

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

Mémoire de Master

Filière : Biologie

Option : Génétique Appliquée

Thème

**Activité génotoxique/antigénotoxique des extraits des
feuilles et des écorces de *Fraxinus angustifolia***

Présenté par :

M^{elle} : BENBARA Assia

M^{elle} : OUATMANI Nabila

Membres de jury :

Présidente : M^{me} BOUDAOUUD-OUAHMED H.

Promotrice : M^{elle} AYOUNI K.

Examinatrice : M^{me} BENAIDA-DEBBACHE N.

Examinatrice: M^{elle} BENMOUHOUH H.

Grade et lieu :

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

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

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







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

2012/2013

Dédicace

Dédicace

Je dédie ce travail à toutes les personnes qui m'ont soutenue toute la période de mes études :

-  *A mon père qui a consacré sa vie pour me rapporter tout le confort dont j'avais besoin pour avancer dans mes études,*
-  *A ma mère pour son dévouement afin d'assurer mon éducation et pour tout ses conseils précieux,*
-  *A toutes mes chères sœurs qui m'ont soutenue dans toute la période de mes études : Amel, Sassa, Zakia ainsi que mes frères,*
-  *A mes très chères amies qui ne m'ont pas laissé tomber depuis notre rencontre : Karima et Sarah merci beaucoup,*
-  *A toutes les personnes qui ont participé à ce travail, et à toute la promotion de Génétique appliquée 2013,*
-  *A mes copines de chambre et à toutes les personnes que je n'ai pas cité les noms.*

Assia

Dédicace

A mes très chers parents, en signe de reconnaissance pour leur amour, leur tendresse, leur compréhension et tous leurs sacrifices.

A mes frères et sœurs de m'avoir soutenue et surtout supportée durant toutes ces années d'étude.

A mes deux nièces Chouchou et Katy.

A toute ma famille.

A mes meilleures amies et à tous mes amis.

Nabila



Remerciements

On remercie le bon Dieu, le tout puissant, pour tout...

Nos sentiments de reconnaissance les plus sincères, s'adressent à notre promotrice M^{elle} Ayouni .K, d'avoir accepté de diriger ce travail. On la remercie pour sa simplicité, sa gentillesse, ses conseils précieux et sa bonne humeur.

Le profond respect à M^r et M^{me} Atmani, qu'on remercie profondément de nous avoir accueillies dans le laboratoire de Biochimie Appliquée.

Notre profonde gratitude à M^{me} Debbache, M^{elle} Tahiri et M^{me} Berboucha pour leur présence et leur aide ainsi que tout le personnel du laboratoire de Biochimie Appliquée.

On remercie également M^{me} Ouahmed pour avoir accepté de présider le jury et M^{elle} Benmouhoub d'avoir consacré de son temps pour examiner ce travail.

Nos remerciements vont à toutes les personnes avec qui nous avons partagé ce travail.

Assia et Nabila

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribo- Nucleique

AS : Azide de Sodium

DMSO : Diméthylsulfoxyde

G1: Gap 1

G2: Gap 2

HSV 1 : Virus de l'Herpes 1

IM : Indice Mitotique

M : mitose/ métaphase

MCMV : Cyto MegaloVirus Murin

NaN₃ : Azide de sodium

S : Synthèses

SINV : Sindbis virus

SMART: Somatic Mutation And Recombination Test

UV-C et UV-B : Ultraviolet de type C et B

VIH : Virus de l'Immuno déficience Humaine

Liste des figures

Figure 01 : Photographie de l'arbre de <i>Fraxinus angustifolia</i> .	3
Figure 02 : Structure chimique de quelques composés coumariniques.	5
Figure 03 : Structure chimique de base des flavonoïdes	6
Figure 04 : Structure chimique de certains lignanes	6
Figure 05 : Comparaison entre un noyau endommagé et un deuxième non endommagé	15
Figure 06 : Photographie de feuilles et de l'écorce de <i>Fraxinus angustifolia</i>	21
Figure 07 : Photographie de <i>Allium cepa</i>	22
Figure 08 : Photographie d'un lot de bulbes traité avec l'extrait de feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i>	23
Figure 09 : Schéma récapitulatif des étapes du traitement des bulbes <i>Allium cepa</i>	24
Figure 10 : Photographies de l'aspect macroscopique des racines et microscopique des cellules de . <i>Allium cepa</i> traitées avec l'azide de sodium (300µg/ml)	25
Figure 11 : Résultats de génotoxicité des extraits des feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i> et l'azide de sodium.	27
Figure 12 : Photographies des divisions normales des cellules méristématique de <i>Allium cepa</i>	28
Figure 13 : Photographies des anomalies chromosomiques induites par l'azide de sodium (300µg/ml).	29
Figure 14 : Anomalies chromosomiques causées par les extraits de feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i>	29
Figure 15 : Résultats de génotoxicité des extraits des écorces de <i>Fraxinus angustifolia</i>	30
Figure 16 : Photographies des aberrations chromosomiques engendrées par les extraits des écorces de <i>Fraxinus angustifolia</i> .	30
Figure 17 : Résultats du test d'antigénotoxicité des extraits des feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i> .	31
Figure 18 : Photographies des aberrations chromosomiques lors du traitement antigénotoxique des extraits des feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i> .	32
Figure 19 : Résultats d'antigénotoxicité des extraits des écorces de <i>Fraxinus angustifolia</i>	32
Figure 20 : Anomalies chromosomiques du traitement antigénotoxique des extraits des écorces de <i>Fraxinus angustifolia</i> .	33

Liste des tableaux

Tableau I : Rôle de quelques composés phénoliques	7
Tableau II : Activités biologiques de plantes médicinales.	8
Tableau III : Les mutagènes chimiques	12
Tableau IV : Quelques plantes médicinales étudiés pour leur activité génotoxique et/ou antigénotoxique	17
Tableau V : Résultats des taux de croissance	26

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

Chapitre I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Plantes médicinales et phytothérapie.....	2
2. Description de la plante médicinale <i>Fraxinus angustifolia</i>	3
2.1. Description botanique.....	3
2.2. Distribution géographique.....	4
2.3. Propriétés et usage de <i>Fraxinus angustifolia</i>	4
2.4. Principes actifs de <i>Fraxinus angustifolia</i>	4
3. Activités biologiques des extraits de plantes médicinales.....	7
3.1. Activité antimicrobienne.....	9
3.2. Activité antiproliférative.....	9
4. Rappel sur le cycle cellulaire.....	10
5. Activité génotoxique.....	11
6. Les agents mutagènes.....	11
6.1. Les mutagènes physiques.....	11
6.2. Les mutagènes chimiques.....	11
7. Les dommages à ADN induits par les différents mutagènes.....	12
7.1. L'azide de sodium.....	13
8. Tests d'évaluation de la génotoxicité/mutagenicité.....	13
8.1. Test de Ames.....	14
8.2. Test de SMART (Somatic Mutation And Recombinaison Test).....	14
8.3. Test des comètes.....	14
8.4. Test d'aberrations chromosomiques.....	15
8.5. Test des micronoyaux.....	15
8.6. Test de génotoxicité <i>Allium cepa</i>	16

Chapitre II: MATERIELS ET METHODES

1. Matériels.....	19
1.1. Appareillage.....	19
1.2. Produits chimiques.....	19

1.3. Matériels végétal.....	20
1.3.1. <i>Fraxinus angustifolia</i>	20
1.3.2. <i>Allium cepa</i>	21
2. Méthodes.....	21
2.1. Préparation des échantillons de <i>Fraxinus angustifolia</i>	21
2.2. Extraction.....	22
2.3. Test de génotoxicité <i>Allium cepa</i>	22
2.3.1. Traitement des bulbes d'oignon.....	22
2.3.2. Traitement des racines et préparation des observations microscopiques.....	23
2.3.3. Examinations microscopiques.....	24
2.4. Analyse statistique.....	24
Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION	
1. Résultats.....	25
1.1. Résultats de l'extraction.....	25
1.2. Tests de génotoxicité/antigénotoxicité.....	25
1.2.1. Aspect macroscopique des racines.....	25
1.2.2. Résultats des taux de croissance des racines.....	26
1.2.3. Indice mitotique.....	27
1.2.3.1. Traitement séparé par l'azide de sodium/extraits de feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i>	27
1.2.3.2. Traitement séparé par l'azide de sodium et les extraits des écorces de <i>Fraxinus angustifolia</i>	30
1.2.3.3. Traitement combiné par les extraits des feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i> et l'azide de sodium.....	31
1.2.3.4. Traitement combiné par les extraits des écorces de <i>Fraxinus angustifolia</i> et l'azide de sodium.....	32
2. Discussion.....	34
2.1. L'extraction.....	34
2.2. Tests de génotoxicité/antigénotoxicité.....	34
2.2.1. Taux de croissance des racines.....	35
2.2.2. Indice mitotique.....	35
2.2.3. Aberrations chromosomiques.....	37
CONCLUSION.....	39
Références bibliographiques.....	41
Annexes.....	I

Le règne végétal constitue une source non épuisable de métabolites secondaires qu'on a supposés pour longtemps, être sans aucun intérêt, mais qui deviennent de plus en plus développés dans l'industrie pharmaceutique, notamment dans le cadre des soins par les végétaux ou « phytothérapie » (**Fleurentin, 2002**); une partie prenante dans l'histoire des différentes civilisations, qui a été le seul et l'unique remède exercée par l'Homme, depuis des siècles (Le premier texte connu sur la phytothérapie remonte à 3000 ans a.v.J.C., établi par les Sumériens, ensuite viennent les Egyptiens, les Grecs, les Romains, les Chinois, les indiens...etc.),(**Gahbiche, 2009**) pour lutter contre les différentes agressions. Ces plantes ont prouvé leurs valeurs précieuses pour la santé humaine, mais il faut garder à l'esprit qu'elles ont un rôle de médicament à actions thérapeutiques souvent puissantes qui nécessitent un usage et une préparation appropriée. (**Telphon, 2003**)

Ce travail concerne l'étude d'une plante médicinale locale à intérêts économique, commerciale et thérapeutique majeurs, nommée *Fraxinus angustifolia*, appelée couramment frêne oxyphylle, une plante Oléacée, endémique du bassin méditerranéen, voir d'Algérie (**Gerard, 2006 ; Beloued, 2009**), connue ici, à Bejaia sous le nom « *Aslène* ».

Plusieurs activités biologiques notamment l'activité anti-inflammatoire (**Lompo et al., 1998**) ; antiproliférative (**Wu et al., 2006 ; Badiaga, 2011**), antimicrobienne (**Fournet et al., 199 ; Cos et al., 2002 ; Lohezic-Le Devechat et al., 2002**), antioxydante (**Kouamé et al., 2009**) ...etc. ont été attribuées aux métabolites secondaires des plantes du genre *Fraxinus*, tels que : les coumarine, les flavonoides, les lignanes...etc. (**Kostova et Iossifova, 2007**), Néanmoins, dépendants de la dose, ces principes actifs peuvent présenter une toxicité cellulaire (**Grant, 1982**).

Le but de cette étude est l'évaluation d'éventuels effets génotoxique/antigénotoxique des extraits de feuilles et des écorce de *Fraxinus angustifolia*, comparativement à l'azide de sodium par un test de génotoxicité qui permet d'estimer l'impact d'un agent mutagène chimique sur le génome d'une espèce eucaryote représentative qui est l'oignon commun (*Allium cepa*).

1. Phytothérapie et plantes médicinales :

1.1. La phytothérapie :

La phytothérapie appelée aussi médecine " naturelle", "parallèle" ou "complémentaire"; est l'ensemble des connaissances et pratiques basées sur les croyances et les expériences que pouvait l'Homme apporter du règne végétal, auxquelles les différentes cultures ont recours pour diagnostiquer ou soigner des maladies physiques et mentales (**Bouxi, 2012**). D'un point de vue étymologique, le terme phytothérapie provient du grec ancien "*phyton*" qui signifie "végétal"; la phytothérapie est donc la "thérapie par les plantes". Ces plantes utilisées à l'état frais ou le plus souvent sous la forme desséchée peuvent être aromatiques, sédatives ou curatives où les préparations sont souvent obtenues par infusion, macération, ou décoction (**Gahbiche, 2009**).

1.2. Plantes médicinales :

Une plante est qualifiée de médicinale lorsqu'elle contient, au niveau de ses organes, un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fins thérapeutiques dont l'effet varie selon la partie utilisée (**Fattinger et al., 2003 ; Bertrand, 2009**).

Les plantes médicinales ont montré un rôle prometteur dans le traitement et la prévention des maladies, ce qui explique leur utilisation, depuis des siècles par les différentes civilisations du monde ; les plus réputées entre les populations sont : Verveine (*Verbena officinalis*), Romarin (*Rosmarinus officinalis*), Menthe poivrée (*Mentha piperita*), Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), Cannelier (*Cinnamomum zeylanicum*), Citronnier (*Citrus limon*), Clou de Girofle (*Syzygium aromaticum*), Thym (*thymus vulgaris*)...etc. (**Rodzko, 2000**).

La recherche scientifique a attribué une grande importance au règne végétal, notamment l'étude des plantes médicinales et leurs teneurs en principes actifs. Le patrimoine végétal Algérien n'est pas très exploité, ce qui a incité les scientifiques à s'investir dans ce domaine pour valoriser et explorer les plantes médicinales locales à usage fréquent en médecine traditionnelle.

2. Description de la plante médicinale « *Fraxinus angustifolia* » :

C'est une espèce autochtone du mot grec *fraxis* (haie, clôture) connu sous le nom de frêne oxyphylle, Dardar (nom arabe) ou aussi Aslène (nom berbère); de la famille des Oléacées qui comporte plusieurs espèces (*Fraxinus excelsior*, *Fraxinus angustifolia* (Figure 01), *Fraxinus ornus* ...) mais la plus connue, dans la région méditerranéenne, est *Fraxinus excelsior*. C'est une espèce répandue en Algérie et très utilisée par la population (Djerroumi et Nacef, 2004; Gerard, 2006; Beloued, 2009).



Figure 01: Photographie de l'arbre *Fraxinus angustifolia*

2.1. Description botanique :

C'est un arbre, à inflorescences en grappes allongées, ramifiées et longues (3 à 7 cm), ses fruits sont des samares, ovales, aigus au sommet, avec une seule branche pour les maintenir. Les bourgeons sont de couleur marron ; les feuilles sont étroites et les fleurs sont de sexe hermaphrodites (Djerroumi et Nacef, 2004; Fraxigen, 2005; Kostova et Iossifova, 2007; Beloued, 2009). La dispersion des graines et du pollen se fait par le vent, mais le système de reproduction est très mal connu; leur longévité est de 150 à 200 ans (Gerard, 2006).

2.2. Distribution géographique :

Le frêne oxyphylle est présent en région méditerranéenne dans le sud de l'Europe, l'ouest de l'Asie (jusqu'à l'ouest de l'Iran) et le nord africain (nord de l'Algérie et du Maroc) (**Gerard, 2006**). On le trouve au bord des eaux (rivières), des bois et des habitations. Sa fructification est en avril-juin (**Djerroumi et Nacef, 2004; Beloued, 2009**).

2.3. Propriétés et usage de *Fraxinus angustifolia* :

Cette plante est utilisée dans la médecine traditionnelle, car elle présente diverses vertus thérapeutiques. Elle est utilisée comme diurétique et purgatif, pour le traitement de la constipation, démangeaison chevelure, cystite, arthrite ...etc. (**Calis et al., 1993**). Chaque partie de la plante a des vertus thérapeutiques spécifiques, notamment les feuilles qui participent dans la régulation des sels et la lutte contre les parasites intestinaux; les écorces sont utilisés contre les hémorragies passives, la goutte atonique, la lithiase biliaire et surtout contre les fièvres intermittentes; les semences sont à propriétés antirhumatismales et antigoutteuses (**Djerroumi et Nacef, 2004; Beloued, 2009**).

2.4. Principes actifs de *Fraxinus angustifolia*:

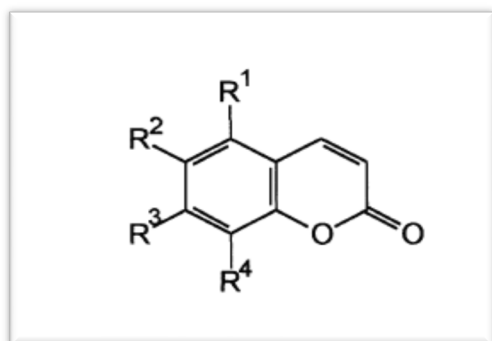
Les plantes médicinales contiennent plusieurs composés actifs appelés aussi métabolites secondaires, qui leurs confèrent plusieurs activités biologiques (Tableau I). Il existe plusieurs familles de ces principes actifs, dont la plus importante est celle des composés phénoliques, subdivisée en plusieurs groupes qui varient des plus simples vers les molécules les plus hautement polymérisées : les phénols simples, les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes, les lignanes, les tanins ...etc. (**Kone, 2009; Badiaga, 2011**).

Fraxinus angustifolia est caractérisée principalement par la présence de coumarines (esculetin, esculin, cichoriin, scopoletin, isoscopoletin, fraxine, fraxinol, fraxetin), secoiridoids et phenylethanoids, des phénols simples, des lignanes et des flavonoïdes à de faibles quantités (**Kuwajima et al., 1992; Calis et al., 1996; Kostova et Iossifova, 2007**).

2.4.1. Les coumarines :

Ce sont des hétérocycles oxygénés (Figure 02), isolés pour la première fois de *Coumarouna odorata* par Vogel en 1820. Environ 1000 composés coumariniques sont isolés en fonction de leurs structures (Figure 02), dans plus de 800 espèces de plantes appartenant à différentes familles (Apiaceae, Asteraceae, Fabaceae ...etc.) (**Kone, 2009**).

Les coumarines de toutes les espèces étudiées du genre *Fraxinus* (*excelsior*, *ornus*, ...etc.) sont de forme libre ou glycoside. Les coumarines glucosides, l'esculin et la fraxine, sont retrouvées dans la plupart des plantes à des proportions différentes (Tableau I) (**Kostova et Iossifova, 2007**).



Composé coumarinique	R1	R2	R3	R4
Fraxinol	OMe	OH	OMe	H
Isoscooletin	H	OH	OMe	H
Scopoletin	H	OMe	OH	H
Cichoriin	H	OH	OGlc	H

Figure 02 : Structure chimique de quelques composés coumariniques (**Liu et al., 2005; Kostova et Iossifova, 2007**)

2.4.2. Les flavonoïdes :

Ce sont des pigments qui constituent une grande partie des polyphénols, près de 6000 flavonoïdes connus repartis en douze classes. Ces flavonoïdes ont en commun la structure du diphenyl propane C₆-C₃-C₆ (Figure 03) qui lie deux noyaux benzéniques (A et B) et permet la formation d'un hétérocycle oxygéné C, dont la modification (oxydation, alkylation, ...etc.) donne les différentes sous classes des flavonoïdes : flavones, flavonols, isoflavones ...etc. (**Derbel et Ghedira, 2005; Kone, 2009**).

Les flavones et les flavonoles sont les plus répandus, ils caractérisent le genre *Fraxinus* où la quercétine, le kaempférol et leurs glycosides sont souvent présents (**Ghedira, 2005; Kostova et Iossifova, 2007**).

Ils possèdent de nombreuses vertus médicinales (Tableau I), tel que l'activité anti-VIH grâce à leur potentiel inhibiteur de la transcriptase inverse et l'acide désoxyribonucléique (ADN) polymérase de ce virus (**Derbel et Ghedira, 2005; Benhamza, 2008**).

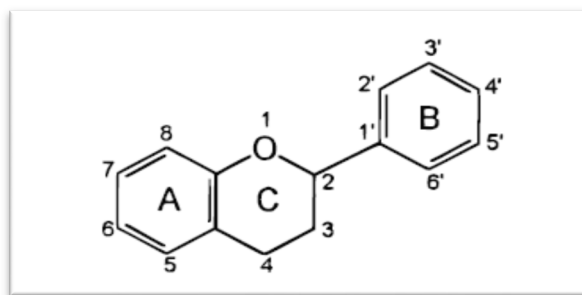
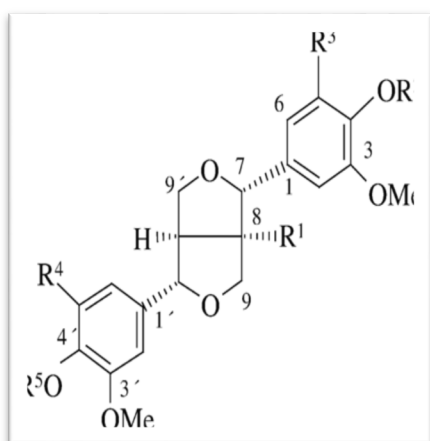


Figure 03: Structure chimique de base des flavonoïdes (Pietta, 2000)

2.4.3. Les lignanes et les lignines :

Des phénylpropanoïde (Figure 04) issus des monolignols. Les lignines sont formées par polymérisation oxydative de monolignols (alcools *p*-coumarique, coniférique et sinapique) (Kone, 2009). Ils sont sous forme libre ou glycoside (Kostova et Iossifova, 2007).



Composés	R1	R2	R3	R4	R5
Pinoresinol	H	H	H	H	H
Pinoresinol-4-O-β-D-glucopyranoside	H	Glc	H	H	H
8-Hydroxypinoresinol-4-O-β-D-glucopyranoside	OH	Glc	H	H	H
Fraxiresinol-8-O-β-D-glucopyranoside	O Glc	H	O Me	H	H

Figure 04 : Structure chimique de certains lignanes (Kostova et Iossifova, 2007)

2.4.4. Les tanins :

Ce terme «tanin» dérive de la capacité de tannage de la peau animale par sa transformation en cuir, grâce à la création de liaisons entre les molécules de tanins (d'origine végétale ou minérale) et les fibres de collagène de la peau. Leurs structures biochimiques comprennent un noyau aromatique et un ou plusieurs groupements phénoliques impliqués dans plusieurs activités biologiques (Tableau I). On distingue deux sous groupes : les tanins hydrolysables (constitués de l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère) et les tanins condensés (famille des flavonoïdes) (Benhamza, 2008; Kone, 2009; Manolaraki, 2011).

Plusieurs travaux scientifiques ont rapporté et mis en évidence l'importance de ces métabolites secondaires pour la santé humaine, les végétaux, voir même l'environnement. Cela est récapitulé dans le tableau I.

Tableau I : Rôle de quelques composés phénoliques.

Composés phénoliques	Rôles	Références
Coumarines	fluidifier le sang, soigner les affections cutanées, antitussif, antiasthmatiques, antiparasitaires, anticancérogènes, antiviral...etc.	Liu et al., 2005 Kostova et Iossifova, 2007 Benhamza, 2008 Kone, 2009
Flavonoïdes	Moduler l'activité de certaines enzymes et donc modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, antioxydants (piéger les radicaux libres), vasculoprotecteurs, antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, antitumorales, antiviral, propriétés diurétiques, antibactériennes, atténuation du pouvoir infectieux ou affection de la réplication intracellulaire des virus (virus respiratoire syncytial, l'herpès simplex virus et les adénovirus), colorations jaune, blanche, orange et rouge de différents organes végétaux, protection contre les UV, défense des plantes contre les divers agresseurs ...etc.	Ghedira, 2005 Derbel et Ghedira, 2005 Benhamza, 2008 Manolaraki, 2011
Acides phénoliques	Antioxydants, anti-inflammatoires, empêcher la formation du cancer des poumons chez les souris, inhibe la formation du cancer œsophagien chez les rats...etc.	Adjadj, 2009
Tanins	Antioxydants, inhibition des enzymes, cardioprotéctions, anti-inflammatoire, effets sur la thermogénèse (oxydation des graisses alimentaires), propriété vitaminiques P, antiseptiques (antifongiques, antimicrobiens, antiviraux), défense des plantes face aux agressions par divers phytopathogènes (bactéries, champignons, nématodes) et des prédateurs (insectes, herbivores)	Derbel et Ghedira, 2005 Manolaraki, 2011

3. Activités biologiques des extraits de plantes médicinales :

Dans le but de déceler une ou plusieurs activités biologiques, les extraits de plantes, préparés à l'aide de différents solvants, sont soumis à une série de tests biologiques et pharmacologiques qui, à plusieurs reprises, se sont révélés positifs; concluant que ces plantes sont pourvues d'activités biologiques prometteuses pour des usages thérapeutiques (Tableau II).

Tableau II: Activités biologiques de plantes médicinales.

Nom de la plante	Activité biologique	Type d'extrait	Références bibliographiques
<i>Asparagus virgatus</i> , <i>Ocotea bullata</i> , <i>Guiera Senegalensis</i>	Antioxydant	Les huiles essentielles, extrait méthanolique,	Steenkamp et al., 2005 Kouamé et al., 2009
<i>Fraxinus japonica</i> <i>Fraxinus ornus</i> , <i>Khaya senegalensis A</i>	Anti-inflammatoire	Extrait aqueux et méthanolique, extrait éthanolique, extrait aqueux et méthanolique et chlorophormoque	Kostova et Iossifova, 2007 Lompo et al., 1998
<i>Bidens pilosa</i> <i>Galipea longiflora</i>	Antiparasitaire	Les huiles essentielles, extrait éthanolique	Brandao et al., 1997 Nguyen-Pouplin et al., 2007 Fournet et al., 199
<i>Hypericumreolutum</i> <i>Dianella longifolia</i> <i>P. ternifolia</i>	Antivirale	Extrait éthanolique, extrait aqueux	Sindambiwe et al., 1999 Cos et al., 2002
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> <i>Clematis hirsuta</i>	Antifongique	Extraits aqueux, méthanolique et éthanolique	Senhaji et al., 2005 Cos et al., 2002
<i>Salvia officinalis L.</i> <i>Mangifera indica</i>	Antibactérienne	Les huiles essentielles, extrait éthanolique	Keita et al., 2004 Djeddi et al., 2012
<i>Fraxinus excelsior</i> , <i>Vitex doniana</i> <i>Sclerocarya birrea</i>	Di-uritique	Extrait aqueux et méthanolique, extraits aqueux	Kostova et Iossifova, 2007, Rokia et al., 2009
<i>Hylocereus polyrhizus</i> , <i>Bouea burmanica</i> <i>Annona muricata</i>	Antiproliférative	Extrait acetonique, extrait méthanolique	Wu et al., 2006 Atjanasuppat et al., 2009 De Melo et al., 2010
<i>Ximenia americana</i>	Antipyrétique	Extrait aqueux	Soro et al., 2009

3.1. Activité antimicrobienne :

Les plantes possèdent des propriétés et des substances antimicrobiennes actives, qui les protègent contre les infections dues aux micro-organismes (virus, bactéries, champignons et protozoaires) (**Le grand, 1989 ; Saunders, 2005**).

L'activité antifongique des extraits de plantes médicinales est très bien documentée (**Cos et al., 2002 ; Senhaji et al., 2005**), plusieurs études *in vivo* réalisées sur des souris blanches parasitées et *in vitro* contre les souches cliniques de *Candida albicans* (**Mogode, 2005; Maregesi et al., 2008**), *Trichophyton rubrum* (**Rodrigues, 2012**), *Aspergillus niger* (**Maregesi et al., 2008**) ont montrées que les différents extraits de plantes sont doués d'un pouvoir antifongique.

L'activité antibactérienne est également très étudiée, selon **Mogode, 2005** tous les extraits de *Cassia nigricans* testés sur les souches bactériennes de type *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus β* hémolytique et *Escherichia coli* (*E. coli*), Les extraits dichlorométhane et éther de pétrole présentent tous une activité antibactérienne contre *E. coli* mais pour les *Streptococcus β*, seul l'extrait éther de pétrole a montré une activité sur cette souche.

Plusieurs souches bactériennes se sont montrées sensibles à l'action des extraits de plantes, concernant essentiellement les bactéries G⁺ telles que *S. aureus* (**Le Grand, 1989**), mais aussi les G⁻ telles que *E. coli* (**Keita et al., 2010**).

L'activité antivirale, est de plus en plus étudiée (**Yip et al., 1991; Semple et al., 1998**), surtout avec l'émergence de nouveaux virus. L'efficacité de certaines plantes médicinales, dans le traitement des maladies infectieuses d'origine virales, notamment la diarrhée ou la dysenterie est mise en évidence selon plusieurs études (**Lohezic-Le Devechat et al., 2002; Keita et al., 2004**).

3.2. Activité antiproliférative (cytotoxique) :

Plusieurs plantes médicinales semblent réduisent la prolifération cellulaire, d'après **Badiaga, 2011**, la capacité antiproliférative des extraits d'alcaloïdes totaux issus de *Nauclea latifolia* est mise en évidence après un test anti-tumoral réalisé sur une lignée cancéreuse mammaire, les cellules sont traitées avec des extraits de plantes à différentes concentrations. L'extrait ethanolique, aqueux et l'extrait des huiles essentielles de *Artemisia campestris* ont montré un pouvoir anti-tumoral selon **Akrouit et al., en 2011**, contre le cancer du colon

grâce aux terpènes contenues dans ces extraits, ainsi que l'extrait hexanoïque, éthanolique et aqueux de *Thymelaea hirsuta*.

Le mécanisme d'action de ces substances antimicrobiennes peut être à l'origine d'une éventuelle cytotoxicité (activité antiproliférative) et/ou génotoxicité cellulaire, par leurs interactions avec les protéines et/ou le matériel génétique de la bactérie (**Le grand, 1989 ; Saunders, 2005**).

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

4. Rappel sur le cycle cellulaire :

C'est la période comprise entre la formation d'une cellule, à partir d'une autre cellule ancestrale et sa division, à son tour par mitose en deux cellules filles. Le cycle cellulaire comporte l'interphase et la mitose. L'interphase correspond à la plus grande partie du cycle cellulaire ; qui sépare entre deux divisions successives ; elle se décompose en une phase G1, S et G2. Par contre la mitose qui se définit par la capacité de toutes les cellules, à l'exception des cellules nerveuses et des hématies à se diviser pour former deux cellules filles ayant le même patrimoine génétique et les mêmes caractères morphologiques que leur cellule mère. Elle se décompose en : **prophase (P) ; métaphase (M) ; anaphase (A) et télophase (T)**. La mitose distribue d'une façon équitable la quantité d'ADN (caryodièrese) et la même quantité du cytoplasme (cytodiérèse) entre les cellules filles (**Delattre, 2006**).

Le cycle cellulaire et le nombre de division que subit chaque cellule, sont contrôlés d'une manière très délicate ; pour prévenir toute génotoxicité et/ ou cytotoxicité suite à des perturbations dues à la présence d'un agent mutagène physique ou chimique (**Favaudon, 2000**).

5. Activité génotoxique :

La génotoxicité, appelée aussi toxicité génétique, est la propriété de certains agents mutagènes à induire des erreurs à l'ADN, pouvant conduire à des mutations géniques ou chromosomiques si elles ne sont pas réparées, ces dernières seront fixées dans le génome et il y aura ainsi des conséquences nuisibles pour la santé des organismes exposés et/ou de leur descendance : infertilité, cancers, ...etc. (**Dégremont et Cachot, 2009**).

6. Les agents mutagènes :

Les composés génotoxiques sont des agents physiques, chimiques ou biologiques (virus tel que les rétrovirus), qui par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, induisent des modifications génétiques dans les cellules vivantes, et ils sont classés dans deux catégories :

- ◆ les génotoxiques directs : modifient directement la structure de l'ADN,
- ◆ les progénotoxiques : une première activation par un métabolite est nécessaire pour exercer leurs effets génotoxiques (processus de bio-activation), par exemple les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) (Tableau III) (**Tarantini, 2009; Dingeon, 2009; Michel, 2011**).

6.1. Les mutagènes physiques :

Les principaux génotoxiques physiques sont les rayonnements ionisants (rayons X ou gamma) et non ionisants (la lumière ultraviolette) (**Dégremont et Cachot, 2009**).

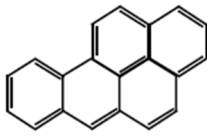
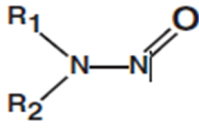

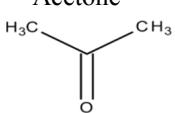
✚ **Radiations ionisantes** : La génotoxicité est provoquée par le transfert de l'énergie de l'électron libéré par les photons aux macromolécules de la cellule ; ce qui va provoquer leurs excitation (ionisation) et des dommages au niveau de l'ADN et des cassures doubles brin (**Michel, 2011**).

✚ **Rayonnements non ionisants (les ultraviolets)** : Ces rayonnements provoquent généralement des liaisons covalentes entre des pyrimidines adjacentes. Les UV-C et UV-B sont très dangereux car ils provoquent des lésions létales par la dimérisation des bases pyrimidiques (T, C) (**Michel, 2011**).

6.2. Les mutagènes chimiques :

L'utilisation des substances chimiques devient de plus en plus fréquent et en développement continu, (Tableau III). Il existe un nombre illimité de ces mutagènes, qui provoque divers conséquences souvent dangereuses sur l'environnement et la santé humaine, même à faible dose (**El Yamani et Barrillon, 2006**).

Tableau III : Les mutagènes chimiques.

Mutagène	Sources	Structure	Références
HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques	Combustion incomplète à haute température de la matière organique : systèmes de chauffage, gaz d'automobile, production d'énergie (centrales thermiques), production industrielle (aciérie, bois...), l'incinération de déchets, déversement pétroliers dans l'environnement, feux de forêt, éruption volcaniques ...etc.	Benzo (a) pyrène 	Tarantini, 2009 AIRFOBEP, 2004
Nitrosamines	Réduction des nitrates et des nitrites : conserves alimentaires, les boissons fermentées, le tabac et les fumiers, au cours de procédés industriels (production de caoutchouc, transformation et la conservation du poisson, la transformation du cuir...), au cours de la fermentation bactérienne.		Dégremont et Cachot, 2009
Amines aromatiques	Industrie du caoutchouc, de synthèse des colorants, de fabrication des durcisseurs, secteur de la recherche, la fumée de cigarette et l'alimentation	Benzidine 	
solvants organiques (substances de dilution et de dissous)	Peintures, vernis, laques, colles, encres, colorants, matières plastiques, pesticides, carburants, mais aussi dans les produits cosmétiques et dans les médicaments.	Acétone 	

7. Les dommages à ADN induits par les différents mutagènes :

Les agents peuvent induire des dommages multiples au niveau de l'ADN tels que :

- Cassures de chaînes d'ADN qui surviennent suite à une rupture d'enchaînement, elles peuvent être mono ou double brins, elles ont des origines endogènes et exogènes variables, par exemple : les radicaux libres (endogènes et exogènes), les radiations ionisantes (naturelles et artificielles) et les agents mutagènes chimiques (les anti-tumoraux) (**Raffin, 2009**) ;
- Synthèse non programmée de l'ADN, liaison (covalente) du mutagène à l'ADN, micronoyau (cellule binucléée),
- Mésappariements de bases,
- Mutation d'un locus spécifique, translocation héréditaire, mutation létale dominante,
- Anomalies chromosomiques, y compris l'aneuploïdie, provoquée par une mauvaise ségrégation chromosomique,
- Echanges de chromatides sœurs,
- Délétion de bases, substitution de bases...etc. (**Pilliere, 1991; Averbeck, 2000; CEE, 2001**).

7.1. L'azide de sodium :

C'est un composé ionique de formule NaN_3 , soluble dans l'eau et certaines solutions contenant un minimum d'azide d'hydrogène. Appelé aussi promutagène car il est métabolisé par les cellules en une forme mutagène, qui est l'azidoalanine résultant de la condensation de l'azide avec O-acétylserine par l'action de l'enzyme O-acétylserine sulfhydrylase. Il 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**). Il est utilisé en agriculture comme nématocide, herbicide, bactéricide, stimulateur de la germination des graines, désinfectant des orges, stérilisant du sol, agent de conservation des produits médicaux de diagnostic, inhibiteur métabolique dans les laboratoires médicaux, c'est un puissant mutagène dans certains organismes et non mutagène dans d'autres (**Silhankova et al., 1979**).

Considéré comme métabolite, NaN_3 est un puissant mutagène de l'orge, pois, *Salmonella typhimurium*, levures, *Escherichia coli* et beaucoup d'autres plantes supérieures et espèces microbiennes, mais il a une faible capacité mutagénique pour les cellules des mammifères, et aucun effet mutagénique sur *Arabidopsis*, *Drosophila* et *Neurospora* (**Rines, 1985; Olsen et al., 1993**). L'une des études faite sur l'azide de sodium a utilisé l'orge, cette étude a montré (par séquençage du gène qui code pour dihydroflavonol 4-reductase) que NaN_3 a provoqué la 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**).

Afin d'évaluer le potentiel génotoxique d'une substance chimique y compris les métabolites de plantes, les chercheurs ont développé plusieurs tests *in vivo* et *in vitro* réalisables sur des espèces bactériennes et eucaryotes différentes.

8. Tests d'évaluation de la génotoxicité/mutagénicité :

Les tests de génotoxicité deviennent de plus en plus utilisables dans tous les domaines de la vie, dont la finalité est l'évaluation des effets nocifs de certaines substances sur les espèces vivantes et la prévention des conséquences des différentes altérations de l'ADN due à des facteurs multiples. Parmi plusieurs on va citer :

8.1. Test de Ames :

Ce test a pris le nom du professeur Bruce N. Ames qui l'a développé au début des années 70. La plupart des nouvelles substances pharmaceutiques et chimiques sont soumises à ce test. Il est très impliqué dans la détection des carcinogènes *in vitro*, en utilisant la mutagenécité bactérienne, sur des souches *Salmonella typhimurium*. Il consiste à mettre le produit qu'on souhaite tester dans un milieu pauvre en histidine en présence des *Salmonella* (His^-). Quand l'acide aminé est épuisé, seules les bactéries ayant subi une mutation (devenues His^+ suite à une réversion de mutation), pourront se développer et ainsi on pourra les isoler. Un produit est qualifié de mutagène s'il provoque une augmentation du taux de réversion par rapport au témoin (Ames et Lynne, 1980; Le Curieux, 1995).

8.2. Test de SMART (Somatic Mutation And Recombination Test)

Le test de SMART est réalisable *in vivo* sur l'espèce *Drosophila melanogaster*, qui est l'un des meilleurs modèles eucaryotes multicellulaires, génétiquement caractérisés par plusieurs gènes homologues à des gènes humains. Ce test consiste à vérifier l'effet génotoxique d'une substance chimique (par exemple un extrait de plante); en prenant des mouches adultes qui seront exposés à des concentrations variables du mutagène; pour être comparés à la fin à des lots témoins. Pour cela, la mutation somatique WING et l'essai de recombinaison chez des hétérozygotes *mwh/flr3* issus du croisement des mouches de phénotype *multiple wing hair* et *flare* ont été mis en évidence (Frei et al., 1997 ; Felicio, 2011 ; Deepa et al., 2012).

8.3. Test des comètes :

L'ADN chargé négativement, sur un gel d'électrophorèse migrera vers l'anode sous l'influence d'un courant. Un ADN endommagé (qui présente des cassures) va donc migrer et le noyau prend ainsi la forme d'une comète d'où le nom du test. C'est un test de mutagenécité, cytotoxicité et de génotoxicité, réalisable sur des lymphocytes humains *in vitro* ou sur des cellules épidermiques de la peau *in vivo* (Tafazoli et Volders, 1996; Michel, 2012; Toyozumi, 2012).

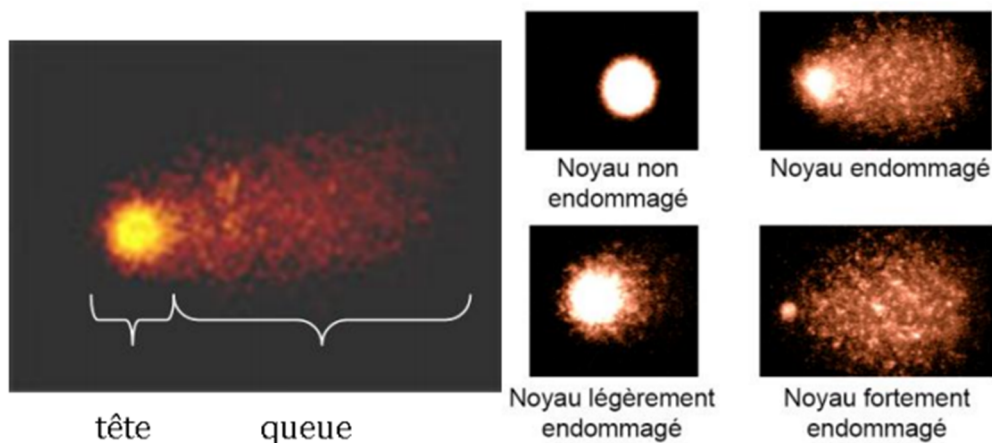


Figure 05 : Comparaison entre un noyau endommagé et un deuxième non endommagé (Michel, 2011)

8.4. Test d'aberrations chromosomiques :

Le test est basé essentiellement sur l'évaluation *in vivo* du risque d'aberrations chromosomiques dues à la présence d'un mutagène et l'identification de ce dernier ; ce test peut servir également à la détection d'un mutagène sur un système *in vitro*. Il s'applique généralement sur la moelle osseuse (un tissu très vascularisé et facile à prélever) des rongeurs (souris) traités avec de la colchicine (inhibiteur du fuseau) avant leur sacrifice. Les cellules en métaphase sont examinées sous microscope après une coloration dans le but d'isoler les différents types d'aberrations chromosomiques (OCDE, 1997).

8.5. Test de micronoyaux :

Un micronoyau est le résultat probable de cassures chromosomiques et la formation d'une petite membrane autour de ces fragments dans le cytoplasme des cellules en interphase (Fenech, 2000). Ce test peut être réalisé *in vivo* et *in vitro*.

➤ *In vitro* :

En présence d'un mutagène, les cellules végétales peuvent présenter des micronoyaux dans leur cytoplasme. Ces derniers sont à dénombrer sous microscope après coloration des cellules racinaires végétales. La fréquence d'apparition de ces micronoyaux est un marqueur de genotoxicité (Foltete, 2010). Si une augmentation significative du nombre de cellules micronucléées par rapport au lot témoin est observée ; le composé testé est donc génotoxique (Le Curieux, 1995).

➤ ***In vivo*** :

Ce test de génotoxicité s'applique sur des cellules hépatiques, prélevées chez des souris adultes traitées deux fois ; avec un intervalle de 24h par le même produit procarcinogène. Les souris vont subir une hépatectomie partielle 24h après le deuxième traitement; dans le but d'induire une stimulation mitotique. Le pourcentage des hépatocytes micronucléés est déterminé 96h après l'hépatéctomie et comparé à un lot témoin (**Cliet et al., 1989**).

8.6. Test de génotoxicité *Allium cepa* :

Des études récentes ont montré que l'exposition à long terme à des plantes médicinales traditionnelles peut être associée à une augmentation des taux de morbidité et de mortalité. En plus de la toxicité, la génotoxicité possible des plantes médicinales a été étudiée dans les dernières années. Le test *Allium cepa* est un test de génotoxicité *in vitro* réalisable sur des cellules méristématiques d'oignon en stade de croissance (divisions mitotiques) traitées avec différentes concentrations de l'extrait qu'on souhaite étudier, pour être comparées à la fin à des lots témoins : Le premier servira de contrôle négatif (traitement des racines avec de l'eau distillée) et le deuxième sera le contrôle positif (traitement des racines avec un agent mutagène chimique). Un extrait est jugé génotoxique si son indice mitotique est significativement inférieur par rapport au témoin négatif, avec apparition de plusieurs types d'aberrations chromosomiques (**Rank, 2003; Kwan et al, 2012**).

Plusieurs études ont été réalisées sur un nombre important de plantes médicinales (Tableau IV), afin d'évaluer leurs effets génotoxique/antigénotoxique, par ces différents tests. Quelques unes sont rapportées dans le tableau suivant (IV).

Tableau IV: Quelques plantes médicinales étudiées pour leurs activités génotoxique/antigénotoxique.

Plantes médicinales	Méthodes utilisés	Mutagènes	Résultats	Composés actifs	Références
<i>Curcuma longa</i> (Turmeric) Zingiberaceae)	Test <i>Allium cepa</i>	Azide de sodium	Effet Anti-mutagénique (5µg/ml)	Curcumine	Ragunathan et Panneerselm, 2007
<i>Zuccagnia punctata</i> (Fabaceae)	-Test de comète (human hepatoma HepG2 cells)	4-nitroquinoline-N-oxyde, benzo[a]pyrene (B[a]P)	Non génotoxique et effet anti génotoxique	2,4-dihydroxy-chalcone (flavonoïde)	Zampini et al., 2008
<i>Mangifera indica</i>	-Test de comète -Test de micronoyaux -Test de Ames	Cyclophosphamide (CP) Benzo(a)pirene sodium phenobarbital, NaN ₃ , aminofluorene (AF)	Non mutagénique et non génotoxique	Polyphénols	Rodeiro et al., 2006
<i>Annona squamosa</i>	-Test de comète (leucocyte) -Test de micronoyaux et -Test d'aberration chromosomique (moelle osseuse)	Cyclophosphamide (CP)	Génotoxique (biopesticide)	Extrait des graines	Grover et al., 2009
<i>Punica granatum L.</i> (Punicaceae)	Test de Ames	AF,	Génotoxique	Extrait de fruits (hydro-alcoolique)	Sanchez-Lamar et al., 2008
	-Test de Saccharomyces Cerevisiae -Test de micronoyau (moelle osseuse des souris)	CP, EMS (ethyl methane sulphonate)			
	-Test d'aberrations chromosomiques (ovaires d'hamster chinois)	MMC (Mitomycin-C)			
<i>Centella asiatica L.</i> (Umbelliferae)	-Test d'aberration chromosomique -Test d'échange de chromatides sœurs	Cyproterone acetate (CPA)	Non génotoxique Anti-Génotoxique	Extrait des feuilles (tèrpenes acides bioactifs)	Siddique et al., 2008
<i>Amaranthus L.</i> , <i>sorghum</i> (<i>Sorghum bicolor L.</i>) et <i>millet</i> (<i>Echinochloa frumentacea L.</i>)	-Test de Ames	2-nitrofluorene (2NF)	Non anti-mutagénique	Extraits de graines polyphénols	Mošovska et al., 2010
		3-(5-nitro-2-furyl)acrylic acid (5NFAA),	Effet Anti-mutagénique		
		H ₂ O ₂ , aflatoxin B1 (AFB1).	Anti-mutagénique		

Parmi les plantes médicinales, *Fraxinus angustifolia* présente plusieurs vertus thérapeutiques cités précédemment et évalués par plusieurs auteurs (**Kostova et Iossifova, 2007 ; Atmani et al., 2009**). Cette étude est consacrée à l'évaluation des effets génotoxiques et/ou anti-génotoxiques probables de cette espèce vis-à-vis un produit chimique mutagène ; l'azide de sodium.

1. Matériels :

1.1. Appareillage :

- ❖ Microscope et loupe optique (ZEISS),
- ❖ Centrifugeuse (SIGMA),
- ❖ Bain marie (MEMMET),
- ❖ Etuve (ECOCELL),
- ❖ Balance de précision (RADWAG),
- ❖ Agitateur (VELP),
- ❖ Sonicateur (RAYPA),
- ❖ Vortex (VELP),
- ❖ Pied à coulisse numérique (STAINLESS HARDENED),
- ❖ Lames, lamelles, tubes à essai, micropipettes, pipettes, éprouvettes, poires, béchers, Eppendorf, barreau magnétique, spatule, pince (TWEEZER), seringue, Erlenmeyer...etc.

1.2. Produits chimiques :

- ❖ CaSO_4 (Sulfate Calcium de PROLABO),
- ❖ MgSO_4 (Sulfate de Magnésium anhydre de SCHARLAU),
- ❖ NaHCO_3 (Bicarbonate de sodium de PROLABO),
- ❖ KCl (Chlorure de potassium),
- ❖ Carmin acétique.
- ❖ $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ (Acide acétique 45% d'ORGANICS),
- ❖ HCl (Chlorure d'hydrogène),
- ❖ DMSO (Diméthylsulfoxyde de PROLABO),
- ❖ NaN_3 (Azide de sodium de BIOCHEM Chemopharma),
- ❖ $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ (Ethanol de PROLABO).

1.3. Matériel végétal :

1.3.1. *Fraxinus angustifolia* :

Cette étude a été réalisée sur les feuilles et l'écorce de *Fraxinus angustifolia*, réputée par ses diverses vertus thérapeutiques et son usage fréquent en médecine traditionnelle locale.

Les feuilles de *Fraxinus angustifolia* (Figure 06) sont des feuilles adultes, grandes de 12 à 25 cm, glabres de 5 à 13 folioles, de 4 à 9 cm de long sur 1,5 à 2,5 cm de large, dentées de scies, toutes semblables, ovales-lancéolées (Beloued, 2001; Djerroumi et Nacef, 2004). L'écorce du genre *Fraxinus* (Figure 06) est de coloration grise cendrée, présentant une très grande importance médicinale. Cette description est semblable pour la plupart des espèces du genre *Fraxinus* y compris l'espèce *Fraxinus angustifolia* (Kostova, 2001).



Figure 06: Photographie des feuilles et de l'écorce de *Fraxinus angustifolia*

Selon Wallander (2008), la classification de *Fraxinus angustifolia* est comme suit :

Règne : plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Famille : Oleaceae

Genre : *Fraxinus*

Espèce : *Fraxinus angustifolia*

1.3.2. *Allium cepa* :

Les bulbes d'oignon utilisées dans cette étude sont des oignons communs de variété *Allium cepa* L. (2n=16) (Derainho et al., 2010) obtenues commercialement au marché de Bejaia (Algérie). Des bulbes intacts, de diamètre 3 à 7 cm, et d'un poids moyen de 25 g, ont été soigneusement sélectionnés (Figure 07).

❖ Nom scientifique et synonymes :

- **Nom scientifique :** *Allium cepa* L.
- **Synonymes:** *Allium ascalonicum* L.
Allium esculentum Salisb.
Allim porrum cepa Rehb.
Cepa rotunda Dod (Shrestha, 2004).

Selon Breu (1996) et Shrestha (2004) la classification de cette espèce est comme suite :

Règne: plantae
Division: Angiospermae
Sous division : Spermatophyta
Classe: Monocotyledoneae
Sous classe: Liliidae
Ordre: Liliaceae
Famille: Alliaceae
Genre: *Allium*
Espèce : *Allium cepa* L.



Figure 07 : Photographie de *Allium cepa* .

2. Méthodes :

2.1. Préparation des échantillons de *Fraxinus angustifolia* :

Les feuilles et les écorces de *Fraxinus angustifolia* (Figure 06) ont été récoltées en Juillet 2012 à Chemini (Wilaya de Bejaia), puis séchés à l'air libre et à l'abri de la lumière vive. Le matériel végétal sec a été réduit en poudre par broyage, suivi d'un tamisage jusqu'à l'obtention de poudres très fines (diamètre inférieur à 63µm).

2.2. Extraction :

Les poudres obtenues à partir de *Fraxinus angustifolia* ont subi une extraction dans un solvant organique. Elles ont été macérées dans l'éthanol (95%) sous agitation pendant 24 heures avec un rapport 1:4 (p : v). Après décantation pendant 12 heures, le surnageant a été centrifugé à 1500g durant 10 minutes, pour récupérer le surnageant exempt de toute trace de poudre. Ce dernier a été séché à température ambiante et à l'abri de la lumière vive. Après évaporation totale, la pesée de l'extrait sec a été prise jusqu'à stabilisation de son poids.

L'objectif de cette extraction est d'obtenir le maximum de composés contenus dans les poudres des feuilles et d'écorces de *Fraxinus angustifolia*.

2.3. Test de génotoxicité *Allium cepa*:

L'oignon (*Allium cepa*) a été choisi pour ce test de génotoxicité parce qu'il présente plusieurs avantages, notamment la manipulation rapide (3 à 4 semaines) et facile, puisqu'il s'agit de racines issues de bulbes entières, les chromosomes sont de taille importante et à nombre réduit ($2n=16$), ce qui rend leur visualisation possible y compris certaines aberrations chromosomiques et sa sensibilité aux mutagènes. De plus il est moins onéreux comparativement à d'autres tests de génotoxicité. Cela fait de cette plante un très bon modèle génétique pour la détection de la génotoxicité. Ce test a été réalisé selon la procédure de Grant (1982), avec quelques modifications.

2.3.1. Traitement des bulbes d'oignon :

Les bulbes d'oignon ont été nettoyés et bien lavés, notamment à l'extrémité des racines, elles sont ensuite immergées dans des petits flacons de 50 ml (Figure 08), remplis de milieu de culture et incubés dans l'étuve à température ambiante (25°C) pendant 24 à 48 heures, afin d'assurer la croissance des racines dans les mêmes conditions pour toutes les bulbes. Ce milieu de culture est composé de sels minéraux (CaSO_4 , MgSO_4 , NaHCO_3 , KCl) à différentes concentrations (Tableau en Annexe N°1), dissous dans l'eau distillée, favorable pour la croissance des racines.



Figure 08 : Photographie d'un lot de bulbes traités avec l'extrait de feuilles de *Fraxinus angustifolia*

Après leur croissance dans l'étuve, les jeunes racines ont atteint une longueur d'environ 0.5 à 1cm. Les oignons sont répartis en lots de 7 bulbes, en vue de les exposer pendant les prochaines 18 heures aux différentes substances qui vont servir de contrôle positif (Azide de sodium), (Annexe N°2), et négatif (eau distillée et DMSO) (Annexe N°2), suivi des lots traité uniquement par deux concentrations différentes d'extrait de feuilles et d'écorce de *Fraxinus angustifolia* (Annexe N°3) pour évaluer leur génotoxicité. Par la suite des traitements par le mélange azide de sodium au même temps que les extraits de *Fraxinus angustifolia* (Annexe N°4) pour un éventuel effet antigénotoxique de ces derniers. Les trois racines les plus longues ont été choisies pour être mesurées avant et après chaque traitement, afin de suivre leur croissance pendant la période du traitement.

Le diagramme expérimental et la composition des milieux des différents traitements sont récapitulés dans la figure 09 et les tableaux en Annexes N°2, 3 et 4 respectivement.

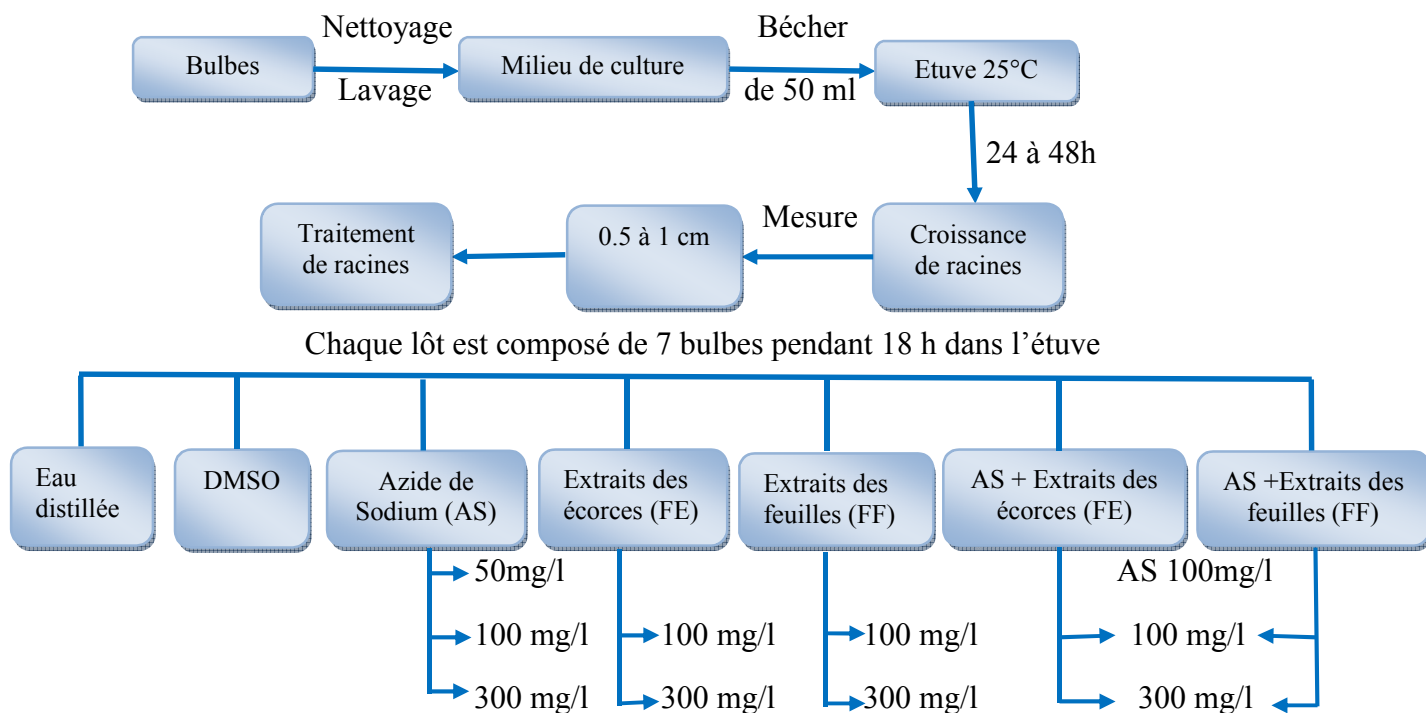


Figure 09: Schéma récapitulatif des étapes du traitement des bulbes *Allium cepa*

2.3.2. Traitement des racines et préparation des observations microscopiques:

Les racines de chaque bulbe ont été coupées à l'aide des ciseaux, pour être fixées séparément dans des tubes à essai respectifs, contenant une solution de fixation (3 :1, v/v de l'acide acétique 45% et éthanol). Après 24 h de fixation, ces racines ont subi un premier traitement avec une solution HCl (1N) en vue d'hydrolyser les parois cellulaires, pendant 10 min dans le bain marie à 60°C.

Ensuite les racines sont rincées avec de l'eau distillée et remises dans le bain marie pour 10 min, cette fois-ci pour être colorées dans la solution de carmin acétique (2%), pour visualiser les chromosomes. Après refroidissement, une racine est prélevée et coupée à l'extrémité méristématique terminale, à environ 0.5 cm sous une loupe optique, cet échantillon sera mis entre lame et lamelle puis écrasé, afin d'optimiser l'observation sous un microscope optique.

2-3-3-Examinations microscopiques :

L'analyse microscopique inclue le dénombrement d'environ 1000 cellules par échantillon; en tenant compte de leur stade de division cellulaire, le calcul de l'indice mitotique (MI) de chaque bulbe examiné a été obtenu par la formule (1) (**Laughinghouse IV, 2012**) ci après; et le repérage des aberrations chromosomiques a été simultanément effectué, ceci en consultant la lame de gauche à droite et de haut en bas, jusqu'à atteindre approximativement les 1000 cellules. Dans ce test, il est généralement recommandé de prendre surtout en considération, les aberrations chromosomiques en anaphase-télophase ; donc les deux catégories classiques d'anomalies chromosomiques de forme et de nombre les plus fréquentes, qui sont les bridges et les fragmentations (cassures et mauvaises ségrégations chromosomiques) (**Derainho et al., 2010**). Le taux des cellules aberrantes est calculé par la formule (2).

$$\text{L'indice mitotique (IM\%)} = \frac{\text{Nombre de cellules en mitose}}{\text{Total des cellules dénombrées}} * 100 \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{Le taux d'aberration (\%)} = \frac{\text{Nombre de cellules aberrantes}}{\text{Total des cellules dénombrées}} * 100 \dots\dots\dots(2)$$

2-4-Analyse statistique :

L'analyse statistique des résultats a été réalisée par le logiciel statistique Graph Pad Prism de l'analyse des variances, avec un seul facteur. La différence entre les témoins et les différents tests a été obtenue par le test de comparaison multiple Dunnett's avec $\alpha = 0.05$ et $p < 0.05$, $p < 0.01$ et $p < 0.001$.

1. Résultats :

1.1. Résultats de l'extraction:

L'extraction éthanolique menée dans cette étude à pour but d'extraire un maximum de composés actifs. Le rendement en extrait éthanolique sec est estimé à 12% à partir des feuilles et 5% à partir de l'écorce de *Fraxinus angustifolia*. Chaque extrait est caractérisé par sa couleur et son rendement par rapport à la matière sèche.

1.2. Tests de génotoxicité/anti-génotoxicité :

1.2.1. Aspect macroscopique des racines :

Aucun changement n'est signalé lors du traitement des racines avec le DMSO ou l'eau distillée, les extraits des feuilles et des écorces de *Fraxinus angustifolia* ont influencé la couleur des racines (couleur jaunâtre). Par contre avec l'azide de sodium à concentration 300mg/l, les racines obtenues ont perdu leur forme initiale et leur structure normale, elles étaient gonflées et faciles à se casser, mais aucun changement de couleur n'est remarqué. Ce même résultat est cité dans l'étude de **Singh, 2009** réalisée sur *Cassia tora* en utilisant l'azide de sodium comme mutagène.

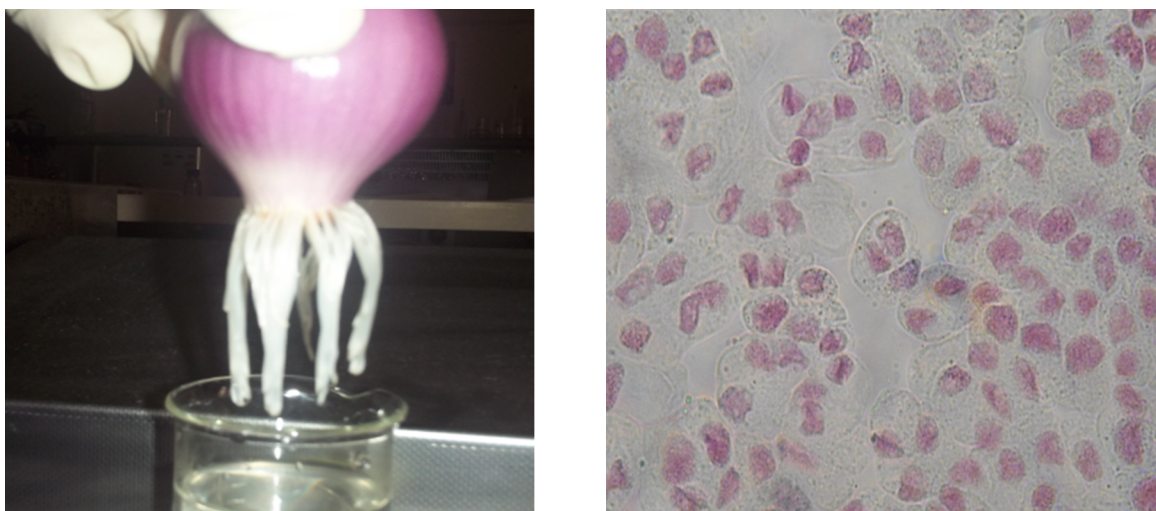


Figure 10 : Photographies de l'aspect macroscopique des racines et microscopique des cellules de *Allium cepa* traitées avec l'azide de sodium (300µg/ml).

1.2.2. Résultats des Taux de croissance des racines :

La mesure des racines de *Allium cepa*, avant et après traitement par les différentes substances à tester, a permis de calculer des taux de croissance (Tableau V), pour pouvoir évaluer les effets des extraits de *Fraxinus angustifolia* sur la croissance des racines en présence et en absence de l'azide de sodium. La figure en annexes N°5 représente l'histogramme des taux de croissance.

Tableau V : Résultats des taux de croissance

Traitements	Longueur des racines avant traitement (mm)	Longueur des racines après 18h de traitement (mm)	Taux de croissance %
Négatif (H ₂ O)	14.9 ± 0.5	20.2 ± 0.8	35.85 ± 2.02
DMSO	20.4 ± 0.3	26.5 ± 0.4	29.57 ± 2.2
Azide de sodium			
50mg/l	21.6 ± 0.4	24.3 ± 0.4	12.37 ± 1.01
100mg/l	17.2 ± 0.5	18.9 ± 0.4	09.94 ± 0.6
300mg/l	15.8 ± 2.02	16.3 ± 1.6	3.20 ± 0.5 *
Extraits de feuilles			
100mg/l	16.9 ± 0.3	22.9 ± 0.6	35.36 ± 2.2
300mg/l	19.6 ± 0.4	24.2 ± 0.9	23.71 ± 1.7
Extraits d'écorce			
50mg/l	18.7 ± 0.6	20.7 ± 0.7	10.63 ± 0.7
100mg/l	13.8 ± 0.4	17.3 ± 0.2	25.35 ± 1.3
300mg/l	15.9 ± 0.2	20.5 ± 0.5	28.89 ± 1.7
Extraits de feuilles + A.S (100mg/l)			
Feuilles 100mg/l	20.2 ± 0.9	21.8 ± 0.71	8.18 ± 0.6 *
Feuilles 300mg/l	10.7 ± 0.5	12.1 ± 0.4	13.13 ± 0.5 *
Extraits d'écorce+A.S (100mg/l)			
Ecorce 100mg/l	14.4 ± 0.6	15.6 ± 0.6	8.01 ± 0.4 *
Ecorce 300mg/l	16.2 ± 0.4	16.1 ± 0.62	-0.58 ± - 0.03 **

Il est évident, d'après ce tableau, que l'azide de sodium a un effet inhibiteur puissant sur la croissance des racines de *A. cepa* ($p < 0.05$) en le comparant avec le contrôle négatif (eau distillée) (Annexe N°5), par contre les extraits des feuilles et des écorces de *Fraxinus angustifolia* n'ont aucun effet significatif ($p < 0.05$) sur la croissance des racines (Annexe N°6). Lors du traitement des racines avec les extraits et le mutagène au même temps, il y a eu une inhibition significative ($p < 0.05$) du taux de croissance des racines, notamment avec les extraits des écorces (-1%) (Annexe N°7), mais en diminuant sa concentration de 300mg/l en 100mg/l le taux de croissance augmente. Cependant le traitement par les extraits de feuilles avec l'AS (Annexe N°5) améliore le taux de croissance. On remarque aussi que le DMSO à 0.5% n'a aucun effet significatif ($p < 0.001$) sur la croissance des racines par comparaison au contrôle négatif (eau distillée).

1.2.3. Indice mitotique (IM) :

Les observations microscopiques des cellules racinaires de *Allium cepa*, a permis de les examiner aux différents stades de division mitotique, et de mettre en évidence les différentes anomalies chromosomiques rencontrées.

1.2.3.1. Traitement séparé par l'azide de sodium/extraits de feuilles de *Fraxinus angustifolia* :

L'effet de l'azide de sodium et les extraits des feuilles de *Fraxinus angustifolia* sur l'IM des cellules racinaires de *Allium cepa* est illustré dans la figure N°11.

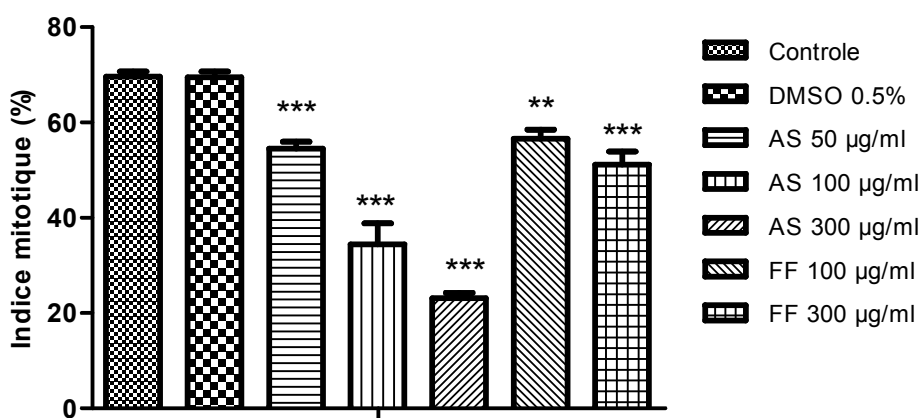


Figure 11: Résultats de génotoxicité des extraits des feuilles de *Fraxinus angustifolia* et de l'azide de sodium.

Les résultats de l'analyse statistique comparative entre le contrôle et le DMSO étaient non significatifs ($p < 0.05$), ce qui veut dire que le DMSO, utilisé pour dissoudre les extraits de *Fraxinus angustifolia*, n'a aucun effet sur les divisions cellulaires et l'IM des cellules de *Allium cepa*. En effet on remarque l'abondance des cellules en division mitotique normale, représentées dans la figure 12. En ce qui concerne les aberrations chromosomiques, elles sont négligeables et en nombre très réduit (3%) (Tableau en Annexe N°8).

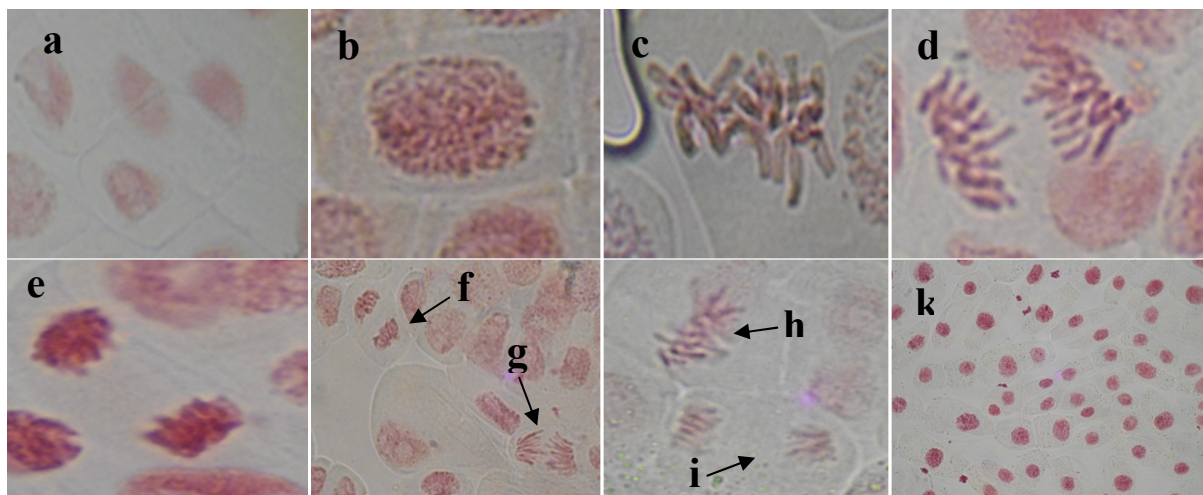


Figure 12 : Photographies des divisions normales des cellules méristématiques de *Allium cepa*. (X40 et X 100)
 a) Intérphase, b/k) Prophase, c/h) Métaphase, d/g/i) Anaphase, e/f) Télaphase

Pour le traitement des racines avec l'azide de sodium, à différentes concentrations (300,100 et 50 μ g/ml) les résultats étaient significatifs à $p < 0.001$ comparativement au contrôle, de cette constatation on peut déduire que l'azide sodium est fortement mutagène, toutefois cet effet est dépendant de la concentration, puisque il réduit de plus en plus l'indice mitotique en augmentant sa concentration de 50, 100 à 300 μ g/ml. Cette réduction de l'indice mitotique est accompagnée par l'apparition des aberrations chromosomiques (5‰ à 300 μ g/l, 2‰ à 100 μ g/l, 2‰ à 50 μ g/ml) (Figure 13), en particulier à la concentration de 300 μ g/ml avec dominance des C-mitoses (Annexes N°7). Il été remarquable aussi que le nombre de cellules en métaphase, anaphase et télaphase est réduit, avec une abondance des cellules en interphases et prophases (Tableau en Annexe N°6).

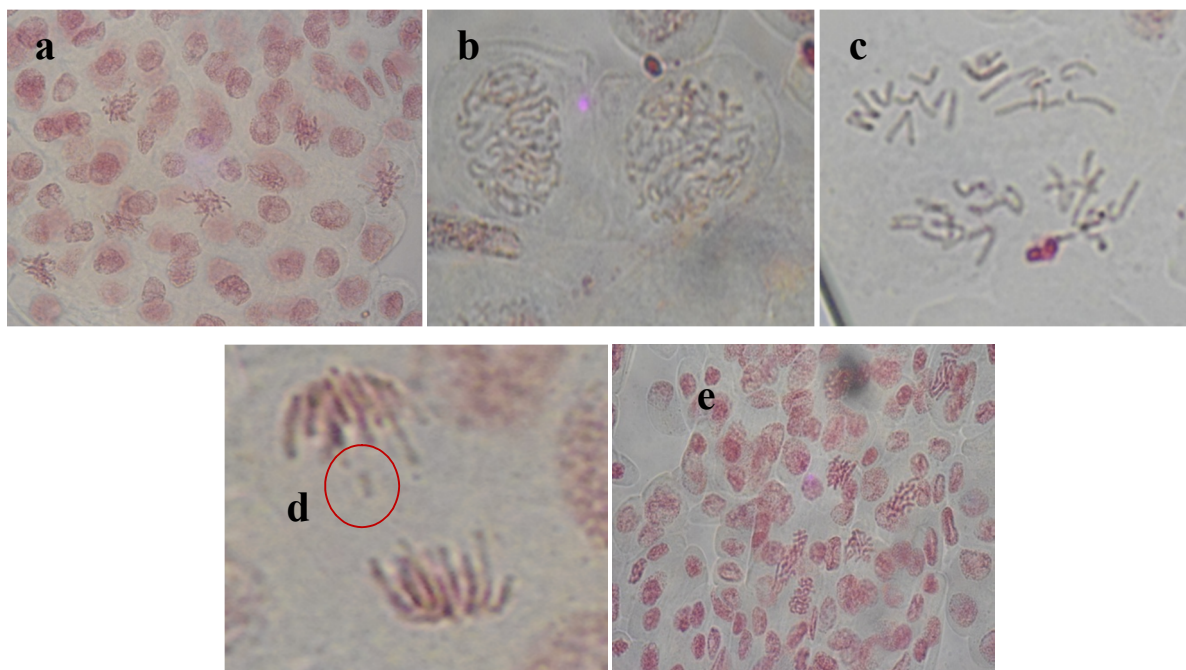


Figure 13 : Photographies des anomalies chromosomiques induites par l'azide de sodium (300µg/ml) (X40 et X 100)
a/b/e) C-mitose; d) Cassures; c) cellule multipolaire

Pour les extraits des feuilles de *Fraxinus angustifolia*, en les comparant avec le DMSO à 0.5%, les résultats étaient significatifs à la concentration de 100µg/ml ($p < 0.01$) et de 300µg/ml ($p < 0.001$), ces résultats indiquent la diminution de l'IM, ce qui démontre un effet génotoxicité des extraits des feuilles de *Fraxinus angustifolia* à des concentrations élevées. L'effet de l'extrait de feuilles de *Fraxinus angustifolia* à 300 µg/ml est comparable à celui de l'azide de sodium à 50 µg/ml. Cet effet est appuyé par l'apparition d'anomalies chromosomiques (4 et 5%) telles que les ponts chromosomiques, les anaphases perturbées et une augmentation de la fréquence des les C-mitoses (Figure 14), (Tableau en Annexe N°7).

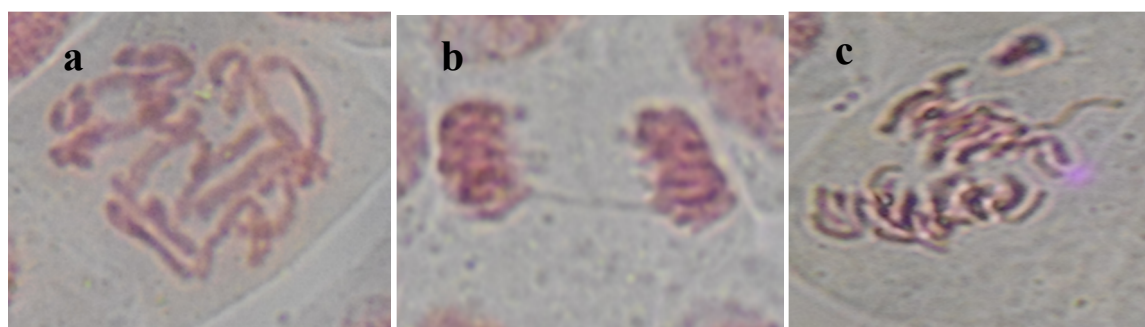


Figure 14 : Anomalies chromosomiques causées par les extraits des feuilles de *Fraxinus angustifolia* (X40, X 100). a) C-mitose, b) pont chromosomique, c) anaphase perturbée.

1.2.3.2. Traitement séparé par l'azide de sodium et les extraits des écorces de *Fraxinus angustifolia*:

Les résultats de l'IM des cellules méristématique des racines de *Allium cepa*, traitées avec les extraits des écorces de *Fraxinus angustifolia* sont représentées dans la figure 15.

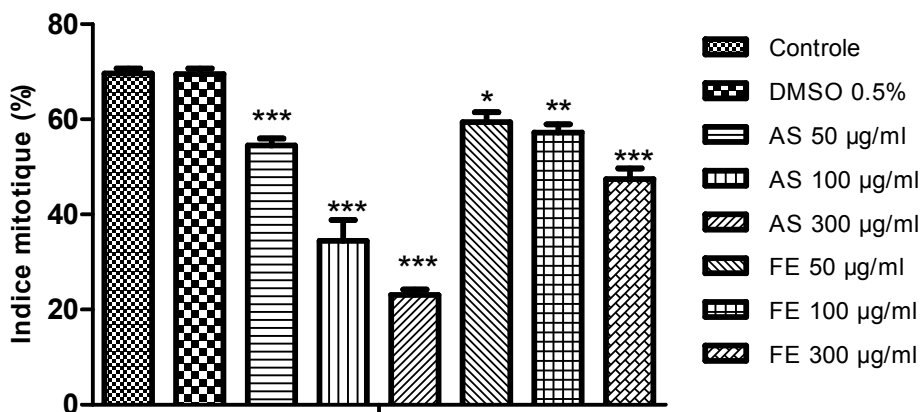


Figure 15 : Résultats de génotoxicité des extraits d'écorces de *Fraxinus angustifolia*

Par rapport au DMSO 0.5%, les extraits des écorces de *Fraxinus angustifolia* ont des effets significatifs variables selon les concentrations ; significatifs ($p < 0.05$) à 50µg/ml, hautement significatifs ($p < 0.01$) à 100µg/ml et très hautement significatifs ($p < 0.001$) à 300µg/ml. On remarque aussi que l'effet de cet extrait à 300µg/ml sur l'IM est comparable au contrôle positif (azide de sodium) à 50µg/ml, ce qui indique une génotoxicité dépendante de la dose de l'extrait de l'écorce. L'analyse microscopique a mis en évidence des aberrations chromosomiques (9.5 et 11.4%) soit pour le DMSO 0.5 % ou les extraits d'écorce (50, 100 et 300 µg/ml) (Figure 16 et Annexe N°8).

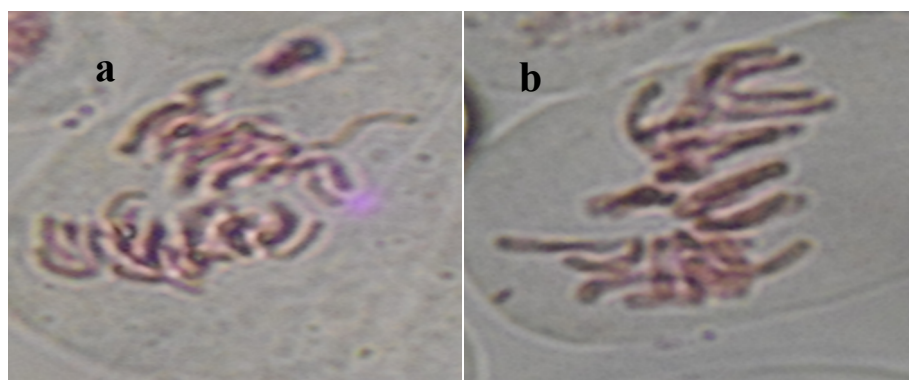


Figure 16 : Photographies des aberrations chromosomiques engendrées par les extraits des écorces de *Fraxinus angustifolia* (X40 et X 100). a) Anaphase perturbée, b) Métaphase perturbée

1.2.3.3. Traitement combiné par les extraits des feuilles de *Fraxinus angustifolia* et l'azide de sodium :

Le traitement combiné des bulbes de *Allium cepa* avec le mélange des extraits des feuilles de *Fraxinus angustifolia* et l'azide de sodium a permis de mettre en évidence leurs effets anti-génotoxiques vis-à-vis de ce mutagène à 100µg/ml. Les résultats sont représentés dans la figure 17.

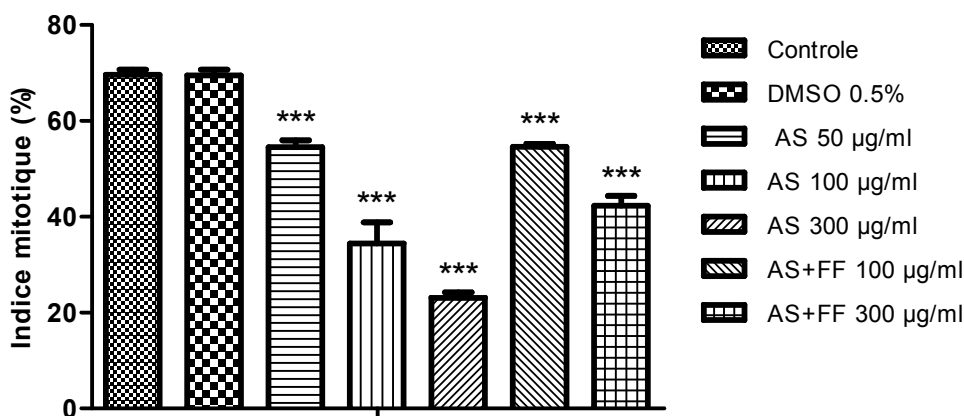


Figure 17 : Résultats du test d'anti-génotoxicité des extraits des feuilles de *Fraxinus angustifolia*.

Lors du traitement par les extraits des feuilles de *F. angustifolia* en présence de l'azide de sodium, les résultats sont significatifs ($p < 0.001$) comparativement au contrôle négatif, ce qui indique que les IM restent diminués par rapport aux contrôles négatifs (eau distillée et DMSO 0.5%), néanmoins ces indices mitotiques (divisions cellulaires) ont été améliorés par le traitement combiné (extraits de feuilles à 100 et à 300µg/ml et azide de sodium à 100 µg/ml) comparativement au traitement par l'azide de sodium seul à 100 µg/ml, notamment par la concentration de 100µg/ml de l'extrait de feuilles. Cette amélioration de nombre de cellules en division n'est pas accompagnée par une réparation des aberrations engendrées par l'azide de sodium (8.6 et 3.7%) indiquant ainsi un effet anticytotoxique et non pas antigénotoxique. Les C-mitoses formaient la majorité des aberrations chromosomiques rencontrées (Figure 18 ci dessous et Tableau en Annexe N°7).

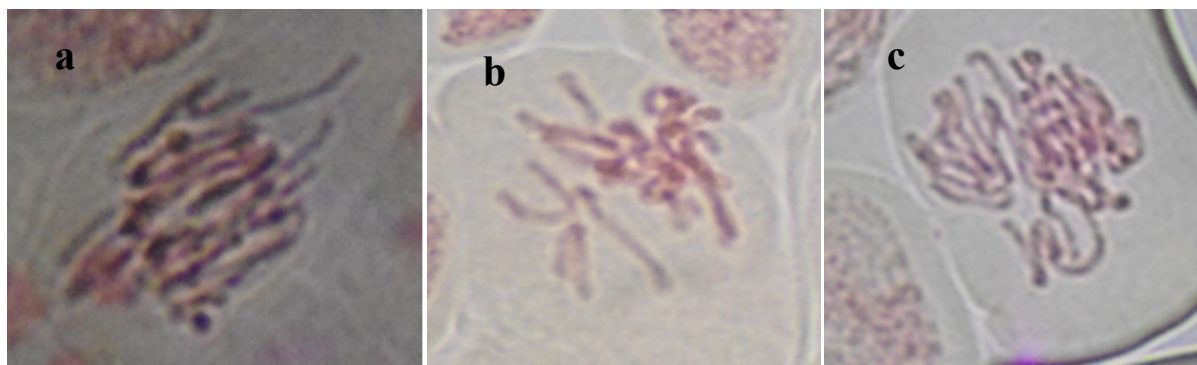


Figure 18 : Photographies des aberrations chromosomiques lors du traitement antigénotoxique des extraits des feuilles de *Fraxinus angustifolia* (X40 et X 100). a) Anaphase perturbée, b) Métaphase perturbée, c) C -mitose

1.2.3.4. Traitement combiné par les extraits d'écorces de *Fraxinus angustifolia* et l'azide de sodium:

Les extraits des écorces de *Fraxinus angustifolia* ont été également testés pour évaluer leurs effets anti-génotoxiques vis-à-vis de l'azide de sodium. Les résultats sont montrés dans la figure 19 si dessous.

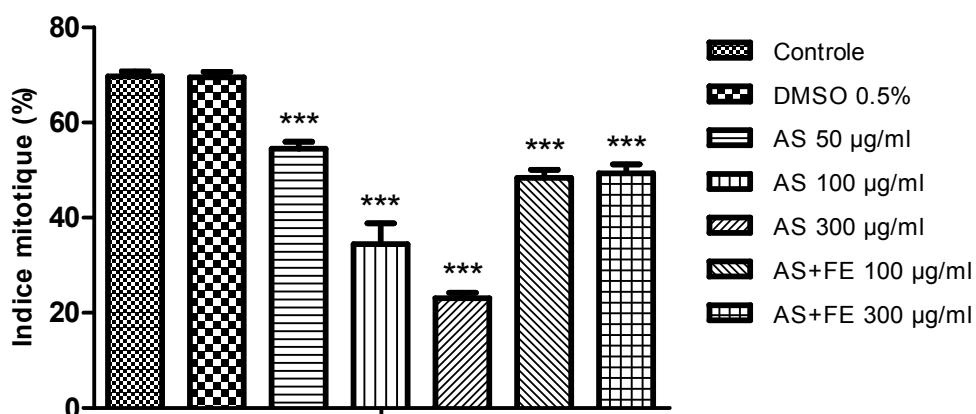


Figure 19 : Résultats d'anti-génotoxicité des extraits d'écorces de *Fraxinus angustifolia*

Les résultats de l'IM du traitement simultané par les extraits de l'écorces étaient hautement significatifs ($p < 0.05$) par rapport au contrôle, et les deux concentrations ont le même effet (IM très proches). En les comparants à l'A.S (100µg/ml), les deux concentrations (100 et 300µg/ml) d'extrait d'écorces ont un IM plus élevé, ce qui permet de dire que cet extrait a un effet antigénotoxique plus au moins important. La présence d'aberrations chromosomiques (5.5 et 10.5%) qui se résume uniquement au C-mitoses à la concentration de 100 et 300 µg/ml (Figure 20) (Tableau en Annexe N°7) indiquent que les extraits d'écorces ont exercé un effet anticytotoxique sans pour autant un effet antigénotoxique.

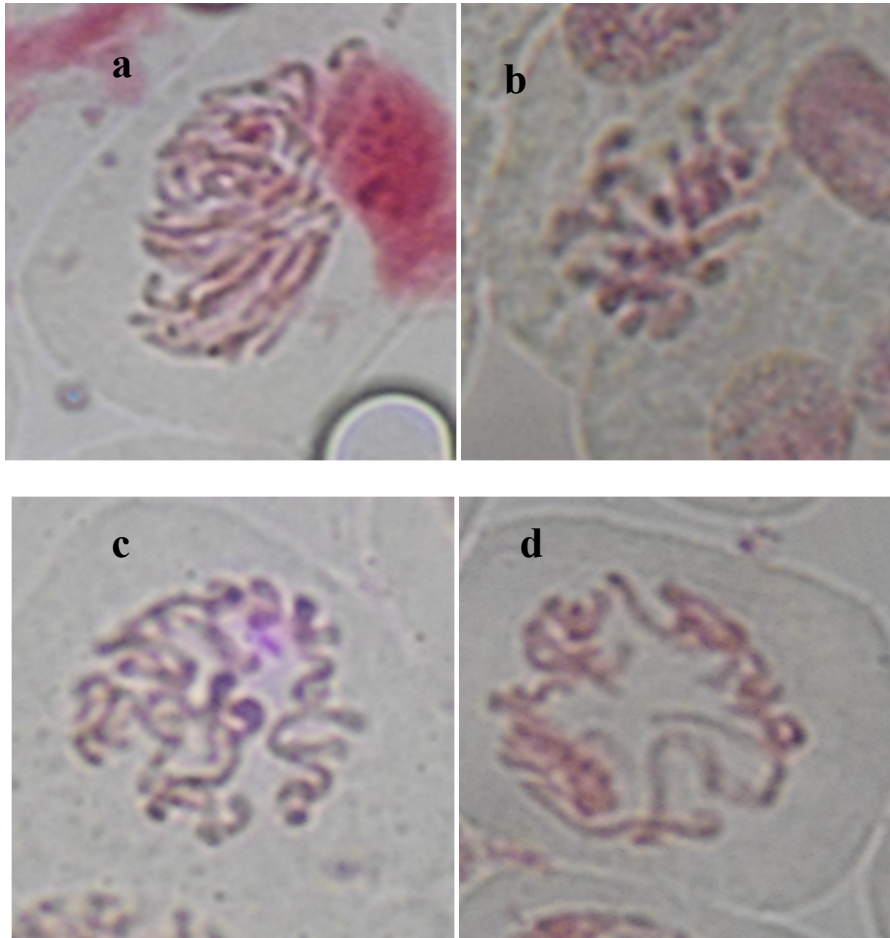


Figure 20 : Anomalies chromosomiques du traitement antigénotoxique des extraits d'écorces de *Fraxinus angustifolia*(X40 et X 100). a/b/c/d) C-mitose

Une absence de corrélation entre la restauration de l'indice mitotique et le taux ainsi que le type des aberrations chromosomiques doit être signalé.

2. Discussion:

2.1. L'extraction :

Il n'existe pas un seul protocole standard d'extraction de principes actifs à partir de plantes, néanmoins, l'utilisation des solvants permet d'optimiser l'extraction. Elle permet surtout de séparer les composés phénoliques, par diffusion dans les tissus de la plante, en utilisant une matrice liquide (le solvant) (Escribano-Bail, 2003).

L'extraction peut être influencée par plusieurs facteurs tels que : le prétraitement des échantillons (diamètre de la poudre), le ratio entre solvant/échantillon, le type de solvant, le temps de l'extraction et la température (Spingo et al., 2007; X.H. Xiao et al., 2009).

Dans cette étude, l'extraction est réalisée par l'éthanol, considéré comme le solvant le plus adéquat pour obtenir un maximum de polyphénols, suite à des études comparatives entre différents extraits issus de plantes différentes, où les extraits éthanoliques ont montré de meilleurs rendements (Adjobimey et al., 2004).

La différence dans les pourcentages d'extractions entre les feuilles et les écorces de *Fraxinus angustifolia*, réalisées par le même solvant et dans les mêmes conditions est reliée beaucoup plus à la nature des tissus et les matrices végétales, c'est-à-dire que l'écorce est constituée par des cellules mortes, imperméables qui permet uniquement les échanges gazeux (respiration des cellules qui composent les tissus vivants sous-jacents comme l'aubier), par contre les feuilles se composent de cellules vivantes et renouvelables (Le xylème et le phloème primaires), tout comme les jeunes tiges et les racines.

2.2. Tests de génotoxicité / anti-génotoxicité :

Les plantes sont utilisées depuis longtemps pour les études des changements génomiques dus à des facteurs externes; *Allium cepa* en fait partie. C'est la première plante parmi neuf autres plantes évaluées par le Programme Gene-Tox de l'Agence de Protection Environnemental des Nations Unis, et validé par le Programme International de la Sécurité Chimique (IPCS, WHO) et le Programme Environnemental des Nations Unis. Ce test est utilisé depuis 1920 (Kovalchuk et al., 1998 ; Kumari et al., 2009) pour évaluer la cytotoxicité et la génotoxicité des eaux (Smaka-Kincl et al., 1996 ; Leme et al., 2008 ; Barberio et al., 2009 ; Hoshina, 2009), des pesticides (Saxena et al., 2010), des herbicides (Yildiz et Arikan, 2008), des métaux lourds (Yildiz et al., 2009; Kumari et al., 2011), des fertilisants agro-alimentaire (Koca, 2008), des sols (Kovalchuuk, 1998; Srivastava et al.,

2005), des déchets industriels (Andrade-Vieira, 2012) ou des extraits de plantes (Akinboro et Bakare, 2007; Glinska et al., 2007; Rangunathan et al., 2007; Singh, 2009; De Rainho, 2010; Quari, 2010) .

2.2.1. Taux de croissance des racines :

L'inhibition de la croissance des racines et leurs mal formation, est un paramètre macroscopique considéré comme indicateur de cytotoxicité cellulaire, due à la diminution de nombre de cellules en division (Akinboro, 2007; Barbério et al., 2009 ; Yildiz et al., 2009; Qari, 2010).

La diminution de la croissance des racines de *A. cepa* traitées avec l'azide de sodium seul , est un indice de cytotoxicité (interférence de cette substance chimique avec le cycle cellulaire) (Barbério et al., 2009), qui peut être expliquée par un retard du cycle cellulaire provoqué par NAN3 puisque chaque phase a un temps optimale pour terminer sa division, le retard du cycle cellulaire perturbe la synthèse de l'ADN et donc la synthèse des protéines, y compris celles responsable de la croissance des racines (Grant, 1982; Smaka-Kincl et al., 1996; Kumari et al., 2011).

Certains métaux lourds, présents dans le sol ou dans la plante elle-même (*Allium cepa* ou extraits de *Fraxinus angustifolia*), peuvent inhiber aussi la croissance des organes végétatifs de certaines espèces de plantes (Akinboro, 2007; Yildiz et al., 2009; Qari, 2010).ce qui explique la réduction de la croissance des racines .

L'aspect jaunâtre des racines suite au traitement avec les extraits de feuilles et des écorces peut être dû à des interactions des composés contenus dans ces deux extraits avec les molécules cellulaires de *Allium cepa*.

2.2.2. Indice mitotique (IM):

L'indice mitotique est caractérisé par le nombre total de cellules en division, il est utilisé comme un bio-marqueur de prolifération en mesurant la proportion de cellules en mitose (Kwan, 2012); c'est à dire que c'est un paramètre d'évaluation de la fréquence des divisions cellulaires (Koca, 2008).

L'azide de sodium est connu par sa génotoxicité pour la plupart des plantes et autres organismes, mais pas pour les mammifères. Plusieurs hypothèses ont été proposées ; la plus adoptée : l'A.S ou/et l'azidolamine demande une autre activation où l'enzyme responsable de la conversion le transforme en une forme non mutagène (Arenaz et al., 1989).

Selon **Ragunathan et Panneerselvam (2007)**, quand l'A.S est dissous dans l'eau, il forme un gaz hydrogène azide très toxique, avec production d'ions d'azide qui peuvent être la raison de sa génotoxicité et sa cytotoxicité dans le système *Allium cepa*.

Une étude menée par **Singh en 2009** a rapporté que l'A.S diminue l'indice mitotique des cellules, dépendamment des concentrations, il cause des perturbations dans la métaphase surtout. Cette diminution persiste même en présence de l'extrait de *Cassia tora*.

Les résultats de cette étude, démontre que l'AS induit des aberrations chromosomiques en fonction des concentrations et diminue le pourcentage de l'IM au même temps, ce résultat est appuyé par l'étude de **Ragunathan et Panneerselvam en 2007**, mais le mécanisme exacte de son action était inconnu (**Owais et Kleinhofs, 1988**).

La diminution de l'IM dépendante de la dose du mutagène est un signe de cytotoxicité des racines *Allium cepa*, le niveau de cytotoxicité est proportionnel à l'IM et une diminution significative de ce dernier indique un effet mito-dépressif (blocage de la synthèse de l'ADN et les protéines nucléiques), antimitotique et changement de la durée du cycle cellulaire (phase S), suite à une interférence probable du mutagène avec le développement mitotique normale qui induit des troubles de mitose, ce qui explique le nombre élevé de cellules qui entre en prophase et le blocage du cycle mitotique entre interphase et prophase par inhibition de synthèse de l'ADN (**Hochina et al., 2009; Kumari et al., 2009; Yildiz et al., 2009; Saxena et al., 2010; Kumari et al., 2011**). Ce blocage peut être expliqué par la diminution de la fréquence des cellules en phase S et G2 ou diminution de la durée de la phase G2 et S, le blocage des cellules au niveau de ce point de contrôle (checkpoint G2/M) est le résultat d'un dommage d'ADN, ainsi les cellules sont identifiées à un stade G2 tardif-prophase précoce suite à une transition de la phase G2 vers la prophase. Cet effet peut être également le résultat d'une inhibition de la synthèse ADN/protéines du système biologique. (**Koca, 2008; De Rainho, 2010; Andrade et al., 2012; Kwan, 2012**).

La diminution de l'IM peut être associée aussi à une mauvaise ségrégation chromosomique des cellules en anaphase, lors du traitement des racines avec un mutagène chimique (**Andrade et al., 2012**). Cette diminution de l'IM dans les cellules méristématiques des racines de *Allium cepa* peut être interprétée comme une mort cellulaire d'après **Kwan, 2012**.

Les métaux lourds induisent la diminution significative de l'IM, ce qui indique leurs mitodépresseion qui serait due soit à leurs interférences avec le développement normal de la mitose, qui empêche un nombre de cellules d'entrer en prophase et le blocage de la mitose en interphase, soit à la contribution des métaux lourds à la diminution de la durée des phases G2 et S. (Yildiz et al., 2009).

2.2.3. Aberrations chromosomiques :

L'ensemble des aberrations rencontrées sont dues à des perturbations dans la distribution des fibres du fuseau mitotique (Pesnya et Romanovsky, 2013). L'action du mutagène sur le fuseau mitotique et les divisions des cellules méristématiques des racines de *Allium cepa*, ainsi que l'induction des dommages chromosomiques, indique une activité clastogène et antimitotique (Saxena et al., 2010).

Ces aberrations chromosomiques peuvent être non seulement une estimation de génotoxicité et de cytotoxicité probable mais aussi un indice de clastogénicité et d'aneugénicité (Kwan, 2012). l'effet aneugène est confirmé par la présence des C-mitose (anomalies chromosomiques) qui peuvent être due à un mauvais fonctionnement ou une inactivation du fuseau mitotique, suite à l'absence de la plaque équatoriale, qui par conséquent bloque le centromère de division (Leme et al., 2008; Hochina, 2009), ou à l'assemblage des microtubules (Andrade et al., 2012).

L'aberration chromosomique de type C-mitose (l'anomalie la plus fréquente) peut être réversible lorsqu'il s'agit d'une faible toxicité, mais elle peut engendrer une polyploïdie dans le cas où elle n'est pas reversée (Carita et Marin, 2008).

Le pontage (bridge) en anaphase-télophase est le résultat probable d'un chromosome retardé (stickiness) ou la ségrégation non équitable des chromosomes qui fait intervenir des troubles du fuseau mitotique (Herrero et al., 2012). Ils peuvent aussi être dus soit à des cassures chromosomiques ou à une fusion de chromosomes ou de chromatides (Koca, 2008; De Rainho, 2010). Ces ponts chromosomiques sont un indice d'une altération clastogène (Andrae et al., 2012). Ces ponts, entre un ou plusieurs chromosomes, peuvent être expliqués non seulement par des cassures, isolement ou réunion des terminaisons chromosomiques (télomères) (Yildiz et al., 2009), mais aussi par une réplication incomplète des chromosomes suite à une déficiente ou faible activité des enzymes de réplication ou à une réplication retardée des séquences hétérochromatiniennes au niveau des télomères d'ADN, c'est-à-dire

les ponts chromosomiques se forment si l'hétérochromatine se bloque avant de finir la réplication au moment où le noyau se prépare pour se diviser, selon **Yildiz et Arlikan (2008)**.

Les fragments chromosomiques peuvent être dus aux cassures chromosomiques, causées par une activité clastogène du produit chimique (**Hochina et al., 2009**).

Donc la diminution de l'indice mitotique et l'apparition des aberrations chromosomiques indiquent au même temps un effet cytotoxique et génotoxique sur les racines de *Allium cepa*.

L'absence de corrélation entre l'indice mitotique et le taux d'aberrations chromosomiques des lots traités par les extraits peut être due à la composition complexe des extraits, donc de multiples composés pour de multiples cibles d'action. Les polyphénols ont montré une action cytotoxique et génotoxique selon l'étude de **Akrout et al., 2011**, au même temps ils peuvent exercer un effet anticytotoxique/antigénotoxique d'après l'étude de **Mořovska et al., 2010**.

L'observation des aberrations chromosomiques, même si à des taux négligeables peut être expliquée comme étant des aberrations spontanées, puisque on a noté la présence de certaines aberrations dans les contrôles négatifs (eau distillée et DMSO 0.5%), ou bien induites par des traces de traitement phytosanitaire des bulbes d'oignon ; rappelant qu'ils ont été obtenus au marché (fin du mois de Mars-début du mois d'Avril), donc certainement traités au préalable par des conservateurs chimiques.

L'Algérie est caractérisée par une grande diversité écologique, ainsi elle présente une source potentielle pour les soins primaires, par l'utilisation des plantes médicinales. Ces dernières sont très utilisées en médecine traditionnelle pour soigner diverses maladies. La dose et la partie de la plante utilisée, ainsi que la manière de l'utilisation diffèrent d'une plante à une autre. Puisque à des grandes concentrations, les extraits de ces plantes peuvent engendrer des effets secondaires, voir même une toxicité cellulaire.

De ce fait l'évaluation de la cytotoxicité et/ou génotoxicité des extraits de feuilles et d'écorces de *Fraxinus angustifolia* a été réalisée.

Les résultats de comparaison des tests de génotoxicité indiquent que l'azide de sodium est génotoxique qu'elle que soit sa concentration (50, 100 et 300 µg/ml); alors que les extraits éthanoliques de feuilles et des écorces de *Fraxinus angustifolia* présentent une faible génotoxicité à des concentrations >300µg/ml.

Dans cette même étude les tests d'anti- cytotoxicité et d'anti-génotoxicité ont été menés par le traitement combiné des extraits de *Fraxinus angustifolia* et le mutagène NaN₃ à 100µg/ml. Les résultats de l'observation microscopique des cellules racinaires de *Allium cepa*, de l'indice mitotique et des taux de croissance des racines, indiquent que ces extraits peuvent lutter contre les mal-formations de l'ADN à de basses concentrations (l'extrait éthanolique des feuilles et des écorces de *Fraxinus angustifolia* a montré un effet antigénotoxique à une concentration de 100µg/ml).

Le résultat préliminaire de l'activité cytotoxique et/ou génotoxique est d'un grand intérêt pour son exploitation comme étant un anticancéreux, notamment si cette activité sera suivie de spécificité de cibles moléculaires dans les cellules anormales. L'activité antigénotoxique à de faibles doses est très importante à son tour, pour l'usage ces extraits de plantes comme des antimicrobiens.

Au terme de ces résultats on suggère le traitement avec les extraits de feuilles et d'écorce du frêne oxyphylle à des doses faibles.

CONCLUSION

Cette étude représente une initiation à la recherche des composés actifs à intérêts biologiques. Elle constitue une partie d'une thématique très intéressante, il serait en perspectives de l'approfondir par :

- La nature des composés responsables de cette génotoxicité, induite par les extraits des plantes,
- L'optimisation de l'extraction afin de minimiser les substances à effet génotoxique et favoriser les substances protectrices pour un usage approprié en thérapeutique.
- La vérification de ces résultats par une application sur d'autres types de cellules, en utilisant d'autres types de mutagène,
- Les substances cytotoxiques et/ou génotoxiques contenues dans ces extraits méritent également d'être purifiées pour l'étude de leur mécanisme d'action.

- A -

- Adjobimey, T., Edayé, I., Lagnika, L., Gbenou, J., Moudachirou, M. and Sanni, A. (2004).** Activités antiplasmodiales *in vitro* de quelques plantes antipaludiques de la pharmacopée béninoise. *Compte Rendu de Chimie* 7, 1023–1027.
- AIRFOBEP. (2004).** Participation au programme pilote de surveillance des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques. 31p.
- Akinboro, A. and Bakare, A. A. (2007).** Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. *Journal of Ethnopharmacology*, 112, 470–475.
- Akrout, A., Gonzalez, A. L., El Jani, H. and Campra Madrid, P. (2011).** Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 342–347.
- Ames, B. N. and Lynne, H. (1980).** Microsomes, drug oxidations and chemical carcinogenesis. Department of biochemistry, University of California, Berkely California, 16p.
- Andrade-Vieira, L. F., De Campos, J. M. S. and Davide, L. C. (2012).** Effects of Spent Pot Liner on mitotic activity and nuclear DNA content in meristematic cells of *Allium cepa*. *Journal of Environmental Management*. 107,140-164.
- Arenaz, P., Hallberg, L., Mancillas, F., Gutierrez, G. and Garcia, S. (1989).** Sodium azide mutagenesis in mammals: inability of mammalian cells to convert azide to a mutagenic intermediate. *Mutation Research*, 227, 63-67
- Atjanasuppata, K., Wongkham, W., Meepowpan, P., Kittakoop, P., Sobhond, P., Bartlette, A., and Whitfield, P.J. (2009).** *In vitro* screening for anthelmintic and antitumour activity of ethnomedicinal plants from Thailand. *Journal of Ethnopharmacology*, 123, 475–48.
- Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N. and Atmani D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry* 112,303–309.
- Averbeck, D. (2000).** Mécanismes de réparation et mutagenèse radio-induite chez les eucaryotes supérieurs. *Cancer/Radiothererapy*, 4, 335-54.

- B -

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia smith*, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences et Techniques, Université de Bamako. 183p.

Barbério, A., Barros, L., Voltolini, J.C. and Mello, M. L. S. (2009). Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the River Paraíba do Sul, in Brasil, with the *Allium cepa* L. test. *Brazilian Journal of Biology*, 69 (3), 837-842.

Beloued, A. (2009). Les plantes médicinales d'Algérie, technicien supérieur, département de botanique à l'institut national agronomique d'El-Harrach-Alger, 5^{ème} édition, Ed office des publications universitaires, 100p.

Benhamza, L. (2008). Effets biologiques de la petite centaurée *Erythraea centaurium* (L) Pers. Thèse de doctorat d'état en Sciences Vétérinaires. Université Mentouri de Constantine, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, département des sciences vétérinaires. 266 p.

Bertrand, C. (2009). Caractéristiques des extraits végétaux simples et intérêt agro-environnemental. Laboratoire de Chimie des Biomolécules et de l'Environnement –Université de Perpignan.

Bouxi, H. (2012). Les plantes médicinales et diabète de type 2. Thèse de doctorat en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Faculté de Médecine et de Pharmacie Fes. Maroc.106p.

Brandao, M. G. L., Krettli, A. U., Soares, L. S. R., Nery, C. G. C. and Marinuzzi, H. C. (1997). Antimalarial activity of extracts and fractions from *Bidens Pilosa* and other *Bidens* species (Asteraceae) correlated with the Presence of acetylene and flavonoid compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, 57, 131–138.

Breu, W. (1996). *Allium cepa* L. (Onion) Part 1: Chemistry and analysis. Institut für Pharmazeutische Biologie, Universitar München, Germany, Selectavet, Weyarn- Holzolling. *Germany Phytomedicine*, 3 (3), 293-306.

- C -

Calis, I., Hosny, M. and Lahloub, F.M. (1996). A secoiridoid glucoside from *Fraxinus angustifolia*. *Phytochemistry*, 41 (6), 1557.-1562.

Calis, I., Hosny, D., Khalifa, T. and Nishibe, S. (1993). Secoiridoids from *Fraxinus angustifolia*. *Phytochemistry*, 33(6), 1453-1456.

CEE. (2001). Produits chimiques cancérigènes, mutagènes, toxiques pour la reproduction : Critères de la classification européenne réglementaire, indication de danger et choix des phases indiquant les risques.9p.

Cliet, I., Fournier, E., Melcion, C. and Cordier, A. (1989). *In vivo* micronucleus test using mouse hepatocytes. *Mutation Research*, 216, 321-326.

Cos P., Hermans N., De Bruyne T., Apers S., Sindambiwe J. B., Witvrouw M., De Clerc E., Vanden Berghe D., Pieters L. and Vlietinck A. J. (2002). Antiviral activity of Rwandan medicinal plants against human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1). *Phytomedicine*, 9, 62–68.

- D -

De Melo, J. G., De Sousa Araujo, T. A., De Almeida Castro, V. T. N., De Vasconcelos Cabral, D. L., Do Desterro Rodrigues, M., Do Nascimento, S. C., De Amorim, E. L. C. and De Albuquerque, U. P. (2010). Antiproliferative Activity, Antioxidant Capacity and Tannin Content in Plants of Semi-Arid Northeastern Brazil. *Molecules* , 15:8534-8542.

De Rainho, C., Akaezer, A., Aiub, C. A.F. and Felzenszwalb. (2010). Ability of *Allium cepa* L.root tips and *Tradescantia pallida* var. *purpurea* in N-nitroso -diethyl amine genotoxicity and mutagenicity evaluation. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 82(4), 925-932.

Deepa, P.V., Priyanka, V., Swarna, R. and Akshaya, S. (2012). genotoxicity of benzaldehyde in *Drosophila melanogaster* using the wing somatic mutation and recombination test (SMART) and protein profiling. *International Journal of Medical and Clinical Research*, 3, 195-198.

Delattre, B. (2006). CUEEP USTL, Cours Sciences de la Nature et de la Vie : Partie 1 : notions de biologie cellulaire, Chapitre 3 : La division cellulaire ou mitose.21 p.

Derbel, S. and Ghedira, K., (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, 1, 28-34.

Djeddi, S., Bouchenak, N. S., Settar I. and Halli, L. (2012). Screening of chemical composition and antimicrobial potential of Algerian sage essential oil. *Global Journal of Medicinal Plant Research*, 1(1), 46-49.

Djerroumi, A. and Nacef, M. (2004). 100 plantes médicinales d'Algérie., palais de livre, pp : 45-110. ISBN: 9961-749-25-1.

- E -

El Yamani, M., and Barrillon, A. (2006). Agents : Substances chimiques. Afsset. 6p.

Esameldin, E., Elgorashi, Taylor, J. L. S., Maes, A. M., Van staden, J., De Kimpe, N. and Verschaeve, L. (2003). Screening of medicinal plants used in South African tradition medicine for genotoxic effects. *Toxicology Letters*, 143, 195-207.

Escribano-Bailon, M. T. and Santos-Buelga, C. (2003). Polyphenols extract from food. In: “Methods in polyphenol analysis”. *Edtion Royal Society of Chemistry*, 1-16.

- F -

Fattinger, K. and Meier, A. A. (23 juillet 2003). Interactions entre phytothérapie et médicaments. *Forum Med Suisse* No 29/30.

Favaudon, V. (2000). Régulation du cycle cellulaire et de la mort cellulaire radio-induite. *Cancer/Radiotherapie*, 4, 355-68.

Felicio, L. P., Silva, E. M., Ribeiro, V., Miranda, C. T., Vieira, I. L. B. F., Passos, D. C. S., Ferreira, A. K. S., Vale, C. R., Lima, D. C. S., Carvalho, S. and Nunes, W. B. (2011). Mutagenic potential and modulatory effects of the medicinal plant *Luehea divaricata* (Malvaceae) in somatic cells of *Drosophila melanogaster*: SMART/wing. *Genetics and molecular research*. 24 p.

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

Fleurentin, J. and Balansard, G. (2002). L'intérêt de l'ethnopharmacologie dans le domaine des plantes médicinales. Société Française d'Ethnopharmacologie et de la Faculté de Pharmacie, 27, Bd Jean Moulin, 13385 Marseille Cedex 05, France. *Med Trop.* 62, 23-28.

Foltete, A. S. (2010). Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia faba* (Fabaceae) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués. Thèse de doctorat, Université Paul Verlaine –Metz. 189p.

Fournet, A., Barrios, A. A., and Muñoz, V. (1994). Leishmanicidal and trypanocidal activities of Bolivian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 41, 19-37.

Fraxigen (2001). Ash species in Europe. Biological characteristics and practical guidelines for sustainable use. A summary of findings from the FRAXIGEN project, EU project EVK2-CT-00108. 26p.

Frei, H. and Wurgler, F. E. (1997). The vicinal chloroalcohols 1, 3-dichloro-2-propanol (DC2P), 3-chloro-1, 2-propanediol (3CPD) and 2-chloro-1, 3-propanediol (2CPD) are not genotoxic *in vivo* in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Génétic Toxicology and Environmental Mutagenesis: Mutation Research*, 394, 59–68.

- G -

Gahbiche, S. (2009). La phytothérapie. École supérieure des sciences et techniques de la sante de Sousse. Section: hydro-thermo-thalassothérapie.

Gerard, P. (2006). Isolement reproducteur et dispersion en zone hybride forestière: l'exemple des frênes (*Fraxinus excelsior L.* et *F. angustifolia Vahl*). Thèse de Doctorat en Sciences Forestières. Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et Forêts, Centre de : Paris. 29-34

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

Glinska, S., Bartczaka, M., Oleksiak, S., Wolska, A., Gabara, B., Posmyk, M. and Janas, K. (2007). Effects of anthocyanin-rich extract from red cabbage leaves on Meristematic cells of *Allium cepa L.* roots treated with heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68, 343–350.

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- 291.

Grover, P., Singh, S. P., Prabhakar, P. V., Reddy, A. U., Balasubramanyam, A., Mahboob, M., Rahman, M. F. and Misra, S. (2009). *In vivo* assessment of genotoxic effects of *Annona squamosa* seed extract in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1964–1971.

- H -

Herrero, O., Pérez Martín, J. M., Fernandez Freire, P., Carvajal López, L., Peropadre A. and Hazen, M. J. (2012). Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. *Mutation Research*, 743, 20–24.

Hoshina, M. M. and Marin-Morales, M. A. (2009). Micronucleus and chromosome aberrations induced in onion (*Allium cepa*) by a petroleum refinery effluent and by river water that receives this effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 2090–2095.

- I -

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

- K -

Keita, Y., Koné, O., Abdoul, K. and Häkkinen, V. (2004). Étude chimique et l'activité antibactérienne des distillats de quelques variétés de mangue de Guinée. *Compte Rendu de Chimie* 7, 1095–1100.

Khan, S., Al-Qurainy, F. and 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.

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

Kone, D. (2009). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes-extraction, identification d'alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse de Doctorat en Sciences et Techniques, Université de Bamako. 188p.

Kostova, I. (2001). *Fraxinus ornus L.* *Fitoterapia*, 72, 471-480.

Kostova, I. and Iossifova, T. (2007). Chemical components of *Fraxinus* species. *Fitoterapia*, 78 ,85–106.

Kouamé, J., Gnoula, C., Palé, EBassolé, H., Guissou, I. P., Simporé, J. and Nikiéma, J. B. (2009). Etude des propriétés cytotoxiques et anti-radicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis J. F. G mel* (Combretaceae). *Science et technique, Sciences de la santé*, 32 (1, 2).23p.

Kovalchuk, O., Kovalchuk, I., Arkhipov, A., Telyuk, P., Hohn, B. and 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. *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis: Mutation Research*, 415, 47–57.

Kumari, M., Mukherjee, A. and Chandrasekaran, N. (2009). Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. *Science of the Total Environment*, 407, 5243-5246.

Kumari, M., Sudheer Khan, S., Pakrashi, S., Mukherjee, A. and Chandrasekaran, N. (2011). Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of *Allium cepa*. *Journal of Hazardous Materials*, 190,613–621.

Kuwajima, H., Morita, M. and Takaishi, K. (1992). Secoiridoid, Coumarin and secoiridoid-Coumarin glucosides from *Fraxinus chinensis*. *Phytochemistry*, 31 (4), 1277-1280.

-L-

Laughinghouse IV, H. D., Pra, D., Stenico, M. E. S., Rieger, A., Frescura, V. D. S., Fiore, M. F. and Tedesco, S. B. (2012). Biomonitoring genotoxicity and cytotoxicity of *Microcystis aeruginosa* (Chroococcales, Cyanobacteria) using the *Allium cepa* test. *Science of the Total Environment*. 432,180-188.

Le Curieux, F., Giller, S., Marzini, D., Brice, A. and Erb, F. (2005). Utilisation de trois tests de génotoxicité pour l'étude de l'activité génotoxique de composés organohalogénés, d'acides fulviques chlorés et d'échantillons d'eau (non concentrés) en cours de traitement de potabilisation . *Revue des sciences de l'eau*, 9 (1).302.

- Le Grand, A. (1989).** Les phytothérapies Anti-infectieuses de la foret-savane, Sénégal (Afrique occidentale) : un résumé des substances phytochimiques et l'activité anti-microbienne de 43 species. *Journal of Ethnopharmacology*, 25, 315-338.
- Leme, D. M., De Franceschi De Angelis, D. and Marin-Morales, M. A. (2008).** Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. *Aquatic Toxicology*, 88, 214–219.
- Liu, R., Sun, Q., Sun, A. and Cui, J. (2005).** Isolation and purification of coumarin compounds from Cortex *Fraxinus* by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1072, 195–199.
- Lohezic-Le Devechat, A., Bakhtiar, C., Bezivin, M., Amoros, J. and Boustie (2002).** Antiviral and cytotoxic activities of some Indonesian plants. *Fitoterapia*, 73,400-405.
- Lompo, M., Ouedraogo, S., Sourabie, S., and Guissou, I. P. (1998).** Kase : valorisation d'une plante médicinale anti-inflammatoire. *Pharmacology Médecine Traditional of Afrique*, 10, 68-79.

-M-

- Manolaraki, F. (2011).** Propriétés anthelminthiques du sainfoin (*Onobrychis viciifoliae*) : Analyse des facteurs de variations et du rôle des composés phénoliques impliqués. Thèse de Doctorat en Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition. Université de Toulouse. 185p.
- Maregesi, S. M., Pieters, L., Ngassapa, O. D., Apers, S., Vingerhoets, R., Cos, P., Vanden Berghe, D. A. and Vlietinck, A. J. (2008).** Screening of some Tanzanian medicinal plants from Bunda district for antibacterial, antifungal and antiviral activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 119 ,58– 66.
- Michel, C. (2011).** Biomarqueurs de génotoxicité chez *Dreissena polymorpha* : indicateurs de la pression chimique urbaine et variabilité naturelle des lésions de l'ADN. Thèse de Doctorat en Ecotoxicologie. Ecole Doctorale Géosciences et Ressources Naturelles. Université Pierre et Marie Curie Paris VI. 218p.
- Mogode, D. J. (2005).** Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans Vahl* (Caesalpinaceae) utilisée dans le traitement des dermatoses au Tchad. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie. 234p.
- Mortelmans, K. and Zeiger, E. (2000).** The Ames *Salmonella* /microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*, 455, 29–60.
- Mošovska, I. C., Villarini, M., Moretti, M., Dominici, L. and Isla, M. I. (2010).** Evaluation of genotoxic and antigenotoxic effects of hydroalcoholic extracts of *Zuccagnia punctata Cav.* *Journal of Ethnopharmacology*, 115, 330–335.

Mošovska, S., Mikulašova, M., Brindzova, L., Valik, L. and Mikušova, L. (2010). Genotoxic and antimutagenic activities of extracts from pseudocereals in the *Salmonella* mutagenicity assay. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1483–1487.

-N-

Nguyen- Pouplin, J., Tran, H., Tran, H., Anh – Phan, T., Dolecekn, C., Farrar, J., Hien-Tran, T., Caron, P., Bodo, B. and Grellier, P. (2007). Antimalarial and cytotoxic activities of ethnopharmacologically Selected medicinal plants from South Vietnam. *Journal of Ethnopharmacology*, 109, 417–427.

-O-

OECD. (21 juillet 1997). Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. Guide line for the testing of chemicals. 23 p.

Okem, A. J. F., Finnie, J. and Staden, V. (2010). Pharmacological, genotoxic and phytochemical properties of selected South African medicinal plants used in treating stomach-related ailments. *Journal of Ethnopharmacologie*, 139, 712– 72.

Olsen, O., Wang, X. and 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.

Owais, W. S. and Kleinhofs, A. (1988). Metabolic activation of the mutagene azide in biological systems, *Mutation Research*. 197, 313-323.

-P-

Pesnya, D. S. and Romanovsky, A. V. (2013). Comparison of cytotoxic and genotoxic effects of plutonium-239 alpha particles and mobile phone GSM 900 radiation in the *Allium cepa* test. *Mutation Research*, 750, 27–33.

Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63 (7), 1035-1042.

Pilliere, F. and Falcy, M. (1991). Exposition aux produits chimiques génotoxiques. Institut National de Recherche et de Sécurité, 30 Rue Olivier Noyer 75680 Paris cedex 14 Service études et assistance médicale INRS, Paris. 336p.

Ping, K. Y., Darah, I., Umi kalsom, Y., Yeng, C. and Sasidharan, S. (2012). Genotoxicity of *Euphorbia hirta*: An *Allium cepa* assay. Institute for Research in Molecular Medicine (INFORMM), Universiti Sains Malaysia, 11800 Pulau Pinang, Malaysia. ISSN 1420-3049.

Quari, H. M. (2010). DNA-RADP Fingerprinting and cytogenetic screening of genotoxic and antigenotoxic effects of aqueous extracts of *Costus Speciosus* (Koen). *Journal of King Abdulaziz University: Science*, 22 (1), 133-152.

-R-

Raffin, A. L. (2009). Phénotypage de la réparation de l'ADN de lignées Xeroderma pigmentosum, par un test *in vitro* multiparamétrique. Thèse doctorale de l'Université Joseph Fourier – Grenoble I, Ecole doctorale Chimie et Sciences du Vivant laboratoire Lésions des Acides Nucléiques CEA Grenoble/INAC/SCIB/LAN. 281 p.

Ragunathan, I. and Pannerssel, Vam, N. (2007). Antimutagenic potential of curcumin on chromosomal aberration in *Allium cepa*. *Journal of Zhejiang University, SCIENCE B*, 8 (7), 1637-1581. .

Rank, J. (2003). The method of *Allium* anaphase- télophase chromosome aberration assay. Department of Environment Technology and Social Studies. Roskilde Denmark. 42p.

Rines, H. W. (1985). Sodium azide mutagenesis in diploid and hexaploid oats and comparison with ethyl methanesulfonate treatments. *Environmental and Experimental Botany*, 25(1), 7-16.

Rodeiro I., Cancino L., Gonzalez J.E., Morffi J., Garrido G., Gonza'lez R.M., Nunez A., and Delgado R. (2006), Evaluation of the genotoxic potential of *Mangifera indica* L. extract (Vimang), a new natural product with antioxidant activity. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1707–1713.

Rodeiro, I., Cancino, L., Gonza'lez, J. E., Morffi, J., Garrido, G., Gonza'lez, R. M., Nunez, A. and Delgado, R. (2006). Evaluation of the genotoxic potential of *Mangifera indica* L. extract (Vimang), a new natural product with antioxidant activity. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1707–1713.

Rodrigues, E. R., Nogueira, N. G. P., Zocolo, G. J., Leite, F. S., Januario, A. H., Fusco-Almeida, A. M., Fachin A. L., De Marchi, M. R. R., Dos Santos, A.G. and Pietro, R. C. L. R. (2012). Pothomorphe umbellate: Antifungal activity against strains of *Trichophyton rubrum*. *Journal de Mycologie Médicale*, 22, 265-269.

Rodzko, V., (2000). Abécédaire de phytothérapie, Liste alphabétique de plantes médicinales. 70p.

Rokia, S., Karadji Ayarga, H., Ouassa, D. and Drissa, D. (2009). Activité diurétique et salidiurétique d'une recette utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de l'hypertension artérielle. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako, Département Médecine Traditionnelle BP. 1746 Bamako. 6p.

-S-

- Sanchez-Lamar, A., Fonseca, G., Fuentes, J. L., Cozzi, R., Cundari, E., Fiore, M., Ricordy, R., Perticone, P., Degrassi, F. and De Salvia, R. (2008).** Assessment of the genotoxic risk of *Punica granatum L.* (Punicaceae) whole fruit extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 115, 416–422
- Saunders, P. R. (2005).** Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH. Canadian AIDS Treatment Information Exchange (CATI). 54 p.
- Saxena, P.N., Gupta, S. K. and Murthy, R. C. (2010).** Carbofuran induced cytogenetic effects in root meristem cells of *Allium cepa* and *Allium sativum*: A spectroscopic approach for chromosome damage. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 96, 93–100.
- Semple, S. J., Reynolds, G. D., Leary, M. C. O. and Flower, R. L. P. (1998).** Screening of Australian medicinal plants for antiviral activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 60, 163–172.
- Senhaji, O., Faid, M., Elyachioui, M. and Dehhaoui, M. (2005).** Étude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle. *Journal de Mycologie Médicale*, 15, 220–229.
- Shrestha, H. (2004).** A Plant Monograph on Onion (*Allium cepa L.*). The School of Pharmaceutical and Biomedical Sciences, Pokhara University, Simalchaur, Pokhara, Nepal. 90 p.
- Siddique, Y. H., Ara, G., Beg, T., Faisal, M., Ahmad, M. and Afzal, M. (2008).** Antigenotoxic role of *Centella asiatica L.* extract against cyproterone acetate induced genotoxic damage in cultured human lymphocytes. *Toxicology in Vitro*, 22, 10–17
- Silhankova, L., Smiovská, V. and Velemínský, J. (1979).** Sodium azide-induced mutagenesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research*, 191-196.
- Sindambiwe, J. B., Calomme, M., Cos, P., Totte, J., Pieters, L., Vlietinck, A. and Vanden Berghe, D. (1999).** Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 65, 71–77.
- Singh, M., Solank, P., Ratore, H. S., Sharma, A., Makwana, M. and Shirivastava, S. (2009).** Influence of decoction of seeds of *Cassia tora Linn* (leguminosae) on the genotoxicity of sodium azide and acetaminophen in *Allium cepa* model. *Journal of Toxicology*, 6, 10.
- Smaka-Kincl, V., Stegnar, P., Lovka, M. and Toman, M. J. (1996).** The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. *Genetic Toxicology, Mutation Research*, 368, 171 – 179.
- Soro, T. Y., Traore, F. and Nene-Bi, A. S. (2009).** Activité antipyrétique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana*. *Phytotérapie*, 7, 297-30.

Spigno, G., Tramelli, L. and De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81, 200–208.

Srivastava, R., Kumar, D. and Gupta, S.K. (2005). Bioremediation of municipal sludge by vermitechnology and toxicity assessment by *Allium cepa*. *Bioresource Technology*, 96, 1867–1871.

Steenkampa, V., Grimmer, H., Semanoc, M. and Gulumian, M. (2005). Antioxidant and genotoxic properties of South African herbal extract. *Mutation Research*, 581, 35–42.

-T-

Tafazoli, M. and Kirsch-Volders, M. (1996). *In vitro* mutagenicity and genotoxicity study of 1,2-dichloroethylene, 1,1,2-trichloroethane, 1,3-dichloropropane, 1,2,3-trichloropropane and 1,1,3-trichloropropene, using the micronucleus test and the alkaline single cell gel electrophoresis technique (comet assay) in human lymphocytes. *Genetic Toxicology, Mutation Research*, 371, 185-202.

Tela Botanica (2013). *Fraxinus angustifolia* subsp. *oxycarpa* (M.Bieb. ex Willd.) Franco & Rocha Afonso. Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France par Benoît Bock BDNFF, 4 (02). 2p.

Telphon, T. (2003). ABC des huiles essentielles. Éditions Grancher. 358 p.

Toyoizumi, T., Ohta, R., Kawakami, K., Nakagawa, Y., Tazura, Y., Kuwagata, M., Noguchi, S., Sui, H. and Yamakage, K. (2012). Usefulness of combined *in vivo* skin comet assay and *in vivo* skin micronucleus test. *Genetic, Toxicology and Environmental Mutagenesis. Mutation Research*, 743, 42–51.

-W-

Wan-Ibrahim, W.I., Sidik, K. and Kuppusamy, U.R. (2010). A high antioxidant level in edible plants is associated with genotoxic properties. *Food Chemistry*, 122, 1139–1144.

Wallander, E. (2008). Systematics of *Fraxinus* (Oleaceae) and evolution of dioecy. *Plant System Evolution*, 273, 25–40.

Wu, L-c., Hsu, H-W., Chen, Y-C., Chiu, C-C., Lin Y-I. and Ho J-A. A. (2005). Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry*, 95, 319–327.

-X-Y-Z-

Xiao, H. X., Wang, J. X., Wang, G., Wang, J.Y. and Li, G.K. (2009). Evaluation of *vacuum microwave* assisted extraction technique for the extraction of antioxidants from plant samples. *Journal of Chromatography A*, 1216, 8867–8873.

Yildiz, M. and Arikan, E.S. (2008). Genotoxicity testing of quizalofop-P-ethyle herbicide using the *Allium cepa* anaphase –telophase chromosome aberration assay. *Caryologia*, 61(1), 45-52.

Yildiz, M., Cigerci, I. H., Konuk, M., Fatih Fidann, A. and Terzi, H. (2009). Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. *Chemosphere*, 75, 934-938.

Yip, L., Pei, S., Hudson, J. B. and Towers, G. H. N. (1991). Screening of medicinal plants from Yunnan Province in southwest China for antiviral activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 34, 1-6.

Zampini, I. C., Villarini, M., Moretti, M., Dominici, L. and Isla, M. I. (2008). Evaluation of genotoxic and antigenotoxic effects of hydroalcoholic extracts of *Zuccagnia punctata* Cav. *Journal of Ethnopharmacology*, 115, 330–335

Annexe N° 1 : Composition du milieu de culture des bulbes de *Allium cepa*

Sels minéraux	Concentrations (mg/l)
CaSO₄	60
MgSO₄	60
NaHCO₃	96
KCl	4

Annexe N° 2 : Composition des milieux du traitement par l'azide de sodium

	Composition du milieu
Contrôle négatif	348ml de milieu de culture + 2ml d'eau distillée
Azide de Sodium (AS) 50mg/l	17.5mg du mutagène azide de sodium, dissous dans 2ml d'eau distillée + 348ml de milieu de culture.
Azide de Sodium (AS) 100mg/l	35mg du mutagène azide de sodium, dissous dans 2ml d'eau distillée + 348ml de milieu de culture.
Azide de Sodium (AS) 300mg/l	105mg du mutagène azide de sodium, dissous dans 2ml d'eau distillée + 348ml de milieu de culture.

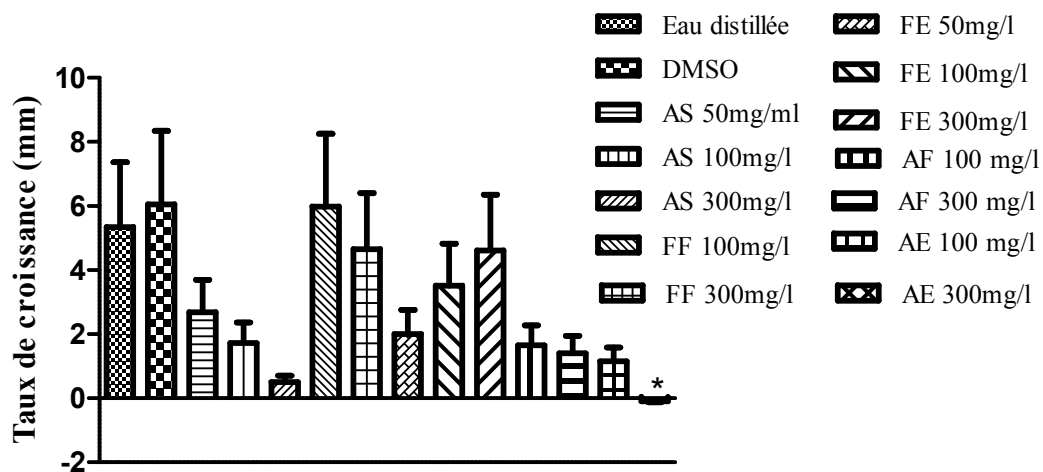
Annexe N°3 : Composition des milieux des traitements par les extraits des feuilles et des écorces de *Fraxinus angustifolia*

Traitement avec les extraits seuls	Composition du milieu
Contrôle DMSO	348ml de milieu de culture + 2ml de DMSO
Extrait des feuilles (FF) 100mg/l	35mg des extraits des feuilles dissous dans 2ml de DMSO + 348ml de milieu de culture.
Extrait des feuilles (FF) 300mg/l	105mg des extraits des feuilles dissous dans 2ml de DMSO + 348ml de milieu de culture.
Extrait des écorces (FE) 100mg/l	35mg des extraits des écorces dissous dans 2ml de DMSO + 348ml de milieu de culture.
Extrait des écorces (FE) 300mg/l	105mg des extraits des écorces dissous dans 2ml de DMSO + 348ml de milieu de culture.

Annexe N°4 : Composition des milieux des traitements combinés (extraits de plante + azide de sodium de sodium

Traitement	Composition du milieu
Azide de Sodium (100mg/l) + FF (100mg/l)	35mg de l'extrait des feuilles dissous dans 2ml de DMSO + 35mg d'azide de sodium dissous dans 2ml d'eau distillé + 346ml de milieu de culture.
Azide de Sodium (100mg/l) + FF (300mg/l)	105mg de l'extrait des feuilles dissous dans 2ml de DMSO + 35mg d'azide de sodium qui ont été dissous dans 2ml d'eau distillé + 346ml de milieu de culture.
Azide de Sodium (100mg/l) + FE (100mg/l)	35mg de l'extrait d'écorce dissous dans 2ml de DMSO + 35mg d'azide de sodium dissous dans 2ml d'eau distillé + 346ml de milieu de culture.
Azide de Sodium (100mg/l) + FE (300mg/l)	105mg de l'extrait d'écorce dissous dans 2ml de DMSO + 35mg d'azide de sodium dissous dans 2ml d'eau distillé + 346ml de milieu de culture.

Annexe N°5 : Résultats des taux de croissance des racines



Annexe N°6 : Stades de divisions des différents traitements + IM (%)

Traitement	Stades de division cellulaire					IM %
	Interphase	Prophase	Métaphase	Anaphase	Télophase	
Eau distillée	329.2±12.99	532.2±22.76	77.2 ±10.64	90.4 ±13.03	51 ± 9.19	0.70 ± 0.01
%	30.4 ±1.07	49.1 ±1.96	7.1 ± 0.93	8.2 ±1.09	4.6 ± 0.75	70
DMSO	346.4±14.37	505.8±21.76	100 ± 10.49	114.7±15.33	68.1 ±8.03	0.69 ± 0.01
%	30.6 ±1.22	44.7 ±2.02	8.7 ±0.68	9.9 ±1.04	5.9 ±0.46	69
AS (50mg/l)	498.2±22.79	580.8±22.59	8.7 ±2.29	6.4 ±0.97	7.7 ±1.70	0.55 ± 0.01
%	44.9 ±1.43	52.4 ±1.36	0.7 ±0.17	0.5 ±0.08	0.6 ±0.14	55
AS (100mg/l)	711.5±57.84	363.4±38.82	8.2 ± 3.94	1.1± 0.55	3.43 ±1.34	0.35 ± 0.04
%	64.8 ±4.39	33.6 ±4.07	0.7 ± 0.36	0.1 ± 0.05	0.3 ±0.11	34
AS (300mg/l)	815.4±8.60	238.4±13.98	3.5 ± 1.32	0.5 ±0.42	4.4 ±1.55	0.24 ± 0.01
%	76.4±1.12	22.2 ±0.88	0.3 ±0.11	0.05 ±0.03	0.4 ±0.14	23
Feuilles (100mg/l)	489.1±21.13	516.1±27.28	42.4 ±17.64	43.8 ±11.49	32.7 ±11.32	0.57 ±0.01
%	43.4±1.96	45.8 ±2.45	3.6±1.39	3.8±0.96	2.7±0.89	57
Feuilles (300mg/l)	541.1±32.52	504.4±33.55	22.5±5.90	21.4±5.88	10.5 ±2.73	0.51 ±0.02
%	48.8 ±2.76	45.4 ±2.71	2.08±0.54	1.9±0.54	0.9±0.25	51
Feuilles (100mg/l) +A.S	493.1±10.31	567.2±10.69	6.2±1.51	4.00±2.09	6.00±2.21	0.55 ±0.006
%	45.43 ±0.65	25.26 ±0.44	0.58 ±0.14	0.37 ± 0.19	0.5±0.20	55
Feuilles (300mg/l) +A.S	645.4 ±22.81	459.4±26.45	5.00 ±1.72	3.86 ± 1.18	2.29 ± 0.71	0.42 ± 0.02
%	57.7 ±2.10	40.93 ±1.85	0.45 ±0.15	0.34 ±0.10	0.20 ±0.06	42
Ecorce (50mg/l)	448.86±25.04	523.86±19.84	45.57±12.02	47.14±12.55	30.86±9.46	0.59±0.02
%	40.55±2.07	47.65±2.67	4.02±1.04	4.13±1.07	2.70±0.79	59
Ecorce (100mg/l)	480.0±26.04	546.7 ±25.11	32.1 ±9.55	37.1 ±10.16	16.57 ±5.81	0.57 ± 0.01
%	42.60 ±1.65	48.63 ±1.70	2.81 ± 0.79	3.34 ±0.96	1.48 ±0.54	57%
Ecorce (300mg/l)	595.2±43.33	484.0 ±31.55	13.2 ±4.13	15.0 ±4.25	11.5 ±4.17	0.47 ±0.002
%	52.5±2.29	42.80±1.71	1.24±0.38	1.38±0.39	1.08±0.38	47
Ecorce (100mg/l) + A.S	564.5±19.65	509.0±22.65	5.14±1.35	5.29±1.54	4.71±1.57	0.48±0.01
%	51.63±1.74	46.44±1.56	0.46±0.11	0.49±0.14	0.43±0.14	48
Ecorce (300mg/l) +A.S	545.86±26.55	534.71±19.47	2.71±1.34	2.14±.063	3.29±0.97	0.50±0.01
%	49.53±1.87	84.68±1.86	0.24±0.11	0.20±0.06	0.30±0.09	50

Annexe N°7 : Types d'aberrations + % des cellules aberrantes

Traitement	Types d'anomalies chromosomiques					IM (%) d'aberrations
	C-mitose	cassure	bridge	Anaphase perturbé	Métaphase perturbé	
Eau distillée	2.1 ±0.96	1.8 ±0.59	0.14 ± 0.14	0	0.4 ± 0.29	0.25 ±0.05
%	0.1 ±0.08	0.1 ±0.05	0.01 ± 0.01	0	0.04 ± 0.02	2.5
DMSO (0.5 %)	2.5 ±0.97	1.7 ±0.56	0	0	0	0.30 ± 0.05
%	0.2 ±0.07	0.1 ± 0.04	0	0	0	3‰
AS (50mg/l)	2.7 ±1.06	2.7±0.80	0	0	0	0.20 ± 0.08
%	0.2 ±0.10	0.2 ± 0.06	0	0	0	2
AS (100mg/l)	3.5 ± 1.52	1.1 ± 0.63	0	0	0	0.20 ± 0.09
%	0.3±0.14	0.1 ±0.05	0	0	0	2‰
AS (300mg/l)	6.1 ±2.87	0	0	0	0	0.50 ± 0.25
%	0.5 ± 0.25	0	0	0	0	5
Feuilles (100mg/l)	3.00±1.09	1.00±0.72	0.4 ±0.42	1.7±1.41	0	0.41 ±0.07
%	0.2 ±0.09	0.08±0.05	0.03±0.03	0.1±0.11	0	4.1
Feuilles (300mg/l)	5.1±1.24	0	0.2±0.18	1.5±0.72	0	0.52 ±0.06
%	0.4±0.11	0	0.02 ± 0.01	0.1±0.06	0	5.2
Feuilles (100mg/l) +A.S	7.5±2.94	0	0	0.8±0.59	0.2 ± 0.28	0.86±0.011
%	0.7±0.27	0	0	0.08±0.05	0.08 ± 0.02	8.6‰
Feuilles (300mg/l) +A.S	3.14 ± 0.96	0	0	01.00 ±0.57	0	0.37 ± 0.06
%	0.28 ±0.08	0	0	0.09 ±0.05	0	3.7
Ecorce (50mg/l)	5.29±1.47	3.57±1.04	0	0	1.71±1.80	0.95±0.18
%	0.48±0.13	0.32±0.09	0	0	0.15±0.15	9.5
Ecorce (100mg/l)	8.86 ±3.05	2.14 ±1.01	0	1.86 ±0.67	0	1.14 ± 0.13
%	0.79 ±0.25	0.18 ±0.08	0	0.17 ±0.06	0	11.4
Ecorce (300mg/l)	2.5±1.23	2.57 ±2.09	0	2.00 ±3.70	2.86 ± 1.40	0.93±0.19
%	0.24±0.11	0.24 ±0.19	0	0.19 ±0.34	0.26 ± 0.12	9.3
Ecorce(100mg/l) + A.S	5.86±1.72	0	0	0	0	0.55 ± 0.16
%	0.55±0.16	0	0	0	0	5.5
Ecorce (300mg/l) +A.S	11.57±3.35	0	0	0	0	1.05 ± 0.29
%	1.05±0.29	0	0	0	0	10.5

Résumé:

Fraxinus angustifolia, appelée couramment frêne oxyphylle est une plante médicinale utilisée depuis toujours dans la région méditerranéenne, en médecine traditionnelle pour soigner plusieurs maladies tels que la goutte et l'arthrite. Dans cette étude, l'effet génotoxique/antigénotoxique des extraits éthanoliques des feuilles et des écorces de *Fraxinus angustifolia* ont été évalués selon le test de génotoxicité *Allium cepa* (cellules méristématiques). Les racines ont été traitées avec les extraits seuls à concentration 100 et 300 µg/ml pour le test de génotoxicité, puis avec un mélange d'azide de sodium (100µg/ml) et les extraits (100 et 300µg/ml) pour le test d'anti-génotoxicité. Ces traitements ont été comparés aux lots témoins (DMSO 0.5% et eau distillée utilisées) utilisés comme contrôles négatifs et l'azide de sodium (50, 100 et 300µg/ml) comme control positif. Après analyses microscopique et calcul de l'indice mitotique, l'azide de sodium a induit des aberrations chromosomiques dépendantes de la concentration, avec une diminution de l'IM (génotoxique). Les extraits de feuilles et des écorces de *Fraxinus angustifolia* (300 µg/ml) se sont révélés à effet cytotoxique et génotoxique faible, mais d'une façon très faible et à 300mg/l. En ce qui concerne l'antigénotoxicité, les extraits des feuilles et des écorces se sont montrés de potentiel antigénotoxique contre l'azide de sodium (100µg/ml)

Mots clés: *Fraxinus angustifolia*, Génotoxicité/anti-génotoxicité, azide de sodium, *Allium cepa*, aberrations chromosomiques.

Abstract:

Fraxinus angustifolia (Oleaceae), called commonly oxyphylle ash, is a medicinal plant used since a long time ago, in the Mediterranean region, in traditional medicine to treat diverse diseases such as gout and arthritis disease. In this study, the genotoxic/antigenotoxic effects of ethanolic extracts of *Fraxinus angustifolia* leaves and barks were investigated using a genotoxicity test, via an eukaryote species model *Allium cepa* meristematic cells. *Allium cepa* roots were treated with extracts alone (100 and 300 µg/ml) for genotoxicity test, then with mixture of sodium azide (100µg/ml) and extracts (100 and 300µg/ml) for antigenotoxicity test. These treatments were compared with negative control (DMSO 0.5% and distillate water) and sodium azide (50, 100, 300µg/ml) as a positive control. Microscopic analysis and mitotic index showed that sodium azide induced chromosomal aberrations and decreased MI (genotoxic) dose dependent effect. Barks and leaves extracts of *Fraxinus angustifolia* (300µg/ml) are revealed low genotoxic. Barks and leaves extract (100µg/ml) exhibit a low anti-genotoxic effect.

Key words: *Fraxinus angustifolia*, Genotoxicity/antigenotoxicity, Sodium azide, *Allium cepa* Chromosomal aberrations.