------------|-------------|------------------------------------|
| I | Témoin | 500 | 3,60±2,90d | 5,88±1,79d | 2,32±1,63d | 0,24±0,44d |
| II | 100 | 500 | 64,64±5,42c | 47,80±5,24c | 30,44±4,59c | 10,00±2,93c |
| III | 250 | 500 | 81,16±4,01b | 60,80±5,2b | 41,40±4,34b | 20,32±3,41b |
| IV | 500 | 500 | 113,00±19,31a | 72,32±5,91a | 50,04±4,93a | 27,40±4,86a |
| P | | | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |

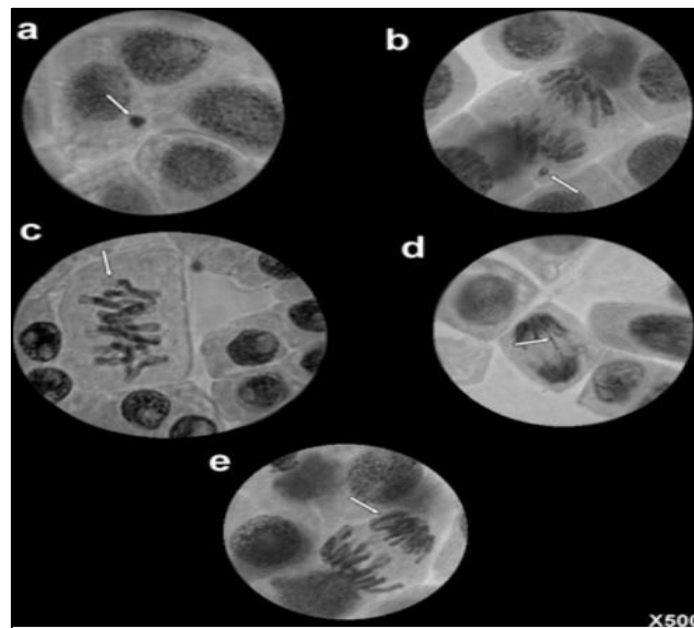
a-d : La signification statistique entre les moyennes a été analysée en utilisant une ANOVA à un facteur suivie du test de Duncan comme test post-ANOVA ($P < 0,05$). Les moyennes avec la même lettre (verticalement) ne sont pas significativement différentes au niveau $P < 0,05$.

Les graines du groupe I (groupe témoin) ont été traitées avec de l'eau du robinet, les graines du groupe II ont été traitées avec 100 mg/l de glyphosate, les graines du groupe III ont été traitées avec 250 mg/l de glyphosate, les graines du groupe IV ont été traitées avec 500 mg/l de glyphosate pendant 72 h. Cinq cents cellules ont été analysées par racine (10 pointes de racine / groupe, pour un total de 5000 cellules / traitement) pour les ACs.

Dans les cellules des extrémités des racine du groupe témoin, divers AC ont été trouvés. Mais, le traitement au glyphosate a entraîné une augmentation de la fréquence des ACs dans les cellules de l'extrémité des racines.

Dans cette étude, les ACs ont été induites par toutes les doses de glyphosate aux différents stades mitotiques (**Figure 16.a**) : chromosomes collants en métaphase, pont chromosomique à l'anaphase, chromosomes en retard à l'anaphase, cellules binucléées, lésions nucléaires et cellules endommagées. Le chromosome perturbé était le type le plus commun d'AC observé dans tous les traitements. Les types des ACs tels que les fragments

(Figure 16.b), chromosomes collants (Figure 16.c), pont de chromatine (Figure 16.d) et distributions inégale de la chromatine (Figure 16.e) ont été observées.



(a : micronoyau, b : fragment, c : chromosome collant, d : pont chromatine, e : distribution inégale de la chromatine)

Figure 16: Les effets du glyphosate sur la mitose des cellules de l'extrémité des racines d'*Allium cepa* (Çavusoglu, 2011).

Le traitement des cellules du méristème de racine d'*A. cepa* avec une autre formulation de pesticide, Roundup Ultra Max contenant 450 g/l de glyphosate pendant 72h, induit des aberrations chromosomiques à 100, 250 et 500 mg / l dans le test *A. cepa*.

Ces données sont également en accord avec les résultats d'autres auteurs. (Rank *et al.*, 1993) qui ont étudié l'effet génotoxiques potentiel du Roundup et son ingrédients actif glyphosate sel d'isopropylamine dans *A. cepa*. Le test anaphase -télophase sur *Allium cepa* a montré que le glyphosate sel d'isopropylamine à des concentrations de 1,44 et 2,88 mg/l provoque une augmentation significative des ACs. Cependant, ça pourrait être dû à l'effet toxique de glyphosate. Les résultats de cette étude sont présentés dans le **tableau 10**.

Tableau 10: La fréquence des aberrations chromosomiques (ACs) induites par glyphosate isopropylamine et Roundup dans les cellules de l'extrémité des racines d'*A. cepa* (Rank *et al.*, 1993).

| Agent | Dose (µg /l) | Ponts | Fragments | Vargant | Autres Aberrations | Totale AC | % + SD |
|---------------------------|--------------|-------|-----------|---------|--------------------|-----------|------------|
| Contrôle | | 7 | 4 | 3 | 1 | 15 | 3,0±1,8 |
| Glyphosate isopropylamine | 720 | 9 | 4 | 1 | 5 | 19 | 3,8±1,8 |
| | 1440 | 12 | 6 | 5 | 0 | 23 | 4,6±1,5 |
| | 2880 | 7 | 3 | 3 | 0 | 13 | 2,6±2,1 |
| MMS | 10 | 23 | 14 | 8 | 0 | 45 | 9,0±2,6 |
| Contrôle | | 10 | 1 | 2 | 1 | 14 | 2,8±0,4 |
| Roundup | 720 | 6 | 1 | 3 | 15 | 25 | 5,0±3,3 |
| | 1440 | 13 | 8 | 7 | 31 | 59 | 11,8±6,6** |
| | 2880 | 5 | 12 | 1 | 10 | 28 | 5,6±2,8 * |
| MMS | 10 | 28 | 17 | 10 | 3 | 58 | 11,6±2,7 |

- Aberrations chromosomiques pour 500 cellules.
- Pour chaque concentration, cinq oignons ont été exposés et 100 cellules anaphase / télophase précoce ont été analysées par oignon.
- Calculé en glyphosate isopropylamine.
- MMS : Methyl methanesulfonate (contrôle positif).
- *P <0,05, ** P <0,005 dans le test X 2.

Dans une étude réalisée par (Dimitrov *et al.*, 2006), l'effet génotoxiques du glyphosate a été comparé entre plante *Crepis capillaris* et moelle osseuse de souris en utilisant les tests des AC et micronoyau (MN). Par conséquent, le glyphosate n'a induit ni AC ni MN sur *Crepis capillari*. Les résultats de cette étude sont présentés dans le **tableau 10** :

Tableau 11: Fréquence des aberrations chromosomiques et des cellules hyperploïdes dans les méristèmes radiculaires de *C. capillaris* après traitement avec les herbicides Roundup (Dimitrov *et al.*, 2006).

| Dose % | Temp s | Numéro des cellules avec AC | Cassures des chromatides | Échange des chromatides | Cassures des chromosomes | Lacunes | AC par 100 cellules (sans lacunes) ± SEM |
|------------------|--------|-----------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|---------|--|
| 0,05 | 4 | 1 | 1 | – | – | – | 0,25±0,10 |
| | 16 | 3 | 1 | – | – | 2 | 0,25±0,18 |
| | 24 | 3 | 1 | – | 2 | – | 0,75±0,27 |
| 0,01 | 4 | 2 | 2 | – | – | – | 0,50±0,14 |
| | 16 | 4 | 3 | – | – | 1 | 0,75±0,27 |
| | 24 | 4 | – | 1 | 2 | 1 | 0,75±0,27 |
| 0,5 | 4 | 3 | 1 | – | – | 2 | 0,25±0,10 |
| | 16 | 4 | 2 | 1 | – | 1 | 0,75±0,27 |
| | 24 | 4 | – | – | 3 | 1 | 0,75±0,27 |
| 1,0 ^a | 4 | – | – | – | – | – | – |
| | 16 | – | – | – | – | – | – |
| | 24 | – | – | – | – | – | – |
| C | 24 | 1 | – | – | 1 | – | 0,25 ± 0,10 |

^a : Données non obtenues en raison de la forte toxicité de l'herbicide

C : contrôle

Le traitement Roundup a également induit des aberrations chromosomiques chez *Vicia faba* (El-Tayeb et Zaki, 2009). La fréquence des aberrations chromosomiques a augmenté en augmentant la concentration de l'herbicide et en prolongeant la durée du traitement. Les

anomalies chromosomiques comprennent les ponts chromosomiques et les ruptures qui sont considérées comme indiquant un potentiel mutagène et génotoxique de l'herbicide. Les aberrations sont présentées dans **la figure 17**.

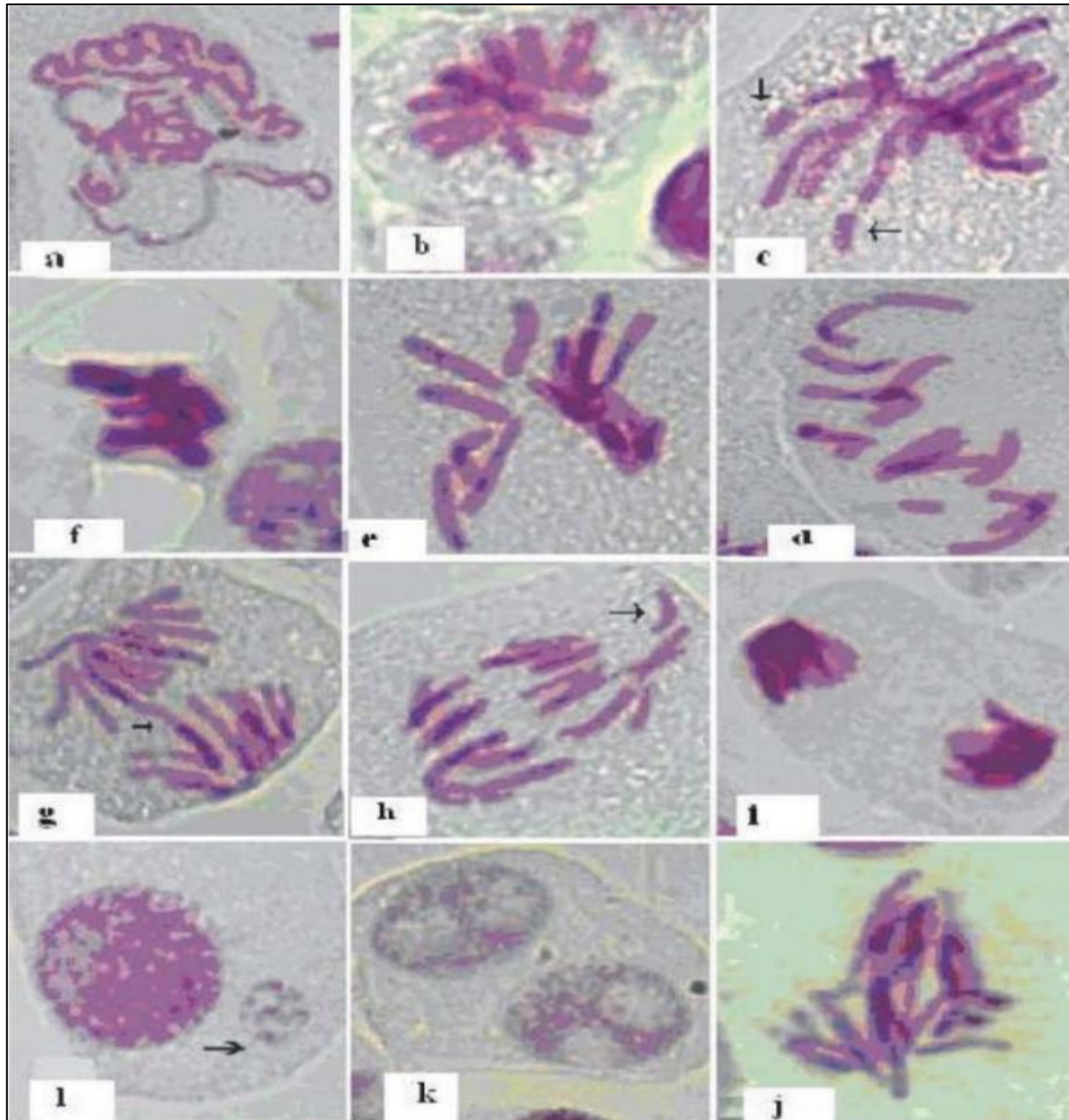


Figure 17: Anomalies chromosomiques produites par Round up dans les pointes des racines de *Vicia faba* (El-Tayeb et Zaki, 2009).

- **a** : Prophase irrégulière après 12h. Traitement avec 10^{-4} % de Round up ;
- **b** : Métaphase étoile après 24h. Traitement avec 10^{-4} % de Roundup;

- **c** : Métaphase avec cassures chromosomiques après 12h. Traitement avec 10^{-5} % de Round up;
- **d** : C-métaphase après 12h. Traitement avec 10^{-6} % Round up,
- **e** : Métaphase perturbée après 3h. Traitement avec 10^{-5} % de Round up; **f** : Métaphase collante après 24h. Traitement avec 10^{-5} % de Round up ;
- **g** : Anaphase avec pont après 24h. Traitement avec 10^{-5} % de Round up;
- **h** : Anaphase avec chromosome libre après 12h. Traitement avec 10^{-4} % de Roundup ;
- **i** : Sticky anaphase après 24h. Traitement avec 10^{-6} % de Round up ;
- **j** : Anaphase perturbée après 12h. Traitement avec 10^{-5} % de Round up ;
- **k** : Cellule binucléée après 24h. Traitement avec 0^{-5} % de Roundup ;
- **l** : Cellule avec micronoyau après 12h. Traitement avec 10^{-6} % de Roundup.

Selon les études mentionnées, les aberrations chromosomiques sont souvent observées aux cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées par des concentrations élevées. Plusieurs études testant en parallèle le glyphosate et Roundup ont montré que seule la formulation commerciale était génotoxiques.

Les résultats de Poletta *et al.*, (2009) confirment que le glyphosate est génotoxique en fonction de temps et de la concentration utilisé. Les herbicides commerciaux à base de glyphosate sont plus toxiques que le glyphosate lui-même (**Holečková, 2006**), la formulation Roundup a un potentiel génotoxique relativement élevé et a été étudié dans un certain nombre d'étude évaluant divers paramètres génétiques dans différents systèmes biologiques. Cette génotoxicité est due à la toxicité de co-formulation et surfactant contenu dans les produits commerciaux (**Bolognesi et al., 1997**).

Dans leur étude, Marc *et al.*, (2004) montrent que la formulation Roundup affecte le cycle cellulaire en inhibant la transition G2/M et la synthèse d'ADN conduisant à une instabilité génomique. Richar *et al.*, (2005) ont déclaré que le glyphosate et ses formulations étaient toxiques pour les cellules de Lignée du choriocarcinome humain (JEG3) et que cet effet augmente avec la concentration et le temps, mais le Roundup s'est avéré plus toxique que le glyphosate. Koller *et al.*, (2012), ont montré que l'inhalation d'herbicide à base de glyphosate et de glyphosate par les humains peut causer des dommages à l'ADN chez les personnes exposées, car ils ont trouvé des effet génotoxiques après une courte exposition à des concentrations correspondant à une dilution 450 fois de la pulvérisation utilisée en agriculture.

Nous concluons que l'utilisation non contrôlée de cet herbicide présente un risque potentiel pour une variété d'organisme, y compris l'homme. Les risques liés à l'utilisation de glyphosate sur la santé humaine sont importants quelle que soit la voie de contamination, le travailleur directement exposé aux produits lors de traitement par pulvérisation ou d'autre technique, indirectement en contact avec l'emballage, le végétale et le sol. Afin de prévenir contre l'effet néfaste de glyphosate, il faut réduire son utilisation via le remplacement par d'autres substances chimiques en s'assurant que leur toxicité est plus faible que le glyphosate, l'application des techniques limitant la quantité utilisée et leur émission vers l'environnement.

Conclusion

Conclusion

En conclusion, le Roundup a montré un effet génotoxique remarquable au niveau des racines des cellules méristématiques : d'*Allium cepa*, *Crepis capillaris* et *Vicia faba* en induisant des aberrations chromosomiques telles que : des ponts, des fragments et des c-mitose. L'effet génotoxiques de Roundup est *en* fonction du temps et des concentrations utilisées.

Les études présentées montrent que les formulations commerciales des herbicides à base de glyphosate ont un potentiel génotoxique élevé par rapport au glyphosate lui-même, donc il est insuffisant de tester l'agent actif (glyphosate) dans une formulation commerciale (Roundup) en raison de la possibilité d'effets additifs et synergiques, c'est tout aussi important d'étudier les autres ingrédients du produit.

L'utilisation non contrôlée de cet herbicide présente un risque potentiel non seulement sur les plantes traitées mais aussi sur une variété d'organismes y compris l'être humain et l'environnement, c'est pourquoi il est nécessaire de limiter l'utilisation du glyphosate et l'utiliser attentivement avec des doses appropriées pendant des périodes courtes.

Le test *Allium cepa* semble être une méthode rapide, peu coûteuse et facile à manipuler. En effet, l'étude de la génotoxicité du Roundup ouvre de nombreuses perspectives pour l'amélioration des propriétés physicochimiques et biologiques de cet herbicide en plus de contrôler son utilisation.

Des travaux complémentaires sont, bien entendu, nécessaires afin d'affirmer les concepts et résultats liés à cette étude.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

1. **Acar O., Demirbas S., Ilhan D., Ozdinc N.,2010.**The Effects Of Glyphosate Isopropylamine On Mitotic Activity, Superoxide Dismutase And. Fresenius Environmental Bulletin,19(3):522-525:87469974.
2. **Amar L., 2007.** Développement de vecteurs lentiviraux regulables pour le transfert de gène dans le système nerveux central. Thèse de Doctorat .Neurosciences, Université Pierre et Marie Curie , France ,186p. (Soutenu le 26 février 2007)
3. **Andrew M.,Whifod F.,Jordan T.,2016.** PESTICIDES AND FORMULATION TECHNOLOGY.Purdue University cooperative extension service weast lafayette. IN:47907.
4. **Andrews A W. , Thibault L H., Lijinsky W.,1978.** The Relationship between Mutagenicity and Carcinogenicity of Some Nitrosamines, Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 51(3): 319–326 DOI:[https://doi.org/10.1016/0027-5107\(78\)90121-5](https://doi.org/10.1016/0027-5107(78)90121-5).
5. **Antonio D M ., Claudio D S ., Marcello R b., Antonella T i.,Stefania T .,1992.** Importance of the type of soil for the induction of micronuclei and the growth of primary roots of *Vacia faba* treated with the herbicides atrazine, glyphosate and maleic hydrazide .Mrcfutiott Research, 279 :9-13. DOI : [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(92\)90260-7](https://doi.org/10.1016/0165-1218(92)90260-7)
6. **Arrabet dallel.,2014.** Effets d'un herbicide de la famille des sulfonilurées sur la communauté bactérienne d'un sol agricole .thèse doctorat. Microbiologie. Université Constantine I,Alger,95p.(soutenu Le 23 Juin 2014)
7. **Badmus J A., Odunela A O., Yekeen A T., Gbadegesin A M., Fatoki J O., Godo M O., Oyebanjo K S., Hiss D C.,2013.** Evaluation of Antioxidant, Antimutagenic, and Lipid Peroxidation Inhibitory Activities of Selected Fractions of *Holarrhena Floribunda* (G. Don) Leaves. Acta Biochimica Polonica, 60(3):435–442 DOI:https://doi.org/10.18388/abp.2013_2004.
8. **Bagatini M. D .,Fachinetto J. M. ., Silva A. C. F., Tedesco S. B.,2009.** Cytotoxic effects of infusions (tea) of *Solidago microglossa* DC. (Asteraceae) on the cell cycle of *Allium cepa*. Revista Brasileira de Farmacognosia ,19(2B) :632-636. DOI : 10.1590/S0102- 695X2009000400022

9. **Balosso Pr Jacques.,2012** .dosimetrie in vivo en radiotherapie externe avec imageurs portals au silicum amorphe: de la methode a la validation clinique .Thèse de Doctorat . Radiophysique et Imagerie Médicale .Université Toulouse III , ,France ,217p .(soutenue le 21 mars 2012)
10. **Beáta Hole.,2006**.Evaluation of the in vitro effect of glyphosate-based herbicide on bovine lymphocytes using chromosome painting. Bull Vet Inst Pulawy, 5:533-536: 012913726.
11. **Belhadi, A., Mehenni, M., Reguieg, L., Yakhlef, H.,2016**. Pratiques phytosanitaires des serristes maraichers de trois localités de l'est des Ziban et leur impact potentiel sur la santé humaine et l'environnement. *Revue Agriculture, 1* : 9–16.
12. **Boland Jeroen ., Florijn Arwen.,2004**. Les pesticides: composition, utilisation et risques Wageningen.Wageningen: Agromisa .CTA.124. ISBN : 90-77073-01-9
13. **Bolognesi C., Bonatti S., Degan P., Gallerani E., Peluso M., Rabboni R., Roggieri P., Abbondandolo A.,1995**. Genotoxic Activity of Glyphosate and Its Technical Formulation Roundup, Journal of Agricultural and Food Chemistry,45(5):1957–1962 DOI:<https://doi.org/10.1021/jf9606518>.
14. **Botta A.,2013**. Relations entre génotoxicité, mutagenèse et cancérogenèse. l'Environnement IPMdSd (ed) Journées Nationales de Santé au Travail dans le BTP. Service Hospitalo-universitaire de Médecine et Santé au Travail, Marseille,France 9-13p.
15. **Botta Professeur Alain.,2002**. Evaluation et prévention du risque génotoxique lié aux hydrocarbures aromatiques polycycliques dans une population de salariés du pourtour de l'Etang de Berre. Rapport, Faculté de Médecine,Marsielle,France,29p.(15 Octobre 2002)
16. **Bouchon C ., Lemoine S.,2003**.Niveau de contamination par les pesticides des chaînes trophiques des milieux marins côtiers de la Guadeloupe et recherche de biomarqueurs de génotoxicité , rapport final G.uadeloupe ,france: direction regionale de l'envirenement guadeloupe,71p.(décembre2003)
17. **Brahimi hakim., Nadjeh amine., 2017**. enquête sur l'utilisation du glyphosate dans quelques wilayas d'algerie.Mémoire de Master , Moyens de Lutte et Bio-régulateurs,faculté des Sciences, Boumerdès, Algérie , 61p.

18. **Çavuşoğlua K., Yalçına E., Türkmena Z., Yaparb K ., Çavuşoğluc K., Çiçeka F.,2011.** Investigation Of Toxic Effects Of The Glyphosate On *Allium Cepa*. Tarım Bilimleri Dergisi,17(2):131–42 DOI: https://doi.org/10.1501/Tarimbil_0000001165.
19. **Chiffolleau Philippe.,2014.** les champignons de la famille des agaricaceés sources d'innovations thérapeutique . Thèse de doctorat .Faculté de pharmacie, université de NANTSE, France , (soutenu le 22 septembre 2014)
20. **De Roos A .,Blair A.,Rusiecki J A.,Saven M.,Dosmemci M.,Sandler D P.,Alvanja M C.,2005.**Cancer Incidence among Glyphosate-Exposed Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study.Environmental Health Perspectives.113(1):49–54 DOI:<https://doi.org/10.1289/ehp.7340>.
21. **Dearfield KL., Cimino MC., McCarroll NE., Mauer I., Valcovic LR ., US Environmental Protection Agency.,2002.**Genotoxicity risk assessment: a proposed classification strategy. Mutat Res,521(2) :121-135. DOI: 10.1016/s1383-5718(02)00236-x
22. **Dearfield KL., Moore MM.,2005.** Use of genetic toxicology information for risk assessment. Environ Mol Mutagen,46(4) ,236-245. DOI: 10.1002/em.20176
23. **Dimitrov, B. D., Gadeva, P. G., Benova, D. K., & Bineva, M. V.,2006.** Comparative genotoxicity of the herbicides Roundup, Stomp and Reglone in plant and mammalian test systems. Mutagenesis, 21(6) :375-382.DOI : <https://doi.org/10.1093/mutage/gel044>
24. **Dominique Munaron.,2004.** Etude des apports en herbicides et en nutriments par la Charente : Modelisation de la dispersion de l'atrazine dans le bassin de Marennes-Oleron . Thèse De Doctorat. Océanologie Chimique et Environnement, Université Pierre et Marie Curie,France ,341p.(soutenu le 29 septembre 2004)
25. **Duke Stephen O.,2019.** Glyphosate: Environmental Fate and Impact.*Weed Science*,68(3):201–207.DOI : <https://doi.org/10.1017/wsc.2019.28>
26. **Ehrenberg, L.,1960.** chemical mutagenesis: Biochemical and chemical point of view on mechanisms of action.chemische Mutagènes , 124- 136. PMID: 16561917
1. **El Fadil, Imène.,2016.** Etude de l'adsorption des pesticides sur des sols agricoles marocains- région Loukous- cas de l'Imazalil et Thiabendazole Rebat .Thèse de doctorat.Chimie, Université MOHAMMED V ,Maroc,129p.(Soutenue le 05 mars 2016)
2. .

3. **El-Tayeb M A., & Zaki, H.,2009.**Cytophysiological response of *Vicia faba* to a glyphosate-based herbicide. *American-Eurasian Journal of Agronomy*, 2(3) :168-175. DOI: 10.5829/aeja
4. **Fardel O., Vernhet L., Nouvel V.,2009.** Utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance de l'exposition des travailleurs dans l'industrie du traitement et recyclage des déchets 163 p, n°07-0667/1A.
5. **Farida Bettiche.,2016.**usages des produits phytosanitaires dans les cultures sous serres des ziban (algerie) et evaluation des consequences environnementales possibles.Thèse de doctorat . .sciences agronomiques.Université Mohamed khider,biskra,327p.
6. **Feretti D., Zerbini, I., Zani, C., Ceretti, E., Monarca, S.,2011.** *Allium Cepa* Chromosome Aberration and Micronucleus Tests Applied to Study Genotoxicity of Extracts from Pesticide-Treated Vegetables and Grapes.*Food Additives and Contaminants*,24(6):561–72 DOI:<https://doi.org/10.1080/02652030601113602>.
7. **Fiskesjö Geirid.,1985.** The Allium Test as a Standard in Environmental Monitoring.*Mutation Research/Reviews in Mutation Research*,102(1):99–112 DOI:<https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>.
8. **Fortin Fléchère.,2011.** Évaluation de la cytogénotoxicité humaine induite par l'exposition à de faibles doses de benzo-a-pyrène.à l'aide de biomarqueurs précoces. Thèse de Doctorat. .Faculté de médecine, Université de Montréal,439p. (soutenu avril 2011)
9. **Gillezeau C ., Gerwen M v., Shaffer R M. , Rana L. , Zhang L., Sheppard L., Taioli E.,2019.** The Evidence of Human Exposure to Glyphosate: A Review.*Environmental Health*,18(2):1-14 DOI:[https://doi.org/10.1186/s12940-018-0\(435-5>](https://doi.org/10.1186/s12940-018-0(435-5>).
10. **Gimsing A L., Borggaard I K., Sestoft P.,2004.**Modeling the Kinetics of the Competitive Adsorption and Desorption of Glyphosate and Phosphate on Goethite and Gibbsite and in Soils.*Environmental Science & Technology*,38(6):1718–1722 DOI:: <https://doi.org/10.1021/es030572u>.
11. **González-Torres M C., Gavia-García G., Nájera-Medina O.,2014.**‘Infant Malnutrition’, in *Pathobiology of Human Disease* .Elsevier,527–541 DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.02016-5>.

12. **Grant William F.,1982.** Chromosome Aberration Assays in Allium.*Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*,99(3):273–291
DOI:<[https://doi.org/10.1016/0165-1110\(82\)90046-X](https://doi.org/10.1016/0165-1110(82)90046-X).
13. **Hanna,K. (2005)** . Chromosome breakage at high dose rates . *Mutation Research* ,182 ,270 - 271. DOI:10.1038/182270a0
14. **Helander M., Saloniemi I., Saikkonen K.,2012.** Glyphosate in Northern Ecosystems, *Trends in Plant Science*,17(10):569–574
DOI:<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.05.008>.
15. **Iarmarcovai G., Botta A., Orsière T.,2007.** Micronoyaux et polymorphismes génétiques : de l'exposition à la susceptibilité . *Laboratoire de biogénotoxicologie et mutagenèse environnementale (EA 1784 ; IFR PMSE 112). Faculté de médecine, Université de la Méditerranée,Marseille*,65(4):357-363,
.DOI:<https://doi.org/10.1684/abc.2007.0133>.
16. **Isabelle Bégin.,1998.** Mise Au Point D'une Méthode De Mesure De La Prolifération Des Hépatocytes De Rat En Culture Et Évaluation Du Potentiel Mitogène De L'hcb Et De Certaines Composantes Stéroïdiennes .Thèse . INRS-Santé, Université du Québec ,128p.(soutenu Septembre 1998)
17. **Jack Dekker., Duke Stephen O.,1995.** Herbicide-Resistfaientld Crops.Advances in Agronomy .Stoneville,54:69-116 DOI: 10.1016/S0065-2113(08)60898-6.
18. **Jones HA., Mann LK .,1963.**Onions arid their allies. Inter. Sc, New York, 32 p
19. **Kanissey R., Gairhe B., Kadyampakeni D., Batuman O., Alferez F.,2019.**Glyphosate: Its Environmental Persistence and Impact on Crop Health and Nutrition. *Plants*,8(11): 1-11.doi: 10.3390/plants8110499
20. **Khan K., Ansari L .,Honey A.,2012.** Induction of mutations in Cichorium intybus L. by base analogue 6-aminopurine (6-AP) and their detection with random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *African Journal of Biotechnology*, 11(56) : 11901-11906. DOI: 10.5897/AJB11.2158
21. **Khanna Namita., Sharma Sonia. ,2013.**Allium Cepa Root Chromosomal Aberration Assay: A Review.*Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*,1(3):105–119 DOI:<https://doi.org/10.30750/ijpbr.1.3.15>.
22. **Koller V J., Fu¨rhacker M., Nersesyanyan A., Misik M., Eisenbauer M ., Knasmueller S.,2012.** Cytotoxic and DNA-Damaging Properties of Glyphosate and

- Roundup in Human-Derived Buccal Epithelial Cells. *Archives of Toxicology*, 86(5):805–813 DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0804-8>.
23. **Labad, R.,2018.** Effets environnementaux du désherbage chimique associé au semis direct. thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure d’Agronomie, Alger, 169.
 24. **Leme Daniela Morais ., Marin-Morales Marin Aparecida.,2009.** Allium Cepa Test in Environmental Monitoring: A Review on Its Application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 682(1):71–81 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>.
 25. **Levan Albert.,1938.** THE EFFECT OF COLCHICINE ON ROOT MITOSES IN *ALLIUM*. *Hereditas*, 24(4):471–486 DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1938.tb03221.x>.
 26. **Li A P ., Long T J.,1987.** An Evaluation of the Genotoxic Potential of Glyphosate. *Fundamental And Applied Toxicology* , 10:537-546 DOI: <https://doi.org/10.1093/toxsci/10.3.537>.
 27. **Marc J, Mulner-Lorillon O., Robert B.,2004.** ‘Glyphosate-Based Pesticides Affect Cell Cycle Regulation’. *Biology of the Cell*, 96(3):245–49 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biolcel.2003.11.010>.
 28. **Mariem Laamari.,2017.** Approches moléculaires et cellulaires des effets combinés du bisphénol A, du glyphosate et d’une toxine marine sur quatre modèles cellulaires humains. thèse. Biologie cellulaire, Université de la Rochelle, France .174p. (soutenue le 16 décembre 2016).
 29. **Mateuca R., Lombaert N., Aka PV., Decordier I .,Kirsch-Volders M .,2006.** Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*, 88 :1515-1531 .DOI : <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.07.004>
 30. **Moussaoui Okba .,2010.** Biodégradation des pesticides : étude comparative des activités bactériennes et fongiques. Mémoire de Magister, Ecole Nationale Polytechnique (ENP), Alger, 91p.(soutenue le 20 juin 2010)
 31. **Naili fatima.,2014.** Evaluation de La Rémanence de l’herbicide Glyphosate Dans Les Cultures Maraîchères de La Wilaya de Jijel. Memoire de Magister. Biologie appliquée. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie . Université Constantine 1, Alger. 151p .

32. **Obute GC., Ekeke C., Izuka D C.,2016.** Genotoxicity Assessment of Refined Petroleum Products and Popular Local Soft Drink (Zobo) in Daily Use in Nigeria. *Research Journal of Mutagenesis*,6(1):22–30
DOI:<https://doi.org/10.3923/rjmutag.2016.22.30>.
- a. **Ocde.,1997.** Essai n° 473: Essai d'aberration chromosomique in vitro chez les mammifères (Éditions OCDE, 1997).DOI : <https://doi.org/10.1787/9789264071278-fr>.
33. **Ogeleka DF., Okieimen F E., Ekpudi F O., Tudararo-Aherobo L E.,2016.** Short-term phyto-toxicity consequences of a nonselective herbicide glyphosate (Roundup™) on the growth of onions (*Allium cepa* Linn.) . *African Journal Of Biotechnology* ,15(18) :740-744, 4 May, 2016 DOI: 10.5897/AJB2014.14355 Article Number: 6AD300558321
34. **Ortega M I .,2004 .**tests cytogénétique : utilité en médecine du travail difficulté lors de son application à la surveillance des travailleurs. *Politique scientifique journée d'étude ,ITUH-Bruxelles,5p.*
35. **Perera F P.,1984.** The genotoxic/epigenetic distinction: Relevance to cancer policy. *Environmental research*, 34(1) :175-191.DOI : [https://doi.org/10.1016/0013-9351\(84\)90087-2](https://doi.org/10.1016/0013-9351(84)90087-2)
36. **Pham, T. C. V.,2011.** Évaluation de la fréquence des micronoyaux et du potentiel clastogène et/ou aneugène du benzo-a-pyrène suite à une exposition in vitro des lymphocytes humains. Mémoire. Département de pathologie et biologie cellulaire. Faculté de médecine. Université de Montréal.269p.(soutenue avril 2011).
37. **Pierre-Louis Rainaud.,2013.**Evaluation des risques à long terme des herbicides à base de glyphosate sur la santé humaine. Thèse de Doctorat. Faculté de Pharmacie. Université De Limoges, France .183p.(soutenue le 4 octobre 2013)
38. **Plumejeaud Sophie.,2016.** Evaluation des potentiels génotoxiques de particules atmosphériques et de poussières de sols dans les Observatoires Hommes – Milieux du Bassin Minier de Provence et d'Estarreja.thèse de doctorat. ECOLOGIE, Université Aix-Marseille ,France,185p.(soutenue le 19 janvier 2016)
39. **Priestmana M A., Funkea T., Singhb I M., Crupperb S S., Scho'nbrunna E .,2005.** 5-Enolpyruvylshikimate-3-Phosphate Synthase from *Staphylococcus Aureus* Is Insensitive to Glyphosate. *FEBS Letters*,579(3):728–732
DOI:<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.12.057>.

40. **Quillardet, P., Hofnung M.,1994.** Le SOS chromotest: des cellules bactériennes pour détecter et caractériser produits et radiations génotoxiques. *Radioprotection*,29(4) :539-556. DOI: <https://doi.org/10.1051/radiopro/1994005>
41. **Rajab, Abdul Jabbar Al. s. d.,2007.** Impact sur l'environnement d'un herbicide non sélectif, le glyphosate : approche modélisée en conditions contrôlées et naturelles . Thèse de Doctorat. Sciences Agronomiques , université de Lorraine,169p.(Soutenue 29 Juin 2007) .
42. **Rank J., Jensen AG., Skov B.,Pedersen L H ., Jensen K.,1993.** Genotoxicity Testing of the Herbicide Roundup and Its Active Ingredient Glyphosate Isopropylamine Using the Mouse Bone Marrow Micronucleus Test. *Salmonella* Mutagenicity Test, and Allium Anaphase-Telophase Test, *Mutation Research/Genetic Toxicology*.300(1):29–36 DOI:[https://doi.org/10.1016/0165-1218\(93\)90136-2](https://doi.org/10.1016/0165-1218(93)90136-2).
43. **Rueppel M L., Brightwell B B., Schaefer J., Marvel J T.,1977.** Metabolism and Degradation of Glyphosate in Soil and Water.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*,25(3): 517–528 DOI:<https://doi.org/10.1021/jf60211a018>.
44. **Schrader T.J.,2003.** CARCINOGENS | Carcinogenicity Tests, in *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* .Elsevier , 920–927. DOI: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00476-1.
45. **Seir Antonio Salazar Mercado a., Jesús David Quintero Caleño.,2019.** Cytotoxic Evaluation of Glyphosate, Using *Allium Cepa L.* as Bioindicator.*Science of The Total Environment*,700:1-8 DOI:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134452>.
46. **Solomon Keith ., Thompson Dean.,2003.** Ecological Risk Assessment for Aquatic Organisms from Over-Water Uses of Glyphosate, *Journal of Toxicology and Environmental Health*.Part B,6(3),289–324 DOI: <https://doi.org/10.1080/10937400306468>.
47. **Sprankle P., Meggitt W F., Penner D.,1975.** Adsorption, Mobility, and Microbial Degradation of Glyphosate in the Soil.*Weed Science*,23(3):229–34 DOI:<https://doi.org/10.1017/S0043174500052929>.
48. **Stults D M., Killen M W., Pierce A J., 2014.**The Sister Chromatid Exchange (SCE) Assay . in *Molecular Toxicology Protocols*. ed. by Phouthone Keohavong and Stephen G. Grant, *Methods in Molecular Biology* (Totowa, NJ: Humana Press, 2014), 1105:439–455 DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-62703-739-6_32.

49. **Sugimura T.,2000.**carcinogenesis .*Mutation Research*, 21 :387-39.DOI : <https://doi.org/10.1093/carcin/21.3.387>
50. **Tarek Arraj .,2015.** Conception d'un système d'élimination du glyphosate des eaux de drainage agricole.Thèse de Docteur . Ecotoxicologie, Université de Lorraine, 119p . (Soutenue le 14 décembre 2015).
51. **Truta E., VOCHITA G., ROSU C M., ZAMFIRACHE M M .,ZENOVIA O . ,2011.** Evaluation of Roundup-Induced Toxicity on Genetic Material and on Length Growth of Barley Seedlings.*Acta Biologica Hungarica*.62(3):290–301 DOI:<https://doi.org/10.1556/ABiol.62.2011.3.8>.
52. **Vander Meer QP,1993.** *Allium cepa*L. cv. Groupe Common Onion.In: Siemonsma
53. **Wierzbicka Anna .,1988)** *The semantics of Grammar*, Amsterdam/Philadelphia . John Benjamins Publishing Company, 18 :73-78. DOI : <https://doi.org/10.1093/ijl/7.1.73>

Site web :

1. **Ange Joseph .,2015.** Bases conceptuelles de tests de mutagénèse ou de génotoxicité,66 p, disponible sur l'adresse: <https://docplayer.fr/6108974-Bases-conceptuelles-de-tests-de-mutagenese-ou-de-genotoxicite.html>.
2. **Annie Bell Muzaurieta.,2008 .** L'USDA élimine le programme de surveillance des pesticides aux Etats-Unis . Disponible sur l'adresse : <https://combat-monsanto.org/les-produits-monsanto/pesticides/344-l-usda-elimine-le-programme-de-surveillance-des-pesticides-aux-etats-unis>.
3. **Bouziანი M.,2007.** L'usage immodéré des pesticides.de graves conséquences sanitaires. Le guide de médecin et de la santé. Santémaghreb. disponible sur l'adresse : <http://www.santemaghreb.com/Algerie/poivue51.htm>
4. **Calvet R., Barruiso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M P., Coquet Y.,2005.**Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales .Paris.France: France Agricole Editions ,637 p.Disponible sur l'adresse : <https://books.google.dz/books?id=YaSjZm4E0EwC&printsec=frontcover&dq=Les+pesticides+dans+le+sol:+cons%C3%A9quences+agronomiques+et+environnementales&hl=ar&sa=X&ved=2ahUKEwjliqelgfbrAhWxSxUIHYnnAaYQ6AEwAHoECAAQAg#v=onepage&q=Les%20pesticides%20dans%20le%20sol%3A%20cons%C3%A9quences%20agronomiques%20et%20environnementales&f=false>
5. **Chan Po C ., Mahler Joel F.,1992.** Administered in Dosed Feed to F344/N Rats and B6C3F1 Mice, Analytical Sciences.16.58p.disponible sur l'adresse : https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/st_rpts/tox016.pdf?utm_source=direct&utm_medium=prod&utm_campaign=ntpgolinks&utm_term=tox016 .
6. **Dajoz, R.,2012.** L'évolution biologique au XXIe siècle: les faits, les théories. Lavoisier.disponible sur

l'adresse : https://books.google.dz/books/about/L_%C3%A9volution_biologique_au_XXIe_si%C3%A8cle.html?id=3GxAaQyqG3gC&redir_esc=y

7. **Feingold J.,1986.** Rôle et signification du polymorphisme génétique dans les populations humaines.disponible sur l'adresse : file:///C:/Users/Acer/AppData/Local/Temp/MURS_1986_5_27.pdf
8. **Meyer C., ed. sc. 2020 .**Dictionnaire des Sciences Animales. [On line]. Montpellier, France, Cirad. [14/09/2020]. <URL : <http://dico-sciences-animales.cirad.fr/> >
9. **Ndjeri-Ndjouhou Marthe.,2012.**SYNTHESE ET CARACTERISATION DE LA BIRNESSITE ELECTRODEPOSEE : APPLICATION A LA DEGRADATION DU GLYPHOSATE.thèse de doctorat.Chimie,université Evry Val d'Essonne.276.disponible sur l'adresse : <https://scanr.enseignementsup-recherche.gouv.fr/publication/these2012EVR0001>.
10. **Pastoureau P.,2012.**EXTRAIT ÉTUDES & DOCUMENTS LES PESTICIDES DANS LES MILIEUX AQUATIQUES, DONNÉES 2007.TECHNIQUES CULTURALES SIMPLIFIÉES .68:18-31. disponible sur l'adresse : <http://agriculture-de-conservation.com/APPRENDRE-A-LIMITER-L-UTILISATION.html>.
11. **Rolf derpsch., 1998.**historical review of no-tillage cultivation of crops. Proceedings, The 1st JIRCAS Seminar on Soybean Research. No-tillage Cultivation and Future Research Needs.13:1-18 Disponible sur l'adresse : <https://www.researchgate.net/publication/284071839>
12. **Science policy .,2015.**BRUCE AMES, TESTING FOR CARCINOGENS.Disponible sur l'adresse : < <https://sciencepolicyivh.wordpress.com/2015/03/22/bruce-ames-testing-for-carcinogens/>>
13. **Scott M., May M., Manning J.,2007.**Agricultural Pesticide Formulations. SMARTtrain Chemical Notes 1.NSW Department Of Pirimary Industries.1- 6. disponible sur l'adresse : <https://fdocuments.in/document/agricultural-pesticide-formulations-smartrain-chemical-notes-1.html> .
14. **Temple Wayne.,2016.** 'Review of the Evidence Relating to Glyphosate and Carcinogenicity', Environmental protection authority.16. disponible sur l'adresse : <https://www.epa.govt.nz/assets/Uploads/Documents/Everyday-Environment/Publications/EPA-glyphosate-review.pdf>