

EFFET DÉTOXIFIANT DES TACHYONS

Le TEST ALLIUM a été réalisé dans un laboratoire de biogénétique végétale par le professeur de biologie Peter Firbas.

Le test Allium permet un dépistage rapide des produits chimiques, polluants, contaminants, etc. susceptibles de présenter un danger pour l'environnement. L'inhibition de la croissance des racines et les effets néfastes sur les chromosomes fournissent une indication de la toxicité probable. Allium cepa a démontré que cette plante est particulièrement sensible aux effets nocifs de ces contaminants environnementaux. Les effets bruts peuvent être quantifiés en mesurant l'inhibition de la croissance du système racinaire en développement, tandis que l'examen des chromosomes des cellules individuelles de l'extrémité de la racine peut indiquer des effets mutagènes probables.

La mutation normale des chromosomes cellulaires est d'environ 4 %. Cette mutation permet aux êtres vivants d'évoluer. C'est dans l'eau complètement purifiée que cela se voit le mieux. Tout ce qui dépasse ce pourcentage représente un risque. Les eaux en bouteille testées ont montré des pourcentages compris entre 5 et 20 %. Les eaux présentant un taux de mutation supérieur à 20 % sont interdites à la consommation. Nous avons prélevé de l'eau du robinet qui présentait un taux de mutation de 9,92 %. Ce résultat est meilleur que celui de nombreuses eaux en bouteille disponibles sur le marché. Lorsque nous avons exposé cette même eau du robinet à un processus tachyonique pendant 12 heures, nous avons constaté une diminution significative du taux de mutation. Celui-ci est passé de 9,92 % à un taux presque normal dans la nature, soit 5,55 %.

La conclusion est que l'eau du robinet tachyonisée présente un niveau de génotoxicité inférieur à celui de l'eau du robinet ordinaire.

De ce point de vue, l'eau du robinet tachyonisée est de meilleure qualité que l'eau du robinet ordinaire. Cette expérience exclut l'effet placebo, car elle a été réalisée sur des plantes inconscientes.

TEST ALLIUM

Le test Allium fournit une procédure de dépistage rapide des produits chimiques, des polluants, des contaminants, etc. qui peuvent représenter des risques pour l'environnement. L'inhibition de la croissance des racines et les effets néfastes sur les chromosomes fournissent une indication de la toxicité probable.

CONTACT

Dr Geirid Fiskesjö

Institut de génétique

Université de Lund Sölvegatan 29 S-223 62 Lund Suède

Tél. : Suède - 46 46 107851

PRINCIPE

L'extrémité des racines est souvent la première partie d'une plante susceptible d'entrer en contact avec les produits chimiques et les polluants présents dans le sol et l'eau. L'observation du système racinaire de l'oignon, Allium cepa, a montré que cette plante est particulièrement sensible aux effets nocifs de ces contaminants environnementaux. Les effets macroscopiques peuvent être quantifiés en mesurant l'inhibition de la croissance du système racinaire en développement, tandis que

l'examen des chromosomes des cellules individuelles de l'extrémité de la racine peut indiquer des effets mutagènes probables.

PROCÉDURE DE BASE

Douze oignons (*Allium cepa*) sont préparés en retirant les écailles extérieures et la plaque inférieure brunâtre, puis placés dans des tubes à essai remplis de liquides d'essai pendant 4 jours, le liquide étant changé chaque jour. Une autre série de douze oignons est préparée de la même manière et conservée dans de l'eau pure afin de constituer une population témoin.

Les dix oignons qui semblent se développer le mieux dans chaque série sont sélectionnés pour être examinés. Le deuxième jour, une pointe racinaire de chacun des cinq oignons est préparée pour un examen au microscope. Cent mitoses sont comptées sur chacune des cinq lames, tout comme l'indice mitotique (IM) pour 400 cellules. Le quatrième jour, la longueur des racines de chaque bulbe est mesurée et la série est photographiée. (Une expérience de récupération peut être réalisée en changeant le milieu de culture de 5 des 10 oignons de chaque série d'essai pour contrôler l'eau après la mesure le quatrième jour, en renouvelant le liquide le cinquième jour et, enfin, en mesurant la longueur des racines et en photographiant la série le sixième jour). La toxicité est mesurée à la fois par des paramètres macroscopiques (par exemple, l'inhibition de la croissance), où le degré de dommage est utilisé pour évaluer le statut toxique du produit chimique testé, et par des paramètres microscopiques, où le taux de rupture et de dommage chromosomique peut être utilisé pour prédire la mutagenèse.

ÉVALUATION CRITIQUE

Les plantes sont faciles à stocker et à manipuler, elles sont abondantes et peu coûteuses. En général, l'état chromosomique des cellules végétales est bon, ce qui permet d'obtenir un niveau élevé dans les conditions de contrôle. Le test *Allium* est relativement rapide, facile à réaliser, très sensible et reproductible. Il fournit également des résultats comparables à ceux d'un certain nombre d'autres systèmes de test. Des effets macroscopiques et microscopiques peuvent être observés et il semble y avoir une bonne corrélation entre les deux. L'effet macroscopique (inhibition de la croissance des racines) semble être le plus sensible.

Cela est prévisible, car tout effet délétère, direct ou indirect, est susceptible d'entraîner une inhibition de la croissance. L'examen microscopique permet d'évaluer les dommages chromosomiques et les perturbations de la division cellulaire, fournissant ainsi des informations supplémentaires sur la gravité ou le mécanisme de l'effet toxique, ou sur la mutagénicité potentielle. Les cellules racinaires possèdent certaines enzymes, les oxydases à fonction mixte, qui jouent un rôle déterminant dans l'activation de nombreux promutagènes en mutagènes. Ce système d'activation améliore la détection des substances chimiques qui exercent leur effet toxique par l'intermédiaire d'un métabolite réactif. Le système a un large éventail d'applications, par exemple pour tester des produits chimiques purs, l'eau potable, l'eau naturelle, les déchets industriels, etc. Il est utile pour évaluer et classer les substances chimiques présentes dans l'environnement en fonction de leur toxicité. Le test peut également être utilisé pour mesurer la toxicité relative de composés non solubles dans l'eau, à condition qu'ils puissent être dissous dans un solvant approprié puis dilués dans l'eau de manière à ce que la concentration finale ne dépasse pas certaines limites. Dans de tels cas, des contrôles du solvant doivent

également être intégrés au protocole de test. Le système fonctionne sur une large plage de pH (3,5-11,0) sans effet notable sur la croissance des systèmes racinaires. Ainsi, les échantillons d'eau modérément acides/alcalins, les solutions chimiques, etc. peuvent être facilement testés sans qu'il soit nécessaire de corriger le pH.

N.B.

Cela est prévisible, car tout effet délétère, direct ou indirect, est susceptible d'entrainer une inhibition de la croissance. L'examen microscopique permet d'évaluer les dommages chromosomiques et les perturbations de la division cellulaire, fournissant ainsi des informations supplémentaires sur la gravité ou le mécanisme de l'effet toxique, ou sur la mutagénicité potentielle. Les cellules racinaires possèdent certaines enzymes, les oxydases à fonction mixte, qui jouent un rôle déterminant dans l'activation de nombreux promutagènes en mutagènes. Ce système d'activation améliore la détection des substances chimiques qui exercent leur effet toxique par l'intermédiaire d'un métabolite réactif. Le système a un large éventail d'applications, par exemple pour tester des produits chimiques purs, l'eau potable, l'eau naturelle, les déchets industriels, etc. Il est utile pour évaluer et classer les substances chimiques présentes dans l'environnement en fonction de leur toxicité. Le test peut également être utilisé pour mesurer la toxicité relative de composés non solubles dans l'eau, à condition qu'ils puissent être dissous dans un solvant approprié puis dilués dans l'eau de manière à ce que la concentration finale ne dépasse pas certaines limites. Dans de tels cas, des contrôles du solvant doivent également être intégrés au protocole de test.

Cela est prévisible, car tout effet délétère, direct ou indirect, est susceptible d'entrainer une inhibition de la croissance. L'examen microscopique permet d'évaluer les dommages chromosomiques et les perturbations de la division cellulaire, fournissant ainsi des informations supplémentaires sur la gravité ou le mécanisme de l'effet toxique, ou sur la mutagénicité potentielle. Les cellules racinaires possèdent certaines enzymes, les oxydases à fonction mixte, qui jouent un rôle déterminant dans l'activation de nombreux promutagènes en mutagènes. Ce système d'activation améliore la détection des substances chimiques qui exercent leur effet toxique par l'intermédiaire d'un métabolite réactif. Le système a un large éventail d'applications, par exemple pour tester des produits chimiques purs, l'eau potable, l'eau naturelle, les déchets industriels, etc. Il est utile pour évaluer et classer les substances chimiques présentes dans l'environnement en fonction de leur toxicité. Le test peut également être utilisé pour mesurer la toxicité relative de composés non solubles dans l'eau, à condition qu'ils puissent être dissous dans un solvant approprié puis dilués dans l'eau de manière à ce que la concentration finale ne dépasse pas certaines limites. Dans de tels cas, des contrôles du solvant doivent également être intégrés au protocole de test. Le système fonctionne sur une large plage de pH (3,5-11,0) sans effet notable sur la croissance des systèmes racinaires. Ainsi, les échantillons d'eau modérément acides/alcalins, les solutions chimiques, etc. peuvent être facilement testés sans qu'il soit nécessaire de corriger le pH.

N.B. Bien que le pH lui-même n'ait pas d'incidence sur la croissance des racines, il doit être pris en considération lors de l'évaluation de la toxicité des composés car, dans de nombreux cas, il peut modifier considérablement leur potentiel toxique, par exemple en modifiant leur état d'ionisation. Les inconvénients du système concernent les problèmes liés à l'état des composés testés. L'influence du pH sur les composés présents dans la solution et la modification des profils toxiques qui en résulte ont déjà été mentionnées. Un autre problème concerne la présence de

composés insolubles dans les cours d'eau, les effluents industriels, etc. Il est très difficile d'étudier l'effet biologique de mélanges aussi complexes dans le système Allium, car les particules peuvent avoir des effets nocifs indirects, tels que l'empêchement de l'absorption des nutriments, etc. Il est donc recommandé de procéder également à une analyse chimique de ces échantillons. Le test Allium est très sensible et, à ce titre, il peut révéler des effets toxiques positifs pour un certain nombre de composés qui ne seraient pas nécessairement considérés comme nocifs s'ils étaient testés dans d'autres systèmes (en particulier des organismes supérieurs tels que les poissons). Bien que cela puisse parfois donner lieu à des faux positifs, cela garantit également que les contaminations ne seront pas négligées, ce qui est particulièrement important lorsque des mélanges complexes doivent être testés.

Un résultat positif dans ce système de test doit donc être considéré comme indiquant un risque biologique potentiel.

D'autre part, il a été démontré que les faux négatifs sont rares dans le test Allium ou dans d'autres tests similaires sur des plantes (Ennever et al., 1988). Par conséquent, tout composé testé donnant un résultat négatif peut être considéré de manière fiable comme non mutagène. Toutefois, l'extrapolation des résultats d'un système de test à un autre (et éventuellement à l'homme) doit être fondée sur les résultats d'une batterie de tests et tenir dûment compte des voies métaboliques du composé testé.

Développement du test Le système de test Allium a été utilisé pour la première fois en 1938 pour examiner l'effet de la colchicine (Levan, 1938 ; Östergren, 1944) et a depuis lors fait l'objet d'une grande attention (pour une revue, voir Grant, 1982). Certaines modifications du système de test de base ont été introduites afin de permettre la surveillance environnementale de mélanges complexes tels que ceux présents dans l'eau des rivières, les déchets industriels, etc. (Fiskesjö, 1985a). Les principales modifications comprennent l'utilisation d'une série d'ampoules (c'est-à-dire 10) pour chaque condition testée (permettant ainsi une détermination de la CE50) et l'exposition immédiate des ampoules aux solutions d'essai (l'ancien test prévoyait une période de croissance initiale dans de l'eau pure jusqu'à ce que les racines atteignent une longueur appropriée, 1 à 2 cm, après quoi elles étaient exposées aux composés d'essai).

Comparaison avec d'autres systèmes de test de toxicité à court terme. Ce test a montré une bonne concordance avec les résultats d'autres systèmes de test, utilisant de nombreux organismes différents, eucaryotes et procaryotes. Les résultats de ces comparaisons sont résumés ci-dessous (tirés de Fiskesjö, 1985a). Lignée cellulaire V79 de hamster chinois. En l'absence d'un système d'activation métabolique, les cellules V79 semblent moins sensibles que le test Allium aux composés organiques du mercure. La sensibilité relative s'inverse lorsque les cellules sont incubées en présence d'oxydases à fonction mixte.

Malgré des changements de sensibilité, les résultats globaux entre les deux systèmes sont comparables. **Lymphocytes humains** Le test Allium semble légèrement plus sensible aux effets des composés organiques du mercure que les lymphocytes humains, bien que le classement global des produits chimiques par toxicité soit similaire. Il convient également de noter que, lorsqu'ils sont étudiés au microscope, les deux types de cellules réagissent de manière similaire (c-mitose). **Algues autotrophes, micro-organismes hétérotrophes et boues activées** Un certain nombre de produits chimiques ont été testés dans le cadre du test Allium et les résultats ont été

comparés à ceux obtenus à l'aide de 16 algues planctoniques différentes (algues vertes et algues siliceuses), de levures (*Saccharomyces cerevisiae*), de protozoaires (*Tetrahymena pyriformis*) et de boues activées (composées de bactéries, de levures et de protozoaires). Les tests étaient tous comparables lorsque l'on examinait le classement des produits chimiques en fonction de leur toxicité, bien que des différences de sensibilité aient été observées

La majorité des algues se sont révélées plus sensibles que le test Allium, tandis que les levures, les protozoaires et les boues activées étaient moins sensibles. Animaux aquatiques (*Daphnia magna*, *Brachydario rerio* - œufs ou alevins et test Microtox sur les bactéries) et plantes (Lens et algues unicellulaires) Un certain nombre de plantes et d'animaux aquatiques semblent moins sensibles à certaines classes de composés que le test Allium, par exemple les poissons (*Gasterosteus aculeatus*). Dans ce cas, le test Allium est probablement un meilleur test pour le dépistage environnemental en raison de sa plus grande sensibilité. D'autres animaux (par exemple le crustacé *Nitocra spinipes*) et plantes (par exemple Lens et les algues unicellulaires) donnent des résultats comparables à ceux du test Allium.

PRODUITS CHIMIQUES TESTÉS

Une large gamme de métaux, de polluants industriels, de composés, etc. a été testée. L'eau provenant de diverses sources a également été examinée. Pour des exemples, voir les références ci-dessous.

RÉFÉRENCES

1. Berggren, D. & Fiskesjö, G. (1987) Toxicité et spéciation de l'aluminium dans les liquides du sol - expériences avec *Allium cepa* L. *Environ. Tox Chem.*, 6, 771-779.
2. Ennever, F.K. ; Andreano, G. & Rosenkranz, H.S. (1988) La capacité des tests de génotoxicité des plantes à prédire la cancérogénicité. *Mut. Res.*, 205, 99-105
3. Fiskesjö, G. (1981) Test Allium sur le cuivre dans l'eau potable. *Vatten*, 17(3), 232-240.
4. Fiskesjö, G. (1981) Benzo(a)pyrène et N-méthyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine dans le test Allium. *Hereditas*, 95, 155-162
5. Fiskesjö, G., Lassen, C. & Renberg, L. (1981) Acides chlorophénoxyacétiques et chlorophénols dans le modif
6. Fiskesjö, G. (1982) Évaluation des tests à court terme de toxicité et de mutagénicité, avec une référence particulière au mercure et au sélénium. Thèse de doctorat, Institut de génétique, Université de Lund, Suède. Fiskesjö, G. (1983) Dissolution nucléolaire induite par l'aluminium dans les cellules racinaires d'*Allium*. *Physiologica plantarum*, 59, 508-511.
7. Fiskesjö, G. (1985a) L'*Allium* comme norme dans la surveillance environnementale. *Hereditas*, 102, 99-102 Fiskesjö, G. (1985b) Test Allium sur l'eau des rivières Bra n and Sax n avant et après la fermeture d'une usine chimique. *Ambio*, 14(2), 99-103