

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté de Sciences de la Nature et de Vie et de Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de biologie



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de
Master

Filière : Sciences Biologiques
Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Thème : Effet cytotoxique de l'extrait hydro
méthanolique d'*Origanum majorana* (Test *Allium*
***Cepa*)**

Présenté par :

- Hafaidia Bochra
- Zgaoula Mouna
- Missaoui Riheb

Devant le jury

Président(e) :	Merabet.R	M.A.A	Univ-Guelma
Examineur :	Grara.N	Professeur	Univ-Guelma
Encadreur :	Ayed.H	M.C.B	Univ-Guelma

Septembre 2020

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste d'abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction..... 01

Première partie : Synthèse bibliographique
Chapitre N° 1 : Généralité sur les plantes médicinales

1. Phytothérapie.....	03
1.1. Définition.....	03
1.2. Avantages de la phytothérapie.....	03
1.3. Facteurs de risques spécifiques à la phytothérapie.....	04
2. Plantes médicinales.....	04
2.1. Définition plantes médicinales.....	04
2.2. Principe actif des plantes médicinales.....	05
2.3. Différents principes actifs.....	05
2.3.1. Alcaloïdes (-ine).....	05
2.3.2. Hétérosides (ou glucosides).....	06
2.3.3. Saponines (ou saponosides).....	06
2.3.4. Flavonoïdes (du latin, flavus : jaune).....	06
2.3.5. Anthocyanes (ou anthocyaniques).....	06
2.3.6. Mucilages.....	07
2.3.7. Vitamines.....	07
2.3.8. Tanins.....	07

2.4. Mode de préparation en phytothérapie.....	07
2.4.1. Formes liquides.....	08
2.4.2. Formes solides.....	09
2.4.3. Autres utilisations des plantes médicinales.....	10
3. Toxicité des plantes médicinales.....	10

Chapitre N° 2 : Présentation de la plante étudiée

1. Description botanique de la famille <i>Lamiacée</i>	11
2. Genre <i>Origanum</i>	11
2.1. Caractères généraux.....	11
2.2. Présentation botanique et géographique.....	14
3. Marjolaine.....	17
3.1. Définition.....	17
3.2. Nomenclature.....	17
3.3. Description botanique.....	18
3.4. Position systématique d' <i>Origanum Majorana</i>	18
3.5. Composition chimique.....	19
3.6. Propriétés et usages thérapeutiques.....	19
4. Activité antioxydante de l'extrait de marjolaine.....	20

Chapitre N° 3 : Génotoxicité

1. Effets génotoxiques.....	21
1.1. Cycle cellulaire.....	21
1.1.1. Interphase.....	22
1.1.2. Mitose.....	20
1.2. Lésions de la molécule d'ADN.....	25
1.2.1. Mutations géniques.....	26

1.2.2. Mutations chromosomiques.....	26
1.2.3. Mutations génomiques.....	26
1.3. Voies et systèmes de réparation des dommages à l'ADN.....	27
1.3.1. Réparation des dommages simples de bases d'ADN.....	27
1.3.2. Réparation de dégâts de base multiples et volumineux.....	28
1.3.3. Réparation des cassures des brins d'ADN.....	29
2. Génotoxicité.....	30
2.1. Définition.....	30
2.2. Agents génotoxiques.....	30
2.2.1. Agents chimiques.....	31
2.2.2. Agents physiques.....	31
2.2.3. Agents biologiques.....	31
2.3. Tests de génotoxicité.....	31
2.3.1. Test des aberrations chromosomiques (AC).....	32
2.3.2. Test d'Ames.....	33
2.3.3. Test de micronoyaux (MN).....	34
2.3.4. Echanges entre chromatides sœurs (SCE).....	35
2.3.5. Test des comètes (SCGE).....	35
2.3.6. Test d'Allium Cepa.....	37

Deuxième partie : Partie expérimental
Chapitre N° 1 : Matériel et méthodes d'analyse

I. Matériel et méthode d'analyse.....	39
I.1. Matériel biologique.....	39
I.2. Méthodes d'analyses.....	39
I.2.1. Criblage phytochimique.....	39

I.2.1.1. Mise en évidence des flavonoïdes.....	39
I.2.1.2. Mise en évidence des saponosides.....	40
I.2.1.3. Mise en évidence des tanins.....	40
I.2.1.4. Mise en évidence des mucilages.....	40
I.2.1.5. Mise en évidence des coumarines.....	40
I.2.1.6. Mise en évidence des glycosides.....	41
I.2.1.7. Mise en évidence des alcaloïdes.....	41
I.2.2. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique.....	41
I.2.3. Test <i>Allium cepa</i>	41
I.2.3.1. Procédure expérimentale.....	41
I.2.3.2. Analyse macroscopique.....	42
I.2.3.3. Fixation de l'extrémité racinaire.....	42
I.2.3.4. Coloration de l'extrémité racinaire.....	42
I.2.3.5. Analyse microscopique.....	42
I.2.3.6. Analyse statistique.....	42

Chapitre N°2 : Résultats et discussion

1. Screening phytochimique.....	43
2. Etude de l'effet cytotoxique.....	44
2.1. L'inhibition de l'élongation racinaire.....	44
Conclusion et perspectives.....	49

Résumé

Annexe

Liste des références

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions **Allah**, le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Notre sincère gratitude va à **Madame Merabet R**, pour avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Nos vifs remerciements vont à **Madame Grara N**, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nos plus vifs remerciements vont d'abord à notre directrice de mémoire **Madame Ayed**, qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail, d'orienter et d'aider. Merci à sa disponibilité, sa patience, son soutien moral et ses conseils pertinents qui ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments.

Nous tenons à remercier spécialement Madame **Khallef** pour son aide et ses précieux conseils ainsi que pour sa patience et gentillesse.

Nos remerciements pour toutes les techniciennes du laboratoire précisément **Madame Louiza** pour son aide continuel au cours de la réalisation pratique de ce travail.

Un Merci spécial pour nos collègues et amis, et à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.

Merci

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

- *A l'homme de courage et de force, à celui qui a toujours été présent, qui m'a appris les vraies valeurs de la vie à celui qui m'a soutenu en toutes circonstances, mon père Cherif que j'aime.*
- *A la femme la plus courageuse, sensible, généreuse, à celle qui a su me donner amour et joie de vivre, à celle qui a toujours montrée affection et compréhension à mon égard, ma mère Zohra que j'aime.*
- *A mon cher Hamdi*

Qui chaque jour, par sa compréhension, sa sollicitude et ses critiques a soutenu mes efforts et fait avancer cette étude. Ce travail existe grâce à ses encouragements.

- *A mes très chères frères Sofiane, Abd Nour et mes sœurs Chahrazed, Noura, Fatima*

Qui m'ont fourni du courage, du soutien, et tous leurs efforts et moyens pour que je termine mes études.

- *Aux enfants*

Selma, Abd el Hamid, Mhamed djalel, mousslem.

- *A toute ma famille Zgaoula et surtout mes cousines*

Ines, Fouzia, Nesrine, Wafa, Laila, Raja, Rima, Chaima, Radia

- *A mes collègues Bochra et Riheb que je remercie pour leur ponctualité, ainsi que leur volonté tout au long de la réalisation de ce travail.*
- *A mes amis les plus fidèles*

Djoughaina, Khaoula, Chahinez, Hadda, Meriem, Manel, Bouthaina, Imen, Afra, Khadija.

- *A ceux que j'ai eu la chance de connaître, dans les meilleurs et pires moments de ma vie.*
- *A tous ceux que j'aime, à tous ceux qui m'aiment.*

Mouna

Dédicaces

Merci ALLAH...

Je dédie ce travail

Aux êtres les plus chers : Mes parents

A mon père,

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.

J'espère que ce travail sera à la hauteur de tes attentes et qu'il soit l'accomplissement de tous tes efforts.

A ma mère,

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.

Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous MES CHERS PARENTS que je le dois, que Dieu vous garde.

A mon cher frère : Djalal

Pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse

A ma belle-sœur : Hanane

A mon cher neveu : Iyad

A mon cher mari,

Qui chaque jour, par sa compréhension, sa sollicitude, sa tendresse et ses critiques a soutenu mes efforts et fait avancer cette étude. Ce travail existe grâce à ses encouragements.

En témoignage de tout mon amour

A mes collègues : Mouna et Riheb

Bochra

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents (Saleh et Ghania) *qui n'ont pas cessé de prier pour moi ; pour leur affection et leur amour, et qui m'ont aidé durant toute la durée de mes études, que dieu les protège et les garde pour nous.*

Mes très chères frères et sœurs (Asma, Radia, Mouna, Imen et Imed) *qui m'ont fourni du courage, du soutien, et tous leurs efforts et moyens pour que je termine mes études.*

A mon Fiancé (Housseem) *Qui chaque jour, par sa compréhension, sa sollicitude et ses critiques a soutenu mes efforts et fait avancer cette étude. Ce travail existe grâce à ses encouragements.*

A mes neveux (Mouaid, Wassim, Ranim, Maram, Loudjain, Qusai, Djana, Tasnim, Amir) *Je leur souhaite une vie heureuse et réalise leurs aspirations pour l'avenir.*

Mes oncles, mes tantes et toute la famille MISSAOUI *Tous mes amis et camarades particulièrement Soumia, Amina, Ichraf, Houda, Maroua, Mouna, Chaima, bohra et a tous mes amies de la promotion de Master de biologie moléculaire et cellulaire 2020.*

Riheb

Liste d'abréviations

SIPF : Suspensions intégrales de plantes fraîches

BHA : Butylhydroxyanisole

BHT : Butylhydroxytoluène

BER : Réparation par Excision de Base

NER : Réparation par Excision de Nucléotides

CPD : Dimères de Cyclobutane Pyrimidine

GG-NER : Génome Global- Réparation par Excision de Nucléotides

TC-NER : Réparation par Excision de Nucléotides Couplé à la Transcription

MMR : Réparation de mésappariement/Mis-Match

TDP1 : Tyrosyl-ADN Phosphodiesterase1

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

HR : Recombinaison Homologue

NHEJ : Jonction d'Extrémités Non Homologues

AC : Aberrations Chromosomiques

MN : Micro Noyaux

SCE : Echanges entre Chromatides Sœurs

5-BrdU : 5-Bromo-2-DésoxyUridine

FPG : Fluorescence Plus Giemsa

SCGE : Single Cell Gel Electrophoresis

Ppm : Partie Par million

His : Histidine

UV : Ultra-Violet

IM : Index Mitotique

H₂SO₄ : Acide Sulfurique

FeCl₃ : Perchlorure de fer

NaOH : Hydroxyde de sodium

NH₄OH : Ammonium hydroxyde

HCl : Alcool Chlorhydrique

K₂S₂O₅ : métrasulfite de Potassium

KI : Iodure de potassium

HgCl₂ : Chlorure mercurique

ER : Elongation Racinaire

O : Origanum

S : Salmonella

G : Growth

S : Synthesis

P : Prophase

M : Métaphase

A : Anaphase

T : Télaphase

g : gramme

mm : millimètre

cm : centimètre

ml : millilitre

V : volume

h : heure

min : minute

% : pour cent

°C : Degré Celsius.

Liste des tableaux

Tableau 01 :	Liste des espèces du genre <i>Origanum</i>	12
Tableau 02 :	Liste des espèces hybrides reconnues du genre <i>Origanum</i>	13
Tableau 03 :	Répartition géographique des trois espèces d'origan en Algérie.....	17
Tableau 04 :	Classification taxonomique d' <i>Origanum Majorana</i>	18
Tableau 05 :	Taxonomie de l'espèce <i>Allium cepa</i>	38
Tableau 06 :	Criblage phytochimique d' <i>Origanum Majorana</i>	43
Tableau 07 :	Résultats de la longueur des racines des bulbes d' <i>Allium cepa</i>	46

Liste des figures

Figure 01 :	Structure de la Coumarine.....	06
Figure 02 :	Structure de l'acide gallique.....	07
Figure 03 :	<i>Origanum Vulgare ssp vulgare</i>	15
Figure 04 :	Distribution du genre <i>Origanum</i> dans le monde.....	16
Figure 05 :	<i>Origanum majorana L.</i>	18
Figure 06 :	Structures chimiques de quelques composés phénoliques.....	20
Figure 07 :	Différentes phases du cycle cellulaire.....	21
Figure 08 :	Représentation schématique d'une cellule en prophase.....	22
Figure 09 :	Représentation schématique d'une cellule en métaphase	23
Figure 10 :	(A) : Représentation schématique d'une cellule au début d'anaphase..	23
	(B) : Représentation schématique d'une cellule en fin d'anaphase.....	24
Figure 11 :	Représentation schématique d'une cellule en télophase.....	24
Figure 12 :	Différentes étapes du cycle cellulaire.....	25
Figure 13 :	Différents dommages de l'ADN.....	25
	Voies directes de réparation de l'ADN : substrats représentatifs,	
Figure 14 :	protéines de réparation et cofacteurs, et produits de réparation	

correspondants.....	28
Figure 15 : Notions de génotoxicité directe et indirecte et leurs conséquences.....	30
Figure 16 : Aberration chromosomique au niveau de chromosome 21.....	33
Figure 17 : Principe d'application du test d'Ames.....	34
Figure 18 : Schéma de formation des micronoyaux.....	34
Figure 19 : Différents types de comètes.....	36
Figure 20 : Illustration de l'espèce <i>Allium cepa</i>	38
Figure 23 : Aspect morphologique des racines : A) Racines saines poussées dans l'eau de robinet pendant 24 heures ;B) Racines jaunâtres traitées avec 7,08 g/l de l'extrait d' <i>Origanum majorana</i> pendant 24 heures.....	45

Introduction
générale

Introduction

Depuis les temps les plus anciens, les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine, etc.) ont eu recours aux plantes médicinales pour leurs propriétés thérapeutique, cosmétique, chimique, diététique, pharmaceutique, agro-alimentaire et industrielle **(Bellakhdar, 1997)**. L'utilisation des plantes médicinales est en croissance dans la plupart des pays du monde. Cette utilisation est principalement fondée sur l'idée que les plantes sont un moyen naturel de traitement pauvre de tout risque. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Si certaines pratiques médicales paraissent étranges et relèvent de la magie, d'autre au contraire semble plus fondée, plus efficaces. Pourtant, toutes ont pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des humains **(Boumediou et Addoun, 2017)**.

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments **(Maurice, 1997)**.

En Algérie et depuis longtemps nous avons recours à la médecine traditionnelle grâce à la richesse et la diversité floristique de notre pays, cette dernière constitue un véritable réservoir phytogénétique, avec environ 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques **(Bouzi et al., 2016)**. D'après ces espèces en va étudier une plante aromatique qu'est *Origanum majorana*.

Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont de multiples intérêts mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie ; Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes **(Bahorun et al., 1996)**.

La présente étude illustre l'effet cytotoxique de l'extrait hydroalcoolique d'*Origanum majorana* par le test *Allium cepa* ce dernier est utilisé comme modèle expérimental. On prenant en considération l'effet inhibiteur de l'extrait sur l'élongation racinaire d'*Allium cepa*.

Ce manuscrit est structuré de trois parties. La première est une synthèse bibliographique qui est présenté comme suit :

- Le premier chapitre traite des généralités sur les plantes médicinales.
- Le deuxième est consacré à la plante étudiée (*Origanum majorana*).

➤ Le troisième chapitre est porté sur la génotoxicité.

La deuxième partie est consacrée aux matériel et méthodes d'analyses, la dernière partie présente les résultats obtenus ainsi que leur discussion et la conclusion

Première partie
Synthèse bibliographique

Chapitre N° 1
Généralité sur les plantes
médicinales

1. Phytothérapie

L'homme est habitué à consommer et à digérer différentes espèces de plantes, qui sont bien souvent appréciées pour leurs qualités aussi bien médicinales que nutritives. Le linge de démarcation entre les propriétés nutritives et les propriétés curatives n'est pas toujours très net. De fait la phytothérapie prend tout son sens lorsque la frontière entre aliments et médicaments disparaît (**Chevalier, 2001**).

1.1. Définition

La phytothérapie vient du mot grec « python » plante, « therapeuein » soigné, elle constitue l'art de se soigner par les plantes. Il s'agit d'une alternative aux traitements par les médicaments d'origine chimique. Ses indications sont basées sur l'utilisation traditionnelle des plantes et leurs différentes formes phytothérapeutiques. En générale la plupart des médicaments sont issus de plantes par l'extraction de la partie utilisée (racine, feuille, écorce, fruit, ...) et contenant le ou les principes actif(s) (**Volak et Stodola, 1983**).

On peut la distinguer trois types de pratiques :

- ❖ Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement.
- ❖ Une pratique basée sur les avancées et les preuves scientifiques, qui recherchent des principes actifs extraits des plantes.
- ❖ Une pratique de prophylaxie, déjà utilisée dans l'antiquité. L'homme est déjà phytothérapeute sans le savoir : c'est notamment le cas dans la cuisine, avec l'usage d'ail, du thym, du gingembre ou simplement du thé vert ; une alimentation équilibrée et contenant certains éléments actifs étant une phytothérapie prophylactique (**Boumediou et Addoun, 2017**).

1.2. Avantages de la phytothérapie

Certains de ces avantages sont en relation avec les plantes elles même nous citons parmi eux :

- Le degré de la toxicité qui est faible ou absent surtout quand il s'agit de plantes comestibles.
- La diversité thérapeutique des plantes : une plante peut traiter plusieurs pathologies par utilisation des graines, racines, feuilles et fruits.
- Les autres avantages de la phytothérapie sont, par contre liés aux conditions socio-économiques, à causes de :

- La bonne réputation que se sont forgés les phytothérapeutes tout le long de leur existence.
- La place forte considérable, qu'occupe la phytothérapie dans la culture populaire.
- Le cout des plantes médicinales relativement très bas et qui rend leur achat accessible **(Brunton , 1993)**.

1 .3. Facteurs de risques spécifiques à la phytothérapie

Parmi les facteurs de risque spécifique à la phytothérapie :

- La mauvaise identification botanique.
- La sélection d'une mauvaise partie de la plante.
- Le stockage inapproprié.
- La contamination de la plante par divers agents chimiques, métaux lourds, microorganismes.
- L'altération du produit végétal lors du conditionnement.
- L'erreur d'étiquetage du produit final **(Larrey, 1997)**.

2. Plantes médicinale

2.1. Définition

Les plantes médicinales sont de drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Elles sont impliquées dans différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques. Elle contient, au niveau de ses organes, un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fines thérapeutiques. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux **(Omar, Mohammed El haykle, 1993)**. Depuis 150 ans, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Aujourd'hui, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie. Ils montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part seraient quasiment dépourvues de toxicité.

L'usage empirique des différentes préparations traditionnelles des plantes est donc extrêmement important pour une sélection efficace de plantes puisque la plupart des métabolites secondaires de plantes employées en médecine moderne **(Farnsworth et al., 1986)**.

2.2. Principe actif des plantes médicinales

Le ou les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante ; ils lui confèrent son activité thérapeutique curatif ou préventif, il est issue de plantes fraîches ou des séchées, on peut citer comme parties utilisées : les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines. Les principes actifs sont souvent en quantité extrêmement faible dans la plante, mais ce sont eux qui en sont l'élément essentiel. Ils sont présents presque dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale. Et tous les principes actifs d'une même plante n'ont pas les mêmes propriétés.

Les plantes contiennent de métabolites secondaires pouvant être considérées comme des substances indirectement à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont essentiels pour leur développement et leur croissance, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...etc.). Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes (**Atmani et al., 2009**).

2 .3. Différents principes actifs

2.3.1. Alcaloïdes (-ine)

Ce sont des substances toxiques et parfois à faibles doses et qui ont des effets thérapeutiques connues. C'est une substance organique azotée d'origine végétale, à caractère alcalin, de structure complexe. On trouve des alcaloïdes dans plusieurs familles de plantes et on en connaît plus de mille. La morphine (1805), la strychnine (1818), la caféine, la quinine, la colchicine, le curare, l'atropine, Ils passent très facilement dans la percolation. Ils agissent directement sur le système nerveux (S, PS et central) avec des effets sur la conscience et la motricité.

L'action sur le système nerveux peut aller jusqu'à une action antispasmodique, et mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique. Les alcaloïdes sont aujourd'hui nommés d'après la plante qui les a fournis, toujours avec une terminaison en "ine". D'une façon générale, les alcaloïdes sont amers et utilisés comme apéritifs.

2.3.2. Hétérosides (ou glucosides)

Ce sont des molécules de sucres qui sont liées soit à une fonction phénol soit à un dérivé nitré ou soufré qui entraînera des propriétés particulières de la molécule.

2.3.3. Saponines (ou saponosides)

On entend par saponosides (savon -saponaire, l'herbe à savon ; le réglisse ; le bouillon blanc ; le Modène-), des hétérosides naturels dont la matière est un composé soluble à l'eau qui la rend moussante comme une eau de savon.

2.3.4. Flavonoïdes (du latin, flavus : jaune)

Ils entrent dans la composition de nombreux pigments végétaux et en particulier les pigments jaunes et orange (calendula) et aussi dans les pigments bleus (le bleuet, grand antispasmodique de la face et surtout des yeux), Les flavonoïdes ont comme noyau de base la coumarine et sont soluble dans l'eau ou dans l'alcool tandis qu'à leur état de gémé ils deviennent solubles dans les solvants organiques tels que : l'éther, le benzène. Les plantes qui contiennent des flavonoïdes sont souvent liées à la fonction antispasmodique (**Manasse, 2015**).

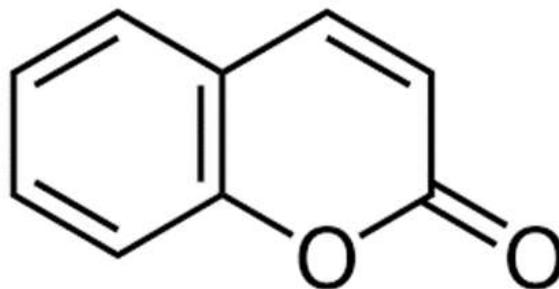


Figure 01 : Structure de la Coumarine (**Manasse, 2015**).

2.3.5. Anthocyanes (ou anthocyaniques)

A forte dose, les anthocyanes sont des poisons apparentés au cyanure. Ce sont des dérivés de l'acide cyanhydrique (produit de la combinaison de l'hydrogène avec le cyanogène). On les trouve dans les fleurs bleues (bleuet, violette, mauve) (**Benkhano, 2012**).

2.3.6. Mucilages

Ils sont encore des hétérosides. Ce sont des grosses molécules liées à des gommages qui sont d'énormes concrétions de sucres. Ils vont déposer spontanément sur les tissus et vont agir comme protecteur.

2.3.7. Vitamines

Substances aminées nécessaires, en faible quantité, au maintien de la vie. Les vitamines sont des substances qui agissent à faibles doses. On distingue les vitamines hydrosolubles et liposolubles. Les plantes fournissent quasiment toutes les vitamines. Certaines plantes en sont riches (ex : Citron--> vitamine C ; Cresson--> vitamines B1, B2, C, E).

2.3.8. Tanins

Le tanin c'est un phénol qui est associé à un sucre. Un des tanins de base est l'acide gallique. Ils précipitent les protéines et la gélatine ce qui est beaucoup plus rare. On peut en outre les utiliser en cas d'empoisonnement par des alcaloïdes, car il les précipite et les rend inoffensifs (sauf pour la morphine, la cocaïne et la nicotine, pas interaction). Mais si on force la dose, l'excès de tanin libère à nouveau la substance toxique et cause une deuxième inflammation (**Benkhanou, 2012**).

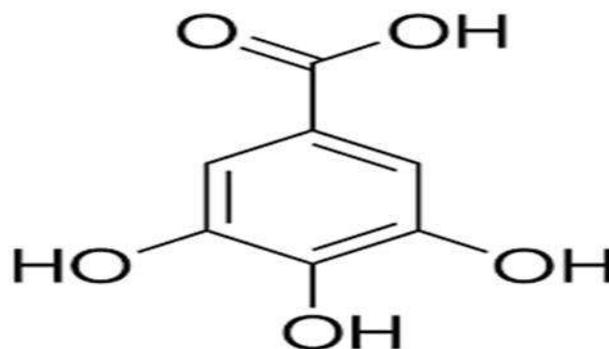


Figure 02 : Structure de l'acide gallique (**Manasse Arama Bahati, 2015**).

2.4. Mode de préparation en phytothérapie

Dans les préparations, la composition d'un remède peut réunir différentes plantes. La tisane, le Cataplasme appliqué directement sur la peau, le sirop, les solutions alcoolisées ou aqueuses, les essences et les huiles sont les formes les plus courantes de remèdes. Nous évoquerons ici les principales formes galéniques disponibles et leurs origines de fabrications (**Benkhanou, 2012**).

2.4.1. Formes liquides

2.4.1.1. Extraits aqueux

a) Tisanes

Ce sont des préparations aqueuses obtenues à partir de drogues végétales convenablement divisées et dont la quantité à utiliser variera selon la plante, la plante est mise en contact avec de l'eau pendant un temps variable et à une température plus ou moins élevée (**Bellamine, 2017**).

Elles peuvent être préparées extemporanément par : infusion (on verse de l'eau chaude sur la plante), par macération (la plante est laissée plus ou moins longtemps au contact de l'eau froide), ou par décoction (la plante est laissée plus ou moins longtemps au contact de l'eau portée à ébullition) (**Bruneton, 1999**). Après filtration, la solution obtenue ne contient que les substances hydrosolubles de la ou des plante(s) utilisée(s). Ces substances hydrosolubles peuvent être, entre autres, des flavonoïdes, des tanins, des anthocyanosides, des mucilages, des sels minéraux, des oligoéléments, des vitamines hydrosolubles ou des phytohormones. Il faut noter que de nombreux paramètres influent sur le caractère hydrosoluble des constituants de la plante ce qui implique que toutes les plantes ne sont pas adaptées à une utilisation sous forme de tisanes. La tisane peut être réalisée sur des mélanges de plantes (tisanes composées) (**Bellamine, 2017**).

2.4.1.2. Extraits alcooliques

a) Alcoolatures

Ce sont des préparations liquides colorées obtenues par macération des drogues végétales fraîches dans l'alcool. Elles correspondent généralement au cinquième de la plante déshydratée. Leur titre alcoolique varie entre 75 et 95° (**Bellamine, 2017**).

b) Alcoolats

Ils sont obtenus tout d'abord par une macération de drogues fraîches ou sèches dans de l'alcool variant de 60 à 80° suivie d'une distillation sur la solution obtenue. Ils sont généralement incolores (**Bellamine, 2017**).

2.4.1.3. Extraits hydro-alcooliques

a) Teintures

Elles sont définies comme étant des préparations liquides généralement obtenues par extraction hydroalcoolique de la drogue fraîche séchée. Le titre alcoolique est compris entre 60 et 90° en fonction de la nature de la substance à dissoudre. Les drogues utilisées en phytothérapie, sont diluées au cinquième (une partie de drogue pour 5 parties de solvant d'extraction). Il existe des teintures diluées au dixième pour les drogues à alcaloïdes comme la belladone, le datura, la jusquiame qui ne seront pas prescrites en phytothérapie (Bellamine, 2017).

b) Suspensions intégrales de plantes fraîches (SIPF)

Elles sont obtenues à partir de drogues végétales fraîches. Celles-ci sont broyées en présence d'azote liquide (-196°C), permettant d'obtenir des broyats à une température inférieure à -50°C. Constituées de particules extrêmement fines, ces dernières seront mises en suspension dans l'éthanol afin d'obtenir une concentration de 30% (en poids).

Ce procédé permet la conservation de l'intégralité de la drogue, y compris les systèmes enzymatiques. Il est intéressant pour des principes actifs fragiles, pas ou peu solubles dans les solvants extractifs habituels. Cette forme permet d'obtenir le totum de la plante.

Lors de la délivrance aux patients à l'officine, ces SIPF seront diluées. Il faut noter qu'il n'existe pas pour toutes les plantes. Le patient devra agiter vigoureusement le flacon avant chaque usage de façon à avoir une suspension homogène et la prise sera diluée dans un verre d'eau. La posologie est en général de l'ordre d'une cuillère à café, soit 5ml, dans un peu d'eau fraîche deux fois par jour, matin et soir. Il est facile de réaliser une préparation magistrale en mélangeant deux ou trois SIPF de plantes différentes (Bellamine, 2017).

2.4.2. Formes solides

2.4.2.1. Gélules et comprimés secs à avaler

Les gélules sont des préparations de consistance solide constituées par une enveloppe dure à base de gélatine ou de dérivés de la cellulose comme par exemple l'hypromellose et les comprimés à leur tour se définissent comme étant des préparations, de consistance solide,

contenant chacune une unité de prise d'un ou plusieurs principes actifs (**Bellamine, 2017**). Ces formes galéniques utilisent :

- ◆ Soit la forme totale de la plante, ce sont les gélules et comprimés de poudres de plantes.
- ◆ Soit des extraits de la plante, ce sont les gélules et comprimés végétaux d'extraits secs pulvérulents (**Bellamine, 2017**).

2.4.2.2. Poudres de plantes

Ils sont obtenus à partir de la drogue sèche selon deux possibilités :

- ◆ La drogue sèche après broyage est tamisée de façon à avoir une granulométrie convenable suivie d'une mise en gélules ou comprimés.
- ◆ Un cryobroyage peut également être réalisé, c'est-à-dire une pulvérisation de la partie active de la plante fraîche en la broyant à froid sous azote liquide, à -196°C , sans intervention d'aucun solvant. La poudre fine et homogène obtenue se prête bien à la mise en gélules ou comprimés. Cette technique permet d'obtenir une activité optimale et régulière : la poudre totale (**Bellamine, 2017**).

2.4.3. Autres utilisations des plantes médicinales

On dénombre encore les teintures mères homéopathiques, les macérats glycélinés de bourgeons, les ampoules buvables, les huiles essentielles qui constituent une discipline distincte, l'aromathérapie et les hydrolats (ou eaux florales quand il s'agit de fleurs), obtenus, comme pour la plupart des huiles essentielles, par distillation à la vapeur d'eau (**Bruneton, 1999**).

3. Toxicité des plantes médicinales

Une plante est considérée comme toxique, lorsqu'elle contient une ou plusieurs substances nuisibles pour l'homme ou pour les animaux et dont l'utilisation provoque des troubles variés plus ou moins graves voire mortels (**Fournier, 2001**).

Cette définition doit tenir compte des remarques suivantes :

- Le lieu de culture de la plante et le moment de sa cueillette, ont une influence sur sa concentration en principes actifs et donc sur sa toxicité.
- Le principe actif d'une plante toxique peut être réparti dans toute la plante ou préférentiellement dans une ou plusieurs de ses parties : la racine, les baies, ou les feuilles.

➤ La notion de dose est déterminante ; certaines plantes utilisées à visée thérapeutique peuvent, à fortes doses, présenter une menace pour la santé de l'homme (**Royaume, 2016**).

La toxicité des plantes médicinales peut être expliquée par :

❖ La toxicité intrinsèque des constituants : Les plantes médicinales sont des mélanges complexes de molécules diverses. Leur composition, souvent mal définie, est formée de molécules pourvues d'une activité biologique notoire, entre autres des hétérosides, des alcaloïdes, des anthocyanes, des tannins et des stéroïdes. Comme toutes les molécules bioactives, ces constituants peuvent, à un certain degré de concentration, présenter une toxicité intrinsèque. Telle la composition des produits végétaux, qui varie de multiples façons, la teneur de ces constituants peut « naturellement » varier d'une préparation à une autre.

❖ L'identification imprécise des composants : Une préparation à base de plantes peut devenir toxique lorsqu'un de ses constituants, qui est susceptible d'avoir des effets toxiques graves, n'est pas identifié ou mal identifié.

❖ Les altérations : La toxicité peut être aussi liée à la présence de composants qui altèrent chimiquement les préparations à base de plantes, qu'il s'agisse de végétaux ou de substances chimiques médicamenteuses.

❖ Les contaminations : Les produits à base des plantes médicinales peuvent contenir des contaminants toxiques, tels les pesticides et les métaux lourds, ainsi que des pollens, des champignons microscopiques et des moisissures susceptibles de causer des réactions allergiques et/ou toxiques (**Zekkour, 2008**).

Chapitre N°2

*Présentation de la plante
étudiée*

1. Description botanique de la famille *Lamiacée*

L'ordre des *Lamiales* est un ensemble important comprenant actuellement 17.800 espèces réparties en 21 familles ; l'une des principales est celle des *Lamiacées*, anciennement appelée Labiées, cette dernière est composée de près de 258 genres et 6970 espèces d'herbes, d'arbustes et d'arbres (**Djahra, 2014**), le Romarin, le Thym, l'Origan et la Sauge, sont les plantes plus populaires dans les remèdes traditionnels (**Nieto, 2017**). Au sein de cette famille on retrouve le genre *Origanum* qui est ici notre sujet.

Les feuilles de cette famille sont opposées décussées, simples, parfois composées, leur tige sont carrée, certaines espèces sont dressées, d'autres couchées portant des feuilles opposées ou verticillées (**Labiod, 2016**), Les inflorescences formées par de faux verticilles axillaires ou glomérules proviennent de la réunion de deux cymes bipares (**Caillaud, 2013**). Les fleurs typiquement zygomorphes à deux lèvres, plus rarement à une lèvre, parfois à symétrie radiaire, sont mauves relativement petites, la longueur de 5 à 10 mm, les fruits sont untrakènes (**Ayaidia, 2011**).

2. Genre *Origanum*

2.1. Caractères généraux

Preuve de la complexité de la classification du genre *Origanum*, deux concepts étaient utilisés par les taxonomistes jusque dans les années 1980. Le premier concept reposait sur l'existence de trois genres bien distincts et le second ne comprenait qu'un seul et unique genre. Ainsi, en 1834, Bentham différenciait trois genres : *Amaracus*, *Majorana* et *Origanum*. Cependant, en 1848, il retourne au concept de Linné et décrit quatre sections au genre *Origanum* : *Amaracus*, *Majorana*, *Origanum* et *Anatolicon*. En 1895, Briquet accepte trois genres séparés et décrit des sections supplémentaires dans le genre *Majorana* (*Schizocalyx*, *Holocalyx* et *Chilocalyx*).

Il faudra attendre 1980 et la révision taxonomique d'Ietswaart pour être fixé. Sa classification accepte le concept de Linné, avec un unique genre, est aujourd'hui largement reconnue. Cette classification est basée sur les caractères morphologiques (longueur de la tige ; arrangement, nombre et longueur des branches, forme des feuilles,). Ietswaart, en 1980, reconnaît 3 groupes, 10 sections, 38 espèces, 6 sous-espèces et une autre avec 3 variétés et 16 hybrides au genre *Origanum*. Depuis cette publication, le genre s'est élargi avec au moins cinq nouvelles espèces, et un hybride supplémentaire.

On distingue également trois groupes au sein du genre *Origanum*

- Groupe A : possédant un calice plutôt large de 4 à 12 millimètres, et une ou deux lèvres. Ses bractées sont plutôt larges, de 4 à 25 millimètres de long, membraneuses, habituellement violettes, parfois vertes tirant sur le jaune, plus ou moins glabres.
- Groupe B : possédant quant à lui un calice plutôt petit de 1,3 à 3,5 millimètres, et une ou deux lèvres. Ses bractées sont plutôt petites, de 1 à 5 millimètres, d'une texture et d'une couleur semblables aux feuilles, plus ou moins "poilues".
- Groupe C : possédant un calice avec cinq dents subégales (**Kintzois, 2002**).

Tableau 01 : Liste des espèces du genre *Origanum* (**Kintzois, 2002**).

Groupes	Sections	Espèces /sous-espèces/variétés
A	<i>Amaracus Benth</i>	<i>O. boissier</i> Ietswaart
		<i>O. calcaratum</i> Jussieu
		<i>O. cordifolium</i> Vogel
		<i>O. dictamnus</i> L.
		<i>O. saccatum</i> Davis
		<i>O. solymicum</i> Davis
		<i>O. symes</i> Caristrom
	<i>Anatolicon Benth</i>	<i>O. akhdarensense</i> Ietswaart et Boulos
		<i>O. cyrenaicum</i> Beguinot et Vaccari
		<i>O. hypercifolium</i> Schwarz et Davis
		<i>O. libanoticum</i> Boissier
		<i>O. pampaninii</i> Ietswaart
		<i>O. scabrum</i> Boissier et Heldreich
		<i>O. sipyleum</i> L.
		<i>O. vetteri</i> Briquet et Barbey
	<i>Brevifilamentum Ietswaart</i>	<i>O. acutidens</i> Ietswaart
		<i>O. bargyli</i> Mouterde
		<i>O. brevidens</i> Dinsmore
		<i>O. haussknechtii</i> Boissier
		<i>O. husnucan-baserii</i> Duman, Aytac et D...
		<i>O. leptocladum</i> Boissier
		<i>O. rotundifolium</i> Boissier
	<i>Longitubus Ietswaart</i>	<i>O. amanum</i> Post

B	<i>Chilocalyx Ietswaart</i>	<i>O. bilgeri</i> Davis
		<i>O. micranthum</i> Vogel
		<i>O. microphyllum</i> Vogel
		<i>O. minutiflorum</i> Schwarz et Davis
	<i>Majorana Bentham</i>	<i>O. majorana</i> L
		<i>O. onites</i> L
		<i>O. syriacum</i> L
		<i>O. syriacum</i> L.var. <i>syriacum</i>
		<i>O. syriacum</i> L.var. <i>bevanii</i> Ietswaart
		<i>O. syriacum</i> L.var. <i>sinaicum</i> Ietswaart
C	<i>Companulaticalyx Ietswaart</i>	<i>O. dayi</i> Post
		<i>O. isthmicum</i> Danin
		<i>O. jordanicum</i> Danin : Kunne
		<i>O. petraeum</i> Danin
		<i>O. punonense</i> Danin
		<i>O. ramonense</i> Danin
	<i>Elongataspica Ietswaart</i>	<i>O. elongatum</i> Emberger ex Maire
		<i>O. floribundum</i> Munby
		<i>O. grosii</i> Pau et Font Quer ex Ietswaart
	<i>Origanum</i>	<i>O. vulgare</i> L.
		<i>O. vulgare</i> L.ssp . <i>vulgare</i>
		<i>O. vulgare</i> L.ssp. <i>glandulosum</i>
		<i>O. vulgare</i> L.ssp. <i>garacile</i> Ietswaart
		<i>O. vulgare</i> L.ssp. <i>hirtum</i> Ietswaart
		<i>O. vulgare</i> L.ssp. <i>virens</i> Ietswaart
		<i>O. vulgare</i> L.ssp. <i>viride</i> Hayek
	<i>Prolaticorolla Ietswaart</i>	<i>O. compactum</i> Bentham
		<i>O. chrenbergii</i> Boissier
		<i>O. laevigatum</i> Boissier

Tableau 02 : Liste des espèces hybrides reconnues du genre *Origanum* (Kintzois, 2002).

	<i>O.xadonidis</i>
	<i>O.xappilii</i>
	<i>O.xbarbarae</i>

Espèces hybrides	<i>O.xdolichosiphon</i>
	<i>O.xhybridinum</i>
	<i>O .x intercedens</i>
	<i>O.xintermeduim</i>
	<i>O.xlirium</i>
	<i>O.xmajoricum</i>
	<i>O.xminoanum</i>
	<i>O.xpabotii</i>
	<i>O.xsymeonis</i>
	<i>O. amanum x dictamnus</i>
	<i>O. calcaratum x dictamnus</i>
	<i>O. micranthum x vulgare ssp.hirtum</i>
	<i>O. sipyleum x vulgare ssp. hirtum</i>

2.2. Présentation botanique et géographique

2.2.1. Présentation botanique

Origanum vient de 2 mots grecs, "oros" qui veut dire montagne et "ganos" qui signifie éclat ; ce mot signifierait "ornement des montagnes ». Les caractères distinctifs du genre *Origanum* sont d'après **Ietswaart, (1980)** :

- **Les tiges** sont les portions les plus basses sont en général ligneuses et persistantes. Il est trouvé plusieurs tiges dressées ou ascendantes portant des branches latérales, sur le quart ou la moitié supérieure, de longueur très variable de 10 à 60 cm ; la plupart des tiges portent des poils, au moins à la base dans toutes les espèces ; les poils sont simples, sauf pour *O. dictamnus* (poils ramifiés).
- **Les feuilles** sont sessiles, subsessiles ou pétiolées surtout au niveau des nœuds inférieurs ; le pétiole atteint le quart ou la moitié de la dimension du limbe, les poils portés par les feuilles et les tiges sont identiques. Elles peuvent être aussi plus ou moins glabres, dans ce cas elles sont presque toujours glauques car recouvertes par une fine couche de cire. Les feuilles portent des poches sécrétrices sessiles ou pédonculées. Ces glandes sécrétrices sont aussi présentes sur tiges, bractées, calices et corolles.
- **Les inflorescences** sont portées par chacune des tiges et chacune des branches ; l'aspect en panicule sera fonction du nombre de branches, les bractées sont arrondies, ovales ou

lancéolées ; les plus petites ressemblent à des feuilles, les plus grandes sont fines et membraneuses, souvent pourpres ou de couleur jaune-vert. De nombreuses variations sont possibles dans la taille des inflorescences et/ou des bractées ; ce sont ces variations qui permettent entre autres de différencier les sections.

- **Le calice** est la partie la plus variable, dans le genre *Origanum* il possède 5 dents plus ou moins soudées ou il est formé par une ou 2 lèvres plus ou moins dentées. La classification en différentes sections fait également intervenir les caractères distinctifs du calice (figure 03).
- **la corolle** en forme de tube est dressée avec 2 lèvres de 3 à 14 mm, sa couleur est blanche, rose ou pourpre.
- **Les étamines** peuvent être de forme et de taille très différente et sont adaptées à la pollinisation par les insectes.
- **Les fruits** sont des akènes ovoïdes, bruns, mesurant 1 à 5 mm de long et 0,5 mm de large. Les caractères fondamentaux du genre *Origanum* résumés ci-dessus présentent le plus souvent des variations caractéristiques de chaque section.

Les caractères fondamentaux du genre *Origanum* résumés ci-dessus présentent le plus souvent des variations caractéristiques de chaque section.

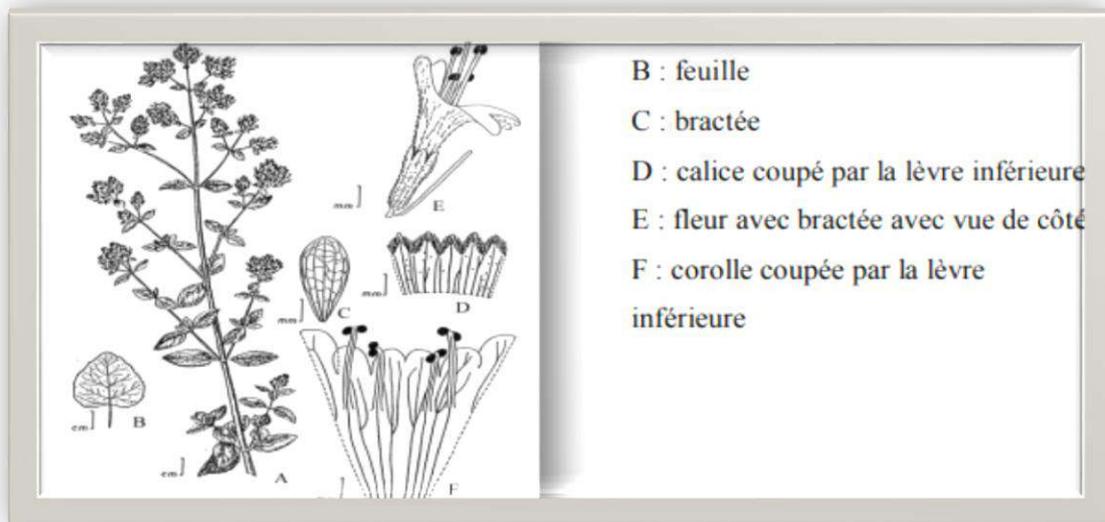


Figure 03 : *O. Vulgare* ssp *vulgare* d'après Ietswaart (1980).

2.2.2. Répartition géographique

2.2.2.1. Dans le monde

Le genre *Origanum* est largement répandue dans les régions euro-sibérienne et irano-sibérienne (**Bekhechi et al., 2008**). Il est principalement réparti autour du bassin Méditerranéen dont 81% (35 sur 43 espèces) des espèces se distribuent exclusivement dans l'Est Méditerranéen, essentiellement en Turquie, en Grèce et au Moyen Orient (**Taylor et Francis, 2002**).

Les sections *Amaracus*, *Brevifilamentum*, *longitubus*, *Chicocalyx*, *Majorana* et *Campanulicalyx* sont limitées à l'Est Méditerranéen (Grèce, Turquie, Moyen Orient). *Anatolicon* présente une distribution très restreinte en Grèce, Turquie, Liban et Libye. *Elongataspica* comporte trois espèces endémiques de l'Afrique du Nord (Maroc et Algérie). *Prolaticorolla* est rencontrée dans deux endroits extrêmes à l'Est et l'Ouest Méditerranéen (Maroc, Espagne, Liban et Turquie). L'*Origanum* est une section mono spécifique comprenant l'espèce *O. vulgare* qui est largement distribuée en Euro-Asie et en Afrique du Nord. L'aire géographique de la section *Origanum* s'étend jusqu'aux Açores, îles Canaries, Bretagne, Scandinavie et Chine et Taiwan (**Taylor et Francis, 2002**).



Figure 04 : Distribution du genre *Origanum* dans le monde (**Zenasni., 2014**).

2.2.2.2. En l'Algérie

L'origan est une plante très répandue en Algérie, elle est représentée par trois espèces : *Origanum Majorana*, *Origanum vulgare* ssp *glandulosum* et *Origanum floribundum*. Cette

dernière est d'ailleurs une espèce endémique algérienne (**Quezel et santa, 1963**). Le tableau 03 indique la localisation de ces trois espèces.

Tableau 03 : Répartition géographique des trois espèces d'origan en Algérie (**Quezel et santa, 1963**).

Espèces	Localisation et caractéristiques
<i>Origanum floribundum Mumby</i>	Pousses en pâturage et surtout en montagne. Espèce rare dans le sous-secteur du littoral et le secteur de Kabylie. Endémique d'Algérie.
<i>Origanum vulgare L. et Origanum majorana L</i>	Commune dans tout le Tell. Endémique Algéro-tunisienne. pousse dans les garrigues et broussailles.

3. Marjolaine

3.1. Définition

La Marjolaine ou Origan des jardins (*Origanum majorana.L*) est une plante annuelle de la famille des Lamiaceae, cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles aromatiques. C'est une espèce très proche de l'Origan commun (*Origanum vulgare*). Elle est parfois appelée Marjolaine des jardins. Autres noms communs : marjolaine officinale, marjolaine à coquilles. (**Dubois et al., 2006**). Elle est relativement proche du thym, tant par son odeur que par sa composition chimique.

3.2. Nomenclature

Origanum majorana L (O. majoranoides, Majoranahortensis) Le nom vernaculaire : Mardkouch, Marjolaine vraie, Marjoram (*Majoranahortensis Moench*), Marjolaine douce est une plante qui pousse en Europe du Sud, l'Afrique du Nord et la Turquie (**Fathy et al., 2009**). Elle est communément connue sous le nom d'origan, du fait de son étymologie grecque organon signifiant "montagne et joie" ou « aime la montagne ». Elle peut également se faire appeler marjolaine à coquilles, de Crète, dictame, thym de berger, thé rouge (**Vera et Chane, 1999**).

3.3. Description botanique

C'est une espèce herbacée vivace très proche de l'origan à tiges dressées, ramifiées, haute de 20 à 30 cm. Qui possède des feuilles de 1 à 2 cm de long, opposées, d'un vert grisâtre, de forme ovale entière. Ses fleurs sont petites, blanches ou mauves, disposées en groupes serrés à l'aisselle des feuilles avec deux bractées en forme de cuillère (Schaal, 2010).



Figure 05 : *Origanum majorana* L (Schaal, 2010).

Cette herbe s'emploie sous forme de feuilles fraîches ou séchées, seule ou en mélange avec d'autres herbes, pour aromatiser de nombreuses préparations culinaires. La marjolaine est connue aussi pour ses propriétés aphrodisiaques. C'est une plante aromatique très utilisée en cuisine, notamment dans les mets culinaires méditerranéens, son huile essentielle est connue pour sa propriété antiseptique (Furia et Bellanca, 1971).

3.4. Position systématique d'*Origanum Majorana*

Tableau 04 : Classification taxonomique d'*Origanum Majorana* d'après Deysson 1967 (Figueredo, 2007).

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Série	Supervariées tétracycliques

Super ordre	Tubiflorales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Népétoïdées
Genre	Origanum
Espèce	<i>Origanum Majorana.</i>

3.5. Composition chimique

L'Origanum majorana contient des coumarines, flavonoïdes, sucre, tannins, stéroïdes et des huiles essentielles (Sanju et al., 2016).

3.6. Propriétés et usages thérapeutiques

O. majorana est une plante très populaire utilisée dans notre région. Elle possède des applications très vastes tant dans le domaine alimentaire que celui de la médecine. Traditionnellement, les feuilles sont utilisées par voie orale (en tisane ou mastication) dans le traitement symptomatique de diverses pathologies telles que les troubles digestifs et les troubles respiratoires. En effet, les feuilles de cette plante possèdent un effet antalgique par son action sur les récepteurs acide gamma-aminobutyrique (GABA) (Khaki el al., 2011).

De nombreuses études ont montré que *O. majorana L.* est riche en composés phénoliques. De ce fait, cette plante possède une capacité de chélation de radicaux libre élevée et par conséquent une activité anti-oxydante importante (Miron et al., 2011). Il a été montré que *O. majorana* contient des terpenoïdes représentés par le 4- ol terpènes et le γ terpinène (El-Akhal et al., 2014).

Outre son activité antioxydante, *O. majorana* a démontré une activité antimicrobienne importante (Busatta et al., 2008). D'autres études ont révélé que l'extrait aqueux ainsi que les huiles essentielles de cette plante protègeraient contre les dommages causés au rein et au foie par l'acétate de plomb (El-Ashmawy, 2014). Une étude menée par Al-Harbi(2011) a montré que l'extrait d'*O. Majorana* réduit l'effet secondaire du cyclophosphamide, composé anticancéreux, sans pour autant altérer son effet cytotoxique.

4. Activité antioxydante de l'extrait de marjolaine

Les extraits de marjolaine contiennent un taux considérable de phénols et d'autres composés aromatiques comme l'alpha-terpinène, le terpinolène et le thymol ou des acides hydroxycinnamiques et des flavonoïdes. Les acides rosmarinique et caféique ont été aussi détectés (Triantaphyllou et al., 2001). Il a été établi que l'extrait de marjolaine peut avoir une activité antioxydante.

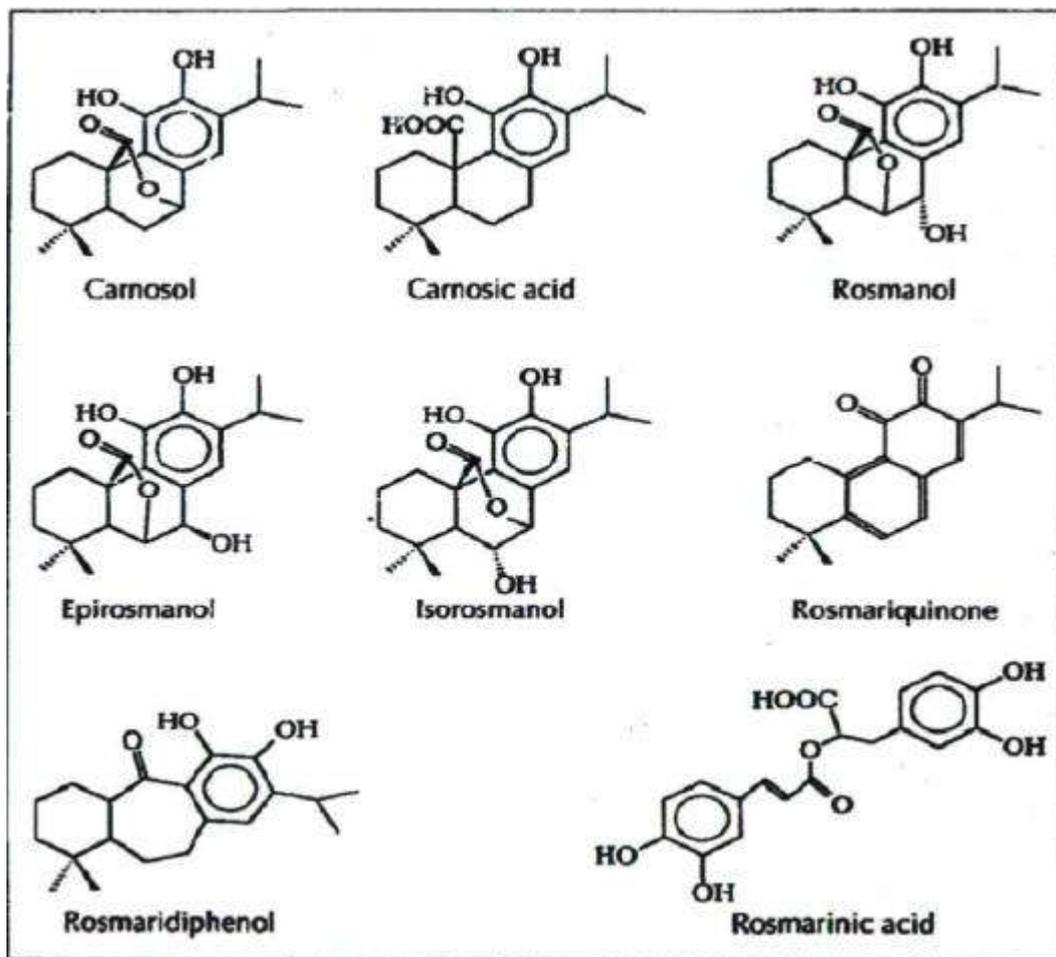


Figure 06 : Structures chimiques de quelques composés phénoliques (Vagi et al., 2005).

Chapitre N°3

Génotoxicité

1. Effets génotoxiques

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

1.1. Cycle cellulaire

La division cellulaire est le processus fondamental par lequel une cellule mère donne deux cellules filles identiques entre elles et à la cellule, dont elles dérivent. Le « cycle cellulaire » est essentiellement constitué de deux temps, l'interphase, au cours de laquelle les chromosomes sont répliqués, et la mitose, au cours de laquelle les chromosomes se répartissent entre les deux cellules filles (**Meijer, 2003**). L'interphase se divise en trois parties : la phase G1, la phase S et la phase G2, quant à la mitose, elle comprend quatre phases : la prophase, la métaphase, l'anaphase et la télophase (**figure 07**) (**Karp, 2004**).

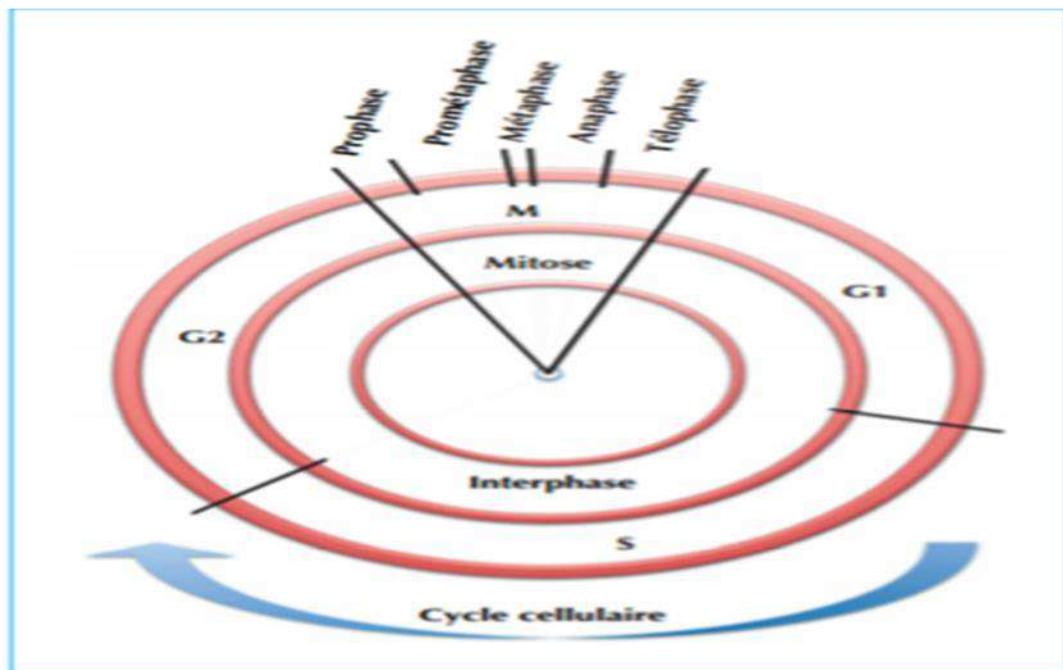


Figure 07 : différentes phases du cycle cellulaire (**Diallo et Prigent, 2011**).

1.1.1. Interphase

Sur un cycle cellulaire complet de 20 heures, la mitose peut durer environ 1 heure et l'interphase 19 heures (**Stansfield, 2003**).

Elle se caractérise par trois phases importantes :

• Phase G1

Première phase de croissance (Growth). Elles subissent une étape de croissance pour avoir leurs tailles finales. Elles vont aussi, lors de cette étape travailler et effectuer les différentes fonctions pour lesquelles elles sont programmées.

• Phase S

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

• Phase G2

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

1.1.2. Mitose

• Prophase

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

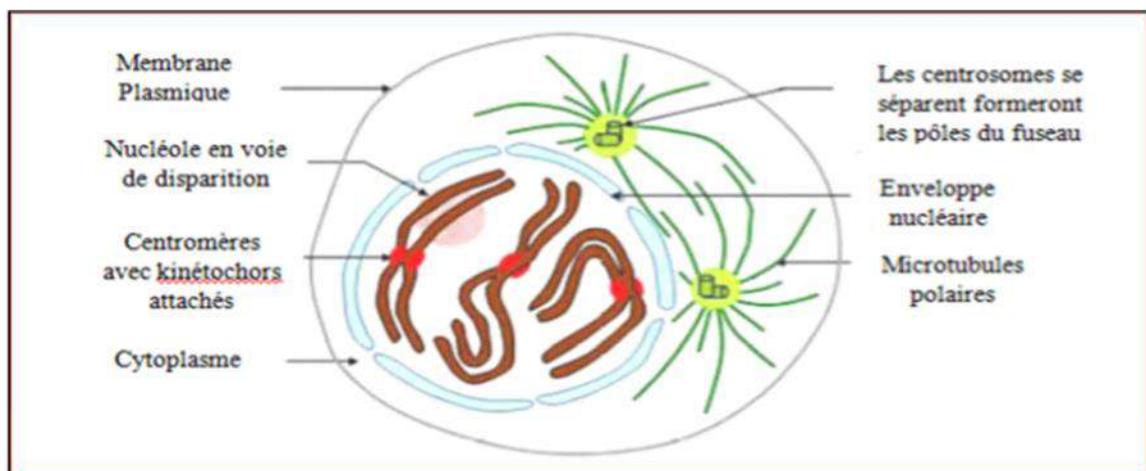


Figure 08 : Représentation schématique d'une cellule en prophase (**Dolisi, 2009**).

• Métaphase

Ne dure que quelques minutes. Elle se caractérise par le regroupement des centromères au niveau de la plaque équatoriale. Les centromères se fixent aux

microtubules polaires de la cellule. Pendant cette phase, il est possible d'observer tous les chromosomes distinctement, en vue polaire (Klug, 2006).

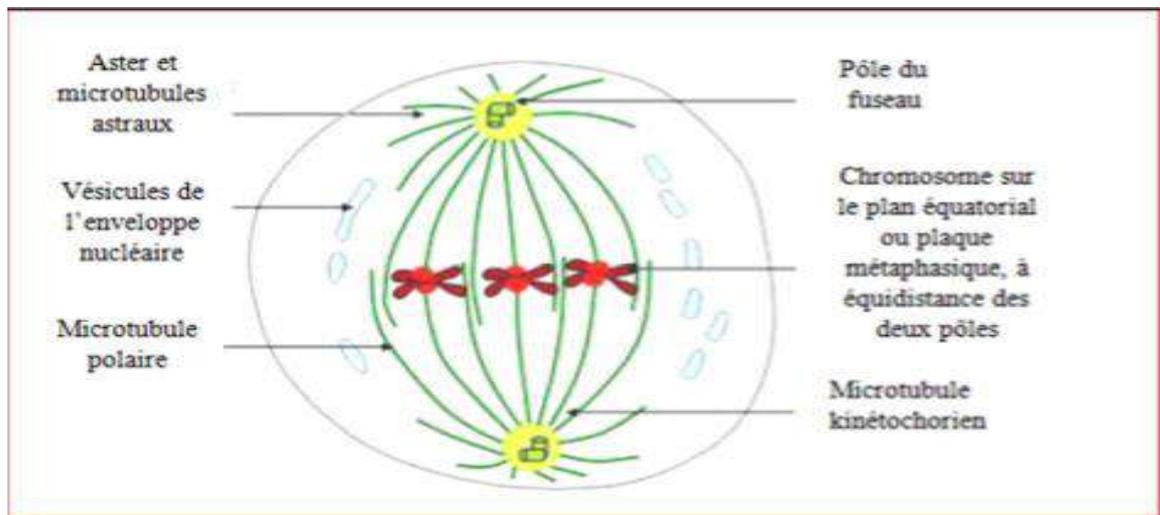


Figure 09 : Représentation schématique d'une cellule en métaphase (Dolisi, 2009).

- **Anaphase**

Phase très courte (2 à 3 minutes). Chaque centromère se divise en deux. Les fibres apportent alors chaque groupe de chromatides vers les pôles cellulaires. Cette séparation permet d'obtenir deux lots de chromosomes à un chromatide complètement identiques.

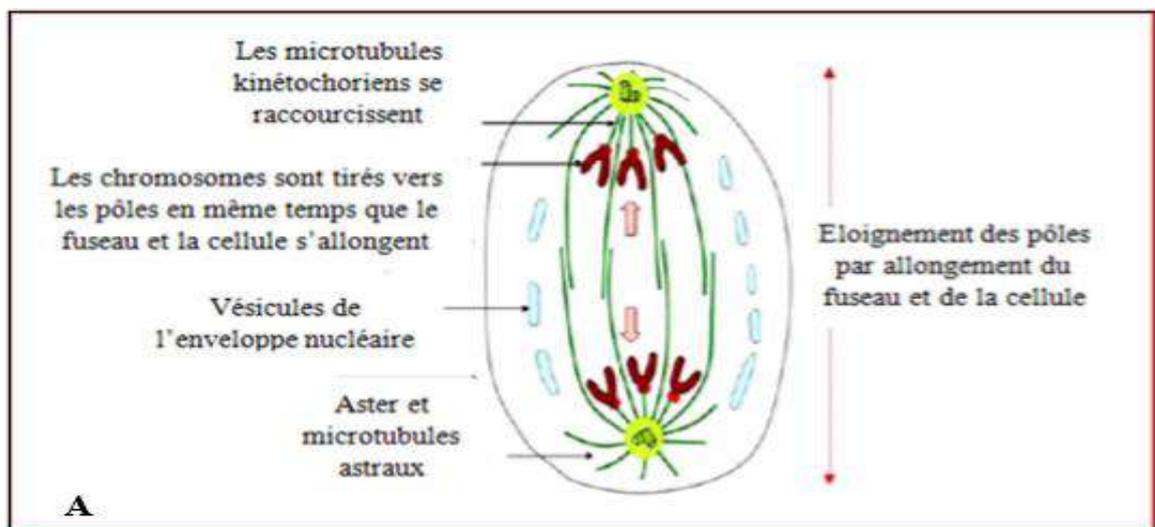


Figure 10 (A) : Représentation schématique d'une cellule au début d'anaphase (Dolisi, 2009).

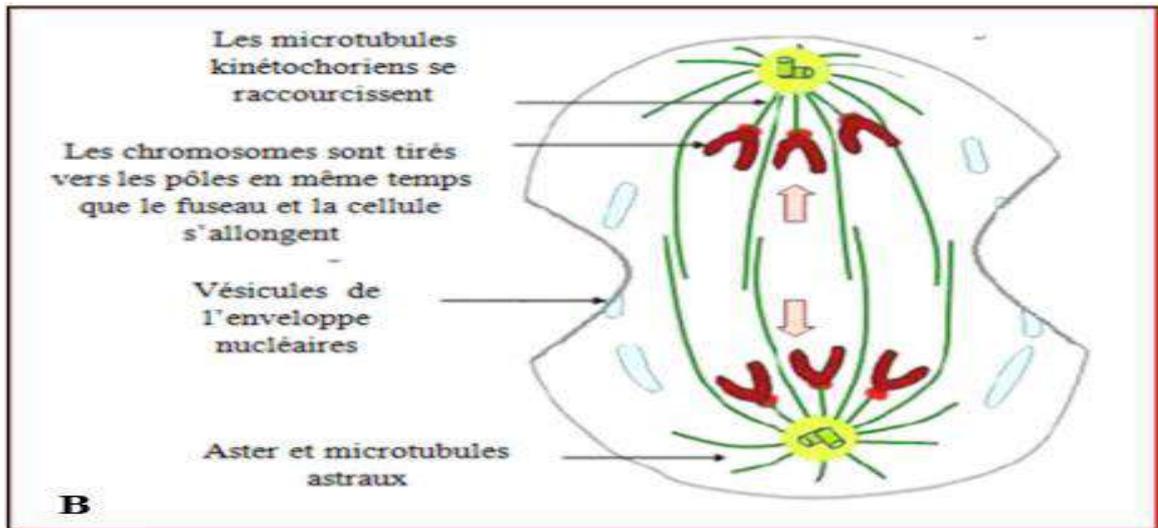


Figure 10 (B) : Représentation schématique d'une cellule en fin d'anaphase (Dolisi, 2009).

• Télophase

Dure de 15 à 60 minutes. Elle se caractérise par la formation d'un noyau, la transformation des chromosomes en chromatine, la disparition des fibres, la division du cytoplasme et la formation d'une nouvelle membrane plasmique, c'est la cytokinèse (Elord et Stansfield, 2003).

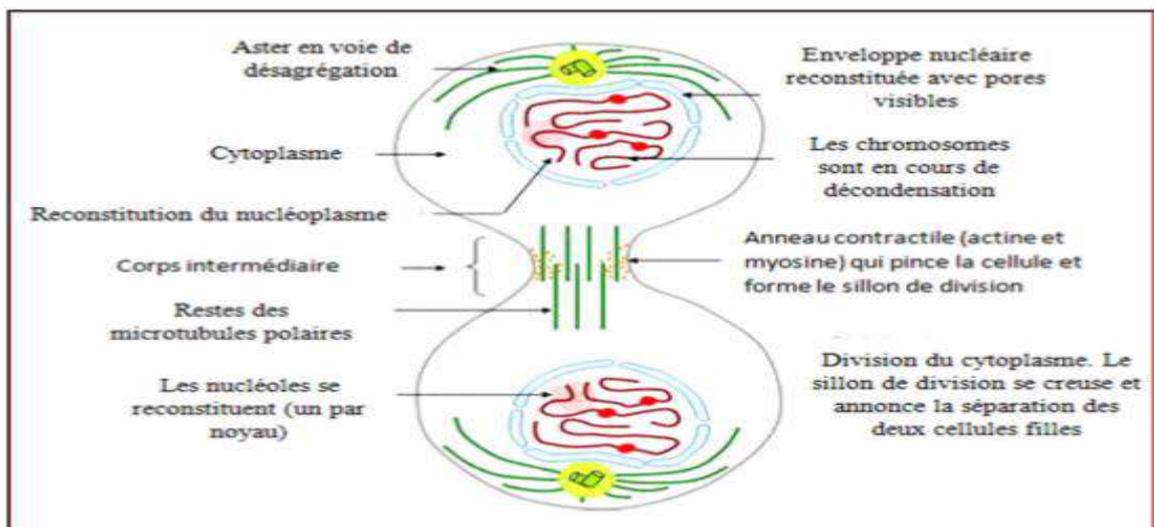


Figure 11 : Représentation schématique d'une cellule en télophase (Dolisi, 2009).

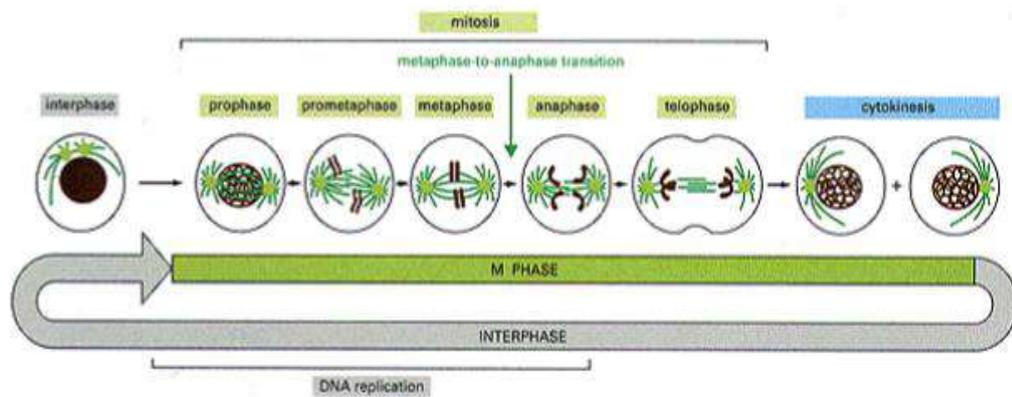


Figure 12 : différentes étapes du cycle cellulaire (Alberts et *al.*, 2002)

1.2. Lésions de la molécule d'ADN

Les dommages de l'ADN ont pour origine des changements de bases spontanées endogènes (dépuration, désamination, erreurs lors du processus de réplication de l'ADN), ou sont induits par des agents chimiques ou physiques présents dans notre environnement. L'altération du matériel génétique peut se traduire de différentes façons selon les agents qui réagissent avec l'ADN. On peut observer en fonction des agents génotoxiques, des cassures double et simple brin, la formation d'adduits aux bases de l'ADN, une alkylation ou une oxydation de la molécule d'ADN, des pontages inter ou intra brin et des mésappariements de bases (Orsière et *al.*, 2005).

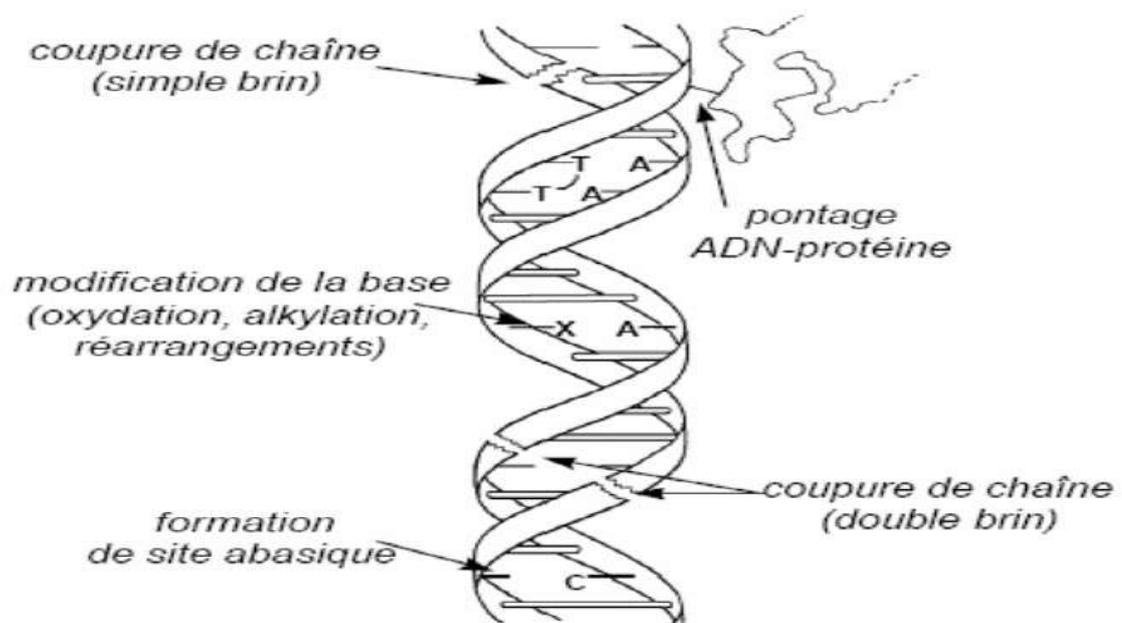


Figure 13 : Différents dommages de l'ADN (Devoret, 1979).

Lorsque la réparation est absente ou incomplète (réparation fautive), et selon la nature des lésions, la cellule va mourir ou bien muter. On distingue trois types de mutations selon leur localisation :

1.2.1. Mutations géniques

Peuvent résulter de substitutions de paires de bases : transitions (substitution d'une base purique par une autre base purique ou substitution d'une base pyrimidine par une autre base pyrimidine), ou transversions (inversion entre une base purique et pyrimidine) et de décalage du sens de lecture.

Les substitutions de paires de bases donneront lieu à des mutations ponctuelles. En revanche, le décalage du cadre de lecture, qui est dû à l'insertion ou la délétion d'une ou plusieurs paires nucléotidiques, aura pour effet possible de modifier un gène ou un groupe de gènes, pouvant ensuite modifier l'expression et la régulation de nombreux autres, mais surtout aboutir à des protéines tronquées, non fonctionnelles. Ces mutations sont provoquées par des agents génotoxiques suite à des erreurs de réplication ou de réparation des dommages engendrés.

1.2.2. Mutations chromosomiques

Sont provoquées par des agents dits clastogènes (cassure du chromosome). Ces agents altèrent la structure des chromosomes suite à des cassures de la double hélice d'ADN entraînant des pertes de chromosomes (partielles ou entières), des aberrations structurales et des translocations chromosomiques, qui auront pour effet d'affecter des dizaines, voire des centaines de gènes. Étant donné que la régulation de l'activité d'un gène dépend en partie de sa localisation dans le génome, les mutations chromosomiques ont en général des effets considérables, car elles éliminent une partie du gène, ou modifient le moment où un gène donné est activé ou désactivé. Parmi les composés clastogènes connus, on peut citer la mitomycine C.

1.2.3. Mutations génomiques

Sont provoquées par des agents dits aneugènes (changement du nombre de chromosomes). Ces agents perturbent la ségrégation des chromosomes durant la méiose ou la mitose, provoquant une mauvaise distribution du matériel génétique dans les cellules filles. On parle alors d'aneuploïdie pour tout écart par rapport au nombre diploïde (ou haploïde) normal de chromosomes. Les mutations génomiques sont néfastes pour un

organisme, car elles modifient l'équilibre des fonctions de milliers de gènes. On peut citer comme exemple le cas de la trisomie 21 : un gain de chromosome est observé dans la paire n°21 (Vanessa, 2012).

1.3. Voies et systèmes de réparation des dommages à l'ADN

Les agents endogènes et environnementaux menacent en permanence l'intégrité génomique de tous les organismes vivants. La réplication de l'ADN endommagé peut entraîner des mutations tumorigènes, tandis que les lésions à l'ADN bloquant la réplication ou la transcription peuvent entraîner une sénescence et la mort cellulaire. Par conséquent, les organismes ont développé différents mécanismes pour se défendre contre les effets délétères des dommages causés à l'ADN (Yi et He, 2013).

1.3.1. Réparation des dommages simples de bases d'ADN

1.3.1. 1. Réparation par inversion des dommages

Trois mécanismes majeurs de réparation directe de l'ADN ont été identifiés à ce jour :

- 1) Les photolyases qui inversent les photos lésions induites par la lumière UV.
- 2) Les O6-Alkyl-G-ADN-Alkyltransferases qui inversent un ensemble de dommages à l'ADN Oalkylé.
- 3) Les dioxygénases qui inversent les produits d'addition des bases alkylées (Friedberget al., 2005).

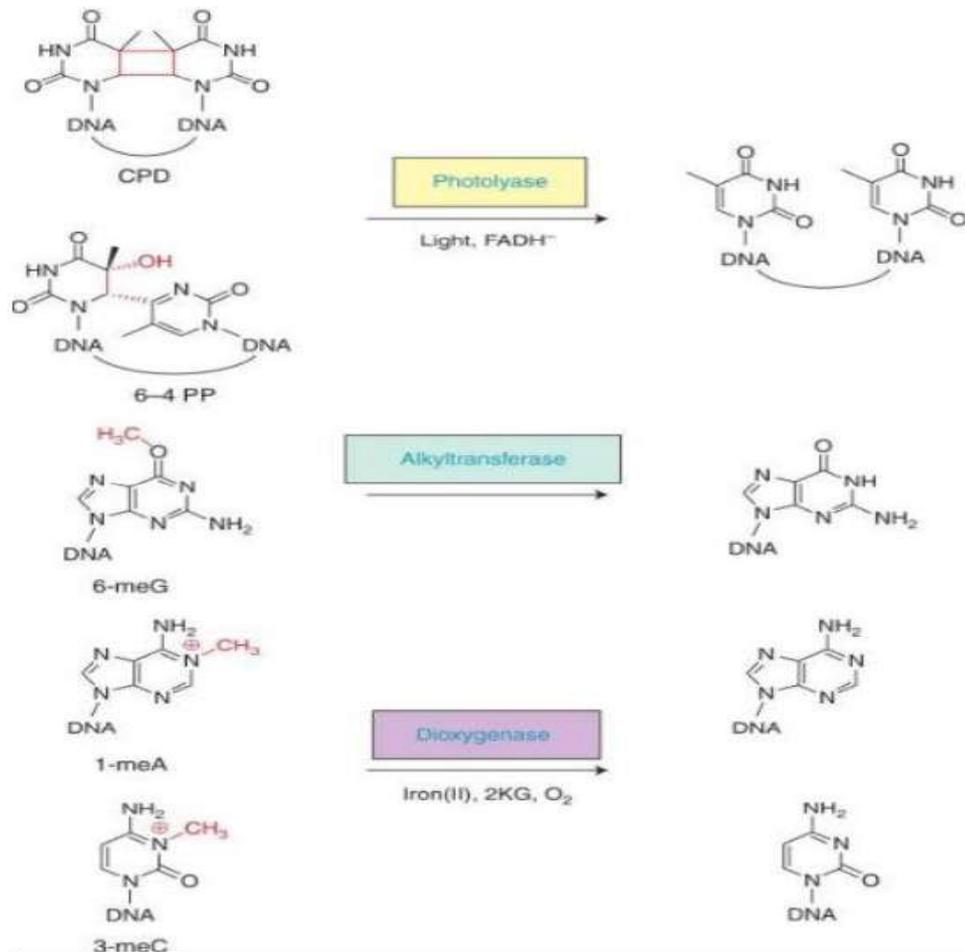


Figure 14 : Voies directes de réparation de d'ADN : substrats représentatifs, protéines de réparation et cofacteurs, et produits de réparation correspondants (Yi et He, 2013).

1.3.1. 2. Réparation par excision de base (BER)

Le BER corrige les formes de dommages oxydatifs, de désamination, d'alkylation et de bases simples qui ne sont pas perçues comme des distorsions significatives de l'hélice de l'ADN. Dans le noyau, ce processus de réparation est principalement actif dans la phase G1 du cycle cellulaire (Dianov et Hubscher, 2013).

1.3.2. Réparation de dégâts de base multiples et volumineux

1.3.2.1. Réparation par excision de nucléotides (NER)

NER est une voie de réparation importante de l'ADN qui élimine une grande variété de lésions de base, notamment les photoproduits induits par les rayons UV et les dimères de cyclobutane pyrimidine (CPD). Le NER de mammifères comprend deux sous-voies : le génome global NER (GG-NER), qui opère dans tout le génome, et le NER couplé à la

transcription (TC-NER), qui est spécialisé dans l'élimination des lésions du brin transcrit de gènes actifs (**Tornaletti et Hanawalt, 1999**).

1.3.2 .2. Réparation de mésappariement/Mis-Match (MMR)

La voie MMR s'occupe de la correction des mésappariements de substitution de bases générées lors de la réplication d'ADN, et celles du mécanisme d'insertion-délétion au sein de séquences d'ADN répétitives résultant d'événements de glissement de brins (**Kunkel et Erie, 2005 ; Jiricny, 2006**).

Les protéines impliquées dans le système MMR participent à une grande variété de transactions d'ADN, de sorte que leur inactivation peut avoir de profondes conséquences biologiques sur les microbes, les populations microbiennes et les organismes multicellulaires (**Kunkel et Erie, 2005**).

1.3.3. Réparation des cassures des brins d'ADN

1.3.3.1. Réparation de rupture simple brin

On prévoit que la réparation de rupture simple brin se produira par trois voies différentes, en fonction de la source de la rupture simple brin : la voie à patch long, la voie à patch court et la troisième qui est une variante de la réparation à patch long dans laquelle le traitement final est effectué par l'enzyme tyrosyl-ADN phosphodiesterase1 (TDP1) (**Caldecott, 2008**).

1.3.3.2. Réparation de rupture double brin

Nous aborderons brièvement les deux voies principales que les organismes ont évolué pour résoudre les ruptures double brin : la recombinaison homologue (HR) et la jonction d'extrémités non homologues (NHEJ) (**Rothkamm, 2003**) :

- NHEJ répare les extrémités cassées avec peu ou pas d'exigence en matière d'homologie de séquence (**Jackson, 2002**).
- HR, qui semble être moins importante que NHEJ, utilise une homologie étendue pour restaurer fidèlement la séquence sur le site de la rupture (**Haber, 2000**).

2. Génotoxicité

2.1. Définition

La génotoxicité, appelée également toxicité génétique, représente la capacité de certains agents physiques, chimiques, ou biologiques, à provoquer l'apparition de dommages à l'ADN pouvant conduire à des mutations irréversibles du matériel génétique, si ces lésions ne sont pas réparées. Ces agents sont qualifiés de mutagènes.

Ces dommages, une fois fixés dans le génome, peuvent avoir des conséquences délétères sur la santé des organismes exposés et/ou de leur descendance : mortalité embryonnaire, malformations congénitales, infertilité, cancers...etc. (**Dégremont et Cachot, 2009**).

2.2. Agents génotoxiques

Les agents génotoxiques peuvent interagir directement avec le matériel génétique et générer des adduits, des cassures de brins...etc., ou indirectement via leurs catabolites électrophiles formés par bioactivation, telles que les espèces réactives de l'oxygène génératrices de lésions oxydatives de l'ADN. Ils peuvent également se lier aux protéines entraînant des dysfonctionnements enzymatiques qui peuvent générer des altérations de l'appareil mitotique ou de la machinerie de réplication (**Botta, 2006**).

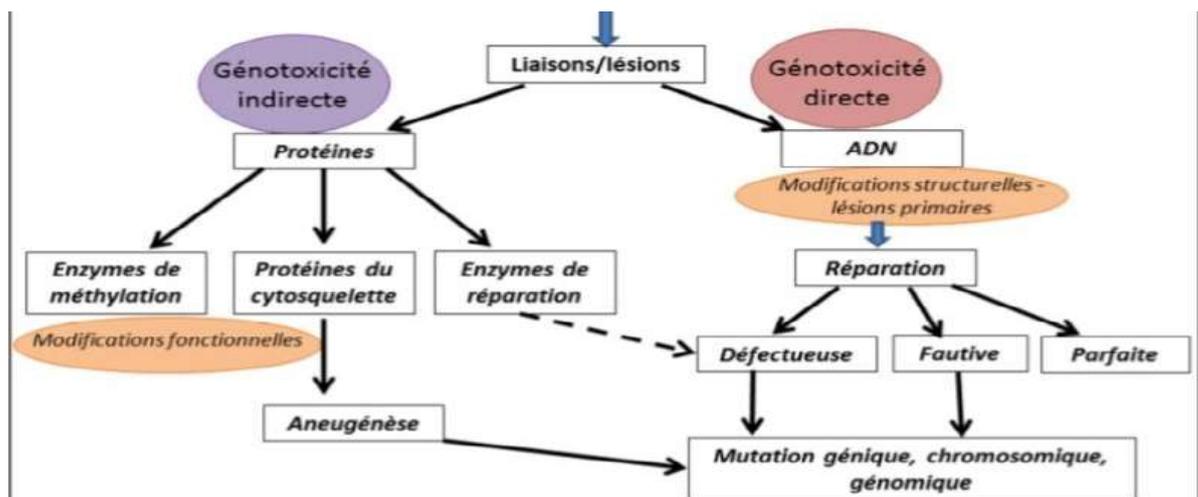


Figure 15 : Notions de génotoxicité directe et indirecte et leurs conséquences (**Kienzler, 2013**).

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

2.2.1. Agents chimiques

Une grande variété de produits chimiques est en mesure de causer des mutations de l'ADN (**Winter et al., 2000**). Quatre groupes d'agents chimiques ont été distingués : les analogues de bases qui provoquent des délétions, des insertions ou des modifications d'une ou plusieurs bases de l'ADN, tels que le 5-bromo uracile ou la 2-amino purine (**Cachot, 2009**). Les agents intercalants tels que le bromure d'éthidium ou la proflavine qui sont des molécules à géométrie plane peuvent s'insérer entre les paires de bases entraînant ainsi une distorsion de l'ADN. Il existe aussi les agents désaminants qui génèrent des mutations ponctuelles mais également des mutations plus étendues et inactivantes tels que l'azide de sodium (**Le Blanc-Louvry et al., 2012**). Et l'acide nitreux qui peut provoquer la désamination de la cytosine ou de l'adénine pour produire respectivement de l'uracile ou de l'hypoxanthine. Enfin, les agents alkylants capables d'entraîner des méthylations, éthylations ou alkylations au niveau des bases (**Cachot, 2009**).

2.2.2. Agents physiques

Parmi les agents physiques mutagènes, il y'a les radiations ionisantes et les radiations non ionisantes (**Samouelian et al., 2009**).

Les radiations ionisantes hautement énergétiques, comme les rayons X ou gamma provoquent dans la molécule d'ADN des altérations étendues, des coupures dans les brins et la destruction des sucres et des bases (**Winter et al., 2000 ; Aftab et al., 2014**). Les radiations non ionisantes comme les rayons Ultraviolette provoquent des transitions Guanine cytosine en Adénine Thymine (**Guiraud, 1993**).

2.2.3. Agents biologiques

Certains agents biologiques comme les endoparasites, les virus, les plasmides, et les transposons peuvent s'insérer au niveau de l'ADN de la cellule hôte et interrompre la séquence génomique, par conséquent provoquer des mutations (**David, 2013**).

2.3. Tests de génotoxicité

Les tests de génotoxicité sont appliqués depuis longtemps dans le monde pour la surveillance du risque mutagène/cancérogène chez des travailleurs exposés à des agents génotoxiques. Ils sont un outil, le seul pour l'instant, pour pouvoir évaluer les effets

précoces, prédictifs du risque de cancer, de l'exposition à des agents génotoxiques (**Eslava, 2004**).

Les tests de génotoxicité qui évaluent les mutations au niveau du chromosome. Peuvent être de deux types :

- **Chromosomiques**

Concernent l'ensemble des modifications qualitatives des chromosomes, de la structure des chromosomes ; elles surviennent à la suite d'une exposition à un agent clastogène, qui provoque des cassures des chromosomes.

- **Génomiques**

Font référence aux anomalies chromosomiques quantitatives, à une modification du nombre de chromosomes ; elles surviennent à la suite d'un événement aneugène, qui affecte des chromosomes entiers. (**Eslava, 2004**).

Pour qu'un test soit fiable, il doit satisfaire les conditions suivantes :

- ✓ Être facile à réaliser et ne comporter aucun risque pour le sujet ;
- ✓ Fournir des résultats précis et reproductibles avec un minimum d'erreurs analytiques possibles ;
- ✓ Enfin, et surtout, l'information obtenue doit être quantitativement significative en termes de risques pour la santé d'un individu ou d'un groupe d'individus (**Vincent, 1993**).

2.3.1. Test des aberrations chromosomiques (AC)

Les aberrations chromosomiques (AC) sont caractérisées par des changements dans le nombre total de chromosomes ainsi que des anomalies structurales stables (il n'y a pas de perte/gain de matériel génétique) ou instables (fragments acentriques, dicentriques et cycliques) générées dans un ou plusieurs chromosomes. L'essai pour but d'évaluer la fréquence des AC stables et instables (**Udroiu et Sgura, 2017**) ; qui jouent un rôle dans l'étiologie des cancers et de diverses maladies génétiques humaines. Les effets des agents peuvent être étudiés chez un animal entier « in vivo » (**Amer et al., 2002**) ou dans des cellules lymphocytes ou cellules de la lignée germinale en culture « in vitro » (**Bonassi et al., 2008**).

La cellule ou l'animal est traité(e) avec la substance à tester puis incubé(e) avec un inhibiteur de métaphase (généralement la colchicine) (**Turkez et al., 2014**). La présence

d'aberration est analysée à l'aide d'un microscope en suivant la procédure de coloration appropriée. Cette analyse n'est pas simple à réaliser car elle nécessite une connaissance précise des phases de division cellulaire et de leurs éventuelles anomalies (**Leme et Marin-Morales, 2009**).

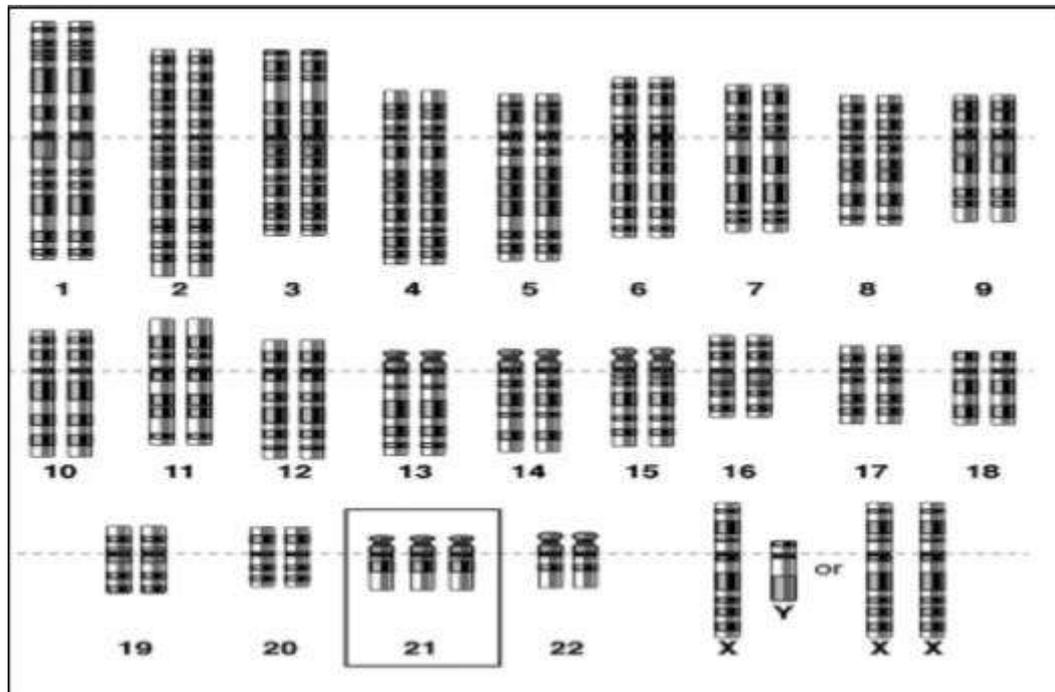


Figure 16 : Aberration chromosomique au niveau de chromosome 21(**Bonassi 1995**).

2.3.2. Test d'Ames

Le test d'Ames est un test de mutation génique qui consiste à examiner si une substance chimique est capable d'induire des mutations chez une bactérie : *Salmonella typhimurium* (His-).

Les souches de *S. typhimurium* utilisées sont porteuses d'une mutation sur l'un des gènes gouvernant pour la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation (His-) rend les souches incapables de se développer sur milieu de culture dépourvu d'histidine.

Avec une fréquence propre à chaque souche, ces mutations (His-) peuvent réverter spontanément vers (His+). Les bactéries porteuses de cette mutation réverse, peuvent alors pousser sur milieu dépourvu de cet acide aminé (**Maron et Ames, 1983**). Les essais bactériens de mutation réverse utilisent des cellules procaryotes qui diffèrent des cellules de mammifères, notamment du point de vue du transport, du métabolisme, de la structure des chromosomes et des processus de réparation de l'ADN. (**Ames et al., 1975**). La

fréquence de ces mutations réverses peut être considérablement augmentée en exposant les bactéries à un agent mutagène. Le test d'Ames permet de quantifier l'induction de cette mutation réverse (His⁺) (Maron et Ames, 1983).

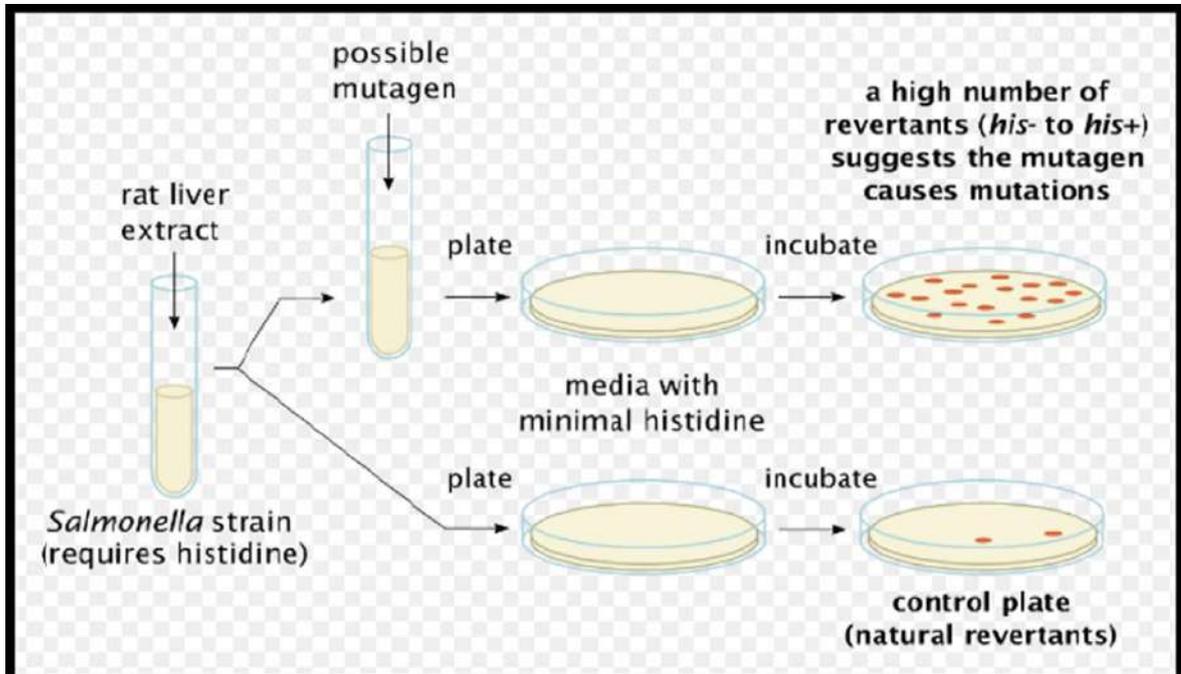


Figure 17 : Principe d'application du test d'Ames (Maron et Ames, 1983).

2.3.3. Test de micronoyaux (MN)

Les micronoyaux sont constitués de chromosomes entiers perdus au cours de la mitose précédente (phénomène aneugène) ou de fragments chromosomiques acentriques exclus du noyau de la cellule fille pendant la division cellulaire (phénomène clastogène) (figure 18) (Eslava, 2004).

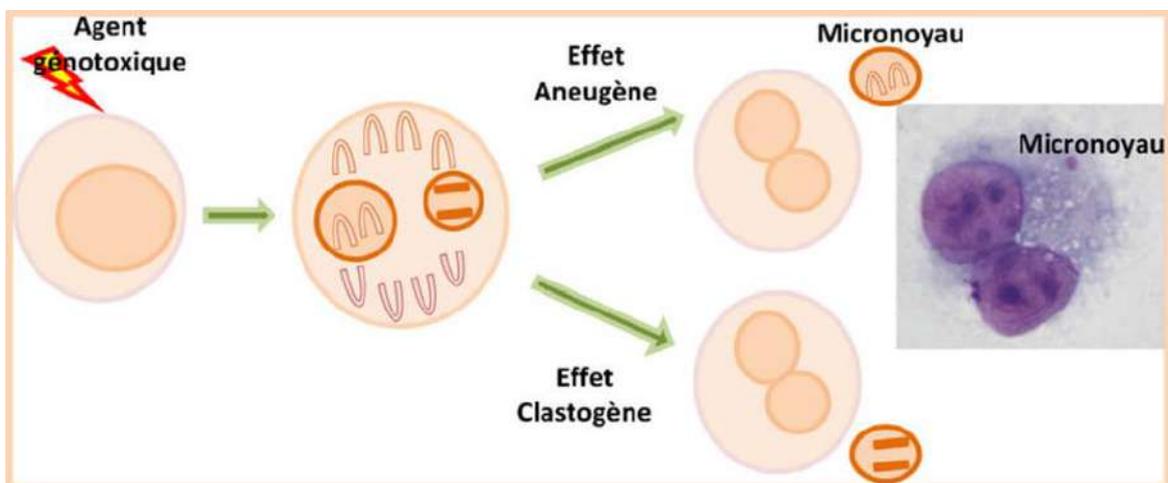


Figure 18 : Schéma de formation des micronoyaux (Berthelot-Ricou et al., 2013).

L'évaluation des variations des fréquences des MN est réalisée au moyen d'un dosage cytogénétique validé, qui mesure les effets génotoxiques d'agents chimiques et physiques, à la fois in « vivo » et in « vitro ». De plus, la coloration aux anticorps anti-kinétochores CREST permet la distinction des MN entre ceux contenant des fragments chromosomiques et ceux avec un chromosome entier (**Udroiu et al., 2006**).

Ce test présente l'avantage de mettre en évidence à la fois les lésions aneugènes (anomalies du nombre de chromosomes) et les lésions clastogènes (**Tarantini, 2009**). C'est une technique simple qui utilise directement des cellules cibles de certains génotoxiques (**Pillière et Falcy, 1991**). Toutefois, ce test donne moins d'informations sur la nature des aberrations s'il n'est pas associé à d'autres tests (**Parry et Sors, 1993**).

2.3.4. Echanges entre chromatides sœurs (SCE)

L'échange entre chromatides sœurs reflète des réarrangements de l'ADN à l'intérieur d'un même chromosome ; il s'agit d'un échange complet et réciproque entre les deux chromatides. Le test mesure le taux d'échanges entre chromatides sœurs survenus durant une mitose réalisée in vitro (**Eslava, 2004**).

Dans le test SCE, les cellules de mammifère sont exposées à l'agent et développées pendant deux cycles de réplication dans un milieu contenant de la 5-bromo-2-désoxyuridine (5-BrdU). Après avoir été traitées avec un agent inhibiteur de fuseau tel que la colchicine pour arrêter les cellules au stade métaphase de la mitose, les cellules sont collectées et les chromosomes sont préparés pour l'observation avec la procédure de fluorescence plus Giemsa (FPG) (**Russo, 2000**).

SCE est considéré comme un biomarqueur d'exposition. L'analyse est justifiée, à l'échelle du groupe, lorsqu'une exposition à des agents génotoxiques est soupçonnée.

Les SCE persistent dans le lymphocyte entre 4 et 16 semaines. Le test peut être applicable à l'évaluation d'une exposition ou des changements au cours des dernières semaines. Il faut bien contrôler les facteurs confondants, spécialement le tabac, lors de son interprétation (**Eslava, 2004**).

2.3.5. Test des comètes (SCGE)

Le test des Comètes ou « SingleCell Gel Electrophoresis (SCGE) Assay » en conditions alcalines, est défini comme une technique microélectrophorétique rapide,

simple et sensible, qui permet d'évaluer *in vitro* et *in vivo* les cassures d'ADN simple et double-brin et les sites alcali-labiles sur des cellules eucaryotes individualisées (McKelvey-Martin *et al.*, 1993). Il permet de mettre en évidence les propriétés clastogènes de certains produits mais ne peut en aucun cas détecter des mutations. Il peut permettre, dans des conditions particulières, d'évaluer les capacités de réparation cellulaire et de détecter des produits apoptogènes (Tice *et al.*, 2000). La réalisation pratique du test consiste, après lyse des membranes cellulaires, à la dénaturation de l'ADN en milieu fortement alcalin. L'ADN des cellules est ensuite placé dans un champ électrique permettant la migration différentielle des fragments. Compte tenu du faible voltage et ampérage, les molécules d'ADN intactes et donc trop lourdes pour avoir été déplacées par le champ électrique vont décrire une sphère compacte. Un ADN endommagé va, quant à lui, voir migrer ses fragments les plus courts en dehors de cette sphère, formant ainsi un "halo" d'ADN s'étirant en direction de l'anode. Après l'électrophorèse, l'ADN est coloré avec un fluorochrome tel que le bromure d'éthydiu (Marzin, 1999). La lecture des lames se fait immédiatement après la coloration et toujours à l'obscurité. L'analyse des lésions de l'ADN se fait alors sous un microscope à fluorescence, reliée à un système informatique d'analyse d'image. En l'absence de logiciel, les dommages sont analysés qualitativement, en classant visuellement les comètes obtenues en fonction de leur aspect comme le montre la figure 19 (Avishai *et al.*, 2003).

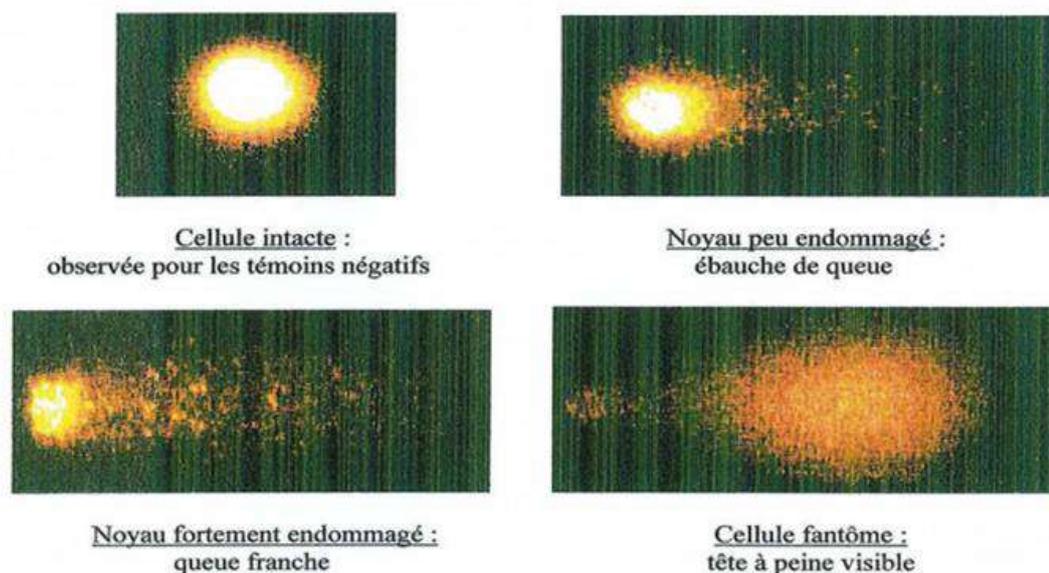


Figure 19 : Les différents types de comètes (Avishai *et al.*, 2003).

2.3.6. Test d'*Allium Cepa*

Le test *Allium cepa* connu depuis l'année 1930 et plus tard, 1985 normalisé par Fiskesjo (**Rank et Nielsen, 1997**). Ce test est utilisé pour l'étude des effets des substances toxiques sur les chromosomes et la division cellulaire des cellules méristématiques des racines de l'oignon (**Gracieli et al., 2010**). Les racines d'*Allium cepa* ont surtout été utilisées pour déterminer le nombre d'aberrations chromosomiques. Cette espèce s'est avérée très sensible pour détecter le potentiel génotoxique de produits chimiques, métaux, produits phytosanitaires ou autres substances organiques. Les bulbes de ce dernier sont faciles à stocker et à manipuler, mais aussi des paramètres macroscopiques et microscopiques peuvent être observés facilement. De plus ce système est bien corrélé avec les données obtenues à partir des systèmes eucaryotes et procaryotes, et même des dommages chromosomiques spontanés se produisent rarement (**Liman et al., 2010**).

D'autres critères ont aussi été étudiés dans les racines d'*Allium cepa* : les échanges de chromatides sœurs (**Panda et al., 1996**) et très récemment, le test des comètes (**Navarrete et al., 1997**). Enfin, le test des micronoyaux évalué sur les racines d'*Allium* est de plus en plus utilisé dans les études de génotoxicité (test Allium-MN) (**Rank et al., 2002**).

Les auteurs décrivent *Allium cepa* comme un moyen efficace utilisé pour le dépistage et le suivi des polluants environnementaux (**Breu, 1996 ; Feretti et al, 2007**) car les chromosomes des plantes sont faciles à analyser en termes de taille, la morphologie et le nombre, et répondent aux traitements avec des toxines d'une manière similaire aux mammifères et d'autres eucaryotes (**Dilek et al, 2013**). En outre ce système présente d'autres avantages, il s'agit d'une méthode rapide et peu coûteuse, facile à manipuler et fournit des résultats fiables (**Grant, 1982**).

2.3.6.1. Oignon (*Allium cepa*)

L'oignon est une plante herbacée, vivace, cultivée. La plante entière peut atteindre 60 à 100 centimètres de haut et ses feuilles de couleur verte sont cylindriques et creuses. Le bulbe, rond, est parfois plus ou moins aplati. Les fleurs, petites (de 4 à 5 millimètres de large), de couleur blanche ou verte, sont regroupées au sommet de la tige. Les graines sont noires et petites, de 2 à 3 millimètres de large.

Cette plante serait originaire d'Asie centrale. Un grand nombre de variétés différentes existent, adaptées aux différentes conditions de culture (température, humidité, qualité du

sol, etc.) et bien sûr au goût des consommateurs qui varie de pays en pays (**Kumar et al., 2010**).

Toute population d'*Allium cepa* possède ($2X = 16$) chromosomes. Certains des *cepa* voisins ont des nombres différents : Delta Giant ($3X = 24$) chromosomes et Beltsville's Bunching ($4X = 32$) chromosomes (**Rouamba, Sarr et Ricroch., 1997**).

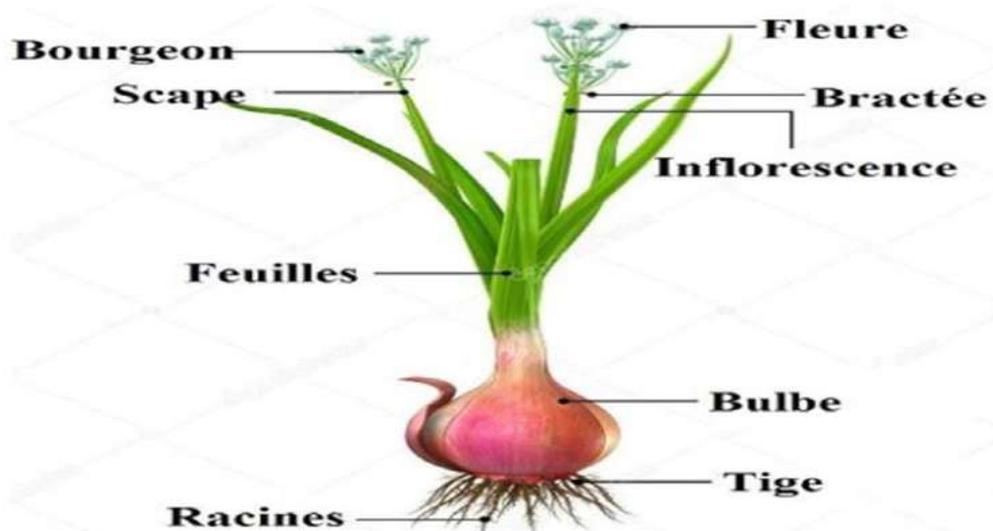


Figure 20 : Illustration de l'espèce *Allium cepa* (**Vander, 1993**).

2.3.6.2. Taxonomie de l'espèce *Allium cepa*

Tableau 05 : Taxonomie de l'espèce *Allium cepa* (**Kumar et al., 2010**).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Ordre	Asparagales
Famille	Alliaceae
Genre	<i>Allium</i>
Espèce	<i>Allium cepa</i>

Deuxième Partie

Travail expérimental

Chapitre N°1
Matériel
et méthodes d'analyses

I. Matériel et méthode d'analyse

I.1. Matériel biologique

Les feuilles d'*Origanum Majorana* : ont été achetée du marché de Guelma. Après l'achat, le matériel végétal a été débarrassé des débris. Il a été ensuite procédé au broyage et à la conservation de l'échantillon dans des flacons.

Les bulbes de l'oignon (*Allium cepa*) : ont été aussi achetés du marché local de Guelma. Le diamètre des bulbes varie entre [5 et 8cm], la couche externe des bulbes est éliminée ainsi que les anciennes racines avant de commencer l'expérience. Durant toutes les expériences réalisées, les bulbes sont incubés à l'obscurité et à température ambiante.

I.2. Méthodes d'analyse

I .2.1. Criblage phytochimique

Des tests en tube sont réalisés sur la poudre végétale afin de déterminer de manière préliminaire les classes phytochimiques contenues dans la plante analysée. Le criblage phytochimique consiste à réaliser des tests qualitatifs, basés sur des réactions de coloration ou de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe des principes actifs. En effet, la première étape était la recherche de grandes classes de composés chimiques appartenant aux métabolismes secondaires de la plante étudiée (**Trease et Evans, 1987**).

On peut citer les principaux classes des composés chimiques, telle que : les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannins), les alcaloïdes, les saponosides et les coumarines...etc.

I. 2.1.1. Mise en évidence des flavonoïdes

À 3 g de la poudre végétale sont ajoutés à 75 ml d'eau distillée, le mélange est porté à ébullition pendant 15 minutes. Puis filtré et laisser refroidir (**Mbodj, 2003**).

Coloration par le perchlorure de fer (FeCl₃)

Les flavonoïdes, du fait de la présence de fonctions phénoliques dans leur génies, donnent des colorations variées avec des diluées de FeCl₃. 2 à 3 gouttes d'une solution de FeCl₃ diluée à 2% sont ajoutées à 2 ml de solution extractive. L'apparition d'une coloration verdâtre, indique que le test est positif (**Mbodj, 2003**).

I.2.1.2. Mise en évidence des saponosides

À 100 ml d'eau distillée bouillante sont ajoutés 1 g de la poudre végétale, le mélange est maintenu une quart d'heure et après filtration le filtrat est ajusté à 100ml. 1ml du décocté à 10% est ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée, le mélange est agité verticalement puis laisser reposer pendant 15 min. L'apparition d'une mousse qui dure quelque instant indique la présence des saponosides. (**Karumi et al., 2004**)

I.2.1.3. Mise en évidence des tanins

5 g de poudre sont suspendus dans 100 ml d'eau bouillante. Après infusion pendant 15 mn, le mélange est filtré puis le filtrat à 100 ml avec de l'eau distillée. Il est introduit 5ml d'infusé à 5 % dans un tube à essais, puis il est ajouté 1 ml d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ à 1 %. En présence de tanin, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noir (**Edeoga1 et al., 2005**).

Tanins catéchiques

À 5 ml de solution à 5% on ajoute 5 ml de l'HCl concentré. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15mn puis filtré sur. En présence de tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge (**Edeoga1 et al., 2005**).

Tanins galliques : réaction de stiasny

À 30 ml de solution à 5% sont additionnés 15 ml de réactif de stiasny, après chauffage au bain-marie à 90°C pendant 15 mn et filtration le filtrat est saturé par 5 g d'acétate de sodium. Ensuite, il est ajouté 1 ml d'une solution de $FeCl_3$ (à 1%), l'apparition d'une teinte bleu noire montre la présence de tanins galliques non précipité par réactif de stiasny (**Edeoga1 et al., 2005**).

I.2.1.4. Mise en évidence des mucilages

À 1 ml du décocté à 10 % sont ajoutés 5 ml d'éthanol absolu. Après une quelques minutes, l'obtention d'un précipité floconneux dans le mélange, indique la présence de mucilages (**Karumi et al., 2004**).

I.2.1.5. Mise en évidence des coumarines

1 g de la poudre végétale dans un tube à essais, on le recouvert le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et on place dans un bain-marie pendant quelques minutes.

On ajoute 0,5 ml de NH_4OH (10%), on met deux taches sur un papier filtre et on examine sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (**Rizk, 1982**).

I.2.1.6. Mise en évidence des glycosides

5 g de plante sont additionnés à 50 ml d'une solution de l'acide tartrique 2% dans l'éthanol, le mélange est chauffé durant 2 h, après filtration et lavage par l'éthanol, le mélange est introduit dans l'eau chaude après une deuxième filtration, il est ajouté 2 gouttes de liqueur de Fehling à 2 ml du filtrat, le chauffage au cours de la réaction de la liqueur de Fehling montre la présence des glycosides (**Chaouch, 2001**).

I.2.1.7. Mise en évidence des alcaloïdes

À 10 g de poudre végétale séchée sont ajoutés 50 ml de H₂SO₄ à 10 %. Après agitation pendant 30 minutes, le macérat est laissé pendant 24 heures à température ambiante, puis filtré sur papier filtre le volume est complété à 50 ml avec de l'eau distillée. À 1 ml de filtrat sont additionnés 5 gouttes de réactif de Mayer. La présence d'alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité blanc jaunâtre. (**Edeoga1 et al., 2005**).

I.2.2. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique

La méthode utilisée est celle décrite par **Bruneton (1999)**. Elle est basée sur le degré de solubilité des molécules dans les solvants modifiés. 60 g de drogue végétale sont mélangés au méthanol à 85%. L'extraction est réalisée par macération à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 72 heures. Après une double filtration sur un papier filtre, les filtrats sont évaporés à l'aide d'un rota vapeur (**BUCHI –zwitserbland**) et à 45°C les extraits sont ensuite conservés à froid jusqu'à leur utilisation (**Fadili, 2015**).

I.2.3. Evaluation de la génotoxicité par le Test *Allium cepa*

I.2.3.1. Procédure expérimentale

La méthode utilisée est celle inspiré de **Liman et al., (2010)** elle repose sur l'utilisation des cellules racinaires (méristème) afin de pouvoir détecter toute anomalie chromosomique lors de la division cellulaire par mitose.

Vingt bulbes propres et sains d'*Allium cepa* L. ont été pris pour chaque traitement ainsi que le contrôle. Les écailles sèches brunes externes ont été enlevées par grattage des fonds des bulbes sans détériorer la surface qui émergent les racines. La germination été à température ambiante (25-30 °C) pendant 48 h dans les gobelets remplis d'eau de robinet, ces derniers ont

été placé à l'obscurité dans un endroit aéré. Les bulbes les plus germées ont été choisis pour tester l'extrait étudié. Le témoin négatif est constitué de l'eau de robinet

I.2.3.2. Analyse macroscopique

Plusieurs paramètres ont été suivis Afin de signaler la présence ou l'absence d'un effet cytotoxique et/ou génotoxique ou anti-génotoxique, ces paramètres sont :

- ◆ La croissance.
- ◆ La couleur
- ◆ La forme.
- ◆ La rigidité.
- ◆ La taille des racines d'*Allium Cepa*.

L'élongation racinaire a été déterminée après 24 h de traitement par la solution d'*Origanum Majorana* (3,4 g de l'extrait de plante homogénéisé dans 480 ml d'eau distillé).

I.2.3.3. Fixation de l'extrémité racinaire

Les racines ont été nettoyés à l'eau distillée, les deux derniers centimètres sont prélevés et fixés à 4°C pendant une durée minimale d'une nuit dans un mélange éthanol/acide acétique glacial (3V : 1V) préparé ex temporairement. Ce mélange appelé solution de Carnoy est très instable. Il peut se produire une estérification s'il n'est pas préparé au moment de l'utilisation.

L'éthanol a pour effet de précipiter et dénaturer les protéines, de dissoudre certains lipides et d'endurcir les tissus. L'acide acétique est un bon fixateur des chromosomes, il précipite les protéines du noyau. Les extrémités racinaires peuvent ensuite être conservées à long terme dans 2,5 ml de l'éthanol à 70% pour une observation différée ou bien être hydrolysées dans le cas d'une observation immédiate.

I.2.3. 3. Analyse statistique

Les données de l'IM, exprimée en pourcentage, et les niveaux de signification dans les différents groupes de traitement ont été analysés. Les tests d comparaisons multiples de Duncan ont été effectués en utilisant une analyse de la variance à un critère de classification (Anova) sur la version SPSS 15.0 de Windows.

Chapitre N°2

*Résultats
et discussion*

Résultat et discussion

1. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques qui ont été réalisés sur la poudre végétale d'*Origanum Majorana* ont permis de mettre en évidence la présence de certains groupes et l'absence d'autres métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plantes. La détection de ces composés chimiques était basée sur des essais des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique. Les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 06 : Criblage phytochimique d'*Origanum Majorana*

Groupe chimique	Absence(–) ou Présence(+)
Flavonoïde	+
Saponosides	+
Tanins	+
Tanins catéchiques	+
Tanins galliques	-
Mucilage	+
Coumarines	-
Alcaloïdes	-
Glycosides	+

Les résultats expérimentaux de tests phytochimiques (**tableau 06**) ont révélé la présence de flavonoïdes, de tanins, de saponosides, de mucilages et de glycoside. Cependant, l'absence de tanins galliques, de coumarines et des alcaloïdes.

Ces résultats sont en accord avec ceux d'**Al-Howirini, 2009** et **Vasudeva, 2015** qui montrent la présence et l'absence des mêmes groupes chimiques dans la plante étudiée. La présence de ces métabolites secondaires au niveau de plante étudié explique leur fort pouvoir thérapeutique. Par conséquent, ces résultats justifient la large utilisation de cette plante en médecine traditionnelle par la population locale. Effectivement, les tanins, les flavonoïdes, les saponosides possèdent plusieurs propriétés bénéfiques pour la santé notamment les propriétés antioxydante, anti inflammatoires et anti-inflammatoires (**Bouhaddouda et Labiod, 2016**).

2. Etude de l'effet cytotoxique

L'utilisation des plantes est principalement attribuable au fait que les tests de toxicité sont relativement simples à réaliser, peu coûteux, biologiquement sensible, et rapide. Par conséquent les tests de toxicité sur un modèle animal, prennent beaucoup de temps (**Firbas et Amon, 2013**).

Par ailleurs, l'espèce *Allium cepa* présente de nombreux avantages :

- La croissance des racines est très sensible aux différents polluants
- L'*Allium Cepa* a un nombre stable de chromosomes ($2n = 16$) avec une diversité morphologique des chromosomes
- Stabilité du caryotype, dont les phases mitotiques sont très claires
- Réaction claire et rapide aux substances génotoxiques
- Raretés des dommages spontanés chromosomiques (**Grant, 1982 ; Chauhan et al., 1999 ; Matsumoto, 2004 ; Matsumoto et al., 2006 ;**)
- les cellules méristématiques des racines possèdent un système d'oxydation capable de déterminer les dommages chromosomiques ainsi que les perturbations du cycle cellulaire provoquées par les différents agents mutagènes.
- le système de test *Allium cepa* fournit des informations importantes pour évaluer les mécanismes d'action d'un agent et ses effets sur le matériel génétique (**Leme et al ., 2009**)

C'est pour cette raison, le modèle d'évaluation des effets cytotoxiques de l'extrait hydro méthanolique des feuilles d'*Origanum majorana* sur les cellules méristématiques d'*Allium cepa* est choisi dans notre étude.

2.1. L'inhibition de l'élongation racinaire

L'essai d'inhibition de l'élongation racinaire est couramment utilisé comme paramètre quantitatif pour évaluer la toxicité chez les plantes supérieures (**Wierzbicka, 1988**). Cet indicateur très sensible a désigné que l'élongation racinaire était réduite dans les bulbes traités par l'extrait hydro-méthanolique d'*Origanum Majorana* comparativement aux bulbes non traités (le contrôle négatif, notamment l'eau de robinet).

Le traitement des bulbes par l'eau de robinet pendant 24h avec a montré une bonne croissance des racines d'une couleur blanche, rigides et volumineuses. Tandis que le traitement des racines d'*Allium cepa* avec l'extrait d'*Origanum Majorana* de concentration 7,08 g/l, a

provoqué un changement de forme et couleur (jaunâtres) des racines accompagné d'une perte de rigidité. Il a été remarqué que les racines ont perdu leur forme initiale et leur structure normale, elles ont été fragiles. Cependant une réduction significative des taux de croissance des racines a été observée (**Figure 22 et tableau07**).

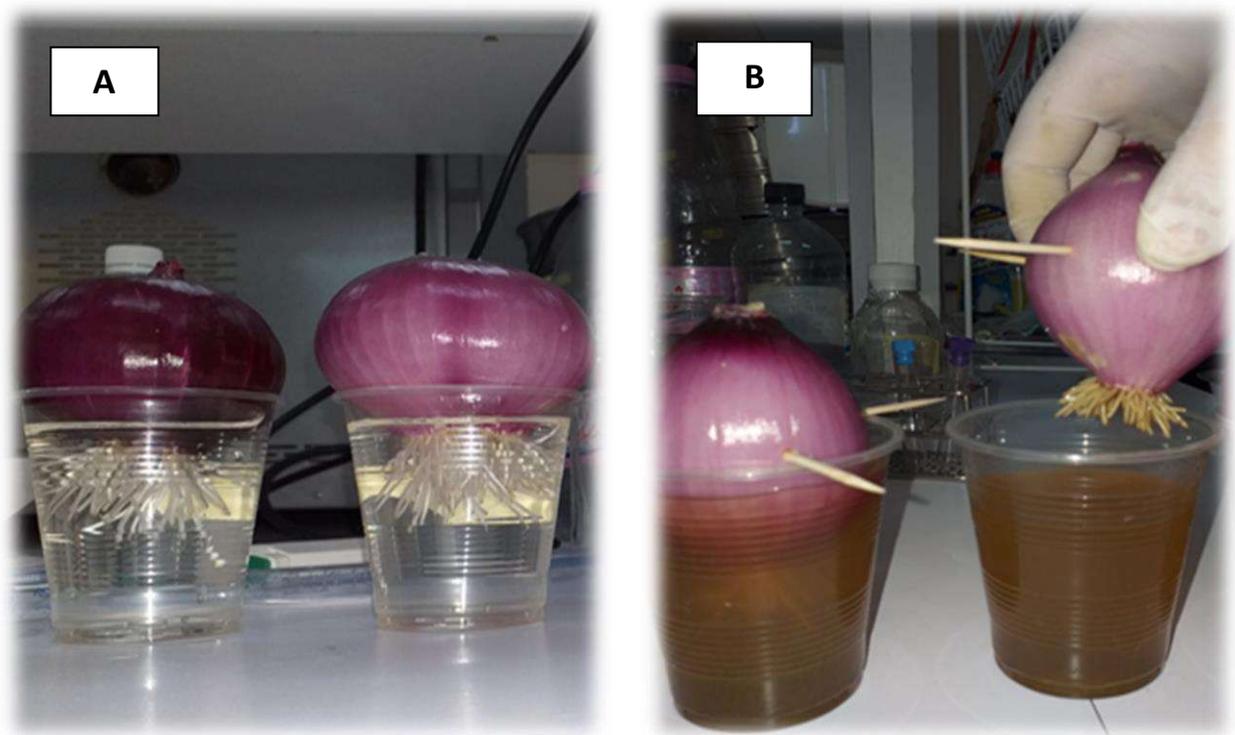


Figure 22 : Aspect morphologique des racines : **A)** Racines saines poussées dans l'Eau de robinet pendant 24 heures ;**B)** Racines jaunâtres traitées avec 7,08 g/l de l'extrait d'*Origanum Majorana* pendant 24 heures.

Tableau 07 : Résultats de la longueur des racines des bulbes d'*Allium cepa*.

Temps (heures)	Concentration (g/l)	ER moyenne de trois bulbes/concentration (cm)	ER moyenne (cm)	Pourcentage d'élongation (%)
24	0	Bulbe 01 : 4	3,66±0,28	100
		Bulbe 02 : 3,50		
		Bulbe 03 : 3,50		
24	7,08	Bulbe 01 : 2	1.73±0,25*	47.27
		Bulbe 02 : 1,50		
		Bulbe 03 : 1,70		

L'analyse des résultats du **tableau07** montre que la croissance en longueur des racines d'*Allium cepa* se diffère entre les bulbes traité avec l'extrait d'*Origanum Majorana* de moyenne 1.73±0,25 cm et les bulbes traités avec l'eau de robinet de moyenne 3,66±0,28 cm.

On considère que le pourcentage d'élongation racinaire du contrôle négatif est 100%, Après les calculs on se trouve que le pourcentage d'élongation racinaire de l'extrait est 47,27 %.

Le taux d'inhibition d'élongation racinaire 52,73 % a été calculé selon la formule suivante :

$$Ti = (D0 - Dt / D0) * 100$$

Ti : taux d'inhibition

D0 : La moyenne de control négatif

Dt : La moyenne de l'extrait d'*Origanum Majorana*

Il est bien établi que la croissance des racines et des pousses est principalement maintenue et régulée par les activités combinées de division cellulaire dans la zone méristématiques apicale et d'élongation cellulaire qui se produit ensuite dans les régions les plus proximales de l'extrémité

de la racine (**Shishkova et al, 2008**). Cependant, la croissance des racines due à la division cellulaire est minime par rapport à la croissance en raison de l'énorme potentiel d'allongement des cellules. Ce dernier est fortement inhibé par l'exposition à l'extrait, ce qui peut être causé par des modifications au niveau des caractéristiques de la paroi cellulaire (**Lane et al, 1978**).

Ceci concorde bien avec les changements macroscopiques (couleur, forme et la taille) observés au niveau des racines de certains bulbes traités. Leur cause probable est que le mutagène perturbe la polarité cellulaire, amenant les cellules à s'agrandir dans la «mauvaise» direction, devenant ainsi isodiamétriques plutôt qu'allongées. (**Lane et al, 1978**).

L'évaluation de l'effet cytotoxique de l'extrait hydro méthanolique d'*Origanum majorana* a été effectuée macroscopiquement en mesurant la croissance en longueur des racines du support végétal (*Allium cepa*), Nous résultants que le traitement des bulbes avec cet extrait provoque une réduction importante de la croissance en longueur des racines comparativement au témoin. Ces résultats sont en accord avec ceux **Wierzbicka, 1988** et **W. M. DimuthuNilminiWijeyaratne and L. G. Y. J. G. Wadasinghe, 2019**. **Wierzbicka, 1988** a montré que toutes les concentrations de plomb utilisé a provoqué une inhibition distincte de la croissance des racines et **W. M. DimuthuNilminiWijeyaratne et L. G. Y. J. G. Wadasinghe, 2019** ces étude ont été menée pour évaluer la cytotoxicité de l'eau et des sédiments d'une masse d'eau réceptrice d'effluent industriel dans la province occidentale du Sri Lanka à l'aide du test biologique *Allium cepa* ;les résultats ont montré que dans les bulbes d'*Allium Cepa* exposés à des échantillons d'eau, aucune variation significative de la croissance des racines n'a été observée dans les 48 heures suivant l'exposition. Cependant, des variations significatives de la longueur des racines ont été observées chez les bulbes d'*Allium Cepa* exposés aux éluviats de sédiments au cours de l'exposition de 48 heures et le pourcentage d'inhibition de la croissance des racines augmentait avec l'augmentation du temps d'exposition.

La longueur des racines mesurées et leur aspect observé à l'œil nu ont été rapportés pour les bulbes dont les racines ont été immergées dans les milieux contenant l'*Origanum majorana*, Les mêmes observations sont faites par **Sanjib Bhattacharya and Pallab K. Haldar** sur l'évaluation de l'effet cytotoxique in vitro d'extraits de la plante *Trichosanthes dioica* qui ont démontré de manière significative une inhibition dépendante de la longueur et du nombre de racines (avec un pourcentage d'inhibition de 31,23%).

Le traitement des racines d'*Allium cepa* avec l'extrait hydro méthanolique d'*Origanum majorana* conduit à une diminution de l'élongation racinaire ce qui explique l'effet cytotoxique

de cet extrait. Cette même constatation a été trouvée dans l'étude de **Limane et al. (2010)** sur le test de la mutagénéicité et de la génotoxicité du métolcarb en utilisant les deux teste Ames et *Allium cepa*.

*Conclusion et
Perspectives*

Conclusion et perspectives

Origanum majorana représente l'un des trésors de notre patrimoine végétal utilisé traditionnellement pour ses effets bénéfiques à la santé.

L'extrait hydrométhanolique d'*Origanum majorana* a révélé la présence de polyphénol, de flavonoïdes, de tanins catéchiques, de mucilages et de glycoside. En revanche, Il ne contient pas des alcaloïdes, des coumarines, des tanins galliques.

Le test *Allium cepa* est le test le plus utilisé pour détecter l'effet génotoxique et cytotoxique d'un produit donné. Le traitement des bulbes avec l'extrait étudié de la plante montre qu'il exerce une réduction du taux de croissances des racines comparativement au témoin.

En perspective, l'évaluation de plusieurs paramètres est nécessaire, notamment, l'indice mitotique et la mise en évidence des aberrations chromosomiques, en raison de la situation sanitaire à laquelle le pays a été exposé grâce au coronavirus nous n'avons pas pu achever la dernière partie de notre étude à savoir l'indice mitotique et l'aberration chromosomique.

Résumé

Origanum majorana est une plante médicinale très utilisée pour traiter des différentes maladies grâce à ses activités biologiques (antimicrobienne, antioxydante, antiseptique et anti-hypertension). Le screening phytochimique de l'extrait hydrométhanolique de cette plante a révélé la présence de Polyphénols, de Tannins catéchiques, de Flavonoïdes, de Saponosides, de mucilage et des glycosides et l'absence de tannins galliques, de coumarines et des alcaloïdes. Nous procédons dans ce travail à l'évaluation de l'effet cytotoxique de la plante a été déterminé au niveau des cellules racinaire d'*Allium cepa*, L'eau de robinet a été utilisée comme témoin. L'élongation racinaire a été déterminée par l'utilisation d'un test d'inhibition de la croissance des racines. Les résultats obtenus ont montré que le traitement à 24h des bulbes avec l'extrait d'*Origanum Majorana* à 7,08 g/l provoque une réduction importante de la croissance en longueur des racines comparativement au témoin. En conclusion, même si d'autres études doivent être menées, il convient de prendre en compte l'effet cytotoxique d'*Origanum majorana* lors de son utilisation en tant que plante thérapeutique.

Mots-clés : Aberration chromosomique, *Allium cepa*, cytotoxicité, génotoxicité, *Origanum Majorana*, Index mitotique.

Abstract

Origanum majorana is a medicinal plant widely used to treat various diseases thanks to its biological activities (antimicrobial, antioxidant, antiseptic and anti-hypertension). Phytochemical screening of the hydromethanolic extract of this plant revealed the presence of polyphenols, catechic tannins, flavonoids, saponosides, mucilage and glycosides and the absence of gallic tannins, coumarins and alkaloids. In this work, we are evaluating the cytotoxic effect of the plant has been determined at the level of the root cells of *Allium cepa*, Tap water was used as a control. Root elongation was determined by the use of a root growth inhibition test. The results obtained showed that the 24-hour treatment of the bulbs with *Origanum Majorana* extract at 7.08 g/l causes a significant reduction in root length growth compared to the control. In conclusion, even if further studies are required, the cytotoxic effect of *Origanum majorana* should be taken into account when used as a therapeutic plant.

Key words: Chromosomal aberration, *Allium cepa*, cytotoxicity, genotoxicity, *Origanum Majorana*, Mitotic index.

الملخص

البردقوش هو نبات طبي يستخدم على نطاق واسع لعلاج امراض مختلفة وذلك بفضل انشطته البيولوجية (مضاد الميكروبات، مضاد الاكسدة، مطهر، مكافحة ارتفاع ضغط الدم). اثبتت التحاليل الكيميائية ان المستخلص الكحولي لهذا النبات يحتوي على المواد الآتية: (Polyphénols, tannins catéchiques, flavonoïdes, saponosides,) وغياب المواد الثلاثة الآتية: (tannins galliques, coumarines , alcaloïdes). في عملنا هذا تم تقييم التأثير السام لخلايا النبات على مستوى الخلايا الجذرية للبصل، حيث استخدم ماء الحنفية كشاهد. حددت استطالة الجذر باستخدام اختبار تثبيط النمو. النتائج المتحصل عليها اثبتت ان العلاج لمدة 24 ساعة للبصيلات بمستخلص البردقوش ذو التركيز 7.08g/1 ادى الي انخفاض في نمو طول الجذور مقارنة بالشاهد. وفي الختام، عند اجراء دراسات اخرى يجب ان يأخذ بعين الاعتبار التأثير السمي للنبتة عند استخدامها كنبات علاجي.

الكلمات المفتاحية: انحراف الكروموسومات، البصل، السمية الخلوية، السمية الجينية، البردقوش، مؤشر الانقسام.

1. solution d'*Origanum Majorana*

Extrait de l'*Origanum Majorana*3, 4 g

Eau distillé.....480 ml

A 480 ml d'eau distillée sont ajoutés 3 ,4 g de l'extrait de plante l'ensemble est agité puis homogénéisé.

2. solution HCl (1N) à 8%

HCl8.17 ml

Eau distillé.....91,83 ml

8,17 ml d'HCl sont ajoutés à 91 ,83 ml d'eau distillé.

3. solution d'Acide Acétique Glacial à 45%

Acide acétique glacial45 ml

Eau distillé..... 55 ml

4. solution de Carnoy

Acide acétique glacial..... 2,5 ml

Éthanol pure (96%).....7,5 ml

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

5. Réactif de Feulgen

Fushine basique..... 0, 25 g

Eau distillé.....50 ml

HCl (1N).....5 ml

K2S2O5.....0,5 g

0,25 g de Fushine basique est solubilisée dans 50 ml d'eau distillée bouillante (100°), après 10 minutes, 5 ml d'une solution 1N d'HCl sont ajoutées, l'ensemble est agité puis ajouter 0,5 g de métrasulfite de Potassium $K_2S_2O_5$, couvrir la solution par papier aluminium et la conserver à 4°C. Après 24h la solution est filtrée et peut être utilisée.

6. Réactif de MAYER

Iodure de potassium (KI).....25 g
Chlorure mercurique($HgCl_2$).....6,8 g
Eau distillée.....1000ml

7. Réactif de Stiasny

Formol à 40%.....10 ml
HCl concentré5ml

*Références
bibliographiques*



- **Aftab T., Masroor M., Khan A., Naeem M., Mohd I. T.O., Siddiqi M. et Varshney L. (2014).** Effect of irradiated sodium alginate and phosphorus on biomass and artemisinin production in *Artemisia annua*. *Carbohydrate Polymers Elsevier*. 110 : 396–404.
- **Alberts A., Johnson J., Lewis M., Rav. K., Roberts P., Walter. (2002).** *Molecular Biology of the Cell*, Garland Science, New York. P : 1463.
- **Al-Harbi N.O, 2011.** Effect of marjoram extracts treatment on the cytological and biochemical changes induced by cyclophosphamide in mice. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5 (23): 5479-5485.
- **Al-Howiriny T.,** Protective Effect of *Origanum majorana* L. 'Marjoram' on Various Models of Gastric Mucosal Injury in Rats. *Medical and life sciences*. Volume: 37, Issue: 3 (2009) pp. 531-545.
- **Amer S. M., F. M., Aly F. A. E., Farghaly A. A. (2002).** Cytogenetic studies on the effect of feeding mice with stored wheat grains treated with malathion. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* [en ligne]. 513(1): 1-10. DOI: 10.1016/S1383- 5718(01)00261-3.
- **Ames B. N., Mccan J., Yamasaki E. (1975).** Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. Elsevier Scientific Publishing Company [en ligne].
- **Atmani, D., Chaher, N., Ayoumi, K., (2009).** Active principal of selected algerian medicinal plants. *Food Chemistry* 112(2),303-309.
- **Avishai N., Rabinowitz C. and Baruch R.** Use of the Comet Assay for studying environmental genotoxicity. Comparisons between visual and image analyses *Environ. Mol. Mutagen.*, **2003** ; 42: 155-165
- **AYAIDIA B. (2011)-** etude comparative de trois varietes d'huiles essentielles de menthe dans la region d'Ouargla., mémoire de magister. Université kasdi marbah ouargla.

B

- **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Masseurs J., Cazin M., Cazin J. C., Pinkas M., (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung.* Vol. (46): 1086-1089.
- **Banias C. Oreopoulou V. et Thomopoulos C. D.** The effect of primary antioxidants and synergists on the activity of plant extracts in lard. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* Volume 69, Number 6 / June, **1992**.
- **Bekhechi C, Atik-Bekkara F, Abdelouahid D., (2008).** composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie., Springer. , N°6 ., 153–159p.
- **Bellakhdar J. (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, Paris. P : 764.
- **Bellamine K., (2017).** La phytothérapie clinique dans les affections dermatologiques. Thèse en vue de l'obtention du doctorat en pharmacie. UNIVERSITE Mohammed V – Rabat, Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, 23-28.
- **Benkhanou M., (2012).** La photothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel infirmier de la santé de la population et de la réforme hospitalière institution de formation paramédical chettia. p 10-13.
- **Berthelot-Ricou A, Perrin J, Orsière T, Aye M, Roustan A, Botta A et Courbiere B. (2013).** Risque génotoxique et ovocytes : Principes de toxicologie génétique et applications. *Gynécologie Obstétrique et Fertilité.* 41 :544-547.
- **Bonassi S., Norppa H., Ceppi M., Strömberg U., Vermeulen R., Znaor A., Cebulskaw. A., Fabianova E., Fucic A., Gundy S., Hansteen I. L., Knudsen L. E., Lazutka J., Rossner P., Sram R. J., Boffetta P. (2008).** Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries. *Carcinogenesis* [en ligne]. 29(6) : 1178-1183 DOI : 10.1093/carcin/bgn075.
- **Bonassi S, Abbondandolo A, Camurri L, Dal Pra L, De Ferrari M, Degrassi F, et al.,(1995)** .Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future

cancer onset in humans Preliminary results of an Italian cohort study. *Cancer Genet Cytogenet* Feb; 79(2): 133-5.

- **Botta A. (2006).** Relations entre génotoxicité, mutagenèse et cancérogénèse. *Annales* : 28 :9-13.
- **Boumediou, A. et Addoun, S., 2017.** Etude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie. Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen.67p.
- **Bouzid T., Gressier B., Trotin F., Dine T., (2016).** La pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibris, Paris. P 764.
- **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.
- **Brunton J ,1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales ; édition Technique et documentation Lavoisier, Paris
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3ème Ed. Paris. France. 1120p.
- **Busatta C., Vidal R. S., Popiolski A. S., Mossi A. J., Dariva C., Rodrigues, M. R. A., Cansian R.L.,(2008).** Application of *Origanum majorana L.* essential oil as an antimicrobial agent in sausage. *Food Microbiology*. 25(1): 207-211.

C

- **Cachot J. (2009).** La génotoxicité : Quel risque pour les espèces aquatiques. Fascicules Seine aval. Pp 1-36.
- **Cailiaud M A. (2013)**-étude de l'espèce *Origanum vulgare L.*, thèse doctorant., Université Nantes.
- **Caldecott K. W. (2008).** Single-strand break repair and genetic disease. *Nature Reviews Genetics* [en ligne]. 9(8) : 619p. DOI : 10.1038/nrg2380.

- **Chauhan L., K. S., Saxena P. N., Gupta S. K. (1999).** Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*, *Environmental and Experimental Botany*. 42 : 181-189.
- **Chaouch N,** Etude des alcaloïdes dans la coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N°39; sa (Wilaya de Ouargla). Mémoire de magister. Université d'Ouargla **2001**, 44.
- **Chevalier A, 2001.** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales : 62-283.

D

- **David C. (2013).** Les agents biologiques. Institut National de Recherche et de sécurité. Paris. 117 : 1-4.
- **Devoret R. (1979).** Des tests bactériens pour identifier les cancérogènes potentiels. *Pour la Science*. 24: 62-76.
- **Dégremont C., Cachot J. (2009).** La Génotoxicité, quel risque pour les espèces aquatiques. Fascicules Seine-Aval.
- **Diallo A. et Prigent C. (2011).** Les Sérine/Thréonine Kinases Contrôlant la Progression du Cycle Cellulaire Comme Cibles Thérapeutiques. *Bulletin du Cancer* ; 98, 1335-1345.
- **Dianov Grigory L., Hubscher U. (2013).** Mammalian Base Excision Repair: the Forgotten Archangel. *Nucleic Acids Research* [en ligne]. 41 (6) : 3483-3490. DOI : 10.1093/nar/gkt076.
- **Dilek, O. and Hulya, S. (2013).** Genotoxicity effects of Flusilazole on the somatic cells of *Allium cepa*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 107, 38–43.
- **Djahra A B. (2014)**-Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare L.*, thèse doctorat, Université Badji Mokhtar - Annaba.
- **Dolisi G, (2009).** Biologie 11. 1ère Ed. Chenelière Education. Montreal, Canada. P. 199; 205.
- **Dubois J., Miterrand H., D Dauzat A., (2006).** Dictionnaire étymologique et historique du français –Larousse.

E

- **Edeogal H.O., Okwu D.E., Mbaebie B.O (2005).** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of biotechnology* Vol. 4(7). P: 685-68.
- **El-Akhal F., Lalami A. E. O., Zoubi Y. E., Greche H., Guemmouh R., (2014).** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Origanum majorana* (Lamiaceae) cultivated in Morocco against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 4(9): 746-750.
- **El-Ashmawy IM. Ashry KM, El-Nahas AF. Salama OM., (2014).** Protection by turmeric and myrrh against liver oxidative damage and genotoxicity induced by lead acetate in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 98(1):32-7.
- **Elord S., Stansfield W. (2003).** Génétique. 4^{ème} Edition. Dunod. Paris.
- **Eslava Ortega M.I. (2004).** Genotoxicity tests : Usefulness in occupational health Difficulties encountered in their application to the workers medical survey. *Archives of Public Health*, 62. 71-81.

F

- **Fadili K., Zerkani H., Amalich S et Zair T.** ETUDE Phytochimique et evaluation de l'activité antioxydante des feuilles et des fruits du *Capparis spinosa L.* *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*. **2015**; 5(2):108-118.
- **Farnsworth N. R, Akerele O, Bingel A S, Soejarto D D. Et Guo Z., (1986).** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*, 64(2) : 159-164
- **Fathy M., Soliman. Miriam F., Yousif. Soumaya S. Zaghloul., (2009).** Seasonal variation in the essential oil composition of *origanum majorana l.* cultivated in Egypt. *naturforsch*,(64)., 611 – 614p.
- **Feretti, D., Zerbini, I., Zani, C., Ceretti, E., Moretti, M., Monarca, S. (2007).** *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. *Food Addit. Contam.* 24 (6): 561-572.

- **Firbas, P., and Amon, T., (2013).** Allium Chromosome Aberration Test for Evaluation Effect of Cleaning Municipal Water with Constructed Wetland (CW) in Sveti Tomaž, Slovenia Journal Bioremed Biodegradation, 4: 189. doi:10.4172/2155-6199.1000189.
- **Figueredo G.** Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. thèse doctorat. Université Blaise Pascal. **2007**.
- **Fournier. P,** Les Quatre Flores de France, Lechevalier, Paris, 2 (**2001**).
- **Friedberg E. C., Walker G. C., Siede W., Wood R. D. (2005).** DNA Repair and Mutagenesis. *American Society for Microbiology Press* [en ligne]. 2845p. ISBN : 978-1-55581-319-2.
- **Furia, T. E., & Bellanca, N. (1971).** Fenaroli's handbook of favor ingredients, The Chemical Rubber Co., Cleveland, OH.

G

- **Gracieli, D.N, Tamara, P. Haywood, Dail, L., Thais, S., Solage-Bosio., T. (2010).** Antiproliferative and genotoxic effects of Mikania glomerata (Asteraceae). *BIOCELL* 34(3): 95-101.
- **Grant, L.1982.** *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.
- **Grant W.F. (1982).** Chromosome aberration assays in Allium. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation Research.* 99: 273-191.
- **Guiraud J. P. (1993).** Génétique microbienne: Bases théoriques et introduction aux applications pratiques. Techniques et documentation. Lavoisier. pp 89-111.

H

- **Haber J. E. (2000).** Partners and pathways: repairing a double-strand break. *Trends in Genetics* [en ligne]. 16 (6) : 259-264. DOI : 10.1016/S0168-9525(00)02022-9.

I

- **Ietswaart, J.H, 1980.**A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). Leiden Botanical Series, vol. 4. Leiden University. Press, The Hague.

J

- **Jackson S. P. (2002).** Sensing and repairing DNA double-strand breaks. *Carcinogenesis* [en ligne]. 23(5):687-696.
- **Jiricny Josef. (2006).** The multifaceted mismatch-repair system. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [en ligne].7(5) :335p. DOI : 10.1038/nrm1907.

K

- **KARP G. (2004).** Biologie Cellulaire et Moléculaire. 2ème Ed., De Boeck Université, Bruxelles, Belgique. P. 213.
- **Karumi Y., Onyeili P.A., Ogugbuaja V.O., 2004.** Identification of active principal of *M.balsamina* (Balsam Apple) leaf exact.J Med Sci. 4(3) :179-182.
- **Khaki M. R. A., Pahlavanb Y., Sepehrib G., Sheibanib V., Pahlavanc B., (2013).**Antinociceptive Effect of Aqueous Extract of *Origanum vulgare L.* in Male Rats : Possible Involvement of the GABAergic System. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research.* 12(2):407-413.
- **Kienzler A., (2013).** Intérêt des lignées cellulaires de poisson en écotoxicologie pour l'étude de nouveaux biomarqueurs de génotoxicité. École doctorale Chimie de Lyon (chimie, procédés, environnement). Spécialité Environnement industriel et urbain L'Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 318 p.
- **Kintzios Spiridon E., (2002).** Oregano: The Genera *Origanum* and *Lippia* (Medecinal and Aromatic Olants -Industrial profiles) -Taylor&Francis.
- **Klug W. S., Cummings M. R, Spencer C. A. (2006).**Génétique. 8ème Editions. Pearson. Paris.

- **Kumar K. P. S., Bhowmik D., Chiranjib, B., Tiwari P. (2010).** *Allium cepa*: a traditional medicinal herb and its health benefits. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* [en ligne]. 2(1): 283-291.
- **Kunkel T. A., Erie D. A. (2005).** DNA MISMATCH REPAIR. *Annual Review of Biochemistry* [en ligne]. 74(1):681-710. DOI: 10.1146/annurev.biochem.74.082803.133243.

L

- **Labiod R. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Calamintha Nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide ., thèse doctorat ., Université Badji Mokhtar -Annaba .
- **Lane S. D., Martin E. S., Garrod J. F. (1978).** Lead toxicity effects on indole-3-ylacetic acid-induced cell elongation. *Planta* [en ligne]. 144(1): 79-84. DOI: 10.1007/BF00385010.
- **Larrey D. J Hepatol.** Hepatotoxicity of herbal remedies **1997**, pp.:47-51.
- **Le Blanc-Louvry I., Laburthe-Tolra P., Massol V., Papin F., Goullé J. P., Lachatre G., Gaulier J. M et Proust B. (2012).** Suicidal sodium azide intoxication: An analytical challenge based on a rare case. *Forensic Science International*. 221: 17-20.
- **Leme, D.M., and Marin-Morales, M.A, (2009).** *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 682, 71–81.
- **Liman, R., Akyil, D., Eren, Y., and Konuk, M. (2010).** Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/*Salmonella* and *Allium* test. *Chemosphere* 80, 1056–1061.

M

- **Manasse A.B.** Screening chimique et extraction d'huile essentielle : scordophoeus zenkeri harms et croton haumanianus j. Leonard Université de Kisangani-Graduat, **2015.**

- **Matsumoto S.T. (2004).** Study on the Influence of Potentially Genotoxic Tannery Effluents on the Contamination of Water Resources in the Region of Franca-SP, Ph.D. Thesis. State University of Sao Paulo/São José do Rio Preto – SP, p. 216 (in Portuguese).
- **Matsumoto S.T., Mantovani M.S., Malagutti M.I., Dias A.L., Fonseca I.C., Marin-Morales M.A. (2006).** Assessment of the genotoxic and mutagenic effect of chromium residues present in tannery effluents using the micronucleus and comet assay in *Oreochromis niloticus* and chromosomes aberrations in of *Allium cepa*. *Genet. Mol. Biol.* 29 : 148–158.
- **Mbojd N., 2003.** Etude de l'activité antidiabétique des extraits acetonique, méthanolique et hescniques de *vernonia colorata* (willd/darke composées chez des ratswistar, Thèse de docteur en pharmacie, Université de Cheikh Anta Diop de Dakar :pp53.
- **Maron D.N, Ames B.N, (1983).** Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research.* 113, 173-215.
- **Marzin D, (1999).** New approaches to estimating the mutagenic potential of chemicals. *Cell Biol Toxicol* 15:359-365.
- **Maurice N., (1997).** L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Tec et Doc, Paris. France. Pp 12-14.
- **Maurice, N., (1997).** De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe Siècle. Édition, Lavoisier .Paris.1762 p.
- **McKelvey-Martin V. J., Green M. H. L., Schmezer P., Pooi-Zobei B. L., De Méo M. P. and Collins A.** The single cell gel electrophoresis assay (Comet Assay): A european review. *Mutat. Res.*, **1993** ; 288: 47-63.
- **Meijer L. (2003).** Le cycle de division cellulaire et sa régulation. *Oncologie.* 5: 311-326.
- **Miron T. L., Plaza M., Bahrim G., Ibáñez E., Herrero M., (2011).** Chemical composition of bioactive pressurized extracts of Romanian aromatic plants *Journal of Chromatography A.* 1218(30) : 4918-4927.

N

- **Navarrete M. H., Carrera P., de Miguel M. et DelaTorre C. (1997).** A fast comet assay for solid tissue cells : The assessment of DNA damage in higher plants. *Mutation Research*. 389: 271-277.
- **Nieto G. (2017)-** Biological activities of three essential oils of the lamiaceae family., *medicines.*, (4) 63.,2-10p.

O

- **Omar A, Mohammed El haykle M., (1993).**Plantes médicinales et aromatiques deuxième édition, installation connaissance D'Alexandrie, p : 13-134.
- **Orsière T, Sari-Minodier I, Decome L, Botta C, Iarmarcovai G, Botta A., (2005).** De la génotoxicologie à la biosurveillance. Journées Nationales de Santé au Travail dans le BTP. *Annales* 28:25-28.

P

- **Panda K. K., Patra J. et Panda, B. B. (1996).** Induction of sister chromatid exchanges by heavy metal salts in root meristem cells of *Allium cepa*. *Biology Plantarum*. 38: 555-561.
- **Parry J.M. et Sors A. (1993).** The detection and assessment of the aneugenic potential of environmental chemicals: the European Community Aneuploidy Progress. *Mutation Research*. 287 : 3-15.
- **Petit J. M., Julien R. (2007).**Mini manuel de génétique. Edition Dunod. Paris.
- **Pillière F. et Falcy M. (1991).** Exposition aux produits chimiques génotoxiques : Marqueurs biologiques pour la surveillance des salariés. *Documents pour le médecin du travail*. 336p.

Q

- **Quezel, P., Santa, S. (1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS (Ed.), Paris. Tome 2.

R

- **Rank, J., and Nielsen, M.H. (1997).** *Allium cepa* anaphase telophase root tip chromosome aberration assay on Nmethyl Nnitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate. *Mutation Research*, 390 : 121127.
- **Rank J., Lopez L., Mette H. et Moretton, J. (2002).** Genotoxicity of maleic hydrazide, acridine and DEHP in *Allium* root cells performed by two different laboratories. *Hereditas*. 136: 13-18.
- **Rizk A.M., 1982.** Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterapia*. 52(2) : 35-42.
- **Royaume du Maroc, Centre Antipoison et de Pharmacovigilance du Maroc. Ministère de la santé (2016).**
- **Rothkamm K., Krüger I., Thompson L. H., Löbrich M. (2003).** Pathways of DNA Double-Strand Break Repair during the Mammalian Cell Cycle. *Molecular and Cellular Biology* [en ligne]. 23 (16): 5706-5715. DOI: 10.1128/MCB.23.16.5706-5715.2003.
- **Rouamba A, Sarr A & Ricroch A.,(1997).** Dinamic management of genetic ressource of *Allium cepa* L. (Onion) in west Africa, *Acta Hort*. 433: 185-189.
- **Russo A. (2000).** In vivo cytogenetics: mammalian germ cells. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* [en ligne]. 455 (1) : 167- 189. 10.1016/S0027-5107(00)00115-9.

S

- **Samouelian F, Gaudin V, et Boccara M. (2009).** Génétique moléculaire des plantes. Quae. Paris. 230p.

- **Sanjib B and Pallab K. Haldar**¹. Evaluation of in vitro cytotoxic effect of *Trichosanthes dioica* root. *Pharmacognosy Res*, 2010, 2(6): 355–358. doi: 10.4103/0974-8490.75454
- **Sanju B., Sanju D., Pinder P.,(2016)**-Phytochemical analysis, phenolic compounds, condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (*Origanum majorana*) seed extracts., 2(4).,168-174p.
- **Schaal S, 2010**.Les plantes médicinales des pelouses calcaires de la réserve naturelle de Montenach (57)., thèse doctorat. Université Henri Poincare – Nancy 1.
- **Shishkova S., Rost T. L., Dubrovsky J. G. (2008)**. Determinate Root Growth and Meristem Maintenance in Angiosperms. *Annals of Botany* [en ligne]. 101(3): 319-340. DOI: 10.1093/aob/mcm251.
- **Stansfield W. (2003)**.Génétique. Edition Dounod. Paris.

T

- **Tarantini A. (2009)**. Modulation de la génotoxicite des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélanges. Thèse de doctorat, Ecole doctorale Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement de Grenoble. 174p.
- **Taylor. Francis., 2002**. *Oregano: The Genera Origanum and Lippia*. Edited by Spiridon E. Kintzios. Agricultural University of Athens, Athens, Greece. 245p.
- **Tice R.R., Agurell E., Anderson D., Burlinson B., Hartmann A., Kobayashi H., Miyamae Y., Rojas E., Ryu J., and Sasaki Y. F.** Single cell gel/Cornet Assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing *Environ. Mol. Mutagen.*, **2000** ; 35: 206-221.
- **Tornaletti S., Hanawalt P. C. (1999)**. Effect of DNA lesions on transcription elongation. *Biochimie* [en ligne]. 81 (1): 139-146. DOI : 10.1016/S0300-9084(99)80046-7.
- **Triantaphyllou K., Blekas G., Boskou D.** Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. **2001**, Vol. 52, No. 4, Pages 313-317.
- **Turkez H., Yousef M. I., Sönmez E., Togar B., Bakan F., Sozio P., Stefano A. D. (2014)**. Evaluation of cytotoxic, oxidative stress and genotoxic responses of hydroxyapatite

nanoparticles on human blood cells. *Journal of Applied Toxicology* [en ligne]. 34 (4) : 373- 379. DOI : 10.1002/jat.2958.

U

- **Udroiu I., Sgura A. (2017).** Cytogenetic tests for animal production: state of the art and perspectives. *Animal Genetics* [en ligne]. 48 (5) : 505-515. DOI : 10.1111/age.12581.
- **Udroiu L., Ieradi L. A., Cristaldi M., Tanzarella C. (2006).** Detection of clastogenic and aneugenic damage in newborn rats. *Environmental and Molecular Mutagenesis* [en ligne]. 47 (5) : 320-324. DOI : 10.1002/em.20209.

V

- **Vagi, Rapavi, M. Hadolin, K. Vâsârhelyiné Perédi, A. Balázs, A. Blázovics et B.Simândi.** Phenolic and Triterpenoid Antioxidants from *Origanum majorana* L. Herb and Extracts Obtained with Different Solvents. *J. Agric. Food Chem.*, **2005**.
- **Vander Meer QP., (1993).** *Allium cepa* L. Cv. Groupe Common Onion. In : Siemonsma.
- **Vanessa, Graillet., (2012).** Appréciation quantitative de l'exposition alimentaire à des mélanges des pesticides et mécanismes de génotoxicité, Thèse en vue de l'obtention du doctorat. Université de Toulouse, [p34.37].
- **Vera R. et Chane-Ming J., (1999).** Chemical composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island. *Food Chemistry* 66 (1999) 143_145.
- **Vincent F. (1993).** Rapport relatif au projet d'étude en génotoxicité de l'environnement marin. Nantes. Lavoisier. Pp 4-47.
- **Volak, J et Stodola, J., 1983.** Plantes médicinales : Ed Artia Prague (2,312p).

W

- **Wierzbicka M. (1988).** Mitotic Disturbances Induced by Low Doses of Inorganic Lead. Caryologia [en ligne]. 41(2) : 143-160. DOI : 10.1080/00087114.1988.10797856.
- **Winter P.C., Hickey G.I., et Fletcher H.L. (2000).** L'essentiel en génétique. Port Royal livres. Pp 101-115.
- **W. M. Dimuthu Nilmini Wijeyaratne and L. G. Y. J. G. Wadasinghe, 2019.** Allium cepa Bio Assay to Assess the Water and Sediment Cytogenotoxicity in a Tropical Stream Subjected to Multiple Point and Nonpoint Source Pollutants. Journal of Toxicology, 2019, 10p, doi.org/10.1155/2019/5420124.

Y

- **Yi C., He C. (2013).** DNA Repair by Reversal of DNA Damage. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology [en ligne]. 5 (1): DOI: 10.1101/cshperspect.a012575.

Z

- **Zekkour. M,** Les risques de la phytothérapie, Monographies des plantes toxiques, les plus usuelles au Maroc, (2008).
- **Zenasni L., (2014).** Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de thymus satureioides Coss et d'Origanum compactum Benth et du genre nepeta et évaluation de leur propriété antibactérienne. thèse doctorat. Université Mohammed V – Agdal.