

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE
LA TERRE ET L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Master

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

Étude de la génotoxicité des eaux de la rivière d'Oued Zenati (*Allium cepa* test)

Présenté par :

- ❖ Messaadi Mouna
- ❖ Rezgui Bouchra
- ❖ Zekri Ouahida

Devant le jury composé de :

- | | | |
|------------------------------|--------|----------------------|
| ❖ Président (e) : Pr.Grara N | Pr.. | Université de Guelma |
| ❖ Examinatrice : Dr. Tabet M | M.A.B | Université de Guelma |
| ❖ Encadreur : Dr. BOUMAZA A | M.C. B | Université de Guelma |

Septembre 2020

Remerciements

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

Nous tenons premièrement à remercier sincèrement notre
encadreur Dr. Boumaza Awatif, de nous avoir encadrées,
guidées et accompagnées dans ce travail ainsi que sa
compréhension et ses précieux conseils qui nous ont aidée
dans l'élaboration de ce mémoire de fin d'études malgré les
circonstances actuelles de pandémie de covid -19.

Notre sincère gratitude va à Pr. Grara Nedjoud, pour nous
avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nos remerciements vont à Dr. Tabet Mouna, pour avoir
accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous remercions le personnel des laboratoires de la faculté
des S.N.V.S.T.U – Université 8 Mai 1945

Dédicace

*Arrivé au terme de mes études, j'ai le grand plaisir de
dédier ce modeste travail: **A ma très chère mère***

*Affable honorable aimable Tu représentes pour moi le
symbole de la bonté par Excellence la source de tendresse
et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de
m'encourager et de prier pour moi.*

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond
amour. Puisse Dieu, le tout Puissant te préserver et
t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

A mon très cher père

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le
dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi.*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit
pour Mon éducation et mon bien être.*

*Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis
pour mon éducation et ma formation.*

A mes frères

*Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement,
l'amour et l'affection que je porte pour vous.*

A Mes très chères sœurs

Anges de ma vie.

*Je vous dédie Ce travail avec tous mes vœux de Bonheur,
de santé ET de réussite.*

A toute ma grande famille

*Ma grand-mère, mes tantes, mes oncles ainsi que mes
cousins et cousines...*

A toutes mes amis Tous ceux que j'aime et je respecte

A Mes professeurs dans mon parcours scientifique

A mes chères collègues

*A Mes amies avec lesquelles j'ai partagé cinq ans de ma
vie universitaire'*

MOUNA

Dédicace

Je dédie ce travail :

Aux deux êtres les plus chers,

MES PARENTS pour tout ce qu'ils m'ont

offert D'amour et d'affection

*Ma gratitude pour leur soutien tout au long de
mes études*

A mes sœurs et mes frères, que Dieu le bénisses

A mon mari

A mes chères collègues MOUNA ET

OUAHIDA

A tous mes collègues et mes amies

A toute ma promotion

A tous ceux que j'aime

BOUCHRA

Dédicace

Je dédie ce travail

*A ma mère **Defla Sabiha**, ma source d'amour et
mon guide de vie*

*A l'âme de mon Père **Ali**, l'homme d'exception*

*A mon frère : **Moustapha***

A mon mari

A mes chères collègues MOUNA ET

BOUCHRA

*A tous ceux qui m'ont aidé à atteindre et à
réussir spécialement mon oncle Boubguira*

Moustapha

Et A moi même

OUAHIDA

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Exemple de transfert et de bioaccumulation de la dioxine dans une chaîne alimentaire	11
02	Photos d'un émissaire principale rejetée dans l'Oued Zenati	15
03	les différents types de lésions primaires de l'ADN	17
04	Principe d'application du test d'Ames	18
05	L'espèce d' <i>Allium cepa</i>	21
06	Caryotype d' <i>Allium cepa</i>	22
07	La formation de SCD et SCE pendant premier, deuxième, troisième cycle d'incorporation de BrdU	24
08	Photographie du noyau dans le test de comète	25
09	Schématisation de la formation des micronoyaux	26
10	Des bulbes de l'oignon <i>Allium cepa</i> en culture	28
11	Induction des micronoyaux par le CuSO4 chez <i>Vicia faba</i> .	34
12	Formation d'agglomérats chromosomiques ou « stickiness » chez <i>Vicia faba</i> (CuSO4 , 1 mM)	35
13	Formation de ponts chromosomiques	35
14	Formation de fragments chromosomiques chez <i>Vicia faba</i> par le sulfate de cuivre (5 mM).	36
15	Différents types d'aberrations chromosomiques induites par CuSO4 (10 mM) chez <i>Vicia faba</i> .	36
16	Des anomalies chromosomiques dans les cellules des extrémités racinaires de <i>Capsicumannuum L.</i> lors de l'exposition à différentes concentrations de Nitrate de cadmium.	37

Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
01	Exemples des plantes étudiées et tests associés	20
02	classification systématique de l'oignon (<i>Allium cepa</i>)	21

Liste des abréviations

AC	Aberration chromosomiques
BrdU	5-bromodésoxyuridine
CNRS	Centre national de la recherche scientifique
Covid-19	Corona virus disease 2019
His	Histidine
IM	Indice mitotique
MN	Micronoyaux
MTH	Maladies à transmission hydrique
SAUR	société d'aménagement urbain et rural
SCE	Echange de chromatide sœurs

Résumé

Afin d'évaluer les effets génotoxiques dans les eaux polluées, nous avons essayé d'analyser les eaux de la rivière d'Oued Zenati, l'une des grandes rivières polluées de la wilaya de Guelma par l'exploitation du test d'*Allium cepa*. En raison des circonstances actuelles (**la pandémie du Covid-19**), nous n'avons pas pu achever le travail. Nous sommes décrit la démarche expérimentale suivie lors de la réalisation de notre étude, puis nous avons présenté et discuté les données et les résultats d'une recherche précédente réalisé et publié par **Tabet Mouna et ses collaborateurs en 2015**. L'étude porte sur l'évaluation de l'effet mutagène et génotoxique des eaux usées urbaines à Guelma. Dans cette recherche, trois sites de prélèvement sont pris en considération dans une station d'épuration (entrée de la station **S1**, site de clarification **S4** et la sortie de la station **S5**). En parallèle, certains métaux lourds (**Cd**, **Pb** et **Cu**) ont été analysés. Il est à noter que les prélèvements durant cette étude sont réalisés au cours d'une année dans les périodes suivantes : Avril 2012, Juillet 2012, Novembre 2012, Février 2013 et Avril 2013. Selon **Tabet et al. (2015)**, les résultats du test de génotoxité sur *Allium cepa* montrent qu'il y a un effet cytotoxique par la diminution de l'indice mitotique (IM) et un effet génotoxique par l'augmentation des aberrations chromosomiques (AC) par rapport au contrôle négatif. Les chercheurs supposent aussi l'existence d'une relation de causalité entre la présence des métaux lourds détectés et l'effet génotoxique après l'analyse des métaux lourds dans les échantillons examinés et qui a révélé la présence du Cd, Pb et Cu. Ces résultats confirment que le test *Allium cepa* est un excellent système de surveillance qui permet d'évaluer les effets toxiques et génotoxiques des milieux complexes.

Mots clés: *Allium cepa*, génotoxicité, pollution de l'eau

Abstract:

In order to assess the genotoxic effects in polluted waters, we tried to analyze the water of the Oued Zénati river, one of the large polluted rivers in the wilaya of Guelma, by using the *Allium cepa* test. Due to the current circumstances (**the Covid-19 pandemic**), we were unable to complete the work. We described the experimental approach followed when carrying out our study, then we presented and discussed the data and results of a previous research carried out and published by **Tabet Mouna and his collaborators in 2015**. The study concerns the evaluation of the mutagenic and genotoxic effect of urban wastewater in Guelma. In this research, three sampling sites are taken into consideration in a treatment plant (entrance to station **S1**, clarification site **S4** and exit to station **S5**). In parallel, some heavy metals (**Cd, Pb and Cu**) were analyzed. It should be noted that the samples during this study are carried out during one year in the following periods: April 2012, July 2012, November 2012, February 2013 and April 2013. **According to Tabet et al., (2015)**, the results of the genotoxicity test on *Allium cepa* show that there is a cytotoxic effect by the decrease in the mitotic index (MI) and a genotoxic effect by the increase in chromosomal aberrations (AC) compared to the negative control. The researchers also assume the existence of a causal relationship between the presence of the heavy metals detected and the genotoxic effect after the analysis of heavy metals in the samples examined and which revealed the presence of Cd, Pb and Cu. These results confirm that the *Allium cepa* test is an excellent monitoring system for assessing the toxic and genotoxic effects of complex media.

Key words: *Allium cepa* ,génotoxicity, water pollution

ملخص :

من أجل تقييم التأثيرات السامة للجينات في المياه الملوثة ، حاولنا تحليل مياه نهر واد زناتي ، أحد الأنهار الكبيرة الملوثة في ولاية قالمة ، باستخدام اختبار *Allium cepa*. نظرًا للظروف الحالية (وباء Covid-19) ، لم نتمكن من إكمال المهمة. وصفنا المنهج التجريبي المتبع أثناء تحقيق دراستنا ، ثم عرضنا وناقشنا بيانات ونتائج بحث سابق أجراه ونشره ثابت منى وآخرون في عام 2015. وتتعلق الدراسة بتقييم التأثير المطفر والسمي للجينات لمياه الصرف الصحي الحضرية في قالمة. في هذا البحث ، تم أخذ ثلاثة مواقع لأخذ العينات بعين الاعتبار في محطة المعالجة (مدخل المحطة S1 ، موقع التصفية S4 ومخرج المحطة S5). في موازاة ذلك تم تحليل بعض المعادن الثقيلة (الكاديوم والرصاص والنحاس). وتجدر الإشارة إلى أن العينات خلال هذه الدراسة تمت خلال عام واحد في الفترات التالية: أبريل 2012 ، يوليو 2012 ، نوفمبر 2012 ، فبراير 2013 وأبريل 2013. وفقًا لتأثيرات وآخرون (2015) ، فإن النتائج من اختبار السمية الجينية على *Allium cepa* أظهر وجود تأثير سام للخلايا من خلال انخفاض مؤشر الانقسام (MI) وتأثير السمية الجينية بزيادة الانحرافات الصبغية (AC) مقارنة بالتحكم السلبي. كما يفترض الباحثون وجود علاقة سببية بين وجود المعادن الثقيلة المكتشفة والتأثير السمي للجينات بعد تحليل المعادن الثقيلة في العينات التي تم فحصها والتي كشفت عن وجود الكاديوم والرصاص والنحاس. تؤكد هذه النتائج أن اختبار *Allium cepa* هو نظام مراقبة ممتاز لتقييم التأثيرات السامة والسمية للجينات للوسائط المعقدة.

الكلمات المفتاحية: *Allium cepa* ، السمية الجينية ، تلوث المياه

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumés

Introduction 1

Chapitre1: Synthèse bibliographique

1 La pollution 3

1.1 Définition de La pollution..... 3

1.2 Pollution de l'eau..... 3

2 Les différentes origines des pollutions hydriques..... 4

2.1 Pollution d'origine domestique..... 4

2.2 La pollution d'origine agricole 4

2.3 La pollution d'origine industrielle 5

3 Les différentes formes de polluants 5

3.1 Pollution chimique..... 5

3.1.1 Les pesticides..... 6

3.1.2 Les fertilisants 6

3.1.2.1 Pollution azotée 6

3.1.2.2 Pollution phosphatée 6

3.1.2.3 Polluants organiques 7

3.1.3 Pollution minérale 7

3.1.4 Pollution métallique..... 8

3.2 Pollution physique 8

3.2.1 Pollution radioactive..... 8

3.2.2 Pollution thermique 9

3.2.3 Pollution solide..... 9

3.3 Pollution biologique (microbiologique)..... 9

3.4	Autres formes de pollution	9
3.4.1	Les pluies acides	10
3.4.2	La pollution sonore	10
3.4.3	La pollution visuelle	10
4	Devenir des polluants dans les milieux aquatiques	10
5	Impact de la pollution des eaux	11
5.1	Sur l'environnement	11
5.2	Sur l'Homme:	12
5.3	Sur la faune et la flore	12
6	Pollution hydrique et génotoxicité.....	12
6.1	<i>In vitro</i>	13
6.1.1	Les critères de génotoxicité étudiés <i>in vitro</i>	13
6.2	<i>In vivo</i>	14
6.3	Milieux environnementaux hydriques étudiés	14
6.3.1	Eaux naturelles et eaux d'alimentation	14
7	Présentation de la région d'étude	15
8	La génotoxicité	16
8.1	Généralité.....	16
8.2	Tests de génotoxicité	17
8.2.1	Test de mutation génique sur procaryotes (Test d'Ames).....	18
8.2.2	Test de génotoxicité sur eucaryotes (plantes supérieures).....	18
8.2.2.1	L'importance des plantes supérieures en génotoxicité.....	18
8.2.2.2	<i>Allium cepa</i>	20
8.2.2.3	Les aberration chromosomiques (AC).....	23
8.2.2.4	Échange de chromatide sœurs (SCE).....	23
8.2.2.5	Test de comète.....	24
8.2.2.6	Test des Micronoyaux (MN).....	25

Chapitre2 : Matériel et méthodes

1. Matériel	28
1.1 Matériel biologique.....	28
1.2 Echantillonnage	28
1.3 Choix des stations de prélèvement.....	28

1.4	Méthode de prélèvement.....	29
1.5	Enregistrement et étiquetage des échantillons	29
1.6	Transport et conservation des échantillons avant l'analyse	29
2.	Procédure du test d'<i>Allium cepa</i>	29
2.1	Culture des bulbes.....	29
2.2	Fixation des extrémités racinaires.....	30
2.3	Coloration des extrémités racinaires	30
2.4	Examen des cellules des extrémités racinaires	31

Chapitre3: Résultat et discussion

1.	Résultat et discussion	33
	Conclusion et perspectives.....	39
	Références bibliographiques	41
	Annexe	51

Introduction

Introduction

L'eau est un élément très important pour la vie des êtres vivants quelle que soit leur classification. L'augmentation du taux des activités humaines spécialement industrielles et ses déchets dans l'environnement, les rejets des déchets domestiques et agricoles, provoque également de grands problèmes dans les différents écosystèmes y compris l'écosystème aquatique. Ces rejets contiennent des polluants ayant des caractères mutagènes et cancérigènes qui affectent le patrimoine héréditaire des êtres vivants.

Parmi les impacts environnementaux importants à caractériser, la génotoxicité, qui occupe une place très importante en écotoxicologie et en toxicologie de manière générale. Le test des aberrations chromosomiques sur *Allium cepa* constitue une méthode analytique qualitative et quantitative de cytotoxicité et génotoxicité.

Dans la présente étude, le but était d'étudier la toxicité et la génotoxicité des eaux de la rivière d'Oued Zénati par le test *Allium cepa*. Le grand problème d'Oued Zénati, est qu'il est un déversoir de tous les rejets, de la commune et de l'hôpital; il est aussi une décharge publique ouverte utilisé par les habitants à proximité de son lit, ses eaux sont utilisées pour l'irrigation à grande échelle tout le long de sa vallée, vraiment catastrophique !!

Malheureusement, cette étude n'a pas été achevée à cause des conditions imposées par **la pandémie du Covid-19**. Nous avons juste prélevé des échantillons des eaux d'Oued Zenati 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 d'une étude similaire portant sur la toxicité et la génotoxicité des eaux prélevées dans la wilaya de Guelma.

Ce mémoire s'organise en deux partie, une synthèse bibliographique décrivant le cadre scientifique dans lequel s'inscrit ce travail, en commençant par la pollution de l'eau et son origine ainsi que la relation entre l'eau polluée et son effet génotoxique, 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 d'une étude antérieure publiée par **Tabet M et al.(2015)** portant sur l'évaluation de l'effet mutagène et génotoxique des eaux usées urbaines à Guelma.

Chapitre 1

Synthèse

bibliographique

1 La pollution

La qualité de l'eau peut être altérée suite à des rejets polluants. Les milieux aquatiques sont susceptibles d'être affectés par un éventail très large de polluants qui peuvent être classés selon leur origine, leur nature et leur capacité à persister dans le milieu (**Chaguer, 2013**).

1.1 Définition de La pollution

La pollution, est une modification défavorable du milieu naturel qui apparaît en totalité ou en partie comme un sous-produit de l'action humaine au travers d'effets direct ou indirects altérant les critères de répartition, des flux de l'énergie, de niveau de radiation, de la constitution physique ou chimique du milieu naturel et de l'abondance des espèces vivantes (**François, 2002**).

Ces modification peuvent affecter l'homme directement ou à travers des ressources agricoles en eau et autres produits biologiques. Elles peuvent aussi l'affecter en altérant les objets physiques qu'il possède, les possibilités récréatives du milieu ou encore en enlaidissant la nature (**Ramade, 2005**).

1.2 Pollution de l'eau

La pollution de l'eau est actuellement placée en tête des problèmes de l'environnement, car l'eau est l'interface entre l'air et le sol, subit donc les dégradations de ces deux milieux (**Bouziane, 2000**).

La pollution de l'eau est peut être observée à différents niveaux dont on cite:

- ❖ Les nappes ou les sources d'eau par suite d'infiltration d'eaux usées (Fosses, latrines).
- ❖ Les eaux de surfaces: les fleuves; les rivières et les oueds qui sont rouilles usées (Fosses, latrines). par les déversements des eaux non traités.
- ❖ Les canalisations et les réseaux d'alimentations en eau (**Bouziani, 2000**).

Un milieu aquatique est dit pollué lorsque son équilibre a été modifié de façon durable par l'apport en quantités importantes soit de substances plus ou moins toxiques

d'origine naturelle ou issues d'activités humaines, soit d'eaux chaudes (**Cunningham et al., 2001**).

2 Les différentes origines des pollutions hydriques

L'activité humaine, qu'elle soit urbaine (usages domestiques, commerce, entretien des Rues), agricole (utilisation d'engrais et de pesticides) ou industrielle (chimie, papeterie, Industrie agroalimentaire, etc.), produit de grandes quantité de substances polluantes de toute nature qui sont à l'origine de différents types de pollutions (**CNRS, 2009**).

On trouve trois origines de pollution :

2.1 Pollution d'origine domestique

Les eaux usées domestiques non épurées représentent la principale source de pollution organique des eaux. Les eaux ménagères contiennent des détergents, des résidus organiques, des solvants, des parfums, des agents de blanchissage et des adoucissants (**Bekhouche, 2008**).

Les produits nettoyants domestiques sont constitués de milliers de produits chimiques de formes variées (de petites molécules simples à de grosses molécules très complexes) et dont la persistance dans l'environnement varie de quelques heures à quelques années (**Bekhouche, 2008**).

2.2 La pollution d'origine agricole

Cette pollution est due aux épandages des engrais (phosphates, nitrates) et des pesticides (herbicides, insecticides et fongicides) sur les terres agricoles (**Chibani, 2009**).

Les sources de pollution agricole sont de deux types : D'une part les engrais et les pesticides mal utilisés qui polluent les eaux souterraines (en s'infiltrant dans le sol avec l'eau de pluie et d'arrosage) et de surface (en ruisselant). L'emploi excessif d'engrais a fait sensiblement augmenter la quantité de nitrate dans les rivières et nappes phréatiques peu profondes. Et d'autre part, les effluents des élevages riches en composés azotés sous forme organique (déjection animale : fumier, lisier) ou minérale (chimique) (**Vilaginés, 2003 et Chapgier, 2005**).

2.3 La pollution d'origine industrielle

Les établissements industriels ont des productions très diverses (aliments, vêtements, pâte à papier, produits chimiques, etc.) et rejettent plusieurs types d'eaux usées, dont le volume et le degré de contamination sont très variables (1).

L'industrie est une grande consommatrice d'eau. Il ne faut pas moins de 300 litres pour fabriquer 1kg de papier, 1250 litres pour 1kg d'aluminium, 40 000 litres/seconde pour refroidir une centrale nucléaire. Ces eaux sales, (chargées en métaux lourds, hydrocarbures, solvants, matières organiques), si elles ne sont pas traitées dans une station d'épuration, entraînent une pollution physique et chimique du milieu naturel (CNRS, 2009).

3 Les différentes formes de polluants

Les polluants des eaux peuvent être classés de manières différentes, par exemple suivant leur nature chimique (minérale, organiques ou mixte) leur état physique (solides, liquides ou gazeux), les compartiments de l'environnement dans lesquels ils sont déchargés ou trouvés (local, non local ou diffuse) leurs sources, leurs effets, les organismes cibles qui peuvent être atteints,... etc. (CNRS, 2009).

3.1 Pollution chimique

La pollution chimique des eaux résulte de la libération de certaines substances minérales toxiques dans les cours d'eaux (Boudjelal et Djoudi, 2003).

On distingue parmi les produits chimiques ceux qui ont un effet néfaste à des concentrations de l'ordre de quelques milligrammes par litre – les micropolluants (ex : nitrates, phosphates, matière organique en suspension) et ceux qui sont toxiques à des concentrations beaucoup plus faibles – les micropolluants (ex : le plomb, les pesticides) (calaudi *et al.*,2011).

Les polluants chimiques sont classés à l'heure actuelle en cinq catégories: Les substances chimiques dites indésirables, les pesticides, les produits apparentés, les détergents et les colorants et autre éléments toxiques (Bouziani, 2000).

3.1.1 Les pesticides

Les pesticides sont des composés chimiques dotés de propriétés toxicologiques, utilisés par les agriculteurs pour lutter contre les animaux (insectes, rongeurs) ou les plantes (champignons, mauvaises herbes) jugés nuisibles aux plantations (**Le mercier, 2003**).

Les pesticides (insecticides, raticides, fongicides et herbicides) sont la cause d'une pollution diffuse des eaux de surface et des eaux souterraines (**SAUR, 2007**).

3.1.2 Les fertilisants

Les fertilisants ou bien les nutriments tels que le phosphore et l'azote sont essentiels à la croissance des organismes (plantes, invertébrés, algues, microorganismes,...etc.), Ils contiennent beaucoup de substances nutritives et quand ceux-ci gagnent les milieux aquatiques entraînant des déséquilibres importants dans la composition de ces milieux. (**Pullen, 2007**).

3.1.2.1 Pollution azotée

Elle rassemble l'azote organique, l'azote ammoniacal NH_4^+ , les nitrates NO_3^- et les nitrites NO_2^- : Les nitrates représentent le stade final de l'oxydation de l'azote. Naturellement présents dans le milieu, leur apport dans l'agriculture sous forme d'engrais fait aujourd'hui d'eux l'une de source majeure de pollution à long terme. Extrêmement solubles, ils rejoignent les eaux souterraines via le sol et se déversent dans les cours d'eau par ruissellement de surface ou de sub-surface (**Schmitzberger, 2008**).

3.1.2.2 Pollution phosphatée

Ces éléments nutritifs sont présents à l'état naturel dans l'eau, ils proviennent, à part égale, des activités agricoles et industrielles, des déjections humaines et des détergents ou lessives phosphatées (ortho phosphates, poly phosphates et organophosphorées). Les phosphates sont ajoutés dans ces dernières car ils ont la propriété de neutraliser l'action du calcaire. (**SAUR, 2007**).

En surplus dans le milieu naturel, ils sont la cause d'une prolifération anarchique des végétaux d'eau douce, entraînant ainsi une diminution d'oxygène dans l'eau et donc

l'asphyxie du milieu (Phénomène d'eutrophisation comparable à celui provoqué par un excès de nitrates) (**SAUR, 2007**).

Les phosphates sont les principaux responsables, dans le monde, des phénomènes d'eutrophisation et de dystrophisation. En effet, non toxiques en eux-mêmes pour la vie animale et végétale.

Par ailleurs, ils contribuent les nitrates avec les phosphates à modifier l'équilibre biologique des milieux aquatiques en provoquant des phénomènes d'eutrophisation, voire de dystrophisation.

Une solution efficace existe qui consisterait à déphosphorer les eaux usées dans les stations d'épuration, mais elle est très coûteuse (**Boucher et Margoum, 2003**).

3.1.2.3 Polluants organiques

Les matières organiques ont longtemps été les principaux polluants des milieux aquatiques. Elles proviennent des déchets domestiques (ordures ménagères, excréments), agricoles (lisiers) ou industriels (papeterie, tanneries, abattoirs, laiteries, huileries, sucreries...), lorsque ceux-ci sont rejetés sans traitement préalable (**Lévêque, 1996**).

Certaines substances organiques sont facilement biodégradables (fermentescibles) et peuvent donc être décomposés et éliminées grâce aux capacités naturelles d'autoépurations des milieux aquatiques (**CNRS, 2009**).

Certains d'autres sont non dégradables par les fermentations (non fermentescibles), autrement dit par l'action de micro-organismes vivants. Ces substances non biodégradables et imputrescibles (plastiques, etc.) s'accumulent et persistent à long terme (**Colas, 1976**).

3.1.3 Pollution minérale

La pollution minérale provient des matières minérales en suspension, qui se déposent par décantation et occupent le lit de la rivière. Elles proviennent de l'extraction des combustibles minéraux, des minerais, des matériaux de construction, des ateliers de lavage, de la transformation et du conditionnement de ces minerais ou matériaux. Mais aussi des substances minérales dissoutes, toxiques ou désagréables (**Colas, 1976**).

3.1.4 Pollution métallique

La pollution métallique peut être due à différents métaux comme l'aluminium, l'arsenic, le chrome, le cobalt, le cuivre, le manganèse, le molybdène, le nickel, le zinc... ou encore à des métaux lourds comme le cadmium, le mercure ou le plomb, plus toxiques que les précédents. De multiples activités humaines en sont responsables. Cette pollution provient en effet essentiellement :

- ❖ Des rejets d'usines, notamment de tanneries (cadmium, chrome), de papeteries (mercure)....
- ❖ Des épandages sur les sols agricoles d'**oligo-éléments** ou de boues résiduelles de stations d'épuration,
- ❖ De l'utilisation de certains fongicides (mercure),
- ❖ Des retombées des poussières atmosphériques émises lors de la combustion d'essence automobile (plomb),
- ❖ Du ruissellement des eaux de pluie sur les toitures
- ❖ Et les routes (zinc, cuivre, plomb).

La pollution métallique pose un problème particulier, car les métaux ne sont pas biodégradables. En outre, tout au long de la chaîne alimentaire, certains se concentrent dans les organismes vivants. Ils peuvent ainsi atteindre des taux très élevés dans certaines espèces consommées par l'homme, comme les poissons. Cette " bioaccumulation " explique leur très forte toxicité (**Boucher et Margoum, 2003**) et (2).

3.2 Pollution physique

On parle de pollution physique lorsque le milieu aquatique est modifié dans sa structure physique par divers facteurs (**Godnair, 2006**).

Il peut s'agir :

3.2.1 Pollution radioactive

Liée aux rejets des éléments radioactifs par les installations et les centrales nucléaires ainsi que les usines de traitement de déchets radioactifs (1)

3.2.2 Pollution thermique

D'un rejet d'eau réchauffée Dans beaucoup de procédés industriels, de la chaleur doit être rejetée dans l'environnement car c'est de la chaleur perdue. La manière la moins coûteuse de le faire est de pomper de l'eau dans l'étendu d'eau voisine, la faire passer à travers l'usine, et de rejeter cette eau réchauffée dans l'étendu d'eau. La chaleur qui est libérée dans l'eau a des effets négatifs sur toutes les espèces vivantes dans l'étendu d'eau. L'eau "chaude" diminue la solubilité de l'oxygène dans l'eau et elle pousse aussi les organismes vivants dans l'eau à respirer plus rapidement. Beaucoup d'organismes meurent par manque d'oxygène, ou deviennent plus sensibles aux maladies **(Godnair, 2006)**.

3.2.3 Pollution solide

D'un rejet liquide ou solide des sédiments ou matière en suspension ce qui conduit à une altération de la transparence diminution de l'absorption de la lumière par l'eau, modification de la turbidité du milieu (boue, limon, ...)... etc. **(Godnair, 2006)**.

3.3 Pollution biologique (microbiologique)

La contamination microbiologique est une forme de pollution de l'eau engendrée par la présence de microorganismes pathogènes**(3)**

La pollution microbienne est principalement liée aux eaux usées urbaines. Ces dernières sont très chargées en coliformes, bactéries pathogènes, virus et parasites **(Fjgarella et al., 2001)**. Qui sont d'origine fécal qui peuvent induire des maladies à transmission hydrique (MTH). les germes appartiennent aux espèces suivantes: Streptocoques du groupe D: dite *streptocoques* fécaux, *Clostridium-sulfio-* réducteurs **(Fjgarella et al.,2001)**. L'élimination de ces bactéries par les matières fécales contamine les égouts urbains, les eaux résiduaires hospitalières et les eaux de surface **(Debabza, 2005)**.

3.4 Autres formes de pollution

D'autres formes de pollution existent, mais elles sont perçues différemment selon les individus et selon les organismes **(Hondermark, 2009)** :

3.4.1 Les pluies acides

Elles résultent essentiellement de la pollution de l'air par des gaz (dioxyde de soufre et oxydes d'azote) et des particules, issus de différentes activités industrielles, de la combustion de produits fossiles riches en soufre, de la circulation automobile et de l'élevage industriel. Ces gaz se dissolvent dans la vapeur d'eau de l'atmosphère et sont oxydés en acides (notamment sulfurique et nitrique) qui acidifient les précipitations(4).

En atteignant le sol et les milieux aquatiques elle cause de nombreux dommages à la faune et à la flore (**Cravotta et al., 2003**).

3.4.2 La pollution sonore

Elle cause un stress à certaines espèces sensibles. Ce stress va se manifester par des troubles comportementaux, entraînant une baisse de la dynamique de l'espèce. Les animaux vont passer moins de temps à se nourrir, à rechercher un partenaire... (**Hondermark, 2009**).

3.4.3 La pollution visuelle

La plupart de la faune et de la flore n'est pas sensible aux différentes traces de l'homme. Par contre elle est sensible aux dérangements. Les promeneurs, les chasseurs ou les naturalistes qui s'aventurent trop souvent dans certains milieux sensibles causent des dégâts considérables, même s'ils ne tuent pas directement. C'est pour cela qu'il est nécessaire de maintenir des zones interdites au public. Le dérangement des espèces est un gros problème actuel (**Hondermark, 2009**).

4 Devenir des polluants dans les milieux aquatiques

Les activités humaines sont à l'origine de l'émission d'une grande variété de polluants dont la plupart se retrouve finalement dans les milieux aquatiques, Selon leur nature et leur origine, les polluants peuvent concerner des zones géographiques réduites (pollution locale) ou être transportés dans l'eau ou l'atmosphère et contaminer l'ensemble de la planète (pollution globale), La très grande majorité des polluants est entraînée par ruissellement et drainage dans les cours d'eaux et par infiltration dans les nappes souterraines. Lorsqu'ils sont disséminés par le vent, les polluants retombent inévitablement

avec les eaux de pluies, parfois à de grandes distances de leur point d'émission (**Alafri, 2010**).

Dans les milieux aquatiques, les polluants peuvent suivre différents trajets, plus ou moins longs. Certains polluants sont dégradés très rapidement par des réactions chimiques, sous l'effet de la lumière, ou encore grâce à l'intervention de microorganismes (biodégradation) (**Valerie et al., 2004**).

D'autres polluants, dits persistants, contaminent durablement les milieux aquatiques, soit en restant dans l'eau et surtout dans les sédiments, soit en passant dans les organismes vivants et dans certains cas s'accumulent dans les chaînes alimentaires "bioaccumulation" (**figure 01**) (**Valerie et al., 2004**).

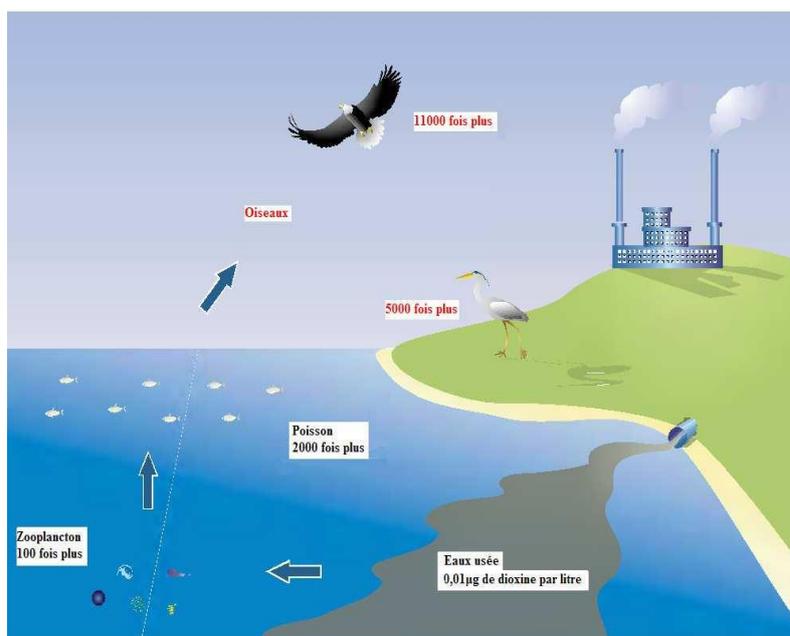


Figure 01: Exemple de transfert et de bioaccumulation de la dioxine dans une chaîne alimentaire (Niemann, 2008).

5 Impact de la pollution des eaux

5.1 Sur l'environnement

La pollution des eaux a un nombre d'effets : en outre elle produit des changements complexes dans les eaux réceptrices et affecte les usages ultérieurs de l'eau de différentes manières plus ou moins apparent.

On distingue trois types de désutilités, de gravité croissante : les polluants peuvent d'abord nuire à l'agrément de la vie, ils peuvent ensuite à la santé de l'homme, ils peuvent enfin menacer la survie même de l'espèce (5).

5.2 Sur l'Homme:

Les causes des maladies à transmission hydrique sont multiples, et c'est essentiellement la pollution des eaux superficielles par les rejets des eaux usées aggravés par une pluviométrie insuffisante et irrégulière. L'Homme peut être affecté par une pathologie cutanée ou par d'autres maladies telles que : la typhoïde, le choléra grâce à une consommation par voie digestive d'eau contaminée par des matières fécales, ou par des mains sales.

La conjonctivite aussi est une maladie à transmission hydrique qui est liée à la pratique des bains, et aux séjours sur le sable des plages polluées (Vilgines, 2000).

5.3 Sur la faune et la flore

Ces substances nocives concentrées dans les eaux usées peuvent détruire les êtres vivants et les végétaux dans les rivières et les lacs, ainsi que les micro-organismes qui interviennent dans l'épuration biologique des eaux usées (Souiki *et al.*, 2008).

L'altération que l'on peut constater dans la végétation de certains étangs ou les cours d'eau sont souvent le témoin d'une pollution directe par des produits toxiques, ainsi, l'apport trop important d'éléments nutritifs peut induire une prolifération intense d'algues aboutissant au phénomène de l'eutrophisation qui limite les possibilités de la vie aquatique. L'équilibre des espèces des poissons peut de ce fait être perturbé par la diminution du taux d'oxygène dissous (Dajoz, 2006).

6 Pollution hydrique et génotoxicité

Le contrôle de la toxicité des micropolluants dans les milieux hydriques se limite encore actuellement à la seule évaluation de leur toxicité aiguë. L'impact à moyen et long terme des pollutions hydriques n'est pas étudié dans les contrôles de routine et reste encore du domaine de la recherche.

Depuis quelques années cependant, il s'est développé au sein de la communauté scientifique réelle prise de conscience du risque génotoxique lié au rejet dans l'environnement de molécules chimiques au caractère mutagène et cancérogène (**Godet et al., 2005**).

Cela s'est traduit par le développement d'études de génotoxicité des milieux environnementaux situés dans des zones « à risques » ou contaminées par des rejets d'origine industrielle ou agricole. Ces études ont permis de mettre en évidence et d'évaluer un risque génotoxique, et de déterminer les méthodes et les essais à mettre en œuvre pour le quantifier.

Les essais utilisés dans un premier temps ont été ceux développés pour l'évaluation du potentiel génotoxique des substances chimiques : ces essais *in vitro*, sensibles et relativement faciles à mettre en œuvre.

La recherche de conditions d'essai plus représentatives de la réalité environnementale a conduit progressivement au développement de méthodes d'essai *in vivo*, sur des organismes supérieurs et organismes aquatiques en particulier, applicables sur échantillons bruts, mais également *in situ*. (**Godet et al., 2005**).

6.1 In vitro

Les essais *in vitro* réalisés sur cellules eucaryotes ou procaryotes sont fondés sur la détection des mutations géniques et chromosomiques, ou la mesure des adduits à l'ADN. Ils constituent des systèmes d'épreuve miniaturisés qui requièrent des volumes d'échantillons faibles ; ils se prêtent ainsi au dépistage à grande échelle de la génotoxicité et à l'étude des concentrats et des extraits préparés à partir des milieux contaminés. Ils sont cependant moins bien adaptés à la prédiction de l'impact des micropolluants sur l'environnement (**Godet et al., 2005**).

6.1.1 Les critères de génotoxicité étudiés in vitro

Peuvent être utilisés dans le cadre d'études écoépidémiologiques, sur le terrain, afin d'évaluer l'impact réel des micropolluants présents dans les milieux environnementaux sujets à des contaminations d'origines diverses. (**Godet et al., 2005**).

6.2 *In vivo*

La recherche de conditions d'essai plus proches de la réalité environnementale a conduit au développement des essais *in vivo* réalisés sur organismes supérieurs, mollusques, poissons ou amphibiens, qui évaluent un potentiel génotoxique à partir d'études cytogénétiques ou d'études du caryotype des organismes exposés. (**Godet et al., 2005**).

6.3 Milieux environnementaux hydriques étudiés

6.3.1 Eaux naturelles et eaux d'alimentation

Les lacs et les cours d'eaux sont généralement le réceptacle de rejets d'origine industrielle ou domestique ; mais ils peuvent être également l'objet de pollutions d'origine agricole, par lessivage des sols ou encore de pollutions d'origine atmosphérique.

Ces rejets augmentent la charge en matières organiques des eaux superficielles. Dans le cas où ces eaux de surface sont utilisées pour préparer des eaux destinées à la consommation humaine, leur contamination peut se répercuter sur la qualité des eaux d'alimentation. Ainsi, dès (**Bellar et al., 1974**) signalaient la formation de composés halo (formes mutagènes par action du chlore sur la matière organique), lors de la potabilisation des eaux par chloration.

L'essai de génotoxicité le plus fréquemment utilisé est le test d'Ames réalisé à l'aide de mutante *His-de Salmonella typhimurium*, sur les fractions concentrées des micropolluants, plus rarement sur l'échantillon brut.

D'autres essais *in vitro* que le test d'Ames ont été employés pour ce type d'étude. Ils mettaient en œuvre des cultures de cellules de mammifères et faisaient appel à des critères de mesure de la génotoxicité tels que les échanges de chromatides sœurs (SCE), la formation d'aberrations chromosomiques (AC) ou celle de micronoyaux (MN). Ces essais se sont avérés de sensibilité équivalente sinon supérieure à celle des essais sur procaryotes.

Ces essais ont été utilisés pour tester directement les eaux brutes, sans passer par une étape préalable de concentration des micropolluants ; ceci constitue un avantage certain au plan de la représentativité des résultats et de l'évaluation du risque au niveau

environnemental. Ces essais utilisent les mêmes critères de mutations chromosomiques que les tests *in vitro* : échanges de chromatides sœurs, aberrations chromosomiques et micronoyaux. La durée d'exposition dans les études de (Prein *et al.*, 1978), et de (Jaylet *et al.*, 1987) reste courte (3 à 12 jours) à l'échelle de la durée de vie de ces organismes aquatiques.

7 Présentation de la région d'étude

Le cours d'eau "Oued Zenati", représente le plus important oued du réseau hydrographique de la commune qui porte d'ailleurs son nom, il comprend également plusieurs chaâbats de moindre importance et qui se présente comme des affluents de la commune (Bouchàala, 2010).

Au-delà de la ville d'Oued Zenati l'oued passe par Bordj Sabbat, où il reçoit l'Oued El-Meridj qui vient des plateaux de Constantine; L'ensemble affluent à l'Oued Bouhamdane et par conséquent finissent dans Oued Seybouse (figure 02) (Niox, 2005).



Figure 02:Photos d'un émissaire principale rejetée dans l'Oued Zenati

(Berkani et Legrini ,2015).

Le grand problème d'Oued Zenati, est qu'il est un cloaque à ciel ouvert. Sa position le rend le seul déversoir de tous les rejets, de la commune et de l'hôpital; il est aussi une décharge publique ouverte utilisé par les habitants à proximité de son lit. Ses eaux son utilisé pour l'irrigation à grand échelle tout le long de sa vallée. Ainsi il est considéré

comme une source de pollution et de maladies à transmission hydrique (bactériennes et parasitaires) et représente donc une plaie qui devrait être soigné (**Bouchaala, 2010**).

Oued Zenati, a longtemps souffert des crues dévastatrices de l'oued qui la traverse et qui a causé ces dernières années des pertes humaines et des dégâts aux habitations précaires Érigées le long de ses berges (**6**).

8 La génotoxicité

8.1 Généralité

Le terme de génotoxicité se réfère à l'effet d'agents, dits génotoxiques, qui interagissent avec l'ADN et/ou la machinerie cellulaire qui maintient l'intégrité du génome. Il s'agit notamment des radiations ionisantes, capables de provoquer directement des dommages et cassures à l'ADN, des substances chimiques souvent électrophiles, qui directement ou après bio activation par des systèmes enzymatiques adéquats, vont se lier à l'ADN pour former des adduits. Ces adduits vont pouvoir être responsables de cassures et de pontage de l'ADN, d'erreurs de réplication et de substitution de bases. Ces lésions de l'ADN peuvent conduire à la mort cellulaire si les dommages sont très importants mais elles peuvent aussi être réparées par la machinerie cellulaire et il n'y aura alors pas de conséquence pour la cellule. Si la réparation est imparfaite, incomplète ou absente, les lésions vont alors conduire à des mutations, qui sont permanentes et irréversibles, et qui peuvent impliquer des gènes individuels (mutation génique), des blocs de gènes (mutation génomique) ou des chromosomes (mutation chromosomique). Les mutations conduisant à des cassures des chromosomes sont appelées clastogènes tandis que celles se traduisant par des anomalies de la ségrégation chromosomique sont appelées aneugènes (**Fardel et al., 2009**).

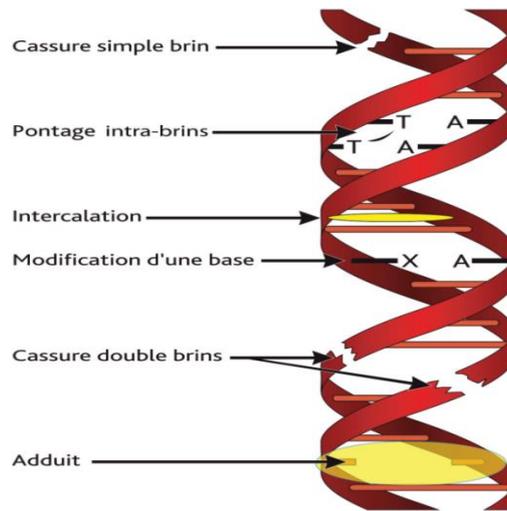


Figure 03 : les différents types de lésions primaires de l'ADN (**Bickman et Smolen, 1994**).

8.2 Tests de génotoxicité

Les tests de génotoxicité sont appliqués depuis longtemps dans le monde pour la surveillance du risque mutagène/cancérogène chez des travailleurs exposés à des agents génotoxiques. Ils sont un outil, le seul pour l'instant, pour pouvoir évaluer les effets précoces, prédictifs du risque de cancer, de l'exposition à des agents génotoxiques (**Eslava, 2004**).

Il est utile de rappeler que pour qu'un test soit valable, il doit satisfaire aux conditions suivantes :

- ❖ Etre commode à réaliser et ne comporter aucun risque pour le sujet.
- ❖ Fournir des résultats précis et reproductibles avec un minimum d'erreurs analytiques possibles.
- ❖ L'information obtenue doit être quantitativement significative en termes de risque pour la santé d'un individu ou d'un groupe d'individus (**Pilliére et Falcy, 1991**).

Selon le modèle utilisé on peut dire qu'il existe deux types des tests de génotoxicité :

- ❖ **tests appliquées sur les procaryotes** : test de mutation réverse sur des bactéries *Salmonella thyphimurium* (Test d'Ames).
- ❖ **Tests appliquées sur les eucaryotes** comme le test des aberrations chromosomiques sur *Allium cepa*.

8.2.1 Test de mutation génique sur procaryotes (Test d'Ames)

Le test d'Ames, parfois appelé test à *Salmonella* 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 dans le test sont des souches porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation His⁻ rend les souches incapables de se développer sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, ces mutations His⁻ reversent spontanément vers His⁺: les cellules retrouvent leur capacité à croître sur un milieu dépourvu d'histidine. Cette fréquence de réversion peut augmenter en exposant les bactéries His⁻ à des agents mutagènes. Ainsi, le test d'Ames permet de quantifier l'induction de ces mutations réverses His⁺ (Mortelmans et Zeiger, 2000).

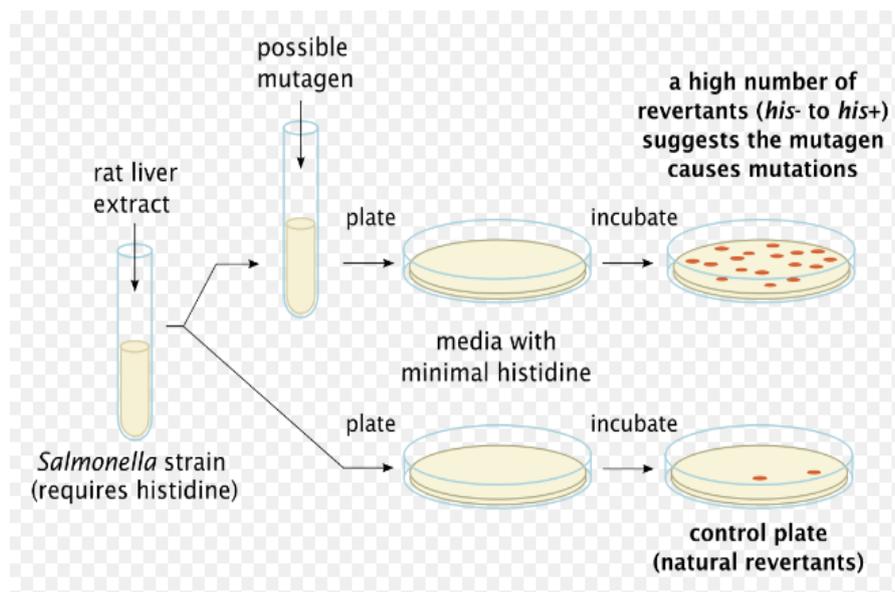


Figure 04: Principe d'application du test d'Ames (Maron et Ames, 1983).

8.2.2 Test de génotoxicité sur eucaryotes (plantes supérieures)

8.2.2.1 L'importance des plantes supérieures en génotoxicité

L'utilisation des plantes dans les tests biologiques est une aide afin de détecter des contaminations génotoxiques dans l'environnement. Les systèmes végétaux peuvent fournir des informations à propos d'une large gamme de dommages génétiques comprenant les mutations et les aberrations chromosomiques (Passagne et L'Azou, 2010).

Les cellules mitotiques des racines ont été utilisées pour détecter la clastogénicité potentielle de polluants, plus particulièrement pour la surveillance *in situ* des contaminants de l'eau (Passagne et L'Azou, 2010).

Les végétaux supérieures représentent d'excellents candidats pour évaluer la toxicité en général et en particulier la génotoxicité de substances chimiques et de matrices complexes grâce à leurs nombreux avantages en terme de:

❖ Représentativité

- Les réponses des végétaux aux agents mutagènes/cancérogènes sont similaires à celles des animaux, ce qui peut être expliqué en partie par la similitude de la morphologie et du fonctionnement des chromosomes entre les systèmes végétaux et animaux, tous deux eucaryotes.
- Les deux systèmes de division des cellules sont présents chez les plantes : la mitose dans les cellules somatiques (racines, étamines, etc...) et la méiose dans les cellules germinales (cellules de pollen).
- L'un des grands avantages des plantes, qui se rapporte plus particulièrement à *Vicia* et à *Allium*, est leur disponibilité. En effet, les graines de fève et les bulbes d'oignon sont disponibles toute l'année et dans la majeure partie des pays (Cotelle, 1999).

❖ Faisabilité

- De nombreuses parties végétales peuvent être utilisées pour examiner les effets génotoxiques : les feuilles, les racines, les bourgeons, les fleurs etc.
- Un grand nombre de plantes possèdent des chromosomes de grande taille, par exemple *Allium cepa* ($2n = 16$), *Pisum sativum* ($2n = 14$), clones de *Tradescantia* ($2n = 12$), *Vicia faba* ($2n = 12$) et *Crepis capillaris* ($2n = 6$), offrent d'excellents systèmes de cytogénicité et permettent la détection des aberrations chromosomiques lors de la méiose et de la mitose ainsi que l'endommagement de l'ADN.
- Aucune préparation des matrices à tester n'est nécessaire, pas de filtration, ni d'ajustements de pH qui permet de tester les effluents, les lixiviats et même les sols directement dans leur état brut sans aucune modification (Cotelle, 1999).

❖ Sensibilité

- Les plantes permettent de détecter des critères de génotoxicité nombreux et variés : mutations, cassures de chromosomes, aberrations chromosomiques, échanges de chromatides sœurs, etc...

- Les tissus végétaux constituent, pour la plupart, le siège de transformations métaboliques complexes capables d'activer les pro mutagènes, de la même façon que chez les animaux (**Cotelle,1999**) tests de génotoxicité associées aux plantes supérieures (tableau 01).

Tableau 01 : Exemples des plantes étudiées et tests associés (**Cotelle, 1999**).

	<i>Tradescantia</i>	<i>Vicia faba</i>	<i>Allium cepa</i>
Nombre de chromosome	2n=12	2n=12	2n=16
Les Tests de génotoxicité	- Micronoyau. -Aberrations chromosomiques. -Echange de chromatide sœurs.	-Division mitotique. -Aberrations chromosomiques. -Micronoyau.	-Division mitotique. -Aberrations chromosomiques. -Micronoyau. -Echange de chromatide sœurs. -Test des Comètes.

8.2.2.2 *Allium cepa*

Allium cepa l'oignon, fait partie de la famille des alliacées. Différentes variétés d'oignon peuvent être utilisées. Cette plante est cultivée dans de très nombreux pays pour son usage alimentaire (**Grant, 1982**).



Figure 05: L'espèce d'*Allium cepa* (Neuman, 2002).

❖ Classification systématique de l'oignon

Tableau2 : 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.

Les membres de cette section sont diploïdes avec caryotypes homogènes caractérisés par le nombre de chromosomes de base $x = 8$, dont trois se sont révélés métacentriques, trois chromosomes submétacentriques et deux chromosomes acrocentriques (Akhavan *et al.*, 2015).

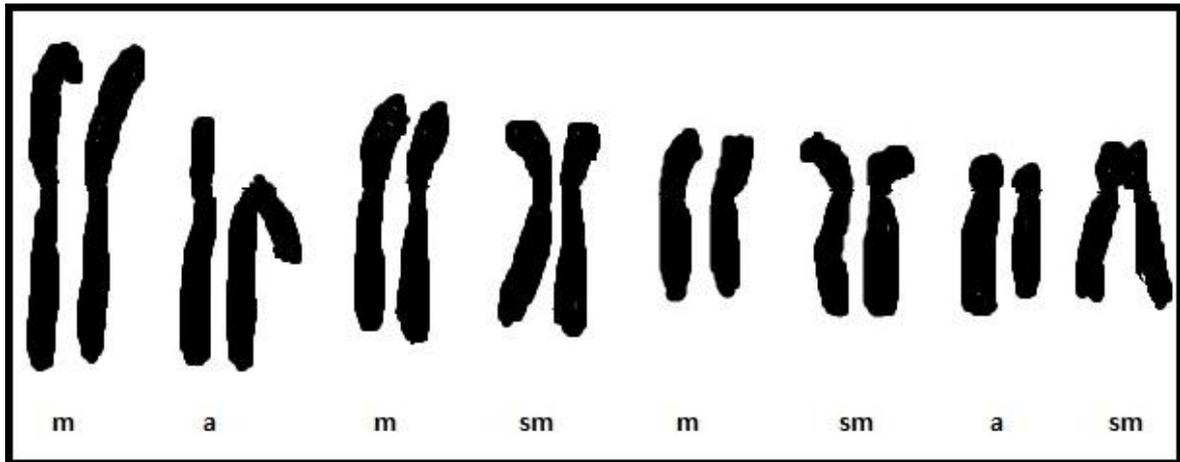


Figure0 6: Caryotype d'*Allium cepa* (Chakraborty *et al.*, 2016).

Allium cepa permet l'évaluation de divers critères de toxicité et de génotoxicité. Pour ce qui est de la toxicité, contrairement à *Vicia faba*, l'élongation racinaire d'*Allium cepa* est très souvent déterminée en parallèle avec les études de génotoxicité. Ce critère présente une bien meilleure répétabilité et une plus grande facilité de mesure pour *Allium* que pour *Vicia* car les racines d'*Allium* poussent de façon très homogène et forment ensemble des racines de longueur égale (Cotelle, 1999).

Les racines d'*Allium cepa* ont surtout été utilisées pour évaluer le nombre d'aberrations chromosomiques. Ce critère s'est avéré très sensible pour détecter le potentiel génotoxique de produits chimiques, métaux, produits phytosanitaires ou autres substances organiques. **La revue de Grant 1982** a montré que, sur 148 produits chimiques étudiés avec ce test, 76% ont donné une réponse positive.

Ce test s'est également montré efficace dans l'étude de la génotoxicité de :

- Sols prélevés dans la région de Tchernobyl et présentant une forte radioactivité.
- Lixiviats de déchets d'industries métallurgiques et chimiques.
- Eau de rivière.
- Eau de pluie dans des régions industrialisées.
- Effluents industriels.
- Effluents de papeteries et d'industries métallurgiques et chimiques.
- Effluents de raffinerie de pétrole.
- Effluents de tannerie.
- Effluents d'industries, pétrochimiques.

D'autres critères ont aussi été étudiés dans les racines *d'Allium cepa*: les échanges de chromatide sœur et très récemment, le test des comètes. Enfin, de la même façon que dans le cas de *Vicia faba*, le critère « micronoyaux » évalué dans les racines *d'Allium* est de plus en plus utilisé dans les études de génotoxicité (test *Allium*-MCN). Au niveau de la sensibilité des deux tests, quelques études sur *Allium cepa* ont démontré qu'il y avait peu de différences entre le test des micronoyaux et le test des aberrations chromosomiques (Cotelle, 1999).

8.2.2.3 Les aberrations chromosomiques (AC)

Les aberrations chromosomiques (AC) sont caractérisés par des changements dans la structure chromosomique ou dans le nombre total de chromosomes, qui peuvent se produire à la fois spontanément et par suite de l'exposition à des agents physiques ou chimiques. Les altérations chromosomiques structurales peuvent être induites par plusieurs facteurs, tels que les ruptures d'ADN, l'inhibition de la synthèse de l'ADN et la réplication de l'ADN altéré. Pour évaluer les anomalies chromosomiques par le test *d'Allium cepa*, plusieurs types d'AC sont pris en compte dans les différentes phases de la division cellulaire (prophase, métaphase, anaphase et télophase). Cependant, cette analyse n'est pas simple à réaliser car elle nécessite une connaissance précise des phases de division cellulaire et de leurs éventuelles anomalies (Leme et Marin-Morales, 2009).

Le test d'aberration chromosomique *in vitro* est pratiqué chez les plantes au niveau de la zone méristématique et chez les animaux au niveau des cellules des mammifères en culture. Il permet de détecter les agents polluants qui provoquent des anomalies touchant la structure des chromosomes (Marcano *et al.*, 2004).

8.2.2.4 Échange de chromatide sœurs (SCE)

Ce test analyse des anomalies chromatiniennes survenant en réponse à l'exposition à un génotoxique. Les échanges de chromatides sœurs entre chromosomes découlent de cassures dans l'ADN et de la réversion des fragments brisés à une position presque équivalente après échange entre les deux chromatides sœurs d'un même chromosome et par conséquent leur formation dépendent de la phase S du cycle cellulaire ou des processus de duplication de l'ADN. Le test est applicable pour tester *in vivo* et *in vitro* les effets d'une exposition à des agents génotoxiques sur des cellules (Firbas et Amon, 2013).

Les techniques permettant la visualisation des SCE impliquent l'exposition des cellules à la 5-bromodésoxyuridine (BrdU), un analogue de la thymine, durant deux réplification successives, de telle façon que les chromosomes des cellules en seconde division possèdent l'une des chromatides dont un des brins de l'ADN seulement a un incorporé de la BrdU, tandis que l'autre à incorporé dans les deux brins (**Léonard, 1990**). De telles chromatides dont les deux brins de l'ADN ont incorporé de la BrdU, ne se colorent plus normalement ou montrent une coloration beaucoup plus pale lorsqu'on utilise des colorants appropriés. La chromatine ayant incorporé de la BrdU montre une altération des liaisons entre l'ADN et la protéine non-histones (**Léonard, 1990**).

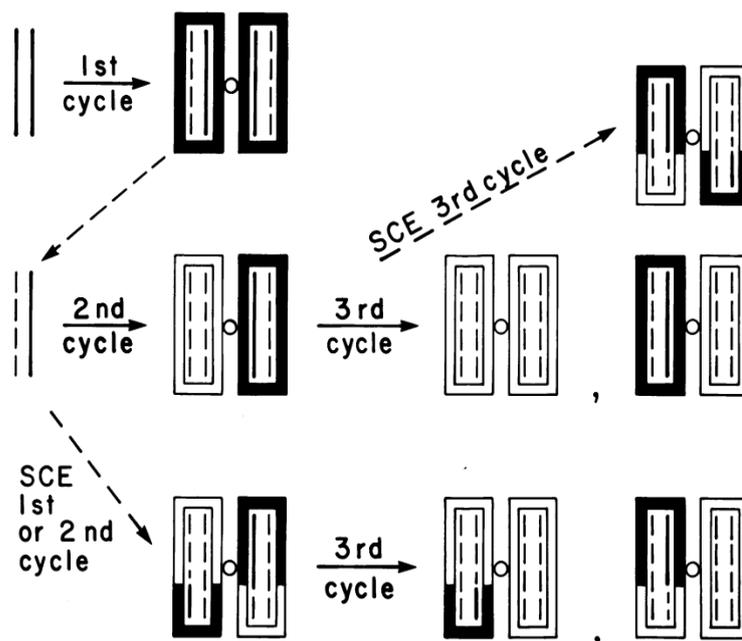


Figure07: la formation de SCD et SCE pendant premier, deuxième, troisième cycle d'incorporation de BrdU (**Samuel et al ., 1980**).

8.2.2.5 Test de comète

Le test des comètes est une technique simple, rapide, et sensible permettant de quantifier les cassures simple et double brins de l'ADN. Il permet de mesurer les cassures induites directement par un agent génotoxique ou lors des processus enzymatiques de réparation des dommages ou encore lors de processus secondaires de fragmentation de l'ADN intervenant par exemple au cours de la mort cellulaire programmée. Ce test consiste à séparer les noyaux des cellules isolées dans un champ électrophorétique, en milieu fortement alcalin. Les noyaux dont l'ADN a subi des cassures prennent alors une forme de

comète tandis que les noyaux dont l'ADN n'est pas endommagé apparaissent sous forme d'un disque régulier. Une évaluation semi quantitative (classement en quatre catégories) ou quantitative (évaluation du taille moment) des taux de dommages peut ensuite être réalisée (Figure08) (Ostling et Johanson, 1984).

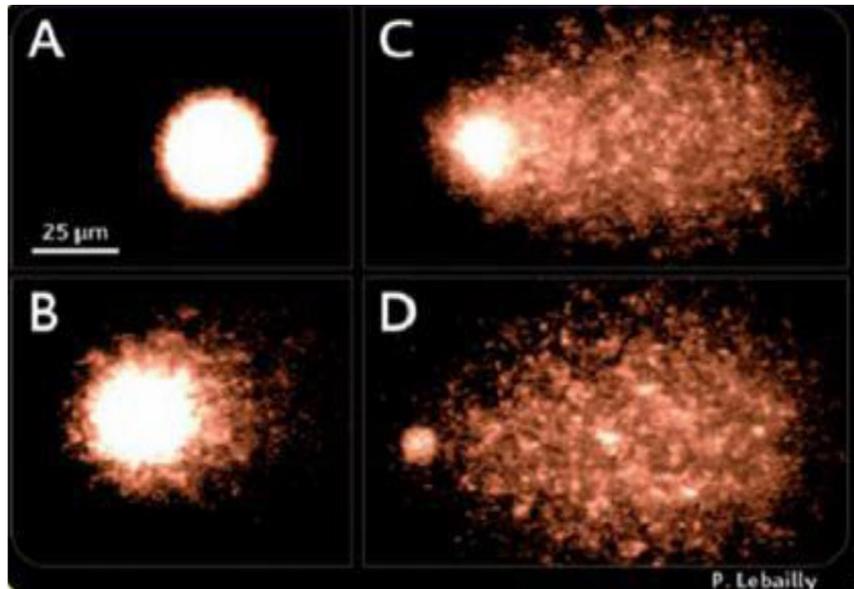


Figure 08 : Photographie du noyau dans le test de comète :

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

8.2.2.6 Test des Micronoyaux (MN)

Le test des micronoyaux (ou Test MCN) constitue un outil valable pour déterminer la génotoxicité des métaux lourds, des pesticides, des radiations, des boues, qui appliqué sur les cellules méristématiques des extrémités racinaires de plusieurs espèces ont été utilisés pour tester l'effet génotoxique de divers agents polluants (Soughir, 2009).

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 (Ortega, 2000).

Les MN ont été considérés le paramètre le plus efficace et le plus simple pour analyser l'effet mutagène induit par les produits chimiques. Ceci est dû au fait que le MN

résulte de dommages, non ou mal réparés, dans les cellules parentales, étant facilement observable dans les cellules filles comme une structure similaire au noyau principale, mais dans une taille réduite. Ainsi, les MN découlent du développement de certaines AC, par exemple, des ruptures et des pertes chromosomiques (Leme *et al.*, 2009).

La taille du MN peut être un paramètre efficace pour évaluer les effets clastogéniques et aneuogéniques chez *A. Cepa*, car cette espèce présente un caryotype symétrique, homogène par rapport à la taille chromosomique, avec de grands et peu de chromosomes ($2n = 16$) (Leme *et al.*, 2009).

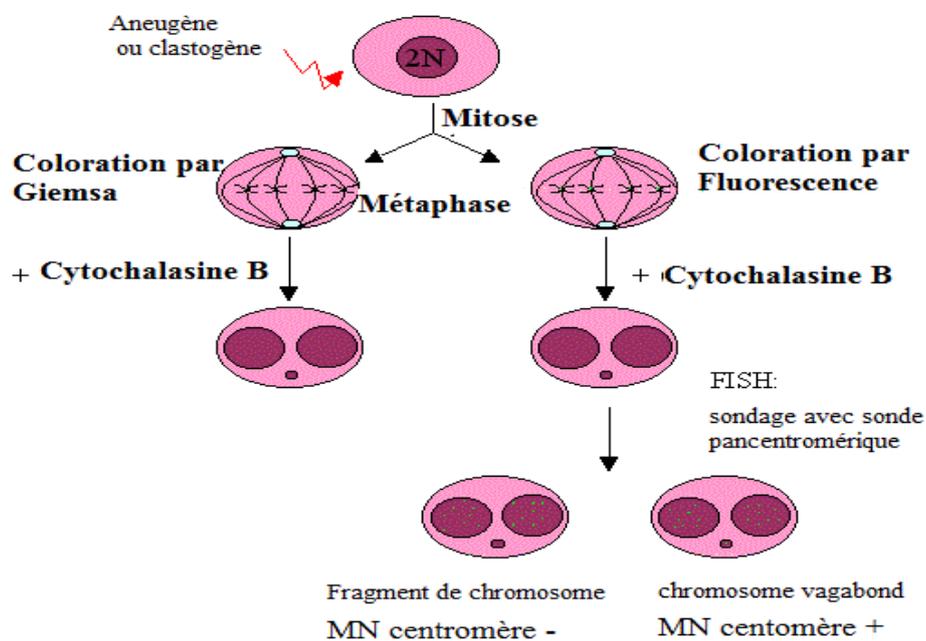


Figure 09: Test de micronoyaux (Fenech *et al.*, 2003).

Chapitre 2

Matériel

Et

Méthodes

1. Matériel

1.1 Matériel biologique

L'oignon (*Allium cepa*) : des bulbes de l'oignon *Allium cepa* sont obtenus du marché local à Guelma. Le diamètre des bulbes varie entre [3 et 3,5 cm], 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 (figure 10).



Figure 10. Des bulbes de l'oignon *Allium cepa* en culture (Ghennam *et al.*, 2015)

1.2 Echantillonnage

Un échantillon correctement prélevé, dans un récipient stérile, selon un mode opératoire Précis évitant toute contamination accidentelle, correctement transporté au laboratoire (Rodier *et al.*, 1996).

1.3 Choix des stations de prélèvement

Pour contribuer à l'évaluation de la toxico génétique de l'eau de rivière d'oued zenati nous avons choisi trois points de prélèvement : en avant, en medium et en aval de la ville d'oued zenati. La totalité de nos études toxico génétiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de biologie d'université de Guelma.

1.4 Méthode de prélèvement

Pour une eau de surface (eau superficielle), les flacons stériles sont plongés à une distance de 30 cm de la surface assez loin des bords, ainsi que des obstacles naturels ou artificiels. Le prélèvement de nos échantillons a été effectué manuellement sur des points de prélèvement fixes en utilisant des flacons stériles de 500 ml, rincés au moment de l'emploi avec l'eau à examiner. Les flacons sont ouverts sous l'eau, dirigés contre-courant, ensuite le bouchon est également placé sous l'eau de telle façon qu'il n'y est aucune bulle d'air et qu'il ne soit pas éjecté au cours du transport. Les récipients ne sont pas remplis complètement. Selon (**Rodier et al.1996**), il faut toujours laisser un espace d'air d'au moins 2,5 cm entre la surface du liquide et le bouchon, ce qui facilite l'homogénéisation et un mélange correct de l'échantillon au moment de son analyse en laboratoire

1.5 Enregistrement et étiquetage des échantillons

Il est essentiel que les échantillons soient clairement étiquetés immédiatement avant les prélèvements et que les étiquettes soient lisibles et non détachables. Dans ces derniers, on doit noter avec précision : la date, l'heure, les conditions météorologiques, un numéro et toutes circonstances anormales (**Lightfoot, 2002**).

1.6 Transport et conservation des échantillons avant l'analyse

Les échantillons soigneusement étiquetés sont placés dans une glacière et transportés ensuite au laboratoire.

2. Procédure du test *d'Allium cepa*

L'analyse génotoxique est réalisée par le test d'aberrations chromosomiques sur *Allium cepa*. Cet essai est basé sur la détection des aberrations chromosomiques dans les racines *d'Allium cepa*, le protocole de ce test est inspiré de celui de (**Recep et al., 2010**).

2.1 Culture des bulbes

Une série de trente oignons ont été placées dans de l'eau distillée pendant 48 h. Il s'agit de placer les bulbes germés sur un tube contenant l'échantillon (l'eau polluée) à tester de façons à ce que seules les racines soient immergées.

On commence l'essai lorsque les racines naissantes atteignent 15-20 mm de longueur, en utilisant une série de cinq bulbes pour chaque groupe de contrôle. Toutes les 24 heures, les solutions d'essai sont remplacées par des solutions fraîches. Après 96 heures, de l'exposition aux échantillons testés les racines sont récoltées. Afin de limiter la variabilité intra individuelle, cinq répliques par échantillon présentant la moyenne croissance racinaire sont conservées pour les critères étudiés.

2.2 Fixation des extrémités racinaires

Les racines sont nettoyées à l'eau distillée et les deux derniers centimètres sont prélevés et fixés à 4°C pendant une durée minimale d'une nuit dans un mélange éthanol/acide acétique glacial (3V : 1V) fraîchement préparé. Ce mélange appelé solution de fixation Carnoy est très instable. Il peut se produire une estérification s'il n'est pas préparé au moment de l'utilisation.

L'éthanol a pour effet de précipiter et dénaturer les protéines, de dissoudre certains lipides et de durcie les tissus. L'acide acétique est un bon fixateur des chromosomes, il précipite les protéines du noyau.

Les extrémités racinaires sont ensuite conservées pour un long terme dans 2,5 ml d'éthanol à 70% après 3 lavages successives à l'aide de cette solution.

2.3 Coloration des extrémités racinaires

Les extrémités racinaires sont alors placées dans l'eau distillée pendant 10 min, hydrolysées dans HCL 1N pendant 8 min et à nouveau transférées dans de l'eau distillée pendant 5 min, changer l'eau distillée 3 fois (5min/fois). Les racines sont ensuite colorées à l'obscurité avec le réactif Feulgen pendant 20 min à 25min, après la coloration, les racines sont ensuite transférées dans de l'eau distillée pendant 2 min.

Il s'agit ensuite de poser les racines sur les lames et couper la partie claire de la partie foncée et celle-ci est coupée en très petits morceaux. Mettre sur chaque racine une goutte de 45% d'acide acétique glacial, couvrir par une lamelle et appuyer par un papier filtre.

Enfin fixer les bords de la lamelle par un vernis à ongle numéro 00 (transparent) pour éviter l'évaporation de la solution et permettre une bonne observation microscopique dans la journée même de la préparation de la lame à étudier.

2.4 Examen des cellules des extrémités racinaires

Les cellules sont examinées au microscope optique en utilisant l'objectif $\times 640$ pour l'indice mitotique et l'objectif $\times 960$ pour les aberrations chromosomiques. Pour le MI, les différentes étapes de mitose ont été comptées dans un total de 5000 cellules (1000 cellules / lame) et exprimées en pourcentage. Pour les aberrations chromosomiques, 100 cellules par lame étaient examinées.

Chapitre 3

Résultats

Et

Discussion

1. Résultats et discussion

Dans la présente étude, le but était d'étudier la toxicité et la génotoxicité des eaux de la rivière d'Oued zenati par le test *Allium cepa* en prenant en considération trois paramètres: L'inhibition de l'élongation racinaire, 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 en résumé et discuter des résultats de certaines études similaires portant sur la toxicité et la génotoxicité des eaux prélevées dans la wilaya de Guelma.

Dans ce contexte, nous avons pu identifier une seule étude publiée en **2015** et réalisée par **Tabet Mouna et ses collaborateurs** dans la wilaya de Guelma. Cette étude porte sur l'évaluation de l'effet mutagène et génotoxique des eaux usées urbaines à Guelma.

Pour l'étude génotoxicologique, les auteurs de cette recherche ont utilisé le test des aberrations chromosomique sur *Allium cepa*. Dans ce test, trois sites de prélèvement sont pris en considération dans une station d'épuration (entrée de la station S1, site de clarification S4 et la sortie de la station S5). En parallèle, certains métaux lourds (Cd, Pb et Cu) ont été aussi analysés. Il est à noter que les prélèvements durant cette étude sont réalisés au cours d'une année dans les périodes suivantes : Avril 2012, Juillet 2012, Novembre 2012, Février 2013 et Avril 2013. Selon (**Tabet et al.,2015**) les eaux usées testées sur *Allium cepa*, en comparant au contrôle négatif, se sont révélées cytotoxiques par la diminution de l'IM, et également génotoxique en augmentant la fréquence des ACs à S4 en avril 2012, à S5 en juillet 2012, à S5 en février 2013, et à S4 et S5 en Avril 2013. L'analyse des métaux lourds dans les échantillons examinés a révélé la présence du Cd, Pb et Cu.

Tabet et ses collaborateurs ont suggéré la présence d'une relation de causalité entre la présence des métaux lourds détectés et l'effet génotoxique observé avec les échantillons examinés.

Ces conclusions supportent les résultats obtenus par l'étude de (**Souguir et al., 2009**) qui porte sur les effets génotoxiques du Cuivre chez la fève : *Vicia faba* et le pois : *Pisumsativum*. **Souguir et ses collaborateurs** ont trouvé que le cuivre cause un accroissement du taux de micronoyaux dans les deux plantes (**figure 11**).

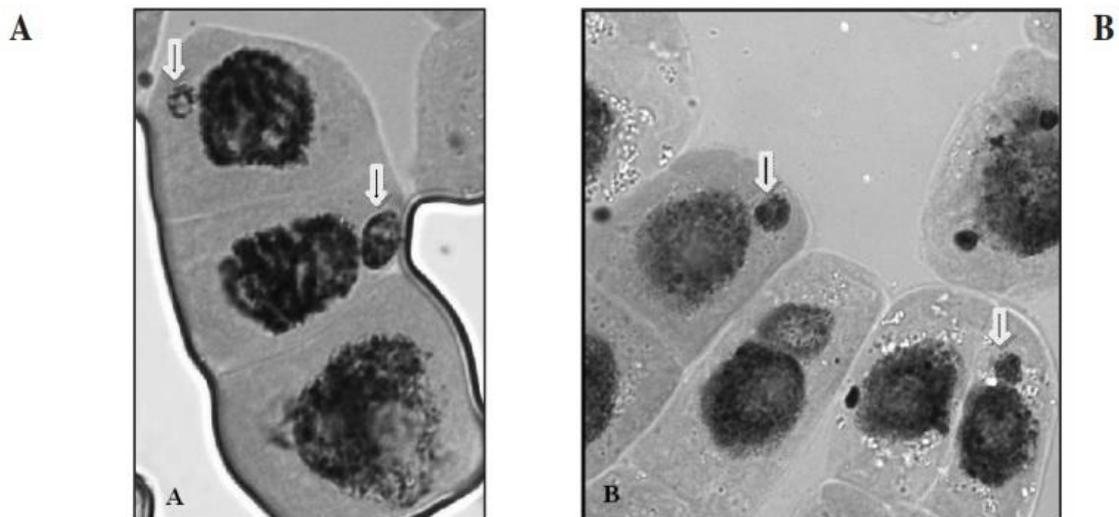


Figure 11 : Induction des micronoyaux par le CuSO4 chez *Vicia faba*. A: CuSO4 (5 mM); B: CuSO4 (10 mM); les flèches indiquent les micronoyaux (**Souguir et al., 2009**)

L'analyse cytologique des cellules d'extrémités racinaires montre des effets clastogéniques et aneugéniques de cet élément sur les méristèmes de racines de ces plantes. Le cuivre induit des altérations chromosomiques aux plus faibles concentrations utilisées (2,5 mM), après une incubation de 42 heures, montrant le potentiel mutagène de cet élément. Plusieurs types d'anomalies chromosomiques ont été observés dans ces méristèmes racinaires (**Souguir et al., 2009**)(Figures 12,13,14).

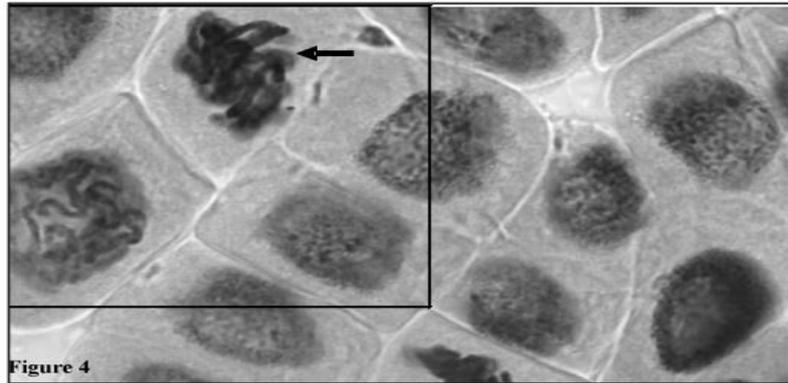


Figure 12 : Formation d'agglomérats chromosomiques ou « stickiness » chez *Vicia faba* (CuSO₄ , 1 mM) ; les flèches indiquent les zones d'adhérence chromosomique (« stickiness »)(Souguir *et al.*, 2009).

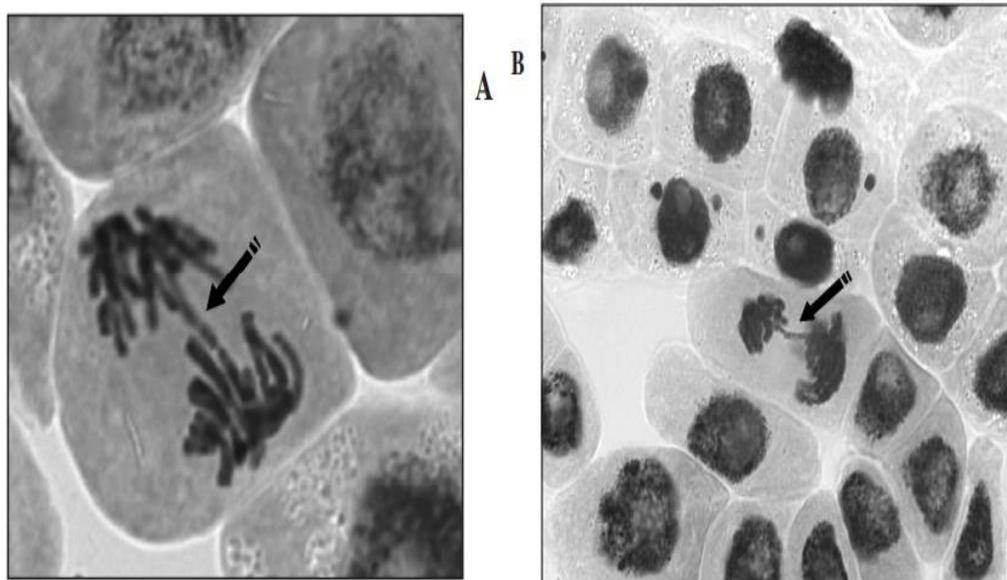


Figure 13 : Formation de ponts chromosomiques (A) chez *Pisumsativum* (CuSO₄ 5 mM) et (B) chez *Vicia faba* (CuSO₄ 2,5 mM) (→: pont chromosomique) (Souguir *et al.*, 2009)

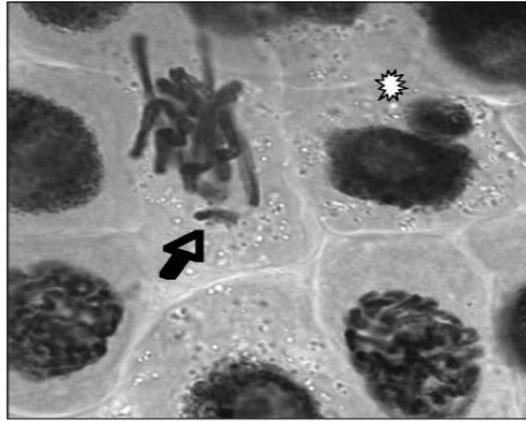


Figure 14 : Formation de fragments chromosomiques chez *Vicia faba* par le sulfate de cuivre (5 mM). La flèche indique un fragment chromosomique et le point indique un micronoyau (Souguir *et al.*, 2009).

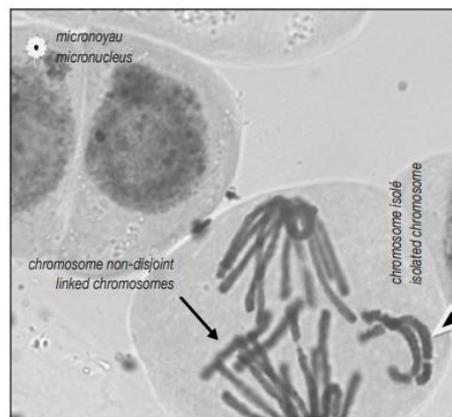


Figure 15 : Différents types d'aberrations chromosomiques induites par CuSO₄ (10 mM) chez *Vicia faba* (Souguir *et al.*, 2009).

La génotoxicité du cuivre est due à la production de radicaux hydroxyles et d'espèces réactives de l'oxygène à travers la réaction de Fenton qui peuvent provoquer la mort cellulaire (Souguir *et al.*, 2009).

La disponibilité du cuivre devient un problème croissant vis-à-vis de l'ensemble des organismes vivants, incluant les plantes. Il provient de son utilisation systémique comme fongicide, algicide ou bactéricide en agriculture, ce qui donne une idée concernant son origine dans les eaux usées étudiées par (Tabet *et al.*, 2015).

Différentes études portant sur la génotoxicité du cadmium (cd) en utilisant différents systèmes et tests rapportent son effet génotoxique. (Aslam R *et al.*, 2014) ont observé des anomalies chromosomiques dans les cellules des extrémités racinaires de *Capsicum annuum* L. lors de l'exposition à différentes concentrations de Nitrate de cadmium (figure 16).

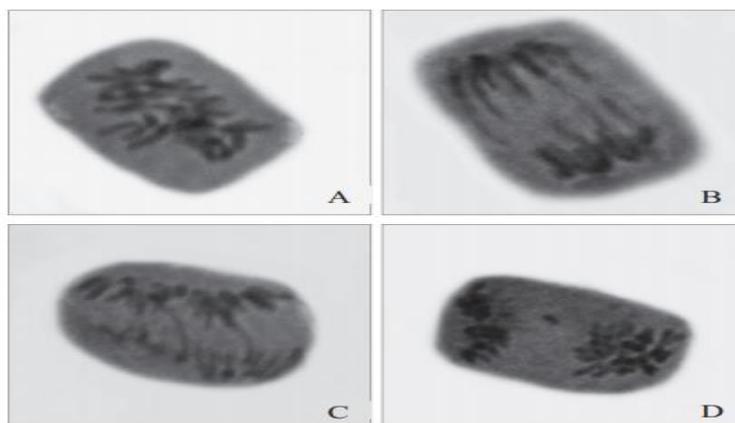


Figure16:Des anomalies chromosomiques dans les cellules des extrémités racinaires de *Capsicum annuum* L. lors de l'exposition à différentes concentrations de Nitrate de cadmium ,(A) chromosomes perturbés, (B) chromosome liés à l'anaphase I, (C) pond à l'anaphase et (D) chromosome perdu à l'anaphase I (Aslam *et al.*, 2014).

L'étude de (Belliardo *et al.*, 2018), portant sur l'interaction directe avec l'ADN et l'impact génotoxique de trois métaux: cadmium, nickel et aluminium, montre que le cadmium peut se lier à l'ADN en causant un effet génotoxique, mais cet ion métallique ne casse pas directement l'ADN, cependant, cette liaison pourrait être un site préférentiel pour les dommages dus aux espèces réactives de l'oxygène.

Concernant le plomb, (García *et al.*, 2010), ont rapporté dans leur revue des études qui mettent en évidence des mécanismes indirects de génotoxicité tels que l'inhibition de la réparation de l'ADN ou la production de radicaux libres. Une étude plus récente (Kiran *et al.*, 2013), portant sur la génotoxicité et la cytotoxicité induites par le plomb dans les cellules racinaires d'*Allium cepa* et *Vicia faba*, montre que le Pb peut produire un stress oxydatif chez *A. cepa* et *V. faba* ce qui pourrait être la cause de cassures de brins d'ADN conduisant à la génotoxicité. Les mécanismes par lesquels le Pb cause la génotoxicité sont complexes et ne sont pas encore bien comprises (Kiran *et al.*, 2013).

Conclusion

Et

Perspectives

Conclusion et perspectives

L'applicabilité de tests à base de plantes *in vivo* en utilisant les racines d'*A. cepa* ainsi que l'analyse physico-chimique et cytogénotoxiques pour l'évaluations des eaux usées semble être une démarche fiable permettant de déterminer les risques encourus à cause de ces eaux.

Le test a révélé un potentiel cytotoxique et un potentiel génotoxique élevé des eaux testées. En présence des métaux lourds, ces effets néfastes peuvent être expliqués au moins en partie par la toxicité de Cu, Pb et qui se sont révélés dangereux et génotoxiques dans d'autres recherches.

Considérant la sécurité humaine et écologique, les systèmes de tests *in vivo* tels que les tests à base de racines d'*A. cepa*, *Vicia faba* ...etc, les tests semblent être des outils complémentaires prometteurs pour le cyto-génotestage de la toxicité des eaux de surface et les eaux traitées. Ces systèmes de test *in vivo* pourraient être appliqués dans la mesure du possible comme outils complémentaires pour le dépistage du potentiel de cytogénotoxicité en combinaison avec l'analyse physico-chimique conventionnelle.

En perspective, l'étude approfondie de la pollution des eaux de la rivière d'Oued Zenati est fortement recommandé surtout que ces eaux sont utilisées dans l'irrigation. Dans ce contexte, des analyses physicochimiques et toxicologiques sur différents systèmes *in vitro* ou *in vivo* sont nécessaires et constituent les premiers paramètres à prendre en considération.

Références bibliographiques

Références bibliographiques**A**

1. **Alafri , (2010)**.Contribution à l'étude de la pollution des eaux du bassin de la Seybouse : cas des rejets industriels de l'unité du marbre et des carrelages. (Suivi de la qualité physicochimique et bactériologique). Mémoire de magister université de Guelma.
2. **Akhavan , Saeidi , Zarre, Rahiminejad , (2015)**.Chromosome numbers and karyotype features of selected species of *Allium*L. (Amaryllidaceae) sect. Iran. J. Bot. 21 (2): 158-164.
3. **Arthur et Bloom, (1980)**,SisterChromatid Exchange Analysis Samuel A. Lattl et Rhona R. Schreck, Société Américane de Génétique Humaine, New yor).
4. **Aslam, Ansari, Choudhary, MohsinBhat, Jahan Saudi, (2014)**.Genotoxic effects of heavy metal cadmium on growth, biochemical, cyto-physiological parameters and detection of DNA polymorphism by RAPD in *Capsicum annuum* L. – An important spice crop of India . Journal of Biological Sciences 21, 465–472 K.

B

5. **Bellart, lichtenberg, kronerr, (1974)**. The occurence of organohalides in chlorinateddrinking water.J. Amer. Water worksasn.66, 703-706.
6. **Bekhouche , (2008)**. Effets des eaux usées sur quelques paramètres physiologiques et biochimiques du blé dur (*Triticumdurum*Desf.) Dans la Région d'Ouargla. Thèse de Doctorat, Université d'Annaba, Algérie, 88 p.
7. **Berkani et legrini (2015)**.Caractérisation hydrochimique de l'oued zenati (nord-est algérien) dans sa partie amont. Mémoire de master. Université de guelma.
8. **Bernard, (2013)** intérêts et validation de marqueurs précoces de génotoxicité environnementale. Sciences de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement cotoxicologie. Université Lille. 316 p.

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

10. Boudjelal, Djoudi (2008), pollution de l'oued boussellem par les eaux usées urbaines et industrielle et impact de leur utilisation dans l'irrigation. Thèses ing, tatho des écosystèmes universitaires, Stif : p 6-13.

11. Bouchàala, (2010).contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de l'oued zenati (guelma).mémoire de magister université de guelma.

12. Bouzaini, (2000). L'eau de la pénurie maladie. Ed. IBN-KHALDOUN. , Oran: 59-64. Bureau d'étude et de réalisation des ouvrages U.R.T.O, PADV de Hassi ben abdellah Phase 1 : rapport d'orientation:p1-4.

C

13. Calaudi, Delorme, Delorme, Fraigne, Fraysse, Larsonnier,(2011), Qualité de l'eau et lutte contre la pollution : faut-il distinguer protection de la santé et protection de l'environnement ? p64.

14.Catherine Belliaro, CaroleDi Giorgio, Florence Chaspoul, Philippe Gallice, David Bergé-Lefranc October,(2018) Direct DNA interaction and genotoxic impact of three metals: Cadmium, nickel and aluminium .The Journal of Chemical ThermodynamicsVolume 125, Pages 271-277

15. Chaguer, (2013). Analyse et spéciation des métaux dans un oued en zone minière cas de l'oued essouk 130p.

16. Chakraborty ,BasuRoy, Sinha, Ray, Kumar Mitra , (2016).Rhodotorulaspp.Asapotent antimutagen to prevent chromosomal aberration in *Allium Cepa* as a result of prolonged UV exposure. World Journal of Pharmaceutical Research.Vol 5, Issue 3, 890-903.ISSN 2277– 7105.

17. Chapgier, Leone, Carlot, Combe, (2005). Livret ressources : Eau, fleuves et patrimoine. La Direction de l'Eau du Grand Lyon et l'Agence de l'Eau Rhône Méditerranée. P.63.

18. Chibani. (2009), Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et microbiologique des eaux de surface et souterraine de la région de Ain Makhlouf .Wilaya de Guelma, Mémoire de Magister ; Université de 8 Mai 1945, p104 .

19. CNRS, (2009). Centre national de la recherche scientifique. Education à l'environnement « La pollution d'eau ».Disponible sur le site Internet : www.environnement.ecoles.free.fr/menaces-et-avenir-pollution.htm.

20. Colas, (1976). La pollution des eaux. 4 emme édition de la collection « que sais-je ». Paris (*presse universitaire français*). P.128.

21 .Cotelle, (1999). Etude de la génotoxiques de matrice complexe à l'aide de plantes Supérieures. Thèse de doctorat. Université Ecotoxicologie, Biodiversité et Santé

22. Cravotta, Paris, (2003). L'eau source de vie et d'inspiration. Article de la 6e.science-langues disponible sur le site Internet : www.Users.swing.be/eaurope-riteaupluies%acides.htmenvironnementale, Paris, 247p.

23. Cunningham et al., (2001). Environmental Encyclopedia, JaicoPubl House, Mumbai, 1196 p.

D

24. Dajoz , (2006). Précis d'écologie. Dunod, Paris. Page 631.

E

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

F

26. Fardel , Vernhet , Nouvel , Jung , Legrand , (2009).Utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance de l'exposition des travailleurs dans l'industrie du traitement et recyclage des déchets. Rapport final.Etude N° 07-0667/1A p73.

27. Fenech , Chang , Kirsch-Volders , Holland , Bonassi , Zeiger , (2003). "HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures." *Mutat Res.*, 534(1-2):65-75.

28. Firbas , Amon , (2013).*Allium* Chromosome Aberration Test for Evaluation Effect of Cleaning Municipal Water with Constructed Wetland (CW) in Sveti Tomaž, Slovenia. *J BioremedBiodeg* 4: 189. Doi:10.4172/2155-6199.1000189, ISSN: 2155-6199.

29. François, (2002). Dictionnaire encyclopédique d'écologie et de science de l'environnement. 2^{ème} édition DUNOD. Paris .704p.

G

30. García-Lestón, Méndez, Pásaro, Laffon, (2010), Genotoxic effects of lead: An updated review, Pages 623-636 <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.04.011> Environment International Volume 36, Issue 6.

31. Ghennam, Himeur, Nafaa, (2015). Étude de la génotoxicité du pesticide « Topik 80 » *in vivo* (*Allium cepa* test). Mémoire de master université de Guelma.

32. Grant, (1982).Chromosome aberration assays in *Allium*. Report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox program, *Mutation Research* 99: 273-291.

33. Godet, Vasseur, Sabut, (2005). Essais de génotoxicité *in vitro* et *in vivo* applicables à l'environnement hydrique réseau. *Revue des sciences de l'eau / journal of Water science*, 6 (3), 285–314. <https://doi.org/10.7202/705177ar>.

34. Godnair, Mottini, (2006). Dossier spécial forum mondial de l'eau : Rareté de l'eau (mythe ou réalité ?). Rubrique de l'Irréductible Galois. *Didier* .P. 44

H

35. Hondermark, (2009). La pollution des mares. Article publié sur le site [le mare.com](http://www.collegeahuntsic.qc.ca/pagesdept/Sc_Sociales/psy/methosite/consignes/correlation.htm)http://www.collegeahuntsic.qc.ca/pagesdept/Sc_Sociales/psy/methosite/consignes/correlation.htm.

J

36. Jaylet, gautier, fernandez, (1987). Detection of mutagenicity in drinking water using a micronucleus test in new tlarvae(pleurodeleswaitl). *Mutagenesis*, 2 (3), 211-214.

L

37. Le mercier, (2003). La pollution par les matières phosphorées en Bretagne. Sources, Transfert Et moyenne de lutte. Direction régional de l'environnement Bretagne. 85p.

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

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

40. Lightfoot, (2002). Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau. Directive pour l'assurance qualité. France. 387 p.

41. Lévêque , (1996). Ecosystèmes aquatiques. *Hachette supérieure*. P.160.

M

42. Mortelmans, Zeiger, (2000). The Ames *Salmonella*/microsomal mutagenicity assay. *Mutat. Res* 455: 29-60.

43. Maron, Ames, (1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*. 113, 173-215.

44. Marcano , Carruyo , Del campo , Montiel , (2004). Cytotoxicity and mode of action of Maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa*. *Environ. Res.* 94: 221-226.

N

45. Neuman , (2002). Effets métaboliques et interactions médicamenteuses provoqués par certaines substances d'origine végétale: pamplemousse, millepertuis et ail. La Presse médicale, 31(30), 1416-1422

46. Noix, (2005). Algerie et tunisie 2^{ème} édition. Région de l'est (province de constantine). Géographie militaire. 47p.

O

47. Ostling, Johanson, (1984).Microelectrophoretic study of radiation induced DNA damages in individual mammalian cells.Biochemical and Biophysical Research Communications, 123, 291298.

48. Ortega, Fenech, (2000).The in vitro micronucleus technique. Mutation Research. 455:81–9.

P

49. Pillière, Falcy , (1991). Exposition aux produits chimiques génotoxique. Fiche medico- technique. Institut National de recherche et de sécurité, Paris, 330- 336.

50. Preina, thie ,alinkg .koemanj,(1978). Cytogenetic Changes in fishex posed to water of the riverrhine. Sci. Total environ. 9, 287-291.

51. Pullen, Wendy, (2007). Article surles différents types de la pollution des eaux. Disponible sur le site Internet : www.lovetoknow.com

R

52. Ramade, (2000).Dictionnaire encyclopédique de la pollution. Edition internationale. Paris.755p.

53. Bazin, Broutin, Chambon, Champsaur, Rodi, (1996).l'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8^{ème} édition.Dunod. Paris.1383 p.

54. Rodier, (1996).L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer, chimie, physicochimie, microbiologie,biologie, interprétation des résultats. Dunod .1384p.

S

55. Samuel, Lattl, Rhona, Schreck, (1980). SisterChromatid Exchange Analysis, , réunion annuelle, Société Américaine de Génétique Humaine, 24-27 Septembre, 1980, New York Hitlon, Res.32 :297 –313.

56. SAUR, (2007). La société d'aménagement urbain et rural. Disponible sur le site Internet : www.saurfrance.saur.com

57. Schmitzberger, (2008). La prévention des pollutions (la pollution d'eau). Directionrégionale de l'industrie de la recherche et de l'environnement. *Agence de l'eauRhin_Meuse*.

58. Shashi, Kiran, Basu , Mukherjee, 2013. Lead induced genotoxicity and cytotoxicity in root cells of *Allium cepa* and *Viciafaba* Nucleus (India). DOI10.1007/s13237-013-0099z

59. Soughir, (2009). Modification métaboliques, moléculaires et génotoxicité par le cadmium chez *vicia f*. Thèse de doctorat. Université de Carthage, Tunisie, 238

60. Souguir, Goupil, Ferjani, Ledoigt, (2009) Étude et Gestion des Sols, Effets génotoxiques du Cuivre chez *Vicia faba* et *Pisumsativum* ; Volume 16, 3/4, - pages 339 à 347.

61. Souiki, Rouabhi, Berrebbah, Djebbar, (2008). Survey of physicochemical Characteritics of Water quality of the wastewaters of biskra city rejected in chaabatRoba, Massdour and wadiZ'ommor (Algeria) *African j. Environnement Science and technologie*, 2(8) :231-238.

T

62. Tabet , Abda , Benouareth , Liman , Konuk , Khallef , (2015). Mutagenic and genotoxic effects of Guelma's urban waste water, Algeria. Environmental monitoring and assessment.; 187(2):26.

V

63. Vander Meer, (1993). Allium cepa L. cv. Groupe Common Onion. In: Siemonsma J.S., KasemPiluek. Plant resources of South-East Asia. Pudoc Scientific Publishers 8, 68-71.

64. Valerie et al, (2004). La vie dans les milieux aquatiques. Projet élaboré et publié par l'institut national de la recherche agronomique INRA. P.8. Disponible sur le site Internet : www.inra.fr Eau, environnement et santé publique. Introduction à l'hydrologie.

65. Vilginés, (2000). Introduction à l'hydrologie. Eau, environnement et santé publique, Edition Médicale internationale, Lavoisier, Tec et Doc. 170

66. Vilaginés, (2003). Eau, environnement et santé publique. Introduction à l'hydrologie. 2^{ème} édition, Tech et doc. Médicales internationales, France. P.198.

Les sites web

(1): http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/eco_aqua/rivieres/parties1-2.htm. Suivi de la qualité des eaux de rivières (2010). Consulté le 15/05/2020.

(2) : [http://www.ChristineGirard\(équiperas/saga science\); Sylvie Langlois \(équipe ... pour toute autre utilisation ,2009. recherche uved - serveur oai de l'université niceSophiaAntipolis. sagascience@cnsr-dir.fr](http://www.ChristineGirard(équiperas/saga science);SylvieLanglois(équipe...pour toute autre utilisation,2009.recherche uved - serveur oai de l'université niceSophiaAntipolis.sagascience@cnsr-dir.fr). consulté le 19/03 /2020.

(3) : <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejrh.2017.04.002> Djemai M., Saibi H., Mesbah M., Robertson A., Journal de l'hydrologie : Études régionales, 12 (2017) 33–49. Consulté le 15/04/2020.

(4) : <http://www.gralon.net/articles/materiel-et-consommables/materielsindustriels/articleGarlon.-le-ph---definition-et-mesure-1850.htm> consulté le 09/03/2020.

(5) : <http://www.futura-sciences.com/fr/question-réponse/t/pollution/-de-l'eau quels- sont les-indicateur 1414 /> Consulté le 07/03/2020.

(6) : <http://www.lentch.com/fran/E7ais/maladie.hydrigue/maladie.hydrigue.htm>. Consulté le 02/05/2020.

Annexe

Annexe

❖ La dilution d'éthanol 95 %

Pour diluer l'éthanol 95 % à éthanol 70% :

- en prend 70 ml de éthanol 95% et compléter le volume par L'eau distille jusqu'à 100 ml.
- Après 24 heures rincer 3 fois les racines de chaque tube par l'éthanol 70% puis verser 2,5 ml d'éthanol 70%.
- puis conserver à 4C° pour une observation différée.

❖ La préparation du Hcl

Préparé Hcl 1N à partir de Hcl 12,236 N :

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

❖ Solution de fixation (Carnoy)

- 1volume de l'acide acétique glacial + 3 volumes d'éthanol 100% : mixer et conserver à 4°.

❖ La préparation du colorant Feulgen

- Mesurer 0,25 g fushine basique 50 ml H₂O d bouillir à 100C°.
- puis refroidissent 10 min (50C°).
- Puis ajouter 5 ml de 1NHcl et agiter avec l'agitateur.
- ajouter 0,5 g de K₂S₂O₅ et aussi agité avec l'agitateur.
- Conservée dans un flacon sombre et couvert avec du papier aluminium pendant une nuit à 4C°.
- Filtrer le colorant à travers un papier filtre puis conserver dans un flacon sombre pour 15 à 20 jours au max.