

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Département : Biologie

Thème

Effet Biologique des nanoparticules biosynthétisées

Présenté par :

- Djebala Sarra
- Khattib Bouchra
- Souadkia Siham
- Ziata Rim

Devant la commission composée de :

Président : Benouareth Djamel Eddine Prof Université de Guelma

Examinatrice : Boumaza Awatif M.C.B Université de Guelma

Encadreur : Khallef Messaouda M.C.A Université de Guelma

Juin 2022



Remerciements

Avant tout on remercie le Dieu tout puissant de nous avoir donné le privilège, la chance, la force et la patience afin de pouvoir réaliser ce modeste travail.

Au terme de ce travail nous remercions notre encadrante Mme KHALLEF Messaouda, qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail, d'orienter et d'aider. Merci à ses conseils pertinents, elle était pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments.

Nos remerciements et notre respect à Mr BENOUARETH Djamel Eddine pour avoir accepté la présidence du jury de ce mémoire.

Nous remercions également Mme BOUMAAZA Awatif pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

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

Nous souhaitons aussi adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont aidé et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire et à tous ceux qui, un jour ou l'autre, nous ont offert leur amitié et des moments inoubliables tout au long de notre cursus universitaire.

Merci.

Dédicace

À ma chère mère Radia qui est la source de tendance et mon immense gratitude pour tous les sacrifices qu'ils ont faits pour mon éducation et mes études. Et mon cher père Abd Azziz, nulle dédicace n'est susceptible de vous exprimer ma profonde reconnaissance.

À mes chères frères Youssef qui me soutenir de début jusqu'à ce moment et Abd Razek mon deuxième père et Med amine mon puce et mon petit Yassine.

A mes grandes mères paix à ces âmes, mes tantes Hakima et Luiza et Tati Sheila sans oublier ma chère tante Souad paix a son âme, et mes oncles, est tout le nombre de ma famille Djebela et Houmeur.

À ma très chère sœurs Soumia et Khawla et mes chères amis Siham, Rim, Bouchra et Imane.

À mes professeurs à l'Université de Guelma,

À mes collègues de promotion biologie.

En fin je dédie ce mémoire, à tous ceux qui m'aiment

Et à tous ceux qui j'aime.

SARRA

Dédicaces

*Je dédie ce travail de fin d'étude à ma famille ou sens large et à tous
mon entourage mes tous particulièrement*

*À mes chers parents, Assia et Djamel, aucune dédicace ne saurait
exprimer ni la profondeur de mes sentiments ni l'amplitude de ma
reconnaissance, Vous m'avez donné la vie, vous avez veillé sur mon
éducation et mon bien être, vous m'avez inculqué le sens de la
responsabilité, de l'optimisme et de la confiance face aux difficultés de
la vie, vous étiez toujours mon refuge qui me prodigue sérénité,
amour, tendresse et conseil. Vos prières n'ont jamais cessé et si je suis à
cette étape de la vie c'est grâce à vos encouragements et vos paroles de
soutien. Pour tout cela et encore plus, je vous dois tout ce que je suis
aujourd'hui et ce que je serais demain. J'espère que j'ai pu réaliser ce
que vous avez toujours voulu de moi.*

*A ma chère sœur Aya et mon chère frère Ahmed pour leur soutien et
leur amour illimité.*

A ma Grande famille

*A mes grandes mères, tantes et oncles. A mes chères Meriem, Chaïma,
Khawla, Lina, Amina, Houda et Nada.*

*A Mon amie proche Belkis, Khawla, Chaïma, Djamila, Fatima, Siham,
Sarra, Rim et Yassmi qui sont été avec moi pendant toute ma carrière
universitaire, a combattu toutes les difficultés avec moi.*

*A mes proches et toute ma famille, et tous les gens qui m'aiment
Vous êtes toujours dans mon cœur Que DIEU vous miséricorde.*

A tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.

Bouchra

Dédicace

Arrivé au terme de mes études, j'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

A mon très cher père paix à son âme

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour lui. 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 lui as consentis pour mon éducation et ma formation.

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 frère Youssef et Mes chères sœurs Meryem et Souheyla Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. A ma belle-sœur Khawla, A mes petites farah et taim 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

Mes grand-mères paix à ces âmes, mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousins et cousines.

A toutes mes amis Tous ceux que j'aime

Noussa, Ghada, Mina, Sarra, Rim, Bouchra et Marwa. Vous êtes toujours dans mon cœur Que DIEU vous miséricorde.

Mes professeurs dans mon parcours scientifique, mes chères collègues, Mes amies avec lesquelles j'ai partagé cinq ans de ma vie universitaire.

En fin je dédie ce mémoire, à tous ceux qui m'aiment,

Et à tous ceux qui j'aime.

Siham

Dédicaces

Je dédie ce travail Pour ma Mère qui représentent la lumière de notre existence L'étoile brillante de notre réjouissance et ma vie, 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.

Pour mon père qui il y a Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous, Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

*A mes chères frères Aymen et Oussama,
Je prie Dieu, le tout puissant, de vous protéger et de vos procurer santé, bonheur et longue vie.*

A mon mari Walid,

Je vous remercie pour le courage, le sourire, le bonheur, et tous les bons moments qu'on a passé ensemble.

A la lumière de ma vie Aya,

A ma grande famille. Mes grands-mères, tantes et oncles, et mes cousins. A ma belle-mère, mes belles-sœurs.

A mes chères Amies Siham, Sarra, Bouchra, Romaiïssa, Rayan et Imen.

*A tous ceux qui m'ont aidé à atteindre et à réussir Et a toutes
personne ayant contribué de près ou de loin pour ce
Travail.*

Sommaire

Remerciement	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des Tableaux	
Résumé	
Introduction	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Les Nanoparticules	
1. Généralité.....	4
2. Définition des nanoparticules.....	4
3. Propriétés des nanomatériaux.....	5
3.1 Propriétés optiques.....	5
3.2 Propriétés magnétiques.....	5
3.3 Propriétés de barrière.....	5
4. Origine des nanoparticules.....	5
5. Méthodes de synthèse des nanoparticules.....	6
6. Notion sur les nanoparticules d'argents.....	6
6.1 Définition des nanoparticules d'argents	7
7. Méthodes de caractérisation des nanoparticules d'argent.....	7
7.1 La spectroscopie UV-Visible.....	7
7.2 Absorbance des nanoparticules	7
8. Synthèse biologique des nanoparticules d'argent.....	8
9. Usages des nanoparticules d'argent.....	8
9.1 Dans le domaine industriel.....	8
9.2 Dans le domaine médical	9
9.3 Dans l'environnement.....	9
10. Les effets Bénéfiques	11
10.1 Bactéricide et algicide	11
10.2 La biomédecine cryogénique et la nanotechnologie.....	11
11. Effets toxicologiques	11
11.1 Toxicité humaine et animale.....	12
11.2 Des effets à surveiller sur l'environnement.....	12

11.3 Cytotoxicité.....	12
------------------------	----

Chapitre II : La génotoxicité

1. Généralité	15
2. L'utilisation des plantes supérieures en génotoxicité.....	15
3. Les différents tests de génotoxicité associés aux plantes supérieures.....	16
3.1 Test d'aberration chromosomique (AC)	16
3.2 Echanges entre chromatides sœurs (ECS)	17
3.3 Test des comètes.....	19
4.3 Induction de micronoyaux.....	19
4. Description générale d' <i>Allium cepa</i>	19
5. Test d' <i>Allium cepa</i>	20
5.1 Caryotype et division cellulaire.....	20
5.2 Les différents critères analysés par le test <i>Allium cepa</i>	22
5.2.1 Indice mitotique.....	22
5.2.2 Aberrations chromosomiques (AC)	23
5.2.3 Anomalies nucléaires.....	23
5.2.4 Le test <i>Allium</i> -micronoyaux (<i>Allium</i> -MCN)	24

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I. Synthèse biologique des nanoparticules d'argent.....	27
1. Matériel utilisé.....	27
a) Matériel chimique.....	27
2. Méthodes d'études	27
1.2.1 Préparation de l'extrait de fruit du concombre <i>Cucumis sativus</i>	27
1.2.2 Réduction des ions d'argent présents dans la solution d'AgNO ₃	28
1.2.3 Spectroscopie UV –visible.....	29
II. L'étude génotoxique : Test anaphase-télophase <i>Allium cepa</i>	30
1. Matériel biologique utilisé	30
2. Méthode d'étude : Procédure du Test anaphase-télophase <i>Allium cepa</i>	30
2.1 Germination des bulbes d' <i>Allium cepa</i>	30
2.2 L'élongation racinaire.....	31
2.3 Fixation et conservation des extrémités racinaires.....	31

Chapitre II : Résultats et Discussion.....	
1. Réduction des ions d'argent : Extrait de concombre + AgNO ₃	35
2. Caractérisations par UV-visible.....	36
3. L'élongation racinaire	37
4. Indice mitotique	38
5. Aberrations chromosomique	40
Conclusion.....	46
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste d'abréviations

AC : Aberration chromosomique
A. cepa : <i>Allium cepa</i>
ACM : Adhérence des Chromosomes en Métaphase
AgNPs : Nanoparticules d'argent
Allium-MCN : Le test <i>Allium</i> -micronoyaux
AN : Anomalie Nucléaire
BN : Binucléaire
CL : Chromosome liée
CM : C-métaphase
CV : Chromosome Vagabond.
DS : Déviation Standard.
ECS : Echange entre chromatide sœur
IM : Indice mitotique
MN : Micronoyau
NAB : Noyau avec bourgeon
NCC : Nombre de Cellules Comptées.
NOR : région organisatrice du nucléole
NP : Nanoparticule
PCA : Pont Chromosomique dans l'Anaphase
ROS : Radical Oxygen Species
S. aureus : <i>Staphylococcus aureus</i>

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 01	Intégration à l'échelle nanométrique de nanoparticules de biomolécules	1
Figure 02	Approche ascendante et approche descendant	6
Figure 03	Représentation schématique de l'oscillation du nuage des électrons de conduction pour une sphère métallique soumis à un champ électrique.	7
Figure 04	Aberration chromosomique rencontrées lors de la réalisation du test des AC.	17
Figure 05	Photographie de noyau intact, légère comète, comète, noyau atypique.	18
Figure 06	Schéma de la formation des micronoyaux.	19
Figure 07	<i>Allium cepa</i> – 1, Groupe Oignon commun : plante en fleurs ; 2, Groupe Oignon commun : base de la plante avec bulbe mûr ; 3, Groupe Aggregatum : bulbes mûrs.	20
Figure 08	Caryotype cepa, $2n = 16$. Flèche indiquant la région organisatrice du nucléole (NOR) située dans la partie terminale du bras court de la paire 6.	21
Figure 09	La filtration de fruit de concombre.	28
Figure 10	Le filtrat de fruit de concombre avant et après la centrifugation.	28
Figure 11	Préparations des tubes pour la réduction des ions d'argent dans la chambre noire.	29
Figure 12	Changement de la couleur du mélange.	29
Figure 13	Appareil d'UV Visible de laboratoire pédagogique de l'université 08 mai 1954 de Guelma.	30
Figure 14	Les étapes du test da AC dans les racines d'allium capa.	33
Figure 15	Image représentent le virage de couleur du mélange.	35
Figure 16	Courbe représente le spectre d'absorption UV-Vis de nanoparticules d'argent produites.	37
Figure 17	Cellules méristématiques racinaires d' <i>Allium cepa</i> en division régulière et normale : (A) interphase, (B) prophase, (C) métaphase, (D) anaphase, (E) télophase.	40
Figure 18	Images représentent les différentes aberrations chromosomiques observées dans les méristèmes racinaires d' <i>Allium cepa</i> avec les nanoparticules d'argent.	43

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Les différentes utilisations des nanoparticules d'argent	10
Tableau 2	Classification d' <i>Allium cepa</i>	20
Tableau 3	Les différentes longueurs d'onde (nm) de chaque solution.	36
Tableau 4	Moyenne (cm) \pm Déviation standard de l'élongation racinaire des racines des bulbes d'oignon (<i>Allium cepa</i>)	38
Tableau 5	L'indice mitotique et le pourcentage des phases mitotiques dans les extrémités racinaires d' <i>Allium cepa</i> L.	39
Tableau 6	Pourcentage des aberrations chromosomiques des nanoparticules d'argent obtenues par le test d' <i>Allium cepa</i> L.	41



Résumé

Résumé

Résumé

Les plantes supérieures sont d'excellents modèles génétiques pour détecter les mutagènes et sont fréquemment utilisées dans plusieurs tests. Parmi ces espèces *Allium cepa* qui a été utilisé pour évaluer les dommages de l'ADN, tel que les aberrations chromosomiques et les perturbations dans le cycle mitotique. La présente étude a pour but d'évaluer les effets cytotoxiques, génotoxiques des nanoparticules d'argent utilisant le test *Allium cepa*. Les bulbes d'oignon ont été exposés au témoin négatif, AgNPs et au témoin positif. Les résultats de l'élongation racinaire, de l'indice mitotique et des aberrations chromosomiques avec une concentration dépendante et statistiquement différentes ($P < 0,05$) par rapport au contrôle positif suggère que le potentiel de génotoxicité des nanoparticules est faible.

Mot clés : Nanoparticules, Nanoparticules d'argent, *Allium cepa*, analyse génotoxique, indice mitotique, aberrations chromosomiques.

Abstract

Abstract

Higher plants are excellent genetic models for detecting mutagens and are frequently used in many tests. Among these species *Allium cepa* has been used to assess DNA damage, such as chromosomal aberrations and disturbances in the mitotic cycle. The present study aims to evaluate the cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles using the *Allium cepa* test. Onion bulbs were exposed to the negative control, AgNPs and the positive control. The results of root elongation, mitotic index and chromosomal aberrations with a concentration dependent and statistically different by contribution to positive control ($P < 0.05$) suggesting that the genotoxicity potential of the nanoparticles is low.

Key words : Nanoparticles, Silver nanoparticles, *Allium cepa*, genotoxic analysis , mitotic index, chromosomal aberrations.

ملخص

النباتات العليا هي نماذج وراثية ممتازة للكشف عن الطفرات وكثيرا ما تستخدم في العديد من الاختبارات. من بين هذه الأنواع، تم استخدام *Allium cepa* لتقييم تلف الحمض النووي، مثل الانحرافات الصبغية والاضطرابات في الدورة الانقسامية. تهدف الدراسة الحالية إلى تقييم التأثيرات السامة للخلايا والسمية الجينية لجسيمات الفضة النانوية باستخدام اختبار *Allium cepa*. تم تعريض بصيالات البصل العينة الشاهدة السلبية، AgNPs والعينة الشاهدة الإيجابية. كشفت نتائج أن استطالة الجذر ومؤشر الانقسام والانحرافات الصبغية التي تعتمد على التركيز ومختلفة إحصائياً بالنسبة للعينة الإيجابية ($P < 0.05$)، إلى أن درجة السمية الجينية للجسيمات النانوية منخفضة.

الكلمات المفتاحية: الجسيمات النانوية، جزيئات الفضة النانوية، *Allium cepa*، تحليل السمية الجينية، مؤشر الانقسامية، الانحرافات الصبغية.



Introduction

Introduction

Introduction :

Le terme de « nanotechnologie » est implicitement associé à l'innovation et à des technologies prometteuses. Les nanotechnologies comprennent la conception, la caractérisation, la production et l'application de nanostructures, de nanodispositifs ou de nanosystèmes. La synthèse des nanoparticules métalliques est devenue le centre d'intérêt dans la recherche et la technologie : elles présentent des propriétés chimiques et physiques qui permettent leur application dans plusieurs domaines : l'imagerie biologique des tumeurs et la thérapie photothermal du cancer, en catalyse, en photonique et en électronique (**Lanone, 2009**).

Dans ce contexte, ce travail a donc pour objectif d'étudier l'effet biologique des nanoparticules biosynthétisés puisqu'il est important de déterminer le potentiel génotoxique avant de valider leurs utilisations dans différents domaines, comme une voie pour déterminer le risque de nuisance génétique chez les personnes qui l'utiliseront.

Ce mémoire est entamé par cette introduction générale qui pose clairement l'objectif visé, et ce travail est composé en 2 parties. La première partie a tout d'abord pour but de présenter une étude bibliographique qui se compose deux chapitres, le premier chapitre s'intéresse aux nanoparticules et leurs propriétés, avec un regard particulier sur la description des nanoparticules d'argent, leur caractérisation, applications, biosynthèse et leurs différents effets bénéfiques et toxiques. Ensuite le deuxième chapitre qui décrit les différents tests de génotoxicité associé aux plantes supérieures, et la description du teste d'*allium cepa* avec ses différents critères.

La deuxième partie présente une étude expérimentale dans lequel nous avons adopté un protocole expérimental, permettant d'atteindre l'objectif assigné. Cette partie également est composée de deux parties. La première est matériel et méthodes, ce chapitre décrit les étapes de la méthode du teste d'*Allium cepa*. Ensuite un deuxième chapitre présente les résultats obtenus au cours de ce travail avec une discussion en fonction de différents paramètres expérimentaux.

Enfin, nous concluons sur les principaux résultats marquants au cours de ce travail de mémoire et nous proposons des perspectives mises en relief afin de résumer l'originalité et l'intérêt du travail effectué et présenterons quelques perspectives pour les prochaines études semblables.



Partie bibliographique



Chapitre I : **Les Nanoparticules**

1. Généralités

Les nanoparticules existent dans la nature et peuvent être créés à partir de divers produits, tels que le carbone ou des minéraux tels que l'argent. Les matériaux développés à une si petite échelle sont souvent appelés nanomatériaux d'ingénierie, qui peuvent posséder des propriétés optiques, magnétiques, électriques et autres uniques (Dadi, 2007).

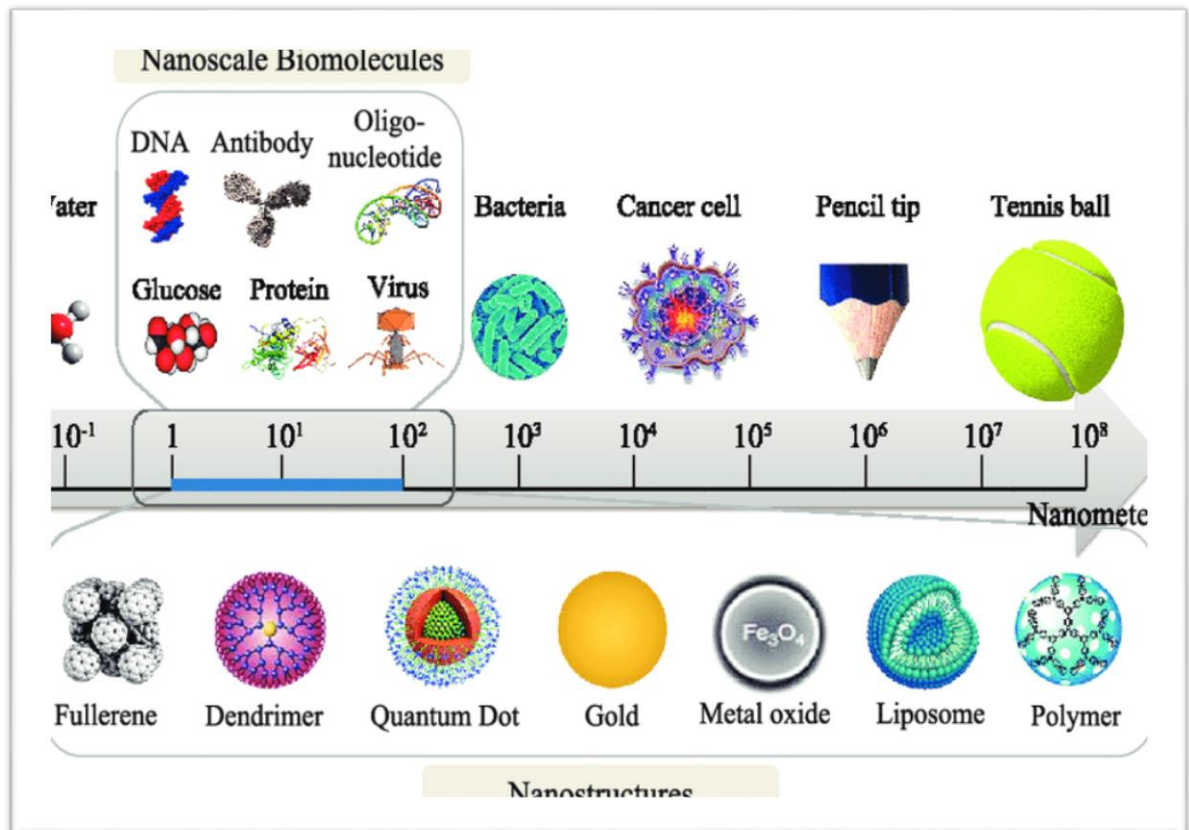


Fig 1 : Intégration à l'échelle nanométrique de nanoparticule et de biomolécules (Wuled, 2018).

2. Définition des nanoparticules

Les nanoparticules sont des objets dont les trois dimensions sont inférieures à 100 nm. Ces nanoobjets se situent donc au confluent des échelles macroscopique (matériaux massifs) et moléculaire (ou atomique). D'un point de vue fondamental, l'étude des nanoparticules apparaît essentielle afin d'élargir notre compréhension de la matière (Zimmer and Emmanuelle, 2016).

Selon l'union européenne (2011), un nanomatériau signifie : un matériau naturel, accidentel ou manufacturé contenant des particules, à l'état non lié ou sous forme de granulat ou d'agglomérat et où, pour 50 % ou plus des particules du distribution de taille en nombre, une ou plusieurs externes se situent dans la plage de taille 1 nm-100 nm (**Watanabe, 2020**).

3. Propriétés des nanomatériaux

3.1 Propriétés optiques

La première situation envisagée, puisqu'elle est la plus simple, est celle d'un métal dont les propriétés optiques sont essentiellement dues au comportement des électrons de conduction (**Salem, 2009**). Les nanoparticules ont des dimensions inférieures aux longueurs d'onde de la lumière visible (380-780 nm), ce qui permet d'améliorer les propriétés optiques du matériau. (**Yannick Champion et al., 2006**).

3.2 Propriétés magnétiques

L'application des nanomatériaux dans le domaine du magnétisme a ainsi permis de développer de nouvelles gammes à champ coercitif et à champ à saturation variables, non réalisables avec les matériaux classique (**Afsset, 2006**).

3.3 Propriétés de barrière

Dans les nanocomposites à matrice polymère, l'incorporation d'argile augmente les propriétés de barrière vis-à-vis de l'eau et des gaz du fait de l'augmentation de la distance à parcourir pour les molécules qui diffusent. Les lamelles de silicate sont imperméables à l'eau et aux gaz (**Yannick Champion et al., 2006**).

4. Origine de nanoparticule

Il existe deux types de sources d'émission ou de production des NP : une origine naturelle (éruptions volcaniques, incendies de forêts, pollution marine...) et une origine anthropogénique non intentionnelle (pollution industrielle, émissions Diesel, combustions diverses, pollution intérieure des bâtiments...) et intentionnelle (NP manufacturées par l'industrie ou produites dans des laboratoires de recherche) (**Lanone, 2009**).

5. Méthodes de la synthèse des nanoparticules

Les NP peuvent être synthétisées selon différentes approches : essentiellement par la méthode ascendante ou la méthode descendante. Par l'approche ascendante (bottom-up), les NP sont construites atome par atome ou molécule par molécule. Dans l'approche descendante (top-down) (Ostiguy, 2010). Dans ces approches, des méthodes sont fondées sur des transformations de la matière à partir d'un état gazeux, d'un liquide supercritique ou d'un état solide. (Yannick Champion et al., 2006).

Par l'approche ascendante (bottom-up), les nanoparticules sont construites atome par atome ou molécule par molécule, dans l'approche descendante (top-down), une grande structure est graduellement sous dimensionnée jusqu'à atteindre des dimensions nanométriques. (Dadi, 2007).

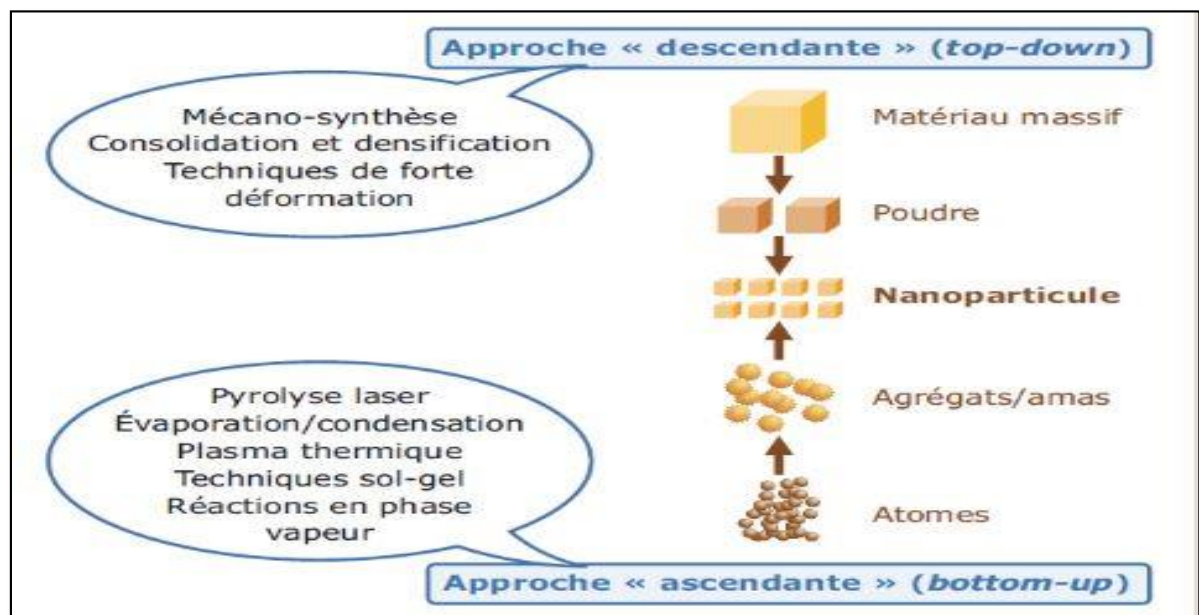


Fig 2 : Approche ascendante et approche descendante (Dadi, 2007).

6. Notion sur les nanoparticules d'argents

L'argent est utilisé depuis des siècles dans le traitement des plaies et des brûlures. Avec l'avènement actuel des nanotechnologies, l'engouement pour les nanoparticules d'argent, et leur pouvoir antibactérien s'est accru. De ce fait, le développement de produits en contenant s'est accentué au fil des années (Chauvel, 2018).

6.1 Définition des nanoparticules d'argents

Le nano-argent est défini comme étant de l'argent sous forme d'un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé, contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat (**Gouzy and Denize, 2015**). Plus de 50 % des produits contenant de l'argent (**Benoit-B, 2010**).

7. Méthodes de caractérisation des nanoparticules d'argent

7.1 La spectroscopie UV-Visible

L'étude des propriétés optiques par spectroscopie d'absorption constitue une des étapes indispensables en vue de la caractérisation des nanoparticules d'argent synthétisées. En effet, les nanoparticules métalliques (argent, or, cuivre) présentent des propriétés optiques particulières liées à un effet classique d'exaltation du champ électrique (**Ledier, 2012**).

7.2 Absorbance des nanoparticules

L'absorption de rayonnement ultra-violet-visible par les nanoparticules d'argent se traduit généralement par une bande d'absorption électronique entre 350 et 450 nm caractéristique de ces nanoparticules.

Les nanoparticules disposent d'un plus grand nombre d'atomes, et donc d'électrons libres en surface par rapport à des objets macroscopique. L'excitation de la surface métallique par la lumière provoque la vibration collective des électrons en surface. L'excitation des électrons provoque une vibration, une résonance à une certaine longueur d'onde. Les électrons résonnent et la longueur d'onde concernée est ainsi absorbée : c'est ce que l'on observe en spectroscopie UV-Visible (résonance plasmon de surface) (**Fig 3**) (**Bousalem, 2017**).

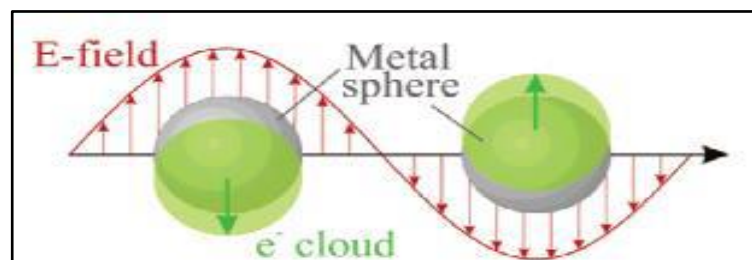


Fig 3 : Représentation schématique de l'oscillation du nuage des électrons de conduction (plasmon de surface localisé) pour une sphère métallique soumise à un champ électrique (**Ledier, 2012**).

8. Synthèse biologique des nanoparticules d'argent

La synthèse des nanoparticules de métaux nobles pour des applications telles que la catalyse, l'électronique, l'optique, (**Abbasi et al., 2016**).

La synthèse végétale des AgNPs est généralement plus adoptée que les méthodes utilisant des micro-organismes car elle peut être améliorée facilement, est moins bio-menaçante et n'inclut pas l'étape de culture cellulaire (**Tarannum et al., 2019**).

En particulier des nanomatériaux d'argent à partir d'extraits de plantes ou de sources organiques, suscite un énorme intérêt en raison de leurs nombreuses capacités et d'un large éventail de métabolites réducteurs bioactifs. (**Mousavi et al., 2018**) offre des avantages par rapport aux autres méthodes de synthèse biologique (**Rajeshkumar and Bharath, 2017**). Les AgNPs produits par des méthodes biologiques sont « eco-friendly » car aucun réducteur toxique ou d'agent stabilisateurs ne sont utilisés pour la synthèse de ces nanoparticules (**Chauvel, 2018**).

9. Usages des nanoparticules d'argent

9.1 Dans le domaine industriel

Nanoparticules d'argent (AgNPs) sont largement utilisées dans un large éventail d'applications. Ceux-ci incluent, mais sans s'y limiter, les matériaux antibactériens, l'industrie textile, les cosmétiques, les revêtements de divers appareils électroménagers et dispositifs médicaux (**Farkas et al., 2013**).

Elles se retrouvent dans certains emballages alimentaires, permettant d'augmenter leur efficacité bactéricide. Les nanoparticules d'argent sont déposées directement sur un support de silice lui aussi nanoparticulaire. Cela permet d'augmenter la durée de conservation des aliments (**Chauvel, 2018**), L'argent a été vastement utilisé depuis des siècles, pour des applications aussi éclectiques que la bijouterie (7 700 tonnes/an), la confection d'ustensiles et plus récemment, le développement de la photographie ou de certains explosifs. L'argent, avec le cuivre et l'or, est l'un des métaux utilisés pour frapper la monnaie, ce qui est intrinsèquement lié à sa valeur marchande. (**Marchioni, 2018**).

9.2 Dans le domaine médical

Des masques chirurgicaux contenant des nanoparticules d'argent ont été fabriqués et testés ils présentent une efficacité antibactérienne sur *E. coli* et *S. aureus* et ne provoquent pas d'allergie ni d'irritation chez les sujets les ayant portés pendant en biomédicale et environnementale ((**Sedira, 2014**)). Dans le milieu médical est en expansion. Les applications antibactériennes des nanoparticules d'argent intéressent de multiples spécialités et l'on trouve actuellement des brevets ou des études en cours dans le but de développer cette technologie à bien plus grande échelle ((**Marchioni, 2018**)).

9.3 Dans le domaine environnemental

En matière d'environnement, l'utilisation des nanomatériaux est envisagée pour la réduction des émissions de polluants, le traitement des effluents notamment par photocatalyse et la purification des gaz, la production d'eau ultra pure à partir d'eau de mer, une meilleure utilisation (**Afsset, 2006**).

Traitement de l'eau et de l'air Les nanoparticules d'argent sont également utilisées pour empêcher le développement d'agents infectieux, notamment les *Legionella*, dans les circuits de distribution d'eau potable). Des filtres de polyuréthane, de céramique ou de charbon actif contenant des nanoparticules d'argent ont été développés pour leur efficacité antimicrobienne (**Tarannum et al., 2019**).

UTILISATION	INTÉRÊT	REMARQUE
Textiles Chaussures	Lutte contre les bactéries à l'origine des mauvaises odeurs Prévention des mycoses	Les AgNP sont introduites lors du filage ou de l'ennoblissement du textile
Linge de maison Literie	Lutte contre les acariens	
Compléments alimentaires	Amélioration des défenses immunitaires	
Ustensiles de cuisine (planche à découper, couteau)	Hygiène	Les AgNP sont présentes dans les revêtements des ustensiles
Biberons, tasses pour enfants, objets à mâcher	Lutte contre la prolifération de germes pathogènes	
Boîtes de conservation	Lutte contre le développement des moisissures Amélioration de la conservation des aliments	Les AgNP sont mélangées au plastique
Réfrigérateurs	Lutte contre les bactéries à l'origine des mauvaises odeurs Amélioration de la conservation des aliments	Les AgNP sont mélangées au plastique
Lave-linge	Meilleure désinfection du linge	Libération d'ions Ag ⁺
Réservoirs d'aspirateurs sans sac	Lutte contre les bactéries à l'origine des mauvaises odeurs	
Fers à friser, rasoirs, tondeuses à cheveux	Limitation de la prolifération de germes entre les clients	Utilisation professionnelle
Filtres de système de traitement de l'air	Lutte contre les micro-organismes à l'origine des mauvaises odeurs émises au cours du fonctionnement	Procédé disponible pour les habitations, les véhicules, les salles d'opération et pour certains bâtiments accueillant du public
Traitement de l'eau	Amélioration de la qualité du traitement si les Nanoargents sont supportés sur les fibres de charbon actif Limitation de l'apparition d'un biofilm sur les parois des canalisations	
Électronique (plastiques des claviers, souris informatiques, des téléphones...)	Limitation de la prolifération de germes sur les surfaces	Les AgNP sont mélangées au plastique
Peintures et vernis	Lutte contre les champignons et moisissures	
Barres de maintien dans les métros en Asie	Limitation de la prolifération de germes et des contaminations entre passagers	
Encres	Impression de structures conductrices	Les encres sont utilisées dans les circuits imprimés, les panneaux photovoltaïques
Filtres optiques	Création de filtres optiques spécifiques	Amélioration des caractéristiques

Tableau 1 : Les différentes utilisations des nanoparticules d'argent (Chauvel, 2018).

10. Les effets Bénéfique

10.1 Bactéricide et algicide

L'argent et les nanoparticules d'argent sont utilisés pour leur action biocide et donc bactéricide à large spectre, sur les bactéries à Gram positif et négatif, ainsi que sur les champignons et les virus (**Marchioni, 2018**). On Savait que L'argent employé dans le traitement de l'eau, notamment dans les piscines. Son action bactéricide est telle que les solutions contenant des ions Ag⁺ ne doivent pas être rejetées dans les circuits d'eaux usées car leur présence empêche le fonctionnement des stations d'épuration. (**Gouzy and Denize, 2015**).

10.2 La biomédecine cryogénique et la nanotechnologie

Son principe est d'introduire une solution des nanoparticules dans les tissus cibles pour maximiser le transfert de chaleur, abaisser la température finale, augmenter la formation de boules de glace et empêcher la congélation des tissus sains. Cette revue couvre les nanoplatformes courantes pour la nano-cryochirurgie. Les caractéristiques, les avantages, les défis potentiels, les perspectives d'avenir de l'application de la nano-cryochirurgie sont discutés en détail (**Hou et al., 2018**).

Hippocrate, le père de la médecine moderne, décrivait la poudre d'argent comme un remède et le prescrivait pour le soin des ulcères. L'argent est toujours utilisé aujourd'hui sous forme de stylo au nitrate d'argent pour le soin des ulcères cutanés surinfectés (**Marchioni, 2018**).

11. Effets toxicologiques

La petite taille des nanoparticules pourrait par exemple leur permettre de pénétrer dans les tissus et passer la membrane cellulaire. Une fois dans la cellule, leurs propriétés catalytiques pourraient générer des espèces radicalaires (ROS : Radical Oxygen Species) et causer de sérieuses altérations dans l'ADN (**Sedira, 2014**).

Les connaissances actuelles des effets toxiques des nanoparticules manufacturées sont relativement limitées. Néanmoins, les données disponibles indiquent que certaines nanoparticules insolubles peuvent franchir les différentes barrières de protection, se distribuer

dans le corps et s'accumuler dans plusieurs organes, essentiellement à partir d'une exposition respiratoire ou digestive (**Yannick Champion et al, 2006**).

11.1 Toxicité humaine et animale

En effet, à mesure que les nanoparticules se déplacent dans l'organisme, elles peuvent être exposées à différents microenvironnements biologiques, notamment le sang, la matrice extracellulaire, le cytoplasme et les organites cellulaires. Par conséquent, les interactions qui se produisent à l'interface nano-bio peuvent avoir un impact sur la fonction des biomolécules, des composants cellulaires et des structures tissulaires (**Wolfram et al., 2015**).

Les données disponibles indiquent néanmoins clairement que certaines nanoparticules insolubles peuvent franchir les différentes barrières de protection, se distribuer dans l'organisme et s'accumuler dans certains organes et à l'intérieur des cellules (**Jtromoulet, 2018**). Une exposition orale par ingestion, dermique par contact direct via les textiles, pulmonaire par inhalation et parentérale via les dispositifs médicaux. L'absorption des nanoparticules d'argent ou de l'argent par l'organisme sain dans le cas d'une exposition dermique ou pulmonaire est cependant difficile à prédire (**Marchioni, 2018**).

11.2 Des effets à surveiller sur l'environnement

L'argent de façon générale n'est pas facilement éliminable. Il présente une grande persistance dans l'environnement, il s'accumule dans l'eau, les sédiments, les sols et les organismes. Il est considéré comme l'un des métaux les plus toxiques pour les plantes, les phytoplanctons, ainsi que pour les poissons et organismes aquatiques. La principale problématique concernant la toxicité et l'écotoxicité des nanoparticules d'argent est leur fonction de réservoir en ions Ag(I) biodisponibles et toxiques, qui peuvent être libérés progressivement. Cette capacité est cependant régulée par de nombreux paramètres tels que l'état d'agrégation des nanoparticules, leurs tailles, leurs enrobages, etc., (**Marchioni, 2018**).

11.3 Cytotoxicité

Des études antérieures ont montré que les particules de taille nanométrique induisent une cytotoxicité en produisant des espèces réactives de l'oxygène ou en augmentant le stress oxydatif intracellulaire et en déclenchant la mort cellulaire, contenant l'apoptose et la nécrose.

La toxicité des nanoparticules est appliquée en transférant des électrons de l'oxygène moléculaire ou en bloquant la chaîne de transport d'électrons par un mécanisme inconnu.

Par exemple, la liaison des nanoparticules aux médicaments chimio thérapeutiques leur permet de traverser la barrière hémato-encéphalique pour le traitement des tumeurs cérébrales **(Mousavi et al., 2018)**.



Chapitre II :

La génotoxicité

1. Généralités

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, et des substances chimiques, souvent électrophiles, qui directement ou après bioactivation par des systèmes enzymatiques adéquats, vont se lier à l'ADN pour former des adduits. Les tests de génotoxicité visent à mettre en évidence l'altération par des composés chimiques ou physiques du matériel génétique (ADN et/ou chromosome), pouvant conduire, si les lésions génotoxiques ne sont pas efficacement et correctement réparées par les systèmes enzymatiques adéquats, à des mutations. Ils détecteront donc principalement les lésions de l'ADN et/ou des chromosomes ou ses conséquences (**Fardel et al., 2009**).

2. L'utilisation des plantes supérieures en génotoxicité

A l'origine de l'utilisation des plantes dans l'évaluation des dommages de l'ADN, celles-ci ont principalement servi à l'étude de l'impact des radiations dès les années 30 (**Cotelle, 1999**). Les plantes supérieures sont reconnues comme des meilleurs modèles génétiques pour détecter les mutagènes environnementaux et sont fréquemment utilisées dans les études de surveillance (**Leme and Marin-Morales, 2009**).

Elles 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 termes de :

❖ Représentativité

- 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.
- Les études peuvent être réalisées sur des cultures cellulaires, sur des plantes entières (avec système racinaire) ou encore sur une seule partie des plantes.

❖ Faisabilité

- Les tests sur végétaux supérieurs présentent un rapport coût-efficacité très satisfaisant.
- Les tests de génotoxicité sur plantes ont fait l'objet de nombreuses publications, en particulier dans le cadre des effets des substances chimiques.

- Les plantes sont adaptées pour les études *in situ*.

❖ Sensibilité

- Les plantes permettent de détecter des critères de génotoxicité nombreux et variés comme : mutations, cassures des 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 promutagènes, de la même façon que chez les animaux (**Cotelle, 1999**).

Actuellement, parmi les espèces de plantes supérieures utilisées pour évaluer la contamination environnementale, les plus fréquentes sont *Allium cepa*, *Vicia faba*, *Zea mays*, *Tradescantia*, *Nicotiana tabacum*, *Crepis capillaris* et *Hordeum vulgare*. De plus, toujours parmi ces espèces, *A. cepa* a été considérée comme favorable à l'évaluation des dommages chromosomiques et les perturbations du cycle mitotique, en raison de la présence de bonnes conditions chromosomiques, telles que des grands chromosomes en nombre réduit (**Leme and Marin-Morales, 2009**).

3. Les différents tests de génotoxicité associés aux plantes supérieures

Depuis les toutes premières années de la cytogénétique humaine, les développements qu'elle a connus se sont répercutés autant en clinique qu'en génotoxicité humaine. Plusieurs des tests classiques de cytogénétique sont maintenant utilisés dans le développement du médicament, dans l'évaluation biologique des dispositifs médicaux, dans l'évaluation des risques génotoxiques posés par des agents chimiques, ou encore en surveillance biologique. Cinq tests de génotoxicité couramment utilisés sont présentés : teste d'aberrations chromosomiques (ACs), test des échanges entre chromatides-sœurs (ECS), test des micronoyaux (MNs) et test de comète (**Fortin, 2012**).

3.1 Test d'aberration chromosomique (AC)

Les ACs se caractérisent par des changements dans les chromosomes, ce qui peut survenir à la fois spontanément ou à la suite d'une exposition à des agents chimiques. Des altérations chromosomiques structurales peuvent être induites par plusieurs facteurs, tels que les cassures de l'ADN, l'inhibition de synthèse de l'ADN et réplication de l'ADN altéré. L'autorité de certification numérique, par ex. l'aneuploïdie et la polyploïdie, sont des

conséquences d'anomalies de ségrégation des chromosomes, qui peut se produire soit spontanément, soit sous l'action d'agents aneugènes (**Leme and Marin-Morales, 2009**).

Le test d'aberration chromosomique (CA : chromosomal aberration test) identifie les agents qui provoquent des anomalies structurelles, des cassures chromosomiques (chromosomiques ou chromatidiennes), ou encore des anomalies de nombre de chromosomes (aneuploïdie) (**Masson, 2002**). Aussi appelé test des cassures, ce teste demande la préparation de chromosomes pour être réalisé (**Fortin, 2012**).

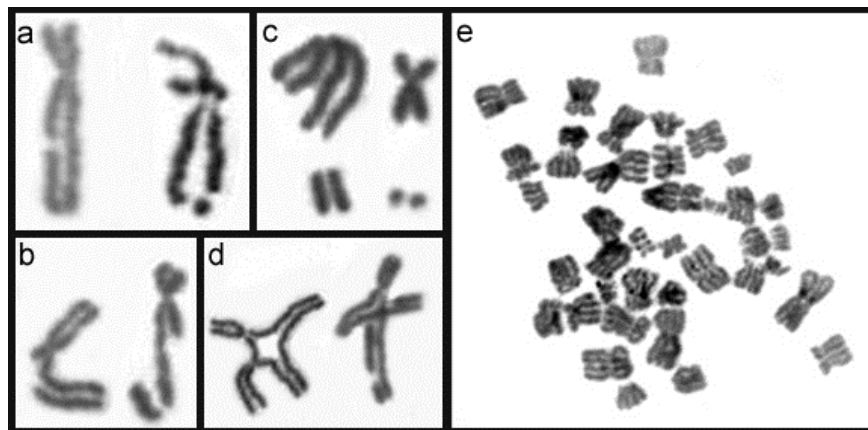


Fig 4 : Aberrations chromosomiques rencontrées lors de la réalisation du test des ACs (**Fortin, 2012**).

- a) Lacune chromatidienne,
- b) cassure chromatidienne,
- c) cassure chromosomique,
- d) figure tétraradiale (à gauche) et figure triradiale (à droite),
- e) endomitose (aussi appelée endoreduplication).

3.2 Echanges entre chromatides sœurs (ECS)

Ce test analyse des anomalies chromatidiennes survenant en réponse à l'exposition à un génotoxique. ECS 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 dépend de la phase S du cycle cellulaire ou des processus de duplication de l'ADN. Les génotoxiques ou agents clastogènes

augmentent la fréquence de ECS par cellules, ce qui serait lié à une action sur la réparation au cours de la phase S. Le test est applicable pour tester *in vitro* l'effet d'un composé sur des cellules mais aussi pour évaluer les effets d'une exposition *in vivo* à des agents génotoxiques. Il est donc utilisable pour la mesure du potentiel génotoxique d'un composé donné, mais aussi pour la surveillance de personnels exposés (Fardel et al., 2009).

3.3 Test des comètes

Ce test est basé sur la détection des coupures simple et coupures double brin dans les cellules des extrémités racinaires des fèves et des oignons. Le principe est d'isoler les noyaux des cellules racinaires, de les inclure dans un gel d'agarose, et de les observer après une lyse et une électrophorèse dans des conditions alcalines. Le test des comètes apparaît comme étant bien adapté à condition de bien estimé les niveaux de cytotoxicités en mettant en œuvre une estimation pertinente. Il s'avère nécessaire d'évaluer la cytotoxicité après une période correspondant à au moins un cycle de division cellulaire comme afin de s'assurer que les éventuels effets génotoxiques ne surviennent pas à des niveaux de concentrations létales. Par ailleurs, une partie importante des effets génotoxiques des nanoparticules étant susceptible d'être en rapport avec la production de formes activées de l'oxygène (Masson, 2002).

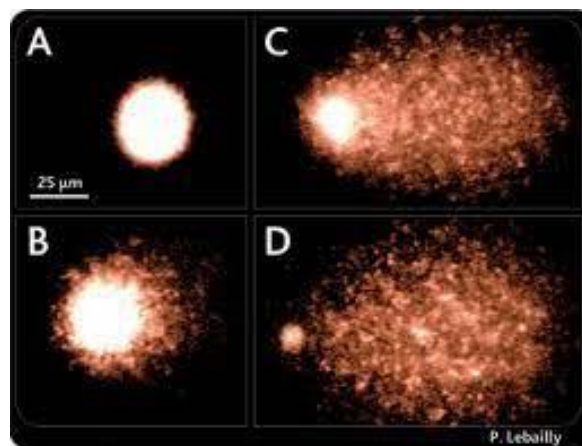


Fig 5 : Photographie de (A) noyau intact, (B) légère comète, (C) comète, (D) noyau atypique. (Naciri, 2014).

Cette technique a plusieurs avantages : technique non invasive, sensible (détection d'environ 0,2 à 2 coupures par 109 daltons), les résultats sont obtenus en quelques heures par rapport aux techniques conventionnelles, 50 à 100 cellules sont comptées par échantillon par comptage manuel ou en utilisant un logiciel (Naciri, 2014).

3.4 Induction de micronoyaux (MNs)

Les micronoyaux (MNs) sont formés durant l'anaphase à partir de fragments de chromosomes ou de chromosomes entiers désolidarisés du noyau pendant la division de ce dernier. Exclue du noyau des cellules filles, ces chromosomes forment des MNs uniques ou multiples dans le cytoplasme et détectés après coloration d'après (la revue de Oesch et al). après le test des comètes, le test MNs est le deuxième test le plus utilisé pour étudier la génotoxicité des nanomatériaux (Masson, 2002). Le test MNs in vitro est un test de génotoxicité basé sur la détection de MNs dans le cytoplasme de cellules en interphase. Ces MNs, fragments acentriques de chromosomes ou chromosomes entiers, peuvent résulter de la perte d'un chromosome, du non disjonction des chromatides ou provenir de cassures de chromosomes. Le test peut ainsi permettre de détecter l'activité génotoxique aneugènes ou clastogènes d'un produit. Au cours de ce test, une évaluation de la cytotoxicité est également réalisée afin de sélectionner la concentration maximale à analyser en génotoxicité (Merrer, 2009).

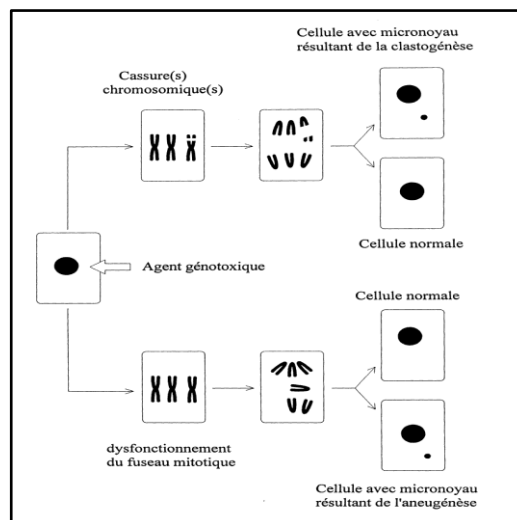


Fig 6 : Schéma de la formation des micronoyaux (Cotelle, 1999).

4. Description générale d'*Allium cepa*

Allium cepa « l'oignon » est une plante herbacée fait partie de la famille des alliées, bisannuelle glabre, habituellement cultivée comme une annuelle à partir du grain ou des bulbes. (Grubben, 2004). Les feuilles sont cylindriques et creuses. L'inflorescence sphérique portée par une hampe de 20 à 30 cm de hauteur. Les fleurs nombreuses sont rose violacé ou blanchâtres, entouré par une spathe de deux bractées avals acuminées ne dépassant pas

l'inflorescence (Almaïmoune Maïga, 2014). Le bulbe c'est un organe de réserves nutritives qui pourvoit à la multiplication végétative (reproduction asexuée) (Munro et al., 1998).

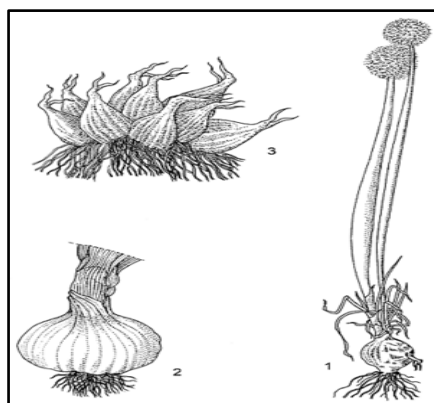


Fig 7 : *Allium cepa* – 1, Groupe Oignon commun : plante en fleurs ; 2, Groupe Oignon commun : base de la plante avec bulbe mûr ; 3, Groupe Aggregatum : bulbes mûrs (Grubben, 2004).

La classification systématique de l'oignon (*Allium cepa*) est montrée dans le tableau suivant :

Classification systématique	
Règne	Végétal
Sous règne	viridiaeplantae (plante verte)
Division	Tracheophyton (plante vasculaire)
Embranchement	Spermatophyte (phanérogame : plante à graine)
Sous-embranchement	Angiosperme
Classe	Magnoliopsida
Super ordre	Liliaceae ou Alliaceae
Ordre	Asparagales
Famille	Amaryllidaceae
Genre	Allium
Espèce	Cepa

Tableau 2 : Classification de l'espèce d'*Allium cepa* (Almaïmoune Maïga, 2014).

Cette plante est très importante soit pour son usage alimentaire ou pour son action médicinales tel que l'effet antibactérien, l'effet antifongique, l'effet anticoagulant ainsi que les propriétés anti-hyperglycémique et antiasthmatique (Grubben, 2004) soit son utilisation dans les études biologique et génotoxique (Cotelle, 1999).

5. Test d'*Allium cepa*

L'utilisation de l'*A. cepa* comme système de test pour détecter les mutagènes remonte aux années 40, ce teste est caractérisé comme un test peu coûteux. Il est facile à manipuler et présente des avantages par rapport aux autres testes à court terme qui nécessitent des préparations préalables d'échantillons testés (Leme and Marin-Morales, 2009). Ce test permet d'évaluer différents critères d'évaluation. Parmi ces paramètres, les aberrations chromosomiques, ce critère s'est avéré très sensible pour détecter le potentiel génotoxique de produits chimiques, produits phytosanitaires ou autres substances organiques. L'indice mitotique et certaines anomalies nucléaires sont utilisés pour évaluer la cytotoxicité et vérifier la mutagénicité de différents produits chimiques. (Cotelle, 1999).

5.1 Caryotype et division cellulaire

L'espèce *Allium cepa* présente un caryotype symétrique, qui est homogène par rapport à la taille chromosomique, avec de grandes et peu chromosomes ($2n = 16$) (Leme and Marin-Morales, 2009).

Le caryotype présente cinq paires de chromosomes (de 8 à 16 μm) avec des centromères situés de façon médiane à submédiane, deux paires dans lesquelles les centromères sont submédiane et une paire de chromosomes satellites (Cotelle, 1999).

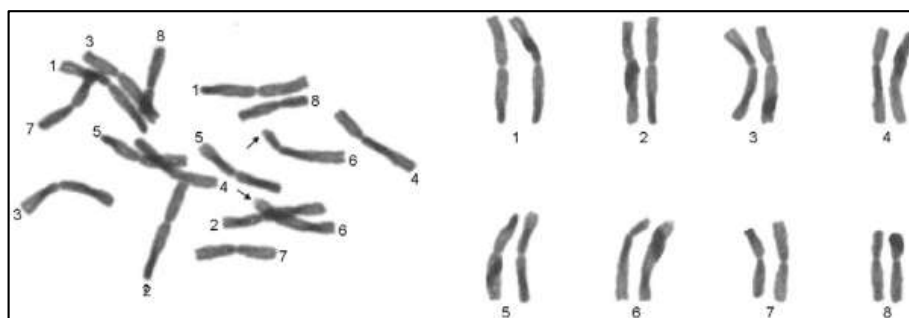


Fig 8 : Caryotype cepa, $2n = 16$. Flèche indiquant la région organisatrice du nucléole (NOR) située dans la partie terminale du bras court de la paire 6 (Leme and Marin-Morales, 2009).

La division cellulaire est un mode de reproduction asexuée des cellules eucaryotes permettant leur multiplication, correspond à l'ensemble des modifications qu'une cellule subit lors de sa formation. Il se compose de l'interphase et de la mitose.

- **L'interphase**

L'interphase est composée de trois phases successives : la phase G1, la phase S et la phase G2. Lors de cette période du cycle, les chromosomes ne sont pas individualisés et le matériel génétique est sous la forme de chromatine.

- **La mitose (ou phase M)**

Le matériel nucléaire et cytoplasmique de la cellule mère va alors être divisé entre deux cellules filles, mais le processus de répartition est complexe. Il se réalise en 4 étapes qui sont la prophase, la métaphase, l'anaphase, la télophase. En prophase les filaments de chromatine se condensent en chromatide pour former des chromosomes dans le noyau. Les centrioles de la cellule se répliquent en deux paires et se répartissent à chaque pôle du noyau. Des microtubules se développent en forme de fuseau, sortes de rails sur lesquels vont se déplacer les chromosomes. À la métaphase les microtubules capturent les chromosomes au niveau des kinétochores formant la plaque équatoriale. Les chromosomes sont tous disposés à l'équateur de la cellule, les chromatides de chaque chromosome se séparent par le centromère qui se clive, les moteurs des kinétochores font monter les chromatides vers les pôles opposés de la cellule, c'est de l'anaphase. En fin du cycle à la télophase une membrane nucléaire se forme, le fuseau s'estompe, une cloison entre les cellules filles se crée, tous les chromosomes fils sont aux pôles et les microtubules kinétochoriens ont disparu (Dorée, 2003).

5. 2 Les différents critères analysés par le test *Allium cepa*

Comme mentionné précédemment, le test *A. cepa* permet d'évaluer de différents paramètres génétiques tels que l'indice mitotique, teste d'aberrations chromosomiques, teste d'anomalies nucléaires et teste *Allium*-micronoyaux.

5.2.1 Indice mitotique (IM)

L'indice mitotique (IM), caractérisé par le nombre total de cellules en division dans le cycle cellulaire, a été utilisé comme paramètre pour évaluer la cytotoxicité de plusieurs agents. Les niveaux de cytotoxicité d'un agent peuvent être déterminés par l'augmentation ou

la diminution de l'IM. En revanche, les IMs supérieurs au témoin négatif sont le résultat d'une augmentation de la division cellulaire, qui peut être nocive pour les cellules, conduisant à une prolifération cellulaire désordonnée et même à la formation de tissus tumoraux. Cependant, tant la réduction que l'augmentation des IMs sont des indicateurs importants dans le suivi de la pollution de l'environnement, notamment pour l'évaluation des contaminants qui présentent des potentiels cytotoxiques. La diminution du MI des cellules méristématiques d'*A. cepa* peut être considérée comme une méthode fiable pour déterminer la présence de agents cytotoxiques dans l'environnement et peuvent donc être considérés comme un teste sensible pour estimer les niveaux de pollution (Leme and Marin-Morales, 2009).

5.2.2 Aberrations chromosomiques (ACs)

Les ACs se caractérisent par des changements soit nombre total de chromosomes ou dans structure chromosomique, qui se présente comme un résultat de l'exposition à des produits chimiques. Pour évaluer les différentes anomalies chromosomiques, plusieurs types d'AC sont considérés dans différents étapes du cycle cellulaire (prophase, métaphase, anaphase et télophase). Les aberrations comprennent : la c-mitose, les vagabonds, collant, anaphase retardée et retardataire/s. Le test d'aberration chromosomique d'*Allium cepa* est pratique pour étudier l'action de différentes concentrations connues des produits chimiques toxiques, les bulbes d'oignons étaient autorisés à germer directement dans le produit chimique à tester et les observations finales étant faites en quelques jours. L'analyse AC, en plus d'estimer l'effet génotoxique des agents testés, permet également l'évaluation de leur action clastogènes et aneugènes. Il peut être avantageux d'utiliser le test *Allium cepa* car il nécessite moins concentrations pour donner une réponse spécifique par rapport aux méthodes plus anciennes, qui signifie que dans certaines conditions le test modifié est aussi particulièrement bien adapté à l'affichage photographique des réponses macroscopiques et microscopiques (Khanna and Sharma, 2013).

5.2.3 Anomalies nucléaires (AN)

Certains auteurs ont récemment inclus un autre paramètre dans la terminaison dans l'analyse d'AC des cellules méristématiques d'*A. cepa*. Un tel point final fait référence à anomalies nucléaires (AN). AN se caractérisent par des altérations morphologiques dans les noyaux interphasiques, résultant de l'action de l'agent testé. Généralement, ces altérations sont observées chez *A. cepa* test sous forme de noyaux lobulés, noyaux porteurs de bourgeons

nucléaires, cellules polynucléaires, mini-cellules, entre autres l'évaluation de AN, avec AC, s'est révélée être un élément sensible d'analyse, pour rendre l'investigation des actions de l'agent testé, encore plus précis en ce qui concerne leurs effets sur l'ADN des personnes exposées. La présence des noyaux lobulés et les cellules polynucléaires peuvent indiquer un processus de mort cellulaire (**Leme and Marin-Morales, 2009**).

5.2.4 Le teste *Allium*-micronoyaux (*Allium*-MCN)

Les MCN ont été considérés par de nombreux auteurs comme les plus critère d'évaluation efficace et le plus simple pour analyser l'effet mutagène favorisée par les produits chimiques. L'évaluation des MCN dans le teste *A. cepa* peut être effectuée à la fois dans cellules méristématiques et dans les racines de cette espèce. L'analyse des MCN dans cellules méristématiques est généralement réalisée avec l'AC, qui prend plus de temps à être réalisé (**Leme and Marin-Morales, 2009**).

Le principe de ce teste est généralement mis à germer les bulbes d'*Allium cepa*, puis, après exposition des racines aux solutions ou aux matrices complexes, les cellules racinaires sont observées et les MCN dénombrés. Le taux de MCN spontanés est en général compris entre 0 et 0,5 micronoyau (MCN) pour 1000 cellules selon les laboratoires. Les fréquences de MCN obtenues après traitement des racines d'*Allium cepa* à des substances de référence sont de 24 MCN/1000 cellules pour le méthyl méthanesulfonate (90 μ M) et de 105 MCN/1000 cellules pour le chlorure de méthylmercure. En revanche, les matrices complexes induisent en général de très faibles taux de MCN, par exemple 0,8 MCN/1000 cellules a été obtenu avec l'extrait aqueux d'un sol contaminé et présenté comme un taux significativement supérieur à celui du témoin par les auteurs (**Cotelle, 1999**).



Partie

expérimentale



Chapitre I : **Matériel et Méthodes**

I. Synthèse biologique des nanoparticules d'argent

Dans cette étude nous allons essayer d'évaluer la génotoxicité des nanoparticules d'argent biosynthétisés, en utilisant le test des aberrations chromosomiques dans les racines d'*Allium cepa*.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique de l'université 08 mai 1945 de Guelma.

1.1 Matériel utilisé

a) Matériel chimique

La solution de nitrate d'argent AgNO_3 que nous avons utilisé est de concentration 2.5 mM préparé par Sonatrach Skikda l'an 2020.

b) Matériel biologique

Pour la préparation d'extrait de fruit de concombre (*Cucumis sativus*) frais, des concombres propres ont été collectés sur le marché le plus proche de la ville de Guelma

1.2 Méthodes d'études

1.2.1 Préparation d'extrait de fruit de concombre (*Cucumis sativus*)

Pour préparer l'extrait de fruit de concombre (*Cucumis sativus*), on a utilisé d'environ 50 g de concombre frais qui a été nettoyé, coupé en petits morceaux et broyé à l'aide d'un broyeur. Il a ensuite été filtré en utilisant l'appareil de filtration puis centrifugé à 5000 t/min pendant 5 minutes pour obtenir un extrait d'aspect claire.



Fig 9 : La filtration du fruit de concombre. (Source : Photos présent par le groupe, 2022).



Avant la centrifugation



Après la centrifugation

Fig 10 : le filtrat de fruit de concombre avant et après la centrifugation.

(Source : Photos présent par le groupe, 2022).

1.2.2 Réduction des ions d'argent présentent dans la solution d' AgNO_3

D'abord on a préparé les tubes à essai dans la chambre noire, puis on a ajouté 5 ml de solution de nitrate d'argent (AgNO_3) dans les tubes, ensuite on a ajouté 5ml de la solution de fruit de concombre goutte à goutte jusqu'au changement de la couleur. Après quelques heures, un changement distinct de la couleur de la solution a été observé (Figure 12).

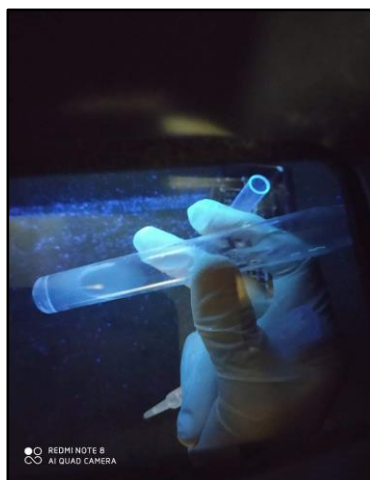


Fig 11 : Préparation des tubes pour la réduction des ions d'argent dans la chambre noire.
(Source : Photo présent par le groupe, 2022).



Fig 12 : Changement de la couleur du mélange. (Source : Photo présent par le groupe, 2022).

1.2.3 Spectroscopie UV –visible

L'absorption de rayonnement ultra-violet-visible par les nanoparticules d'argent se traduit généralement par une bande d'absorption électronique entre 350 et 450 nm caractéristique de ces nanoparticules. L'élargissement de la bande indique une large distribution de tailles des nanoparticules (Bousalem, 2017).

La bio-réduction des ions Ag^+ pures a été suivie et contrôlée par absorption à UV-visible, en scannant l'extrait avant l'addition des nanoparticules et après changement de couleur du mélange réactionnel dans la plage de longueurs d'onde de 200 à 600 nm.

Les mesures spectrophotométriques ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre à double faisceau UV-visible Lambda 25 PERKIN ELMER en utilisant des cuves en quartz de 10 mm de trajet optique. L'enceinte du spectrophotomètre est thermostatée à 25°C.



Fig 13 : Appareil d'UV-Visible du laboratoire pédagogique de l'université 08 mai 1945 de Guelma. [Source : Photo prisent par le groupe, 2022].

II. L'étude génotoxique : Test anaphase-télophase *Allium cepa*

1. Matériel biologique utilisé

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est les bulbes d'oignon *Allium cepa* L. Les bulbes de l'oignon ont été collectés auprès d'un marché de la wilaya du Guelma.

2. Méthode d'étude : Test anaphase-télophase *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 (Liman et al., 2010).

2.1 Germination des bulbes d'*Allium cepa*

Avant de commencer le test, les écailles extérieures des bulbes d'oignon et la plaque inférieure sèche ont été retirées sans détruire les ébauches racinaires. 3 séries de six ampoules ont été placées dans des gobelets d'eau distillée arroser pendant 48 h à l'obscurité dans un endroit aéré à température ambiante. Ensuite des séries de cinq meilleurs bulbes en croissance se sont exposés pendant 24 h au control positif (l'Azide de sodium), aux nanoparticules d'argent et à l'eau distillé (Témoin négatif), de façons que seules les racines soient immergées. Sur le 4e jour, les longueurs des racines (longueurs de 5 racines de chaque bulbe) ont été mesurées à la fois sur les 3 série (Liman et al., 2010).

2.2 L'élongation racinaire

L'élongation racinaire est simplement calculée en mesurant les racines des bulbes d'oignons après 48h de l'exposition aux trois solutions à tester : L'eau distillée, AgNPs, Azide de sodium. Il s'agit donc de mesurer les longueurs de cinq racines de chaque bulbe en calculant la moyenne des racines.

2.3 Fixation et conservation des extrémités racinaires

Les deux derniers centimètres des racines sont coupés et mis directement dans un mélange éthanol/acide acétique glacial (3V : 1V) à 4°C fraîchement préparé, pendant 24h. Cette 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 précipite et dénature les protéines, dissout certains lipides et durcie les tissus. L'acide acétique est un bon fixateur des chromosomes, il précipite les protéines du noyau). Ensuite on fait 3 lavages successives avec l'eau distillé. Enfin les extrémités racinaires sont conservées dans 2,5 ml d'éthanol à 70% pour une longue durée.

2.4 Hydrolyse des extrémités racinaires

La réalisation de cette étape se fait en plaçant les extrémités racinaires dans un tube contenu de l'HCL dans un bain marie à 60 C° pendant 8 min, puis transférées dans de l'eau distillée pendant 5 min, changer l'eau distillée 3 fois (5min/fois).

2.5 Coloration par le réactif de Feulgen

Les racines sont ensuite colorées avec le réactif de Feulgen pendant 20 à 25 min à l'obscurité.

2.6 Décoloration dans l'eau distillée

Les racines sont transférées dans de l'eau distillée pendant 2 min à l'obscurité.

2.7 Observation des cellules au microscope

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. Les lames ont été codées au hasard.

2.8 Examen des cellules des extrémités racinaires

Les cellules sont examinées au microscope optique en utilisant l'objectif $\times 40$ pour l'indice mitotique (IM) et l'objectif $\times 60$ pour les différentes aberrations dans un total de 100 cellules/lame par concentration, et exprimées en pourcentage (**Liman et al., 2010**).

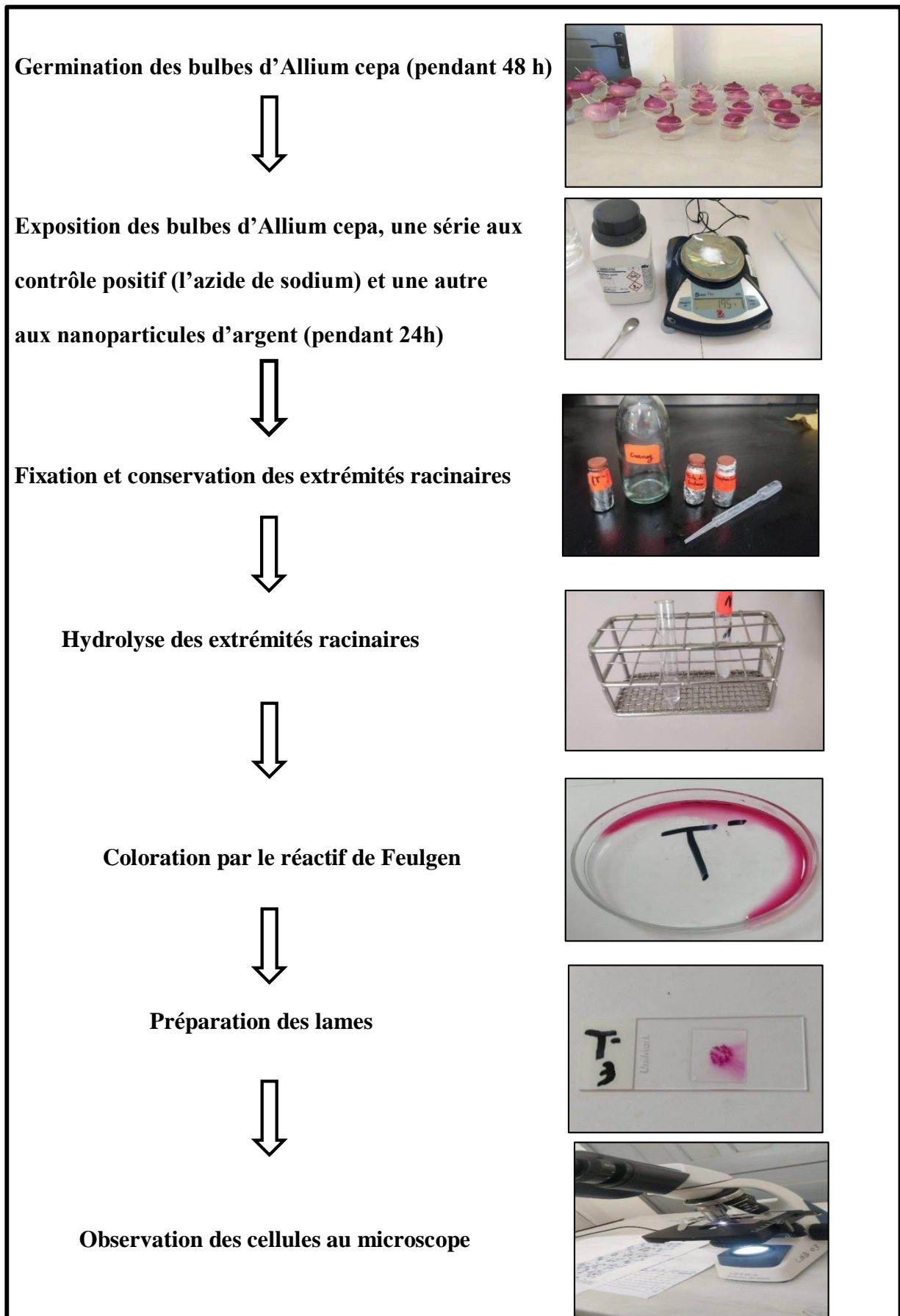


Fig 14 : Les étapes du test des AC dans les racines d'*Allium cepa*.
(Source : Photos présent par le groupe, 2022).



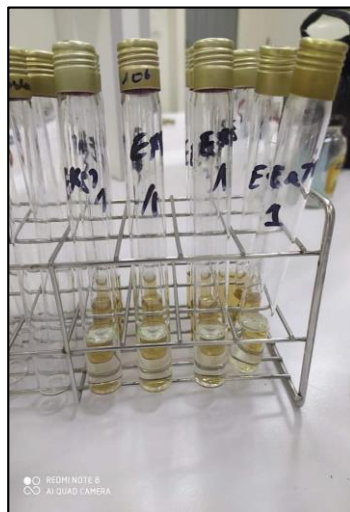
Chapitre II : Résultats et Discussion

La formation des nanoparticules d'argent peut être contrôlée à la fois par un changement visible de couleur et quantitativement par mesure des spectres UV-Vis (Bousalem, 2017).

Dans la présente étude, le but était d'évaluer les effets cytotoxiques et génotoxiques des nanoparticules biosynthétisée sur les extrémités racinaires d'*Allium cepa* L. nous allons présenter les résultats évalués par le test *Allium cepa*.

1. Réduction des ions d'argent : Extrait de concombre + AgNO₃

Après 1h d'addition d'extrait de fruit de concombre (*Cucumis sativus*), la couleur du mélange réactionnel a changé graduellement de l'incolore au marron clair, ensuite au marron foncé après quelque heurs, indiquant la formation de nanoparticules d'argent colloïdal dans le mélange (figure).



Le mélange à 0h



Après 8h

Fig 15 : Images représentent le virage de couleur du mélange.

(Source : Photos prisent par le groupe, 2022).

La réaction entre les deux réactifs explique le changement de couleur du mélange, puisque le mélange ne présente aucune couleur avant le traitement. Le fruit de concombre (*Cucumis sativus*) contient des biomolécules organiques censées être des agents réducteurs et coiffants efficaces pour la synthèse des NPs (Boumaraf et al., 2020). La biomolécule agit directement à la fois en tant que stabilisant et agent réducteur pour les particules colloïdales lors de l'interaction avec les ions métalliques, en raison de l'abondance des groupements carboxyles, carbonyles, hydroxyles et phénols dans l'extrait, ces derniers peuvent réduire le

cation Ag⁺ et stabiliser les NPs d'argent (Metiaz and Boudiba, 2020). à partir de données publiées (Roy et al., 2015); (Bousalem, 2017), il est connu que les NPs présentent une couleur brune en solution aqueuse en raison de l'excitation des vibrations de plasmon de surface dans les AgNPs.

2. Caractérisations par UV-visible

L'étude des propriétés optiques par spectroscopie d'absorption constitue une étape indispensable en vue de la caractérisation des nanoparticules d'argent synthétisées donc est systématiquement observés dans les études (Roy et al., 2015); (Bousalem, 2017) ; (Metiaz and Boudiba, 2020).

L'absorption de rayonnement ultra-violet-visible par les nanoparticules d'argent se traduit généralement par une bande d'absorption électronique autour de 400 nm caractéristique de ces nanoparticules. La largeur et la symétrie de la bande est caractéristique de la distribution de taille des nanoparticules. (Bousalem, 2017).

Les résultats d'absorbances de l'extrait de fruit de concombre, d'AgNO₃ et des AgNPs, dans la plage de longueurs d'onde de 200 à 600 nm, sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3 : Représente les différentes longueurs d'onde (nm) de chaque solution.

Les dosages effectués	Absorbance (DO) à différentes longueurs d'onde (nm)						
	200	300	400	450	500	550	600
L'extrait de fruit de concombre	0.297	0.080	0.513	0.448	0.334	0.235	0.165
AgNO ₃	0.325	0.131	0.293	0.281	0.262	0.209	0.161
AgNPs	0.238	0.128	0.803	0.614	0.441	0.318	0.195

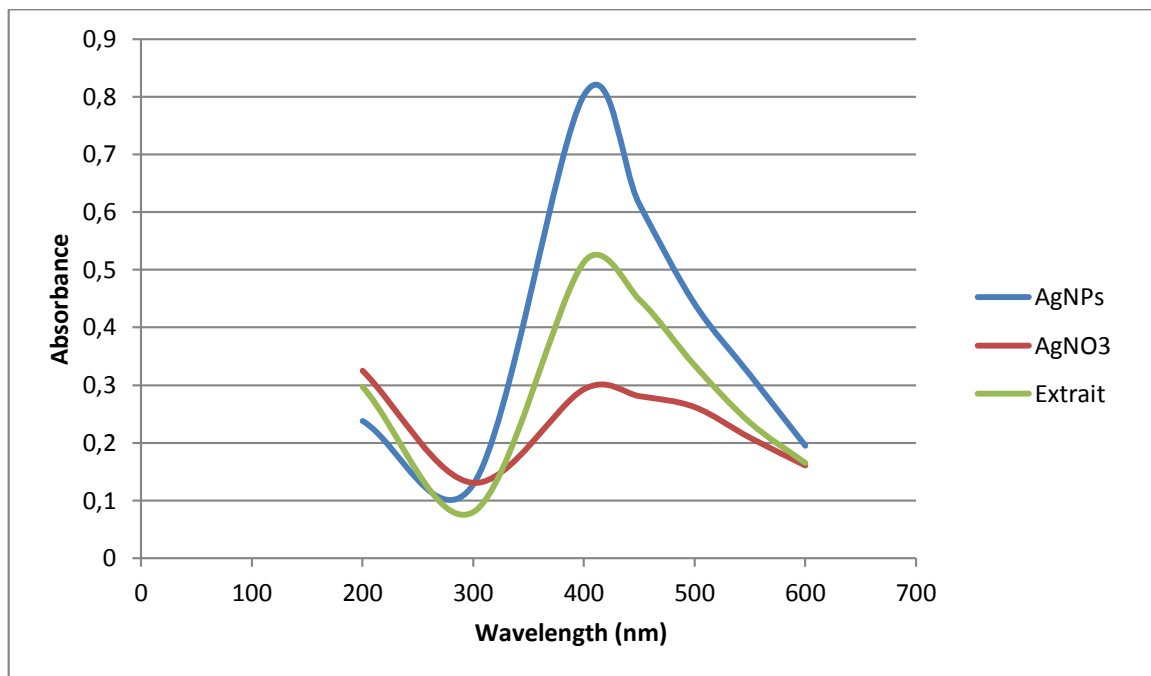


Fig 16 : Courbe représente le spectre d'absorption UV-Vis de AgNPs produites.

La courbe montre le spectre d'absorption UV-Vis des AgNPs produites allant de 200 à 600 nm et on remarque un pic symétrique exceptionnel autour de 400 nm. C'est à la suite de la résonance plasmonique de surface des AgNPs donc on peut confirmer la présence de nanoparticules d'argent dans le mélange (**Bousalem, 2017**). Le même phénomène a été signalé par d'autres travaux (**Roy et al., 2015**) et (**Metiaz and Boudiba, 2020**).

3. L'élongation racinaire

L'étude de la cytotoxicité et de la génotoxicité des nanoparticules d'argent sont estimés par le comptage du nombre de cellules en division en prenant en considération trois paramètres : l'élongation racinaire, l'effet sur l'indice mitotique et l'étude des aberrations chromosomiques (**Liman et al., 2010**).

Après 48h de l'exposition des bulbes d'oignons aux trois solutions à tester (témoin négatif, AgNPs et control positif). On a mesuré les longueurs des racines des bulbes.

Les résultats présentés dans le tableau (4) correspondent au moyen (cm) \pm Déviation standard d'élongation racinaire.

Tableau 4 : Moyenne (cm) \pm Déviation standard de l'élongation racinaire des racines des bulbes d'oignon (*Allium cepa*)

Traitement	Moyen (cm) \pm DS
Témoin négatif	1.64 \pm 0.23
Nanoparticules	1.16 \pm 0.55
Témoin positif	0.94 \pm 0.23

L'analyse statistique a montré que la longueur des racines des bulbes exposés au témoin négatif est de 1.64 cm \pm 0.23 suivie par celle des racines exposées aux nanoparticules qui était de 1.16 cm \pm 0.55 et celle des racines exposées à l'azide de sodium (le témoin positif) était la plus petite d'environ 0.94 cm \pm 0.23.

Ce critère d'élongation racinaire est considéré comme un paramètre de cytotoxicité à côté de l'indice mitotique

4. l'indice mitotique (IM)

L'indice mitotique (IM), caractérisé par le nombre total de cellules en division dans le cycle cellulaire, a été utilisé comme paramètre fiable pour identifier la cytotoxicité. Les niveaux de cytotoxicité d'un agent peuvent être déterminés par l'augmentation ou la diminution de l'IM. Des IMs inférieurs au témoin négatif peuvent indiquer que la croissance et le développement des organismes exposés ont été affectés par les composés testés. D'autre part, l'augmentation de IM résulte de l'induction de la division cellulaire et peut être caractérisée comme un événement préjudiciable aux cellules en entraînant à la fois une prolifération incontrôlée et la formation de tumeurs (Boumaza et al., 2016).

Les cellules méristématiques racinaires d'*Allium* sont dénombrées pour 1000 cellules par lame. 8 lames sont préparées et observées. Notons que tous les stades de la mitose sont pris en compte, de la prophase jusqu' au télophase.

A partir du calcul de ces indices, on remarque que l'IM des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* exposées au témoin négatif est le plus élevé de 19.32 \pm 2,16 ^a par rapport à celui des cellules exposées aux AgNPs qui est de 15,13 \pm 10,59 ^a. Par ailleurs, l'exposition au témoin positif a donné un IM de 10.91 \pm 3,21 ^a qui est le plus bas en comparaison avec les indices des autres échantillons quoique cette différence n'est pas statistiquement significative.

La réduction de l'activité mitotique pourrait être due à l'inhibition de la synthèse de l'ADN et des nucléoprotéines du système biologique, la diminution de IM est due probablement à une modification ou une altération dans l'expression de certains gènes (Boumaza et al., 2016).

Concernent les phases mitotique, on remarque que les pourcentages des 4 phases chez le témoin négatif et les AgNPs sont relativement élevés par rapport à ceux de control positif, et le prophase est le stade dominant, que ce soit chez les cellules témoins (positif et négatif) ou chez les cellules traitées avec les AgNPs, alors que les autres stades (métaphase, anaphase et télophase) ne représentent qu'une minorité, des résultats similaires ont été obtenus dans des autres études.

L'augmentation du nombre de prophases chez le control positif, indique la présence d'un empêchement de passage aux autres stades de la division cellulaire à ce niveau, probablement être reliée à une intense altération de microtubules en empêchant l'assemblage des chromosomes au stade métaphase, ce qui aboutit au ralentissement de l'engagement des cellules aux autres stades de la mitose (Liman et al., 2010).

Tableau 05 : L'indice mitotique et le pourcentage des phases mitotiques dans les extrémités racinaires d'*Allium cepa* L.

Traitement	NCC	IM ± DS	Phases mitotiques (%) ± (DS)*			
			Prophase	Métaphase	Anaphase	Télophase
Témoin Négatif	8088	19.32 ± 2,16 ^a	13.32 ± 2.78 ^a	0.82 ± 4.48 ^a	0.32 ± 0.15 ^a	1.08 ± 0.82 ^a
Nanoparticules	8132	15,13 ± 10,59 ^a	10.04 ± 10.52 ^a	0.63 ± 1.04 ^a	0.26 ± 0.31 ^a	0.49 ± 0.45 ^a
Control positif	8168	10.91± 3,21 ^a	16.37 ± 1.72 ^a	0.39 ± 0.13 ^a	0,14 ± 0.15 ^a	0.25± 0.82 ^a

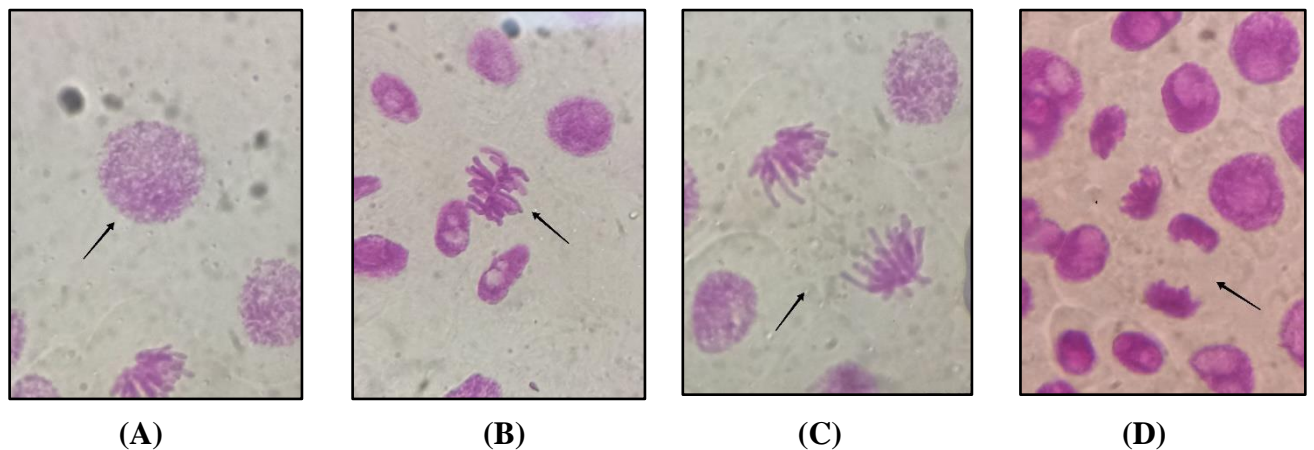


Figure 17 : Cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* en division régulière et normale : (A) prophase, (B) métaphase, (C) anaphase, (D) télophase.

5. Aberrations chromosomique

Dans le test d'aberration chromosomique *A. cepa* anaphase-télophase menée avec des cellules méristématiques racinaires d'*A. cepa*. Les observations microscopiques ont permis de visualiser les différentes phases du développement mitotique. En outre, quelques aberrations et anomalies chromosomique, nucléaires, et cellulaires ont aussi été révélés.

Les analyses statistiques du taux d'aberrations chromosomiques dénombrées décrivent des différences significatives entre les cellules exposées au témoin négatif d'un côté et celles exposées aux AgNPs et l'azide de sodium d'un autre côté. On voit bien que le témoin négatif est le plus faible en terme de provocation de dommages avec $4.18\% \pm 1.72^b$, l'exposition aux AgNPs fait augmenter ce taux à $7.94\% \pm 3.24^a$, et le témoin positif se montre le plus endommageant avec $11.27\% \pm 4.43^a$.

Les aberrations les plus courantes observées dans tous les traitements étaient : C-métaphase, cellules binucléaires et adhérence des Chromosomes en Métaphase.

En plus de ces anomalies, d'autres anomalies : noyau avec bourgeon, pont chromosomique dans l'anaphase, chromosome vagabond, micronoyaux, chromosome liée, perturbation anaphase-télophase, polyploïdie, noyau lobulé, anaphase multipolaire, ont également été observées.

Tableau 06 : Pourcentage des aberrations chromosomiques des nanoparticules d'argent obtenues par le test d'*Allium cepa* L.

Traitement	Anomalies Métaphase-Anaphase (%)									
	NCC	CM	ACM	NAB	PCA	BN	CV	MN	CL	AC±DS
Témoin Négatif	864	1.61	0.45	0	0.20	0.69	0.12	0.11	0	4.18±1.72 ^b
Nanoparticules	903	2.29	1.10	0.36	0.19	1.50	0.30	0.44	0.56	7.94 ± 3.24 ^a
Control Positif	833	2.76	1.81	0.44	0.99	1.92	0.36	1.89	0.98	11.27± 4.43 ^a

* Statistique avec la même lettre ne diffèrent pas statistiquement à 0,05.

NCC : Nombre de Cellules Comptées ; **NAB** : Noyau avec bourgeon ; **CM** : C-métaphase.

ACM : Adhérence des Chromosomes en Métaphase ; **PCA** : Pont Chromosomique dans l'Anaphase ; **BN** : Binucléaire ; **CV** : Chromosome Vagabond ; **MN** : Micronoyaux ; **CL** : Chromosome liée ; **DS** : Déviation Standard.

la C-métaphase indique que la formation du fuseau a été affectée, ce qui entraîne une aneuploïdie de la c-métaphase (Boumaza et al., 2016). Des observations similaires ont été faites par d'autres chercheurs où c-métaphase était considérée comme le signe d'un faible effet toxique qui peut être réversible. Cependant, ces changements peuvent induire la formation de cellules polyploïdes s'ils ne sont pas inversés. L'adhérence des chromosomes est l'un des anomalies majeures, a entraîné une contraction chromosomique accrue et de la condensation ou de la dépolymérisation de l'ADN et dissolution partielle des nucléoprotéines dans les chromosomes. Il est suggéré que l'adhérence reflète un état hautement toxique et généralement irréversible qui conduit probablement à la mort cellulaire. Le Chromosome vagabond, un chromosome se déplace devant son groupe chromosomique vers les pôles et conduit à l'inégale séparation du nombre de chromosomes dans les cellules filles (Khanna and Sharma, 2013). Les ponts chromosomiques pourraient se produire lors de la translocation d'un échange inégal de chromatides ou en raison de la présence de chromosomes dicentriques. Ces ponts provoquent des mutations chromosomiques structurales (Boumaza et

al., 2016). La polyplôïdie peut se produire en raison du manque de fragmoplaste qui empêche la formation des cellules filles. Les cellules binucléaires sont acceptées comme inhibition de la cytokinèse dans tous les points de contrôle du cycle cellulaire. Le micronoyau est formé par une nouvelle membrane se développant autour de la chromatine de matière qui n'a pas réussi à se déplacer vers l'un ou l'autre des pôles pendant l'anaphase de la mitose (**Liman et al., 2010**).

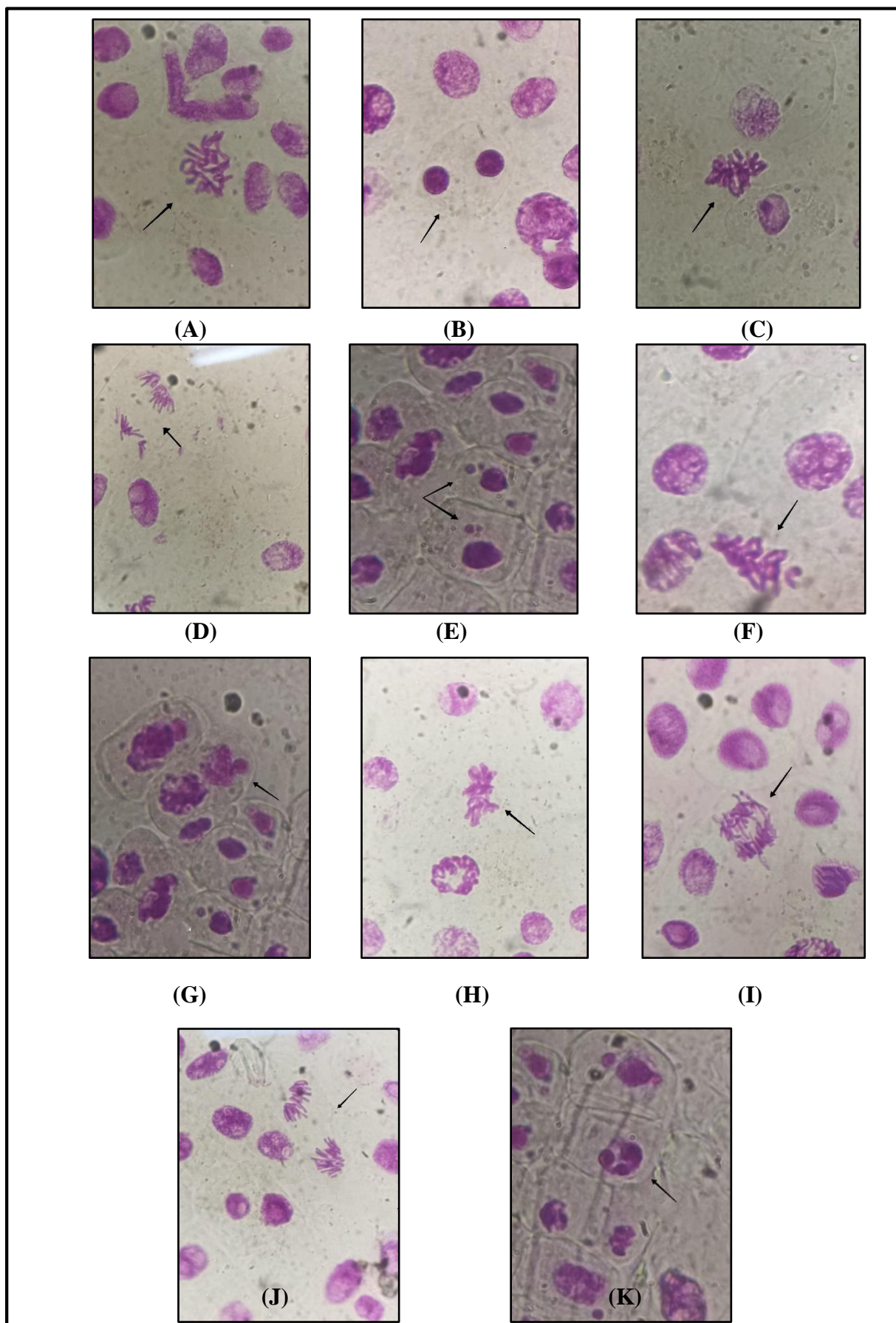


Figure 18 : Les différentes aberrations chromosomiques observées dans les méristèmes racinaires d'*Allium cepa* traités par les nanoparticules d'argent.

(A) C-Maphase, (B) Noyau Binucléé, (C) Adhérence de Chromosome en Anaphase, (D) Anaphase Désorienté, (E) Micronoyaux, (F) Chromosome Vagabond en Métaphase, (G) Noyau avec bourgeon, (H) Chromosome liées, (I) Pont Chromosomique en Anaphase, (J) Perturbation Anaphase Télaphase, (K) Noyau lobulé.



Conclusion

Conclusion

Conclusion :

Ces dernières années, on s'intéresse de plus en plus à l'étude des nouvelles nanoparticules métalliques. En particulier, Les nanoparticules d'argent qui ont des propriétés physico-chimiques distinctives qui permettent leur application dans plusieurs domaines.

Par conséquent, cette étude est pour but d'évaluer les effets cytotoxiques et génotoxiques des nanoparticules biosynthétisée sur les extrémités racinaires d'*Allium cepa* L.

Pour la biosynthèse des nanoparticules d'argent, les résultats de notre travail montrent un changement visible de la couleur du mélange au marron foncé, ainsi l'absorption de rayonnement ultra-violet-visible par les nanoparticules d'argent montre une bande d'absorbance autour de 400 nm. C'est à la suite de la résonance plasmonique de surface des AgNPs. Donc on peut confirmer la formation des nanoparticules d'argent dans le mélange.

A partir du calcul des IMs des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa*, et en comparaison de 3 IMs d'échantillons, la différence n'est pas statistiquement significative. Et concernent les phases mitotique, on remarque que les pourcentages des 4 phases chez le témoin négatif et les AgNPs sont relativement élevés par rapport à ceux du témoin positif. Ainsi Les analyses statistiques du taux d'aberrations chromosomiques dénombrées décrivent des différences significatives entre les cellules exposées au témoin négatif d'un côté et celles exposées aux AgNPs et l'azide de sodium d'un autre côté. Les aberrations les plus courantes observées dans tous les traitements étaient : C-métaphase, cellules binucléaires et adhérence des Chromosomes en Métaphase.

En fin on conclut que nos résultats ont montré que les AgNPs ont révélé un faible taux de génotoxicité sur les cellules des racines de *Allium cepa*. Ces résultats sont prometteurs et doivent être compléter par des études ayant pour but de déterminer l'effet antibactérien des AgNPs. Ça serait aussi intéressant d'utiliser d'autres modèles d'évaluation de l'activité génotoxique et anti-génotoxique notamment les tests *in vivo*.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

Bibliographie

- Abbasi, E., Milani, M., Fekri Aval, S., Kouhi, M., Akbarzadeh, A., Tayefi Nasrabadi, H., Nikasa, P., Joo, S.W., Hanifehpour, Y., Nejati-Koshki, K., 2016. Silver nanoparticles: synthesis methods, bio-applications and properties. *Crit. Rev. Microbiol.* 42, 173–180.
- Afsset, S., 2006. Les Nanomatériaux : Effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement. ALFORT CEDEX.
- Almaïmoune Maïga, M.A., 2014. Etude de la chimie et des activités biologiques de six (6) plantes utilisées dans le traitement traditionnel du diabète : *Allium cepa*; *Allium sativum*; *Daucus carota*; *Eucalyptus globulus*; *Psidium guajava* et *Solanum melongena*. (These de doctorat). Département Médecine traditionnelle du Mali, : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, d'Odonto-Stomatologie et la Faculté de Pharmacie.
- Benoit-Browaey, 2010. Les nano-argents et les dioxydes de titane dans les revêtements : Etat des lieux des connaissances, incertitudes et controverses. VivAgora, Paris.
- Boumaza, A., Lalaoui, K., Khallef, M., Sbayou, H., Talbi, H., Hilali, A., 2016. Assessment of Cytotoxic and Genotoxic Effects of Clodinafop-propargyl Commercial Formulation on *Allium cepa* L 7, 1245–1251.
- Bousalem, N., 2017. SYNTHÈSE VERTE, CARACTERISATION ET ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE FILMS COMPOSITES ALGINATE – NANOPARTICULES D'ARGENT-CHITOSANE. (Thesis). 12-06-2017.
- Chauvel, Romain, 2018. « Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique ». Claude Bernard Lyon 1 SANTE, Lyon.
- Cotellet, S., 1999. Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures (These de doctorat). Metz.
- Dadi, R., 2007. Synthèse de nanoparticules d'oxydes métalliques et leur activité antibactérienne 189.
- Dorée, M., 2003. Le déclenchement de la mitose chez les eucaryotes supérieurs. *médecine/sciences* 19, 299–307. <https://doi.org/10.1051/medsci/2003193299>
- 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 164.

Références bibliographiques

- Farkas, S., Qazzaz, M., Syed, N.I., 2013. Silver nanoparticles (AgNPs) cause degeneration of cytoskeleton and disrupt synaptic machinery of cultured cortical neurons. *Mol. Brain* 6, 29. <https://doi.org/10.1186/1756-6606-6-29>
- Fortin, F., 2012. Évaluation de la cytogénotoxicité humaine induite par l'exposition à de faibles doses de benzo-a-pyrène, à l'aide de biomarqueurs précoces.
- Gouzy, A., Denize, C., 2015. Nanoparticles: Workhorses Of Nanoscience [PDF] [7m18k2k9ip10] [WWW Document]. AGENT NANO-ARGENT. URL <https://vdoc.pub/documents/nanoparticles-workhorses-of-nanoscience-7m18k2k9ip10> (accessed 4.14.22).
- Grubben, G.J.H., 2004. Légumes. PROTA.
- Hou, Y., Sun, Z., Rao, W., Liu, J., 2018. Nanoparticle-mediated cryosurgery for tumor therapy. *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* 14, 493–506. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.11.018>
- jtromoulet, 2018. Les nanoparticules – CMI IPA [WWW Document]. URL <https://cmi-ipa.univ-avignon.fr/2018/01/09/les-nanoparticules/> (accessed 4.29.22).
- Khanna, N., Sharma, S., 2013. Allium Cepa Root Chromosomal Aberration Assay: A Review. *Indian J. Pharm. Biol. Res.* 1, 105–119. <https://doi.org/10.30750/ijpbr.1.3.15>
- Lanone, 2009. Effets respiratoires des nanoparticules manufacturées. 2- Université Paris 12, Faculté de médecine, Créteil, F-94000, France 39 p.
- Ledier, 2012. Elaboration de nanoparticules d'argent par réduction de sels métallo-organiques : contrôle de taille, stabilité, organisation et propriétés physiques (These de doctorat). Chimie théorique et/ou physique. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2012. Français.
- Leme, D.M., Marin-Morales, M.A., 2009. Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutat. Res.* 682, 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>
- Liman, R., Akyıl, D., Eren, Y., Konuk, M., 2010. Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/Salmonella and Allium test. *Chemosphere* 80, 1056–1061. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.05.011>
- Macromolécules (LRM) BP 119, 13000 Tlemcen - Algérie.

Références bibliographiques

- Marchioni, M., 2018. Ecoconception de nouveaux agents biocides à base de nanoparticules d'argent à enrobage bio-inspiré 257.
- Masson, E., 2002. Tests de génotoxicité [WWW Document]. EM-Consulte. URL <https://www.em-consulte.com/article/12049/tests-de-genotoxicite> (accessed 5.15.22).
- Merrer, T.L., 2009. Etude de la cytotoxicité dans le test du micronoyau in vitro réalisé sur la lignée cellulaire TK6: comparaison à la lignée L5178Y.
- Metiaz, H.M., Boudiba, A., 2020. SYNTHÈSE, CARACTÉRISATION DES NANOPARTICULES D'ARGENT A BASE D'EXTRAIT DES FEUILLES DE PLANTES ET EVALUATION DE LEUR ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE ET ANTIMICROBIENNE (Thesis). جامعة غرداية.
- Mousavi, S.M., Hashemi, S.A., Ghasemi, Y., Atapour, A., Amani, A.M., Savar Dashtaki, A., Babapoor, A., Arjmand, O., 2018. Green synthesis of silver nanoparticles toward bio and medical applications: review study. *Artif. Cells Nanomedicine Biotechnol.* 46, S855–S872. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1517769>
- Munro, D.B., Canada, C. national de recherches du, Small, E., 1998. Les légumes du Canada. NRC Research Press.
- Naciri, P.M., 2014. Bio-marqueurs et Bio-indicateurs de Génotoxicité 17.
- Nair, Shantikumar, Sasidharan, A., Divya Rani, V.V., Menon, D., Nair, Seema, Manzoor, K., Raina, S., 2009. Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 20 Suppl 1, S235-241. <https://doi.org/10.1007/s10856-008-3548-5>
- Ostiguy, C., 2010. Les nanoparticules de synthèse: connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en SST. Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail.
- Rajeshkumar, S., Bharath, L.V., 2017. Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles – A review on biomolecules involved, characterisation and antibacterial activity. *Chem. Biol. Interact.* 273, 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.06.019>
- Roy, K., Sarkar, C.K., Ghosh, C.K., 2015. SINGLE-STEP NOVEL BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING CUCUMIS SATIVUS FRUIT EXTRACT AND STUDY OF ITS PHOTOCATALYTIC AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY 9.

Références bibliographiques

- Salem, M., 2009. Influence de la morphologie sur les propriétés optiques de nano-objets métalliques uniques 233.
- Sedira ,Sofiane, 2014. Etude et synthèse des nanostructures pour application en biomédicale et environnementale: cas de nanoparticules de ZnO, Ag et couches minces de type C-TiN 112.
- Sedira, S., 2014. Etude et synthèse des nanostructures pour application en biomédicale et environnementale: cas de nanoparticules de ZnO, Ag et couches minces de type C-TiN. Annaba.
- Tarannum, N., Divya, Gautam, Y.K., 2019. Facile green synthesis and applications of silver nanoparticles: a state-of-the-art review. RSC Adv. 9, 34926–34948. <https://doi.org/10.1039/C9RA04164H>
- Watanabe, C.H. [UNESP, 2020. Fate, behavior and ecotoxicology of silver nanoparticles: interactions with natural organic matter in aquatic systems. Destino, comportamento e ecotoxicologia de nanopartículas de prata: interações com matéria orgânica natural em sistemas aquáticos.
- Wolfram, J., Zhu, M., Yang, Y., Shen, J., Gentile, E., Paolino, D., Fresta, M., Nie, G., Chen, C., Shen, H., Ferrari, M., Zhao, Y., 2015. Safety of Nanoparticles in Medicine. Curr. Drug Targets 16, 1671–1681. <https://doi.org/10.2174/1389450115666140804124808>
- Wuled, Lenggoro, 2018. Fig. 2 Nanoscale integration of nanoparticles and biomolecules. [WWW Document]. ResearchGate. URL https://www.researchgate.net/figure/Nanoscale-integration-of-nanoparticles-and-biomolecules_fig2_320132877 (accessed 5.7.22).
- Y{Citation}annick Champion, François Cansell, Nathalie Herlin-Boime, 2006. Les nanomatériaux Avis de l’Afsset Effets sur la santé de l’homme et sur l’environnement 253.
- Zimmer, S., Emmanuelle, C.-C., 2016. Synthèse et détermination de la taille de nanoprismes d’argent. Bull. Union Phys. 110, 1339–1368.



Annexes

Annexes

Annexe 01 :

La solution HCl (1N) à 8%

Préparation de : 100 ml

HCl.....	8.17 ml
Eau distillé.....	91,83 ml

Dans un bécher on ajoute 8,17 ml d'HCl et complété jusqu'à 100 ml d'eau distillé.

Annexe 02 :

La solution d'Acide Acétique Glacial à 45%:

Préparation de : 100ml

Acide acétique glacial.....	45 ml
Eau distillé.....	55 ml

Annexe 03 :

La solution de Carnoy

Préparation de : 10 ml

Acide acétique glacial.....	2,5 ml
Éthanol pure (96%).....	7,5 ml

Le Carnoy est composé d'éthanol 96% et d'acide acétique glacial, dans les proportions respectives : (3V /1V).

Annexe 04 :

Réactif de Feulgen

Préparation de : 50ml

Fushine basique.....	0,25 g
Eau distillé.....	50 ml
HCl (1N).....	5 ml
K ₂ S ₂ O ₅	0,5 g

Ajouter à 0,25 g de Fushine basique 50 ml d'eau distillée bouillante (100°), attendre 10 minutes jusqu'à ce que le mélange atteint une température de 50°C puis ajouter 5 ml d'une solution 1N d'HCl et mixer puis ajouter 0,5 g de métrasulfite de Potassium K₂S₂O₅, couvrir la solution par papier aluminium et la conservée à 4°C. Après 24h la solution est filtrée et peut être utilisé.