

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université ABDERRAHMANE MIRA-Béjaia**  
**Faculté des Science de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie Physico-Chimique**

# **Mémoire de Master**

**Filière: Biologie**

**Option : Génétique Appliquée**

**Thème**

**Activités génotoxique et anti-génotoxique,  
d'extrait éthanolique des bourgeons de  
*Populus nigra* sur le cycle cellulaire de  
*Allium cepa***

**Présenté par :**

**M<sup>me</sup> : KADI-AYOUAZ Linda**

**M<sup>elle</sup> : BOUSTA Nora**

**Membre de jury :**

**Président : M<sup>me</sup> BENMESAOU D.**

**Promotrice : M<sup>me</sup> BENAIDA-DEBBACHE N.**

**Examinatrice : M<sup>me</sup> BOUDAOU D-OUAHMED H.**

**Examinatrice : M<sup>elle</sup> CHERAFT N.**

**Grade et lieu :**

**M.A.A. (U.A.M.B.)**

**M.A.A. (U.A.M.B.)**

**M.A.A. (U.A.M.B.)**

**M.A.A. (U.A.M.B.)**

**2013-2014**



# Remerciements

Louanges à **ALLAH** le clément, le tout puissant qui nous a procuré la patience, la force et le courage d'aller au bout de notre objectif.

**N**ous tenons particulièrement et chaleureusement à remercier notre promotrice M<sup>me</sup> *DEBBACHE.N.* Pour sa confiance, ses encouragements et conseils tout au long de la réalisation de ce travail. Pour son soutien, patience, disponibilité, gentillesse et sa grande générosité, qu'elle soit assurée de notre profonde gratitude. Ce travail n'aurait pas été le même sans votre encadrement.

Qu'il nous soit permis de remercier également :

M<sup>me</sup> BEN MASAOUADE, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury ;

M<sup>me</sup> OUAHMED et M<sup>elle</sup> CHERAFTE, d'avoir acceptés d'examiner notre mémoire ;

On a eu le plaisir d'effectuer notre recherche dans le Laboratoire génétique la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université ABDERRAHMANE MIRA-Béjaia sous la direction du Mr ATMANI et M<sup>m</sup> *ATMANI.D.* A qui nous

tenons à exprimer toutes nos reconnaissances.

Qu'elle trouve ici toute notre sympathie.

On remercie l'ensemble du personnel du laboratoire pour leur convivialité, pour leur disponibilité.

Aux autres doctorantes et ingénieurs, *NAIMA, GHANIA, WAHIBA, KENZA et LILA.*

Enfin, nos gratitude sont adressés spécialement à nos familles, amis  toutes personnes ont pus soutenir de près **Tinda & Nora** la préparation de ce modeste travail.

# DEDICACES

Avant toute chose je tiens à remercier Dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

Avec ma profonde gratitude et grand amour ; je dédie ce modeste travail :

A mes parents sources constantes d'encouragement, de soutien, de confiance et d'affection

En témoignage de ma profonde affection. Qu'ils sachent que ce travail est en partie le fruit de leur soutien ; je leur suis très reconnaissante. Leur fierté à mon égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses. A ma très chère mère son rêve s'est d'être présente ce jour mais malheureusement je n'ai pas eu cette occasion *RABI YA RAHMAK A YEMMA.*

Mes remerciements sont particulièrement dédiés à Lyazid mon époux, qui est la personne la plus importante à mon cœur, de m'avoir soutenu et patiemment réconforté et encouragé durant ces cinq

années, qui ne pourront que rester  
inoubliables pour nous.

*A mes frères et Soeurs.*

*A la famille de mon époux*

*A mes amis (es) sans exception.*

*A toute la promotion de Génétique  
appliquée.*

*A tous ceux que j'aime.*

*A tous ceux qui m'aiment.*

*A toi Nora et ta famille.*



*Linda*

# Dedicaces

Je voudrais remercier le Dieu le puissant, par qui tout est possible, Pour m'avoir permis d'être ce que je suis devenue aujourd'hui.

A mon père l'être le plus sublime, pour ses sacrifices et sa contribution à devenir ce qui je suis maintenant. Que Dieu t'accorde santé et longévité.

A ma merveilleuse mère pour son soutien quotidien tout au long de mon parcours d'étude, celle qui m'a aidée du mieux qu'elle pouvait pour réussir

A mes adorables frères Sofiane, Amine et Walid, je vous souhaite beaucoup de chance et bon courage, que dieu vos garde.

A mes très chères sœurs: Kahina, *ton aide, ta générosité, ton soutien ont été pour moi une source de courage et de confiance, et la petite adorable Lynda.* Je voudrais leur dire tous simplement je les aime de tout mon cœur.

A mes oncles et tantes pour leurs aides, encouragement et générosité sans limites.

A mes cousines Katia, Yasmina et Kenza  
je vous souhaite bonne continuité dans  
vos études.

*A mes amies et tous ceux qui pensent à  
moi.*

A ma binôme Lynda et toute sa famille  
surtout sa petite adorable Serine.

**Nora**

# Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
CaSo <sub>4</sub>	Sulfate de calcium
C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	Acide acétique
DMSO	Diméthyle Sulfate Oxygène
HCL	Chlorure d'hydrogène
HIV	Human immunodeficiency virus
IM	Indice mitotique
G1	Gap 1
G2	Gap 2
KCL	Chlorure de Sodium
MgSo <sub>4</sub>	Sulfate de magnésium
NaHCO <sub>3</sub>	Bicarbonate de sodium
NaN <sub>3</sub>	Azide de sodium
S	Synthèse
Smart	Somatic mutation and recombination test
UV	Ultra violet
RX	Rayon X



# Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Structure de Méthylbutadiène= méthyl-2-buta-1,3-diène	2
Figure 2	Biosynthèse de différentes classes terpéniques	3
Figure 3	La structure de différents alcaloïdes	4
Figure 4	Biosynthèse des composés phénoliques	7
Figure 5	Structure des composants des acides phénoliques	9
Figure 6	Structure de squelette des flavonoides	9
Figure 7	Classification des flavonoides	10
Figure 8	Structures de l'acide gallique et d'un tannin gallique	10
Figure 9	Structure d'un tanin condensé	10
Figure 10	Structure des coumarines	11
Figure 11	Classe des composés selon la nature d'une substitution sur un cycle aromatique	11
Figure 12	Altération primaire de l'ADN –Test des comètes	16
Figure 13	Aspect de l'arbre de <i>P. nigra</i>	17
Figure 14	Feuille de <i>P. nigra</i>	18
Figure 15	Fleurs de <i>P. nigra</i>	18
Figure 16	L'écorce de <i>P.nigra</i>	19
Figure 17	Bourgeon de <i>P. nigra</i>	19
Figure 18	<i>P. nigra</i>	19
Figure 19	<i>Allium cepa</i>	23

Figure 20	les bourgeons de <i>P. nigra</i>	24
Figure 21	Elimination de la première pelure et coupure des racines	25
Figure 22	Les bulbes de l' <i>Allium cepa</i> dans l'étuve	25
Figure 23	Lot des bulbes	25
Figure 24	Représente élimination et prélèvement des racines	26
Figure 25	Fixation des racines	27
Figure 26	Conservation des racines	27
Figure 27	Représente le rinçage des extrémités méristimatiques	27
Figure 28	Coloration des racines.	28
Figure 29	Coupure des extrémités méristématiques sous la loupe.	28
Figure 30	Ecrasement d'échantillon a l'aide d'une seringue	28
Figure 31	Effet de l'azide de sodium sur la croissance des racines des bulbes d'oignons	30
Figure 32	Effets de différentes concentrations de l'extrait éthanolique sur la croissance des racines des bulbes d'oignons. Effet de l'extrait de <i>P. nigra</i> sur la croissance des racines traitées avec l'azide de sodium	31
Figure 33	Effet de l'extrait de <i>P. nigra</i> sur la croissance des racines traitées avec l'azide de sodium	32
Figure 34	Autres types d'aberrations présente à de faible pourcentage Aberrations négligeables	33
Figure 35	Les différents types d'aberrations observées au niveau des cellules méristématique lors du traitement racines des bulbes d' <i>A. cepa</i> avec l'azide de sodium	35
Figure 36	L'effet de l'azide de sodium sur l'indice mitotique de <i>Allium cepa</i>	36
Figure 37	Les différents types d'aberrations observées au niveau des cellules méristématique lors du traitement des racines des bulbes d' <i>A. cepa</i> avec l'extrait	37
Figure 38	Histogramme représente l'effet de l'extrait sur le cycle cellulaire	40
Figure 39	Effet anti-mutagénique de l'extrait contre les mutations induites par l'azide de sodium sur le cycle cellulaire	41



## Liste des tableaux

Numéro	Le titre	Page
<b>Tableau I</b>	La classification des huiles essentielles et leurs structures	<b>4</b>
<b>Tableau II</b>	différents types d'alcaloïdes et leurs précurseurs	<b>6</b>
<b>Tableau III</b>	les principales classes des polyphénols	<b>8</b>
<b>Tableau IV</b>	Les classes des tannins et leurs structure	<b>10</b>
<b>Tableau V</b>	Les activités des composés actifs	<b>12</b>
<b>Tableau VI</b>	les différents agents génotoxiques	<b>13</b>
<b>Tableau VII</b>	Les différentes activités attribuées aux genres <i>Populus</i>	<b>22</b>
<b>Tableau VIII</b>	Le nombre des cellules dans différentes phases de cycle cellulaire des racines d' <i>A. cepa</i> chez les groupes expérimentaux	<b>33</b>
<b>Tableau IX</b>	Le pourcentage des aberrations chromosomiques observées dans le cycle cellulaire d' <i>Allium cepa</i> chez les groupes expérimentaux	<b>34</b>
<b>Tableau X</b>	Le nombre des cellules dans différentes phases de cycle cellulaire des racines d' <i>A. cepa</i> chez les groupes expérimentaux	<b>38</b>
<b>Tableau XI</b>	Le pourcentage des aberrations chromosomiques observé dans le cycle cellulaire d' <i>Allium cepa</i> chez les groupes expérimentaux	<b>39</b>

# Sommaire

Titre	Page
<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Partie théorique</b>	
<b>I Analyse bibliographique</b>	<b>2</b>
<b>I.1 Les métabolites secondaires</b>	<b>2</b>
I.1.1 Les huiles essentielles et les Terpènes	2
I.1.1.1 Biosynthèse	2
I.1.1.2 Classification	3
I.1.2 Les Alcaloïdes	4
I.1.2.1 La biosynthèse	4
I.1.2.2 La classification	5
I.1.3 Les Polyphénols	6
I.1.3.1 Biosynthèse	7
I.1.3.2 Classification	7
I.1.4 Coumarines	11
<b>I.2 Les activités biologiques</b>	<b>12</b>
I.2.1 L'activité génotoxique	12
I.2.2 L'activité mutagenique et antimutagenique	13
I.2.2 Activité antiproliférative	14
I.2.3 Méthode d'évaluation	15
<b>I.3 <i>Populus nigra</i> (peuplier noir)</b>	<b>17</b>
I.3.1. Description	17
I.3.2 Habitat	17
I.3.3 Caractéristiques morphologiques	17
I.3.2 Position dans la systématique	19
I.3.3 Appellations	20
I.3.4 Répartition	20
I.3.5 Importance et usages	20
I.3.6 Les études antérieures	21

<b>Partie expérimentale</b>	
<b>II Matériels et méthodes</b>	<b>23</b>
II.1 Matériels	23
• Produits chimiques	23
• Matériel végétal	23
II.2 Méthodes	24
II.2.1 Préparation des extraits	24
II.2.2 Préparation des bulbes	24
II.2.4 Observation des racines sous microscope optique	27
II.3 Analyse statistique	29
<b>III. Résultats</b>	<b>30</b>
III.1 Effets de l'extrait et de l'azide de sodium sur la croissance des racines des bulbes d' <i>A. cepa</i>	30
III.1.1 Effets du mutagène sur la croissance des racines de <i>A. Cepa</i>	30
III.1.2 Effets de l'extrait de <i>P. nigra</i> sur la croissance des racines d' <i>A. Cepa</i>	31
III.1.3 Effets de l'extrait sur la croissance des racines d' <i>A. cepa</i> prétraitées avec l'azide de sodium	31
III.2 Effet des extraits et du mutagène sur le cycle cellulaire de <i>Alium cepa</i>	32
III.2.1 Effet du mutagène sur le cycle cellulaire de <i>A. cepa</i>	33
III.2.2 Effet de l'extrait sur le cycle cellulaire de <i>A. cepa</i>	37
III.2.3 Effet anti-mutagénique de l'extrait contre les mutations induites par l'azide de sodium sur le cycle cellulaire	41
III.2.3 Le pourcentage d'inhibition de l'extrait contre les dommages induits par l'azide de sodium	42
<b>IV discussion</b>	<b>44</b>
<b>Conclusion</b>	<b>47</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>48</b>

## **Introduction**

La mutagénèse et cancérogénèse sont la conséquence principale de différentes contaminations trouvées dans l'air, l'eau, le sol et l'alimentation. A cet effet les composés génotoxiques sont devenus un objectif important de la santé, afin de réduire l'exposition humaine directe et indirecte à ces substances toxiques (Feretti et *al.*, 2007).

L'utilisation des plantes en médecine (phytothérapie) est très ancienne, c'est dernières années, l'Homme a prouvé leurs efficacités et leurs bienfaits. Une plante est dite médicinale lorsqu'elle contient au niveau de ses organes un ou plusieurs principes actifs à des fins thérapeutiques. Il est possible de les utiliser entières ou leurs produits d'extraction (Marc, 2001).

L'utilisation de ces plantes à des fins médicales ou alimentaires, repose souvent sur l'a priori que ces plantes ne possèdent que des vertus et sont donc intrinsèquement inoffensives. Mais il est bien connu que beaucoup de produits secondaires des plantes sont fortement toxiques et beaucoup d'autres peuvent être potentiellement génotoxiques et/ou cancérogènes. En conséquence, l'évaluation de l'activité génotoxique et mutagénique des plantes utilisées en médecine traditionnelle revêt une importance cruciale. Les composés potentiellement mutagènes et cancérogènes peuvent être détectés facilement par les tests de génotoxicité. Dans le présent travail, nous avons choisi le test *Allium cepa* pour évaluer l'activité génotoxique et antigénotoxique des bourgeons de différentes concentrations de *P. nigra*. Ce teste est couramment utilisé et présent un large domaine d'applications, les résultats obtenus par ce test sont en accord avec ceux d'autres systèmes d'essais (Feretti et *al.*, 2007).

*P. nigra* est largement utilisée, en médecine traditionnelle Algérienne, plusieurs études ont été conduites sur les bourgeons de *P. nigra* et plusieurs activités biologiques lui ont été attribuées. A notre connaissance, aucun travail n'a été réalisé dans le but d'évaluer la génotoxicité et l'activité anti-génotoxique des bourgeons de *P. nigra*..

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à déterminer le potentiel cytotoxique, génotoxique et anti-génotoxiques de l'extrait éthanoliques des bourgeons de *P. nigra* à différentes concentrations.

Ainsi, après avoir introduit des généralités sur les métabolites secondaires et leurs effets biologiques, nous allons évaluer l'activité anti-proliférative, génotoxique et anti-génotoxique de l'extrait de bourgeons de *P. nigra* sur des cellules méristématique d'*Allium cepa*.

## **I.1 Les métabolites secondaires**

Les cellules végétales synthétisent deux types des composés appelés métabolites primaires et secondaires, les premiers produisent les molécules de base telles que les acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides, nécessaire pour la production des métabolites secondaires (Mohammedi, 2013). Les seconds sont indispensables pour notre alimentation (goût, couleur) et certains (flavonoïdes, alcaloïde,...) ont une application dans les domaines pharmaceutiques et biomédicaux (Da Silva, 2004).

La synthèse de ces derniers est une réponse de la plante au stimuli environnementale pour leur protection en vers les agents comme les champignons, les bactéries, les animaux et même les autres plantes (Misirli et *al.*, 2001). Nous citerons ci-dessous quelques importants groupes phytochimiques, source de molécules biologiquement actives.

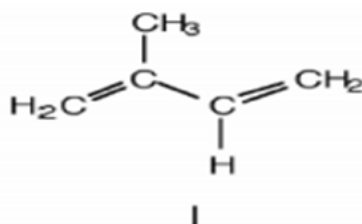
### **I.1.1 Les huiles essentielles et les Terpènes**

Les huiles essentielles sont des accumulations des produits de métabolisme secondaires d'origine végétale (Sanon et *al.*, 2002), entraînaibles par distillation, par solvants ou par vapeur d'eau (Smallfield, 2001), pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes (Sell, 2006).

#### **I.1.1.1 Biosynthèse**

Les huiles volatiles sont synthétisées à partir :

- matériaux volatils : un couplage de plusieurs unités isopréniques (méthyl-2-buta-1,3-diène) Figure (1), ou un mélanges complexes des monosesquiterpène hydrocarbonés et des dérivés oxygénés (Svoboda et Hampson, 1999); deux unités pour les monoterpènes ( $C_{10}H_{16}$ ) et trois pour les sesquiterpènes ( $C_{15}H_{24}$ ) (Vila et *al.*, 2002).
- phényl propanoïdes d'acide shikimique Figure (2) (Hatanaca et *al.*, 1987).



**Figure1** : Structure de Méthylbutadiène= méthyl-2-buta-1,3-diène (Hatanaca et *al.*, 1987)



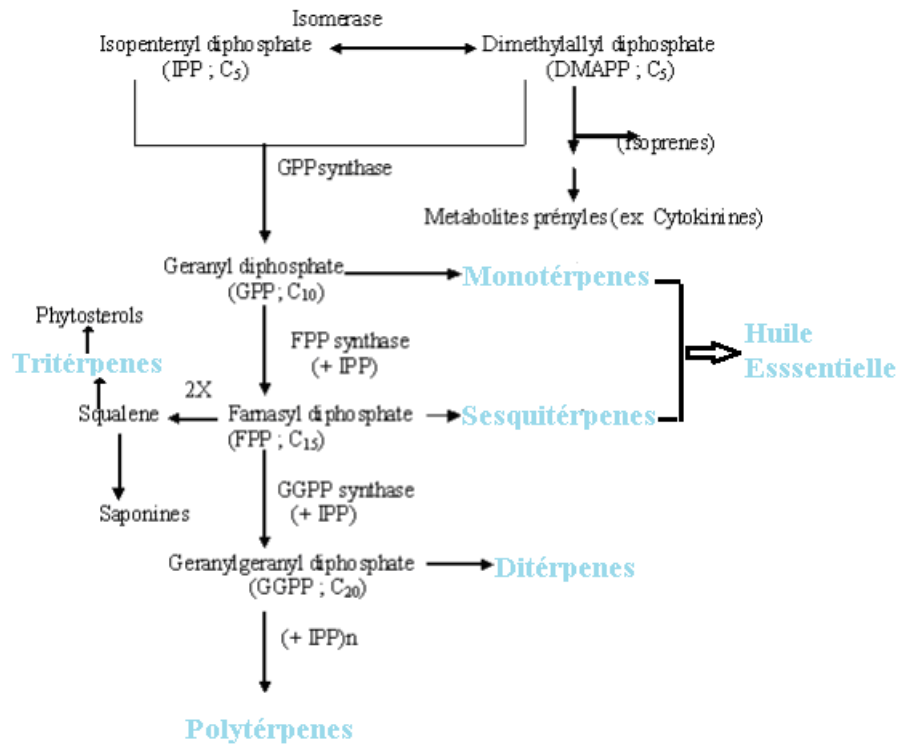


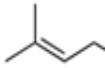
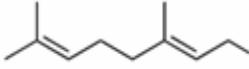
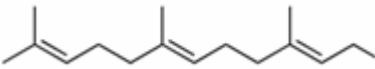
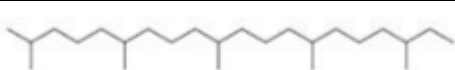
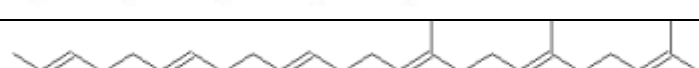
Figure 2: Biosynthèse de différentes classes terpéniques (Dubye et *al.*, 2003).

### I.1.1.2 Classification

La classification des huiles essentielles repose sur celle des terpènes qui sont les constituants majoritaires (Vila et *al.*, 2002).

Les terpènes ou terpénoïdes ont des structures homologues qui se diffèrent par la longueur des chaînes isopréniques, ils ont été classés selon le tableau suivant:

**Tableau I:** La classification des huiles essentielles et leurs structures (Dubye et al., 2003) .

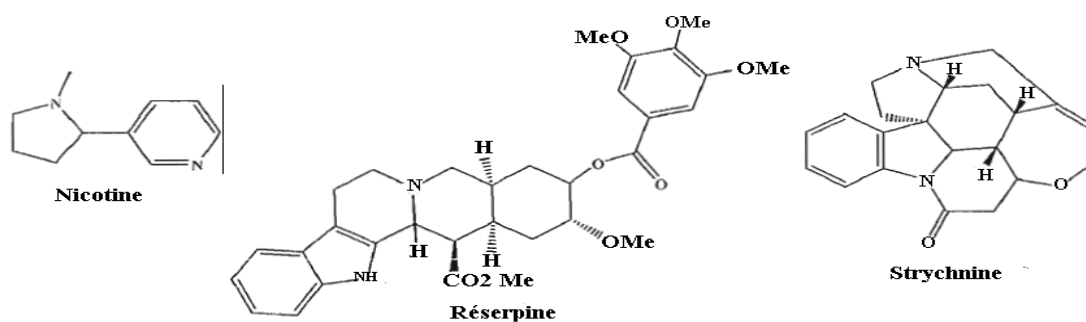
La classe de terpène	Nombre unité isoprénique	Nombre de carbone	Structure
Hemiterpène	Une unité	C <sub>5</sub>	
Monoterpène	Deux unités	C <sub>10</sub>	
Sesquiterpène	Trois unités	C <sub>15</sub>	
diterpène	Quatre unités	C <sub>20</sub>	
Triterpène (stéroïdes)	Six unités	C <sub>30</sub>	
polyterpène	n unités	(C <sub>5</sub> ) n= 9-30 000	$(\text{C}_5)_n$

### I.1.2 Les Alcaloïdes

W. Meissner a proposé pour la première fois le terme alcaloïde, de alkali-like en 1819 (Hess, 2002). Ce sont des substances organiques azotées naturelles (Harborne et Herbert, 1995) présentant une grande diversité structurale de très simple à très complexes (Koskinen, 1993). Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes au point de vue biologique car certaines sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes utilisés comme médicaments, poisons ou encore comme psychotropes (Hess, 2002).

#### I.1.2.1 La biosynthèse

Le squelette de la plupart des alcaloïdes indoles proviendrait du tryptophane, de la phénylalanine et de la formaldéhyde (Nakanishi, 1999).



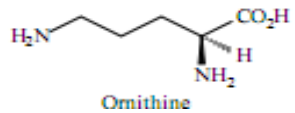
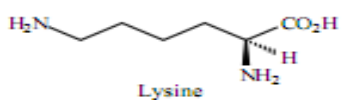
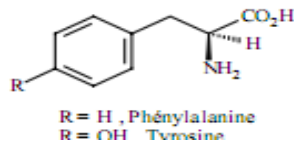
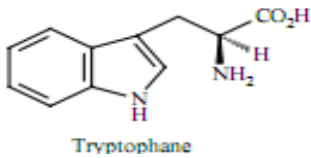
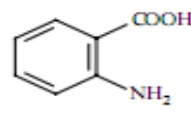
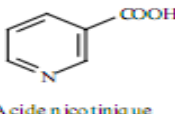
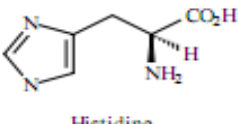
**Figure 3:** la structure de différents alcaloïdes (Hess, 2002).

### **I.1.2.2 La classification**

Il est très difficile de présenter toutes les molécules d'alcaloïdes avec les différentes sous familles en raison de leur grande diversité. Donc, dans cette partie, quatre grandes sous familles vont être exposées. Ils peuvent être classés en fonction de leur structure chimique, de leurs activités biologiques et écologiques ou de leur voie de biosynthèse. Les précurseurs de quelque type d'alcaloïdes sont cités dans le ci-dessous (Sui et *al.*, 2007).

- ✓ Les alcaloïdes hétérocycliques
- ✓ Les alcaloïdes de type isoquinoline
- ✓ Les alcaloïdes avec un atome d'azote exocyclique ou aliphatique
- ✓ Alcaloïdes stéroïdiens

**Tableau II:** différents types d'alcaloïdes et leurs précurseurs (Muniz, 2006).

Acide aminé	Type d'alcaloïde
 <p>Ornithine</p>	Pyrrolidines, pyrrolizidines, tropanes.
 <p>Lysine</p>	Pipridines, quinolizidines, indolizidines.
 <p>R = H, Phénylalanine R = OH Tyrosine</p>	Alcaloïdes du type éphédrine, isoquinoléines.
 <p>Tryptophane</p>	Indoles.
 <p>Acide anthranilique</p>	Quinoles, quinazolines, acridines.
 <p>Acide nicotinique</p>	Pyridines.
 <p>Histidine</p>	Imidazoles.
Via amination	Alcaloïdes terpéniques et stéroïdiens.

### I.1.3 Les Polyphénols

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des substances phytochimiques issues de sous-produits de métabolisme des plantes avec une vaste distribution dans le règne végétale dont un constituant organique comporte au moins un anneau aromatique et un ou plusieurs groupement hydroxyles (Psotová et *al.*, 2003). Ils sont associés à la dormance des bourgeons, croissance cellulaire, différenciation, floraison, tubérisation et l'organogènes (Hadi, 2004).

### I.1.3.1 Biosynthèse

Les composés phénoliques issus de la grande voie d'aromagenèse ; shikimates ou acide shikimique et de la voie acétate (Naczk et Shahidi, 2004).

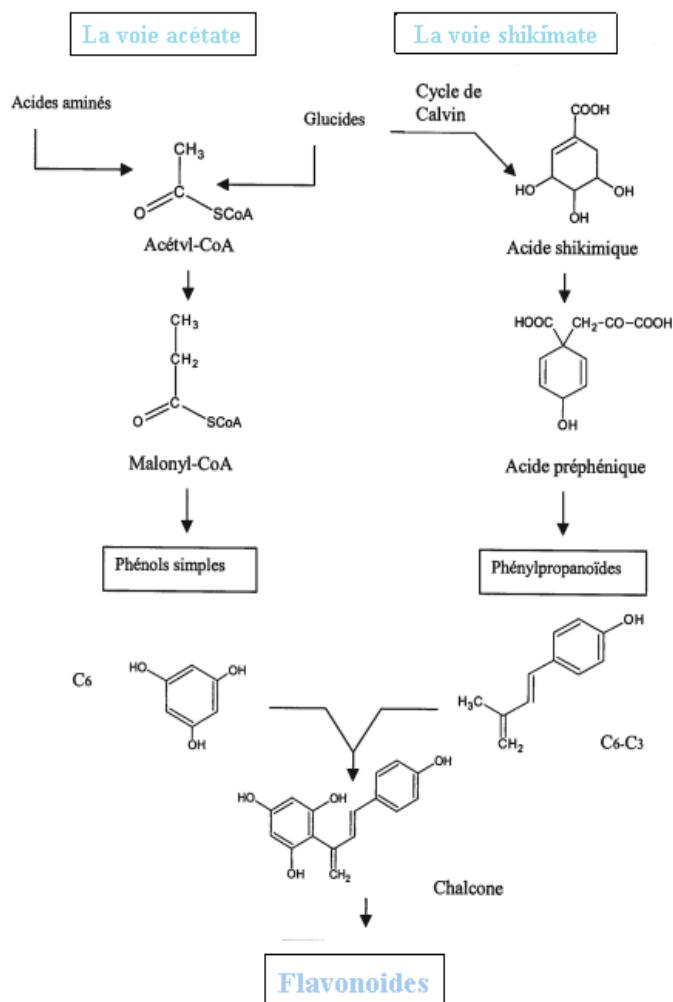


Figure 4: Biosynthèse des composés phénoliques (Escarpa et Gonzalez, 2001).

### I.1.3.2 Classification

A cause de leur diversité les auteurs ont proposé plusieurs classifications, les polyphénols les plus répandus (Beta et *al.*, 2005) ont été classés selon le nombre d'atomes de carbone puis selon la structure squelettique de la molécule (Bruneton, 1999) (Tableau ):

**Tableau III:** les principales classes des polyphénols ( Hennebelle,2006).

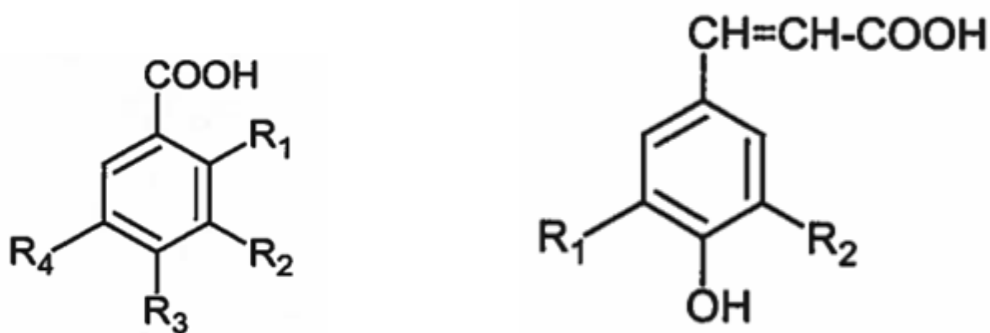
Numéro d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	Exemple
6	C6	Phénols simples	Cathécol,hydroquinone
7	C6-C1	Acides phénols benoïques	Ac. Gallique, Ac.salysalique, vaniline.
8	C6-C2	Ac étophénones	3-acétyl 6-méthoxybenaldehyde
9	C6-C3	Acides phénols cinnamiques	Ac. Coumariques, Ac. cafééique
10	C6-C4	Naphtoquinones	Shikonine
13	C6-C1-C6	Xanthones	Bellidifoline,mangoctine.
14	C6-C2-C6	Stiblènes	Hydrangéol, Pinosylvine
15	C6-C3-C6	Flavonoides Isoflavoinoides	Quercétine Roténoïde
18	(C6-C3)2	Lignanes	Matairésinol
30	(C6-C3-C6)2	Biflavonoides	Amentoflavone Hinokiflavone
n	(C6-C3-C6)n	Tanins condensés (proanthocyanidols)	Aesculitanins

### - Les acides Phénoliques

Les acides phénols ou phénoliques ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et rares dans la nature (Haslam, 1994).

Ces acides sont présents dans certains végétaux, ils ont composés :

- d'acides benzoïques tels que les acides p-hydroxybenzoïques, vanilliques et syringiques.
- d'acide cinnamique les plus répandus sont les acides p-coumarique, caféïques (Macheix et al., 1990).



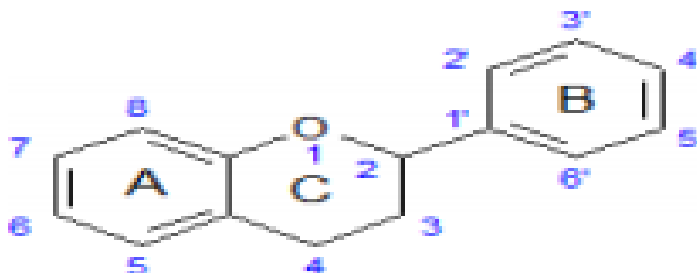
Acide hydroxybenzoïque (AHB)

Acide hydroxycinnamique (AHC)

**Figure 5:** Structure des composants des acides phénoliques (Macheix et *al.*, 2005)

### - Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (Ghedira, 2005), la présence d'une structure phénolique dans leur molécule et d'une structure flavone les différencie des autres polyphénols (Toufektsian et *al.*, 2008). Responsables de la coloration des fleurs, fruits et des feuilles, les flavonoïdes (anthocyanines) sont les métabolites secondaires les plus étudiés chez les plantes (Hadi, 2004).



**Figure 6:** Structure de squelette des flavonoïdes (Dacosta, 2003).

Selon leur structure chimique les flavonoïdes ont été classés en six principales classes qui sont dans le schéma ci-dessous.

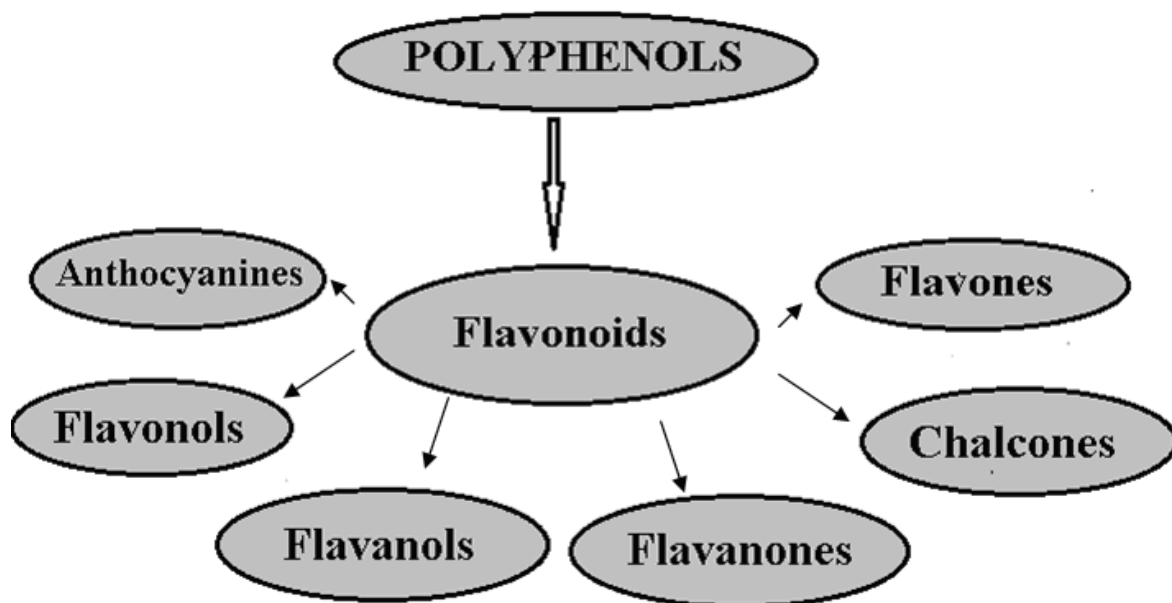


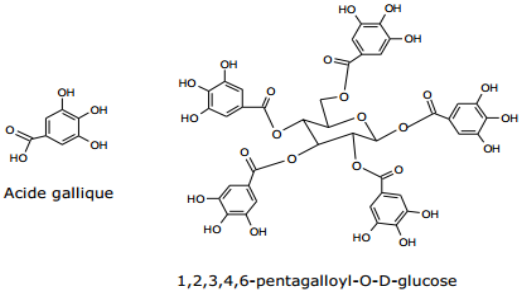
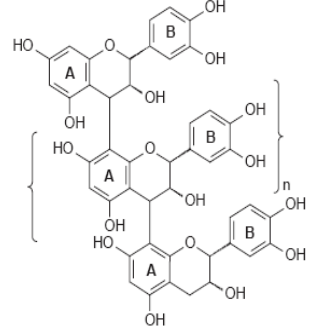
Figure 7: Classification des flavonoïdes (Boros et al., 2010).

### - Les Tannins

Ils sont des composés phénoliques polaires d'origine végétale, à poids moléculaire 500-3 000 Dalton (Berthod et al., 1999). Ce sont des esters du glucose ou de l'acide gallique qui constituent des complexes avec les macromolécules, en particulier les protéines. Ces composés peuvent être formés par polymérisation des unités de quinones (Cowan, 1999).

On distingue deux classes différentes de tannins (le tableau III).

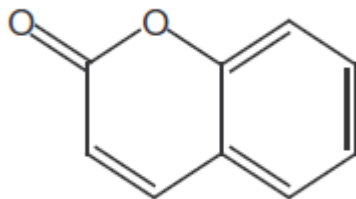
Tableau IV : Les classes des tannins et leurs structures (Frutos et al., 2004).

Classe	Hydrolysables	Condensés (proanthocyanidine)
Constitution	-Ester de glucose	Polymères de catéchine et leucoanthocyanidines ou un mélange des deux.
Structure	 <p>Acide gallique</p> <p>1,2,3,4,6-pentagalloyl-O-D-glucose</p> <p><b>Figure 8:</b> Structures de l'acide gallique et d'un tannin gallique (Mueller-Harvey, 2001).</p>	 <p><b>Figure 9:</b> Structure d'un tannin condensé (Li et al., 2004).</p>



### I.1.4 Coumarines

Les coumarines ont été isolées pour la première fois en 1820, vient d'un nom amazonien « cumaru » (Bruneton, 1999). Ils se répartissent dans plus de 70 familles de dicotylédones et 9 familles de Monocotylédones. Ces molécules sont des composés phénoliques portant un noyau benzopyrone dans leur structure, elles existent sous forme libre ou hétérosides (Alignan, 2006).

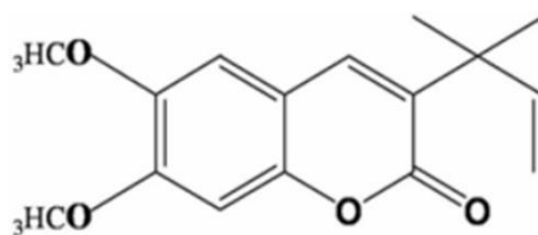
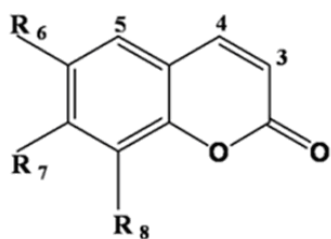


**Figure 10:** Structure des coumarines (Igor, 2002).

Ces composés sont classés d'après la nature d'une substitution sur un cycle aromatique en :

Coumarines Simples

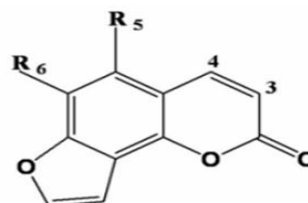
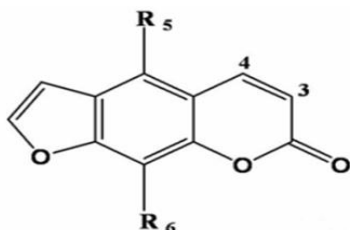
Coumarines Phénylées



- Furanocoumarines (Linéaires et Angulaires) :

Linéaires

Angulaires



**Figure 11 :** Classe des composés selon la nature d'une substitution sur un cycle aromatique

## I.2 Les activités biologiques

L'intérêt métabolique porté sur les composés actifs des plantes fait à l'heure actuelle, l'objet d'un grand nombre de travaux, grâce à leurs excellentes propriétés biologiques. Plusieurs activités ont été attribuées aux différentes classes des phytochimiques (Tableau V). Des études pharmaceutiques s'intéressent de plus en plus à la grande famille des polyphénols, car malgré l'efficacité des traitements chimiques, leur utilisation décroît vu les effets secondaires engendrés suite à un traitement à long terme avec les drogues chimiques.

**Tableau V:** Activités attribuées aux différentes classes des métabolites secondaires

Activités	Composés	Références
Antimicrobienne	flavonoïdes Coumarines	Ulanowska . 2006. Kostova, 2005.
Antibactérienne	flavonoïdes	Ulanowska et <i>al.</i> , 2006,
Antifongique	flavonoïdes Les huiles essentielles	Ortuno et <i>al.</i> , 2006. Pauli, 2001.
Antivirale	Flavonoïdes coumarines	Choi et <i>al.</i> , 2009. Singh et <i>al.</i> , 2005.
Antiradicalaire	flavonoïdes	Siess et <i>al.</i> , 2000.
Anticancereux	Flavonoïdes Polyphénols Huiles essentielles	Pietta, 2000. Jhonson, 1999 Béliveau et <i>al.</i> , 2006.
Antioxydante	Polyphénols Les flavonoides Huiles essentielles	Oszmianski et <i>al.</i> , 2007 Igor, 2002 Butterfield, 2002.
Anti-inflammatoire	Terpènes Huiles essentielles	Bruneton, 1999 Maruyama et <i>al.</i> , 2005
Cytotoxique	Coumarines Huiles essentielles	Kostova, 2005. Edris, 2007.

### I.2.1 L'activité génotoxique

La toxicologie génétique a pour but d'apprécier le mode d'action d'un agent chimique ou physique mutagènes sur le matériel génétique et d'en mesurer les conséquences en terme de mutations. L'agent peut affecter les cellules somatiques ou sexuelles (Dégremont et Cachot, 2009).

Les agents génotoxiques sont des agents susceptibles de provoquer des mutations directes ou indirectes de l'ADN, par rupture d'une ou les deux chaînes d'ADN (Raffine, 2009), par modification des bases (délétion substitution, mésappariement) (Pilliere et Falcy, 1991). Ils peuvent être chimiques, physiques ou biologiques.

**Tableau VI:** les différents agents génotoxiques.

Agents physiques	Agents chimiques	Agents biologiques
Radiation ionisantes (UV) et non ionisantes (RX) (Michel, 2011)	Substances capables de modifier la structure ou la complémentarité (par désamination, depurination, oxoguanine...) (Pilliere et Falcy, 1991)	Les virus (HIV) (Etine et <i>al.</i> , 2001)

#### - L'azide de sodium

L'azide de sodium ( $\text{NaN}_3$ ) fait partie de la famille des azotures, est un agent mutagène chimique bien connue qui peut provoquer des mutations dans le génome des cellules eucaryotes ou procaryotes (Khan et *al.*, 2011), c'est un promutagène car il est métabolisé par les cellules en une forme mutagène (azidoalanine) qui est capable d'affecter les différentes cellules (Khan et *al.*, 2009).

### **I.2.2 L'activité mutagenique et antimutagenique**

Plusieurs études ont été réalisées pour la détermination de l'activité mutagenique et antimutagenique des principes actifs des extraits des plantes médicinales. D'autres études ont prouvé que la consommation des produits végétaux contenant des composés comme les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes est associée avec la réduction de risque de certaines maladies chroniques telle que le cancer (Kris-Etherton et *al.*, 2002), car ces composés ont la capacité d'influencer le cycle cellulaire comme suite :

- Inhibition de l'activation des procarcinogènes en stimulant la réparation d'ADN muté à la phase d'initiation (Brindzovà et *al.*, 2010).
- Suppression de la tumeur à la phase de promotion (Scalbert et *al.*, 2003).

Les isoflavones et flavones agissent par plusieurs mécanismes :

- Induction de blocage du cycle cellulaire et la mort cellulaire.
- Prévention de l'oxydation et induction des enzymes antioxydantes.
- Régulation du système immunitaire et modification de la signalisation cellulaire (Bert et *al.*, 2001).

D'autres études confirment que certains composés comme le résvératrol peuvent agir comme inhibiteurs des trois phases de cancérisation (initiation, promotion et propagation) ou suppression des gènes de protéines kinases (Berki et *al.*, 2003).

### **I.2.2 Activité antiproliférative**

Les plantes traditionnellement utilisées comme agents anticancéreux ont été évaluées *in vitro* pour leur activité antiproliférative, il a été montré que cette activité est très significative contre plusieurs lignées cellulaires. Ces plantes contiennent des substances capables d'inhiber la division cellulaire, on cite les alcaloïdes (Talib et Mahasneh, 2010).

Les agents anti-prolifératifs agissent selon plusieurs mécanismes

- Les agents cytotoxiques forment des liaisons covalentes avec les nucléotides de la chaîne ADN et inhibent ainsi la réplication ;

- Agents antimétabolites. Ils bloquent ou détournent une ou plusieurs voies de synthèse de l'ADN.
- tubulo-affines et apparentés. Produits qui affectent de façon spécifique la fonction du fuseau mitotique par liaison à la tubuline
- Les inhibiteurs de l'activité protéine-tyrosine kinase (Lechat, 2006).
  
- Plusieurs mécanismes d'action ont été identifiés pour isoflavone/flavones, ils agissent par induction de l'arrêt du cycle cellulaire et apoptose, par prévention de l'oxydation, induction des enzymes antioxydantes, régulation du système immunitaire et modification de signalisation cellulaire. La combinaison de ces mécanismes peut être responsable de la prévention du cancer par ces composés (Birt et *al.*, 2001)

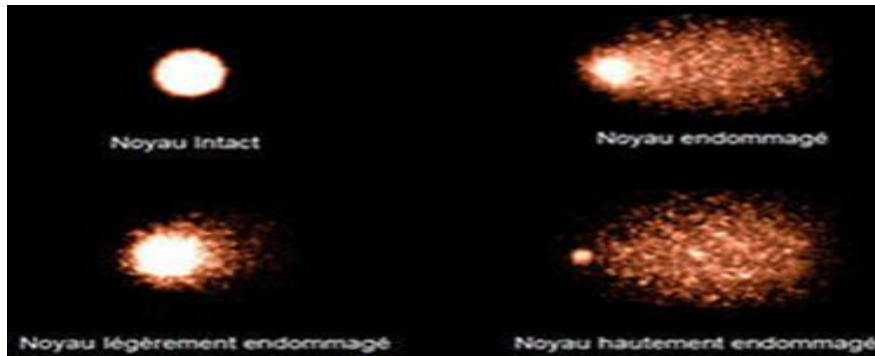
### **I.2.3 Méthode d'évaluation de la génotoxicité et anti-génotoxicité**

- **Le test d'Ames :** c'est un test biologique fut décrit par Bruce Ames en 1973, il montre l'activité mutagénique et anti mutagénique des composés chimiques des extraits des plantes médicinales (Lah et *al.* , 2005 ; Knezevec et *al.*, 2006).

Il repose sur l'utilisation des souches bactériennes mutantes *S. typhimurium* auxotrophe pour l'histidine, et si une réversion d'une mutation se produit, il y aura la croissance des colonies dans un milieu minimum (Fratiani et *al.*, 2006), un extrait appelé (S9 mix) qui est un extrait de foie des rats, est ajouté pour stimuler l'effet du métabolisme. Certains composés comme benzopyrane métabolisé conduit à la formation des produits carcinogènes (Etienne et *al.*, 2001).

- **Le test Smart w/w :** c'est un test de génotoxicité *in vivo* appliqué chez la drosophile après le traitement de la larve, il repose sur la détection des colonies white homozygotes des yeux chez la drosophile qui est un résultat de la perte d'hétérozygote et expression du gène white porté par le chromosome X chez la femelle ,pour les produits chimiques ont été analysé par ce teste qui montre une grande capacité de détection des effets mutagènes et antimutagènes (Vogel et *al.*, 1993) .
  
- **Test Comet :** l'électrophorèse sur gèle ou l'analyse unicellulaire de comet est une technique pour doser des dommages et la réparation d'ADN *in vivo* et *in vitro* dans les cellules eucaryotes ou procaryotes (Verschaeve et *al.*, 1995), elle se base sur la détection

de la rupture super colloïde de l'ADN double brin, ce que mène à la réduction de la taille de la grande molécule et ses dommages (Nesslany et *al.*, 2007).



**Figure 12:** Altération primaire de l'ADN –Test des comètes

- **Test de micronoyau :** est un test *in vitro* qui détecte les produits induisant la formation des petites membranes des fragments d'ADN lié au micronoyau dans les cytoplasmes des cellules en interphase (Feneche, 2000). Les agents modifiant la structure et la ségrégation des chromosomes et leur capacité à introduire des micronoyaux dans les cellules en interphase sont détectés par ce test (Knezevec et *al.*, 2005).

### **I.3 *Populus nigra* (peuplier noir)**

Le terme latin "*populus*", signifie le "peuple" (Häne and Dobbertin, 2006). Le nom *Populus* fait référence au fait que les arbres sont souvent plantés autour des lieux de réunion publique à l'époque romaine. Alors que noire est la couleur du tronc et des branches.

#### **I.3.1. Description**

Le peuplier noir est un arbre robuste, largement arrondi (White, 1993), qui peut atteindre des hauteurs de 20 à 30 m et un diamètre d'environ 1 m à 1,20 m au bout de 15 ans (Ben Slimen, 2003). Les peupliers peuvent vivre plus de 250 ans et il y a des documents historiques des arbres existants avant 1715 (White, 1993).

C'est un arbre peu sensible au froid. Lorsqu'il est planté dans des conditions acceptables, il s'accroît couramment de un à deux mètres par an en hauteur, et de 6 à 10 cm en circonférence ans. (Ben Slimen, 2003).



**Figure 13:** Aspect de l'arbre de *P. nigra*

#### **I.3.2 Habitat**

Le Peuplier noir est une espèce de pleine lumière, pionnière, dont les racines ont besoin d'oxygène et se développent dans la terre humide (Cagelli and Lefèvre, 1995).

Les sols les plus favorables sont donc les sols aérés, riches en azote avec un pH basique à neutre, meubles, frais, homogènes, où le plan d'eau se maintient à une distance comprise entre 1 et 2 mètres de la surface (Ben slimen, 2003).

#### **I.3.3 Caractéristiques morphologiques**

##### **- Les feuilles**

Les feuilles du peuplier noir, apparaissent après les fleurs, sont de forme triangulaire à losangique, avec la pointe allongée à un point aigu et les bords des feuilles ont des dents arrondies, avec le dessous étant légèrement velu. Elles sont vertes et lisses des deux cotés et jaunes en automne. Leur pétiole, parfois rougeâtre, est aplati au sommet (White, 1993).



**Figure 14:** feuille de *P. nigra*.

#### - Les Fleurs

L'espèce est dioïque (a plantes mâles et femelles) qui se produit par voie végétative (boutures) et les fleurs unisexuées mâles et femelles poussent sur des arbres et des fleurs séparées en chatons avant que les feuilles sortent (Häne and Dobbertin, 2006). A leur apparition, les chatons mâles sont gros, et de couleur rouge à pourpre. Les chatons femelles sont plus fins et le plus souvent vert clair (Riviere, 2007; White, 1993). La pollinisation ainsi que la dispersion du pollen se fait par le vent (anémophile) (Barsoum, 2003; Delarque, 2006).



**Figure 15 :** Fleur femelle.



**Figure 16 :** Fleur mal.

#### - Les Fruits

Ils sont de petites capsules rondes à deux ou quatre valves groupées en épi. Les arbres femelles Appeler «cotton wood» (arbre à coton) (Häne and Dobbertin, 2006) car libèrent au vent une sorte de bourre de coton hydrophobe contenant les graines neige en avril. Ces dernières très légères sont dispersées sur plusieurs dizaines de mètres. Quand l'une d'elle atteint un sol accueillant, la graine peut alors germer en quelques jours (Lefevre, 2001).



- **L'écorce**

Épaisse, fissuré, de couleur gris foncé puis noirâtre avec des bosses et broussins sur le tronc (Häne and Dobbertin, 2006)



**Figure 17 :** l'écorce de *P.nigra*

- **Le Tronc**

Massif, plus ou moins bosselé à l'écorce gris foncé avec de grands renflements (Riviere, 2007)

- **Les bourgeons**

Glabre et très visqueux (Marnotte et *al.*, 2006).



**Figure 18:** Bourgeon de *P. nigra*

**I.3.2 Position dans la systématique**

Règne : Végétale

Sous règne : Eucaryotes

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Monochlamide

Ordre : Salicales

Famille : Salicacées

Genre : Populus

Espèce : *Populus nigra* (Quezel and Santa, 1962).



### **I.3.3 Appellations**

En France: Plusieurs appellations comme Peuplier noire, Peuplier noire européen, Peuplier franc, Liard, Léard, Liardier, Biouté ou Biolasse.

Chez les anglophones Blak poplar

Nom arabe : Sefçaf

Le nom berbère: Asgarsif. (Häne and Dobbertin, 2006; Beloued, 2009).

### **I.3.4 Répartition**

Il a une vaste aire de répartition dans toute l'Europe et l'Asie, et se retrouve également en Afrique du nord, en Algérie plus précisément a oued Kissir-Jijel, ait ouabene à tizi ouazou ainsi qu'en Kabylie. L'aire de répartition s'étend de la Méditerranée au sud, à environ 64 ° de latitude au nord et des îles britanniques à l'ouest au Kazakhstan et de la Chine à l'est (Arbez and Lacaze, 1998). L'aire de répartition comprend également le Caucase et de grandes parties du Moyen-Orient.

Aujourd'hui, en raison d'un croisement de races pour améliorer la rentabilité de la populiculture (culture du peuplier), la race pure ne se rencontre plus que dans les hautes vallées des Alpes, du Massif Central et des Pyrénées (Häne and Dobbertin, 2006)

### **I.3.5 Importance et usages**

Les peupliers noirs ont souvent été utilisés pour délimiter les frontières en raison de leur forme distinctive et spectaculaire (Abraham and Penfold, 2001). Les troncs fourchus forment le soutien structurel des bâtiments et des branches ossature ont été utilisées comme fourrage pour le bétail (Cottrell, 2004).

**-Utilisation du bois :** Le bois du peuplier noir a été utilisé pour :

- Le revêtement de sol à proximité de feux où sa résistance au feu était un avantage.
- Les fonds de wagons, des crosses de fusil, des cloisons stables et blocs de frein, en raison de ses propriétés résistantes et d'absorption de choc.
- les sabots, les meubles et les boîtes de fruits (Cottrell, 2004), pour le contre plaquage, l'emballage, les panneaux de particules, et depuis peu les couverts bio-dégradables à cause de sa couleur légère, blanc et sa tendance.
- la fabrication des tables de soufflets de forge car il ne se déforme pas au séchage (Häne and Dobbertin, 2006).

### **-Les usages en médecine traditionnelle**

Les peupliers noirs sont des arbres traditionnellement importants à cause de leurs propriétés biologiques intéressantes.

Au début de notre siècle, les bourgeons ont été utilisés par le médecin grec Galien comme une pommade pour soigner les inflammations cutanées et les hémorroïdes.

Actuellement, des bourgeons de peuplier noir sont connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, diurétiques et calmantes ce qui permet de les utiliser contre diverses affections douloureuses et pour la fabrication d'un sirop contre la toux (Beloued, 1998).

Le suc résineux des bourgeons butinés par les abeilles est transformé en propolis aux vertus médicinales connus, antioxydant; antimicrobien et bien d'autres (Häne and Dobbertin, 2006).

L'infusion des bourgeons à la dose de 50 g par litre d'eau, agit comme désinfectants, et est recommandée dans les affections des reins et de la vessie et contre les catarrhes des voies respiratoires, contre les fièvres, la goutte, et la sciatique.

L'écorce a servi de succédané à la quinine, dont elle possède les propriétés toniques.

Le charbon de bois de peuplier noir est utilisé comme antiseptique intestinal (Häne and Dobbertin, 2006)

### **I.3.6 Les études antérieures**

Pour valider l'utilisation traditionnelle des différentes parties du peuplier noir, plusieurs études se sont intéressées à la détermination des activités biologiques des extraits bruts ou des composés actifs contenants dans les extraits de peuplier noir.

**Tableau VII:** Les différentes activités attribuées aux genres *Populus*.

<b>Extrait</b>	<b>Activité</b>	<b>Référence</b>
Extrait des bourgeons	antiseptique et anti-inflammatoire	Lamendin, 2007
Extrait aqueux des bourgeons	antioxydant	Dudonné et <i>al.</i> , 2011 Debbache et <i>al.</i> , 2014
Extrait aqueux des bourgeons	antivieillessement	Dudonné et <i>al.</i> , 2011
Extraits ethanologique de bourgeons	anti-inflammatoires	Karawya et <i>al.</i> , 2010 Debbache et <i>al.</i> , 2013
Bourgeons floraux	antimicrobienne	Debbache et <i>al.</i> , 2013
Extrait aqueux des bourgeons	antiradicalaire	Young and Woodside, 2001
Extrait de bourgeons	Anti-xantine oxydase	Okamoto and Nishino, 1995
Extrait ethanologique des bourgeons	Hepatoprotectrice et vaso dilatatrice	Debbache et <i>al.</i> , 2013
Propolis issus de bourgeons	Antimicrobienne	Bankova, 2005

### **I.3 *Populus nigra* (peuplier noir)**

Le terme latin "*populus*", signifie le "peuple" (Häne et Dobbertin, 2006). Le nom *Populus* fait référence au fait que les arbres sont souvent plantés autour des lieux de réunion publique à l'époque romaine. Alors que noire est la couleur du tronc et des branches.

#### **I.3.1. Description**

Le peuplier noir est un arbre robuste, largement arrondi (White, 1993), qui peut atteindre des hauteurs de 20 à 30 m et un diamètre d'environ 1 m à 1,20 m au bout de 15 ans (Ben Slimen, 2003). Les peupliers peuvent vivre plus de 250 ans et il y a des documents historiques des arbres existants avant 1715 (White, 1993).

C'est un arbre peu sensible au froid. Lorsqu'il est planté dans des conditions acceptables, il s'accroît couramment de un à deux mètres par an en hauteur, et de 6 à 10 cm en circonférence ans. (Ben Slimen, 2003).



**Figure 13:** L'arbre de *P. nigra*

#### **I.3.2 Habitat**

Le Peuplier noir est une espèce de pleine lumière, pionnière, dont les racines ont besoin d'oxygène et se développent dans la terre humide (Cagelli et Lefèvre, 1995).

Les sols les plus favorables sont donc les sols aérés, riches en azote avec un pH basique à neutre, meubles, frais, homogènes, où le plan d'eau se maintient à une distance comprise entre 1 et 2 mètres de la surface (Ben slimen, 2003).

#### **I.3.3 Caractéristiques morphologiques**

##### **- Les feuilles**

Les feuilles du peuplier noir, apparaissent après les fleurs, sont de forme triangulaire à losangique, avec la pointe allongée à un point aigu et les bords des feuilles ont des dents arrondies, avec le dessous étant légèrement velu. Elles sont vertes et lisses des deux cotés et jaunes en automne. Leur pétiole, parfois rougeâtre, est aplati au sommet (White, 1993).



**Figure 14:** feuille de *P. nigra*.

#### - Les Fleurs

L'espèce est dioïque (a plantes mâles et femelles) qui se produit par voie végétative (boutures) et les fleurs unisexuées mâles et femelles poussent sur des arbres et des fleurs séparées en chatons avant que les feuilles sortent (Häne et Dobbertin, 2006). A leur apparition, les chatons mâles sont gros, et de couleur rouge à pourpre. Les chatons femelles sont plus fins et le plus souvent vert clair (Riviere, 2007; White, 1993). La pollinisation ainsi que la dispersion du pollen se fait par le vent (anémophile) (Barsoum, 2003; Delarque, 2006).



**Figure 15 :** Fleures de *P. nigra*.

#### - Les Fruits

Ils sont de petites capsules rondes à deux ou quatre valves groupées en épi. Les arbres femelles Appeler «cotton wood» (arbre à coton) (Häne et Dobbertin, 2006) car libèrent au vent une sorte de bourre de coton hydrophobe contenant les graines neige en avril. Ces dernières très légères sont dispersées sur plusieurs dizaines de mètres. Quand l'une d'elle atteint un sol accueillant, la graine peut alors germer en quelques jours (Lefevre, 2001).

- **L'écorce**

Épaisse, fissuré, de couleur gris foncé puis noirâtre avec des bosses et broussins sur le tronc (Häne et Dobbertin, 2006)



**Figure 16 :** l'écorce de *P.nigra*

- **Le Tronc**

Massif, plus ou moins bosselé à l'écorce gris foncé avec de grands renflements (Riviere, 2007)

- **Les bourgeons**

Glabre et très visqueux (Marnotte et *al.*, 2006).



**Figure 17:** Bourgeon de *P. nigra*

**I.3.2 Position dans la systématique**

Règne : Végétale

Sous règne : Eucaryotes

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Monochlamide

Ordre : Salicales

Famille : Salicacées

Genre : Populus

Espèce : *Populus nigra* (Quezel et Santa, 1962).



**Figure 18 :** *P. nigra*



### **I.3.3 Appellations**

En France: Plusieurs appellations comme Peuplier noire, Peuplier noire européen, Peuplier franc, Liard, Léard, Liardier, Biouté ou Biolasse.

Chez les anglophones Blak poplar

Nom arabe : Sefçaf

Le nom berbère: Asgarsif. (Häne et Dobbertin, 2006; Beloued, 2009).

### **I.3.4 Répartition**

Il a une vaste aire de répartition dans toute l'Europe et l'Asie, et se retrouve également en Afrique du nord, en Algérie plus précisément a oued Kissir-Jijel, ait ouabene à tizi ouazou ainsi qu'en Kabylie. L'aire de répartition s'étend de la Méditerranée au sud, à environ 64 ° de latitude au nord et des îles britanniques à l'ouest au Kazakhstan et de la Chine à l'est (Arbez et Lacaze, 1998). L'aire de répartition comprend également le Caucase et de grandes parties du Moyen-Orient.

Aujourd'hui, en raison d'un croisement de races pour améliorer la rentabilité de la populiculture (culture du peuplier), la race pure ne se rencontre plus que dans les hautes vallées des Alpes, du Massif Central et des Pyrénées (Häne et Dobbertin, 2006)

### **I.3.5 Importance et usages**

Les peupliers noirs ont souvent été utilisés pour délimiter les frontières en raison de leur forme distinctive et spectaculaire (Abraham et Penfold, 2001). Les troncs fourchus forment le soutien structurel des bâtiments et des branches ossature ont été utilisées comme fourrage pour le bétail (Cottrell, 2004).

**-Utilisation du bois :** Le bois du peuplier noir a été utilisé pour :

- Le revêtement de sol à proximité de feux où sa résistance au feu était un avantage.
- Les fonds de wagons, des crosses de fusil, des cloisons stables et blocs de frein, en raison de ses propriétés résistantes et d'absorption de choc.
- les sabots, les meubles et les boîtes de fruits (Cottrell, 2004), pour le contre plaquage, l'emballage, les panneaux de particules, et depuis peu les couverts bio-dégradables à cause de sa couleur légère, blanc et sa tendance.
- la fabrication des tables de soufflets de forge car il ne se déforme pas au séchage (Häne et Dobbertin, 2006).



### **-Les usages en médecine traditionnelle**

Les peupliers noirs sont des arbres traditionnellement importants à cause de leurs propriétés biologiques intéressantes.

Au début de notre siècle, les bourgeons ont été utilisés par le médecin grec Galien comme une pommade pour soigner les inflammations cutanées et les hémorroïdes.

Actuellement, des bourgeons de peuplier noir sont connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, diurétiques et calmantes ce qui permet de les utiliser contre diverses affections douloureuses et pour la fabrication d'un sirop contre la toux (Beloued, 1998).

Le suc résineux des bourgeons butinés par les abeilles est transformé en propolis aux vertus médicinales connus, antioxydant; antimicrobien et bien d'autres (Häne et Dobbertin, 2006).

L'infusion des bourgeons à la dose de 50 g par litre d'eau, agit comme désinfectants, et est recommandée dans les affections des reins et de la vessie et contre les catarrhes des voies respiratoires, contre les fièvres, la goutte, et la sciatique.

L'écorce a servi de succédané à la quinine, dont elle possède les propriétés toniques.

Le charbon de bois de peuplier noir est utilisé comme antiseptique intestinal (Häne et Dobbertin, 2006)

### **I.3.6 Les études antérieures**

Pour valider l'utilisation traditionnelle des différentes parties du peuplier noir, plusieurs études se sont intéressées à la détermination des activités biologiques des extraits bruts ou des composés actifs contenants dans les extraits de peuplier noir.

**Tableau VII:** Les différentes activités attribuées aux genres *Populus*.

<b>Extrait</b>	<b>Activité</b>	<b>Référence</b>
Extrait des bourgeons	antiseptique et anti-inflammatoire	Lamendin, 2007
Extrait aqueux des bourgeons	antioxydant	Dudonné et <i>al.</i> , 2011 Debbache et <i>al.</i> , 2014
Extrait aqueux des bourgeons	antivieillessement	Dudonné et <i>al.</i> , 2011
Extraits ethanologique de bourgeons	anti-inflammatoires	Karawya et <i>al.</i> , 2010 Debbache et <i>al.</i> , 2013
Bourgeons floraux	antimicrobienne	Debbache et <i>al.</i> , 2013
Extrait aqueux des bourgeons	antiradicalaire	Young et Woodside, 2001
Extrait de bourgeons	Anti-xantine oxydase	Okamoto et Nishino, 1995
Extrait ethanologique des bourgeons	Hepatoprotectrice et vaso dilatatrice	Debbache et <i>al.</i> , 2013
Propolis issus de bourgeons	Antimicrobienne	Bankova, 2005

## II Matériels et méthodes

Cette étude a pour but l'évaluation des activités génotoxique, antimutagénique et antiproliférative de l'extrait éthanolique des bourgeons de *Populus nigra* sur des cellules eucaryotes du méristème des racines de l'*Allium cepa*.

### II.1 Matériels

- **Produits chimiques**

Acide acétique 45% (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>), Azide de sodium (NaN<sub>3</sub>), Diméthyle sulfoxyde (DMSO), ethanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), les sels minéraux : Sulfate Calcium (CaSO<sub>4</sub>), sulfate de Magnésium (MgSO<sub>4</sub>), Chlorure de Potassium (KCl), Bicarbonate de Sodium (NaHCO<sub>3</sub>), Chlorure d'hydrogène (HCl), carmin acétique.

- **Matériel végétal**

Les bourgeons de *P. nigra* ont été utilisés pour l'évaluation de leurs activités anti-proliférative, mutagénique et anti-mutagénique.

#### *Allium cepa*

La variété de l'*Allium cepa*. *L* et diploïde dont 2n=16 (S. Siluél, L., et al 2003). Les bulbes d'oignons utilisées ont été achetées au niveau des marchés locaux, les bulbes sélectionnées ont un diamètre d'environ 4 cm et un poids d'environ 25g.

Règne: Végétal

Classe: Monocotylédone

Ordre: Liliales

Famille: Alliaceés

Genre: Allium

Espèce: *Allium cepa* (Breu, 1996)



**Figure 19:** *Allium cepa*

## *Populus nigra*

Des bourgeons frais et non abimés ont été récoltés et échantillonnés en mars 2013, dans la forêt d'Azru n Bechar à Amizour située à l'est de Béjaia.



**Figure 20:** Bourgeons de *P. nigra*.

## II.2 Méthodes

### II.2.1 Préparation des extraits

Les bourgeons ont été séchés dans l'étuve à 37°C afin d'éliminer toutes traces d'humidités. Après broyage et tamisage, une poudre fine de 63µm a été récupérée et conservée dans des flacons en verre qui ont été stockés à l'abri de la lumière.

L'extrait éthanolique a été préparé comme suit: 600mg de la poudre de bourgeons de *Populus nigra* ont été macérés dans de l'éthanol 90% avec un rapport de 1/6 (m/v). Après 24h d'agitation suivie d'une décantation pendant 24h, le surnageant a été centrifugé à 1500g pendant 15mn. Les résidus secs obtenus après évaporation totale du solvant ont été conservés à -4°C jusqu'à utilisation. Les extraits à tester ont été dissous dans du DMSO (Kura's et *al.*, 2006)

### II.2.2 Préparation des bulbes

Avant les tests, les bulbes d'oignon ont subi les traitements suivants:

-Enlever la première pelure de la bulbe et ôter les racines pour permettre la poussée des nouvelles racines (Figure 21).



**Figure 21:** Elimination de la première pelure et coupure des racines.

-Rinçage des extrémités des bulbes avec de l'eau.

-Les extrémités des bulbes ont été immergées dans des flacons contenant 50ml de milieu de culture pendant 48h à 25°C dans l'étuve avec changement de ce dernier chaque 24h.



**Figure 22:** Les bulbes de l'*Allium cepa* dans l'étuve

-Quand les nouvelles racines des bulbes atteignent une longueur  $\geq$  à 0,5 cm et  $<$  2cm, (après élimination de celles dépassant les 2cm), les bulbes ont été divisées en quatre parties, chaque partie contient au moins 5 racines.

-Les bulbes traitées ont été ensuite réparties en 10 groupes de 6 bulbes et seront immergées dans des milieux différents (Figure 23), dont la composition est comme suit:



**Figure 23:** Lot des bulbes

Groupe 1, 2: Contrôle négatif : le milieu de culture contient de l'eau distillée et le DMSO, respectivement.

Groupes 3, 4, 5: Contrôle positif, les milieux de culture contiennent, l'Azide de sodium à 25, 50 et 100 µg/ml respectivement.

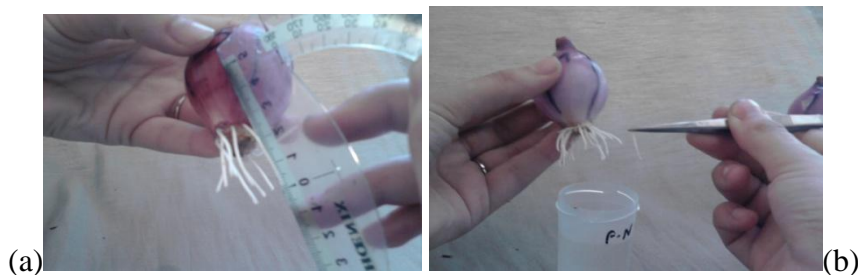
Groupe 6, 7, 8, 9: Groupes Tests, les bulbes ont été immergées dans des milieux de culture contenant 50, 100, 300, 600µg/ml d'extrait éthanolique, respectivement pour l'évaluation de l'activité génotoxique.

Groupe 10: le milieu de culture contient l'azide de sodium à 100µg/ml et l'extrait à 100µg/ml pour l'évaluation de l'activité anti-mutagénique de l'extrait contre les mutations induites par l'azide de sodium.

### II.2.3 Effet de différentes concentrations d'extrait et de l'azide de sodium sur la croissance des racines

Pour l'évaluation de l'activité antiproliférative, la longueur des racines a été mesurée avant et après chaque traitement.

-Chaque partie de bulbe servira pour les prélèvements de racines à des intervalles de temps (18h, 24h, 48h et 72h).



**Figure 24:** Elimination des longues racines (a) et prélèvement des racines (b).

Le taux de croissance a été calculé pendant toutes les phases d'étude selon la formule

suivante :

$$Tc = \frac{D_0 - D_t}{D_0} \times 100$$

$D_0$  = La longueur des racines avant le traitement

$D_t$  = La longueur des racines après 18, 24, 48 et 72h.

## II.2.4 Observation des racines sous microscope optique

Après la mesure de la longueur des racines à chaque intervalle de temps, ces dernières ont été récupérées pour une observation des cellules méristématiques sous microscope optique.

-Les racines prélevées à l'aide d'une pince ont été fixées dans une solution contenant (3 volumes d'éthanol et 1 volume d'acide acétique) pendant 24h pour bloquer le cycle cellulaire.



**Figure 25:** Fixation des racines

-Les racines ont été ensuite conservées dans de l'éthanol à 70%.



**Figure 26:** conservation des racines

- Avant observation, les racines ont été rincées trois fois avec de l'eau distillée.

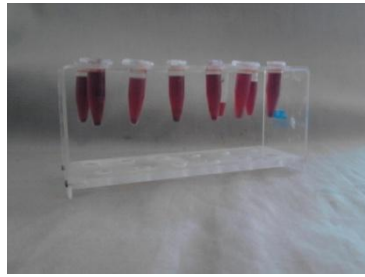


**Figure 27:** Rinçage des extrémités méristématiques.

- HCL à 1N a été additionné pour l'hydrolyse des parois cellulaires et l'ensemble est incubé dans le bain marie pendant 10 mn à 60°C.

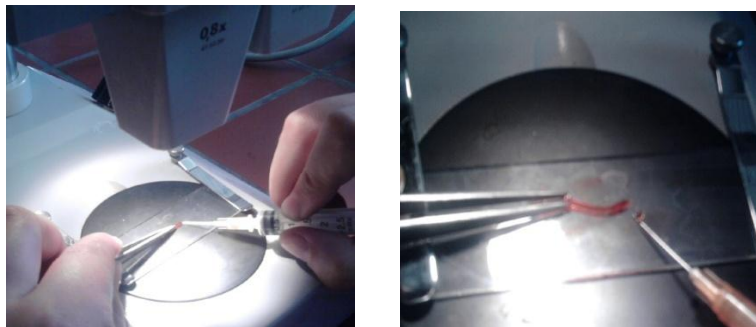
-Les racines refroidies ont été rincées trois fois avec de l'eau distillée.

- Le carmin acétique a été additionné.



**Figure 28:** Coloration des racines.

-Après incubation pendant 10mn, le méristème a été coupé à l'aide d'une seringue sous une loupe optique.



**Figure 29:** Coupure des extrémités méristématiques sous la loupe.

- Le méristème est monté entre lame et lamelle puis écrasé.



**Figure 30:** Ecrasement d'échantillon a l'aide d'une seringue.

- L'observation des préparations:

Le nombre total moyen des cellules analysées par bulbe était de 1000 cellules. Les lames ont été analysées par observation des cellules en division normale (interphase, prophase, métaphase, anaphase et télophase) ou en division anormale en utilisant un microscope optique avec un objectif x40. La moyenne des cellules dans chaque phase du cycle de division d'A.



*Cepa* a été calculée. Pour évaluer le potentiel mutagénique des solutions testées, l'indice mitotique a été calculé en utilisant les formules suivantes.

$$\text{L'indice mitotique(\%)} = \frac{\text{Le nombre des cellules en division}}{\text{Le nombre total des cellules}} \times 100$$

Pour évaluer l'activité anti-mutagénique de l'extrait contre des mutations induites par l'azide de sodium, un pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule suivante :

% Inhibition (PI) de l'extrait contre les aberrations chromosomales induites par l'azide sodium est calculé comme suit (Shukla *et al.*, 2003):

$$\text{PI (\%)} = \frac{N_2 - N_1}{N_2} \times 100\%$$

Où,  $N_1$  est le nombre d'aberration dans le lot traité avec l'extrait et  $\text{NaN}_3$  et  $N_2$  est le nombre d'aberration dans le groupe traité avec  $\text{NaN}_3$  seul.

### II.3 Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés comme moyenne  $\pm$  standard error means (SEM). Les données expérimentales ont été analysées utilisant le logiciel GraphPad Prism 5.3 Software. L'analyse de la variance (ANOVA) a été utilisée, suivie par le test de Student's Newman-Keul's. La valeur  $P \leq 0,05$  a été considérée comme statistiquement significative.

### III. Résultats

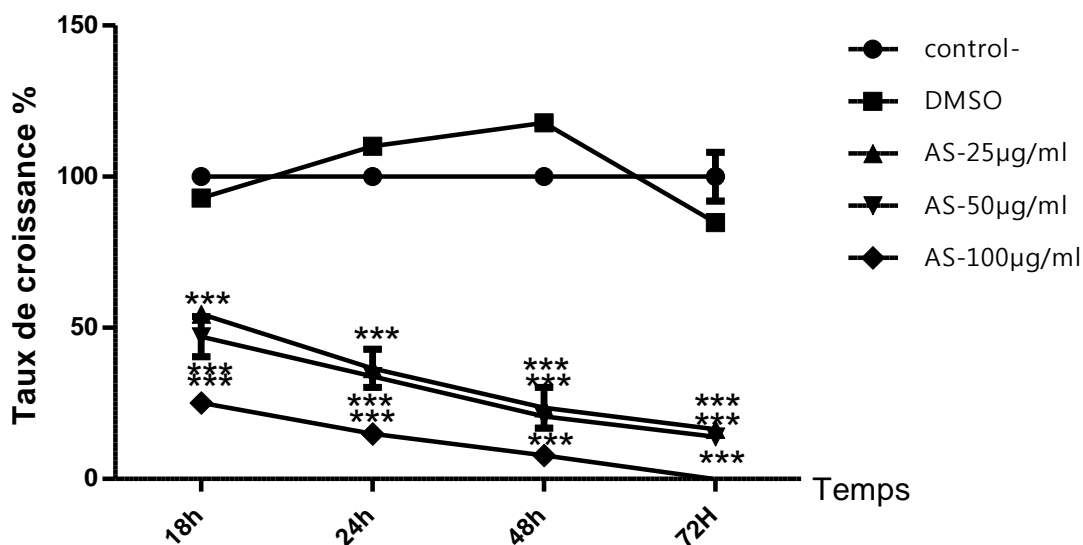
Le test de l'*A. cepa* permet de déterminer des critères de phytotoxicité tels que l'élongation racinaire et l'indice mitotique.

#### III.1 Effets de l'extrait et de l'azide de sodium sur la croissance des racines des bulbes de l'*A. cepa*

Les racines des bulbes d'oignon ont été incubées dans des milieux contenant des concentrations différentes d'extrait à tester et du mutagène, la longueur des racines a été mesurée à t=0 et à des intervalles de temps de 18, 24, 48 et 72h de traitement.

##### III.1.1 Effets du mutagène sur la croissance des racines de l'*A. Cepa*

Les résultats des mesures des racines des bulbes traitées par les différentes concentrations de l'azide de sodium (25, 50 et 100 µg /ml) sont représentés dans la figure (31).



**Figure 31:** Effet de l'azide de sodium sur la croissance des racines des bulbes d'oignons.

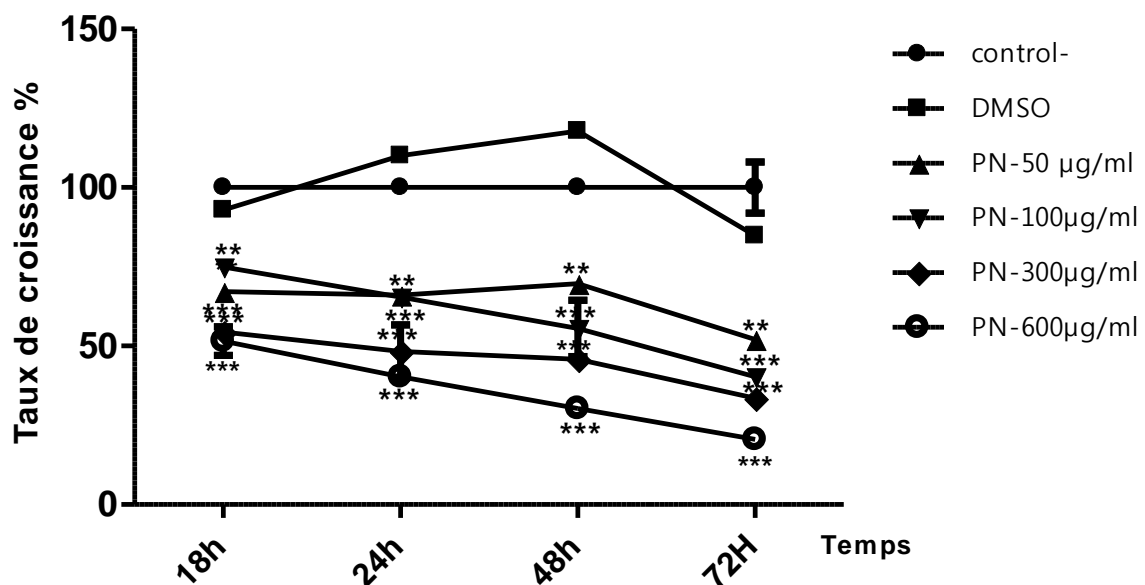
Toutes les valeurs sont exprimées comme moyenne±SD de six bulbes. One-way ANOVA suivie par le test de comparaison multiple Dunett's a été utilisé pour l'analyse statistique. \*P < 0,05, \*\*P < 0,01, \*\*\*P < 0,001 comparé au groupe control.

Les résultats obtenus n'ont montré aucune différence significative dans le taux de croissance des racines immergées dans les milieux contenant le milieu de culture ou le milieu de culture additionné du DMSO. Ainsi le DMSO n'a aucun effet sur la division des cellules méristématiques. L'azide de sodium à 25, 50 et 100µg/ml a significativement (P<0,001) réduit le taux de croissance à 18, 24, 48 et 72 heures. Une inhibition complète de la croissance

des racines traitées par l'Azide de sodium (100µg/ml) a été enregistrée à 72h. Aucune différence significative n'a été observée dans la croissance des racines traitées par l'azide de sodium à 25 et 50µg/ml. Une relation dose effet a été trouvée dans la réduction du taux de croissance par l'azide de sodium.

### III.1.2 Effets de l'extrait de *P. nigra* sur la croissance des racines de l'*A. Cepa*

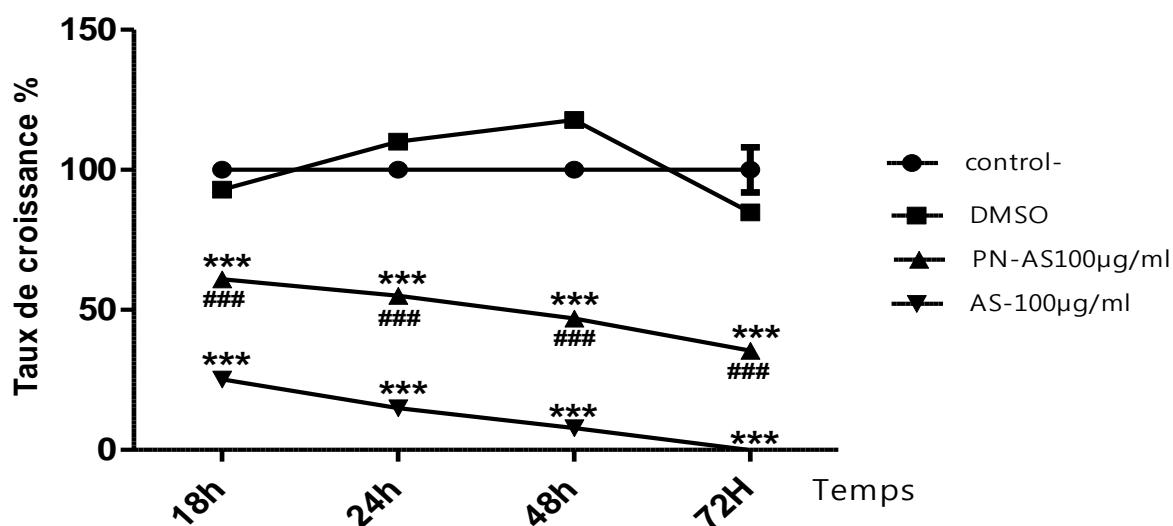
Les résultats illustrés dans la figure 32 ont montré que l'extrait éthanolique de *P. nigra* avait réduit le taux de croissance de façon significative ( $P < 0,01$ ) à la dose de 50µg/ml et ( $P < 0,001$ ) à la dose de 100µg/ml. Une réduction de la croissance des racines dépendante de la concentration de l'extrait a été aussi enregistrée.



**Figure 32:** Effets de différentes concentrations de l'extrait éthanolique sur la croissance des racines des bulbes d'oignons. Toutes les valeurs ont été exprimées comme moyenne  $\pm$  SD de six bulbes. One-way ANOVA suivie par le test de comparaison multiple Dunett's a été utilisé pour l'analyse statistique. Les différences ont été considérées à \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$ , \*\*\* $P < 0,001$  comparé au groupe control.

### III.1.3 Effets de l'extrait sur la croissance des racines de l'*A. cepa* prétraitées avec l'azide de sodium

Dans le but d'évaluer le potentiel anti-mutagénique de l'extrait, les racines de *A. cepa* ont été incubées dans un milieu contenant le mutagène (100 µg/ml) et l'extrait à 100 µg/ml. Le taux de croissance calculé pour les groupes traités simultanément avec l'azide de sodium et l'extrait de *P.nigra* ont été comparés au contrôle et au groupe traité avec le mutagène seul, les résultats sont montrés dans la figure (33).



**Figure 33:** Effet de l'extrait de *P. nigra* sur la croissance des racines traitées avec l'azide de sodium. Toutes les valeurs sont exprimées comme moyenne±SD of six bulbes. One-way ANOVA suivie par le test de comparaison multiple Dunett's a été utilisé pour l'analyse statistique. \*P < 0,05, \*\*P < 0,01, \*\*\*P <0,001 comparé au groupe control. #P < 0.05, ##P < 0.01, ###P <0.001 comparé au groupe traité avec le mutagène à 100µg/ml.

On a enregistré une différence significative (P<0,001) entre la croissance des racines dans le milieu contenant l'azide de sodium et l'extrait par rapport celle des racines du control. Une différence significative (P<0, 001) a été aussi observée dans le taux de croissance des racines des groupes traités par l'azide seul et celle traitées par le mutagène et l'extrait de plante.

### III.2 Effet des extraits et du mutagène sur le cycle cellulaire de l'*A. cepa*

Le test de l'*Allium cepa* a été utilisé comme bio-indicateur d'une génotoxicité induite par les extraits de plante ou autres composés, l'activité génotoxique de l'extrait à différentes concentrations a été comparée à celle de l'azide de sodium. Pour cela, les taux des cellules en division et des cellules ayant subi des aberrations ont été calculés pour chaque groupe. L'indice mitotique évalué est un autre critère de toxicité qui correspond à la proportion des cellules en division révèle si la mitose se déroule normalement ou non.

#### III.2.1 Effet du mutagène sur le cycle cellulaire de l'*A. cepa*

Le nombre total des cellules analysées, le nombre de cellule en interphase et dans les différentes phases du cycle cellulaire de l'*A. cepa* après traitement des racines par les différentes concentrations d'azide de sodium ont été représentés dans le tableau (VIII).

**Tableau VIII :** Le nombre des cellules dans les différentes phases du cycle cellulaire des cellules des racines de l'*A. cepa* chez les groupes expérimentaux.

Groupes concentrations		Nombre cellules	% cellules interphase	% cellules prophase	% cellules métaphase	% cellules anaphase	% cellules télophase
Contrôle	18h	1045,17±2,6	43,67±28,20	54,25±30,3	0,53±4,05	0,96±8,1	0,60±4,45
	24h	1095,83±6,2	49,70±60,49	49,70±50,83	5,28±54,85	0,70±4,49	0,62±2,90
	48h	1294,5±3,46	66,30±66,07	66,30±43,6	1,67±5,96	1,27±3,1	1,54±5,58
	72h	1291,33±0,88	23,35±13,42	72,48±37,20	2,03±3,48	1,05±3,96	1,42±5,63
DMSO	18h	1262,83±2,37	35,53±30,45	61,62±42,98	1,16±0,2	0,86±3,53	0,83±3,21
	24h	1202,17±3,56	43,96±48,03	54,84±43,01	0,40±4,40	0,23±50,96	0,46±2,60
	48h	1061,5±1,52	36,55±21,45	62,78±21,21	0,33±3,5	0,25±2,47	0,094±1
	72h	1130±2,37	32,12±30,1	67,02±34,79	0,41±1,88	0,21±1,76	0,23±2,37
Mutagène 25	18h	1078,33 ± 23,66	46,89 ± 50,97	52,53 ± 63,68	0,31 ± 1,73	0,12 ± 0,91	0,14 ± 0,72
	24h	1194,83 ± 65	48,71 ± 69,2	51,19 ± 46,28	0,01 ± 0,17	0,04 ± 0,34	0,04 ± 0,46
	48h	1231 ± 72,35	49,76 ± 80,66	49,76±67,68	0,09 ± 0,67	0,20 ± 1,75	0,19 ± 0,95
	72h	1109 ± 27,07	50,03 ± 52,70	49,38 ± 43,06	0,30 ± 2,18	0,09 ± 0,82	0,19 ± 1,33
Mutagène 50	18h	1086 ± 12,48	57,63 ± 17,97	41,7 ± 29,21	0,38 ± 1,46	0,09 ± 0,39	0,20 ± 0,76
	24h	1095,33 ± 16,54	58,67 ± 21,73	40,41 ± 31,83	0,83 ± 2,13	0,03 ± 0,29	0,04 ± 0,3
	48h	1075,17 ± 10,89	58,87 ± 21,96	40,50 ± 4,99	0,05 ± 2,07	0,01 ± 0,15	0,08 ± 0,28
	72h	1061,67 ± 14,68	59,61 ± 18,35	39,51±20,02	0,67 ± 2,73	0,09±0,87	0,11± 0,41
Mutagène 100	18h	1051 ± 18,07	64,50 ± 31,87	37,65 ± 31,8	0,68±1,36	0,06±0,17	0,09 ± 0,67
	24h	1153 ± 28,62	65,17±45,74	34,16±67,13	0,04 ± 2,2	0,03 ± 0,19	0,15 ± 0,91
	48h	1071 ± 32,79	65,78 ± 43,99	33,85 ± 3,92	0,34 ± 1,37	0,01 ± 0,15	0,01 ± 0,15
	72h	1111,67 ± 11,37	66,96 ± 19,67	33 ± 29,11	0,04 ± 0,19	0 ± 0	0 ± 0

Le pourcentage des aberrations trouvées au niveau des cellules méristématiques des bulbes d'oignons traitées avec l'azide de sodium à 25, 50 et 100µg/ml a été rapporté dans le Tableau (IX) et les types d'aberrations ont été montrés dans la figure (35).

**Tableau IX :** Le pourcentage des aberrations chromosomiques observées dans le cycle cellulaire d'*Allium cepa* chez les groupes expérimentaux traités par les différentes concentrations d'azide de sodium.

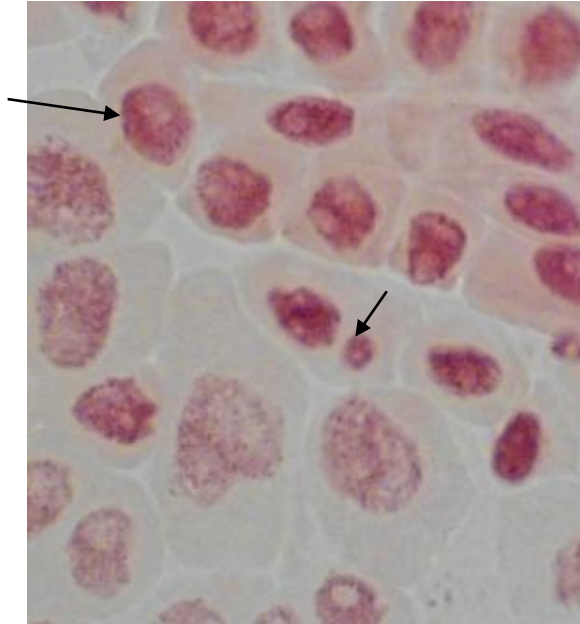
type d'aberration		c-mitose %	Cassure %	Multipolaire %	Chromosome isolé %	Pontage %
groupe						
Mutagène 25	18h	0,29 ± 1,42	-	-	-	-
	24h	0,3 ± 1,42	-	-	-	-
	48h	0,50 ± 2,59	0,09 ± 0,63	-	-	-
	72h	0,32 ± 2,39	0,03 ± 0,21	-	-	-
Mutagène 50	18h	2,59 ± 5,71	0,35 ± 1,17	-	0,21 ± 0,86	-
	24h	1,23 ± 5,2	0,84 ± 2,13	-	0,01 ± 0,14	-
	48h	1,6 ± 4,74	0,37 ± 2,04	-	0,02 ± 0,15	0,06 ± 0,31
	72h	1,03 ± 2,64	0,58 ± 2,02	0,02 ± 0,14	0,27 ± 1,26	-
Mutagène 100	18h	1,93 ± 3,37	0,68 ± 1,36	-	-	-
	24h	6,33 ± 21,69	0,45 ± 1,81	-	0,01 ± 0,19	-
	48h	1,67 ± 6,3	0,34 ± 1,37	-	-	-
	72h	3,63 ± 13,51	0,05 ± 0,19	-	-	0,06 ± 0,3

Des photos des cellules en division ont été prises, parmi les 1000 cellules analysées en moyenne, nous avons recherché les cellules ayant subi des aberrations chromosomiques, les résultats sont représentés dans la figure (37).

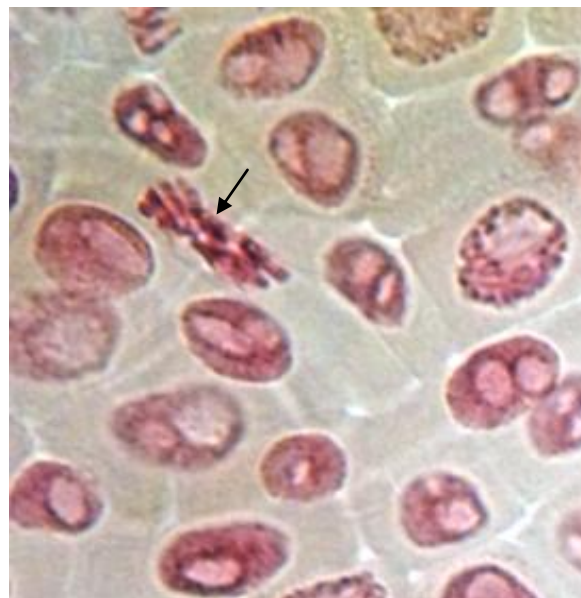
Lors des observations microscopiques, en plus des c-mitose qui sont les plus fréquentes, d'autres types d'anomalies ont été observées qui touchent les chromosomes de l'*A. cepa*. En effet, aux différentes concentrations de l'extrait, il a été observé des cellules comportant des chromosomes à structure altérée (clastogénicité) et des cellules présentant une mauvaise ségrégation de chromosomes (aneugénicité). Dans le cas des anomalies structurales qui touchent la morphologie des chromosomes, on a pu détecter la présence d'adhérences chromosomiques « stickiness » figure (34 a), des fragments chromosomiques figure (34 b) et des ponts anaphasiques figure (35 h). D'autres types d'aberrations présente à de faible

pourcentage ont été rapportés dans le tableau (IX), on cite les cellules multipolaires, chromosomes isolés et des pontages. De très faible taux d'aberrations tel que micro-noyaux ont été aussi enregistrés.

Noyau interphasique  
Coloré par le carmin  
acétique à 2%



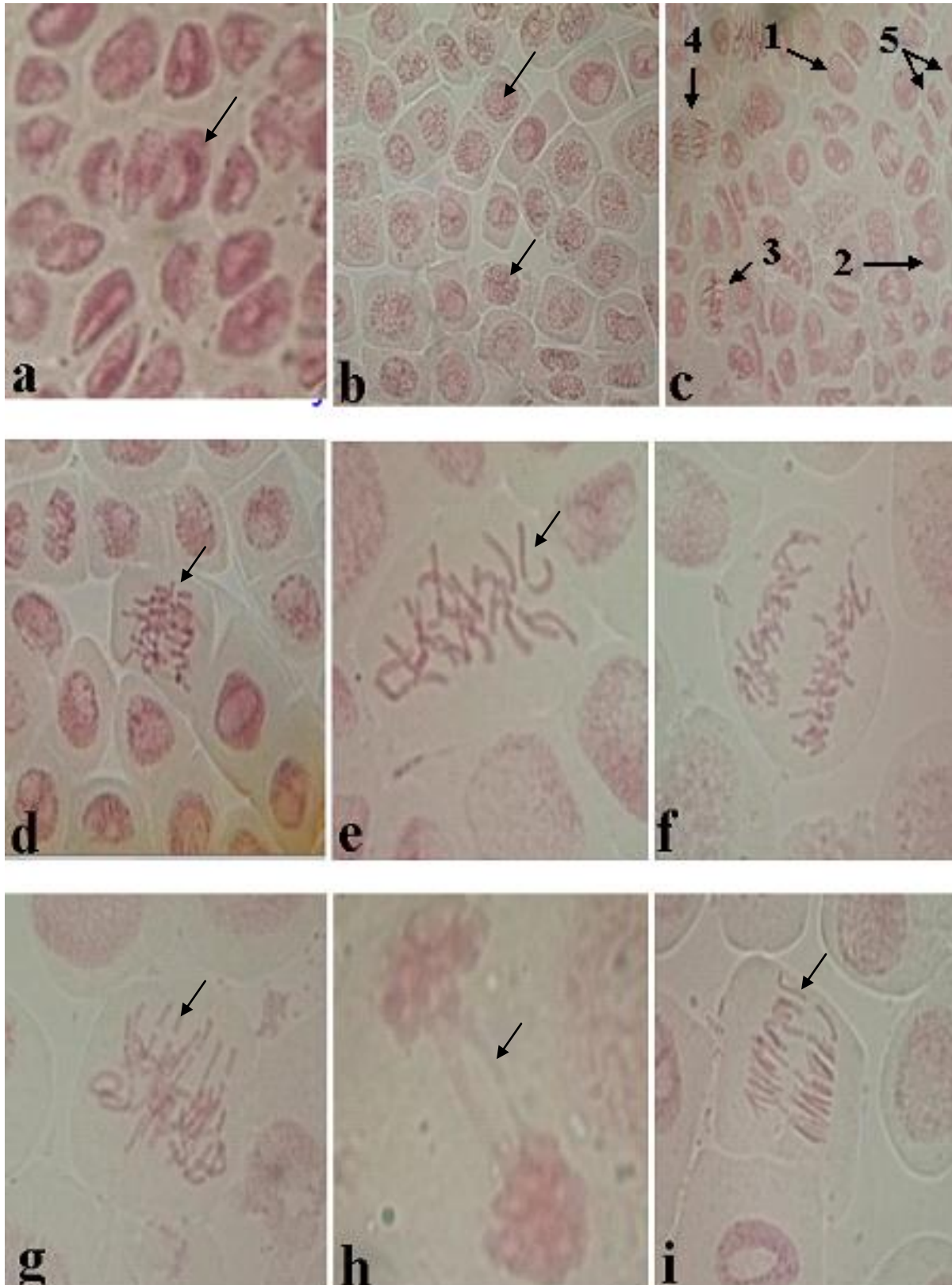
(a) : Fragments chromosomiques



(b) : Adhérences chromosomiques « stickiness »

Figure 34 : Autres types d'aberrations présente à de faible pourcentage.

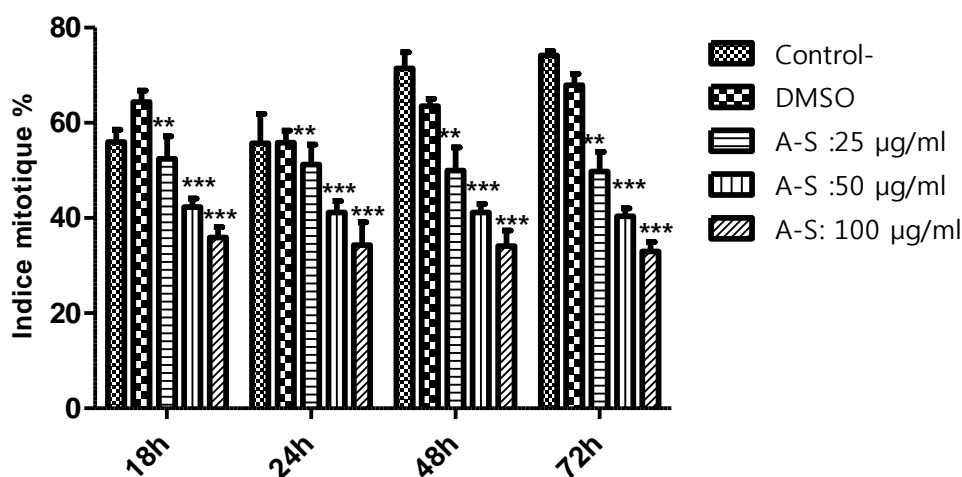




**Figure35 :** Les différents types d'aberrations observées au niveau des cellules méristématique après traitement des racines des bulbes de l'*A. cepa* avec l'azide de sodium. a) Blocage des divisions ; b) prophase ; c) 1: interphase. 2: prophase. 3 : métaphase. 4 : anaphase. 5 : télophase ; d, e, et f) c-mitoses ; g) cassure ; h) pont chromosomique; i) chromosome isolé.



L'indice mitotique a été calculé pour prédire le potentiel mutagénique de l'azide de sodium, les résultats sont regroupés dans la figure suivante.



**Figure 36:** l'effet de l'azide de sodium sur l'indice mitotique d'*Allium cepa*. Toutes les valeurs sont exprimées comme moyenne±SEM of six bulbes. One-way ANOVA suivie par le test de comparaison multiple Dunett's a été utilisé pour l'analyse statistique. \*P < 0,05, \*\*P < 0,01, \*\*\*P < 0,001 comparé au groupe control.

Les résultats exhibés dans la figure (34) ont montré que le DMSO utilisé comme véhicule n'a aucun effet sur l'indice mitotique. L'azide de sodium à 25µg/ml a significativement réduit (P<0,01) l'indice mitotique. Alors que l'azide de sodium 50 et 100µg/ml à réduit de façon très significative (P<0,001) l'indice mitotique par rapport au groupe control.

### III.2.2 Effet de l'extrait sur le cycle cellulaire de l'*A. cepa*

Le nombre total des cellules analysées, le nombre de cellule en interphase et dans les différentes phases du cycle cellulaire de la cellule de racines de l'*A. cepa* traités par l'extrait à différentes concentrations sont présentés dans le tableau (X).

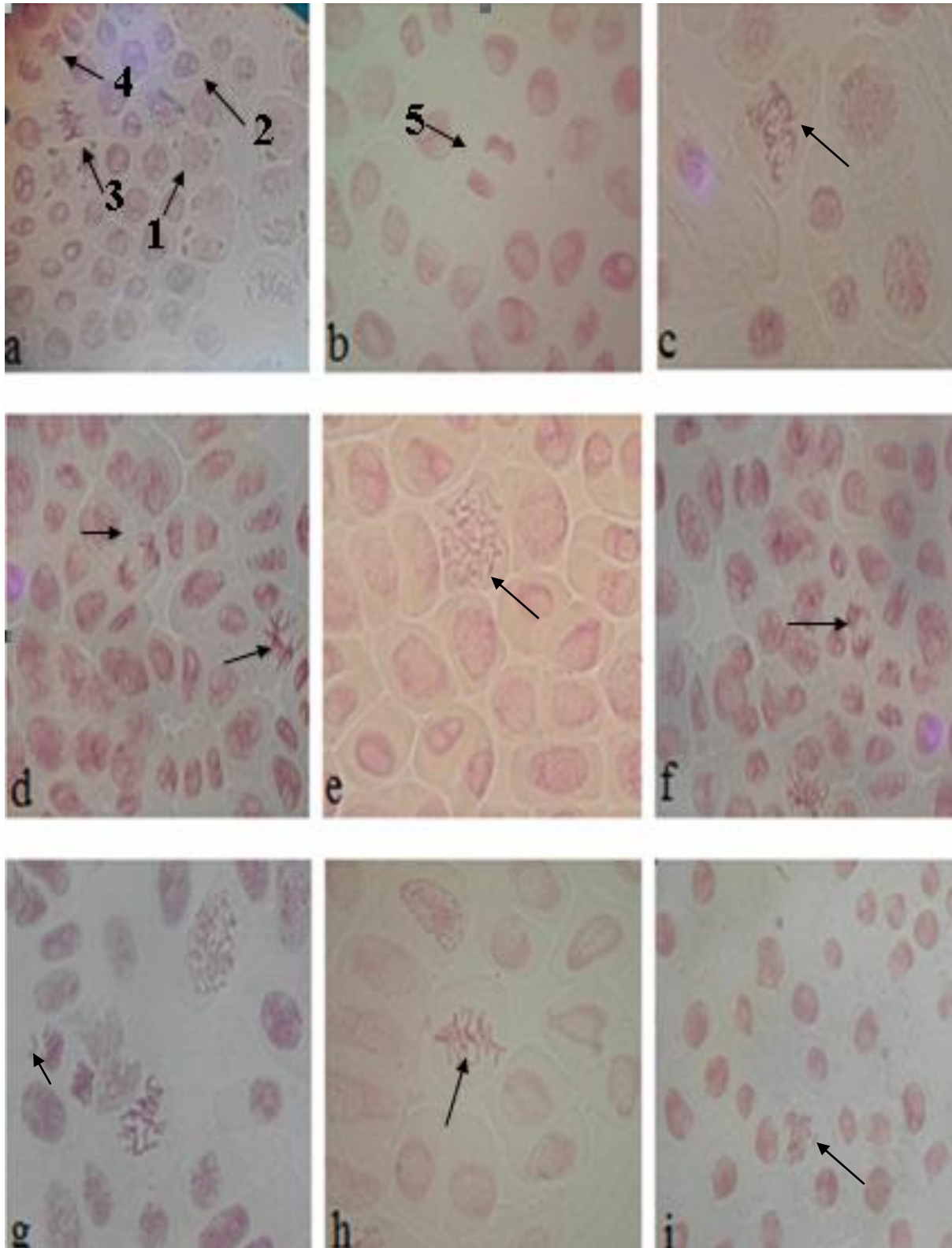
**Tableau X:** Le nombre des cellules des racines de l'*A. cepa* dans les différentes phases de cycle cellulaire chez les groupes expérimentaux.

Groupe concentrations		Nombre cellules	% cellules interphase	% cellules prophase	% cellules métaphase	% cellules anaphase	% cellules télophase
Contrôle	18h	1045,17±2,60	43,67±28,20	54,25±30,33	0,53±4,05	0,96±8,1	0,60±4,45
	24h	1095,83±6,2	49,70±60,496	49,70±50,83	5,28±54,85	0,70±4,49	0,62±2,90
	48h	1294,5±3,46	66,30±66,07	66,30±43,6	1,67±5,96	1,27±3,1	1,54±5,58
	72h	1291,33±0,88	23,35±13,42	72,48±37,20	2,03±3,48	1,05±3,96	1,42±5,63
DMSO	18h	1262,83±2,37	35,53±30,45	61,62±42,98	1,16±0,21	0,86±3,53	0,83±3,21
	24h	1202,17±3,56	43,96±48,03	54,84±43,01	0,40±4,40	0,23±50,96	0,46±2,60
	48h	1061,5±1,52	36,55±21,45	62,78±21,21	0,33±3,5	0,25±2,47	0,094±1
	72h	1130±2,37	32,12±30,1	67,02±34,79	0,41±1,88	0,21±1,76	0,23±2,37
P-N 50	18h	1056,33±3,13	34,33±47,36	65±31,83	0,09±1,29	0,16±1,48	0,31±2,86
	24h	1085,83±1,3	35,85±17,15	62,64±22,76	0,61±1,99	0,31±0,88	0,58±1,41
	48h	1133±4,73	38,44±60,22	60,03±51,8	0,76±2,80	0,54±3,40	0,22±1,02
	72h	1059±1,17	38,54±21,68	57,55±32,21	1,59±4,33	1,2±4,98	1,13±2,42
P-N 100	18h	1059,67±7,31	26,44±80,51	70,93±79,20	0,86±4,71	0,96±4,01	0,80±5,57
	24h	1077±1,33	30,62±7,64	67,01±39,30	1,13±5,26	0,80±2,44	0,43±2,56
	48h	1075,83±4,94	32,41±48,77	65,51±61,29	0,99±2,78	0,63±1,30	0,45±1,58
	72h	1051,83±1,09	31,18±15,6	65,80±11,81	1,22±4,23	1,19±4,42	0,60±1,4
P-N 300	18h	1106,17±5,51	44,76±86,86	54,66±50,65	0,24±0,67	0,16±0,40	0,16±0,65
	24h	1103±6,34	34,036±67,94	63,46±59,75	1,03±5,81	0,94±7,17	0,54±3,80
	48h	1127,17±1,83	32,4±15,61	65,92±24,55	0,75±5,28	0,65±4,56	0,25±2,08
	72h	1124,5±2,90	27,21±47,75	69,96±31,35	1,17±5,70	1,11±6,72	0,55±2,5
P-N 600	18h	1100,83±29,2	49,19±19,56	50,35±14,37	0,17±0,47	0,22±0,85	0,06±0,42
	24h	1087,5±34,36	44,43±24,79	53,67±34,72	0,64±3,41	0,63±2,78	0,61±2,71
	48h	1074,3±16,35	45,69±37,63	70,37±32,32	3,05±51,08	0,96±4,	0,63±4,09
	72h	1186±90,03	47,43±93,95	48,95±47,95	1,80±7,97	1,35±5,07	0,48±2,93

Le pourcentage des aberrations trouvé au niveau des cellules analysées dans les régions méristématiques des bulbes d'oignons traitées avec l'extrait à t 50, 100, 300 et 600µg/ml a été rapporté dans le Tableau (XI) et les types aberrations ont été illustrés dans la figure (37).

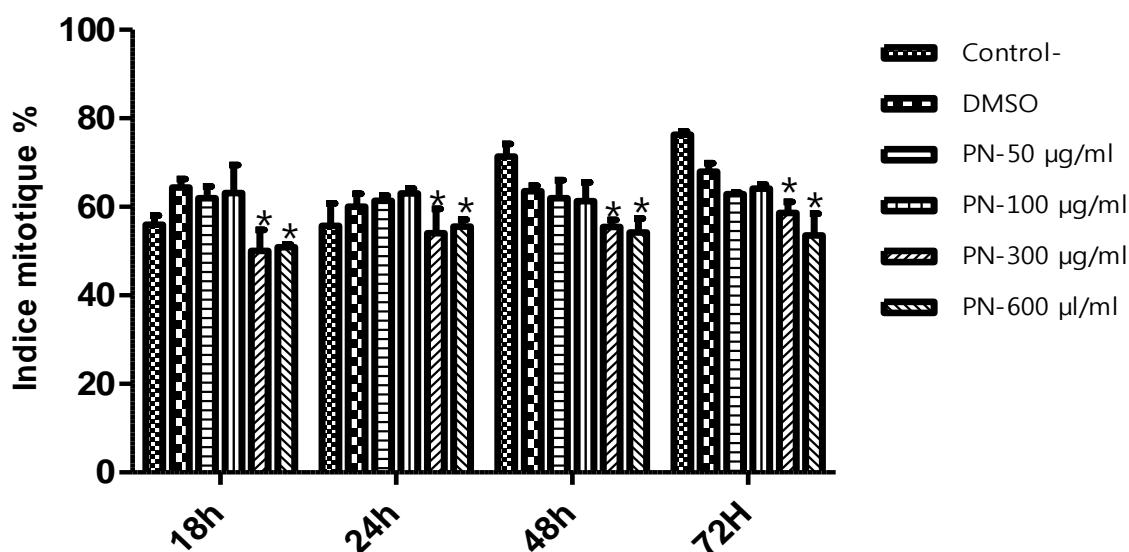
**Tableau XI :** Le pourcentage des aberrations chromosomiques observées dans le cycle cellulaire d'*Allium cepa* chez les groupes expérimentaux

type d'aberration groupe		c-mitose %	Cassure %	Multipolaire %	Chromosome isolé %	Pontage %
Extrait 50	18h	0,18 ± 0,96	-	-	-	0,06 ± 0,67
	23h	0,36 ± 2,28	0,02 ± 0,16	-	-	-
	48h	0,4 ± 3,32	-	-	-	-
	72h	0,8 ± 2,41	-	-	-	-
Extrait 100	18h	0,26 ± 0,98	-	-	-	-
	23h	0,7 ± 1,92	-	-	-	-
	48h	0,28 ± 1,59	-	-	-	-
	72h	0,33 ± 1,20	-	-	-	-
Extrait 300	18h	0,35 ± 1,77	-	-	-	-
	23h	0,32 ± 1,81	-	-	0,11 ± 0,83	-
	48h	0,30 ± 1,58	0,02 ± 0,17	-	-	0,14 ± 0,85
	72h	0,43 ± 1,01	-	-	0,03 ± 0,33	-
Extrait 600	18h	0,53 ± 1,97	0,04 ± 0,34	-	-	-
	23h	0,72 ± 2,52	-	-	0,01 ± 0,17	-
	48h	0,88 ± 2,06	0,02 ± 0,17	-	-	-
	72h	0,77 ± 2,76	0,01 ± 0,17	-	-	-
Extrait et azide à 100	18h	0,43 ± 1,04	-	-	-	-
	23h	0,41 ± 1,24	-	-	-	-
	48h	0,24 ± 0,69	-	-	-	-
	72h	0,31 ± 0,82	-	-	-	-



**Figure (37):** Les différents types d'aberrations observées au niveau des cellules méristématique lors du traitement des racines des bulbes de l'*A. cepa* avec l'extrait. a)1 : interphase, 2 : prophase,3 :anaphase,4 :métaphase. b) télaphase. c) c-mitose. d) 1 : métaphase. 2 : anaphase e) f) pont. g) chromosome isolé. h) cassure .i) c-mitose.

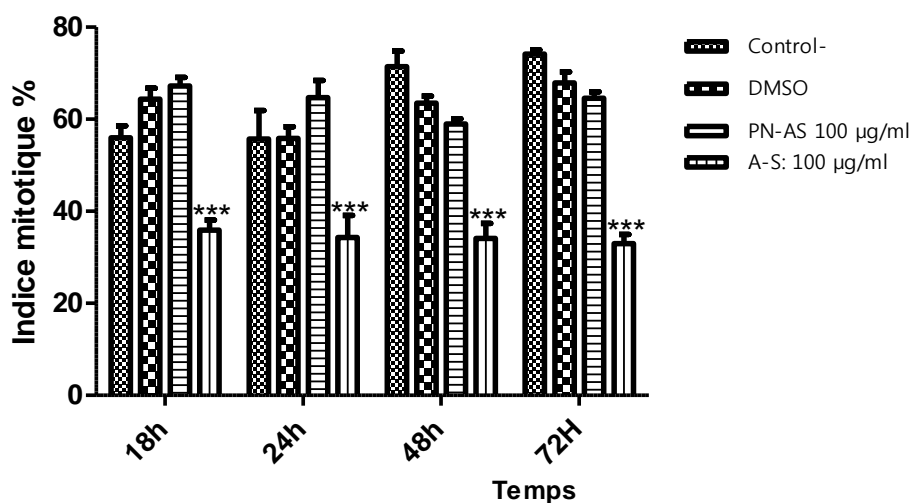
A l'exception de faibles pourcentages de c-mitose enregistrés au niveau des groupes traités par les extraits, de rares aberrations ont été trouvées au niveau des cellules méristématiques de ces groupes. Une faible réduction de l'incidence mitotique en présence de concentrations élevées de *P. nigra* (300 et 600µg/ml) a été enregistrée alors qu'aucune différence n'a été observée entre les groupes traités par l'extrait aux doses 50 et 100µg/ml et les groupes contrôles.



**Figure 38:** Histogramme représente l'effet de l'extrait sur l'indice mitotique. Toutes les valeurs sont exprimées comme moyenne±SEM of six bulbes. One-way ANOVA suivie par le test de comparaison multiple Dunett's a été utilisé pour l'analyse statistique. \*P < 0,05, \*\*P < 0,01, \*\*\*P < .0, 001 comparé au groupe control.

### III.2.3 Effet anti-mutagénique de l'extrait contre les mutations induites par l'azide de sodium sur le cycle cellulaire.

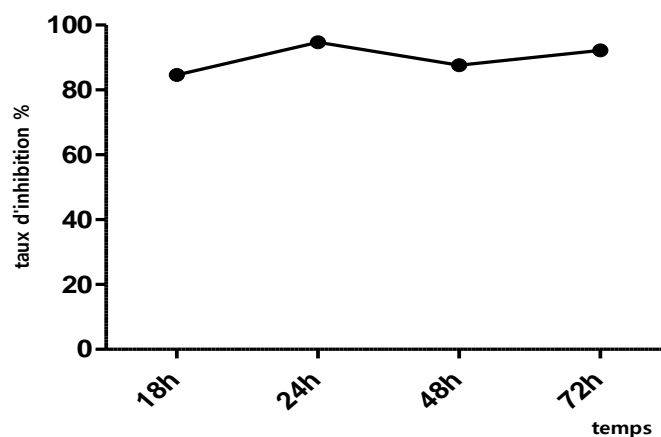
Dans le but d'évaluer l'effet protecteur de l'extrait contre les dommages induits par l'azide de sodium, les racines d'ognon ont été incubées dans un milieu contenant l'extrait à 100µg/ml et l'azide à la même concentration. Les résultats résumés dans la figure (39), révèlent clairement un effet anti-mutagénique de l'extrait contre les mutations induite par l'azide de sodium, car aucune différence n'a été enregistrée dans le taux de croissance entre les groupes control et celui co-traité avec l'extrait et l'azide de sodium.



**Figure 39:** effet anti-mutagénique de l'extrait contre les mutations induites par l'azide de sodium sur le cycle cellulaire. Toutes les valeurs sont exprimées comme moyenne  $\pm$  SEM of six bulbes. One-way ANOVA suivie par le test de comparaison multiple Dunett's a été utilisé pour l'analyse statistique. \*P < 0,05, \*\*P < 0,01, \*\*\*P < 0,001 comparé au groupe control. #P < 0,05, ##P < 0,01, ###P < 0,001 comparé au groupe traité avec le mutagène à 100µg/ml.

### III.2.3 Le pourcentage d'inhibition de l'extrait contre les dommages induits par l'azide de sodium

Le pourcentage d'inhibition de l'extrait contre les dommages induits par l'azide de sodium à 18, 24, 48 et 72h a été calculé et représenté dans la figure suivante.



**Figure 40:** Représente le pourcentage d'inhibition de l'extrait contre les mutations induite par l'azide de sodium.

Toutes les valeurs sont exprimées comme moyenne  $\pm$  SEM of six bulbes. One-way ANOVA suivie par le test de comparaison multiple Dunett's a été utilisé pour l'analyse statistique. \*P < 0,05, \*\*P < 0,01, \*\*\*P <.0, 001 comparé au groupe control.

L'extrait à 100 $\mu$ g/ml a efficacement inhibé l'effet mutagénique (>80%) de l'azide de sodium après 18h et pendant toutes les périodes d'incubation.

## VI Discussion

Les relations existantes entre les propriétés mutagènes et carcinogènes des substances chimiques ou d'origine naturelle ont entraîné la mise au point d'une série de tests à court terme destinés à fournir une appréciation préalable des produits cancérigènes sur la base de leurs propriétés mutagéniques. La toxicologie génétique étudie les effets des substances qui ciblent le matériel génétique d'un organisme par induction de diverses altérations d'ADN. Ces altérations ont des conséquences qui varient selon l'ampleur du dommage. L'utilisation des plantes est principalement attribuable au fait que ces tests sont relativement simples à réaliser, peu coûteux, biologiquement sensible, et rapide (Gustavo et *al.*, 2012). Par conséquent les tests de toxicité sur un modèle animal, prennent beaucoup de temps (Firbas et Amon, 2013). Par ailleurs, l'espèce *Allium cepa* présente de nombreux avantages : c'est une plante qui possède de grands chromosomes et en nombre réduit ( $2n = 16$ ) (Firbas et Amon, 2013), les cellules méristématiques des racines possèdent un système d'oxydation capable de déterminer les dommages chromosomiques ainsi que les perturbations du cycle cellulaire provoquées par les différents agents mutagènes (Michael, 2009).

En outre, le système de test *A. cepa* fournit des informations importantes pour évaluer les mécanismes d'action d'un agent et ses effets sur le matériel génétique (Leme, 2009). Les aberrations chromosomiques des racines d'*Allium cepa* ont été validées par IPCS (International Programme on Chemical Safety) et UNEP (the United Nations Environmental Programme).

Pour évaluer l'activité génotoxique et anti-génotoxique de l'extrait éthanolique des bourgeons de *P. nigra*, nous avons utilisé le test de l'*Allium cepa* et cela par l'estimation de la sensibilité des extrémités de ses racines en utilisant deux paramètres celui de la croissance des racines et celui de l'analyse cytologique. Nous avons testé différentes concentrations de l'extrait de bourgeons de *P. nigra* sur les cellules méristématiques pendant de différentes périodes de traitement (Bagatini, 2009).

Notre travail est basé d'une part sur une étude macroscopique permettant d'expliquer la cytotoxicité par l'inhibition de la croissance et la fragilité des racines en présence de l'agent mutagène tandis que la toxicité a été indiquée par le flétrissement. d'autre part une étude microscopique (nombre des cellules) a été réalisée pour confirmer que les effets macroscopiques (longueur des racines) sont accompagnés par une suppression de l'activité mitotique et l'apparition des aberrations et perturbations du cycle cellulaire après l'analyse des cellules des racines cultivées en présence de la substance à tester (Solange et *al.*, 2012).



Le test *A. cepa* vise à mettre en évidence la présence d'un nombre accru d'altérations chromosomiques, dans les noyaux des cellules racinaire suite à leur exposition aux extraits de plante. La génotoxicité de l'extrait de *P. nigra* a été étudiée chez *A. cepa* en culture hydroponique, cette activité a été comparée à celle d'un mutagène de référence qui est l'azide de sodium.

Le test a été validé par l'utilisation d'un agent mutagène qui est l'azide de sodium, son action a été confirmée par un examen cytologique des cellules des extrémités racinaires révélant des effets clastogéniques et aneugéniques du mutagène sur les méristèmes de racines de la plante, plusieurs types d'anomalies chromosomiques ont été observés dans ces cellules induisant l'inhibition du cycle cellulaire, l'interruption des métaphases, l'induction des anomalies chromosomiques numériques et structurelles avec des modifications, on cite, les c-mitose, des cassures et les échanges au sein de chromatides sœurs. De telles observations ont été rapportées par des études antérieures (Michael, 2009; Gracieli, 2010).

Nous avons trouvé une relation dose-effet de l'azide de sodium, ce dernier a causé un accroissement du taux de croissance des racines de l'*A. cepa* qui est dépendant de la concentration et du temps de traitement. La présente étude fournit des preuves que l'inhibition de croissance a été plus marquée à une concentration de 100 µg/ml de l'agent mutagène. Il y avait également une diminution marquée de la longueur des racines par rapport aux témoins (l'eau distillée et DMSO).

Plusieurs études ont rapporté la cytotoxicité de l'azide de sodium dans plusieurs systèmes d'études, les bactéries, les plantes supérieures et les cellules humaines, ce mutagène est un inhibiteur des protéines de la réplication de l'ADN (Sandhu et al., 1994 ; Range et Nielsen, 1997 ; Ahmes et al 2007 ; Alka et al., 2012 ; Ambreen et al., 2012 ; Sheikh et al., 2012). La mutagenèse induite par cet agent est due à la formation d'un gaz d'azide d'hydrogène toxique qui se forme quand il est dissout dans l'eau (Sheikh et al., 2012) ainsi qu'à l'accumulation de peroxyde. L'existence d'une enzyme de conversion de l'azide en azidolamine chez les mammifères élimine toute interaction avec l'ADN ce qui les rend non sensibles à sa toxicité (Ferrard, 1999; Ragunathan et Panncersel, 2007).

Le retard observé dans la mitose pouvait être due à l'inhibition de la synthèse de l'ADN en phase S, à un blocage en phase G<sub>1</sub> ou G<sub>2</sub> du cycle cellulaire (Yuzbasioglu et al., 2008).

En général, un agent mutagène provoque une perturbation du fuseau mitotique résultant un effet de c-mitose. Un faible effet de c-mitose produit des chromosomes retardataires qui ne sont pas attachés au fuseau.

La formation de c-mitose, retard des chromosomes et la multipolarité peut être due à la perturbation dans la formation du fuseau (Yuzbasioglu et *al.*, 2008; Ukaegbu et Odeigah, 2009), ce qui implique une activité génotoxique. Le chromosome isolé peut être due la liaison de l'azide ce qui conduit a son blocage et son isolement du reste du patrimoine (Knuk et *al.*, 2007). Ceci explique la capacité antiproliférative de l'azide (Gracieli, 2010).

*P. nigra*, est une plante médicinale très utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les pathologies associées à une inflammation. L'étude de toxicité de la plante est primordiale avant tout test *in vivo*. Basée sur la bibliographie, notre étude est la première permettant d'évaluer l'activité génotoxique et anti-génotoxique des extraits de bourgeons de *P. nigra*.

Nos résultats ont montré une réduction du taux de croissance des racines traitées des concentrations élevées de l'extrait testé, ce qui révèle une activité antiproliférative de l'extrait, l'effet antiprolifératif des extraits de plante en utilisant d'autres systèmes (Atmani et *al.*, 2011).

La co-incubation de l'azide de sodium avec l'extrait testé à 100µg/ml entraîne une réduction significative du taux de mutations. Cet effet pourrait être dû à la présence de principes actifs à activité anti-génotoxique dans cet extrait. Des résultats similaires ont été déjà rapportées par d'autres études (Ragunathan et Panneerselvam, 2007). La présence de l'acide caféique et des flavonoïdes aglycones a été rapportée par des travaux antérieurs sur la plante (Greenaway et Whatley, 1990; Greenaway et *al.*, 1991; Vardar-Ünlü et *al.*, 2008; Dudonné et *al.*, 2011). Ces composés sont connus pour leur activité anti-génotoxique et anti-proliférative (Birosová et Mikulášová, 2005; Brindzová et *al.*, 2010).

## **Conclusion**

Il est important de déterminer le potentiel génotoxique de plante avant de valider leur utilisation traditionnelle, comme une voie pour déterminer le risque de nuisance génétique chez les personnes qui l'utiliseront.

Dans ce fait nous avons utilisé le test *Allium cepa* pour évaluer le potentiel cytotoxique, génotoxique et antigénotoxique de l'extrait éthanolique des bourgeons de *Populus nigra*.

Nos résultats ont montré que l'extrait testé à différentes concentrations 50, 100, 300 et 600 µg/ml n'a révélé aucun effet génotoxique sur les cellules des racines de l'*Allium cepa*. Alors qu'il a réduit le taux de croissance des racines a des temps d'incubation plus grand. Il ressort de cette étude que l'extrait a une activité anti-proliférative et aucune activité génotoxique.

L'extrait de bourgeons de *P. nigra* est efficace dans la réduction de la génotoxicité de l'azide de sodium lors d'un co-traitement, ce qui est du à la présence de composés actifs présents dans l'extrait ont la capacité de réparer les dommages de l'ADN causés par l'azide de sodium ou à interférer avec l'action du mutagène.

Ces résultats sont prometteurs et doivent être compléter par des études ayant pour but de déterminer le mode d'action des composés actifs présents dans l'extrait.

Ça serait aussi intéressant d'utiliser d'autres modèles d'évaluation de l'activité génotoxique et anti-génotoxique notamment les test *in vivo*.

Références bibliographiques

A

Abraham, F. and Penfold, F. 2001. The Sussex Register of Black Poplar. Sussex Wildlife Trust, Woods Mill, Henfield, West Sussex BN5 9SD.

Ahmes, T.B., Shahma, M., Madi, A., (2007). Comparative analysis aberration induced by diethyl sulphate (DES) and Sodium Azide (SA) *In Vicia Faba. L* (Fabaceae). *Pakistan Journal of Biological Science*, 10(5), 783-787.

Alignan, M. (2006). Thèse de doctorat : Phoma du Tournesol : déterminisme de la tolérance de l'hôte à la maladie, Toulouse.

Alka, M.Y.K., Ansari, T.M.B., Choudhary, S., Rumana, A., (2012). Genotoxic effect of Ethylmethane Sulphonate and Sodium Azide in *Linum Usitatissimum L*. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 9(3), 1-9.

Ambreen , A.M, Ansari, A., Hisamuuddin, F., (2012). Cytological effect of Ethylmethane Sulphonate and Sodium Azide in *Linum Usitatissimum L*. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 2(1), 70-75.

Amrhein, N. et Zenz, M. H., (1977). Metabolism of phenolpropanoid compounds. *Physiology Végétal*. 15, 251 – 260.

Arbez, M. et Lacaze, J. F., (1998). Les ressources génétiques forestières en France, tome 2. Les feuillus, INRA Paris / BRG Paris, 408.

Areski, D., (2011). La Biodiversité en Algérie face aux impacts anthropiques et aux risques biotiques et abiotiques. *Mistrals international workshop*. La Valette, Malte.

Atmani, D., Ait-Mohamed, O., Battisti, V., Joliot, V., Fritsch, L., Pontis, J., Medjkane, S., Redeuilh, C., Lamouri, A., Fahy, C., Rholam, M., Ait-Si-Ali, S., (2011). Acetonic extract of *Buxus sempervirens* induces cell cycle arrest, apoptosis and autophagy in breast cancer cells, 6(9):e24537.

**B**

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

Bankova V. 2005. Recent trends and important developments in propolis research. *Evid Based Complement Alternat Med.*2(1): 29-32.

Barsoum, N., (2003). Regeneration - requirements and promotion measures. *In Populus nigra Network*, Report of the seventh (25–27 October 2001, Osijek, Croatia) and eighth (22–24 May 2003, Treppeln, Germany) meetings, IPGRI, 27 - 28.

Béliveau R., Gingras D. 2006. Les aliments contre le cancer. Édition du Trécarré, Outremont. Outremont. 213p.

Beloued, A. (1998). Plantes médicinales d'Algérie. OPU, Algérie.

Beloued, A., (2009). Plantes médicinales d'Algérie, office des publications universitaires, 5<sup>ème</sup> édition, 162.

Ben Slimane M. A., (2003). Effet des apports allochtones du platane (*platanus acerifolia*) et du peuplier noir (*Populus nigra*) sur les milieux aquatiques récepteurs. Thèse doctorat national sciences. Université sidi Mohamed ben abdallah .

Berki, T., Boldizsár, F., Pálinkás, L., Bartis, D., Németh, P., (2003) . Antigen and glucocorticoid hormone (GC) induce positive selection of DP thymocytes in a TcR transgenic mouse model. , 90(2-3):97-102

Berthod, A.; Billardello, B.; Geoffroy, S. (1999). Polyphenols in countercurrent chromatography. An example of large scale separation. *Analisis*, , 27, 750-757.

Beta, T., Nam, s., Dexter, J.E., et Sapirstein, H.D., (2005). Phenolic content and antioxidants. Activity of Pearled wheat and Roller-Milled. Fractions. *Cereal Chemistry*, 82 (4), 390-393.

Birosová, L., Mikulášová, M., (2005). Antimutagenic effect of phenolic acids. *Food and Chemical Technology*, 149(2), 489-491.

Birt D. F., Hendrich S., and Wang W. (2001). Dietary agents in cancer prevention: flavonoides and isoflavonoides. *Pharmacol. Ther.* 90, 157-177.

Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horváth G, Z Pluhar, Kilar F, Felinger A. (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry. *In Thymus species, Journal of Chromatography A*, 1217, 7972–7980.

Breu, W., (1996). *Allium cepa L.* (Onion) part 1: Chemistry and analyses. *Phytomedicine*, 3(3), 293-306.

Brindzová, L., Mosovská, S., Mikulášová, M., Valík, L., Mikusová, L., (2010). Genotoxic and antimutagenic activities of extracts from pseudocereals in the Salmonella mutagenicity assay, *Food Chemical Toxicology*, 48(6):1483-7.

Bruneton J., (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation, 3ème édition, Lavoisier, Paris, 199-388.

Butterfield D. 2002. Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid beta-peptide associated free radical oxidative stress. *Free Radical Biology of Medicine*, 32, 1050-1060.

## C

Cagelli, L et Lefèvre, F. 1995. The conservation of *Populus nigra L.* and gene flow with cultivated poplars in Europe. *Forest Genetics* 2, 135–144.

Caldefie-Chézet, F.; Fusillier, C; Jarde, T.; Laroye H.; Damez, M.; Vasson, M.P. (2006). Potential antiinflammatory effects of *Malaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocytes. *Phytotherap Research*, 20, 364-370.

Choi, H.J., Kim, J.-H., Lee, C.-H., Ahn, Y.J., Song, J.-H., Baek, S.-H., Kwon, D.-H. (2009) Antiviral activity of quercetin 7-rhamnoside against porcine epidemic diarrhea virus. 81: 77-81.

Chung, Y., Chien, C., Teng, K. et Chou, T., (2006). Antioxidant and mutagenic properties of *Zanthoxylum culanthoides* Sieber et Zucc, *Food chemistry*, 97, 418-425.

Cottrell, J. 2004. Conservation of Black Poplar (*Populus nigra L.*) *Forest Research, Forestry Commission*, 1460-3802

Cowan, M. M., (1999). Plant products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564-582.

## **D**

Dacosta, E., (2003). Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (éd), Paris, 317.

Da Silva, J.A., (2004). Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of Biotechnology*, 3 (12), 706-720.

Degremont, C. et Cachot, J., (2009). La génotoxicité qu'ell risqué pour les espèces aquatiques.

Delarque. C., (2006). Le peuplier noir : un patrimoine naturel à préserver. *biofutur*. 247, 24-27

Dubey, V. S., Bhalla, R., (2003). An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. *Journal Bioscience*, 28 (5), 637-646.

## **E**

Edris, A.E., (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review, *Phytother, Research*, 21, 308-323.

Escarpa, A. et Gonzalez, M. C., (1999). Fast Separation of (poly) Phenolic Compounds from Apples and Pears by High-Performance Liquid Chromatography with Diode-array Detection. *Journal of Chromatography*, 2 (830), 301-309.

Etienne, J., Clauser , E., (2001). biochimie génétique, biologie moléculaire. 7eme édition, MASSON : 271-272.

## **F**

Feneche, M. (2000). The *in vitro* micronucleus technique; *Mutation Research*, 455, 81-95.

Férard, J.F., Cotelle, S., Masfaraud, J.f., (1999). Assesment of genotoxicity of contaminated soil with the *Allium / Vicia-micronucleus* and the *Tradescantia-micronucleus* essays. *Mutation research*, 426 :167-171.

Feretti, D., Zerbini, I., Zani, C. Ceretti, E., Moretti, M., Monarca, S. (2007). *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. *Food Addition Contamination*, 24 (6): 561-572.

Firbas, P., and Amon, T., (2013). Allium Chromosome Aberration Test for Evaluation Effect of Cleaning Municipal Water with Constructed Wetland (CW) in Sveti Tomaž, Slovenia *Journal Bioremed Biodegradation*, 4: 189. doi:10.4172/2155-6199.1000189.

Fractianni .F., Di Luciana., Coppola. R and Nazzaro.F .(2006). Mutagenic and antimutagénic properties of aqueous and éthanolic extract from. Fresh and irradiated tuber aestivum black truffle ; a preliminary study. *food chemistry*, 102:471-474.

Frutos, P., Hervás, G., Giráldez, F. et Mantecón, A., (2004). Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2 (2), 191-202.

## **G**

Galvez J, Zarzuelo A, Crespo J, Lorente MD, Acete MA, Jimenez J. Antidiarrhoeic activity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of an active flavonoid constituent. *Planta Medecinal*, 1993 b, 59: 333-6.

Ghedira, K., (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.

Gracieli, D.N., Tamara, P., Haywood, D.L., Thais, S.D., Solane, B.T., (2010). Antiproliférative and genotoxic effects of *Mikania glomerata* (Asteraceae). *Biocellular*, 34(3), 95-101.

Greenaway. W, Whatley F.R. (1990). Resolution of complex mixtures of phenolics in poplar bud exudate by analysis of gas chromatography—mass spectrometry data Volume 519, Issue 1, Pages 145–158

Greenaway W., May J., Scaysbrook T. and Whatley F. R. S. (1991) Identification by gas chromatography mass spectrometry of 150 compounds in propolis. *Z. Naturforsch.* 46c, 111-121



**H**

Hadi, M., (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres. Etudes et applications thérapeutiques, thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur, Domaine Pharmacochimie, 155.

Hale, A. L., (2003). Screening Potato Genotypes for Antioxidant Activity. Identification of the Responsible Compounds and Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and Microsatellite Marker Analysis, office of Graduate Studies of Texas A and M University Genetics, 260.

Häne K et Dobbertin M, K.2006. Le peuplier noir, un géant aux pieds d'argile. l'Institut fédéral de recherches sur la forêt, la neige et le paysage : 7-8.

Harborne, J. B. et Herbert, B., (1995). Phytochemical Dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from Plants, Bristol: Taylor & Francis, 976.

Haslam, E., (1994). Natural polyphenols (vegetable tannins). Gallic Acid metabolism, *National Production*, 11: 41-66.

Hatanaka, A., Kajiwara, T. et Sekiya, J., (1987). Biosynthesis pathway for C6-aldehydes formation from linolenic acid in green leaves. *Chem Phys Lipids*, 44, 341-361.

Hennebelle, T., (2006). Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de *Lamiales* productrices *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota Pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées), Thèse de Doctorat en Chimie Organique et Macromoléculaire, Université des Sciences et Technologique de Lille I, école doctorat science de la matière du rayonnement et de l'environnement France.

Hess, M., (2002). Alkaloids, Nature's Curse or Blessing, 1<sup>ière</sup> édition, Wiley-VCH, New York, 1-297.

Hoorn, D. E. C. V., Nijveld, R. J., Leeuwen, P. A. M. V., Hofman, Z., M'Raberty, L., De Bont, D.B.A., Norren, K.V., (2002). Accurate prediction of *xanthine oxidase inhibition* based on the structure of Flavonoids, *European Journal of Pharmacology*, 451, 111-118.

**I**

Igor Passi, L. B., (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxylodes* Lam. (*Rutaceae*), Thèse Pharmacie, Bamako, 133.

**K**

Karawya, M.S., Ammar, N.M., Hifnawy, M.S., Al-ookbi, S.Y., Mohamed, D.A., El-Aansary, A.A., 2010. Phytochemical study and evaluation of the anti-inflammatory activity of some medicinal plants growing in Egypt. *Medicine Journal Islamic World Academic Science*, 18 (4), 139–150.

Khan, S., AL-Qurainy, F. et Anwar, F., (2009). Sodium azide : a chemical mutagen for enhancement of agronomic trait of crop plants, *Environ. We international Journal Society and Technology*, 4, 1-21.

Khan, S., Ajmal, L., Tarroumi, M. et Ashrafi, M., (2011). Detection of sodium azide induced mutagenicity in the regenerated Shoots of *Artemisia annual*, using internal transcribed spacer (ITS) sequences of nr DNA, *Pakistan. d. Botanic*, 43 (4), 2183-2186.

Knezevic, J.V., Vucovic, B., Stevia, T., Stanajevic, J., Nolic, B., Simic, D., (2005). Antimutagenic effect of essential oil of sage (*Salvia officinalis* L) and its fractions against UV. Induced mutation in bacterial and yeast cells. *Arc biology*, 57(3), 163-172.

Koka, S., (2008). The cytogenetic effects of Sheffer A., a liquid fertilizer and growth regulator in root tip cells of *Vicia faba* L C.B.U. *Journal of Science*, 41, 121-126.

Konuk, M., LIMAN, R., CİĞERCİ, I.H., (2007). Determination of genotoxic effect of boron on *Allium cepa* root meristematic cells, *Pakistan Journal Botanic*, 39(1): 73-79.

Koskinen, A., (1993). *Asymmetric Synthesis of Natural Products*, 1ère édition, Wiley, New York, 196-220.

Kostova, I., (2005). Synthetic and Natural Coumarins as Cytotoxic Agents, *Curr.Medicine. Chemistry.-Anti-Cancer Agents*, 5, 29-46.

Kostova, I., Momekov, G. et Stancheva, P., (2007). New Samarium (III), Gadolinium (III), and Dysprosium (III) Complexes of Coumarin-3-Carboxylic Acid as Antiproliferative Agents, *Metal-Based Drugs*, 10, 1-8.

Kris-Etherton, P. M.; Hecker, K. D.; Bonanome, A.; Coval, S. M.; Binkoski, A. E.; Hilpert, K. F.; Griel, A. E. and Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medcin*, 113, 71S-88S.

Kura' s, M., Nowakowska , J., Sliwi, F., Pilarski, R., Ilasz,R., Tykarska, T., Zobelc, A., Gulewicz, K., (2006). Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium Test* induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.)DC. *Journal of Ethnopharmacology*, 107, 211–221.

## **L**

Lah .B., Zinko, B., Tisler, T., Marinsekand Logar, R., (2005). Génotoxicity detection in drinkin water by test, Zimmermann test and comet assay. *Acta chim.slov* 52.341-348.

Lamendin, H., (2007). Plantes médicinales bucco-dentaires de Bretagne (Connaissances d'hier et d'aujourd'hui) *Ch. Dent. Fr.*, 1324, 68-72.

Lechat. Ph .2006 : pharmacologie clinique .Université Pierre et Marie Curie. p .349

Lefevre. F., (2001). Le peuplier noir : une ressource génétique à l'interface entre habitats naturels d'intérêts communautaires et sylviculture intensive, *in* Dossier de l'environnement de l'INRA, n°21, 125-132.

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

Li, K., Geng, Simonsen, J. et Karchesy, (2004). Novel wood adhesives from condensed tannins and polyethylenimine, *Internationa Journal of Adhesion and Adhesives*, 24, 327-333.

## **M**

Macheix, J., Fleuriet, A. et Billot, J., (1990). The main phenolics of fruit, *in* Fruit phenolics, CRC Press:Boca Raton,Fl, *Technology et Document Lavoisier-Paris*. 1-26.

Macheix, J. J., Fleuriet, A. et Christian, A., (2005). Les composés phénoliques des végétaux, exemple de métabolites secondaire d'importance économique, PPTUR Lausanne, 1<sup>ère</sup> édition, 380-398.

Marnotte, P., Carrara, A., Dominati, E. et Girardon, F., (2006). Plantes des rizières de Camargue, Parc naturel régional de Camargue centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, 228.

Maruyama N., Sekimoto N., Ishibashi H. 2005. Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *Journal inflamm*, 2, 1-11.

Michel, C., (2011). Biomarqueurs de génotoxicité chez *Dreissena polymorpha*, indicateurs de la pression chimique urbaine et variabilité naturelle des lésions de l'ADN, Thèse de Doctorat en Ecotoxicologie, Ecole Doctorale Géoscience et Ressources Naturelles, Université Pierre et Marie Curie Paris VI, 218.

Misirli, A., Kuden, A., Demir, G. et Gulcan, R.,(2001). Determination of phenolic compounds in some almond hybrids varying in resistance to *Pseudomonas amygdali*, *in* AK B.E., (ed.),11 GREMPA Seminar on pistachios and almonds, Zaragoza, CIHEAM-IAMZ, 71-86.

Mohammedi, Z., (2013). Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie, Thèse de Doctorat Substances naturelles, Activités Biologiques et Synthèses,1-79.

Mueller-Harvey, I., (2001). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2010 - 2037.

Muniz.M.N.(2006) . Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs :la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine. These pour obtenir le grade de docteur de l'universite Joseph Fourier Grenoble I :194 .

## **N**

Naczka, M., Shahidi, F., (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of*

*Chromatography A*, 1054, 95–111.

Nakanishi, K., (1999). *Comprehensive Natural Products Chemistry*, 1<sup>ière</sup> édition, (4), Pergamon, Oxford, 109-138.

Nesslay, F., Zennouce, N., Sopia, S.M., Talaaai, I., Nkili, E.N., and Marzin, D., (2007). *In vivo* comet assay on isolated kidney cells to distinguish genotoxic carcinogenic or cytotoxic compounds. *Mutation research*, 630: 28-41.

## O

Okamoto, K et Nishino, T. 1995. Mechanism of inhibition of xanthine oxidase with a new tight binding inhibitor. *Journal of Biological Chemistry*, 270 (14):7816-7821.

Ortuno A, Baidez A, Gomez P, Arcas MC, Porrás I, Garcia-Lidon A, Del Rio JA. (2006). *Citrus paradisi* and *Citrus sinensis* flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chemistry*, 98 (2): 351-8.

Oszmianski J, Wojdylo A, Lamer-Zarawska E, Swiader K. 2007. Antioxidant tannins from 108 Rosaceae plant roots. *Food Chemistry*, 100 (2): 579-83.

## P

Pauli, A. 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *Int. J. Aromather.* 11, 126-133.

Pietta PG. 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal National Production*, 63 (7), 1035-42.

Pilliere, F. et Falcy, M., (1991). *Exposition aux produits chimiques génotoxiques*, Institut National de Recherche et de sécurité, 30 Rue Olivier Noyer 75680 Paris Cedex 14 Service études et assistance médicale/NRS, Paris, 336.

Psofava, J., Lasovsky, J. et Vicar, J., (2003). Metal-Chelating Properties, Electrochemical Behavior, Scavenging and Cytoprotective Activities of Six Natural Phenolics. *Biomedical, Papers*, 147 (2), 147-153.

**Q**

Quezel, P., Santa, S., (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, ED : .N.R.S., 1170.

**R**

Raffin, A. L., (2009). Phénotypage de la réparation de l'ADN de liguées *Xeroderma pigmentosum* par un test *in vitro* multiparamétrique, Thèse Doctorale de l'Université Joseph Fourier- GrenobleI, Ecole Doctorale Chimie et Science du Vivant laboratoire lésions des Acides Nucléiques CEA Grenoble/ NAC/ SC/B/LAN, 281.

Ragunathan, L., Pannercsel, N., (2007). Antimutagenic potentiel of curcumin on chromosomal aberrations in *Allium cepa*. *Journal of Zhejiang University Science B*, 8(7), 470-475.

Rank, J., Nielsen, M.H., (1997). Anaphase-telophase root tip chromosome aberration assay on methyl-nitro urea, maleic hydrazide, sodium azide and ethylmethane sulphonate. *Mutat Research*, 390: 121-127.

Rivure, G., (2007). Flor morbihan Atlas de Bretagne, Laval E D Siloe, 654.

**S**

Sandhu, S.S., de Serres, F.J., Gopalan, H.N., Grant, W.F., Svendsgaard, D., Veleminsky, J., Becking, G.C., (1994). Environmental monitoring for genotoxicity with plant systems. Results and recommendations. *Mutation. Research*, 310(2):257-263.

Sanon, A., Garba, M., Auger, J., Huiganrt, J., (2002). Journal of Stored Products Research, Association Française de Normalisation, 1986, "Huiles essentielles", AFNOR, Paris. NF T 75-006, 38, 129.

Sell, C.S., (2006). The Chemistry of Fragrance, From Perfumer to Consumer, 2 edition, *The Royal Society of Chemistry*, Cambridge, 329.

Sheikh, S.A., Wani, M.R., Lone, M.A., Tak, M.A., Malla, N.A., (2012). Sodium Azide induced biological damage and variability for quantitative traits and protein content in wheat (*Triticum Aestivum* L). *Jornal of plant Genomics*, 2 (1), 34-38.

Siess MH, Le Bon AM, Lavier C., 2000. Mechanisms involved in the chemoprevention of flavonoids. *Biofactors*, 12 (1-4): 193-9.

Siluél. S, Fondio. L, Coulibaly.M.Y,Magein. H( 2003) ., onion-Varietal adaptation-Ivory Coast. Selection de varieties d'oignon (*Alium Cepa* L. ) adaptées au nord de la Cote d'Ivoire. *Tropicultura*, 21(3), 129-134.

Singh IP, Bharate SB, Bhutani KK (2005). Anti-HIV natural products. *Curr. Sci*, 89(2): 269-290.

Smallfield, B., (2001). Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes, *Crop and Food Research*, 45, 4.

Srivastava, R. C., Husain, M. M., Hasan, S. K. et Athar, M., (2000). Green tea polyphenols and tannic acid act as potent inhibitors of phorbol ester-induced nitric oxide generation in rat hepatocytes independent of their antioxidant properties, *Cancer Lett*, 153 (1-2),1-5.

Sui, Y., Zhao, 1. L., Wang, D. et Chen, Y. 1., (2007). *Tetrahedron Lett.*, 48, 3779.

Svoboda, K. P., Hampson, J. B., (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants. Antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities, Plant Biology Departement, SAC Auchincruive, Aye, Scotland, UK., KA6 5HW, 13, 367 – 372.

## **T**

Talib, W. H et Mahasneh, A. M. (2010) Antiproliferative Activity of Plant Extracts Used Against Cancer in Traditional Medicine. University of Jordan, Amman-11942. 78: 33–45.

Toufektsian M-C., de Lorgeril M., Nagy N., Salen P., Donati M.B., Giordano L., Mock H-P., Peterek S., Matros A., Petroni K., Pulu R., Rotilio D., Tonelli C., de Leiris J.,

Boucher, F., Martin C .; (2008). Chronic Dietary Intake of Plant-Derived Anthocyanins Protects the Rat Heart against Ischemia-Reperfusion Injury, *Journal of Nutrition*, 138, 747-752.

Tsimogiannins, D. et Oreopoulou, V., (2006). The contribution of flavonoid on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxyl substituted members, *Innovative Food Science and emerging Technologies*, 7, 140-146.

## U

Uedo, N., Tatsuta, M., Lishi, H.; Baba, M.; Sakai, N.; Yano, H.; Otani, T. (1999). Inhibition by Dlimonene of gastric carcinogenesis induced by A/-methy-/V'-nitro-A/-nitrosoguanimidine in wistar rats. *Cancer Lett*, 137, 131-136.

Ukaegbu M. C. and Odeigah , P.G.C., ( 2009). The Genotoxic Effect of Sewage Effluent on *Allium Cepa*. *Cell Biology and Genetics*. 1(6) 36-41.

Ulanowska, K., Traczyk, A., Konopa, G. et Wegrzym, G., (2006). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains, *Arch. Microbiology*, 184 (5), 271-8.

## V

Vardar-Ünlü, G., Silici, S., Ünlü, M., (2008). Composition and in vitro antimicrobial activity of *Populus* buds and poplar-type propolis. *World Journal Microbiolgy. Biotechnol*, 24, 1011–1017.

Verschave, L, Gilles, J., (1995). The single cell gel electrophoresis assay in the earthworm for the detection of genotoxic compounds in soils. *Bulletin. Environ. Contamination Toxicology*, 54: 112-119.

Vila, R., Mundina, M., Tomi, F.; FurSan, R.; Zacchino, S.; Casanova, J.; Canigreal, S. (2002). Composition and antifungal activity of the essential oil of *Solidago chilensis*, *Planta medicinal*, 68, 164-167.



Vogel, W. E., Nivard, M. J. M. (1993). Performance of 181 chemicals in drosophila assay predominantly monitoring interchromosomal metotic recombination. *Mutagenesis*, 57-81.

## W

White, J., (1993). Research information note 239 'Black poplar: the most endangered native timber tree in Britain.

## Y

Yuzbasioglu, D., Unal, F., Sancak, C., (2008). Genotoxic effects of herbicide illoxan (Dictofop-Methyl) on *Allium cepa* L, *Turky Journal Biology*, 33: 283-290.

## Z

Zenk, M. H., (1971). Metabolism of pre-aromatic and aromatic compounds in plants In *Pharmacognosy and Phytochemistry*, Wagner H & Horhamaer L. Springer, Berlin Heidelberg., New York , 314-346.

Zenk, M. H., Gross, G. G., (1972). The enzymatic reduction of cinnamic acids. *Recart. Adr. Phytochemistry*, 4, 87-104.

## *Références numériques*

Debbache-Benaida, N., Atmani-Kilani, D., Schini-Keirth, V.B., Djebbli, N., and Atmani. D. (2013). Pharmacological potential of extract as antioxidant, anti-inflammatory, cardiovascular and hepatoprotective agent, 3(9),697-704, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Debbache-Benaida%20N%5Bauth%5D>.

Dudonné, S., Poupard, P., Coutière, P., Woillez, M., Richard, T., Mérillon, J,M et Vitrac, X. (2011). Phenolic composition and antioxydant properties of poplar bud (*Populus nigra*) extract: individual antioxidant contribution of phenolics and transcriptional effect on skin aging, *Agricultur Food Chemistry*, 59 (9), 4527-36. .

Gustavo, A. Bich., María, C. Vedoya., Martha, G. Medvedeff., (2012). Antifungal Formulation Based on Saturated Sucrose Solution: Evaluation of its potential genotoxic activity using the *Allium cepa* test, *Review science technology*, [recyt@fceqyn.unam.edu.ar](mailto:recyt@fceqyn.unam.edu.ar)

Michael, C., Ukaegbu and Peter, G.C. Odeigah., (2009). The Genotoxic Effect of Sewage Effluent on *Allium Cepa* Department of Cell Biology and Genetics, University of Lagos, Akoka, Lagos, Nigeria [mikey2k71@yahoo.com](mailto:mikey2k71@yahoo.com) 1(6):36-41. (ISSN: 1553-9873).

Rohnert, U., Schneider, W., Elstner, E. F., (1998). Superoxide-dependent and -independent nitrite formation from hydroxylamine: inhibition by plant extracts, 53 (3-4), 241-9, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9687163>.

Solange Bosio Tedesco and Haywood Dail Laughinghouse IV., (2012). Bioindicator of Genotoxicity: The *Alliumcepa* Test, Environmental Contamination, Dr. Jatin Srivastava (Ed.), ISBN: 978-953-51-0120-8, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/environmental-contamination/bioindicator-of-genotoxicity-the-allium-cepa-test//HY>

Warnant, P ., Mertens, P., Marche, C., (2004). Screening of poplar biomass for bio-active compounds: a simple method to assess antioxidant activity, *Bioresour Technology*. May, 93(1), 43-8, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14987719>.



## RESUME

Les plantes supérieures sont d'excellents modèles génétiques pour détecter les mutagènes et sont fréquemment utilisés dans plusieurs tests. Parmi ces espèces *Allium cepa* 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 cytotoxique, génotoxique et anti-génotoxique de l'extrait ethanologique de *P. nigra* utilisant le test *Allium cepa*.

Les bulbes d'oignon ont été exposés à différentes concentrations 50, 100, 300 et 600 µg/ml de l'extrait et des prélèvements ont été réalisés à 18, 24, 48 et 72h pour des analyses macroscopique et microscopique. Les résultats ont révélé une concentration dépendante et statistiquement différentes ( $P < 0,05$ ) de l'inhibition de la croissance des racines par l'extrait comparé au control. L'extrait a montré des blocages de la mitose sur la division cellulaire et induit une faible réduction de l'indice mitotique in *Allium cepa*. Aucune génotoxicité n'a été enregistrée aux concentrations testées, de plus, un effet antigénotoxic significatif a été observé à une dose de 100 µg/ml de l'extrait, ce qui suggère que l'extrait de *P. nigra* a un potentiel de protéger l'ADN contre l'action de l'azide de sodium (100 µg/ml).

Les mots clés

*Allium cepa*, aberrations chromosomiques, *Populus nigra*, indice mitotique

## ABSTRACT

Higher plants are recognized as excellent genetic models to detect mutagens and are frequently used in monitoring studies. Among the plant species, *Allium cepa* has been used to evaluate DNA damages, such as chromosome aberrations and disturbances in the mitotic cycle. The present study aims to evaluate the cytotoxic, genotoxic, mutagenic and anti-genotoxic effects of ethanolic extract of buds of *P. nigra* using the *Allium cepa* assay.

Onion bulbs were exposed to several concentrations 100, 200, 400 and 600 µg/ml of the extract for a period of 18, 24, 36 and 48h for macroscopic and microscopic analyses. The results revealed a concentration-dependent and statistically significant ( $P < 0.05$ ) inhibition of root growth by the extract when compared with the control. No genotoxic effect of tested extract was recorded. The extract was observed to have mitodepressive effects on cell division and induced weak mitotic spindle disturbance in *Allium cepa*. A significant anti-genotoxic effect was observed with at dose 100 µg/ml of extract, which suggests that *P. nigra* extract has the potential to protect DNA from the action of sodium azide.

Keywords

*Allium cepa*; Chromosomal aberration; *Populus nigra*, Mitotic index

# **Matériels & méthodes**

# Résultats

**Conclusion**

**Références  
bibliographiques  
s**



# Discussion

N

# Introduction

# Partie expérimentale

**Partie**  
**théorique**