



جامعة بجاية
Tasdawit n'Bgayet
Université de Béjaïa

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mira de Bejaia

Memoir de Master

Filière : Biologie

Option : Génétique Appliquée

Thème

**Activité génotoxique et antigénotoxique des
extraits d'une plante medicinale locale
*Pistacia lentiscus L.***

Présenté par :

MEBARKI Kahina

Membre de jury :

Presidente : M^f TACHREFIOUT M.

Promotrice : M^{me} BERBOUCHA RAHMANI M.

Co-promotrice : M^{me} DEBBACHE N.

Examinatrice : M^{me} BOUDAUD OUAHMED H.

Examinatrice : M^{me} CHERAFT N.

Grade et lieu

MAA UAMBejaia

MAA UAM Bejaia

MAA UAM Bejaia

MAA UAM Bejaia

MAB UAM Bejaia

Année Universitaire 2013-2014

Dédicaces

À mes parents:

*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.*

À mes chers frères Yursen et Yunes

À mes sœurs Dyhia et Giga

À toute la promotion génétique

À tous mes Amis (es).

À tous les miens.

Remerciement

J'exprime d'abord mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à M^{me} RAHMANI BERBOUCHA Meriem ; enseignante à l'université A/mira de Bejaia d'avoir accepté de m'encadrer et pour ses conseils et ses précieuses orientations qu'elle n'a cessé de m'apporter tout au long de ce travail.

Mes vifs remerciements s'adressent à M^{me} DEBBACHE pour ses encouragements, son aide et sa disponibilité.

J'adresse mes sincères remerciements à M^e TACHREFIOUT M pour l'honneur qu'elle me fait de présider les jurys de ce mémoire

Je tiens à remercier M^{lle} CHERAFT Nassima et M^{me} OUAHMED Hania d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Un remerciement particulier à mon cousin Nabil, ma sœur Dyhia et mes amies Nouria et Lamia pour leur aide qu'ils n'hésitèrent jamais à me proposer dans les moments difficiles.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à tous mes amis du laboratoire pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.

kahina

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....	01
-------------------	----

Partie I : Synthèse bibliographique

I-1 Description botanique de <i>Pistacia Lentiscus</i>	02
I-2 Taxonomie de <i>Pistacia Lentiscus</i>	03
I-3 Produits et dérivés à base de <i>P. lentiscus</i>	03
I-4 Activités pharmacologiques et effets thérapeutiques de <i>Pistacia lentiscus</i>	04
I-5 Etude chimique de l'espèce de <i>Pistacia lentiscus</i>	04
I-6 Activités antérieure de <i>Pistacia lentiscus</i>	06

Partie II : la génotoxicité

II- Effets génotoxiques	08
II-1 Cycle cellulaire.....	08
II-2 Lésions de la molécule d'ADN.....	09
II-3 Autres cibles cellulaires.....	10
II-4 Différents agents mutagènes.....	11
II-5 Réparation de l'ADN.....	11
II-6 Test de génotoxicité.....	12

Partie III : partie pratique

Matériels et méthodes

III-1 Matériel

III-1-1 Appareillage.....	14
III-1-2 Produits chimiques.....	14
III-1-3 Matériel végétal.....	15

III-2 Méthode

III-2-1 Echantillonnage, Séchage, broyage et tamisage	16
III-2-2 Préparation des extraits.....	16

III-2-3 Evaluation de l'activité génotoxique des extraits éthanolique des feuilles, fruits et écorce des racines de <i>Pistacia lentiscus</i>	16
---	----

III-3 Analyse statistique	19
--	----

Résultats et discussion

Résultats

IV-1 Evaluation de l'activité génotoxique.....	20
IV-1-1 Morphologie des racines et taux de croissance.....	20
IV-1-2 Structure des noyaux en interphase, des chromosomes et indice mitotique.....	22
IV-1-2-1 Structure des noyaux en interphase, des chromosomes et indice mitotique dans les groupes des contrôles négatifs (Eau et DMSO).....	22
IV-1-2-2 Structure des noyaux en interphase, des chromosomes et indice mitotique dans les groupes traités avec l'azide de sodium à différentes concentrations.....	25
IV-1-2-3 Structure des noyaux en interphase, des chromosomes et indice mitotique dans les groupes traités avec les extraits éthanoliques de <i>Pistacia lentiscus</i>	28
IV-2 Evaluation de l'activité anti-génotoxique des extraits des feuilles, graines et écorces des racines de <i>P.lentiscus</i>	31
IV-3 Discussion	34
Conclusion	38

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure 1 : Photographie de branche et feuilles (A), de fleurs (B), fruit (C) et mastic (D)...	02
Figure 2 : Différentes étapes du cycle cellulaire.....	09
Figure 3 : Différents dommages de l'ADN	10
Figure 4 : Différentes étapes du cycle cellulaire déclinés en tests mesurant les lésions primaires, les mutations géniques.....	13
Figure 5 : Photographie des bulbes de <i>Allium cepa</i>	15
Figure 6 : Photographies des feuilles, des fruits et des écorces des racines de <i>Pistacia lentiscus</i> (Originale).....	15
Figure 7 : Bulbes de <i>A. cepa</i> dans le milieu minéral.....	17
Figure 8 : Photographies de racines de bulbes de <i>A. cepa</i> colorées par les extraits des graines (A), feuilles (B) écorces des racines (C) de <i>P. lentiscus</i>	21
Figure 9 : photographie de différentes phases du cycle cellulaire (G_1 , S, G_2), prophase (E), métaphase (F), début de l'anaphase (G), fin de l'anaphase (H), télophase (I).....	23
Figure 10 : Photographie de prophase.....	24
Figure 11 : Résultat de l'indice mitotique dans les groupes des contrôles négatifs (Eau distillée et DMSO).....	25
Figure 12 : Résultat de l'indice mitotique des bulbes d' <i>A. cepa</i> traitées par l'azide de sodium.....	25
Figure 13 : photographie d'aberration chromosomique de type cassure (C), c-mitose (A), pont (B) et micronoyau (E).....	26
Figure 14 : Résultat de l'indice mitotique, après traitement avec l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i>	28

Figure 15 : Résultat de l'indice mitotique après traitement avec l'extrait éthanolique des graines de <i>Pistacia lentiscus</i>	29
Figure 16 : Résultats de l'indice mitotique après traitement avec l'extrait éthanolique des écorces des racines de <i>Pistacia lentiscus</i>	30
Figure 17 : résultat de l'indice mitotique de l'activité antigénotoxique des extraits de <i>P.pistacia</i>	32

Liste des tableaux

Tableau I : Taux de croissance des racines des bulbes de <i>A. cepa</i> , après différents traitements.....	21
Tableau II : Taux d'aberration des contrôles négatifs (eau et DMSO) et de l'azide de sodium.....	27
Tableau III : Taux d'aberrations après traitement avec l'extrait de feuilles de <i>Pistacialentiscus</i>	29
Tableau IV : Taux d'aberrations après traitement avec l'extrait de graines de <i>Pistacialentiscus</i>	30
Tableau V : Taux d'aberration après traitement avec l'extrait des écorces des racines de <i>Pistacialentiscus</i>	31
Tableau VI : Taux de croissance des raines dans le traitement antigénotoxique.....	31
Tableau VII : Taux d'aberration après traitement avec les extrait des différentes parties de <i>Pistacialentiscus</i> , en combinaison avec l'Azide de sodium.....	33

Introduction

Depuis les temps les plus anciens, les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine,...etc.) ont eu recours aux plantes médicinales pour leurs propriétés thérapeutique, cosmétique, chimique, diététique, pharmaceutique, agro-alimentaire et industrielle. Néanmoins, l'utilisation des plantes médicinales dans l'alimentation quotidienne revient au premier plan, comme médecine préventive pour la santé et le bien être.

Actuellement, cette médication par les plantes, connaît un regain d'intérêt notable, et c'est grâce aux études scientifiques, basées sur les méthodes analytiques et les expérimentations nouvelles, que le monde médical découvre de plus en plus, le bien fondé des prescriptions empiriques des plantes médicinales (**Bellakhdar, 1997**).

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes, sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs datant du XIX^{ème} siècle, en améliorant la connaissance des structures, a fait progressivement séparer et parfois opposer une phytothérapie traditionnelle, souvent empirique, avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et végétaux, dont la pharmacologie était mieux connue. Cette thérapeutique officielle accepte parfois, avec une certaine méfiance l'emploi de végétaux ou d'extraits complexes de végétaux, dont l'action est confirmée par l'usage sans être attribuée de façon certaine à une molécule (**Bahorun, 1997**).

La plante de *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) est l'une des espèces qui fait partie de la médecine traditionnelle locale, utilisée comme anti-ulcer, diurétique et dans les traitements des infections de la gorge. Elle est douée de plusieurs activités biologiques, notamment antioxydante (**Barotto et al., 2003 ; Atmani et al., 2009**), antifongique (**Abbas et al., 2013**), inhibitrice de l'activité de la xanthine oxydoréductase (**Berboucha et al., 2010**) et anti-ulcère (**Dellai et al., 2013**). Cependant, même si ces évidences scientifiques existent, son utilisation doit être accompagnée d'une étude de la cytotoxicité de certains de ses composants, afin de confirmer son utilisation, notamment à long terme.

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est l'évaluation de l'effet génotoxique des extraits des différentes parties de *Pistacia lentiscus*, utilisée en médecine traditionnelle locale, en utilisant le modèle des cellules méristématiques de *Allium cepa*, et prédire l'origine de l'effet génotoxique ou antigénotoxique.

I-1 Description botanique de *Pistacia Lentiscus*

Pistacia lentiscus L. est une plante aromatique et médicinale très demandée par les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Elle est connue aussi comme arbre à mastic ou lentisque, de la famille des Anacardiacees (**Rodríguez-Pérez et al., 2013**).

Cette espèce est dioïque thermophile de un à trois mètres, à odeur résineuse forte (**Yahya, 1992 ; Iserin, 2001 ; More et White, 2005**). Elle se développe d'une manière sauvage dans des régions arides (**Castola et al., 1999**) et largement distribuée dans le bassin méditerranéen (**Chryssavgi et al., 2007**).

Il se distingue des autres pistachiers par son feuillage persistant, les feuilles de type composé sont paripennées, se terminant par une paire de folioles, tandis que celles des autres pistachiers se terminent par une seule foliole (Figure 1.A) (**Benhammou et al., 2007**). Son écorce est lisse (**Yahya, 1992 ; Iserin, 2001 ; More et White, 2005**), rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps. Les branches tortueuses et pressées, forment une masse serrée (**More et White, 2005**) et les feuilles sont persistantes et ont un nombre pair de folioles (entre 6 et 12) (**Rousset, 2012**), d'un vert sombre, elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte (Figure 1.A) (**More et White, 2005**), d'une taille de 1.5-3cm (**Jordano, 1989**), et leurs durée de vie est de 2 ans (**Ain Lhout, 2004**).



Figure 1: Photographie de branche et feuilles (A), de fleurs (B), fruit (C) et mastic (D) (**BELFADEL, 2009**).

Les fleurs sont unisexuées d'environ 3 mm de large, se présentent sous forme de grappe, et très aromatiques, forment des racèmes de petite taille, à l'aisselle des feuilles (Figure 1.B). Les fleurs femelles sont vert jaunâtre et les fleurs males sont rouge foncé (**More et White, 2005**).

Les fleurs mâles ont 5 petits sépales, dont émergent 5 étamines rougeâtres reposant sur un disque nectarifère. Les femelles, à 3 ou 4 sépales à un ovaire avec un style court à 3 stigmates. Floraison de Mars à Mai (**Yahya, 1992 ; Iserin ; 2001, More et White, 2005**)

Par ailleurs, le fruit est une baie globuleuse apiculé, de 2 à 3 mm, monosperme, remplie par nucléole de la même forme, d'abord rouge, il devient brunâtre à sa maturité (Figure 1.C) (**Yahya, 1992 ; Iserin, 2001 ; More et White, 2005**).

L'incision du tronc de cet arbuste fait écouler un suc résineux (Figure 1D) nommé mastic qui, une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie (**Yahya, 1992 ; Iserin, 2001**).

I-2 Taxonomie de *Pistacia Lentiscus*

La classification admise actuellement est rapportée par **Judd *et al.*, (2002), Lieutaghi, (2004) et Yaaqobi *et al.*, (2009)**.

Règne: *Plantae*

Classe: *Magnoliopsida*

Ordre: *Sapindales*

Famille: *Anacardiaceae*

Genre: *Pistacia*

Espèce : *Pistacia lentiscus L.*

I-3 Produits et dérivés à base de *P. lentiscus*

D'après Seigue (1985), les principaux produits dérivés du *P. lentiscus* et leurs utilisations sont :

- **Bois** : pour sa robustesse et la finesse de sa texture, le bois de cette espèce est très apprécié en ébénisterie.
- **Résine** : les branches et le tronc exsude naturellement ou par incision une résine jaune claire fortement aromatique, qui durcit au contact de l'air, appelée mastic ou gomme mastic, d'où son nom commun d'arbre à mastic. Généralement la production est d'environ 4 à 5 kilos par arbuste.
- **Essence des feuilles et rameaux** : l'huile essentielle extraite, à partir de ces parties est utilisée, en aromathérapie et phytothérapie pour ses propriétés décongestionnantes, prescrite aussi pour traiter les problèmes veineux, dont les hémorroïdes.

➤ **Huile de lentisque** : du fruit comestible est extraite une huile qui, autrefois était couramment utilisée pour l'alimentation, l'éclairage et elle entrait aussi dans la confection de savons.

I-4 Activités pharmacologiques et effets thérapeutiques de *Pistacia lentiscus*

Pistacia lentiscus est connue pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité (**Palevitch et Yaniv, 2000**). L'huile de fruit du lentisque est utilisée pour son intérêt médicinal, conseillée pour les diabétiques, pour le traitement des douleurs d'estomac et en cas de circoncision (**Hmimza, 2004**). En plus, elle est utilisée comme un remède d'application locale externe sous forme d'onguent pour soigner les brûlures (**Bensegueni et al., 2007**), ou les douleurs dorsales (**Bellakhdar, 1997**).

La décoction (macération) des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et d'estomac, ainsi que dans le traitement de l'ulcère (**Ouelmouhoub, 2005**).

La partie aérienne de *Pistacia lentiscus* L. est utilisée pour le traitement de l'hypertension artérielle, grâce à ses propriétés diurétiques (**Wyllie et al., 1990 ; Sanz et al., 1992 ; Scherrer et al., 2005**).

Les feuilles sont également utilisées dans le traitement d'autres maladies, telles que l'eczéma, infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, jaunisse, maux de tête, ulcères, maux d'estomac, asthme et problèmes respiratoires (**Ali-Shtayeh et al., 1998 ; Ali-Shtayeh et al., 2000 ; Lev et Amar, 2000 ; Lev et Amar, 2002 ; Said et al., 2002**).

Le mastic est souvent cité comme un remède efficace contre certaines maladies, telles que l'asthme, diarrhée, infections bactériennes, ulcères gastro-duodénaux et comme un agent antiseptique du système respiratoire (**Al-Said et al., 1986 ; Huwez et Al-Habbal, 1986 ; Yasilada et al., 1991 ; Baytop, 1999 ; Marone et al., 2001 ; Tuzlaci et al., 2001**).

I-5 Etude chimique de l'espèce de *Pistacia lentiscus*

➤ **Mastic**

Des analyses chimiques réalisées sur le mastic de *Pistacia lentiscus* (**Berg et al., 1998**) ont montré la présence d'un polymère le cis-1,4-poly-β-myrcène. Le mastic contient également une petite fraction (environ 2%) d'huile essentielle (**Koller et al., 1997 ; Papageorgiou et al., 1997**). Un certain nombre de constituants de triterpénoïdes de gomme mastic ont été identifiés. Les triterpénoïdes se présentent dans le mastic sous forme de deux types de squelettes:

- Squelette de tétracyclique euphane et dammarane ;
- Squelette de pentacyclique soleanane et lupane (**Papageorgiou et al., 1997 ; Koller et al., 1997; Marnier et al., 1991**).

➤ **Fruits**

Une étude phytochimique réalisée sur les baies de *Pistacia lentiscus* a permis d'identifier trois anthocyanes appelés cyanidine 3-O-glucoside, Delphinidine 3-O-glucoside et cyanidine 3-O-arabinoside, qui ont été déterminées par HPLC–DAD–MS (**Luigia et al., 2007**).

Une autre étude chimique effectuée sur la fraction d'acétate d'éthyle (AcOEt) de fruits de *Pistacia lentiscus* a permis d'isoler deux polyphénols, acide gallique et 1.2.3.4.6-Pentagalloylglucose (**Abdelwahed et al., 2006**).

➤ **Feuilles**

La séparation des polyphénols a été effectuée sur les feuilles de *Pistacia lentiscus*, trois grandes classes de métabolites secondaires ont été détectées :

- Acide gallique et dérivés galloyls
- Anthocyanes, à savoir delphinidine 3-O-glucoside et cyanidin 3-O glucoside.
- Glycosides de flavonol, comme les glucosides de quercetine et de myricetine (**Romani et al., 2002**).

➤ **Huiles essentielles**

Le profil de l'huile essentielle est caractérisé par la présence de terpinen-4-ol (23.32%), beta-caryophyllene (22.62%) et alpha-terpineol (7.22%), comme composés majoritaires (**Bachrouh et al., 2010**).

Par ailleurs, une analyse chromatographique indique que les composants majeurs des deux parties de *Pistacia lentiscus* (branches et feuilles) sont : a-pinene (3.8 / 1.6%), myrcene (34.1 / 25.3%), limonene (9.6 / 15.7%), terpinene-4-ol (6.3 / 9.2%), b-gurjunene (6.5 / 2.6%) et D-germacrene (9.1 / 2.3%). Ces composants représentent environ 65.4% et 56.7% des compositions chimiques de ces deux parties (**Hafsé et al., 2013**).

Tandis, que l'étude de **Barazani et ses collaborateurs (2003)** sur l'extrait T-butyl méthyl éther d'huile de feuilles de *Pistacia lentiscus* a montré la présence de 12 mono terpènes,

7 sesquiterpènes et un seul mono terpène linéaire. Les α -pinène, Sabinene, limonène, caryophyllene et Germacrene D.

D'une autre part, **Dob et ses collaborateurs (2006)** ont effectué une étude sur les huiles essentielles des parties aériennes de *Pistacia lentiscus* des régions d'Alger, Tizi-Ouzou et d'Oran. Les résultats indiquent la présence de longifolene comme un composé majoritaire dans les huiles d'Alger (12,8%) et de Tizi- Ouzou (16,4%), tandis que α -pinène (19,0%) constitue le principal constituant de l'huile d'Oran. Les autres composés étaient présents en quantités importantes dans les différentes huiles, à savoir γ -cadinene (6,2%), trans- β -terpinéol (5,0%) et α -acomeol (4,6%) (Région d'Alger); trans- β -terpinéol (15,6%), terpinén-4-ol (7,0%) et γ -muurolene (5,7%) (Tziouzou); trans- β -terpinéol (13,1%), sabinene (12,6%) et β -pinene (6,5%) (Oran).

I-6 Activités antérieures de *Pistacia lentiscus*

Les métabolites secondaires sont reconnus par leurs activités biologiques nombreuses. Les baies de *P.lentiscus* sont riches en anthocyanes, qui confèrent la capacité antioxydante et induire l'autophagie, ce mécanisme améliore la chimioprévention (**Rodríguez-Pérez, 2013**).

Les feuilles sont pourvue d'action anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, expectorante et stimulante (**Magiatis et al., 1999 ; Paraschos et al., 2007 ; Janakat et Al-Meir, 2002 ; Kordali et al., 2003**).

D'une autre part, une étude a démontré que le mastic de Chios induit l'apoptose (**Balan et al., 2005**) et dispose d'action anti-prolifératrice, contre les cellules cancéreuses du côlon (**Balan et al., 2007**). Par ailleurs, une autre étude a confirmé une efficacité contre la bactérie *Helicobacter pylori* (**Seigue, 1985**). De plus, la résine obtenue de *Pistacia lentiscus* est considérée comme un agent anticancéreux, en particulier contre les tumeurs du sein, du foie, de l'estomac, de la rate, et de l'utérus (**Assimopoulou et Papageorgiou, 2005**). Elle est connue aussi par son effet analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, antithérogénique, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique (**Rahman et Soad, 1975 ; Magiatis et al., 1999 ; Dedoussis et al., 2004 ; Prichard, 2004**)

Par ailleurs, des études faites sur les effets de l'anti-prolifération des huiles de *Pistacia lentiscus* et leurs extraits phénoliques sur les cellules BHK21 immortelles (Kidneybady Hamster Cells), ont révélé une inhibition de la prolifération de cellules BHK21.

De plus, ils ont testé l'activité cytotoxique des deux substances sur les cellules BHK21, en utilisant le bleu de typan, *in vitro*. Les cellules ont été traitées par les huiles et les extraits phénoliques de *Pistacia lentiscus*, avec des différentes concentrations de 1 à 10% v/v dans différents intervalles de temps, 24, 48 et 72h. Il a été observé que l'effet maximum des extraits phénoliques est marqué à 48h, d'où une activité cytotoxique importante (**Mezni et al. ,2014**).

II- Effets génotoxiques

Avant d'aborder la génotoxicité et les tests qui permettent son évaluation, il est utile de passer par un rappel du cycle cellulaire.

II-1 Cycle cellulaire

La division cellulaire est le processus fondamental par lequel une cellule mère donne deux cellules filles identiques entre elles et à la cellule, dont elles dérivent. Le « cycle cellulaire » est essentiellement constitué de deux temps, l'interphase, au cours de laquelle les chromosomes sont répliqués, et la mitose, au cours de laquelle les chromosomes se répartissent entre les deux cellules filles (Meijer, 2003).

II-1-1 Interphase :

Sur un cycle cellulaire complet de 20 heures, la mitose peut durer environ 1 heure et l'interphase 19 heures (Stansfield, 2003). Elle se caractérise par 3 phases importantes :

➤ **Phase G1** : première phase de croissance (Growth). Elles subissent une étape de croissance pour avoir leurs tailles finales. Elles vont aussi, lors de cette étape travailler et effectuer les différentes fonctions pour lesquelles elles sont programmées (Klug, 2006).

➤ **Phase S** : la phase de réplication (Synthesis). Pendant cette phase, le matériel génétique (l'ADN) est doublé par la réplication. Cette phase permet à la cellule de se diviser à nouveau. Après cette étape, la cellule contient deux fois la même information génétique (Kruh, 1982).

➤ **Phase G2** : deuxième phase de croissance. C'est la phase qui précède l'entrée en mitose. La cellule prend du volume au maximum pour se préparer à une nouvelle division (Klug, 2006).

II-1-2 Mitose

➤ **Prophase** : c'est une phase qui peut durer de 15 à 60 minutes. Elle se caractérise par la condensation de la chromatine en chromosomes, la disparition de l'enveloppe nucléaire et l'apparition de fibres entre les 2 pôles cellulaires (Petit et Julien, 2007).

➤ **Métaphase** : ne dure que quelques minutes. Elle se caractérise par le regroupement des centromères au niveau de la plaque équatoriale. Les centromères se fixent aux microtubules polaires de la cellule. Pendant cette phase, il est possible d'observer tous les chromosomes distinctement, en vue polaire (Kruh, 1982).

➤ **Anaphase** : phase très courte (2 à 3 minutes). Chaque centromère se divise en deux. Les fibres apportent alors chaque groupe de chromatides vers les pôles cellulaires. Cette séparation

➤ permet d'obtenir deux lots de chromosomes à un chromatide complètement identiques (Nabors, 2009).

➤ **Télophase**: dure de 15 à 60 minutes. Elle se caractérise par la formation d'un noyau, la transformation des chromosomes en chromatine, la disparition des fibres, la division du

cytoplasme et la formation d'une nouvelle membrane plasmique, c'est la cytokinèse (Figure 2) (Elord et Stansfield, 2003).

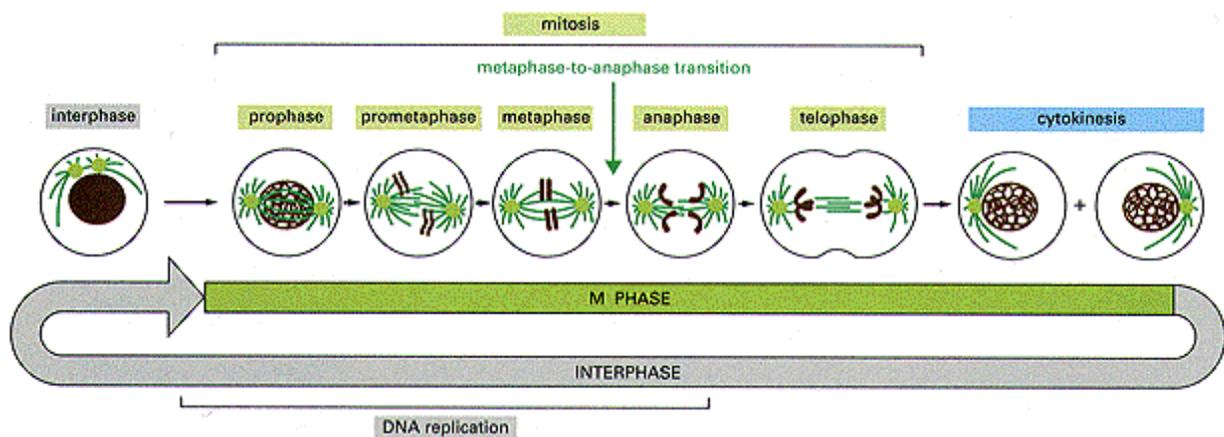


Figure 2 : Différentes étapes du cycle cellulaire (Albert et al, 2002).

II-2 Lésions de la molécule d'ADN :

L'ADN est soumis à de multiples attaques inévitables, de la part du milieu intracellulaire et de l'environnement, qui provoquent la formation de plusieurs milliers de lésions, par jour et par cellule. L'ADN est chimiquement modifié : on observe tantôt des ruptures de liaisons covalentes qui, lorsqu'elles se situent sur le désoxyribose, conduisent à des cassures de brins, tantôt l'établissement de liaisons covalentes conduisant à des adduits, à des alkylations ou oxydation de bases (exemple, la 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8-OHdG), qui est un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN) (Hayakawa et al. 1991 ; Furukawa et al., 2005) et à des pontages ADN-ADN intra- ou inter-brin (Gebicki et Gebicki 1999 ; Luxford et al., 2002). Lorsque la réparation est absente ou incomplète (réparation fautive), et selon la nature des lésions, la cellule va mourir ou bien muter. On distingue les :

➤ Mutations concernant une à quelques paires de bases, qualifiées de mutations géniques ;

- Mutations chromosomiques de structure concernant le plus souvent des dizaines de kilobases.
- Mutations de type modifications chromosomiques du nombre. On parle également de mutations génomiques.

Des mutations dans des gènes, qui gouvernent le cycle cellulaire, vont conférer aux cellules la propriété de proliférer de manière incontrôlée et finalement aboutir au cancer (**Mateuca et al., 2006**). La figure 3 ci-dessous illustre ces différents dommages

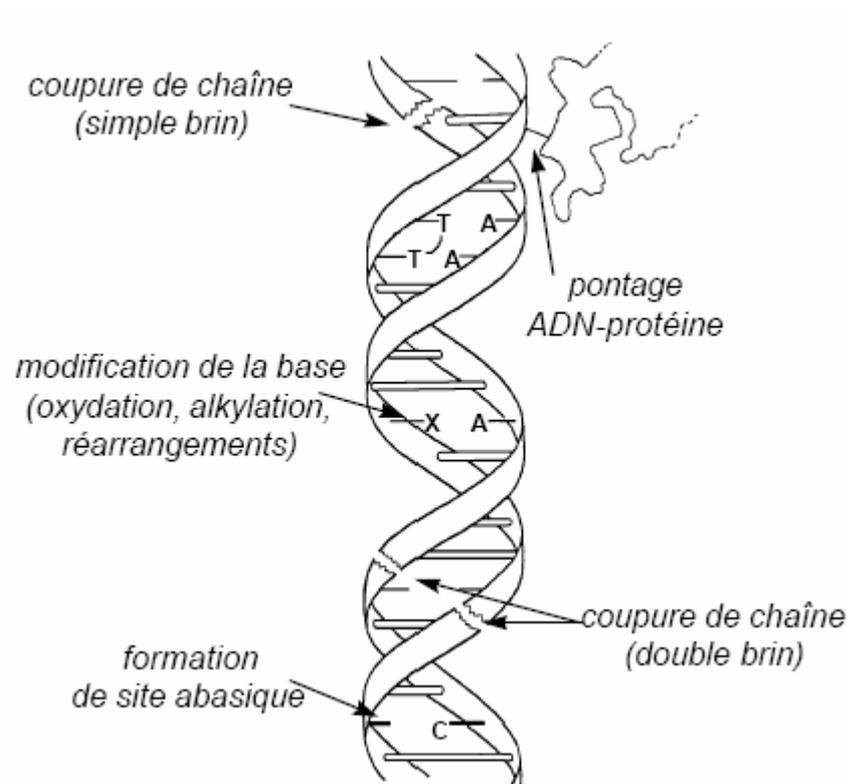


Figure 3 : Différents dommages de l'ADN (**Devoret, 1979**).

II.3 Autres cibles cellulaires

Les agents génotoxiques peuvent exercer leur action délétère, par interaction directe avec l'ADN, mais également de manière très indirecte (**Mateuca et al., 2006**). Les agents génotoxiques indirects induisent principalement des mutations chromosomiques de nombre en agissant, non pas avec l'ADN, mais avec les structures cellulaires impliquées dans la disjonction, à savoir la ségrégation et la migration des chromatides, au cours de la division cellulaire, telles que, notamment le fuseau mitotique des cellules en division.

Les agents génotoxiques induisant des défauts dans la séparation des chromosomes au cours de la mitose, et de ce fait une aneuploïdie (type de mutation qui implique un changement dans le nombre de chromosomes par rapport au complément diploïde naturel, c'est-à-dire un ou plusieurs chromosomes en plus ou en moins) sont des agents aneugènes (**Aardema et al., 1998**).

II-4 Différents agents mutagènes

Les agents génotoxiques peuvent être de nature physique, chimique ou biologique.

➤ Les mutagènes physiques : sont principalement les radiations ionisantes hautement énergétiques, telles que les rayons X ou gamma et les radiations non ionisantes comme la lumière ultraviolette.

➤ Les mutagènes biologiques: sont notamment des virus tels que les rétrovirus (**Akcha et al., 2003**).

➤ Les mutagènes chimiques : résultant de l'établissement d'une liaison covalente entre une molécule chimique électrophile et un site nucléophile d'une base de l'ADN. Parmi les sites nucléophiles, les azotes aromatiques, les groupements hydroxyles et carbonyles des bases constitutives de l'ADN sont les cibles privilégiées des génotoxiques (**Goff et al., 2006**).

Dans cette étude on a utilisé l'Azide de sodium (Na_3N), qui est un composé ionique de formule soluble dans l'eau, ainsi certaines solutions contenant un minimum d'Azide d'hydrogène. L'Azide de sodium agit par interaction avec l'ADN, après pénétration dans le noyau. Il affecte les différentes parties de la plante et son développement par la perturbation de ses activités métaboliques (**Khan et al., 2009**).

L'Azide de sodium provoque la cytotoxicité chez différents animaux et les systèmes de tests de plantes, en inhibant la synthèse des protéines et la synthèse de l'ADN répliatif, à basses doses. Il est mutagène chez des bactéries, les plantes et les cellules humaines (**Qari, 2008**).

Une étude réalisée sur l'Azide de sodium en utilisant l'orge, a démontré l'observation de substitution de 21 bases, qui correspond à 0,17% des 12,704 nucléotides séquencées, dont 14% était des transversions (la transition des bases AT en G-C était 3 fois plus fréquente que la transition des bases G-C en AT), mais aucun signe de délétions (**Olsen et al., 1993**).

II-5 Réparation de l'ADN

L'élimination des lésions oxydatives de l'ADN est un processus important pour limiter leurs effets mutagènes et cytotoxiques (**Cooke et al., 2003**). Pour cela, de nombreux systèmes de

réparation sont utilisés par la cellule (**Croteau et Bohr, 1997**). Les bases oxydées ou modifiées sont éliminées essentiellement par deux mécanismes :

- Réparation par excision des bases (base excision repair, BER) ;
- Réparation par excision de nucléotides (nucleotide excision repair, NER) (**Eckardt-Schupp et Klaus, 1999**).

Les cassures des deux brins de l'ADN sont immédiatement réparées par l'un des deux mécanismes (réparation simple et recombinaison homologue). Si cette réparation ne peut avoir lieu, l'apoptose de la cellule est activée, conduisant à détruire la cellule déficiente. Le premier mécanisme est une réparation dite simple ou non homologue, où les extrémités libres sont simplement remises en contact et liées, le second est la réparation par recombinaison homologue (**Eckardt-Schupp et Klaus, 1999**).

II-6 Test de génotoxicité

Pour évaluer le potentiel génotoxique d'une molécule ou d'une famille de molécules, des tests *in vitro* et *in vivo*, ont été développés, tels que le test de Ames (**Maron et Ames, 1983**) ou le SOS Chromotest (**Quillard et al., 1982**) (Figure 4).

➤ Test de Ames (**Maron et Ames, 1983**) : il consiste à évaluer si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations chez différentes souches de *Salmonella typhimurium*. Ces souches sont porteuses d'une mutation préalablement induite dans un des gènes de la chaîne de biosynthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine, elles sont dites auxotrophes, vis-à-vis de l'histidine (His⁻). Le test évalue alors la capacité de la substance toxique à induire une nouvelle mutation dans cette même région de l'ADN, qui se traduira par la réversion de l'auxotrophie de la souche bactérienne, vis-à-vis de l'histidine.

➤ SOS Chromotest : est un test, *in vitro*, qui permet d'évaluer l'activité génotoxique d'une substance pure ou d'un échantillon biologique ou environnemental. Ce test est effectué sur une souche bactérienne, *Escherichia coli* PQ37 (**Quillard et al., 1982**).

➤ Test Micronoyaux : la formation de micronoyaux résulte de fragments de chromosomes qui ne sont pas incorporés dans le noyau fille, au moment de la mitose (**Schmid, 1975**). L'absence de centromère due à des cassures (agent clastogène) ou à une désorganisation du noyau (agent aneuploïdogène) entraîne la formation de ces fragments de chromosomes. La formation de micronoyaux a aussi une origine virale. Le test des micronoyaux permet de détecter

les environnements induisant des anomalies chromosomiques de nombre et/ou de structure (Mac Gregor *et al.*, 1980).

➤ Test de comètes: quantifie les cassures simples et double brin de l'ADN.

➤ Test de *Allium cepa* : *A. cepa* permet l'évaluation de la toxicité et de génotoxicité (fiskesjo, 1997). Les racines de *Allium cepa* ont surtout été utilisées pour évaluer le nombre d'aberrations chromosomique. Ce critère s'est avéré très sensible pour détecter le potentiel génotoxique de produits chimique (fiskesjo, 1997), métaux (liu *et al.*, 2010 ; Borboa, 1996) et produits phytosanitaires (Butt *et Vahidy*, 1994). La revue de garant (1982) montre que sur 148 produits chimiques étudiés avec ce test, 76% ont donné une réponse positive.

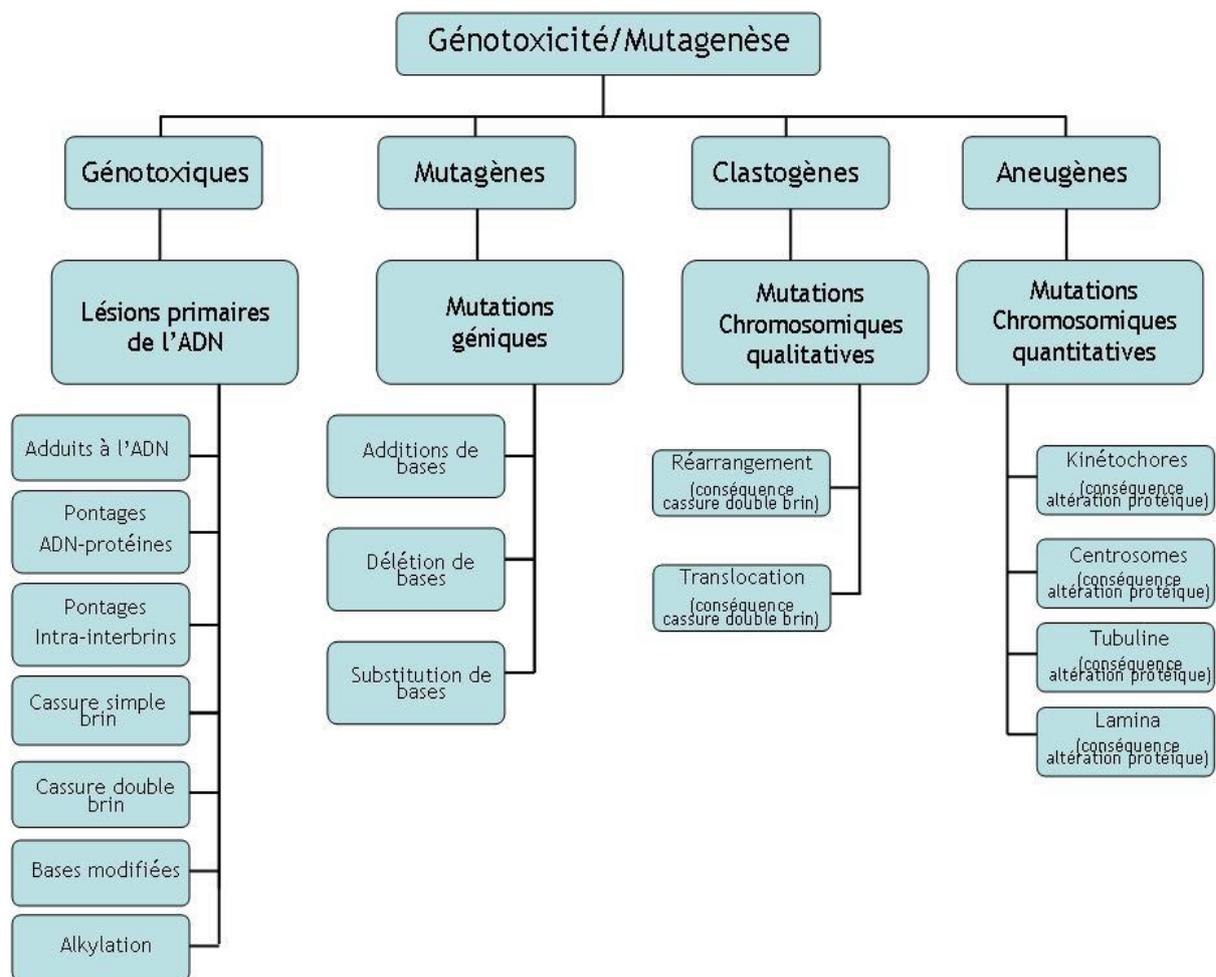


Figure 4 : Différentes étapes du cycle cellulaire déclinés en tests mesurant les lésions primaires, les mutations géniques (mutagènes), chromosomiques (clastogènes) et génomiques (aneugènes) (Orsière *et al.*, 2007).

L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'effet génotoxique et antigénotoxique des extraits éthanoliques des feuilles, des graines et de l'écorce des racines de *P.lentiscus*, en utilisant le test de *Allium cepa*.

III-1 Matériel

III-1.1 Appareillage :

- ❖ Microscope optique (ZEISS) ;
- ❖ Centrifugeuse (SIGMA) ;
- ❖ Bain marie (MEMMET) ;
- ❖ Etuve (ECOCELL) ;
- ❖ Balance électronique (RADWAG) ;
- ❖ Plaque agitatrice (VELP) ;
- ❖ Sonicateur (RAYPA) ;
- ❖ Vortex (VELP) ;
- ❖ Lames, lamelles, tubes à essai, micropipettes, béchers, Eppendorf, barreau magnétique, spatule, pince (TWEEZER), seringue, Erlenmeyer...etc.

III-1-2 Produits chimiques :

La provenance et la nature des produits utilisés dans cette étude sont les suivants :

- ❖ CaSO_4 (Sulfate de Calcium) SIGMA;
- ❖ MgSO_4 (Sulfate de Magnésium anhydre) SCHARLAU ;
- ❖ NaHCO_3 (Bicarbonate de sodium) de PROLABO ;
- ❖ KCl (Chlorure de potassium) ;
- ❖ Carmin acétique (SIGMA);
- ❖ $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ (Acide acétique) ;
- ❖ HCl (Chlorure d'hydrogène);
- ❖ DMSO (Diméthylsulfoxyde) PROLABO;
- ❖ NaN_3 (Azide de sodium) BIOCHEM Chemopharma;
- ❖ $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ (Ethanol) PROLABO.

III-1-3 Matériel végétal

a-Les oignons (*Allium Cepa*) : les bulbes d'oignons sont obtenus du marché d'Aokas (W.Bejaia). Les bulbes de 25 - 35 mm de diamètre et un poids de 25 – 40 g, ont été choisies pour les tests ultérieurs (Figure 5).



Figure 5 : Photographie des bulbes de *Allium cepa* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/oignon>).

b-*Pistacia lentiscus* : la plante médicinale utilisée dans cette étude est *Pistacia lentiscus*. Trois parties de cette plante, notamment les feuilles, fruits et écorces des racines (Figure 6), ont été récoltées dans un endroit loin de tout impact de pollution de la région d'Azru n'Bechar, de la localité d'Amizour (W.Bejaia).



Figure 6 : Photographies des feuilles, des fruits et des écorces des racines de *Pistacia lentiscus* (Originale).

III-2 Méthode

III-2-1 Echantillonnage, Séchage, broyage et tamisage

Les feuilles ont été récoltées durant le mois de juin et juillet, 2013, tandis que les baies matures et les écorces des racines, la cueillette a été réalisée durant la période de Novembre de la même année. Les différents organes du matériel végétal (feuilles, baies et écorce des racines) ont été séchés à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à température ambiante. Une fois séchées, les trois parties de la plante ont été réduites en poudre, à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisées via un tamiseur de 63 μm , pour la partie des feuilles et l'écorce des racines. D'autre part, une pâte huileuse a été obtenue directement après broyage des fruits.

III-2-2 Préparation des extraits

Une extraction solide-liquide a été réalisée, en macérant une quantité de poudre des trois parties de plante *Pistacia lentiscus* (feuilles, fruits et écorce des racines) dans de l'éthanol (P:V, 1 :4) pendant 24h. Après décantation, le surnageant est filtré et mis à évaporation totale. Les extraits éthanoliques sont ainsi obtenus, et conservés à -20°C , jusqu'à utilisation ultérieure dans les tests des activités génotoxique et anti-génotoxique.

III-2-3 Evaluation de l'activité génotoxique des extraits éthanolique des feuilles, fruits et écorce des racines de *Pistacia lentiscus*

A-Traitement des bulbes d'oignons

Les couches sèches extérieures et les racines des bulbes d'oignons ont été retirées, puis elles ont été placées dans des flacons contenant un milieu de culture [CaSO_4 (60 mg /l), MgSO_4 (60mg/l), NaHCO_3 (96mg/l) et KCl (4mg/l)], dont les extrémités basales ont été immergées (Figure 7). Ensuite les flacons ont été placés dans une étuve à $25\pm 3^{\circ}\text{C}$. Le milieu est renouvelé chaque 24 heures.



Figure 7 : Bulbes de *A. cepa* dans le milieu minéral (Originale).

Après deux jours, une sélection des bulbes a été faite, en se basant sur la taille des nouvelles racines (1-2 cm de longueur). Ces dernières seront utilisées ultérieurement dans les tests d'évaluation des effets génotoxique et anti-génotoxique.

Huits bulbes ont été préparées pour chaque groupe :

- ❖ Un groupe témoin négatif, eau distillée : les bulbes ont été cultivées dans un milieu minéral contenant de l'eau distillée (2 : 498 ; V/V).
- ❖ Un groupe témoin DMSO : les bulbes ont été cultivées dans du DMSO et milieu minéral (2 : 498 ; V/V).
- ❖ Un groupe de contrôle positif : les bulbes ont été cultivées dans un milieu de culture contenant l'Azide de sodium (NaN_3), à différentes concentrations (25, 50 et 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$).
- ❖ Des groupes tests pour évaluer l'effet génotoxique : les bulbes ont été traitées avec les extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* (feuilles, graines et écorce des racines). Quatre concentrations ont été utilisées, à savoir 50, 100, 300 et 1200 $\mu\text{g}/\text{ml}$.
- ❖ Des groupes à effet compétitif avec le mutagène (NaN_3) (évaluer l'effet anti-génotoxique) : les extraits de *Pistacia lentiscus* (feuilles, graines et écorce des racines) ont été rajouté au milieu de culture, en présence de l'azide de sodium, à 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Les bulbes de chaque traitement ont été placées dans l'étuve ($25\pm 2^\circ\text{C}$), pendant 72h. Quatre prélèvements des racines ont été réalisés à 18, 24, 48 et 72h.

B-Paramètres macroscopiques

Afin de signaler la présence ou l'absence d'un effet cytotoxique et/ou génotoxique ou anti-génotoxique, plusieurs paramètres ont été suivis tels que : la croissance, la couleur, la forme, la rigidité et la taille des racines de *A.cepa*, avant et après chaque traitement.

Après chaque intervalle de temps, la taille des racines a été mesurée, à l'aide d'un pied à coulisse, en notant les paramètres de la forme, le nombre, la couleur, la turgescence et la rigidité des racines (**Firbas et Amon, 2013**).

La mesure des racines a été prise, avant et après traitement avec le milieu de culture, contenant l'eau distillée, DMSO, azide de sodium (25, 50 et 100µg/ml), extrait éthanoliques de feuilles, fruits et écorces des racines (50, 100, 300 et 1200µg/ml), durant quatre intervalles de temps, notamment 18, 24, 48 et 72h.

C-Traitement des racines de *A.cepa* et préparation des observations microscopiques

A chaque intervalle de temps (18, 24, 48 et 72h), les racines ont été coupées et traitées comme suit :

- Fixation dans une solution d'éthanol et d'acide acétique (3:1 V/V), pendant 24h ;
- Rinçage des racines avec de l'eau distillée trois fois ;
- L'hydrolyse avec une solution de HCl (1N) à 60°C, pendant 10 mn ;
- Rinçage ;
- Coloration avec la solution de CARMIN (1% dans 45% d'une solution d'acide acétique) dans la même condition. Après l'hydrolyse et la coloration pendant 10 mn, dans un bain marie, à 60°C, les bouts méristématiques des racines ont été coupés sous la loupe, puis la technique d'écrasement a été appliquée sur ces derniers.

D-Analyse microscopique

L'observation s'effectue avec un microscope optique, au grossissement X40, afin de distinguer les différentes phases du cycle cellulaire, les aberrations chromosomiques et micronoyaux.

En moyenne un nombre de 1000 cellules a été analysé pour chaque bulbe, à partir de chaque lame. Ensuite, on procède à la détermination de l'indice mitotique, ainsi que les aberrations chromosomiques.

E- Index mitotique (IM) : c'est le nombre total des cellules en division sur environ milles cellules dénombrées, calculé par la formule suivante :

$$\text{IM}\% = (\text{P}+\text{M}+\text{A}+\text{T}/\text{I}+\text{P}+\text{M}+\text{A}+\text{T}) * 100$$

P : Prophase ; M : Metaphase ; A : Anaphase ; T : Telophase ; I : Interphase

III-3 Analyse statistique

Après avoir compté 1000 cellules par bulbes, des analyses statistiques ont été effectuées, en utilisant le logiciel Graph Pad Prism 5.0. L'analyse de la variance one way Anova, via le test de Tukey, a été appliquée. Les différences statistiques ont été considérées significatives, à $P \leq 0,05$.

IV Résultats

IV-1- Evaluation de l'activité génotoxique

IV-1-1-Morphologie des racines et taux de croissance

Les résultats des paramètres macroscopiques obtenus démontrent la présence de variations macroscopiques entre les groupes traités par les extraits éthanoliques des feuilles, graines et écorces des racines de *Pistacia lentiscus*, à différentes concentrations (50, 100, 300 et 1200 µg/ml), les contrôles négatifs, notamment eau distillée et DMSO, ainsi que l'azide de sodium (25, 50 et 100 µg/ml) (Figure 8 et Tableau I).

Le traitement des bulbes pendant 72h avec eau ou DMSO a montré une bonne croissance des racines d'une couleur blanche, rigides et volumineuses. Tandis que le traitement des racines de *Allium cepa* avec l'agent mutagène, azide de sodium, a provoqué un changement de forme des racines accompagné d'une perte de rigidité. Il a été remarqué que les racines ont perdu leur forme initiale et leur structure normale, elles ont été fragiles, mais aucun changement de couleur n'a été remarqué. Cependant une réduction significative des taux de croissance des racines a été observée, en utilisant l'azide de sodium. L'effet s'est révélé très hautement significatif ($p < 0,001$), par rapport au contrôle d'eau distillée par les trois concentrations testés, à savoir 25, 50 et 100 µg/ml, à 72h.

Par ailleurs, l'extrait éthanolique des feuilles de *P.lentiscus* s'est avéré non cytotoxique. Ceci est illustré par le taux de croissance des racines qui n'est pas différent significativement différent du contrôle DMSO et ce aux concentrations de 50, 100, 300 et 1200 µg/ml, à 18h. A partir de 24h, la toxicité est apparue avec la concentration de 1200 µg/ml ($p < 0,01$) et à 72h, les deux concentrations 300 et 1200 µg/ml exhibent une toxicité en réduisant la croissance des racines ($p < 0,001$).

La toxicité s'est manifestée en fonction de temps, en réduisant significativement la croissance des racines à partir de 24h, en traitant les bulbes avec la concentration la plus élevée, notamment 300 et 1200 µg/ml. Comme il a été remarqué que les racines ont prient la couleur de l'extrait (figure 8.B).

D'autre part, un effet cytotoxique a été observé au niveau des bulbes traitées l'extrait éthanolique des graines, où l'effet était très significatif dès 18h, qui augmente avec l'augmentation de la concentration et en fonction du temps. Ainsi que les racines ont pris une couleur légère de l'extrait (figure 8.A).

Le traitement des bulbes de *A. cepa* avec l'extrait de l'écorce des racines provoque un effet cytotoxique, en réduisant significativement le taux de croissance des racines à la concentration de 1200 et ce de $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,01$ et $p < 0,001$, respectivement, en fonction du temps, allant de 18h à 72 h, avec une légère coloration des racines (figure 8.C).



Figure 8 : Photographies de racines de bulbes de *A. cepa* colorées par les extraits des graines (A), feuilles (B) écorces des racines (C) de *P. lentiscus*.

Tableau I : Taux de croissance des racines des bulbes de *A. cepa*, après différents traitements.

Concentration	ΔL (mm)			
	$\Delta 18h$	$\Delta 24h$	$\Delta 48h$	$\Delta 72h$
Traitements				
Eau distillée	0,53±0,11	0,8±0,016	0,66±0,13	1,15±0,17
DMSO	0,7±0,19	0,82±0,13	0,93±0,16	1,25±0,14
Azide de sodium				
25 µg/ml	0,34±0,12	0,15±0,07**	0,25±0,07	0,32±0,09***
50 µg/ml	0,40±0,13	0,31±0,07	0,39±0,12	0,22±0,16***
100 µg/ml	0,5±0,07	0,3±0,09	0,5±0,08	0,5±0,08**
Feuilles				
50 µg/ml	0,37±0,08	0,62±0,09	0,77±0,15	0,95±0,11
100 µg/ml	0,45±0,07	0,65±0,08	0,7±0,08	1,65±0,17
300 µg/ml	0,3±0,04	0,42±0,04	0,39±0,07	0,44±0,07***
1200 µg/ml	0,2±0,06	0,1±0,06**	0,3±0,03*	0,35±0,02***
Fruits				
50 µg/ml	0,16±0,02*	0,40±0,04	0,46±0,05*	0,45±0,05***
100 µg/ml	0,2±0,02**	0,31±0,06**	0,35±0,06***	0,44±0,02***
300 µg/ml	0,10±0,008***	0,16±0,01***	0,23±0,05***	0,7±0,08**
1200 µg/ml	0,25±0,03*	0,37±0,03*	0,56±0,10	0,65±0,10***
Ecorces des racines				
50 µg/ml	0,19±0,06	0,33±0,07	0,52±0,08*	0,62±0,15**
100 µg/ml	0,3±0,02	0,32±0,04	0,37±0,07	0,64±0,16**
300 µg/ml	0,37±0,02	0,47±0,02	0,63±0,03	0,68±0,12*
1200 µg/ml	0,13±0,05*	0,23±0,07**	0,27±0,07**	0,32±0,06***

*($p < 0,05$) Comparaison de l'azide avec le contrôle négatif eau distillée.

*($p < 0,05$) Comparaison de extraits avec le contrôle négatif DMSO.

IV-1-2 Structure des noyaux en interphase, des chromosomes et indice mitotique

Dans ce travail, nous avons analysé 1000 cellules de racines, par bulbe de *A. cepa* de chaque traitement effectué. Nous avons étudié l'effet de l'azide de sodium, l'apparition d'aberrations chromosomiques et des altérations nucléiques, les changements dans l'indice mitotique, ainsi que l'effet des extraits des différentes parties de *P.lentiscus*, en comparaison avec les contrôles négatifs réalisés (eau distillée et DMSO).

IV-1-2-1 Structure des noyaux en interphase, des chromosomes et indice mitotique dans les groupes des contrôles négatifs (Eau et DMSO)

Les cellules des contrôles illustrent des variations morphologiques et structurales résultant des différentes phases de mitose et des cellules en interphase prédominantes (Figure 9.A).

Le premier groupe se sont des cellules après la télophase avec des territoires chromosomiques encore visibles dans leurs noyaux (figure 9.B), probablement entrées dans la phase G1. Le second groupe sont de petites cellules, avec la chromatine nucléaire décondensées, probablement en fin de la phase G1 et début de la phase S (figure 9.C). Le troisième et le plus vaste groupe, sont probablement à la fin de la phase S et des cellules en phase G2 (figure 9.D). Les cellules restantes sont à différents stades de la mitose.

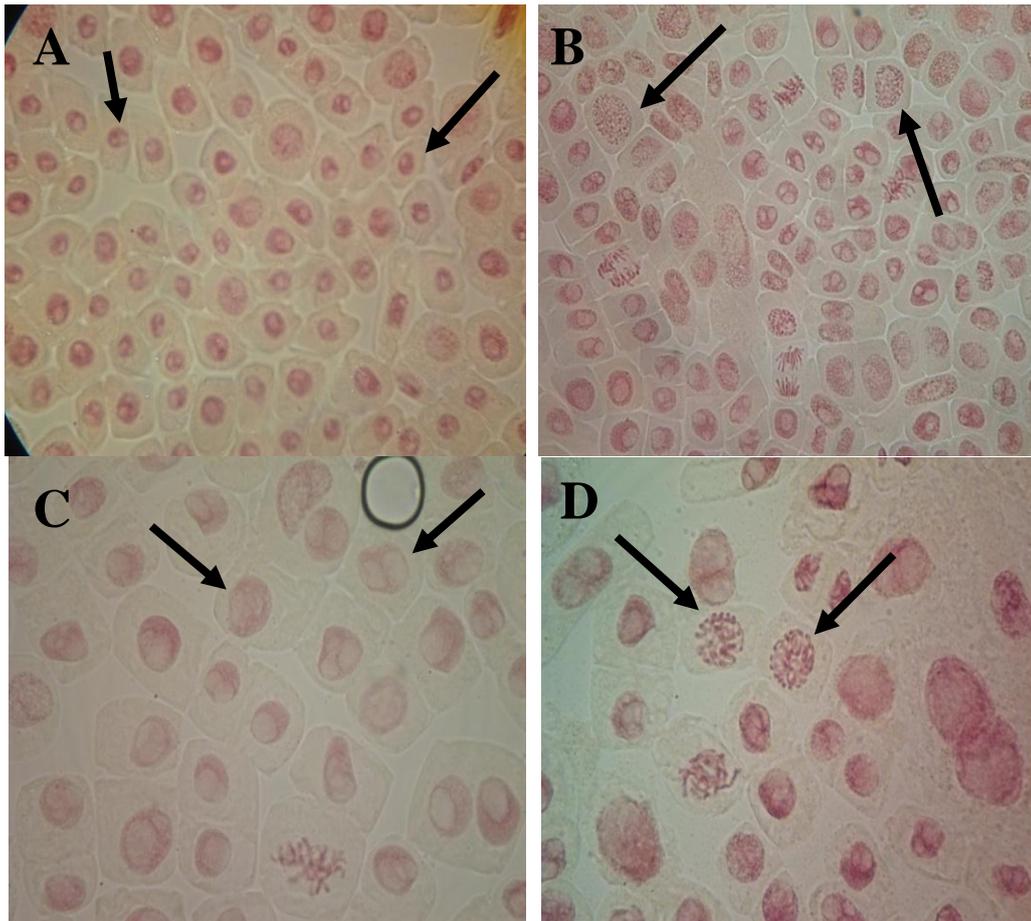


Figure 9 : Photographie de différentes phases du cycle cellulaire (G_1 , S, G_2) x40. (Photos originales)

Par ailleurs, la mitose commence à partir de la condensation de chromatine dans le noyau et formation de territoires chromosomiques (figure 10.E). Les chromosomes métaphasiques sont condensés et la plaque métaphasique commence à se former (Figure 10.F) ; les chromatides sont généralement visibles à ce stade.

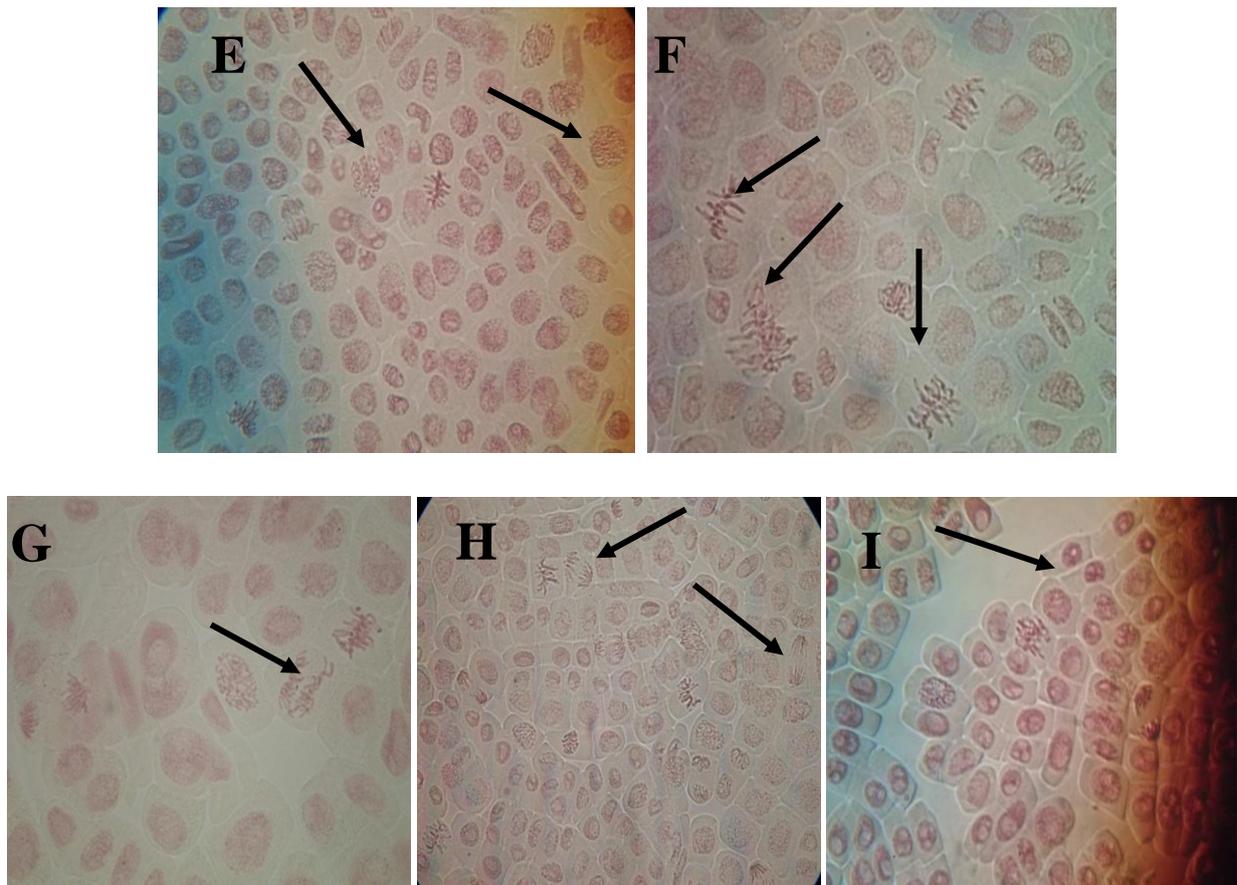


Figure 10: Photographie de prophase (E), métaphase (F) Début de l'anaphase (G), fin de l'anaphase (H) x40.
(Photos originales).

Au cours de la prochaine phase de la mitose qui est l'anaphase, les chromatides migrent vers les pôles de cellules d'une manière ordonnée (Figure 10.G, début de l'anaphase et Figure 10.H, fin de l'anaphase). Enfin la télophase ou les chromosomes sont complètement déplacés vers les pôles (Figure 10.I) et le noyau des cellules nouvellement formées est ovale avec des membranes cellulaires entre les deux cellules.

L'indice mitotique, de sa part, reflète le nombre de cellules en division dans les zones méristématiques de *A.cepa*. Les valeurs des indices mitotiques des groupes de contrôles sont illustrées dans la figure 11, Annexe N° 01.

On a remarqué que l'indice mitotique est élevé ($\approx 70\%$) dans tous les intervalles de temps, à savoir 18, 24, 48 et 72 h, au niveau des groupes (contrôle négatif) que ça soit avec le contrôle négatif de l'eau distillée ou du DMSO. Par ailleurs, aucune différence significative n'a été enregistrée, en fonction du temps, entre les deux groupes du contrôles négatifs. En outre, aucune aberration n'a été enregistrée.

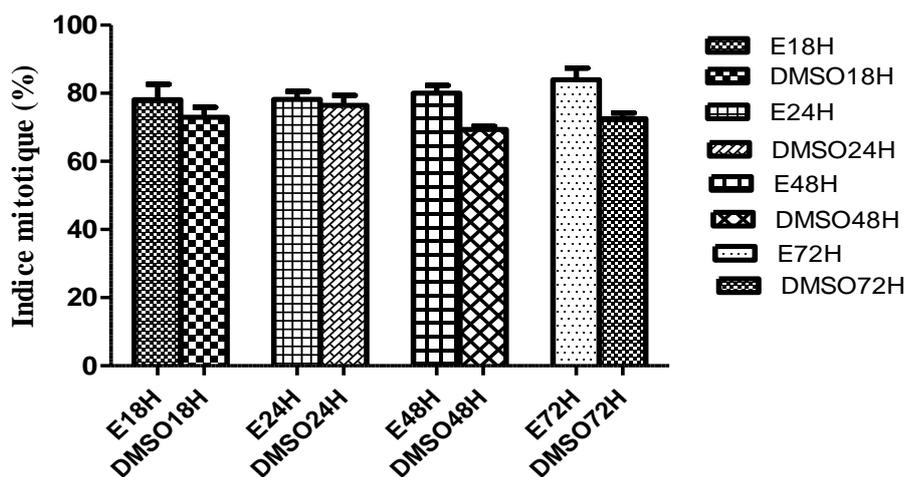


Figure 11 : Résultat de l'indice mitotique dans les groupes des contrôles négatifs (Eau distillée et DMSO).

IV-1-2-2 Structure des noyaux en interphase, des chromosomes et indice mitotique dans les groupes traités avec l'azide de sodium, à différentes concentrations

L'effet génotoxique de l'agent mutagène, Azide de sodium, en se basant sur l'indice mitotique comme critère de l'évaluation des différentes phases en division dans le cycle cellulaire, est représenté dans la figure suivante :

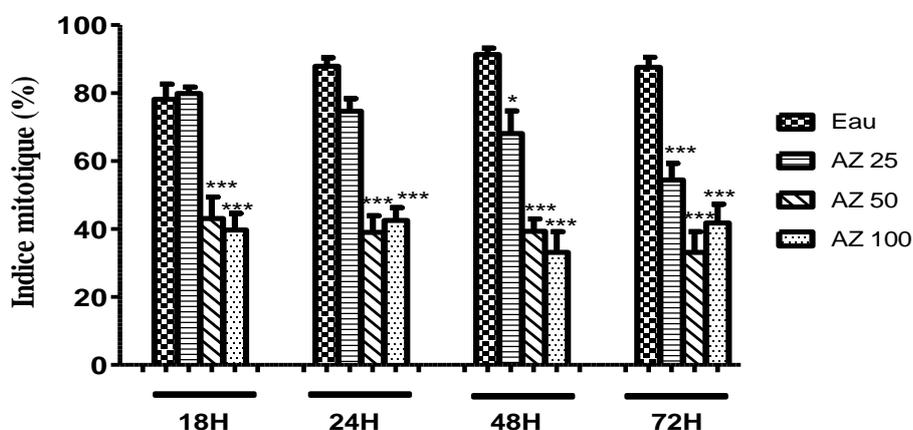


Figure 12 : Résultat de l'indice mitotique des bulbes de *A. cepa* traités avec l'azide de sodium.

On remarque que l'indice mitotique à la concentration de 25 $\mu\text{g/ml}$ de l'azide de sodium ne présente aucune différence significative, comparativement au control négatif à 18h et 24h. L'effet génotoxique est significatif ($P < 0,05$), à partir de 48h, et qui augmente très significativement ($P < 0,001$), à 72h.

Les concentrations 50 $\mu\text{g/ml}$ et 100 $\mu\text{g/ml}$ utilisées pour l'azide de sodium diminuent l'activité mitotique, à des valeurs différentes d'une manière très hautement significatives ($P < 0,001$), dans les quatres prélèvements, comparativement au témoin d'eau distillée.

Les paramètres cytogénétiques indiquent que l'azide de sodium, aux concentrations 25 et 50 $\mu\text{g/ml}$, présentent des aberrations uniquement de type C-mitose (Tableau II et Figure13C.A), où l'on remarque des chromosomes condensés et dispersés à 18h.

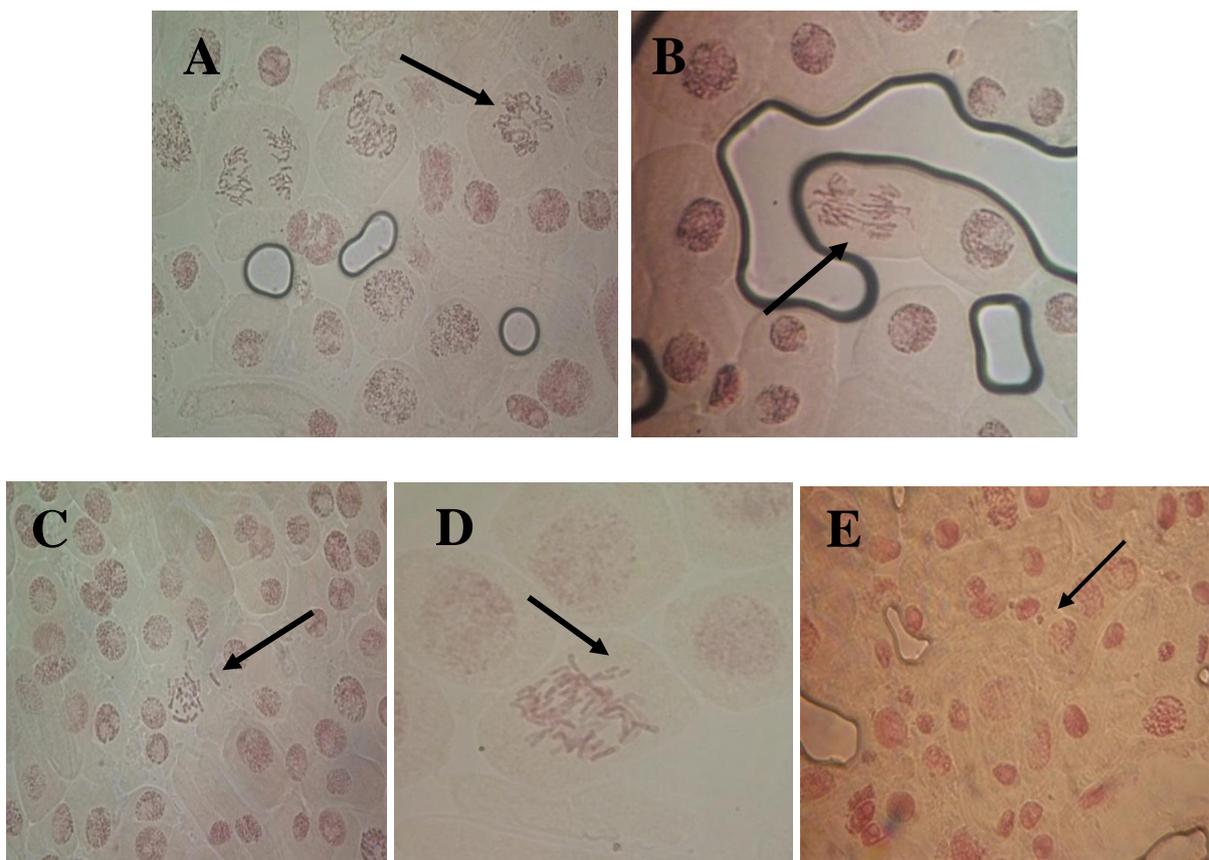


Figure 13 : Photographie d'aberration C-mitose (A), de pont (B), de cassure (C, D) et micronoyau x40 (Originale).

Par ailleurs, à 100µg/ml il y a eu formation des ponts (Figure 13.B) et des cassures (Figure 13.C et D), avec un taux très faible (Tableau II, annexe N°2), par rapport aux C-mitoses enregistrées.

Tableau II : Taux d'aberration des contrôles négatifs (eau et DMSO) et de l'azide de sodium.

Concentration (µg/ml)	% d'aberrations			
	18 H	24 H	48 H	72 H
Eau distillée	0	0	0	0
DMSO	0	0	0	0
Azide de sodium				
25	0,36	0,41	0,15	0,032
50	0,29	1,37	1,36	0,52
100	3,71	4,38	2,82	2,35

A 24h, le taux d'aberrations a augmenté, à savoir 4,38%, à la concentration de 100 µg/ml, où l'on trouve que des C-mitoses, aussi bien qu'à 25 µg/ml. Pour la concentration 50 µg/ml de l'azide de sodium utilisé, on a noté la présence de cassure et des C-mitoses.

D'autre part, autres types d'aberrations chromosomiques ont été observées à 48h, comme des cassures (azide de sodium à 25 et 50 µg/ml), en plus des C-mitoses. Par contre, à 100 µg/ml, on a remarqué la présence de C-mitoses uniquement (2,82%).

Par ailleurs, à 72h l'azide de sodium a le même effet qu'à 24 et 48h, avec apparition de cassures et des micronoyaux (50 µg/ml) (figure 13.D et E).

En ce qui concerne les aberrations chromosomiques et modifications nucléiques, il convient de noter que l'azide de sodium a une faible génotoxicité, à la concentration 25 µg/ml, par contre à la concentration 50 µg/ml et 100 µg/ml, on a signalé une génotoxicité très hautement significative ($P < 0,001$).

IV-1-2-3 Structure des noyaux en interphase, des chromosomes et indice mitotique dans les groupes traités avec les extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus*

A- Résultats du traitement des bulbes de *A. cepa* avec l'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus*

Les extraits éthanoliques des feuilles, graines et écorce de racines de *Pistacia lentiscus* ne sont pas solubles dans l'eau. Par conséquent, le DMSO a été utilisé comme solvant pour les extraits et un contrôle négatif.

Les résultats du traitement des bulbes de *A. cepa* avec l'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus*, à différentes concentrations (50, 100, 300 et 1200 µg/ml), en fonction du temps, sont illustrés dans la figure 14.

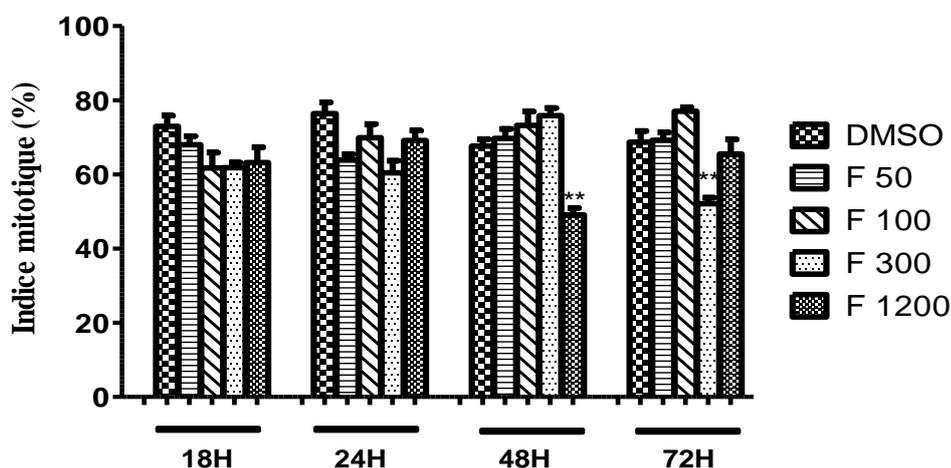


Figure 14 : Résultat de l'indice mitotique, après traitement avec l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

Aucune réduction significative de l'indice mitotique n'a été enregistrée dans le traitement avec les feuilles de *Pistacia lentiscus*, à 18h et 24h, pour toutes les concentrations utilisées (50, 100, 300 et 1200 µg/ml).

Au-delà de 48h, il y a eu une réduction très significative ($P < 0,01$) de l'indice mitotique, à la concentration de 1200 µg/ml (48h) et à 300 µg/ml (72h), comparativement au groupe du contrôle négatif DMSO (Figure 14).

Tableau III : Taux d'aberrations après traitement avec l'extrait de feuilles de *Pistacia lentiscus*.

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	% d'aberrations			
	18 H	24 H	48 H	72 H
Feuilles				
50	0	0,01	0	0,01
100	0	0	2,73	3,63
300	0,09	8,98	0,09	0,07
1200	0	0	0	0

Par ailleurs, il a été enregistré la présence d'aberrations de type C-mitose, avec 2.73 et 3.63%, à 48 et 72h, respectivement (100 $\mu\text{g/ml}$). Tandis qu'un taux très élevé de 8.98%, a été trouvé à 24h, en utilisant 300 $\mu\text{g/ml}$ d'extrait de feuilles. Par contre aucune aberration n'a été dénombrée, avec la concentration de 1200 $\mu\text{g/ml}$ (Tableau III et Annexe N°3).

B- Résultats du traitement des bulbes de *A.cepa* avec l'extrait éthanolique des graines de *P.lentiscus*

Les mêmes observations ont été obtenues, en traitant les bulbes de *A.cepa* avec l'extrait éthanolique des graines de *P.lentiscus* (Figure 15). Une réduction significative ($P < 0,05$) de l'indice mitotique à 1200 $\mu\text{g/ml}$ (24h) a été remarquée, comparativement au DMSO. Néanmoins aucune réduction significative n'a été révélée, avec les autres concentrations et à différents intervalles de temps.

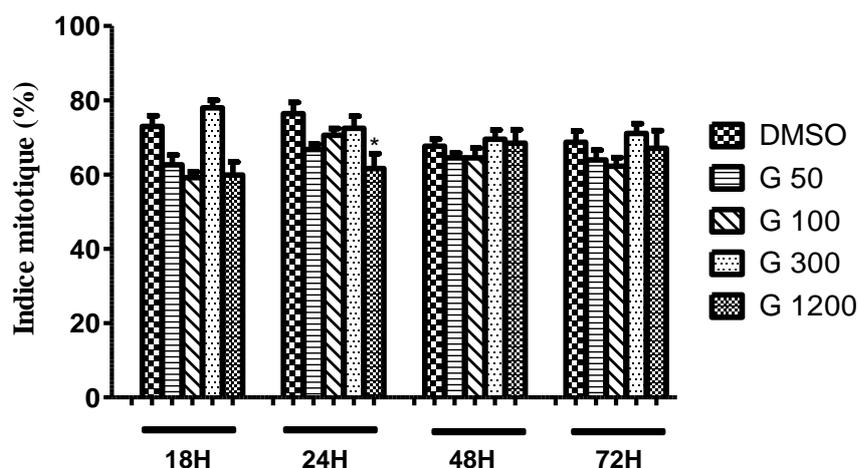


Figure 15 : Résultat de l'indice mitotique après traitement avec l'extrait éthanolique des graines de *Pistacia lentiscus*.

On a remarqué aussi une absence totale d'aberrations chromosomiques, sauf à la concentration 300 (24h), où l'on a observé la présence de C-mitose et une cassure. Le taux de ces aberrations est très faible (0.04%) (Tableau IV, Annexe N°4).

Tableau IV : Taux d'aberrations après traitement avec l'extrait de graines de *Pistacia lentiscus*.

Concentration (µg/ml)	% d'aberrations			
	18 H	24 H	48 H	72 H
Graines				
50	0	0	0	0
100	0	0	0	0
300	0	0,04	0	0
1200	0	0	0	0

C- Résultats du traitement des bulbes de *A. cepa* avec l'extrait éthanolique des écorces des racines de *P.lentiscus*

L'extrait de l'écorce des racines de *P.lentiscus* a provoqué une réduction très hautement significative de l'indice mitotique, uniquement à 18h pour la concentration 1200 µg/ml, comparativement au DMSO (Figure 16).

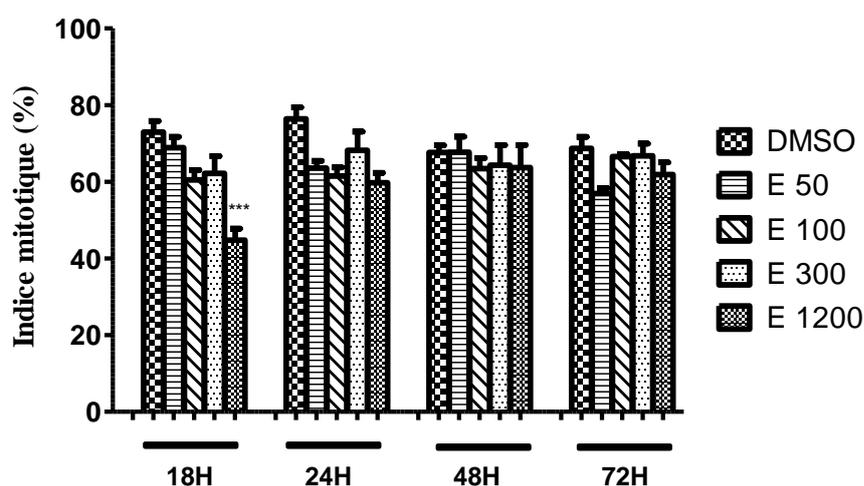


Figure 16 : Résultats de l'indice mitotique après traitement avec l'extrait éthanolique des écorces des racines de *Pistacia lentiscus*.

Des aberrations de type binucléique, micronoyau et C-mitose ont été enregistrées, à 24h (1200µg/ml), mais avec un taux négligeable (TableauV, Annexe N°5).

Tableau V: Taux d'aberration après traitement avec l'extrait des écorces des racines de *Pistacia lentiscus*.

Concentration (µg/ml)	% d'aberrations			
	18 H	24 H	48 H	72 H
Ecorce				
50	0	0	0	0
100	0	0	0	0
300	0	0,1	0	0
1200	0	0.1	0	0

IV-2- Evaluation de l'activité anti-génotoxique des extraits des feuilles, graines et écorces des racines de *P.lentiscus*

L'effet antigénotoxique est considéré significatif, lorsqu'il y aura une augmentation du taux de croissance des racines, ainsi que l'indice mitotique, en combinant l'extrait avec le mutagène, notamment l'azide de sodium, comparativement à l'effet de l'azide de sodium seul.

Les tests de l'antigénotoxicité avec les extraits des différentes parties de la plante étudiée, feuilles, graine et écorce des racines, à 100 µg/ml, en présence de l'azide de sodium, à la même concentration sont montrés dans le tableau VI (Taux de croissance des racines et figure 17 (Indice mitotique)).

Tableau VI : Taux de croissance des racines dans le traitement antigénotoxique.

Effet anti mutagénique	Δ 18h	Δ 24h	Δ48h	Δ 72h
DMSO	0.7±0.19	0.82±0.13	0.93±0.16	1.12±0.14
Eau distillée	0.53±0.11	0.8±0.16	0.66±0.13	1.15±0.17
Azide de sodium	0,5±0.07	0,3±0,09	0,5±0,08	0,5±0,08
Feuilles	0.12±0.01**	0.35±0.02	0.22±0.05	0.42±0.05
Graines	0.12±0.04**	0.15±0.06	0.21±0.05	0.36±0.07
Ecorces des racines	0.15±0.02*	0.1±0.03	0.14±0.02**	0.4±0.08

*(p<0,05) en comparaison avec l'azide de sodium

D'après le tableau VI, aucune différence significative n'a été enregistrée, en comparaison avec le taux de croissance des racines avec ceux exhibés par l'azide de sodium seul.

Dans le test antigénotoxique, le taux de croissance des racines a été réduit significativement à (p<0,01) et (p<0,05), respectivement, en traitant les bulbes d'oignons avec 100 µg/ml d'extrait éthanolique des graines et des écorces des racines de *P.lentiscus*, en

association avec l'azide de sodium, à la même concentration, à 18h. Au delà de 24h, aucune différence significative n'a été notée comparativement à l'effet de l'azide de sodium seul.

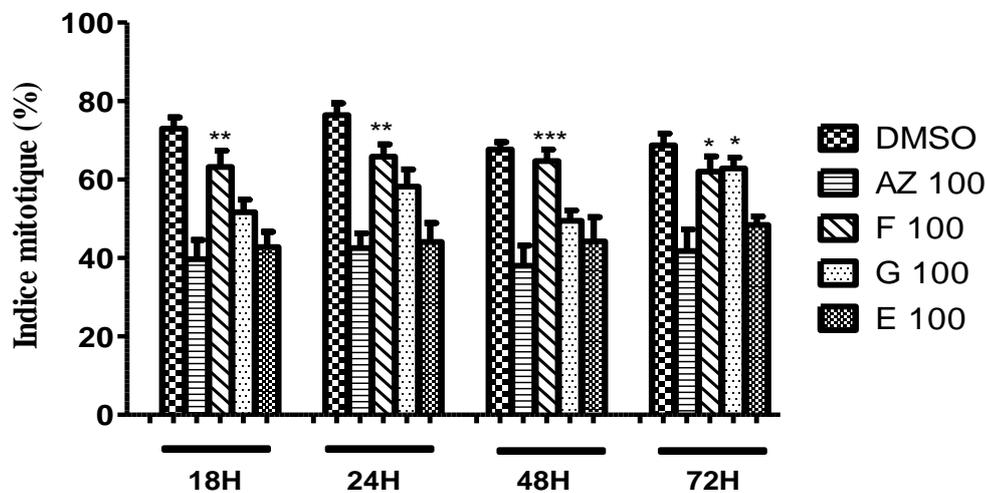


Figure 17 : résultat de l'indice mitotique de l'activité antigénotoxique des extraits de *P.pistacia*.

Les indices mitotiques obtenus après traitement des bulbes de *A. cepa* avec les différents extraits, en parallèle avec l'azide de sodium, à 100 µg/ml, sont présentés dans la figure 17. En effet, un effet protecteur a été enregistré, en présence de l'extrait éthanolique des feuilles, à partir de 18h et ceci en augmentant très significativement l'indice mitotique ($P < 0.01$), avec une activité maximale à 48 h ($P < 0.001$).

L'extrait des graines, de sa part, exhibe un effet protecteur significatif ($P < 0.05$), à partir de 72h. Tandis que le milieu, contenant l'extrait éthanoliques des écorces des racines, ne marque aucune augmentation significative de l'indice mitotique.

Les taux d'aberrations révélés avec les différents traitements des extraits des différentes parties combinés avec l'azide de sodium, marque une grande différence, par rapport au contrôle positif (azide de sodium seul), où il y a eu une diminution du pourcentage d'aberrations chromosomique (Tableau VII, Annexe N°6), indiquant par conséquent un effet protecteur (anti-génotoxique) des extraits éthanoliques étudiés.

Tableau VII: Taux d'aberrations enregistrées après traitement des bulbes de *A. cepa* avec les extraits des différentes parties de *P. lentiscus*, en combinaison avec l'azide de sodium.

Concentration	% d'aberrations			
	18 H	24 H	48 H	72 H
antigénotoxique				
Graine 100µm/ml	0.63	0.92	0.15	0.15
Feuille 100 µm/ml	0	0	0	0.16
Ecorce 100 µm/ml	1.15	0,92	0.72	0.45

IV-3 Discussion

Historiquement, les plantes ont été utilisées, en tant que des organismes indicateurs de mutagenèse dans l'étude des eucaryotes supérieurs. Les systèmes de plantes ont une variété de critères génétiques bien définis, y compris les modifications de ploïdie, aberrations chromosomiques et échanges de chromatides sœurs (**Grant, 1994**). *Allium cepa* est un modèle de plante très convenable pour l'étude de la génotoxicité, grâce à quelques avantages :

- La croissance des racines est très sensible aux différents polluants ;
- *A. cepa* a un nombre stable de chromosomes avec une diversité morphologique des chromosomes
- Stabilité du karyotype, dont les phases mitotiques sont très claires ;
- Réaction claire et rapide aux substances génotoxiques ;
- Raretés des dommages spontanés chromosomiques (**Grant, 1982 ; Chauhan et al., 1999 ; Matsumoto, 2004 ; Matsumoto et al., 2006 ;**)

C'est pour cette raison, le modèle d'évaluation des effets cytotoxiques et / ou génotoxiques des substances sur les cellules méristématiques de *A. cepa* est choisi dans notre étude, afin de tester l'impact des extraits éthanoliques des feuilles, graines et écorces des racines de *P. lentiscus*. Dans cette étude, on a décrit les différents dommages chromosomiques dans le méristème des racines des cellules de *Allium cepa*, environ 1000 cellules dans chaque bulbe ont été comptées.

IV-2 -1 Taux de croissance des racines

L'inhibition de la croissance des racines et leur mal formation, est un paramètre macroscopique considéré comme indicateur de cytotoxicité cellulaire, obtenu par une diminution du nombre de cellules en division (**Grant, 1982 ; Odeigah et al., 1997 ; Akinboro et al., 2007 ; Sameer et Qari, 2008**).

Il existe une relation linéaire entre les paramètres macroscopique et microscopique pour tous les extraits. En effet, à chaque fois qu'il y a inhibition de la croissance des racines, il existe toujours une réduction du nombre de cellules en division, exprimé par la réduction de l'indice mitotique (**Fiskesjö, 1997 ; Bakare et Wale - Adeyemo, 2004 ; Babatunde et Bakare, 2006**). Néanmoins, un retard de croissance et le changement de forme ainsi la perte de rigidité des racines sont accompagnés, par suppression de l'activité mitotique et l'apparition d'aberrations chromosomiques.

L'inhibition de la croissance peut être attribuable aux taux élevés de la demande chimique en oxygène, qui touche certains processus physiologiques conduisant à la perturbation de l'équilibre entre les promoteurs et inhibiteurs de régulation de croissance endogène (**Grover et Tejpar, 1981**).

La suppression de l'activité mitotique a été souvent utilisé dans le traçage de cytotoxicité (**Smaka - Kinel et al., 1996**). Ceci est habituellement accompagnée par une augmentation des cellules en C- mitose (**Amin et al., 2000**).

Dans cette étude, l'indice mitotique de l'azide de sodium à la concentration 25 µg/ml à 18h et 24h ne présente aucune réduction de l'activité mitotique et cela nous permet de dire que l'azide à cette concentration n'est pas toxique, et par le fait de prolonger la durée d'exposition jusqu'à 48h, il a été signalé une réduction significative. Tandis qu'à 72h, la réduction de l'indice mitotique est très hautement significative. **Rank et Nielsen (1997)** ont rapporté que l'azide de sodium à de telle concentration n'est pas hautement toxique.

Par ailleurs, l'utilisation de l'azide de sodium (50 et 100 µg/ml) réduit l'indice mitotique significativement ($p < 0,001$). Cela est dû à la diminution des divisions cellulaires, qui pourraient être causées par l'inhibition de la synthèse de l'ADN (**Schneiderman, 1971 ; Sudhakar et gowda, 2001**) ou un blocage dans la phase G2 du cycle cellulaire, ce qui empêche la cellule de pénétrer dans la mitose (**Turkoglu, 2007**).

De même, ces résultats sont similaires à ceux de **Rank et ses collaborateurs (1997)**, qui ont démontré une toxicité extrêmement élevée, avec des indices mitotiques proches de zéro, en utilisant du NaN_3 , à 10 , 33 et 100 mg/ml. Une autre étude confirme que les ions d'azide jouent un rôle important et inhibiteur puissant du cytochrome oxydase, qui à son tour inhibe le processus d'oxydation de phosphorylation. En outre, il est un inhibiteur puissant de la pompe à protons (**Kleinhofs et al., 1978**) et modifie le potentiel de la membrane mitochondriale (**Zhang, 2000**). Ces effets causés par le NaN_3 semblent entraver la biosynthèse d'ATP, entraînant à la diminution de la disponibilité de la molécule d'ATP, qui peut ralentir le taux de croissance et de réduire le pourcentage de division cellulaire. Ce qui illustre l'effet cytotoxique de l'azide de sodium.

Le taux d'aberrations augmente lorsque la concentration augmente (**Klasterskii et al., 1976**). Cependant, le type d'aberration chromosomique est varié. Les C-mitoses sont les plus fréquentes dans toutes les concentrations. **Odeigah et ses collaborateurs**

(1997) ont décrit la C-mitose, en tant qu'un effet éventuellement réversible (faible effet toxique). Le pourcentage de cellules présentant des aberrations chromosomiques dans le traitement avec l'azide de sodium à 25 et 50µg/ml (18h), n'est pas significatif, vu que l'azide de sodium n'est pas toxique à cette concentration. Par contre, à la concentration de 100 µg/ml (18h), l'effet est significatif, où il a été signalé la présence de C-mitose et cassures, qui pourrait être dû, au fait qu'il n'a pas eu une inhibition totale de l'ADN. Par conséquent des anomalies de structure de l'ADN puissent se produire et que des fragmentations chromosomiques puissent en résulter (Truhaut et Deysson, 1964), à savoir les ponts, qui pourraient être du à la rigidité chromosomique et l'échec ultérieur de séparation des chromosomes à l'anaphase. Les ponts chromosomiques peuvent être attribués à une translocation inégale ou inversion des segments chromosomiques (Gomurgen, 2005).

En plus des C-mitose, des cassures et micronoyaux ont été dénombrés concernant la concentration de 50µg/ml, comme aberrations chromosomiques causé par l'azide de sodium. Ceci est un résultats des fragments acentriques ou des chromosomes retardataires, qui ne parviennent pas à s'intégrer dans des noyaux des cellules filles, pendant la télophase (Albertini et al., 2000 ; Krishna et Hayashi, 2000).

Les résultats de l'azide de sodium (50 µg/ml), sont comparables à ceux de Odeigah et ses collaborateurs (1997), qui ont démontré un effet toxique a cette concentration.

Les feuilles exhibe une réduction très significative ($p < 0.01$), au-delà de 48h, (1200µg/ml), ce qui suggère un blocage de division cellulaire, due probablement à la composition chimique complexe des feuilles. Quand aux aberrations chromosomiques, ce sont les C-mitoses qui ont été observées avec un taux faible, ce qui signifie que la toxicité est très faible.

L'indice mitotique des extraits étudiés ne marque pas une réduction très hautement significative, à toutes les concentrations testées, à chaque intervalle de temps hormis la concentration de 1200µg/ml, de l'écorce des racines (18h). Ceci pourrait être due à un blocage de division cellulaire, provoqué par l'inhibition de la synthèse protéique et/ou de la réplication d'ADN (Grant et Salamone, 1994) et qui se rétablira, en fonction de temps vu que, à 24, 48, 72h aucune réduction significative n'a été signalée avec toutes les concentrations testées.

Le test de l'antiginotoxicité avec les extraits des feuilles, graines et écorces des racines de *Pistacia lentiscus*, à 100µg/ml, en présence de l'azide de sodium, à la même concentration montre une augmentation significative de l'indice mitotique avec les extraits des feuilles et

graines, par rapport à l'azide de sodium, ce qui nous conduit à dire que cette plante a un effet protecteur. Même résultat a été trouvé en utilisant les baies de *P.lentiscus* qui sont riches en anthocyanes, qui leur confèrent la capacité antioxydante et l'induction de l'autophagie. Ce mécanisme améliore la chimioprévention (**Rodríguez-Pérez et al, 2013**).

L'augmentation de l'indice mitotique par rapport aux taux exhibés avec l'azide de sodium pourrait être expliqué par l'effet protecteur des extraits de *P.lentiscus*, probablement dû à leurs richesses en métabolites secondaires. Par contre, une étude similaire a démontré que l'huile de *P.lentiscus* possède une activité cytotoxique importante, elle est utilisée comme agent anti-prolifératif (**Mezni et al., 2012**). Cette différence en termes de résultats de cytotoxicité est très probablement due à la nature des métabolites, qui composent l'extrait ou l'huile des graines de *P.lentiscus*.

Différentes aberrations ont été observées notamment les micronoyaux, avec l'écorce des racines (18h) et les graines (24h) qui pourraient être expliquées par la persistance du matériel perdu (éléments chromosomiques) pendant un temps plus long à l'intérieur du cytoplasme, ce qui donne lieu aux micronoyaux. (**Fernandes et al, 2006**).

D'une autre part, les micronoyaux peuvent provenir à partir de fragments acentriques (réponse clastogène), chromosomiques retardataires pendant l'anaphases, ou même d'un dysfonctionnement de l'axe (réponse aneugène) (**Sudhakar et al., 2001**). Ainsi les agents chimiques peuvent induire la formation des micronoyaux (**Albertini et al., 2000 ; Krishna et Hayashi, 2000**).

Par ailleurs, le niveau de cytotoxicité peut être déterminé par la vitesse de diminution de l'indice mitotique. Une baisse en dessous de 50 % a généralement des effets sublétaux (**Panda et Sahu, 1985**). Si l'index mitotique diminue en dessous de 22 % par rapport au contrôle, il entraîne des effets létaux sur l'organisme d'essai (**Antonsie-Więź, 1990**). En général, les substances cytotoxiques ont un effet inhibiteur de la mitose, la configuration des microtubules (**Armbruster et al., 1991**). Selon nombreux chercheurs, des anomalies dues à l'inhibition de la formation du fuseau tels que C- mitose, anaphases multipolaires, chromosomes collants et isolé, reflètent une haute toxicité des polluants (**Ali et Amer, 1974; Kovalchuk et al., 1998; Lazareva et al., 2003**).

Conclusion

Les résultats obtenus au cours de cette étude montre que le test *Allium cepa* est le plus utilisé pour détecter l'effet génotoxique et antigénotoxique des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* (graines, feuilles et écorces des racines). Pour cela plusieurs paramètres ont été évalués par le test d'*Allium cepa*, notamment le taux de croissance des racines, indice mitotique et aberrations chromosomiques.

Le traitement des bulbes avec le milieu de culture, eau distillée et DMSO, entraîne une bonne croissance des racines et un indice mitotique élevé.

L'utilisation du mutagène, Azide de sodium, réduit significativement ($p < 0,001$) la croissance des racines ainsi que l'indice mitotique, aux concentrations de 50 et 100 μ /ml.

Aucune réduction significative de l'indice mitotique n'a été enregistrée, après traitement des bulbes de *A. cepa* avec les extraits éthanoliques de *P. lentiscus* à différentes concentrations aux intervalles de temps étudiés, à l'exception de la concentration de 1200 μ /ml, à 18 et 24h, respectivement pour les extraits des écorces des racines et de graines de *P. lentiscus*. La partie des feuilles, par contre s'est révélée toxique à partir de 48 et 72h, respectivement pour les concentrations de 1200 et 300 μ /ml.

Un effet protecteur a été enregistré, en présence des extraits éthanoliques des feuilles et des graines de *P. lentiscus*, à partir de 18 et 72h respectivement, en augmentant significativement l'indice mitotique ($P < 0.01$). Tandis que l'extrait des écorces des racines n'a exhibé aucun effet antigénotoxique, à la concentration de 100 μ /ml.

En perspective, il serait donc intéressant d'évaluer la génotoxicité des extraits de plante avec d'autres tests complémentaires tels test Ames, test comète, test d'échanges de chromatides sœurs.

Bibliographies

A

Aardema, M.J., Albertini, S., Arni, P., Henderson, L.M., Kirsch-Volders, M., Mackay, J.M., Sarrif, A.M., Stringer, D.A., Taalman, R.D. (1998). Aneuploidy: a report of an ECETOC task force. *Mutation Research*, 401, 3–79.

Abbas N., Azaizeh H., Landau S., Halahleh F., Markovics A., Muklada H., and Ungar E.D. (2013). Polyphenols from *Pistacia lentiscus* and *Phillyrea atifolia* impair the exsheathment of gastro-intestinal nematode larvae. *Veterinary Parasitology*. 191: 44–50.

Abdelwahab A., Bouhleb I., Skandrani I., Valenti K., Kadri M., Guiraud P., Steiman R., Mariotte AM., Ghedira K., Laporte F., Dijoux-Franca M-G., Chekir-Ghedira L. (2006). Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloyl glucose from *Pistacia lentiscus*. Confirmation by microarray expression profiling, *Chemico-Biological Interactions*. 165: 1-13.

Abdel-Rahman, A. H. Y., Soad, A.M.Y. (1975). Mastic as antioxidant. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 52: 423.

Ain-Lhout F., Zunzunegui M., Dias barradas M. C., Tirado R., Clavijo A., Garcia Novo F. (2004). Comparison of proline accumulation in two Mediterranean shrubs subjected to natural experimental water deficit. *Plant and Soil*. 230: 175-183.

Alberts A., Johnson J., Lewis M., RaV. K., Roberts P., Walter. (2002). *Molecular Biology of the Cell*, Garland Science, New York. P:1463.

Ali-Shtayeh M. S., Yaghmour R., M. R., Faidi Y.R., Salem K., A. L., Al-Nuri M. A. (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology*. 60 : 265-271.

Ali-Shtayeh M. S., Yaniv Z., Mahajna J. (2000). Ethnobotanical survey in the Palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 73: 221-232.

Al-said M. S., Ageel A. M., Parmar N. S., Tarik M. (1986). Evaluation of mastic a crude drug obtained from *Pistacia Lentiscus* for gastric and duodenal anti-ulcer activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 15:271-278.

Akcha F., Vincent-Hubert F., Leszkowicz A. (2003). Potential value of the Comet assay and DNA adduct measurement in dab (*Limanda limanda*) for the assessment of in situ exposure to genotoxic compounds. *Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 534: 21-32

Amer S. M., Alı E. M.(1974).Cytological effects of pesticides Effects of some herbicides on *Vicia faba*. *Cytologia*. 39: 633-643.

Amin A. W., M. M., Migahid.(2000).Cytogenetic effect of sea water irrigation on irradiated wheat grains. *Egyptian Journal of Genetics and Cytology*. 29: 199 – 213.

Assimipoulou A.N., Papageorgiou V.P.(2005).GC-MS analysis of penta and tetracyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia Lentiscus* var. Chia. *Biomedical Chromatography*. 19:285-311.

Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N., Atmani D.(2009).Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants *Food Chemistry*. 112: 303–309.

A. Akinboro, A. A., Bakare.(2007).Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. *Journal of Ethnopharmacology*. 112: 470–475.

A. N. Gomurgen.(2005). Cytological effect of the potassium metabisulphite and potassium nitrate food preservative on root tips of *Allium cepa* L. *Cytologia* 70: 119–128.

B

Babatunde B. B., Bakare A.A.(2006).Genotoxicity screening of wastewaters from Agbara Industrial estate Nigeria evaluated with the *Allium* test. *Pollution Research*. 25: 227–234.

Bachrouch O., Mediouni-Ben Jemâa J., Aidi Waness W., Talou T., Marzouk B., Abderraba M.(2010).Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pistacia Lentiscus* L. against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Products Research*. 46 :242-247.

Bahorun T.(1997).Substances Naturelles actives: La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius* , p 83.

Bakare A. A., Wale-Adeyemo A.R.(2004).The potential mutagenic and cytotoxic effects of leachates from domesticwastes and Aba-Eku landfill Nigeria on *Allium cepa*. *Journal of Nature Environment Pollution Technology* 3: 455–462.

Balan K. V., Prince J., Han Z., Dimas K., Cladaras M., Wyche G. H., Sitaras N. M., Pantazis P.(2007).Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer celles treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. Chia. *Phytomedicine*. 14 : 263-172.

Balan K. V., Demetzos C., Prince J., Dimas K., Cladaras M., Han Z., Wyche J.H., Pantazis P. (2005).Induction of apoptosis in human colon cancer HCT116 cells treated with an extract of the plant product. Chios mastic gum. *In Vivo*. 19 : 93-102.

Baratto M.C., Tattini M., Galardi C., Pinelli P., Romani A., Visioli F., Basosi R., Pogni R.(2003). Antioxidant activity of galloyl quinic derivatives isolated from *Pistacia lentiscus* leaves. Free Rad. Res. 37(4): 405- 412.

Barazani O., Dudai N., Golan-Goldhirsh A.(2003).Comparison of Mediterranean *Pistacia Lentiscus* genotypes by random amplified polymorphic DNA, chemical, and morphological analysis, Journal of Chemical Ecology. 29: 1939-1951.

Baytop T.(1999).Therapy with medicinal plants in turkey- Past and Present. Second ed. Nobel Publishers, Istanbul.

Belfadel F.Z.(2009).Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Thèse d'état en chimie organique. P: 29-31.

Bellakhdar J.(1997).La pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, Paris. P: 764.

BENHAMMOU N., ATIK BEKKARA F.(2007). Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. de deux stations de la région de Tlemcen (Algérie). H. Greche et A. Ennabili (éd.) (2009). Recherches sur les plantes aromatiques et médicinales.

Berboucha M., Ayouni K., Benboubetra M., Atmani D.(2010).Kinetic study on the inhibition of xanthine oxidase by extracts from wo selected Algerian plants traditionally used for the tratement of inflammatory diseases. *Journal of medicinal food*. **13**: 1-9.

Borboa L., Delatorre C.(1996).the genotoxicity of Zn(II) and Cd (II) in *Allium cepa* root meristematic cells. New phytol. 134: 481-486.

Butt S.K., Vahidy A.A.(1994).Cytotoxic effect of herbicide Ronstar on meristimatic cells of *Allium cepa* L. Pakistan .J. Bot. 26: 69-74.

C

Chauhan L., K. S., Saxena P. N., Gupta S. K.(1999).Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvaerate on the root meristem cells of *Allium cepa*, Environmental and Expermental Botany. 42 : 181-189.

Chryssavgi G., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris T., Michael K.(2007).Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. Food Chemistry. 107: 1120–1130.

Cooke M. S., Evans M. D., Dizdaroglu M., Lunec J.(2003).Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. Faseb J. 171 : 195-214.

Croteau D. L., Bohr V. A.(1997).Repair of oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNA in mammalian cells. The Journal of biological chemistry. 272, 254: 09-12.

C. Rodríguez-Pérez, R. Quirantes-Piné, N. Amessis-Ouchemoukhc, K. Madanic, A. Segura-Carretero, A. Fernández-Gutierrez.(2013).A metabolite-profiling approach allows the

identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 77: 167– 174.

C. Rodríguez-Pérez.(2013).A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 77 : 167– 174.

C. Xiao, Z.G. Song, Z.Q. Liu.(2010).Synthesis of methyl-substituted xanthoxol to clarify prooxidant effect of methyl on radical-induced oxidation of DNA, Eur. J. Med. Chem. 45 : 2559–2566,

D

Dedoussis G., V.Z., Kaliora A.C., Psarras S., Chiou A., Mylona A., Papadopoulos N.G., Andrikopoulos N.K.(2004).Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. Atherosclerosis. 174: 293-303.

Devoret R.(1979).Des tests bactériens pour identifier les cancérogènes potentiels. *Pour la Science*. 24: 62-76.

Dob T., Dahmane D., Chelghoum C.(2006).Chemical Composition of the Essential Oils of *Pistacia Lentiscus L.* from Algeria. Journal of Essential Oil Research. 17 : 642-644.

E

Eckardt-Schupp F., Klaus C.(1999).Radiation inducible DNA repair processes in eukaryotes. Biochimie. 81: 161-71.

Elord S., Stansfield W.(2003).Génétique.4^{ème} Edition. Dunod. Paris.

El-Hamss R., Idaomar M.(2002).Thérapie. 57: 512–517.

F

Firbas P., Amon T.(2013).*Allium* Chromosome Aberration Test for Evaluation Effect of Cleaning Municipal Water with Constructed Wetland (CW) in Sveti Tomaž, Slovenia. J Bioremed Biodeg 4: 189.

Fiskesjo G.(1997).*Allium* test for screening chemicals; evaluation of cytological parametres. P: 307-333.

Ford R. A., Api A. M., Letizia C.S.(1992).Monographs on fragrance raw materials. Food Chem. Toxicol. 30 (Suppl), 1S–138S.

Furukawa A., Hiraku Y., Oikawa S., Luxford C., Davies M. J., Kawanishi S.(2005).Guanine-specific DNA damage induced by gamma-irradiated histone. The Biochemical journal. 388 : 813-8.

G

Gebicki S., Gebicki J. M.(1999).Crosslinking of DNA and proteins induced by protein hydroperoxides. The Biochemical journal 338 (Pt 3), 629-36.

Grant W.F., Salamone M.F.(1994).Comparative mutagenicity of chemicals selected for test in the International Program on Chemical Safety's collaborative study on plant systems for the detection of environmental mutagens. Mutation Research. 310: 187-209.

Grant W.F.(1982).Chromosome aberration assays in *Allium*. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutation Research. 99: 273-191.

Grant W.F.(1994). Mutation. Research. 310: 175–185.

Grover I. S., S. K. Tejpar.(1981).Antagonistic effect of gamma.

G.D.E., Njagi, H.N.B.(1982).Gopalan, Cytogenetic effects of the food preservatives—sodium benzoate and sodium sulphite on *Vicia faba* root meristems, Mutation. Research. 102 : 213–219.

G., Botta A., Orsière T.(2007).Anomalies chromosomiques de nombre, Instabilité génétique et expositions professionnelles. *Bulletin Cancer*, 94 (4), 381-8.

H

Hafsé M., Benbrahim K.F., Saidi A., Farah A.(2013).Volatile Components and Antibacterial Profile of Essential Oils Extracted from Leaves and Twigs of *Pistacia Lentiscus* L.; British Microbiology Research Journal. 3(4): 602-611.

Hayakawa M., Ogawa T., Sugiyama S., Tanaka M., Ozawa T.(1991).Massive conversion of guanosine to 8-hydroxy-guanosine in mouse liver mitochondrial DNA by administration of azidothymidine. Biochemical and biophysical research communications. 176 : 87-93.

Hmimsa Y.(2004).L'agrobiodiversité dans les agrosystèmes traditionnels de montagnes: Cas du Rif marocain. Mémoire de troisième cycle. Université Abdelmalek Essaâdi, Faculté des Sciences, Tétouan, Maroc, 100 pp.

Huwez F. U., Al-Habbal M. J.(1986).Mastic in the treatment of benign gastric ulcers. Gastroenterologia Japonica. 21: 273-274.

I

Iserin P.(2001).Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins 2^{ème} édition Ed Larousse/VUEF, pp13-16, p 250, pp291-296.

J

Janakat S., Al-Merie H.(2002).Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia Lentiscus*, *Phillyrea Latifolia* and *Nicotiana Glauca*. Journal of Ethnopharmacology. 83 : 135-138.

Jaque kruh.(1982).Biochimie, etude medicale et biologique : biologie cellulaire et molucuaire. Tome 1 p 127.

Jordano P.(1989).polinisation y variabilidad de la produccion de semillas de *Pistacia lentiscus* L. (Anarcadiaceae). Anales de jardin botanico de madrid. 45: 213-231.

Judd W. S., Campbell C. S., Kellog E. A., Stevens P.(2002).Botanique systématique. Edit. De Boeck, 467 p.

J. Rank, M. H. Nielsen.(1997). *Allium cepa* anaphase –télophase root tip chromosome aberration assay on N-methyl-N-nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate. Mutation Research. 390: 121-127.

K

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

Klasterskii I., Natarajan A.T., Ramel C.(1976).An interpretation of the origin of subchromatid aberrations and chromosome stickiness as a category of chromatid aberrations. Hereditas 83. 153.

Kleinhofs A., Owais W.M., Nilan R.A.(1978).Azide; Mutation Research 55: 165-195.

Klug W. S., Cummings M. R.,Spencer C. A.(2006).Génétique. 8^{ème} Editions. Pearson. Paris.

Kordali S., Cakir A., Zengin H., Duru M.E.(2003).Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia species* grown in turkey. Fitoterapia. 74: 164-167.

Kovalchuk O., Kovalchuk I., Arkhipov A., Telyuk P., Hohn B., Kovalchuk L.(1998).The *Allium cepa* chromosome aberration test reliably measures genotoxicity of soils of inhabited areas in the Ukraine contaminated by the chernobyl accident. Mutation Research. 415: 47-57.

Krishna G., Hayashi M.(2000).*In vivo* rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation, Mutat. Res. 455: 155–166.

L

Lazareva E.M., Polyakov V.Y., Chentsov Y.S., Smirnova E.A.(2003).Time and cell cycle dependent formation of heterogeneous tubulin arrays induced by colchicines in *Triticum aestivum* root meristem. Cell Biology International. 27: 633-646.

Le Goff J., Gallois J., Peluhet L., Devier, M.H., Budzinski H., Pottier D., André V., Cachot J. (2006).DNA adduct measurements in zebra mussels, *Dreissena polymorpha* Pallas. Potential

use for genotoxicant biomonitoring of fresh water ecosystems. *Aquatic Toxicology*. 79 : 55-64.

Lev E., Amar Z.(2000).Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in Israel at the end of the 20th century. *Journal of Ethnopharmacology*. 72: 191-205.

Lev E., Amar Z.(2002).Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in the Kingdom of Jordan. *Journal of Ethnopharmacology*. 82 : 131-145.

LIEUTAGHI P.(2004).Le livre des arbres, arbustes et arbrisseaux. Edit. Actes Sud, 1305 p.Luigia L., Anna S., Giuseppe V.(2007).Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus L.*, *Phillyrea latifolia L.* and *Rubia peregrina L.* *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 8: 360-364.

Luxford C., Dean R. T., Davies M. J.(2002).Induction of DNA damage by oxidized amino acids and proteins. *Biogerontology*. 3: 95-102.

Meijer L.(2003).Le cycle de division cellulaire et sa régulation. *Oncologie*. 5: 311-326.

M

Mac GREGOR J.T., WEHR C.M., GOULD D.M.(1980).Clostogen-induced micronuclei in peripheral blood erythrocytes: the basis of an improved micronucleus test. *Environ. Mutagen*. 2 (4) : 509- 514.

Magiatis P., Melliou E., Skaltsounis A.L., Chinou I.B., Mitaku S.(1999).Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia Lentiscus* var.chia. *Planta Medicinal*. 65: 749-751.

Marner F.J., Freyer A., Lex J.(1991).Triterpenoids from gum mastic, the resin of *Pistacia Lentiscus*. *Phytochemistry*. 30 : 3709-3712.

Maron D. M., Ames B. N.(1983).Revised method for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*. 113 : 173-215.

Marone P., Bono L., Leone E., Bona S., Carretto E., Perversi L.(2001).Bactericidal activity of *Pistacia Lentiscus* mastic gum against *Helicobacter pylori*. *Journal of Chemotherapy* 13 : 611-614.

Mateuca R., Lombaert N., Aka P.V., Decordier I., Kirsch-Volders M.(2006).Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*. 88 : 1515-1531.

Matsumoto S.T., Mantovani M.S., Malagutti M.I., Dias A.L., Fonseca I.C., Marin-Morales M.A.(2006).Assessment of the genotoxic and mutagenic effect of chromium residues present in tannery effluents using the micronucleus and comet assay in *Oreochromis niloticus* and chromosomes aberrations in of *Allium cepa*. *Genet. Mol. Biol*. 29 : 148–158.

Matsumoto S.T.(2004).Study on the Influence of Potentially Genotoxic Tannery Effluents on the Contamination of Water Resources in the Region of Franca-SP, Ph.D. Thesis. State University of Sao Paulo/São José do Rio Preto – SP, p. 216 (in Portuguese).

Mezni F., Maaroufi A., Msallem M., Boussaid M., Larbi Khouja M., Khaldi A.(2012).Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities of *Pistacia lentiscus L.* fruit oils. Journal of Medicinal Plants Research Volume. 6(39), p: 5266-5271, 10.

More D., White J.(2005).Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde, Flammarion, 18-24.

More D., White J.(2005).Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde, Flammarion, pp18, 797.

Murray N.(2009).Biologie végétale : structure, fonctionnement écologie et biotechnologie. Edition Pearson. Paris.

M.H. Schneiderman, W.C.(1971).Dewey, D.P. Highfield, Inhibition of DNA synthesis in synchronized Chinese hamster cell treated in G1 with cycloheximide, Exp. Cell Research. 67: 147–155.

O

Odeigah, P.G.C, J. Makinwa, B. Lawal, R. Oyeniya.(1997).Genotoxicity screening of leachates from solid industrial waste evaluated *Allium* test. *ATLA*. 25: 311-321.

Olsen O., Wang X., Von Wettstein D.(1993).Sodium azide mutagenesis: preferential generation of A.T→G.C transitions in the barley Ant18 gens. Protection National Academy of Science USA. 90: 8043-8047.

Ouelmouhoub S.(2005).Gestion multi-usage et conservation du patrimoine forestier: cas des subéraies du Parc National d'El Kala (Algérie).

P

Palevitch D., Yaniv Z.(2000).Medicinal plants of the Holy Land. Modan Publishing House, Tel Aviv, Israel.

Papageorgiou V.P., Bakola-Christianopoulou N.M., Apazidou K.K., E.E.(1997).Gas chromatographymass spectroscopic analysis of the acidic triterpenic fraction of mastic gum. Journal of Chromatography A. 729 : 263-273.

Paraschos S., Magiatis P., Mitaku S., Petraki K., Kaliaropoulos A., Maragoudakis P., Mentis A., Sgouras D., Skaltsounis A.L.(2007).In vitro and in vivo activity of chios mastic gum extracts and constituents against *Helicobacter pylori*. Antimicrob. Agents Chemother. 51 : 551-559.

Petit J. M., Julien R.(2007).Mini manuel de génétique. Edition Dunod. Paris.

Prichard A.J.N.(2004).The use of essential oils to treat snoring. *Phytotherapy Research*. 18 : 696-699.

Q

Quillard P., Huisman O., D'Ari R., Hofnung M.(1982).SOS Chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K12 to measure genotoxicity. *Proceeding of the National. Academy of Sciences USA*. 79 : 5971-5975.

R

Romani A., Pinelli P., Galardi C., Mulinacci N.(2002).Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia Lentiscus L.* *Phytochemical Analysis*. 13: 79-86.

ROUSSET P.(2012).Les pistachiers, famille des Anacardiacees. Le val de dagne.N°1 : février 2012.

R.J. Albertini, D. Aderson, G.R. Dauglas, L. Hagmar, K. Hemminki, F. Merlo, A.T. Natarajan, H. Norppa, D.E.G. Shuker, R. Tice, M.D. Waters, A. Aitio.(2000).IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in human, *Mutat. Res*. 463: 111–172.

S

Said O., Khalil K., Fluder S., Azaizeh H.(2002).Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *Journal of Ethnopharmacology*. 83 : 251-265.

Sameer H., Qari.(2008). *In vitro* evaluation of the anti-mutagenic effect of *Origanum majorana* extract on the meristematic root cells of *Vicia faba*. *Qari / JTUSCI*. 1: 6-11.

Sanz M.J., Terencio M.C., Paya M.(1992).Isolation and hypotensive activity of a polymeric procyanidin fraction from *Pistacia Lentiscus L.* *Pharmazie*. 47: 466-471.

Scherrer A.M., Motti R., Weckerie C.S.(2005).Traditional plant use in the areas of monte vesole and ascea, cilento national park (compagnia, southern Italy). *Journal of Ethnopharmacology*. 97 : 129-143.

SCHMID W.(1975).The micronucleus test. *Mutation Res*, 31: 9-15.

Seigue A.(1985).La Forêt Circumméditerranéenne et ses Problèmes, Maisonneuve & Larose, pp 22- 27, pp 137 – 139.

Smaka-Kinel V., P. Stegner, M. Lovka, M. J., Toman.(1996).The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. *Mutation Research*. 368: 177-179 .

Stansfield W.2003.Génétique. Edition Dounod. Paris.

Sudhakar R., Ninge-Gowda K.N., Venu G.(2001).Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa*. *Cytologia*. 66 : 235–239.

T

Thaís, C.C. Fernandes, Dânia Elisa, C. Mazzeo, Maria A. Marin-Morales.(2006).Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to triXuralin herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology* . 88 : 252–259.

Turkoglu S.(2006).Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. *Mutation Research*. 626 : 4–14.

Truhaut R., Deysson G.(1964).Sur les Propriétés Antimitotiques des Antifoliques. *Recherches à l'Aide du Test Allium*. *Biochemical Pharmacology*, Vol. 13 : 1197-1207 .

Turkoglu S.(2007).Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. *Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 626: 4-14.

Tuzlaci E., Aymaz P.E.(2001).Turkish folk medicinal plants, Part IV: (Gonen (Bahkesir). *Fitoterapia*. 72 : 323-343.

V

Van Den Berg, K.J., Vander Horst J., Boon J.J., Sudmeijer O.(1998).Cis-1, 4- poly-b-myrcene; the structure of the polymeric fraction of mastic resin (*Pistacia Lentiscus L.*) elucidated . *Tetrahedron Letters*. 39 : 2645-2648.

Vincent Castola, Ange Bighelli, Joseph Casanova.(1999). Intraspeci"c chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology*. 28 : 79-88

W

Wyllie S.G., Brophy J.J., Sarafis U., Hobbs M.J.(1990).Volatile components of the fruit of *Pistacia lentiscus*. *J. Food. Sci.* 55 : 1325-1326.

Y

Yaaqobi A. , El hafid L., Haloui b.(2009).Etude biologique de *Pistacia atlantica Desf.* de la région orientale du Maroc. *Biomatec ECHO*, Vol. 3, N° 6, 39-49.

Yahia M.(1992).La Thérapeutique par les Plantes Communes en Algérie, Ain Taya, p59.

Yasilada E., Honda G., Sezik E., Tabata M., Fujita T., Tanaka T., Takeda Y., Takalshi Y.(1995). Traditional medicine in Turkey. V: Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *J.Ethnopharmacology*. 46: 133-152.

Z

Zhang B.H.(2000). Regulation of plant growth regulators on cotton somatic embryogenesis and plant regeneration . *Biochemistry* 39,1567.

<http://fr.wikipedia.org/wiki/oignon>

Annexe N° 01 : indice mitotique du traitement du milieu de culture et DMSO.

Temps	Concentration µg/ml	Indice mitotique
18h	Eau distillée	78,14
	DMSO	72,93
24h	Eau distillée	89,97
	DMSO	76,41
48h	Eau distillée	91,98
	DMSO	67,61
72h	Eau distillée	87,56
	DMSO	68,71

Annexe N° 02 : indice mitotique du traitement avec l'Azide.

Concentration µg/ml	Indice mitotique	Ponts	C-Mitose	Cassures	Micro. N	% d'ab
Premier prélèvement						
Azide 25	79.87	0	1	0	0	0.36
Azide 50	43.09	0	37	0	0	0.29
Azide 100	39.66	1	38	1	0	3.71
Deuxième prélèvement						
Azide 25	74.65	0	2	0	0	0.41
Azide 50	39.008	0	12	1	0	1.37
Azide 100	42.53	0	44	0	0	4.38
Troisième prélèvement						
Azide 25	66.08	0	2	1	0	0.15
Azide 50	39.34	0	6	1	0	1.36
Azide 100	38.75	0	29	0	0	2.82
Quatrième prélèvement						
Azide 25	66.08	0	2	1	0	0.032
Azide 50	39.34	0	6	1	1	0.52
Azide 100	38.75	0	29	0	0	2.35

Tableau N°3 : indice mitotique et le taux d'aberration de la feuille.

Traitement			
Concentration $\mu\text{g/ml}$	Indice mitotique	C-Mitose	% d'aberrations
Feuilles 18h			
50 $\mu\text{g/ml}$	67,99	0	0
100 $\mu\text{g/ml}$	61,73	0	0
300 $\mu\text{g/ml}$	61,83	1	0.09
1200 $\mu\text{g/ml}$	61,96	0	0
Feuilles 24h			
50 $\mu\text{g/ml}$	63,9	1	0,01
100 $\mu\text{g/ml}$	69,91	0	0
300 $\mu\text{g/ml}$	60,45	95	8.98
1200 $\mu\text{g/ml}$	69,14	0	0
Feuilles 48h			
50 $\mu\text{g/ml}$	69,7	0	0
100 $\mu\text{g/ml}$	73,19	29	2.73
300 $\mu\text{g/ml}$	75,83	1	0.09
1200 $\mu\text{g/ml}$	49,09	0	0
Feuilles 72h			
50 $\mu\text{g/ml}$	69,17	1	0,01
100 $\mu\text{g/ml}$	77,04	39	3,63
300 $\mu\text{g/ml}$	52,12	1	0,07
1200 $\mu\text{g/ml}$	65,51	0	0

Annexe N°4 : indice mitotique et le taux d'aberration de fruits.

Traitement	Aberrations chromosomiques			
Concentration µg/ml	Indice mitotique	C-Mitose	Cassures	% d'abberations
Fruits 18h				
50 µg/ml	62,63	0	0	0
100 µg/ml	59,14	0	0	0
300 µg/ml	77,95	0	0	0
1200 µg/ml	59,86	0	0	0
Fruits 24h				
50 µg/ml	66,73	0	0	0
100 µg/ml	70,59	0	0	0
300 µg/ml	72,46	3	1	0,04
1200 µg/ml	61,63	0	0	0
Fruits 48h				
50 µg/ml	0,04	0	0	0
100 µg/ml	64,52	0	0	0
300 µg/ml	69,48	0	0	0
1200 µg/ml	68,46	0	0	0
Fruits 72h				
50 µg/ml	63,93	0	0	0
100 µg/ml	62,25	0	0	0
300 µg/ml	71,1	0	0	0
1200 µg/ml	67.1	0	0	0

Annexe N°5 : indice mitotique et le taux d'aberration de l'écorce.

Concentration µg/ml	Indice mitotique	binucléique	Mitoses	% d'abberations
Ecorce des racines 18h				
50 µg/ml	68,9	0	0	0
100 µg/ml	60,46	0	0	0
300 µg/ml	62,19	0	0	0
1200 µg/ml	44,78	0	0	0
Ecorce des racines 24h				
50 µg/ml	63,58	0	0	0
100 µg/ml	61,5	0	0	0
300 µg/ml	68,21	0	1	0.1
1200 µg/ml	63,58	1	0	0.1
Ecorce des racines 48h				
50 µg/ml	67,71	0	0	0
100 µg/ml	63,45	0	0	0
300 µg/ml	64,32	0	0	0
1200 µg/ml	63,67	0	0	0
Ecorce des racines 72h				
50 µg/ml	56,9	0	0	0
100 µg/ml	66,54	0	0	0
300 µg/ml	66,78	0	0	0
1200 µg/ml	61,89	0	0	0

Tableau 6 : indice mitotique et taux d'aberration du traitement de l'antigénotoxique.

Concentration µg/ml	Indice mitotique	Ponts	C-Mitose	Cassures	Micro. N	% d'ab
Feuille18h						
Anti. M	63.19	0	0	0	0	0
Graine18h						
Anti. M	51.66	1	2	0	0	0.63
Ecorce18h						
Anti. M	42.77	0	2	1	2	1.15
Feuille24h						
Anti. M	65,84	0	0	0	0	0
Graine24h						
Anti. M	58,16	0	2	0	1	0.92
Ecorce24h						
Anti. M	44,05	0	2	0	0	0,92
Feuille48h						
Anti. M	64,7	0	0	0	0	0
Graine48h						
Anti. M	49,45	0	1	0	0	0.15
Ecorce48h						
Anti. M	44,2	1	2	0	0	0.72
Feuille72h						
Anti. M	61,97	0	1	1	0	0.16
Graine72h						
Anti. M	62,79	0	1	0	0	0.15
Ecorce72h						
Anti. M	48,42	0	3	1	0	0,45

Resumé

Pistacia lentiscus L. est une plante médicinale très utilisée localement par la population Kabyle pour traiter différentes maladies grâce à ses activités biologiques (antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire et anti-hypertension). Dans le cadre de recherches sur les agents mutagènes, on a procédé à évaluer l'activité génotoxique et antigénotoxique des extraits éthanoliques des trois parties (graine, feuilles et écorce des racines) de *P. lentiscus* à différentes concentrations (50, 100, 300 et 1200 µg/ml), et à des intervalles de temps (18, 24, 48, 72h) et l'agent mutagène NaN_3 (25, 50, 100 µg/ml) en utilisant le test d'*Allium cepa*.

Les extraits de feuilles, de graines et de l'écorce des racines se sont montrés un effet cytotoxique à des concentrations élevées (1200 µg/ml) et à des temps d'incubation supérieurs à 24h.

Un effet antigénotoxique contre la toxicité induite par l'Azide a été révélé par les extraits de graines et de feuilles de *Pistacia lentiscus*, par contre l'écorce n'a montré aucune activité protectrice contre les dommages provoqués par l'Azide de sodium.

Mots clés : *Pistacia lentiscus*, *Allium cepa*, Azide de sodium, génotoxicité, antigénotoxicité.

Abstract

Pistacia lentiscus L. is a medicinal plant widely used by the local population Kabyl to treat various diseases due to its biological activities (antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory and anti-hypertension). In the context of research on mutagen was conducted to evaluate the genotoxic activity antigenotoxic and ethanolic extracts of the three parts (seed, leaves and bark of roots) of *P. lentiscus* with different concentrations (50, 100, 300 and 1200 µg/ml) at 18, 24, 48, 72h and mutagen NaN_3 using the *Allium cepa* test.

The extract of seeds, leaves and barcks of roots have exhibited a cytotoxic activity at high concenyration (1200 µg/ml) and at incubation time more than 24h.

For the antigénotoxique activity against sodium azide toxicity for tested extract was recorded with extract of seeds and leaves. Whereas, bark extract has revealed no significant protector effects.

Keywords: *Pistacia lentiscus*, *Allium cepa*, sodium azide, genotoxicity, antigénotoxicité.