

pdfREPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA
TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

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

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

Présenté par :

- ATAILIA Dalia
- BOUGUERRA Khaoula
- HAMMOUDA Ikram

Devant le jury composé de :

Présidente	: MERABET.R	M.A.A	Université de Guelma
Examineur	: BOUMAZA.A	M.C.B	Université de Guelma
Encadreur	: AYED.H	M.C.B	Université de Guelma

Juillet 2021

Remerciements

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

*Nous tenons à exprimer nos reconnaissances à MADAME AYED qui nous a
donnée tout l'honneur d'accepter notre cadrage. Merci pour son implication, son
soutien son écoute son aide ses conseils ses orientations sa confiance qui nous a
données et ses encouragements tout au long de ce travail. Ce travail n'aurait
pas été le même sans votre encadrement ;*

Nous souhaitons remercier les membres du jury :

Mme MERABET.R, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury ;

Mme BOUMAAZA.A, d'avoir acceptés d'examiner notre mémoire ;

Nous remercions tous les professeurs de département de biologie et spécialement

MADAME TABET pour son aide dans la partie pratique ;

Nous remercions toutes les techniciennes du laboratoire ;

*Sans oublier nos collègues, nos amis et toutes les personnes qui nous ont aidés
durant cette période.*

Dédicaces

Je dédie ce travail aux personnes les plus chères à mon cœur :

À mon père

Qui est toujours ma force, mon soutien dans la vie. Mon école de patience, d'espoir, d'amour, de volonte et de Persévérance. Ma référence et la lumière qui illumine mon chemin. Ce travail est le résultat de son confiance et encouragement.

À ma mère

Mon paradis dans la vie. Ma source de la bienveillance et l'amour. Mon baume qui guérit toutes mes blessures. La femme qui est toujours avec moi et comprend tout sans qu'on lui parle.

Tout l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer ce qu'ils font pour moi :

S'implorer Dieu, que les accorde une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur et les protège.

À mes chères sœurs

Rima et son mari Fayssal pour leurs encouragements et leurs conseils dans tous les moments.

Randa et Hiba pour leurs compréhensions et leurs grandes tendresses et leurs amours.

À ma chère nièce : Dania la joie de notre maison.

À mes chères amies : Aya, Darine, Sourour, Maïssa, Zahra, Bochra, Amina.

Loubna, Khouloud pour tous les bons moments passés ensemble.

À mes collègues Ikram et Khaoula pour leurs efforts dans ce travail

À toutes les personnes que j'aime.

Parfois les mots sont insuffisants pour exprimer tous les sentiments.

Merci à vous

Dalia

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour

A

Mes très chers parents pour leur amour, soutien et encouragements, vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer mon attachement, mon amour et mon affection, je vous offre ce modeste travail en témoignage de tous les sacrifices et l'immense tendresse dont vous m'avez toujours su me combler.

Mes frères : Farok, Khalil et Mohammed

Ma chère sœur Maroua

Mon chère mari Bilal

Mon adorable Aicha

Mes collègues Akram et Dalia que je remercie pour leur ponctualité, ainsi que leur

Volonté tout au long de la réalisation de ce travail.

Tous les membres de ma famille et toute personne qui porte le nom

BOUJOURRA

Toute personne qui occupe une place dans mon cœur, et tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Khaoula

Dédicaces

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

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

A ma belle et merveilleux à l'humain le plus proche de mon cœur ma chère grand-
mère

À tous ceux qui m'ont aimé, et ont un impact positif dans ma vie.

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

Mon héros *mon cher père*

Ma belle *chère mère*

À mes roses chères sœurs *Rahma, Hiba, Mawada et Niema*

À mon cher mari *Houssam*

À ma meilleure amie *Rekaya*

À mes collègues *Krawla et Dalia* merci pour vos efforts pour réaliser ce travail.

Ikram

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Liste d'abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Origanum majorana

I. Lamiaceae.....	3
I.1. Généralité sur la famille des Lamiaceae.....	3
I.2. Description botanique des lamiacées	3
I.3. Caractéristiques de la famille des <i>Lamiacées</i>	3
Genre <i>Origanum</i>	4
Position systématique	4
I.3.a. Caractères botaniques du genre <i>Origanum</i>	4
I.3.b. Répartition.....	5
I.4. Classification botanique de l'Origan selon la flore de QUEZEL et SANTA (1962-1963)	6
I.5. Espèces du genre <i>Origanum</i>	6
I.5.1. <i>Origanum majorana</i> L.....	7
I.5.2. Classification de l' <i>Origanum majorana</i> L.....	8
I.5.3. Synonyme et taxonomie.....	8
I.5.4. Description botanique.....	8
I.5.5. Morphologie des feuilles d' <i>Origanum majorana</i>	9

Sommaire

I.6. Répartition géographique.....	11
I.7. Usage ethno médicinal.....	11
I.8. Étude pharmacologique.....	15

Chapitre II : Génotoxicité

I. Rappel sur la génotoxicité.....	18
II. Toxicogénétique et toxicogénomique.....	19
III. Tests de génotoxicité et de mutagénicité.....	20
III.1. Test d'Ames.....	21
III.2. Test des aberrations chromosomiques (AC).....	22
III.3. Test de micronoyaux.....	24
III.4. Echange de chromatides sœurs (SCE).....	25
III.5. Le test de comètes.....	27
III.6. Test <i>Allium cepa</i>	28
III.6.1. Présentation générale d' <i>Allium cepa</i>	28
III.6.2. Taxonomie de l'espèce <i>Allium cepa</i>	29

Deuxième Partie : Etude expérimental

Chapitre I : Matériel et méthodes d'analyses

I. Matériel et méthodes d'analyse.....	33
I.1. Matériel biologique.....	33
I.2. Méthodes d'analyse.....	33
I .2.1. Criblage phytochimique.....	33
I.2.1.1. Mise en évidence des flavonoïdes.....	33
I.2.1.2. Mise en évidence des saponosides.....	34

Sommaire

I.2.1.3. Mise en évidence des tanins.....	34
I.2.1.4. Mise en évidence des mucilages.....	34
I.2.1.5. Mise en évidence des coumarines.....	34
I.2.1.6. Mise en évidence des glycosides.....	35
I.2.1.7. Mise en évidence des alcaloïdes.....	35
I.2.2. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique.....	35
I.2.3. Évaluation de la génotoxicité par le Test <i>Allium cepa</i>	36
I.2.3.1. Procédure expérimentale.....	36
I.2.3.2. Analyse macroscopique.....	37
I.2.3.3. Fixation de l'extrémité racinaire.....	37

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Screening phytochimique.....	39
2. Effet de l'extrait sur l'élongation racinaire.....	41
2.1. L'inhibition de l'élongation racinaire.....	41

Conclusion et perspectives

Conclusion.....	45
Résumé.....	46
Annex.....	49
Références.....	50

Liste d'abréviation

AC : Aberrations Chromosomiques

MN : Micro Noyaux

SCE : Echanges entre Chromatides Sœurs

His : Histidine

FISH : Hybridation in situ fluorescente

Liste des figures

Figure 01 : Distribution de genre <i>Origanum</i>	5
Figure 02 : <i>Origanum majorana</i> L.	9
Figure 03 : Morphologie des feuille d' <i>Origanum majorana</i>	10
Figure 04 : Caractères paradermaux des feuilles d' <i>Origanum majorana</i> (X400) feuille montante.....	10
Figure 05 : Caractères microscopiques des feuilles d' <i>Origanum majorana</i> (X400) coupe transversale.....	11
Figure 06 : Les étapes de test d'Ames.....	22
Figure 07 : Aberration chromosomique au niveau de chromosome sexuel X.....	23
Figure 08 : Principe du test de micronoyau	25
Figure 09 : Principe de détection des cassures de l'ADN par le test de comète	28
Figure 10 : Illustration de l'espèce <i>Allium cepa</i>	29
Figure 11 : Préparation de l'extrait méthanolique.....	36
Figure 12 : Germination des bulbes d' <i>Allium cepa</i>	36
Figure 13 : Fixation des racines dans la solution de Carnoy.....	37
Figure 14 : Conservation des extrémité racinaires dans l'éthanol.....	38

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification du genre <i>Origanum</i>	4
Tableau 02 : Classification d' <i>Origanum majorana</i>	8
Tableau 03 : Utilisation ethno médicinale d' <i>Origanum majorana</i>	12
Tableau 05 : Taxonomie de l'espèce <i>Allium cepa</i>	29
Tableau 06 : Criblage phytochimique d' <i>Origanum majorana</i>	40
Tableau 07 : Résultats de la longueur des racines des bulbes d' <i>Allium cepa</i>	42

Introduction

Introduction

Introduction

Origanum majorana est une plante herbacée du genre *Origanum*, à feuilles persistantes appartenant à la famille des lamiacées. Elle est également connue comme marjolaine sucrée (Pimple et al., 2012 ; Kumar et al., 2011). Leur utilisation pour la prise en charge de diverses maladies était également pratique, étant sudorifique, stomatique, expectorante, emmenagogique, stimulante, antiseptique, hépatoprotectrice et néphropatrotectrice. Tant le monde universitaire que l'industrie alimentaire ont été fascinés par les propriétés biologiques des extraits d'*Origanum* et des huiles essentielles en raison de leur potentiel antimicrobien et antioxydant. (Pimple et al., 2012).

Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont de multiples intérêts ; Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (Bahorun et al., 1996).

Parmi les moyens reconnus d'explorer l'exposition aux composés génotoxiques figurent les tests de génotoxicité, définis littéralement comme des tests mettant en évidence une atteinte génotoxique. La présente étude illustre l'effet cytotoxique et génotoxique de l'extrait hydro alcoolique d'*Origanum majorana* par test *Allium cepa*, ce dernier est utilisé comme modèle expérimental. En prenant en considération l'effet inhibiteur de l'extrait sur l'élongation racinaire. Il existe de nombreux tests par lesquels on peut détecter la génotoxicité d'une substance, d'un produit, ou d'un mélange produit à savon donné le test d'Ames, test de comètes, test de micronoyaux ...etc.

Ce mémoire est constitué de deux parties ; la première est une étude bibliographique qui comporte deux chapitres :

- Le premier est consacré à la plante étudiée *Origanum majorana*.
- Le deuxième chapitre traite la génotoxicité.

Pour la deuxième partie expérimentale, elle est structurée comme suit :

- Le premier chapitre traite le matériel et les méthodes adoptées dans L'étude.
- Le deuxième illustre les résultats obtenus et leurs discussions.

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre I :

Origanum majorana

I. *Lamiaceae*

I.1. Généralité sur la famille des *Lamiaceae*

Les lamiacées, encore parfois appelées labiées ou labiacées, sont de l'une des principales familles de plantes dicotylédones, qui comprend environ deux cents trente six genres et sept milles espèces (Hilan et al., 2006) Cette famille est géographiquement présente dans le monde entier, sauf dans les régions polaires et les déserts (1). Les Lamiacées sont le plus souvent des plantes herbacées, annuelles ou vivaces (Sticher, 1977) ; et généralement les lamiacées donnent de nombreuses plantes médicinales qui sont exploitées en phytothérapie (1).

I.2. Description botanique des lamiacées

Les *Lamiaceae* sont des plantes herbacées ou arbustives, très rarement des arbres (Hyptis). Elles se caractérisent par la présence de glandes épidermiques aromatiques et contiennent ordinairement des carbohydrates tels que le stachyose. Les feuilles sont opposées, simple, toujours sans stipule, rarement composées. Les tiges sont à section quadrangulaire, au moins dans leur jeune âge, et sont à rameaux opposés, Les fleurs sont ordinairement hermaphrodites ou unisexuées sont accompagnées de bractéoles et ont évolué vers l'adaptation à la pollinisation par les insectes, Le calice est souvent persistant. Il est pentamère, possède 5 dents ou lobes et peut être bilabié. Les étamines peuvent être de forme et de taille très différente et sont adaptées à la pollinisation par les insectes. Le fruit est ordinairement constitué de quatre nucules à tégument dur ; ce peut être une drupe (Prasium). (2)

I.3. Caractéristiques de la famille des *Lamiacées*

Cette famille, très homogène, comprend environ sept milles espèces. C'est une famille dont l'aire de répartition est vaste avec une prépondérance dans les régions méditerranéennes. Thym, Lavande, Romarin sont des Lamiacées caractéristiques de la flore des garrigues. Les Lamiacées sont rares dans les montagnes et les régions arctiques. Elles sont utilisées en herboristerie, en pharmacie et parfumerie ; dans l'alimentation en tant qu'aromates. Les Lamiacées sont très proches des Verbénacées. (Dupont, 2007)

Genre *Origanum*

Position systématique

Tableau 01 : Classification du genre *Origanum* (Deysson, 1967)

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Série	Superovariées tétra cyclique
Super ordre	Tubi florales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Népétoïdées
Genre	<i>Origanum</i>

I.3.a. Caractères botaniques du genre *Origanum*

Le nom « *Origanum* » vient du grec « Oros » = montagne, et « Ganos » = joie, l'origan est donc considéré comme la joie ou l'ornement des montagnes. (Maza, 2014). Les caractères distinctifs du genre *Origanum* sont les suivants (Ietswaart, 1980) :

* **Parties souterraines** : Les parties souterraines de toutes les espèces d'*Origanum* sont plus ou moins boisées. De nombreuses espèces (en particulier celles de l'est de la Méditerranée) ont des racines ligneuses très épaisses.

* **Tiges** : les portions les plus basse sont en générale presque toutes les espèces, les tiges sont dressées, ou ascendantes portant des branches latérales. Dans la majorité des espèces, la longueur de la tige est de 30 à 60 cm ; la plupart portent des poils, au moins à la base dans toutes les espèces ; les poils sont simple, sauf pour *O.dictamnus* sont ramifiés.

* **Feuilles** : elles sont sessiles subsessiles chez plusieurs espèces, chez beaucoup d'autres pétiolées, surtout dans les minuscules ; le pétiole atteint le quart ou la moitié de la dimension du limbe ; les feuilles ne diffèrent pas de celles sur les tiges, mais souvent les poils sur les feuilles sont un peu plus courts et identiques. Les feuilles portent des poches sécrétrices sessiles pédonculées. Ces glandes sécrétrices sont aussi présentes sur tiges, bractées, calices, et corolles. Les feuilles et les parties florifères de la plante contiennent des glandes

oléagineuses essentielles qui sécrètent des huiles volatiles responsables du parfum de la plante (Greuter et al.,1986).

* **Calices** : sont parmi les parties les plus variables du genre *Origanum* il possède cinq dents plus ou moins soudées ou il est formé par une ou deux lèvres plus ou moins dentées. La classification en différentes sections fait également intervenir les caractères distinctifs du calice.

- Généralement la corolle en forme du tube est dressée avec deux lèvres de deux à Quatorze mm, sa couleur est blanche, rose ou violettes. Les étamines ovaires peuvent être de forme et de taille très différent et sont adaptées à la pollinisation par les insectes. Les fruits sont des akènes ovoïdes, bruns, mesurant un à cinq mm de long et 0,5 mm de large.

I.3.b. Répartition

Le genre *Origanum* a été particulièrement étudié par (Ietswaart, 1980). Il reconnaît trois groupes, dix sections, trente-huit espèces, six sous-espèces et seize hybrides ont été reconnus (Skoula et Harborne, 2002). Les membres du genre sont répartis principalement autour de la région méditerranéenne, plus de 80% se trouvant exclusivement en Méditerranée orientale (Greuter et al., 1986) où elles poussent en zones montagneuses sur des sols secs, rocheux et souvent calcaires. *Origanum vulgare L.* possède la plus grande distribution et peut être trouvé dans toute la région méditerranéenne, dans la plupart des parties de la région euro-sibérienne ainsi que dans la région irano-turaniennne (Ietswaart, 1980). Environ de 60 % des taxons *Origanum* sont enregistrés en Turquie, ce qui indique que cette zone géographique est le centre génétique du genre *Origanum*.

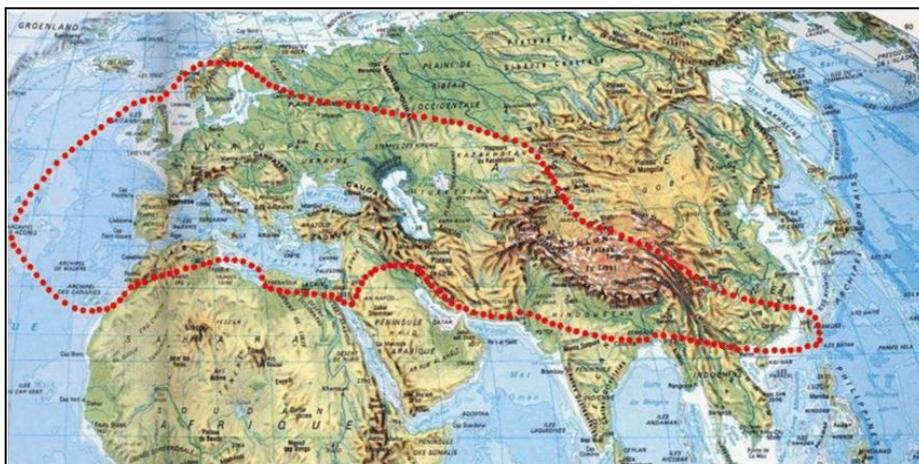


Figure 01. Distribution du genre *Origanum* (Ietswaart, 1980).

I.4. Classification botanique de l'Origan selon la flore de QUEZEL et SANTA (1962-1963)

En Algérie, l'Origan est représenté par trois espèces : *Origanum majorana* L., *Origanum floribundum munby* et *Origanum glandulosum* Desf. La première espèce, *Origanum majorana* L. est cultivée et plus ou moins subspontanée. Son aire de distribution est l'Europe et la Méditerranée. La deuxième espèce, *Origanum floribundum Munby* est localisée dans l'Atlas Tellien et la grande Kabylie où colonise les pâturages surtout en montagne. La troisième espèce est plus répandue dans toutes les régions et elle est considérée sur le plan phytogéographique comme plante endémique, c'est-à-dire que l'aire de répartition de cette plante est localisée dans deux pays l'Algérie et la Tunisie (Quezel et Santa, 1962-1963).

I.5. Espèces du genre *Origanum*

Origanum est utilisé depuis des milliers d'années comme épice et en ethnomédecine (Fleisher et Fleisher, 1988). Elle a des activités antifongiques, antimicrobiennes, insecticides et antioxydantes (Kokkini, 1997 ; Baydar et al., 2004 ; Kulisic et al., 2004 ; Bakkali et al., 2008). Des activités antispasmodiques, antitumorales, antifongiques et analgésiques d'*Origanum* ont été signalés (Elgayar et al., 2001 ; Puertas et al., 2002 ; Sokovic et al., 2002 ; Sari et al., 2006). Baser (2002) et Dundar et al. (2008) ont constaté que l'*Origanum* a été utilisé comme expectorant, antiparasique, antihelminthique et un remède pour les troubles gastro-intestinaux. Silva et al., (2012) ont suggéré que le carvacrol présent dans l'huile essentielle d'*Origanum* interfère probablement dans la libération et/ou la synthèse de médiateurs inflammatoires, tels que les prostanoïdes, et favorise ainsi le processus de guérison des ulcères gastriques. Plus loin, il est utilisé contre les coliques, la toux, les maux de dents et les cycles menstruels irréguliers (Force et al., 2000 ; Kintzios, 2002a). *Origanum* sont également utilisés comme désinfectant puissant, agent aromatisant dans les parfums et dans les savons parfumés (Guenther, 1949 ; Chiez, 1984 ; Kotb, 1985). En tant qu'herbe culinaire, elle est utilisée pour aromatiser les aliments et les boissons alcoolisées (Aligiannis et al., 2001 ; Bendahou et al., 2008 ; Sivropoulou et al., 1996). L'origan présente un potentiel prometteur de prévention des complications du diabète dans les traitements à long terme et a une efficacité anti-inflammatoire telle que décrite par l'inhibition de la lipoxigénase du soja (Koukoulitsa et al., 2006). Les métabolites secondaires de cette plante ont été bien étudiés en termes de composés polyphénoliques et d'huiles essentielles. Par

conséquent, plus d'une centaine de composés non volatils ont déjà été identifiés dans cette plante qui comprend des flavonoïdes, des dépsides et des origanosides (Nakatani et al., 1987 ; Lin et al., 2003 ; Koukoulitsa et al., 2006 ; Liang et al., 2010 ; Skaltsa et al., 2010). Les espèces de cette plante qui ont été soumises au profilage chimique comme discuté plus loin.

I.5.1. *Origanum majorana* L

Origanum majorana L. (connu sous le nom de Sahtar ou Zaatar en médecine traditionnelle) actuellement appelé marjolaine douce, est une plante médicinale de la famille des Lamiacées, une plante vivace du genre *Origanum* (Prerna et Vasudeva, 2015), avec un port de croissance autonome, elle est un photoautotrophe (Ietswaart, 1980). Cette plante est distribuée dans les régions méditerranéennes, notamment au Maroc, en Algérie, en Égypte, en Espagne et au Portugal (Ietswaart, 1980).

En médecine populaire marocaine, la marjolaine est utilisée comme anti refroidissement (Bellakhdar et al., 1991) contre les allergies, la grippe, l'hypertension (Tahraoui et al., 2007; Benali et al., 2017), la fièvre (Bellakhdar et al., 1991), les infections respiratoires (Ennacerie et al., 2017), diabète (Benkhniq et al., 2014 ; El Hafian et al., 2014), les douleurs menstruelles, le froid dans l'utérus, les douleurs à l'estomac, la toux (Bouayyadi et al., 2015), le rhumatisme, les maux de tête, l'insomnie (Abouri et al., 2012), ont utilisé comme antispasmodique intestinal (Hachi et al., 2015). De plus, plusieurs travaux antérieurs ont démontré d'autres priorités ethnobotaniques d'*O. majorana* L. comme les études d'El-Hilaly et al., (2003) ; El Abbouyi et al., 2014 ; Ouelbani et al., 2016 ; Alaoui et Laaribya 2017 et Zougagh et al., (2019). L'*Origanum majorana* L. est riche en produits phytochimiques tels que le thymol, le carvacrol, les tanins, l'hydroquinone, l'arbutin, le méthylarbutin, la vitexine, l'orientine, la thymonine, le triacontan, le sitostérol, le cis-sabinene hydraté, le limonène, la terpinène, le camphène et les flavonoïdes comme la diosmetine, la lutéoline et l'apigénine (Jelali et al., 2011 ; Guerra-Boone et al., 2015 ; Sefeer et Elumalai, 2018 ; Chaves et al., 2019), qui expliquent ses propriétés biologiques.

I.5.2. Classification de l'*Origanum majorana* L.

Tableau 02 : Classification d'*Origanum majorana* L. (Figueredo, 2007)

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Série	Superovariées tétra cyclique
Super ordre	Tubi florales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Népétoïdées
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum majorana</i>

I.5.3. Synonyme et taxonomie

Origanum majorana L. est une espèce herbacée appartenant à la famille des Lamiaceae, qui est l'un des deux cents genres, de la tribu des Mentheae, du genre *Origanum* et du sous-genre *Majorana* (Chishti et al., 2013). Le genre comprend plus de Quarante-quatre espèces, six sous-espèces, trois variétés botaniques et Dix-huit hybrides (Prerna et Vasudeva, 2015). Le genre *Origanum* a été divisé en dix sections (*Amaracus*, *Anatolicon*, *Brevifilamentum*, *Longitubus*, *Chilocalyx*, *Majoranan*, *Campanulicalyx*, *Elongatispica*, *Origanum*, and *Prolaticorolla*) suivant la classification Ietswaart (1980). La plante étudiée *O. majorana* L. appartient à la section *Majorana* qui se compose de trois espèces (*Origanum majorana* L., *Origanum onites* L., *O. syriacum* L.) Ietswaart (1980).

I.5.4. Description botanique

Origanum majorana L. est une plante vivace buissonnante qui peut atteindre trente à Soixante cm de hauteur et qui possède des tiges carrées rougeâtres à ramifications multiples descendantes qui se déversent pour créer un monticule. Ses tiges sont droites, faibles, velues, rondes et vertes avec des taches rouges. Les feuilles de cette plante sont herbacées, globuleuses, simples, pétiolées et ovées à oblongues-ovées, petites (0,5 à 1,5 cm de longueur et 0,2 à 0,8 cm de largeur), souvent quadri gones-cylindriques, et leur texture est extrêmement lisse et velue. Les bractées sont différentes des feuilles, densément imbriquées, aussi

longtemps que les calices, de couleur vert gris, et disposées l'une en face de l'autre sur une tige carrée. La marjolaine douce a de petites fleurs (longues de 0,3 cm et disposées en forme de bavure, longues de 1,3 cm), hermaphrodite ou femelle. Les fleurs sont tubulaires avec deux lèvres, 1-lipped pour une ou plusieurs lèvres supérieures entières ou denticulées. Elle a des calices aplatis, des fleurs blanches ou rose pâle avec des bractées vertes grises qui fleurissent en épis de juin à septembre. Bien que les graines mûrissent d'août à septembre. Elles sont ovales, foncées et brunes. Les racines sont sous-cylindriques, longitudinalement plissées avec des fissures transversales de 0,2 à 0,6 mm de diamètre. La surface extérieure est brun foncé, tandis que l'intérieur est brun clair avec plusieurs radicelles longues (**Ietswaart, 1980 ; Prerna et Vasudeva, 2015**). La figure 02 montre la morphologie de la plante *O. majorana*.



Figure 02 : *Origanum majorana* L. (3)

I.5.5. Morphologie des feuilles d'*Origanum majorana*

Les feuilles sont lisses, simples, pétiolées, ovées à oblongues, (0,5-1,5 cm) de long, (0,2-0,8 cm) de large, à l'apex obtus, à la marge entière, à la base symétrique mais effilée et à la nervure réticulée. La texture est extrêmement lisse en raison de la présence de nombreux poils. La figure 03 montre la morphologie des feuilles d'*Origanum majorana*.



Figure 03 : Morphologie des feuilles d'*Origanum majorana* (Pimple et al., 2012).

L'étude paradermale de la surface révèle la présence de stomates diacytiques, dans lesquelles la stomie est recouverte de deux cellules de garde suivies de deux cellules subsidiaires et de la couche d'épiderme. Les cellules épidermiques sont polygonales, minces et ondulées. L'analyse de surface de la feuille révèle également la présence de veines, d'îlots veineux et de terminaisons veineuses. L'épiderme supérieur se compose de cellules polygonales et de la paroi externe qui contient de nombreux trichomes et stomates couvrant. Les trichomes de couverture sont multicellulaires, unisériés, à parois minces et pointus. L'épiderme inférieur est similaire à l'épiderme supérieur (Figure 04).

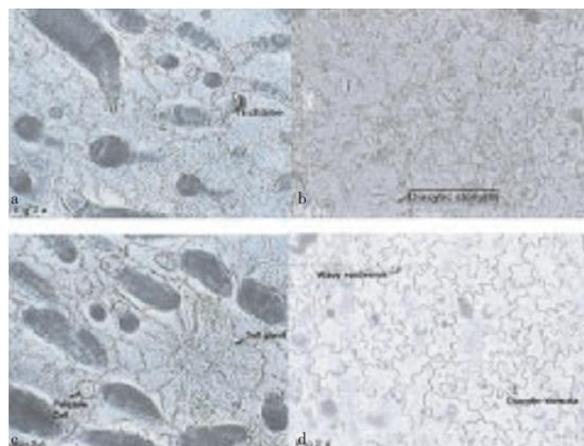


Figure 04 : Caractères paradermaux des feuilles d'*Origanum majorana* (X400) Feuille montrant a - trichome et bases de trichome, b - stomates diacytiques de la surface supérieure, c - glandes salées et cellules de palissade et d - épiderme ondulé et stomates diacytiques de la surface inférieure (Pimple et al., 2012)

La section transversale de la feuille montre l'épiderme cuticularisé suivi par des couches de chlorenchyme disposées compactement suivi par des faisceaux vasculaires (xylème et

phloème), alors que le mésophylle montre que des cellules de palissade et parenchyme sont spongieuses. Le tissu du collenchyme est constitué de cellules parenchymateuses arrondies à paroi épaisse. Les fibres de xylème sont lignifiées alors que les fibres de phloème ne le sont pas, la figure 05 illustre la microscopie détaillée du plomb (**Pimple et al., 2012**).

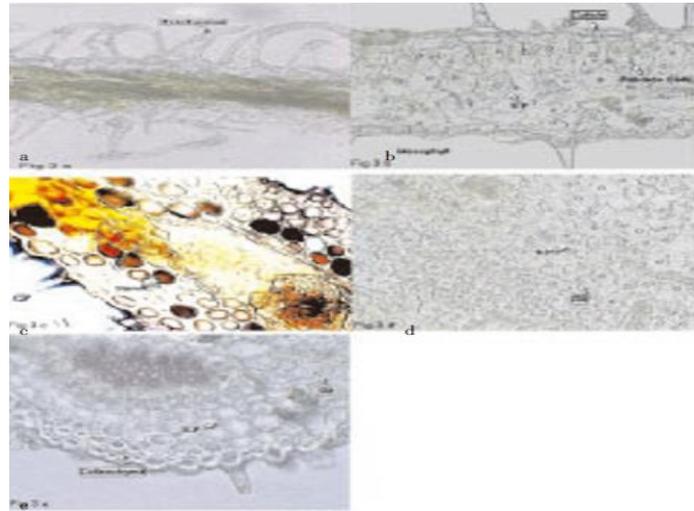


Figure 05 : Caractères microscopiques des feuilles d'origan majorana (X400) Coupe transversale montrant a - Trichomes couvrant, b - Mésophyll avec cellules palissades, épiderme cuticularisé et SP (parenchyme spongieux), c - dépôts d'amidon dans SP (parenchyme spongieux) d - SP (parenchyme spongieux) avec des globules d'huile, e - collenchyme compactement disposé, SP (parenchyme spongieux), globules d'huile, xylème lignifié. (**BP Pimple et al. 2012**)

I.6. Répartition géographique

Origanum majorana est communément connu comme originaire de Chypre, Antalya (Turquie), distribué dans différentes parties des pays méditerranéens comme la Serbie, l'Italie, la Corse, le sud de l'Espagne et le Portugal, le Maroc et l'Algérie (**Ietswaart, 1980**). Y compris, partout dans le monde où il est cultivé dans de nombreux pays d'Europe tels que la France, les États-Unis, l'Asie, dans différentes parties de l'Inde, la Hongrie et les États-Unis (**Prerna et Vasudeva, 2015**).

I.7. Usage ethno médicinal

Origanum majorana L est l'une des plantes médicinales connues pour son utilisation en médecine traditionnelle (tab 4). Le tableau ci-dessous montre la partie utilisée et ses effets ainsi que le mode de la préparation.

Tableau 04 : Utilisation ethno médicinale d'*O. majorana*.

Étude de la région	Partie utilisée	Mode de préparation	Utilisation traditionnelle	Références
Haut Atlas de l'Est (Maroc)	Feuilles	Décoction	Antifroid	Benlamdini et al., (2014)
Guercif (NE du Maroc)	Feuilles	Décoction Perfusion	Allergie, fièvre, grippe, hypertension	Benali et al., 2017
Kenitra (centre du Maroc)	Pas signalé	Perfusion	Problèmes respiratoires, troubles gastriques, maux de tête	Salhi et al., (2010)
Parc national de Talassemtane (Rif occidental du Maroc)	Pas signalé	Perfusion	Troubles neurologiques et digestifs, maladie de la bouche	Rhattas et al., (2016)
Province de Tata (Sud-est du Maroc)	Feuilles	Décoction Perfusion	Rhumatisme, maux d'estomac, maux de tête, fièvre, toux, insomnie	Abouri et al., (2012)
Maroc oriental	Feuilles	Non signalé	Contre le frisson, antipyrétique	Bellakhdar et al., (1991)
Sidi Kacem (centre du Maroc)	Feuilles	Décoction	Infection respiratoire	Ennacerie et al., (2017)
El Jadida (Maroc)	Tiges et les feuilles	Perfusion	Sédatif, stomachique	El Abbouyi et al., (2014)
Province de Taounate (Nord du Maroc)	Plante entière	Perfusion	Fièvre, toux, flatulence	El-Hilaly et al., (2003)
Province d'Errachidia (Sud-est du Maroc)	Feuilles	Perfusion	Hypertension	Tahraoui et al., (2007)
Agadir-Ida-	Feuilles	Décoction	Diabète	El Hafian

Outanane (Maroc)				et al. (2014)
Al Haouz-Rhamna (Maroc)	Feuilles	Décoction	Diabète	Benkhigie et al., (2014)
Béni-Mellal (Maroc)	Feuilles	Décoction	Mal de gorge	El Azzouzi and Zidane, (2015)
Gharb (Maroc)	Feuilles	Décoction	Douleurs menstruelles, rhume dans l'utérus, maux d'estomac, toux	Bouayyadi et al., (2015)
Khenifra (Maroc)	Feuilles, fleurs	Perfusion	Calmant, antispasmodique intestinal, rhume, fièvre, maux de tête	Hachi et al., (2015)
Plateau central marocain	Parties aériennes	Perfusion	Infection respiratoire	El Hilah Fatima et al., (2015)
Communes rurales Sehoul et Sidi-Abderrazak (Maamora-Nord du Maroc)	Plante entière	Non signalé	Troubles digestifs	Alaoui and Laaribya, (2017)
Settat (Maroc)	Plante entière sans les racines	Perfusion	Maux de tête, insomnie, affections respiratoires, troubles gastriques (spasmes, coliques ...)	Tahri et al., (2012)
Tan-Tan (Sahara marocain)	Peuilles	Poudre	Diabète	Ghourri et al., (2013)
Casablanca (centrale marocaine)	Plante entière	Décoction	Gumdisese, douleur dentaire	Zougagh et al., (2019)
Ville d'Escolca (Sardaigne, Italie)	Feuilles	Perfusion	Névrалgie, sédatif, douleurs à l'estomac	Loi et al., (2005)

Thessalonique (nord de la Grèce)	Parties aériennes	Décoction	Hypertension, hypotension, antiémétique, ballonnements, spasmolytique, coqueluche toux, calmant, étourdissements, maux de tête, migraine, asthme, rhume, dysménorrhée, antipyrétique	Hanlidou et al., (2004)
Région de l'Est (Libye)	Feuilles, fleurs	Non signalé	Flatulence, métrite, toux, menstruation, perte d'appétit, coliques héliananthiques, tranquillisant pour les nerfs, hypertension, syndrome préménstruel	El- Mokasabi al., 2015
Alaçehir; Manisa (Turquie)	Peuilles	Perfusion	Maladies des voies respiratoires, grippe, asthme	Sargin et al., (2013)
Antalya (Turquie)	Parties aériennes	Perfusion	Mal de gorge, rhume	Senkardes and Tuzlaci, (2014)
Provinces de Mersin et d'Adana (Turquie)	Plante entière	Non signalé	Troubles des voies respiratoires, troubles du système circulatoire, maladies digestives intestinales	Everest and Ozturk, (2005)
Anatolie orientale	Plante entière	Macération	Sédatif,	Altundag

(Turquie)			diaphorétique	and Ozturk, (2011)
Acipayam – Denizli (Turquie)	Parties aériennes	Perfusion	Toux	Bulut et al., (2017)
Kapıdağpeninsula (Turquie)	Feuilles, les graines	Non signalé	Maux d'estomac, athérosclérose	Uysal et al., (2010)
Anatolie orientale (Turquie)	Plante entière	Macération	Sédatif, diaphorétique, maux d'estomac	Özgökçe and Özçelik, 2004
Constantine et Mila (Nord-Est de l'Algérie)	Plante entière	Non signalé	Rhumatisme, thyroïde, maladies du système respiratoire, cholestérol, hypoglycémie	Ouelbani et al., (2016)
Région de Hodna (Algérie)	Fleurs	Décoction	Hypertension artérielle	Madani et al., (2012)
Catalogne (Espagne)	Parties aériennes	Perfusion	Hypnotique	Bonet et al., (1999)

I.8. Étude pharmacologique

Cette plante est dotée de plusieurs activités à savoir :

- Antimicrobienne « antibactérienne (Charai et al., 1996 ; Chaves et al., 2019). Et antifongique (Deans et Svoboda, 1990 ; Waller et al., 2019) » ;
- Antioxydante (Schmidt et al., 2008 ; Arranz et al., 2019) ;
- Antiparasitaires et insecticide (Sallaheddine et al., 2013 ; Sefeer et Elumalai, 2018) ;
- Antidiabétique (Kawabata et al., 2003 ; Tripathy et al., 2018) ;
- Anticancéreuse (Abdel-Massih et al., 2003 ; Benhalilou et al., 2019) ;
- Protectrices de néphrotoxicité (Soliman et al., 2016) ;

- Anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques (Seoudi et al., 2009 ; Penalva et al., 2017) ;
- Hépatoprotectrices (Mossa et al., 2013) ;
- Antimutagène (Qari, 2008 ; Khatab et Elhadad., 2015) ;
- Protection de la muqueuse gastrique (Al-Howiriny et al., 2009).

Chapitre II :

Génotoxicité

I. Rappel sur la génotoxicité

La réaction aux médicaments et aux produits chimiques de l'environnement varie selon le génotype. Certains patients réagissent bien aux médicaments, tandis que d'autres n'en profitent pas ou peuvent même réagir négativement. Les individus éprouvent également différentes réactions aux agents environnementaux, tels que les allergènes. Le séquençage du génome humain et l'identification à grande échelle des polymorphismes génomiques ont permis de comprendre la base génétique des différences individuelles de réponse aux toxiques potentiels : un domaine d'étude qui est maintenant connu sous le nom de toxicogénétique. **(Orphanides et Kimber, 2003)**. La toxicogénétique comprend l'étude des connaissances génétiques existantes et la production de nouvelles données génétiques pour comprendre et ainsi éviter la toxicité des médicaments chez l'homme. **(Kevin et Munir, 2001)**. Le terme de génotoxicité se réfère à l'effet d'agents, dits génotoxiques, qui interagissent avec l'ADN et/ou la machinerie cellulaire qui maintient l'intégrité du génome. Il s'agit notamment des radiations ionisantes, capables de provoquer directement des dommages et cassures à l'ADN, et des substances chimiques, souvent électrophiles, qui directement ou après bio activation par des systèmes enzymatiques adéquats, vont se lier à l'ADN pour former des adduits. Ces adduits vont pouvoir être responsables de cassures et de pontage de l'ADN, d'erreurs de réplication et de substitution de base. Ces lésions peuvent conduire à la mort cellulaire si les dommages sont très importants mais elles peuvent aussi être réparées par la machinerie cellulaire et il n'y aura alors pas de conséquence pour la cellule. Si la réparation est imparfaite, incomplète ou absente, les lésions vont alors conduire à des mutations, qui sont permanentes et irréversibles, et qui peuvent impliquer des gènes individuels (mutation génique), des blocs de gènes (mutation génomique) ou des chromosomes (mutation chromosomique). Les mutations conduisant à des cassures des chromosomes sont appelées clastogènes tandis que celles se traduisant par des anomalies de la ségrégation chromosomique sont appelées aneugènes.

Ces mutations peuvent ensuite être à l'origine des premières étapes de la cancérogénèse, notamment si elles concernent des gènes impliqués dans la prolifération et la survie cellulaire ; alternativement, elles peuvent être sans conséquences néfastes directes pour l'organisme. Un effet génotoxique n'est donc pas synonyme d'effet mutagène et encore moins d'effet cancérogène, ce qui illustre bien que les tests de génotoxicité diffèrent des tests de dépistage de cancers basés sur la détection précoce de marqueurs tumoraux. De plus, il est

important de rappeler que, si les substances cancérigènes sont souvent génotoxiques, il existe cependant des cancérigènes non génotoxiques (**Bolt et al., 2004**).

II. Toxicogénétique et toxicogénomique

Les possibilités et les applications offertes par la toxicogénétique sont souvent discutées en tandem avec celles promises par la toxicogénomique. La génétique est l'étude des relations entre les différences héréditaires dans la séquence du génome et le phénotype biologique, tandis que le terme génomique est venu pour décrire l'étude des altérations dans l'expression des gènes associés aux réponses biologiques. La toxicogénétique décrit donc la prise en compte des altérations stables et héréditaires du génome qui peuvent influencer sur la susceptibilité relative d'un individu (ou d'un groupe d'individus) aux effets nocifs sur la santé qui peuvent résulter de l'exposition à un matériau exogène. La toxicogénomique, par contre, décrit l'analyse des changements d'expression génétique induits dans un système biologique par l'exposition à un xénobiotique (**Afshari et al., 1999 ; Farr et Dunn, 1999 ; Gant, 2002 ; Nuwasyr et al., 1999 ; Orphanides et al., 2001 ; Pennie et al., 2000 ; Ulrich et Friend, 2002**). Les deux disciplines sont liées ; les polymorphismes qui modifient la fonction biologique peuvent modifier le spectre des gènes régulés en réponse à un toxique. De cette façon, les différences toxicogénétiques peuvent étayer les variations de la réponse toxicogénomique.

Au début de la conception des médicaments, les produits chimiques peuvent faire l'objet d'un dépistage des interactions avec les enzymes polymorphes de métabolisation des médicaments (**Ball et Borman, 1997**). Cela a l'avantage d'être une méthode à haut débit qui n'est ni bruyante spécifique à la maladie. Les médicaments ainsi conçus devraient être sûrs et efficaces pour la majorité de la population.

Elle peut être utilisée pour identifier les patients qui sont sensibles à l'échelle d'évaluation de la dépression chez les adolescents ainsi que les patients qui ne répondent pas au médicament (**Roses, 2000**). En théorie, cela devrait avoir un effet extrêmement bénéfique sur le rapport risque-avantage global de tout médicament. Toutefois, étant donné qu'il s'agit d'un médicament spécifique et peut-être aussi spécifique à une maladie (p. ex., sensibilité accrue à l'échelle d'évaluation de la dépression chez les adolescents graves chez les patients séropositifs), il est probable qu'il ne sera rentable (cliniquement efficace et souhaitable)

qu'une fois que la toxicité idiosyncrasique aura été découverte. Une exception à cette règle peut être lorsque les polymorphismes se produisent dans des gènes codant pour des protéines qui jouent un rôle dans la toxicité d'un certain nombre de médicaments, et le niveau d'expression de cette protéine est un déterminant majeur de la susceptibilité et/ou l'étendue de la toxicité. Ainsi, nous devrions peut-être penser à des gènes spécifiques à une maladie (p. ex., agranulocytose induite par un médicament, hépatotoxicité), plutôt qu'à de simples médicaments spécifiques.

III. Tests de génotoxicité et de mutagénicité

Les tests de génotoxicité et de mutagénicité ont pour but de mettre en évidence l'induction de modifications (dommages à l'ADN, mutations, transformations cellulaires in vitro...) considérées comme plus ou moins prédictives d'un potentiel mutagène et donc cancérigène. Les tests les plus fréquemment utilisés sont les tests d'Ames, la mesure des adduits à l'ADN, les tests des comètes, des micronoyaux, et le test des aberrations chromosomiques. Parmi ces tests, il faut distinguer ceux qui permettent de mesurer le potentiel génotoxique de ceux qui mesurent le pouvoir mutagène d'une substance (**Tarantini, 2009**).

Le pouvoir génotoxique d'une substance correspond à sa capacité à altérer le matériel génétique d'une cellule en se fixant de manière covalente à l'ADN, en produisant des espèces réactives de l'oxygène qui peuvent générer des dommages au niveau de l'ADN (oxydation de bases, cassures de brins d'ADN...) ou encore en inhibant les systèmes de réparation. Le test des comètes et la mesure des adduits à l'ADN permettent de détecter ces lésions dites primaires à l'ADN. D'autres modifications touchent les chromosomes, en entraînant soit des anomalies de structures, et on parle alors de mutations chromosomiques, des anomalies de nombres, ce sont les mutations génomiques. Le test des micronoyaux et la mesure des aberrations chromosomiques permettent de mesurer ce type d'anomalies. Le pouvoir mutagène d'une substance correspond à sa capacité à générer des mutations, c'est-à-dire des transformations permanentes du nombre ou de la structure des gènes. Ces mutations peuvent altérer la séquence d'un gène par la modification d'un ou plusieurs nucléotides (additions, délétions, substitutions de nucléotides...). On parle alors de mutations géniques. Ce type d'anomalies peut être en mis en évidence par le test d'Ames (**Tarantini, 2009**).

III.1. Test d'Ames

Le test d'Ames consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *Salmonella Typhimurium* (Ames, 1973). Les souches utilisées sont porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation (His-) rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, ces mutations (His-) reversent spontanément vers (His+) et donc les cellules retrouvent leur capacité à pousser sur un milieu dépourvu d'histidine. Cette fréquence de réversion peut augmenter en exposant les bactéries (His-) à des agents mutagènes. Ainsi, ce test permet, en quantifiant l'induction de ces mutations réverses (His+), de mesurer le potentiel génotoxique de la substance ou préparation étudiée. Plusieurs souches bactériennes de nature génétique différente peuvent être utilisées (Maron and Ames, 1983), notamment les souches TA97a, TA98, TA100, TA102, TA1535 et TA1537. Ces souches sont porteuses de mutations (His-) différentes qui permettent de tester des agents mutagènes variés.

Principe du test

Ce test est fondé sur l'identification de différents types de mutations à l'aide de différentes souches de *Salmonella Typhimurium*, comme TA98, TA+00 (Elgorashi et al., 2003 ; Maron et Ames, 1983 ; Ribeiro et al., 2003 ; Verschaeve et Van Staden, 2008), TA1535 et TA1537 (ou TA 97 ou TA97a). (Brasil., 2010 ; Maron et Ames, 1983). Les souches TA98 (donne une indication des mutations de cadrage) et TA100 (indique des substitutions de paires de base) sont actuellement les plus couramment utilisées pour détecter la grande majorité des mutagènes (Ben Sghaier et al., 2011 ; Deb et al., 2008 ; Di Sotto et al., 2009 ; Guerrini et al., 2009 ; Maron et Ames, 1983). Pour la détection de mutations dans les sites de l'adénine-thymine (AT), il faut utiliser *S. Typhimurium* TA 102, *Escherichia coli* WP2 uvrA ou *Escherichia coli* WP2 uvrA (pKM101) (Brasil, 2010 ; Maron, 2010 ; Maron et Ames, 1983).

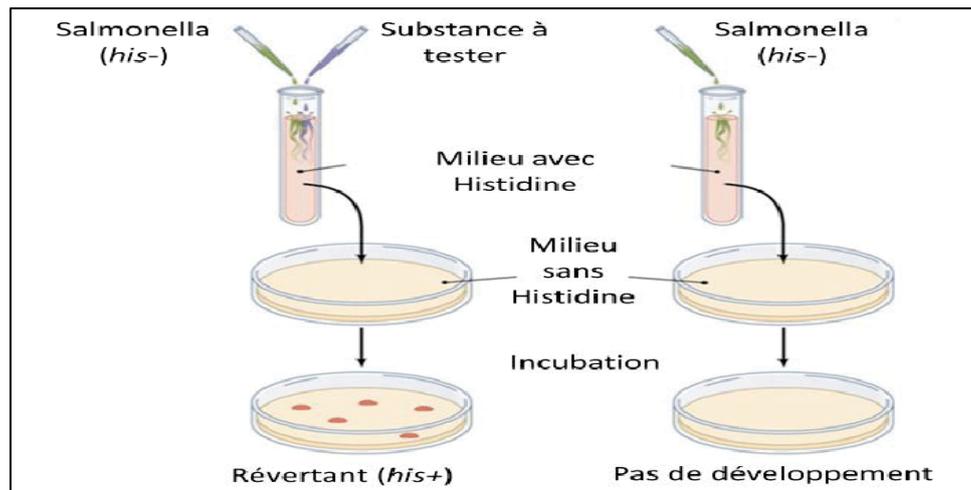


Figure 06 : les étapes du test d'Ames.

III.2. Test des aberrations chromosomiques (AC)

Il s'agit de déterminer les anomalies du caryotype sur des cellules eucaryotes, liées à l'exposition à de composés génotoxiques entraînant des cassures d'ADN. Les cellules analysées peuvent notamment être des lymphocytes isolés de sujets humains ou d'animaux (exposés *in vivo* à des substances chimiques ou préparations) ou des cellules de lignée ou des lymphocytes exposés *in vitro* aux génotoxiques. Ce type de test va donc pouvoir être employé pour mesurer le potentiel génotoxique d'un composé *in vitro* (traitement de cultures cellulaires) ou *in vivo* (exposition expérimentale de rongeurs) (Cimino, 2006), mais aussi pour la surveillance du personnel exposé en médecine du travail (Vodicka et al., 2002 ; Mateuca et al., 2006).

Les aberrations chromosomiques indiquent un dommage stable et persistant, qui représente un événement potentiellement initiateur dans le processus qui mène au néoplasie. La présence d'aberrations chromosomiques a d'ailleurs été corrélée avec un risque accru de survenue de cancers (Norppa et al., 2006 ; Boffetta et al., 2007). Ce test correspond donc selon certains à un véritable biomarqueur d'effet précoce, qui pourrait avoir dans une certaine mesure une valeur prédictive potentielle. Les aberrations chromosomiques persistent de plus pendant la durée de vie des lymphocytes, ce qui fait que ce test est potentiellement applicable à l'évaluation d'une exposition cumulée et a une rémanence longue (au moins quelques semaines à quelques mois, voir plus).

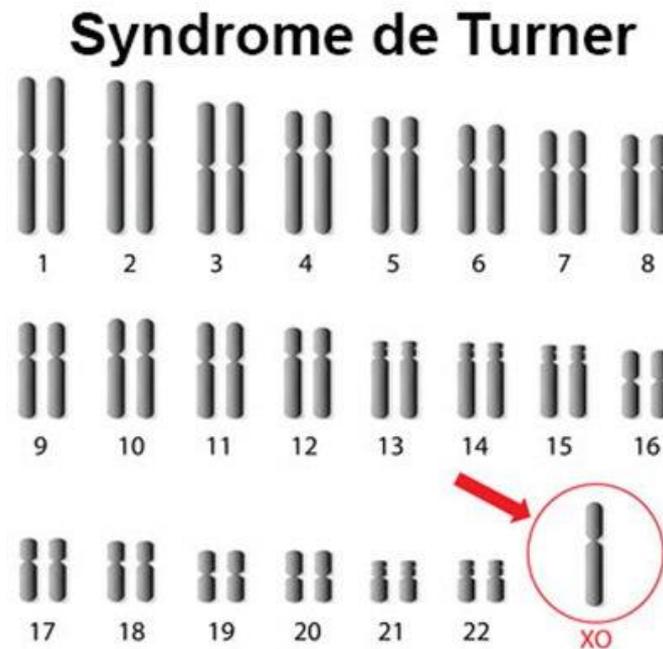


Figure 07 : Aberration chromosomique au niveau de chromosome sexuel X (5)

Le test d'aberration chromosomique est relativement lourd et fastidieux à réaliser. Il a de plus l'inconvénient de requérir une culture cellulaire. Pour l'étude du personnel exposé, il requiert obligatoirement l'analyse comparée du groupe de sujets exposés à un groupe de sujets témoins non exposés car la rémanence potentiellement longue des aberrations chromosomiques après exposition aux agents mutagènes ne permet pas de comparer pour un même sujet les conditions avant exposition et après exposition et celui-ci ne peut donc pas servir de propre témoin. Il requiert aussi un prélèvement cellulaire, c'est-à-dire habituellement une prise de sang, et présente donc de ce fait un certain caractère invasif. Le test d'aberrations chromosomiques à par contre pour avantage de permettre la détection de tout type d'atteinte chromosomique. Il comporte une approche cellule par cellule, ce qui permet par conséquent d'avoir un grand nombre de données et donc un traitement statistique performant des résultats.

Principe du test

Bon nombre des altérations chromosomiques des cellules sont létales, mais il existe plusieurs altérations qui n'interfèrent pas avec la viabilité cellulaire et qui peuvent déclencher des altérations génétiques, reproductives ou somatiques (**Gadano et al., 2002**). La méthode mesure les changements de structure et de nombre de chromosomes des cellules de la

métaphase résultant des ruptures et des changements ou des erreurs de ségrégation chromosomique au cours de la division cellulaire, et ces méthodes peuvent être *in vivo* (Agner et al., 1999) ou *in vitro* (Al-Zubairi et al., 2010 ; Celik et al., 2005 ; Dean et Danford, 1984 ; Moorhead et al., 1960 ; Scott et al., 1990). La SCE est basée sur la visualisation des changements des brins d'ADN complémentaires symétriques entre les chromatides d'un seul chromosome (Ananthi et al., 2010).

III.3. Test de micronoyaux

Les micronoyaux sont des entités nucléaires indépendantes du noyau principal, provenant de la perte de fragments chromosomiques ou de chromosomes entiers pendant la division nucléaire, conséquences respectivement d'effets clastogènes (cassures double brin de la molécule d'ADN) ou d'effets aneugènes (altérations de l'appareil mitotique liées principalement à des interactions avec les protéines). Le test des micronoyaux a donc pour objet de détecter et énumérer ces micronoyaux, dans des cellules traitées *in vitro* par l'agent génotoxique ou provenant d'une exposition *in vivo* (par exemple des lymphocytes de rongeurs ou de sujets humains exposés à l'agent génotoxique) (Mateuca et al., 2006); il s'agit d'un cas particulier du test précédent (aberrations chromosomiques) qui va être l'analyse du potentiel génotoxique d'un composé ou à la surveillance de personnels exposés en médecine du travail (Narod et al., 1988). Les micronoyaux constituent un dommage stable et persistant (effet mutagène), qui persiste dans la cellule pendant la durée de vie de celle-ci, et il a donc une rémanence longue ; le test des micronoyaux a d'ailleurs été présenté récemment comme ayant une valeur prédictive pour le risque de cancer (Bonassi et al., 2007). Le test des micronoyaux peut être aussi utile pour évaluer une exposition récente (heures, jours). Applicable à toutes les cellules-cibles (cellules vésicales, endobuccales, fibroblastes, kératinocytes, etc....), ce test des micronoyaux peut notamment être appliqué aux lymphocytes T en culture utilisés comme cellules-modèles : il consiste alors à dénombrer les micronoyaux présents dans les lymphocytes T binucléés obtenus par blocage de la division cytoplasmique par de la cytochalasine après une division nucléaire complète (Mateuca et al., 2006). L'avantage de cette technique est de ne comptabiliser que les lésions génotoxiques hérissables (micronoyaux dans les seuls lymphocytes binucléés) répondant seules à la définition stricte de la mutation. Le test est, de plus, associable à une étude de la qualité du matériel génétique contenu dans le micronoyau (présence ou non de centromères type de chromosome altéré, nature exacte de l'altération) par hybridation " *in situ* " fluorescente (technique FISH), ce qui apporte des

éléments mécanistiques fondamentaux à l'interprétation des résultats (la détection des centromères dans les micronoyaux orientant vers un effet aneugène tandis que l'absence de cette détection oriente plus vers un effet clastogène) (Lewinska et al., 2007). Le test des micronoyaux peut aussi être pratiqué directement sans culture préalable des lymphocytes recueillis par ponction sanguine chez les sujets exposés.

Principe du test

Cette méthodologie permet la détection d'événements clastogéniques (rupture de chromosomes) et aneugéniques (par exemple, troubles du fuseau central et mutations) (Verschaeve et Van Staden, 2008). Un micronoyau (petit noyau) se forme lorsque, pendant la division cellulaire, un chromosome entier ou un fragment chromosomique est séparé du fuseau et n'est donc pas incorporé dans les noyaux filles (Fenech, 2000). Pour s'assurer que les cellules ont subi une division cellulaire (mitose), après exposition au composé testé, les cellules peuvent être bloquées dans la télophase avec l'ajout de la cytochalasine B (qui bloque la cytokinésie) (Al-Zubairi et al., 2010 ; Bellini et al., 2008 ; Tsuboy et al., 2010 ; Verschaeve et Van Staden, 2008). Une augmentation significative des cellules micronucléées chez les animaux exposés ou les cellules de culture comparée à un groupe témoin (négatives), suggérant un effet génotoxique (Agner et al., 1999 ; Al-Zubairi et al., 2010 ; Andrade et al., 2008a ; Bellini et al., 2008 ; Costa et al., 2010 ; Taylor et al., 2003 ; Tsuboy et al., 2010 ; Verschaeve et Van Staden, 2008). Cet essai peut être effectué avec des échantillons d'essais in vivo et/ou in vitro.

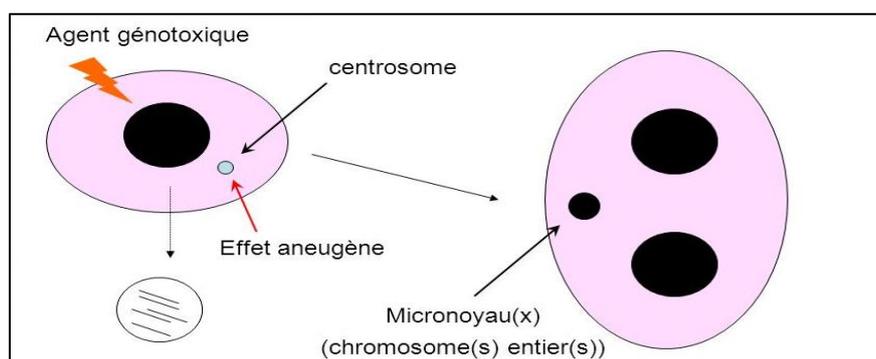


Figure 08 : Principe de test de micronoyau (MN) (4)

III.4. Echange de chromatides sœurs (SCE)

Ce test analyse des anomalies chromatiniennes survenant en réponse à l'exposition à un génotoxique (Sram and Binkova, 2000). Les échanges de chromatides sœurs entre chromosomes découlent de cassures dans l'ADN et de la réversion des fragments brisés à une

position presque équivalente après échange entre les deux chromatides sœurs d'un même chromosome et par conséquent leur formation dépend de la phase S du cycle cellulaire ou des processus de duplication de l'ADN. Les génotoxiques ou agents clastogènes augmentent la fréquence de SCE par cellules, ce qui serait lié à une action sur la réparation au cours de la phase S. Le test est applicable pour tester *in vitro* l'effet d'un composé sur des cellules mais aussi pour évaluer les effets d'une exposition *in vivo* à des agents génotoxiques. Il est donc utilisable pour la mesure du potentiel génotoxique d'un composé donné, mais aussi pour la surveillance de personnels exposés (**Maki-Paakkanen, 1987 ; Cavallo et al., 2006**).

La réalisation pratique du test nécessite d'effectuer une culture des cellules étudiées (souvent des lymphocytes) pour obtenir une mitose *in vitro* et un marquage des chromatides néosynthétisées lors de la mitose au bromo-desoxy-uridine, puis de procéder à une analyse caryotypique ou les chromosomes présentant des échanges de chromatides sœurs vont pouvoir être détectés. Le test va évaluer un événement stable, mais pas nécessairement une lésion fixée, exprimant la conséquence d'une exposition à des agents génotoxiques ; il n'est donc pas synonyme d'effet mutagène.

Le test d'échange de chromatides sœurs n'est d'ailleurs pas prédictif du risque de cancers (**Norppa et al., 2006**). Les échanges de chromatides sœurs persistent dans le lymphocyte entre 4 et 16 semaines. Le test peut donc être applicable à l'évaluation chez un sujet d'une exposition au cours des dernières semaines. (**Eslava, 2004**).

Principe du test

Bon nombre des altérations chromosomiques des cellules sont létales, mais il existe plusieurs altérations qui n'entravent pas la viabilité cellulaire et qui peuvent entraîner des altérations génétiques, reproductives ou somatiques (**Gadano et al., 2002**). La méthode mesure les changements de structure et de nombre de chromosomes des cellules de la métaphase résultant des ruptures et des changements ou des erreurs de ségrégation chromosomique au cours de la division cellulaire, et ces méthodes peuvent être *in vivo* (**Agner et al., 1999**) ou *in vitro* (**Al-Zubairi et al., 2010 ; Celik et al., 2005 ; Dean et Danford, 1984 ; Moorhead et al., 1960 ; Scott et al., 1990**). La SCE est basée sur la visualisation des changements des brins d'ADN complémentaires symétriques entre les chromatides d'un seul chromosome (**Ananthi et al., 2010 ; Gadano et al., 2002 ; Siddique et al., 2008 ; Ierenga et al., 1991**)

III.5. Le test de comètes

Le test des comètes permet de quantifier les lésions primaires de l'ADN, notamment les cassures de l'ADN, qui représentent une des lésions à forte probabilité d'apparition après exposition à des agents mutagènes. Sur le plan technique, ce test des comètes (ou "single cell gel electrophoresis assay") correspond à une technique d'électrophorèse sur microgel d'agarose permettant de détecter des fragmentations de l'ADN de cellules individualisées (Collins, 2004), initialement décrite en 1984 (Ostling and Johanson, 1984) puis améliorée par Singh et collaborateurs en 1988 (Singh et al., 1988). Le test réalisé dans sa version alcaline permet notamment la détection des cassures de l'ADN simple et double brin et aussi des sites de réparation incomplète d'alcali-labile. Les sites de dommages à l'ADN peuvent aussi être révélés après traitement par des enzymes type endonucléase et glycosylase, qui vont générer des cassures visualisables par le test des comètes au niveau des lésions de l'ADN ; l'utilisation d'endonucléase peut ainsi permettre de détecter des lésions oxydatives des bases de l'ADN.

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. Les figures ainsi décrites sont alors tout à fait comparables à des comètes. La lecture au microscope à fluorescence et l'analyse d'image permet alors la quantification des effets observés : calcul de la longueur de la queue de la comète (exprimé en μM) et aussi calcul du moment de la queue de la comète ou OTM (olive tail moment), qui estime la migration des fragments variés d'ADN formant la queue de la comète et aussi les quantités d'ADN relatifs. Des logiciels d'imagerie autorisent une automatisation de la lecture. Le test peut enfin être couplé à l'hybridation in situ par fluorescence (FISH) pour détecter l'atteinte ou la réparation spécifique de gènes d'intérêt (Rapp et al., 2005).

Principe du test

Ce test permet de détecter des ruptures dans la molécule d'ADN, des sites alcalins labiles, des dommages oxydatifs et des liens croisés d'ADN dans des cellules individuelles (Demma

et al., 2009 ; Singh et al., 1988). Les cellules individuelles sont incorporées dans une lame avec gel d'agarose à la procédure d'électrophorèse de gel, ce qui donne des chiffres que lors de la coloration (bromure d'éthidium) ressemblent à une comète en raison de la migration de fragments d'ADN ou de boucles d'ADN chargé négativement vers le pôle positif. La longueur de la queue de la comète, la teneur en ADN de la queue et d'autres paramètres peuvent être utilisée pour mesurer les dommages à l'ADN (Verschaeve et Van Staden, 2008). Cet essai peut être effectué avec des échantillons d'essais in vivo et/ou in vitro.

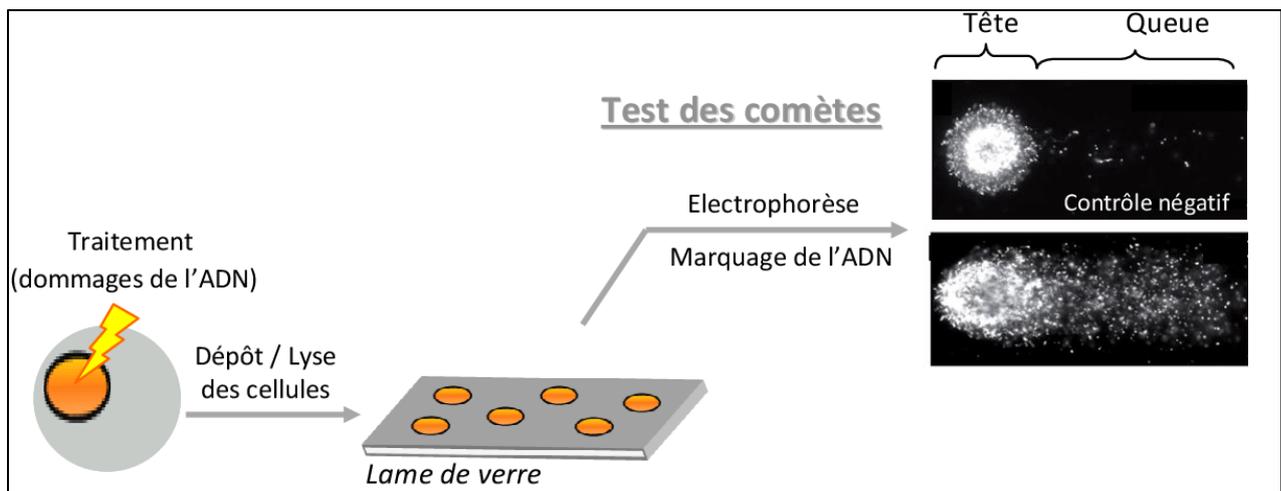


Figure 09 : Principe de la détection des cassures de l'ADN par le test des comètes.

(Gines, 2013)

I.6. Test *Allium cepa*

I.6.1. Présentation générale d'*Allium cepa*

Allium cepa ($2n=16$), l'oignon, est une plante herbacée, vivace, (selon le cultivar) (Ranjikar., 2003), il fait partie de la famille des alliacées. Cette plante est cultivée dans de trois nombreux pays pour son usage alimentaire. Le caryotype présente cinq paires de chromosomes (de 8 à 16 m) avec des centromères situés de façon médiane à su médiane, deux paires dans lesquelles les centromères sont submédians et une paire de, chromosomes satellites (Cotelle., 1999).

Différentes variétés d'oignon peuvent être utilisées dont notamment une variété à petits bulbes, une variété américaine à gros bulbes jaunes et une troisième variété mexicaine à petits bulbes appelés, en France, oignon blanc printaniers. *Allium cepa* permet l'évaluation de divers critères de toxicité et de génotoxicité. Pour ce qui est de la toxicité, l'élongation racinaire d'*Allium cepa* est très souvent déterminée en parallèle avec les études de génotoxicité. Ce

critère présente une meilleure répétabilité et une plus grande facilité de mesure (les racines d'*Allium* poussent de façon très homogène et forment un ensemble de racines de longueur égale (Cotelle, 1999).

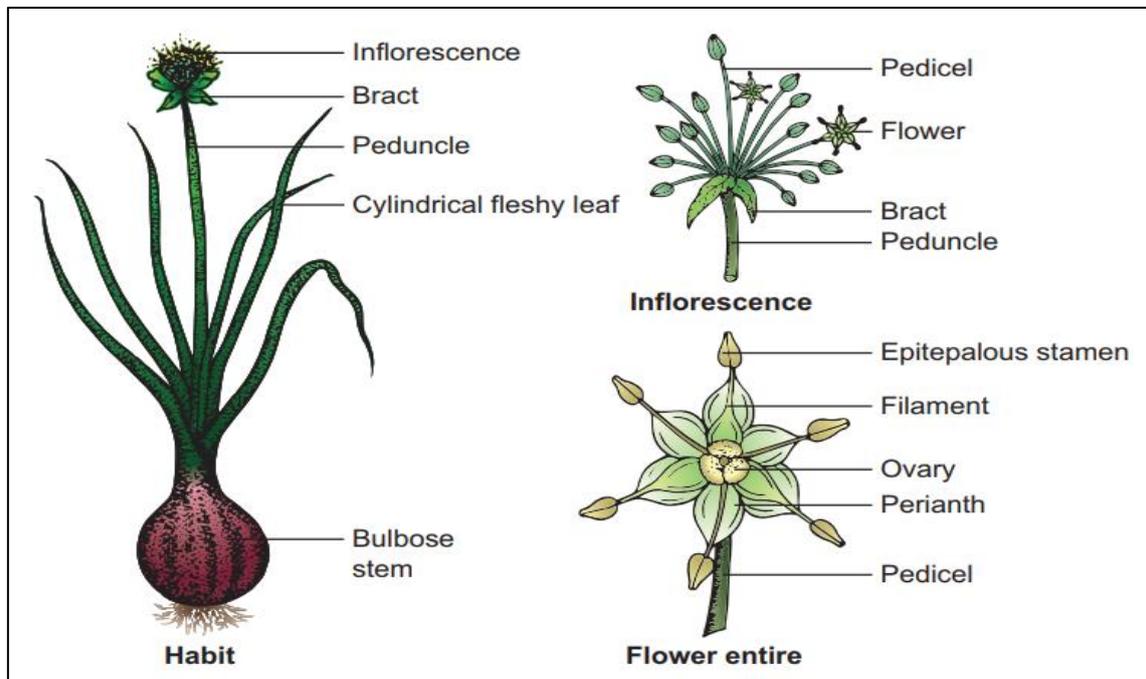


Figure 10 : Illustration de l'espèce *Allium cepa* (4)

I.6.2. Taxonomie de l'espèce *Allium cepa*

Tableau 05 : Taxonomie de l'espèce *Allium cepa* (Burnie et al.,1999)

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

Principe du test

Ce test est basé sur l'exposition des semences *Allium cepa* (Carité et Marin-Morales, 2008) à l'agent à tester. Le pourcentage de graines germées, la taille des racines, l'indice mitotique et le pourcentage et les types de changements chromosomiques sont évalués (Celik

et Aslanturk, 2010). En plus des dommages structuraux chromosomiques, les troubles du fuseau mitotique dans les cellules d'*A. cepa* causés par les agents d'essai peuvent entraîner une aneuploïdie et/ou la formation de micronoyaux (Akinboro et Bakare, 2007), au-delà de la métaphase collante, des ponts chromatiques (anaphasis), cellules binucléaires, anaphase retardée, lésions membranaires, corps apoptotiques, lésions morphologiques nucléaires et condensation nucléaire dues à l'induction de la mort cellulaire (Celik et Aslanturk, 2010; Sousa et al., 2010) à l'étape suivante de la division cellulaire sont également évalués (Akinboro et Bakare, 2007).

Avantages de l'utilisation de la plante *Allium cepa* dans les tests de génotoxicité

Selon nombreux auteurs, les tests de génotoxicité sur les plantes devraient davantage être intégrés dans les études écotoxicologiques en complémentarité avec d'autres tests ou en tant que première étape de la détection de la génotoxicité potentielle des substances chimiques et des matrices complexes (Grant, 1994). Les avantages de l'utilisation des plantes supérieures dans ce type sont :

- Le nombre et la structure des chromosomes de certaines plantes supérieures. Les anomalies mitotiques sont faciles à détecter lorsque les chromosomes sont longs et en nombre réduit. Par exemple : *Allium cepa* ($2n = 16$), offrent d'excellents systèmes de cytogénicité et permettent la détection des aberrations chromosomiques lors de la méiose et de la mitose ainsi que l'endommagement de l'ADN (Grant, 1994).
- Le cycle de développement très court de certaines espèces (*Arabidopsis*).
- Evaluation aisée de la génotoxicité des polluants chimiques utilisés purs ou en mélange.
- Evaluation de la pollution des sols. En effet, ces plantes participent au transfert des composés polluants le long de la chaîne alimentaire.
- Facilité de manipulation (Cotelle, 1999).

Deuxième Partie

Etude expérimental

Chapitre I :

Matériel et méthodes

d'analyses

I. Matériel et méthodes 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 métabolites secondaires de la plante étudiée (**Trease et Evans,1987**).

On peut citer les principales 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 un 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 papier filtre. 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 bainmarie à $90^{\circ}c$ 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 NH₄OH (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**).



Figure 11 : Préparation de l'extrait méthanolique.

I.2.3. Évaluation 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 (les racines entre 1.5 et 2 cm) ont été choisis pour tester l'extrait étudié. Le témoin négatif est constitué de l'eau de robinet



Figure 12 : Germination des bulbes d'*Allium cepa*

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 tempore. 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.



Figure 13 : Fixation des racines dans la solution de Carnoy

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.



Figure 14 : conservation des extrémités racinaires dans éthanol

Chapitre II

Résultats et discussion

Résultat et discussion

1. Screening phytochimique

Les différents tests phytochimiques choisis ont été réalisés sur la poudre de la plante. Ces derniers ont permis de mettre en évidence la présence de certains groupes et l'absence d'autres métabolites au niveau du tissu de la plante étudiée. La détection de ces composés était basée sur des essais de réactions de précipitation, de turbidité et de changement de couleur. Le tableau 06 illustre la composition chimique de la poudre végétale d'*Origanum majorana*

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 ont mis en évidence la présence de Flavonoïde, de Saponosides, de Tanins, Mucilage, de Glycosides. Cependant, l'absence de tanins galliques, de coumarines et des Alcaloïdes. Ces résultats sont similaires à ceux publiés par **Al-HOWIRINI, 2009** et **Vasudeva, 2014**. Ils sont par contre contradictoires de ceux de **Adam et Ahmed, (2014)**, qui montrent la présence des métabolites secondaires tels que les Coumarines, les tanins, les Saponosides, les Alcaloïdes et les stérols. Les différences sont dues au génotype et aux conditions environnementales.

La présence de ces métabolites au niveau de la plante explique leur pouvoir thérapeutique. Les mêmes constatations sont faites par **Ayari et al, 2013**. Effectivement, les Flavonoïde et

les saponosides présentent des propriétés bénéfiques pour la santé notamment les propriétés anti oxydants, anti-inflammatoire (**Bouhaddouda et Labiod., 2016**).

2. Effet de l'extrait sur l'élongation racinaire

Le test *Allium cepa* a été largement utilisé par de nombreux chercheurs afin d'évaluer le potentiel génotoxique des plantes médicinales (**Camparoto et al., 2003 ; Knoll et al., 2006 ; Fachinetto et al., 2007 ; Lubini et al. 2008 ; Fachinetto et al. 2008 ; Fachinetto et Tedesco, 2009**). Il est considéré comme le test modèle sensible détecter les altérations et les aberrations chromosomique suite à l'exposition aux substances génotoxique.

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**).

2.1. L'inhibition de l'élongation racinaire

L'inhibition de l'élongation racinaire est utilisée pour évaluer la toxicité chez les plantes supérieures (**Wierzbicka, 1988**). Le traitement des bulbes par l'eau de robinet pendant nuit à donner une bonne croissance racinaire. Les racines étaient de couleur blanche, rigides et volumineuses. Néanmoins le traitement des racines d'*Allium cepa* par l'extrait hydro méthanolique (1V/4V) a provoqué un changement e couleur et forme. Les racines étaient jaunes et ont perdu leur forme initiale et leur structure normale, elles ont été fragile. Cependant réduction significative du taux de croissance racinaire a été enregistrée (tab 07)

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

Temps (heures)	Concentration	ER moyenne de trois bulbes/concentration (cm)	ER moyenne (cm)	Pourcentage d'élongation (%)
24	V	4 3.5 3.5	3.66± 0.28	100
24	1V ;4V	Bulbe1 : 2.8 Bulbe 3 : 2.6 Bulbe 6 : 2.3	2.56± 0.25*	69.94

Le tableau ci-dessus illustre que la croissance des racines diffère entre les bulbes traités avec l'extrait hydro méthanolique d'*O. majorana* (moy = 2.56± 0.25*) et celles traitées par l'eau de robinet (moy = 3.66± 0.28).

Après avoir considéré que le pourcentage d'élongation racinaire du contrôle négatif est 100 %. Le pourcentage de l'extrait est 69.94%.

Le taux d'inhibition d'élongation 30.06% est 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 méristématique 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).

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 de l'espèce végétal (*Allium cepa*), nous constatons 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 de **Fiskesjö (1985)**, et ces mêmes constatations sont faite par **Küçük et Liman (2018)** pour l'herbicide Pinoxaden. Ils montrèrent que ce dernier provoque une diminution de la croissance racinaire qui est dose dépendante avec un pourcentage de 23.97%.

Dimuthu Nilmini Wijeyaratne 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. Dimuthu Nilmini Wijeyaratne 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.

Nos résultats concordent avec ceux publiés par **Liman, 2020** qui avait réalisé le test *Allium cepa* pour étudier les effets génotoxique du 4-Méthylimidazole.

Selon de nombreux auteurs

Les anomalies mitotiques sont faciles à détecter lorsque les chromosomes sont longs et en nombre réduit. Par exemple : *Allium cepa* ($2n = 16$), offrent d'excellents systèmes de cytogénicité et permettent la détection des aberrations chromosomiques lors de la méiose et de la mitose ainsi que l'endommagement de l'ADN (**Grant, 1999**).

La plupart des substances exercent leur action durant le cycle cellulaire sont à une phase spécifique du cycle elles sont dites « agents phases dépendantes » soit tout au long du cycle elles sont alors nommées « agents cycle dépendantes » (**Gorin et al., 1996**).

Les résultats de la cytotoxicité induite par l'extrait méthanolique montre que les effets génotoxique on pouvait suggérer que l'extrait testé ou bien ses composants doivent interférer avec le développement normal de la mitose (un autimitotique et génotoxique).

De pareils effet mitodepressifs ont été observés chez des cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées par des extraits aqueux de cinq plantes médicinales utilisées en pharmacopée Nigérienne (**Akinoboro et Bakare, 2007**).

Conclusion et perspectives

Conclusion

La poudre végétale de la plante étudiée a révélé la présence de métabolites tels que : les flavonoïdes, les tannins, saponosides, tanins catéchiques, mucilage et glycosides par contre, elle est pauvre en alcaloïdes, en coumarines et en tannins galliques.

Le traitement des racines par l'extrait hydrométhoulique, montre que ce dernier provoque une diminution de l'élongation racinaire d'un pourcentage de (30.06%) comparé 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 et le manque d'objectifs de microscope nous n'avons pas pu achever la dernière partie de notre étude à savoir l'indice mitotique et l'aberration chromosomiques.

Résumé

Origanum majorana est une plante médicinale très répandue et très utilisée par ses effets bénéfiques pour la santé. Le criblage phytochimique de la poudre végétale, révèle la présence certains métabolites secondaires tel que (Polyphénols, tannins catéchiques, flavonoïdes, saponosides, mucilages, glucosides) et l'absence des alcaloïdes, de tannins galliques et des coumarines. La présente étude, vise à montrer l'effet cytotoxique de la plante. Par le test *Allium cepa*. L'eau de robinet a été utilisé comme témoin. L'élongation racinaires a été déterminés 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 (1V/4V (1 volume de l'extrait 4 volumes de l'eau distillé)) provoque une réduction importante de la croissance en longueur des racines comparativement au témoin. En conclusion, il est nécessaire de prendre en considération l'effet cytotoxique de cette plante lors de son usage en tant que plante thérapeutique.

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

Abstrat

Origanum majorana is a very repainted medicinal plant and widely used by its beneficial health effects. The phytochemical screening of the vegetable powder reveals the presence of certain secondary metabolites such as (Polyphenols, catechic tannins, flavonoids, saponosides, mucilages, glucosides) and the absence of alkaloids, gallic tannins and coumarin. This study aims to show the cytotoxic effect of the plant. By the test *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 the extract of *Origanum majorana* (1V/4V (1 volume of the extract 4 volumes of distilled water)) causes a significant reduction in root length growth compared to the control. In conclusion, it is necessary to lose consideration of the cytotoxic effect of this plant when it is used as a therapeutic plant.

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

الملخص

البردقوش هو نبات طبي مشهور جدًا ويستخدم على نطاق واسع لآثاره المفيدة على الصحة. يكشف الفحص الكيميائي النباتي للمسحوق النباتي عن وجود بعض المكونات الثانوية مثل (mucilages, glucosides, polyphénols, tannins) و غياب (catéchique, flavonoïdes, saponosides) و (tannins galliques, coumarine, alcaloïde) تهدف الدراسة الحالية الى التأثير السام لخلايا النبات بواسطة اختبار *Allium Cepa* حيث تم استخدام ماء الحنفية كعنصر تحكم. تم تحديد استطالة الجذر باستخدام اختبار تثبيط نمو الجذر. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن العلاج لمدة 24 ساعة للبصيلات بمستخلص البردقوش (1V / 4V) (1حجم من المستخلص 4 حجم الماء المقطر) من تسبب في انخفاض معنوي في النمو في طول الجذور مقارنة بالسيطرة. في الختام، من الضروري مراعاة التأثير السام للخلايا لهذا النبات أثناء استخدامه كنبات علاجي.

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

Annex

1. solution d'*Origanum Majorana*

Extrait de l' <i>Origanum majorana</i>	1V
Eau distillé	4V

2. solution HCl (1N) à 8%

HCl	8,17 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 glacial	45 ml
Eau distillé.....	55 ml

4. solution de Carnoy

Acide acétique lacial.....	1V
Éthanol pure (100%).....	3V

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

5. Colorant de Feulgen

Fushine basique.....	0,25 g
Eau distillé.....	50 ml
HCl (1N).....	5 ml
K ₂ S ₂ O ₅	0,5 g

0,25 g de Fushine basique est solubilisée dans 50 ml d'eau distillée bouillante (100°), après 10minutes, 5 ml d'une solution 1N d'HCl sontajoutée, l'ensemble est agité puis ajouter 0,5 g de métrasulfite de Potassium K₂S₂O₅, couvrir lasolution par papier aluminium et la conservée à 4°C. Après 24h la solution est filtrée et peutêtre utilisé.

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 concentré	5 ml

Références

A

- **Adam, M.L., Torres, R.A., Kiska, M., Oliveira, F.F., Lacerda, O., Sponchiado, G., Ribas, C.M.O., Correia, M.T.S., 2013.** Assessment of Genome Damage in Bird and Mammal Species as a Tool Improvements in ex-situ Conservation at Zoos. *Natureza & Conservação* 11, 59-64.
- **Afshari, C. A., Nuwaysir, E. F., and Barrett, J. C., (1999).** Application of complementary DNA microarray technology to carcinogen identification, toxicology, and drug-safety evaluation. *Cancer Res.* **59**, 4759–4760.
- **Agner, A.R., Maciel, M.A., Pinto, A.C., Pamplona, S.G., Colus, I.M., 1999.** Investigation of genotoxic activity of trans-dehydrocrotonin, a clerodane diterpene from *Croton cajucara*. *Teratog Carcinog Mutagen* 19, 377-384.
- **Akinboro, A., Bakare, A.A., 2007.** Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. *Journal of Ethnopharmacology* 112, 470-475.
- **Akinboro, A., Bakare, A.A., 2007.** Cytotoxic studies on the effect of some chlorinated pesticides cytologia. 53 :427-436.
- **Al-Anizi, A.A., Hellyer, M.T., Zhang, D., 2014.** Toxicity assessment and modelling of *Moringa oleifera* seeds in water purification by whole cell bioreporter. *Water Research* 56, 77-87.
- **Al-Twaty, N.H., Ahmed, E.S., Al-Kurdi, S.A., 2008.** The Genetic Effect of the Combined Action of Vincristine and Fennel Plant Extract on the Germ Cells of *Drosophilla melanogaster* JKAU : Sci 20, 181-192.
- **Al-Zubairi, A.S., Abdul, A.B., Syam, M.M., 2010.** Evaluation of the genotoxicity of zerumbone in cultured human peripheral blood lymphocytes. *Toxicology in Vitro* 24, 707-712.
- **Albertini, R.J., 2001.** HPRT mutations in humans: biomarkers for mechanistic studies. *Mutat Res* 489, 1-16.
- **Albertini, R.J., Anderson, D., Douglas, G.R., Hagmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., Natarajan, A.T., Norppa, H., Shuker, D.E., Tice, R., Waters, M.D., Aitio, A., 2000.** IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. International Programme on Chemical Safety. *Mutat Res* 463, 111- 172.

Références

- **Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou IB (2001).** Composition and Antimicrobial Activity of The essential Oils of Two *Origanum* species. *J. Agr. Food Chem.* 49 :4168-4170.
- **Ames BN. 1973.** Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases. *Science* 221, 1256-1264.
- **Ames BN (1983).** Carcinogens are mutagens: their detection and classification. *Environ Health Perspect* 6:115-118.
- **Ananthi, R., Chandra, N., Santhiya, S.T., Ramesh, A., 2010.** Genotoxic and antigenotoxic effects of *Hemidesmus indicus* R. Br. root extract in cultured lymphocytes. *Journal of Ethnopharmacology* 127, 558-560.
- **Andrade, C.U., Perazzo, F.F., Maistro, E.L., 2008a.** Mutagenicity of the *Musa paradisiaca* (Musaceae) fruit peel extract in mouse peripheral blood cells in vivo. *Genet Mol Res* 7, 725-732.
- **Andrade, L.S., Santos, D.B., Castro, D.B., Guillo, L.A., Chen-Chen, L., 2008b.** Absence of antimutagenicity of *Cochlospermum regium* (Mart. and Schr.) Pilger 1924 by micronucleus test in mice. *Braz J Biol* 68, 155-159.
- **Ansah, C., Gooderham, N.J., 2002.** The popular herbal antimalarial, extract of *Cryptolepis sanguinolenta*, is potently cytotoxic. *Toxicological Sciences* 70, 245- 251.
- **Ansah, C., Khan, A., Gooderham, N.J., 2005.** In vitro genotoxicity of the West African anti-malarial herbal *Cryptolepis sanguinolenta* and its major alkaloid cryptolepine. *Toxicology* 208, 141-147.
- **Arora, D.S., Onsare, J.G., 2014.** In vitro antimicrobial evaluation and phytoconstituents of *Moringa oleifera* pod husks. *Industrial Crops and Products* 52, 125-135.

B

- **Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008).** Biological effects of essential oils –A review. *Food Chem.Toxicol.* 46 :446-475.
- **Ball, S., Borman, N., 1997.** Pharmacogenetics and drug metabolism. *Nat. Biotechnol.* 15, 925–926.

Références

- **Baser KHC (2002).** The Turkish Origanum species. *Oregano, the Genera Origanum and Lippia*, Ed., Kintzios SE, London and New York, Taylor and Francis, PP :109-126
- **Baydar H, Osman S, Ozkan G, Karadoa T (2004).** Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, 15 :169-172.
- **Bendahou A, Muselli A, Grigmon-Dubois M, Benyoucef M, Desjobert JM, Bernardini AF, Costa J (2008).** Antimicrobial activity and Chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. Essential Oil and Extract Obtained by Microwave extraction : Comparison with Hydrodistillation. *Food Chem.* 106 :132-139.
- **Ben Sghaier, M., Boubaker, J., Skandrani, I., Bouhlel, I., Litem, I., Ghedira, K., Chekir-Ghedira, L., 2011.** Antimutagenic, antigenotoxic and antioxidant activities of phenolic-enriched extracts from *Teucrium ramosissimum* : Combination with their phytochemical composition. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 31, 220-232.
- **Boffetta P, van der Hel O, Norppa H, Fabianova E, Fucic A, Gundy S, Lazutka J, Cebulska-Wasilewska A, Puskaierova D, Znaor A, Kelecsenyi Z, Kurtinaitis J, Rachtan J, Forni A, Vermeulen R and Bonassi S (2007).** Chromosomal aberrations and cancer risk: results of a cohort study from Central Europe. *Am J Epidemiol* 165:36-43.
- **Bolt HM, Foth H, Hengstler JG and Degen GH (2004).** Carcinogenicity categorization of chemicals-new aspects to be considered in a European perspective. *Toxicol Lett* 151:29-41.
- **Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N, Kirsch-Volders M, Zeiger E, Ban S, Barale R, Bigatti MP, Bolognesi C, Cebulska-Wasilewska A, Fabianova E, Fucic A, Hagmar L, Joksic G, Martelli A, Migliore L, Mirkova E, Scarfi MR, Zijno A, Norppa H and Fenech M (2007).** An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis* 28 :625-631.

Références

- **Bonet, M. A., Parada, M., Selga, A., Valles, J., 1999.** Studies on pharmaceutical ethnobotany in the regions of L'alt emporda and les guilleries (Catalonia, Iberian Peninsula). *J. Ethnopharmacol.* 68, 145–168.
- **Bouayyadi, L., El Hafian, M., Zidane, L., 2015.** Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale dans la région du Gharb, Maroc. *J. Appl. Biosci.* 93, 8770–8788.
- **BP Pimple, AN Patel, PV Kadam, MJ Patil 2012.** Microscopic evaluation and physicochemical analysis of *Origanum majorana* Linn leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* (2012). Res. S898-S900.
- **BRASIL, 2010.** Guia para a Condução de Estudos não Clínicos de Segurança Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA), Brasília.
- **Bulut, G., Haznedaroğlu, M.Z., Doğan, A., Koyu, H., Tuzlacı, E., 2017.** An ethnobotanical study of medicinal plants in Acipayam (Denizli-Turkey). *J. Herb. Med.* 10, 64–81.
- **Burnie G, Forrester S, Greig D, et al. 1999.** *Botanica : The Illustrated A-Z of over 10,000 Garden Plants*, 3rd edn., p. 74. Random House : New South Wales.

C

- **Camparoto, M. L., Teixeira, R.O., Mantovani, M. S. & Vicentini, V.E.P. (2002).** Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion root-tip and rat bone-marrow cells. *Genetics and Molecular Biology*, 25, pp. 85-89, ISSN 1415- 4757
- **Caritá, R., Marin-Morales, M.A., 2008.** Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. *Chemosphere* 72, 722-725. Carlson, E.A., 2013. H.J. Muller's contributions to mutation research. *Mutat Res* 752, 1-5.
- **Cavallo D, Ursini CL, Bavazzano P, Cassinelli C, Frattini A, Perniconi B, Di Francesco A, Ciervo A, Rondinone B and Iavicoli S (2006).** Sister chromatid exchange and oxidative DNA damage in paving workers exposed to PAHs. *Ann Occup Hyg* 50:211-218.

Références

- **Celik, A., Comelekoglu, U., Yalin, S., 2005.** A study on the investigation of cadmium chloride genotoxicity in rat bone **Celik, T.A., Aslanturk, O.S., 2010.** Evaluation of Cytotoxicity and Genotoxicity of *Inula viscosa* Leaf Extracts with Allium Test. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*.
- **Charai, M., Mosaddak, M., Faid, M., 1996.** Chemical composition and antimicrobial activities of two aromatic plants : *Origanum majorana* L. and *O. compactum* Benth. *J. Essent. Oil Res.* 8, 657–664.
- **Chaves, R. do S.B., Martins, R.L., Rodrigues, A.B.L., de Menezes Rabelo, E., Farias, A.L.F., Araújo, C.M. da C.V., Sobral, T.F., Galardo, A.K.R., 2019.** Larvicidal Evaluation of the *Origanum Majorana* L. Essential Oil against the Larvae of the *Aedes aegypti* Mosquito. *BioRxiv* 595900.
- **Chiez R, (1984).** The Macdonald Encyclopedia of Medicinal Plants. Macdonald Co. Ltd, London, pp. 212-297.
- **Chishti, S., Kaloo, Z.A., Sultan, P., 2013.** Medicinal importance of genus *Origanum* : a review. *J. Pharmacogn. Phytotherapy* 5, 170–177.
- **Cimino MC (2006).** Comparative overview of current international strategies and guidelines for genotoxicology testing for regulatory purposes. *Environ Mol Mutagen* 47:362-390.
- **Collins AR (2004).** The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Mol Biotechnol* 26:249-261.
- **Cortés-Gutiérrez, E. I., Dávila-Rodríguez, M. I., Fernández, J. L., López-Fernández, C., Gosálbez, A. and Gosálvez, J. (2011).** New application of the comet assay : chromosome--comet assay. *J. Histochem. Cytochem.*59, 655–60.
- **Cotelle S. (1999).** Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures. Thèse de doctorat, Université de Metz, 257p.

D

- **Dean, B.J., Danford, N., 1984.** Assays for the detection of chemically-induced chromosome damage in cultured mammalian cells, in : Venitt, S., Parry, J.M. (Eds.), *Mutagenicity Testing: A Practical Approach*. IRL Press Ltd., Oxford, pp. 187-232.

Références

- **Deans, S.G., Svoboda, K.P., 1990.** The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.) volatile oil. *Flavour Fragrance J.* 5, 187–190.
- **Deb, D.D., Kapoor, P., Dighe, R.P., Padmaja, R., Anand, M.S., D'Souza, P., Deepak, M., Murali, B., Agarwal, A., 2008.** In vitro Safety Evaluation and Anticlastogenic Effect of BacoMind (TM) on Human Lymphocytes. *Biomedical and Environmental Sciences* 21, 7-23.
- **Demma, J., Engidawork, E., Hellman, B., 2009.** Potential genotoxicity of plant extracts used in Ethiopian traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 122, 136-142.
- **Deysson, G., (1967).** *Eléments d'anatomie des plantes vasculaires.* Société d'Édition d'Enseignement Supérieur (SEDES), Paris, 266p.
- **Di Sotto, A., Mastrangelo, S., Romussi, G., Bisio, A., Mazzanti, G., 2009.** Antimutagenic activity of a secoisopimarane diterpenoid from *Salvia cinnabarina* M. Martens et Galeotti in the bacterial reverse mutation assay. *Food and Chemical Toxicology* 47, 2092-2096.
- **Dundar E, Olgun EG, Isiksoya S, Kukcuoglu M, Baser KHC, Bal C (2008).** The effects of Intra-rectal and Intra-peritoneal Application of *Origanum onites* L. essential oil on 2, 4, 6 -Trinitrobenzene sulfonic Acid induced colitis in the Rat. *Exp. Toxicol. Pathol.* 59 :399–408.
- **Dupont F., Guignard J. (2007).** *L. Botanique systématique moléculaire.* 14e édition révisée. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson, 283p. (Collection des abrégés). Thèse de doctorat en pharmacie. Université d'Aix-Marseille.P46

E

- **El Abbouyi, P.A., Ansari, N.F., Khyari, P.S.E., Loukili, H., 2014.** Inventory of medicinal plants prescribed by traditional healers in El Jadida city and suburbs (Morocco). *Int. J. Green Pharm.* 8. El Azzouzi, F., Zidane, L., 2015. La flore médicinale traditionnelle de la région de Béni- Mellal (Maroc). *J. Appl. Biosci.* 91, 8493–8502.
- **El Azzouzi, F., Zidane, L., 2015.** La flore médicinale traditionnelle de la région de Béni- Mellal (Maroc). *J. Appl. Biosci.* 91, 8493–8502.

Références

- **Elgorashi, E.E., Taylor, J.L.S., Maes, A., van Staden, J., De Kimpe, N., Verschaeve, L., 2003.** Screening of medicinal plants used in South African traditional medicine for genotoxic effects. *Toxicology Letters* 143, 195-207.
- **El Hafian, M., Benlandini, N., Elyacoubi, H., Zidane, L., Rochdi, A., 2014.** Etude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales utilisées au niveau de la préfecture d'Agadir-Ida-Outanane (Maroc). *J. Appl. Biosci.* 81, 7198–7213.
- **El Hilah Fatima, F.B.A., Dahmani, J., Belahbib, N., Zidane, L., 2015.** Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections du système respiratoire dans le plateau central marocain. *J. Animal Plant Sci.* 25, 3886–3897.
- **El-Hilaly, J., Hmammouchi, M., Lyoussi, B., 2003.** Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco). *J. Ethnopharmacol.* 86 (2–3), 149–158.
- **Elgayyar M, Draughon FA, Golden DA, Mount JR (2001).** Antimicrobial Activity of Essential Oils from Plants against Selected Pathogenic and Saprophytic Microorganisms. *J. Food Protect.* 64 : 1019–1024.
- **Ennacerie, F.Z., Rhazi Filali, F., Rahou, A., 2017.** Ethnobotanical study of medicinal plants used in traditional medicine in the province of Sidi Kacem. *Moroc. Asian J. Pharm. Clin. Res.* 10, 121–130.
- **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.
- **Everest, A., Ozturk, E., 2005.** Focusing on the ethnobotanical uses of plants in Mersin and Adana provinces (Turkey). *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 1, 6. Ezzeddine, N.B.H.B., Abdelkefi, M.M., Aissa, R.B., Chaabouni, M.M., 2001. Antibacterial screening of *Origanum majorana* L. oil from Tunisia. *J. Essent. Oil Res.* 13 (4), 295–297.

F

Fachinetto, J.M., Bagatini, M.D., Silva, A.C.F. & Tedesco, S.B. (2007). Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo

Références

- celular de *Allium cepa*, *Rev. bras. farmacogn.*, 17, 1, pp. 49-54, ISSN: 0102695X
- **Fachinetto, J.M. & Tedesco, S.B. (2009)**. Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*, *Rev. Bras. Pl. Med.*, 11, 4, pp. 360-367, ISSN 1516-0572
- **Fachinetto, J.M., Ourique, A., Lubini, G., Tedesco, S.B., Silva, A.C.F. & Beck, R.C.R. (2008)**. Tretinoin-loaded polymeric nanocapsules: evaluation of the potential to improve the antiproliferative activities on *Allium cepa* root-tip compared to the free drug, *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 27, pp. 668-673
- **Farr, S., and Dunn, R. T., II (1999)**. Concise review: Gene expression applied to toxicology. *Toxicol. Sci.* 50, 1–9.
- **Figueredo. G (2007)**. 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.
- **Fiskesjö G.**, The allium test an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions, *Mutat. Res.*, 197, 243–260 (1985).
- **Fleisher A, Fleisher Z (1988)**. Identification of Biblical Hyssop and origin of the traditional use of Oregano-group herbs in the Mediterranean region. *Econ. Bot.* 42 :232–241.
- **Force M, Sparks W S, Ronzio RA (2000)**. Inhibition of enteric parasites by emulsified oil of Oregano. *In vivo Phytother. Res.* 14(3) :213-214.
- **Freire, J.M., Cardoso, M.G., Batista, L.R., Andrade, M.A., 2011**. Essential oil of *Origanum majorana* L., *Illicium verum* Hook. f. and *Cinnamomum zeylanicum* Blume: chemical and antimicrobial characterization. *Rev. Bras. Plantas Med.* 13, 209–214.

G

- **Gadano, A., Gurni, A., López, P., Ferraro, G., Carballo, M., 2002**. In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of Ethnopharmacology* 81, 11-16.
- **González, G., Pérez-López, L.A., 2015**. Antimicrobial and antioxidant activities and chemical characterization of essential oils of *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus*

Références

- officinalis, and *Origanum majorana* from northeastern México. *Pak. J. Pharm. Sci.* 28.
- **Ghourri, M., Zidane, L., Douira, A., 2013.** Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). *J. Animal Plant Sci.* 17, 2388–2411.
 - **Gorin N.C. Philip T et Symann M (1996).** Manuel pratique d'hémotocancerologie et de chimiothérapie. Fnson-Roche, cds parie p. 13-20
 - **Grant W. F. (1994).** The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mutaiotn Research*, 310 : 175-185.
 - **Greuter, W., Burdet, H.M., Long, G., (1986).** Med-Checklist, vol. 3. Editions de Conservatoire de Jardin Botaniques de la Ville de Geneve.
 - **Guenther E (1949).** The Essential Oils, Van Nostraand Co, New York. vol. 3 :535
 - **Guerra-Boone, L., Alvarez-Román, R., Salazar-Aranda, R., Torres-Cirio, A., Rivas- Galindo, V.M., Waksman de Torres, N., González, G., Pérez-López, L.A., 2015.** Antimicrobial and antioxidant activities and chemical characterization of essential oils of *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, and *Origanum majorana* from northeastern México. *Pak. J. Pharm. Sci.* 28.
 - **Guerrini, A., Sacchetti, G., Rossi, D., Paganetto, G., Muzzoli, M., Andreotti, E., Tognolini, M., Maldonado, M.E., Bruni, R., 2009.** Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 27, 39-48.

H

- **Hachi, M., Hachi, T., Belahbib, N., Dahmani, J., Zidane, L., 2015.** CONTRIBUTION a l'étude floristique et ethnobotanique de la flore medicinale utilisée au niveau de la ville de khenifra (maroc)/[contribution to the study and floristic ethnobotany flora medicinal use at the city of khenifra (Morocco)]. *Int. J. Innovat. Appl. Stud.* 11, 754.
- **Hanlidou, E., Karousou, R., Kleftoyanni, V., Kokkini, S., 2004.** The herbal market of Thessaloniki (N Greece) and its relation to the ethnobotanical tradition. *J. Ethnopharmacol.* 91, 281–299.

Références

- **Hilan C., Sfeir R., Gawish D ET Aitour S., (2006).** “Huiles essentielles de certaines plantes médicinales Libanaises de la famille des Lamiaceae”. Lebanese Science Journal, vol. 7, n°2. 200. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Paul Sabatier, 2018.
- **Hummer KA, Caraon CF, Rilet TV (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extract. J. Appl. Microbiol. 86 :985–990 .

I

- **Ietswaart, J.H., 1980.** A Taxonomic Revision of the Genus *Origanum* (Labiatae) : (Labiatae), Leiden Botanical Series. Springer Netherlands.

J

- **Jelali, N., Dhifi, W., Chahed, T., Marzouk, B., 2011.** Salinity effects on growth, essential oil yield and composition and phenolic compounds content of marjoram (*Origanum majorana*L.) leaves. J. Food Biochem. 35, 1443–1450.

K

- **Kawabata, J., Mizuhata, K., Sato, E., Nishioka, T., Aoyama, Y., Kasai, T., 2003.** 6- Hydroxyflavonoids as α -glucosidase inhibitors from marjoram (*Origanum majorana*) leaves. Biosc. Biotech. Biochem. 67, 445–447.
- **Khatab, H.A., Elhaddad, N.S., 2015.** Evaluation of mutagenic effects of monosodium glutamate using *Allium cepa* and antimutagenic action of *Origanum majorana* L. And *Ruta chalepensis* medical plants. Biotechnol. J. Int. 1–11. <https://doi.org/10.9734/BBJ/2015/17695>.
- **Kintzios SE (2002a).** Profile of the multifaceted prince of the herbs. In : Kintzios SE (Ed.) *Oregano : The Genera Origanum and Lippia. Medicinal and Aromatic plants Industrial Profiles 25.* Taylor and Francis/ CRC Press USA, PP 236–242
- **Knoll, M.F., Silva, A.C.F., Tedesco, S.B. & Canto-Dorow, T.S. (2006)** Effects of *Pterocaulon polystachyum* DC. (Asteraceae) on onion (*Allium cepa*) root-tip cells. *Genet. Mol. Biol.*, 29, 3, pp. 539-542, ISSN 1415-4757

Références

- **Kokkini S (1997)**. Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. In : Padulosi S, (ed.) *Oregano*, 14. Proceedings of IPGRI International workshop. Italy, Rome, pp. 2–12.
- **Kotb F (1985)**. Medicinal plants in Libya, 632, Arab Encyclopedia House.
- **Koukoulitsa C, Zika C, Hadjipavlou–Litina D, Demopoulos VJ, Skaltsa H (2006)**. Inhibitory effect of polar oregano extracts on aldose reductase and soybean lipoxygenase *in vitro*. *Phytother. Res.* 20 :605–606.
- **Kulisic T, Radoni A, Katalinic V, Milos M (2004)**. Use of different methods for testing antioxidative activity of *Oregano* essential oil. *Food chem.* 85 :633–640.
- **Kumar SBVN, Rupesh-Kumar M, Tamizhmani T, Fasalur ROM, Mohamed NK. Majorana hortensis (M.) : A review update.** *Pharma Science Monitor* 2011 ; 2(4): 59-74.
- **Küçük D. and Liman R.,** Cytogenetic and genotoxic effects of 2-chlorophenol on *Allium cepa* L. root meristem cells, *Environ.Sci. Pollut. Res.*, 25(36), 36117-36123 (2018)

L

- **Lane S. D., Martin E. S., Garrod J. F. (1978)**. Lead toxicity effects on indole-3-acetic acid-induced cell elongation. *Planta* [en ligne]. 144(1) : 79-84. DOI :10.1007/BF00385010.
- **Leeja, L., Thoppil, J.E., 2007.** Antimicrobial activity of methanol extract of *Origanum majorana* L. (Sweet marjoram). *J. Environ. Biol.* 28, 145. Liu, Y.-M., Shen, J.-D., Xu, L.-P., Li, H.-B., Li, Y.-C., Yi, L.-T., 2017. Ferulic acid inhibits neuro-inflammation in mice exposed to chronic unpredictable mild stress. *Int. Immunopharm.* 45, 128–134. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.02.007>.
- **Lewinska D, Palus J, Stepnik M, Dziubaltowska E, Beck J, Rydzynski K, Natarajan AT and Nilsson R (2007)**. Micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes and buccal mucosa cells of copper smelter workers, with special regard to arsenic exposure. *Int Arch Occup Environ Health* 80:371-38.
- **Liang CH, Chou TH, Ding HY (2010)**. Inhibition of melanogenesis by a novel organoside from *Origanum vulgare*. *J. Dermatol. Sci.* 57 :170–177.

Références

- **Liman R. (2020).** Cytotoxic and genotoxic effects of 4-methylimidazole on *Allium cepa* root tips, *Research Journal of Biotechnology*, Vol. 15 (5) Res. J. Biotech.
- **Lin YL, Wang CN, Shiao YJ, Liu TY, Wang W Y (2003).** Benzolignanoid and polyphenols from *Origanum vulgare*. *J. Chin. Chem. Soc.* 50 :1079–1083.
- **Loi, M.C., Maxia, L., Maxia, A., 2005.** Ethnobotanical comparison between the villages of escolca and lotzorai (sardinia, Italy). *J. Herbs, Spices, Med. Plants* 11, 67–84.
- **Lubini, G., Fachinetto, J.M, Laughinghouse IV, H.D., Paranhos, J.T., Silva, A.C.F. & Tedesco, S.B. (2008).** Extracts affecting mitotic division in root-tip meristematic cells, *Biologia*, 63, pp. 647-651.

M

- **Madani, S., Djamel, S., Noui, H., Boudjelal, A., 2012.** Ethnobotanical study of therapeutic plants used to treat arterial hypertension in the Hodna region of Algeria. *Glob. J. Res. Med. Plants Indig. Med.* 1 (9), 411.
- **Maki-Paakkanen J (1987).** Chromosome aberrations, micronuclei and sister-chromatid exchanges in blood lymphocytes after occupational exposure to low levels of styrene. *Mutat Res* 189:399-406.
- **Maron DM and Ames BN (1983).** Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res* 113:173-215.
- **Marshall, A., 1997.** Getting the right drug into the right patient. *Nat. Biotechnol.* 15, 1249–1252.
- **Mateuca R, Lombaert N, Aka PV, Decordier I and Kirsch-Volders M (2006).** Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie* 88:1515-1531.
- **Maza C. (2014).** *Évaluation in vitro de l'activité antia-amylase et antilipase de l'extrait d'Origanum glandulosum Desf.* Bejaia : Université Abderrahmane Mira de Bejaia.
- **Mielynska D, Braszcynska Z, Siwinska E, Smolik E, Bubak A and Sokal JA (1997).** Exposure of coke-ovenworkers to polycyclic aromatic hydrocarbons based on biological monitoring results. *Am Ind Hyg Assoc J* 58:661-666.

Références

- **Moorhead, P.S., Nowell, P.C., Mellman, W.J., Battips, D.M., Hungerford, D.A., 1960.** Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 20, 613-616.
- **Mossa, A.-T.H., Refaie, A.A., Ramadan, A., Bouajila, J., 2013.** Amelioration of prallethrin-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rat by the administration of *Origanum majorana* essential oil. *BioMed Res. Int.* 2013.

N

- **Nakatani N, Kikuzaki H (1987).** A new antioxidative glucoside isolated from oregano (*Origanum vulgare* L.). *Agric. Biol. Chem.* 51 :2727–2732.
- **Narod SA, Neri L, Risch HA and Raman S (1988).** Lymphocyte micronuclei and sister chromatid exchanges among Canadian federal laboratory employees. *Am J Ind Med* 14:449-456.
- **Norppa H, Bonassi S, Hansteen IL, Hagmar L, Stromberg U, Rossner P, Boffetta P, Lindholm C, Gundy S, Lazutka J, Cebulska-Wasilewska A, Fabianova E, Sram RJ, Knudsen LE, Barale R and Fucic A (2006).** Chromosomal aberrations and SCEs as biomarkers of cancer risk. *Mutat Res* 600:37-45.

O

- **Ouelbani, R., Bensari, S., Mouas, T.N., Khelifi, D., 2016.** Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). *J. Ethnopharmacol.* 194, 196–218.
- **Orphanides, G., Pennie, W. D., Moffat, G. J., and Kimber, I. (2001).** Toxicogenomics : Theoretical and practical considerations. *Comm. Tox.* 7, 333–346.
- **Ostling O and Johanson KJ (1984).** Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun* 123:291-298.
- **Özgökçe, F., Özçelik, H., 2004.** Ethnobotanical aspects of some taxa in East Anatolia, Turkey. *Econ. Bot.* 58, 697.

P

- **Penalva, R., González-Navarro, C.J., Gamazo, C., Esparza, I., Irache, J.M., 2017.** Zein nanoparticles for oral delivery of quercetin : pharmacokinetic studies and preventive anti-inflammatory effects in a mouse model of endotoxemia. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 13, 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.08.033>.
- **Pennie, W. D., Tugwood, J. D., Oliver, G. J. A., and Kimber, I. (2000).** The principles and practice of toxicogenomics : Applications and opportunities. *Toxicol. Sci.* 54, 277–283.
- **Pimple, B.P., Kadam, P.V., Patil, M.J., 2012.** Ulcer healing properties of different extracts of *Origanum majorana* in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Asian Pacific journal of tropical disease* 2, 312–318.
- **Prerna, Vasudeva, N., 2015.** *Asian Pacific J. Trop. Dis.* 6(4) [December 2015]. *Origanum majorana* L. -Phyto-pharmacological review. *IJNPR* 6 (4) [December 2015].
- **Puertas MM, Hille BS, Stashenko E, Winterhalter P (2002).** In vitro Radical Scavenging Activity of Essential Oils from Columbian Plants and Fractions from *Oregano* (*Origanum vulgare* L.) Essential Oil. *Flavor Frag. J.* 17 :380–384.

Q

- **Qari, S.H., 2008.** In vitro evaluation of the anti-mutagenic effect of *Origanum majorana* extract on the meristematic root cells of *Vicia faba*. *J. Taibah Univ. Sci.* 1, 6–10. [https://doi.org/10.1016/S1658-3655\(12\)60028-4](https://doi.org/10.1016/S1658-3655(12)60028-4).
- **QUEZEL, P. et SANTA, S., (1962-1963).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques. Tome 2, CNRS, Paris. 1170 pages. Thèse de doctorat en biologie végétale, Université Ferhat Abbas - Setif, pp 7.

R

- **Ranjitkar HD. 2003.** A Handbook of Practical Botany. Arun Kumar Ranjitkar: Kathmandu.
- **Rapp A, Hausmann M and Greulich KO (2005).** The comet-FISH technique: a tool for detection of specific DNA damage and repair. *Methods Mol Biol* 291:107-119.
- **Rhattas, M., Douira, A., Zidane, L., 2016.** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Parc National de Talassemtane (Rif Occidental du Maroc). *J. Appl. Biosci.* 97, 9187–9211.
- **Ribeiro, L.R., Salvadori, D.M.F., Marques, E.K., 2003.** Mutage. *Amb. ULBRA, Canoas-RS.*
- **Roses, A.D., 2000.** Pharmacogenetics and the practice of medicine. *Nature* 405, 857–865.

S

- **Salaheddine, S., Zohra, B., Cheikh, I.C., Asma, L., 2013.** Study of the toxicity of essential oils of *Origanum majorana* on *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella* (stored product insects). *Tunis. J. Med. Plants Nat. Prod* 9, 29–34.
- **Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., Douira, A., 2010.** Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa* 31, 133.
- **Smith CJ, Bombick DW, Ryan BA, Morgan WT and Doolittle DJ (2000).** Urinary mutagenicity in nonsmokers following exposure to fresh diluted sidestream cigarette smoke. *Mutat Res* 470 :53-70.
- **Sargın, S.A., Akçicek, E., Selvi, S., 2013.** An ethnobotanical study of medicinal plants used by the local people of Alas,ehir (Manisa) in Turkey. *J. Ethnopharmacol.* 150, 860–874.
- **Sari M, Biondi DM, Kaabeche M, Mandalari G, Darrigo M, Bisignano G, Saija A, Daquino C, Ruberto G (2006).** Chemical Composition, Antimicrobial and AntioxidantActivities of the Essential Oil of Several Populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour Frag. J.* 21 :890–898.

Références

- **Schmidt, E., Bail, S., Buchbauer, G., Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Jirovetz, L., 2008.** Chemical composition, olfactory evaluation and antioxidant effects of the essential oil of *Origanum majorana* L. from Albania. Natural Product Communications 3, 1934578X0800300704.
- **Scott, H.S., Ashton, L.J., Eyre, H.J., Baker, E., Brooks, D.A., Callen, D.F., Sutherland, G.R., Morris, C.P., Hopwood, J.J., 1990.** Chromosomal localization of the human alpha-L-iduronidase gene (IDUA) to 4p16.3. Am J Hum Genet 47, 802-807.
- **Sefeer, K.P., Elumalai, K., 2018.** Larvicidal activity of plant oil, *Origanum majorana* L. against the selected mosquito larvae and GC-MS analysis of its phytochemical compounds. Ann. Entomol. 36, 1–5, 2018a.
- **Senkardes, I., Tuzlaci, E., 2014.** Some ethnobotanical notes from gundogmus district (Antalya/Turkey). Clin. Exper. Health Sci. 4, 63.
- **Seoudi, D.M., Medhat, A.M., Hewedi, I.H., Osman, S.A., Mohamed, M.K., Arbid, M.S., 2009.** Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic, and anti-pyretic effects of *Origanum majorana* ethanolic extract in experimental animals. J. Radiat. Res. Appl. Sci. 2, 513–534.
- **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.
- **Siddique, Y.H., Ara, G., Beg, T., Faisal, M., Ahmad, M., Afzal, M., 2008.** Antigenotoxic role of *Centella asiatica* L. extract against cyproterone acetate induced genotoxic damage in cultured human lymphocytes. Toxicology in Vitro 22, 10-17.
- **Silva FV,Guimaraes AG,Silva ER,Sousa-Neto BP,Machado FD,Quintans-Júnior LJ,Arcanjo DD,Oliveira FA,Oliveira RC(2012).**Anti-inflammatory and anti-ulcer activities of carvacrol, a monoterpene present in the essential oil of oregano. J. Med. Food.15(11) :984-991.
- **Singh, N.P., McCoy, M.T., Tice, R.R., Schneider, E.L., 1988.** A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. Exp Cell Res 175, 184-191.

Références

- **Sivropoulou A, Papanikolaou E, Nikolaou C, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M, (1996).** Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Origanum Essential Oil. *J. Agric. Food Chem.* 44 :1202–1205.
- **Skaltsa H, Chatzopoulou A, Karioti A, Gousiadou C, Vivancos VL, Kyriazopoulos P, Golegou S (2010).** Depsides and other polar constituents from *Origanum dictamnus* L. and their in vitro antimicrobial activity in clinical strains. *J. Agric. Food Chem.* 58 :6064–6068.
- **Skoula, M., Harborne, J.B., (2002).** The taxonomy and chemistry of *Origanum*. In: Kintzios (Ed.), S.E. (Ed.), *Oregano, the genera Origanum and Lippia – Medicinal and Aromatic Plants Series – Industrial Profiles*, vol. 25. Taylor & Francis, London, pp. 67–108.
- **Sokovic M, Tzakou O, Pitarokili D, Couladis M (2002).** Antifungal Activities of selected Aromatic Plants Growing Wild in Greece. *Nahrung / Food* 46 :317-320.
- **Soliman, A.M., Desouky, S., Marzouk, M., Sayed, A.A., 2016.** *Origanum majorana* attenuates nephrotoxicity of cisplatin anticancer drug through ameliorating oxidative stress. *Nutrients* 8, 264.
- **Sousa, S.M., Silva, P.S., Viccini, L.F., 2010.** Cytogenotoxicity of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (lemon grass) aqueous extracts in vegetal test systems. *An. Acad. Bras. Ciênc* 82, 305-311.
- **Sram RJ and Binkova B (2000).** Molecular epidemiology studies on occupational and environmental exposure to mutagens and carcinogens, 1997-1999. *Environ Health Perspect* 108 Suppl 1 :57-70.
- **Sticher O. (1977).** Plant mono, di and sesquiterpenoids with pharmacological or therapeutical activity, Wagner H, Wolff P (eds), *New Natural Products and Plant Drugs with pharmacological, biological or therapeutic activity*, Springer, Berlin: 137-176.

T

- **Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z.H., Lyoussi, B., 2007.** Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *J. Ethnopharmacol.* 110, 105–117.

Références

- **Tahri, N., El-Basti, A., Zidane, L., Rochdi, A., Douira, A., 2012.** Ethnobotanical study of medicinal plants in the province of Settat (Morocco). *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi* 12, 192–208.
- **Tarantini A. (2009).** Modulation de la génotoxicité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélanges, *Life Sciences, Université Joseph-Fourier-Grenoble I*, 175p.
- **Teschke K, Hertzman C, Van Netten C, Lee E, Morrison B, Cornista A, Lau G and Hundal A (1989).** Potential exposure of cooks to airborne mutagens and carcinogens. *Environ Res* 50:296-308.
- **Tripathy, B., Satyanarayana, S., Khan, K.A., Raja, K., Tripathy, S., 2018.** Evaluation of antihyperglycemic activity of ethanol leaf extract of *Origanum majorana* and *vitex negundo* on streptozotocin induced diabetic rats. *Eur. J. Biomed.* 5, 822–828.

U

- **Ulrich, R., and Friend, S. H. (2002).** Toxicogenomics and drug discovery: Will new technologies help us produce better drugs? *Nat. Rev. Drug Disc.* 1, 84–88
- **Uysal, İ., Onar, S., Karabacak, E., Çelik, S., 2010.** Ethnobotanical aspects of *kapıdağ Peninsula* (Turkey). *Biol. Divers. Conserv.* 3, 15–22.

V

- **Vasudeva, N., Prerna, S., Sneha Das, S.K., 2014.** Anticancer and antioxidant activity of stem and root of *Origanum majorana* Linn. *Am. J. Drug Dis. Devel.* 4, 102–112.
- **Verschaeve, L., Van Staden, J., 2008.** Mutagenic and antimutagenic properties of extracts from South African traditional medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 119, 575-587.
- **Vodicka P, Stetina R, Koskinen M, Soucek P, Vodickova L, Hlavac P, Kuricova M, Necasova R and Hemminki K (2002).** New aspects in the biomonitoring of occupational exposure to styrene. *Int Arch Occup Environ Health* 75 Suppl:S75-85.

W

- **Waller, S.B., Cleff, M.B., de Mattos, C.B., da Silva, C.C., Giordani, C., Dalla Lana, D.F., Fuentefria, A.M., Freitag, R.A., Viegas Sallis, E.S., de Mello, J.R.B., 2019.** In vivo protection of the marjoram (*Origanum majorana* Linn.) essential oil in the cutaneous sporotrichosis by *Sporothrix brasiliensis*. *Nat. Prod. Res.* 1–5.
- **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.
- **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.

Z

- **Zougagh, S., Belghiti, A., Rochd, T., Zerdani, I., Mouslim, J., 2019.** Medicinal and aromatic plants used in traditional treatment of the Oral pathology : the Ethnobotanical survey in the economic capital Casablanca, Morocco (North Africa). *Nat. Prod. Bioprospecting* 9, 35–48.

(1) <https://sites.google.com/site/agardenofhealingherbs/sweet-marjoram-origanum-majorana>

(2) https://www.brainkart.com/article/Botanical-description-of-Allium-cepa_32996/

(3) <https://www.aquaportail.com/taxonomie-famille-97-lamiaceae.html>

(4) <https://www.botanique.org/description-botanique-lamiaceae-article24366/>

(5) <https://www.docteurlic.com/maladie/syndrome-de-turner.aspx#p1>