

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



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Thème : Etude del'effet cytotoxique et génotoxique de l'extrait
Méthanolique de la marjolaine par le test

Allium Cepa

Présenté par :

- **Atamenia Nesslerine**
- **Naassa Ghaliya**

Devant le jury

Président(e) : Dr. cherairia.M	M.C.A	Université de Guelma
Examineur : Dr.Boumaaza. A	M.C.B	Université de Guelma
Encadreur : Dr. Ayed.H	M.C.B	Université de Guelma

Juin 2024

Remerciements

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

Nous tenons à remercier sincèrement notre encadrante **Dr.Ayed. Hayette**, pour sa disponibilité ainsi que ses conseils judicieux, ses orientations et ses encouragements durant toute la période de réalisation de ce travail.

Nous remercions chaleureusement à **Madame cherairia M**, pour avoir accepté la présidence du jury de la défense pour cette mémoire, Grand et respectueux remerciement pour vos conseils ainsi que vos précieuses discussions

Nos vifs remerciements vont à **Mme Boumaaza Awatif**, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

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

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

Merci

Résumé :

La marjolaine est une plante médicinale de la famille des lamiacées, qui a de nombreux usages pour le traitement de diverses maladies. Cette étude se focalise sur l'effet cytotoxique et génotoxique de l'extrait méthanolique de cette plante et ce par le test *Allium cepa*, où l'eau artificielle et l'azide de sodium ont été utilisés comme témoins. L'élongation des racines a été étudiée par la détermination de l'EC50. Les résultats obtenus montrent que le traitement des bulbes pendant 48 heures avec les différentes concentrations de l'extrait de la marjolaine a entraîné une diminution de la croissance de la longueur des racines, d'autre part, il a affecté le pourcentage des stades mitotiques par rapport au groupe témoin. Les anomalies rencontrées étaient de type : bridge et multi bridge, C mitose, cellules bloquées en interphase, présence de cellules binucléées et cellules à noyaux allongés ainsi que la fragmentation du nucléole. En conclusion, il est nécessaire de prendre en compte l'effet cytotoxique de cette plante lors de son utilisation comme plante thérapeutique.

Mots-clés : Marjolaine, oignon, génotoxicité, cytotoxicité, aberration chromosomique et index mitotique.



Abstract :

Marjoram is a medicinal plant of the Lamiaceae family, with many beneficial uses in the treatment of various diseases. This study focuses on the cytotoxic and genotoxic effect of the methanolic extract of this plant using the *Allium cepa* test, where artificial water and sodium azide were used as control. Root elongation was studied by EC50 determination. The results obtained show that treatment of bulbs for 48 hours with the different concentrations of marjoram extract resulted in a decrease in root length growth, on the other hand, it affected the percentage of mitotic stages compared with the control group, the anomalies encountered were: bridge and multibrige formation, C mitosis , cells blocked in interphase and the presence of binucleated cells and cells with elongated nuclei, as well as nucleolus fragmentation. In conclusion, it is necessary to take into account the cytotoxic effect of this plant when using it as a therapeutic herb.

Key words: Marjoram, onion, genotoxicity, cytotoxicity, chromosomal aberration and mitotic index.

الملخص

البردقوش هو نبات طبي من عائلة *lamiacée*، وله استخدامات كثيرة ومفيدة على الصحة في علاج أمراض مختلفة. تركز هذه الدراسة على التأثير السمي الخلوي والسمي الوراثي للمستخلص الميثانولي لهذا النبات باستخدام اختبار *Allium cepa*، حيث تم استخدام ماء اصطناعي كعنصر وأزيد الصوديوم كعنصر تحكم، تم دراسة استطالة الجذر عن طريق تحديد (EC50). أظهرت النتائج المتحصل أن معاملة الأبصال لمدة 48 ساعة بتركيز مختلفة من مستخلص البردقوش أدت إلى انخفاض في نمو طول الجذور، من ناحية أخرى أثرت على نسبة المراحل الانقسامية مقارنة مع مجموعة التحكم. كانت الحالات الشاذة التي تمت مواجهتها هي تكوين الجسور والطور س والطور الانفصالي س والخلايا المحظورة في الطور البيئي ووجود خلايا ثنائية النواة وخلايا ذات نوى ممدودة بالإضافة إلى تجزئة النواة. في الختام من الضروري مراعاة التأثير السام للخلايا لهذا النبات أثناء استخدامه كنبات علاجي.

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

Sommaire

Liste des Abréviations

Liste des Tableaux

Liste de Figures

Introduction	15
Partie 01 : Synthèse bibliographie	17
Chapitre 01: Généralités Sur Les Plantes Médicinales.....	18
1.Plantes médicinales.....	19
1.1. Principes actifs des plantes médicinales	19
1.1.1. Eléments actifs des plantes.....	19
1.2. Modes de préparation des plantes pour la phytothérapie	20
1.2.1. Modes de préparation des PM.....	21
1.2.2. Voies d'administration des PM.....	21
1.3. Utilisations des plantes médicinales.....	21
1.4. Toxicité de la plante médicinale	21
1.4.1. Toxique	21
1.4.2. Plantes toxiques.....	21
1.4.3. Causes de phytotoxicité	22
Chapitre 02 : Généralités sur <i>Origanum Majorana</i>	23
2.Etude botanique	24
2.1. Description botanique.....	24
2.1.2. Taxonomie.....	25
2.1. 3.Aire géographique du genre <i>Origanum</i>	26
2.4. Composition chimiques.....	27
2.5. Principes actifs d' <i>Origanum majorana</i>	28

2.6. Propriétés thérapeutiques <i>d'Origanum majorana</i>	28
Chapitre 03 : Génotoxicité	29
3.1. Définition.....	31
3.2. Teste de génotoxicité.....	31
3.2.1. Teste d'Ames	31
3.2.2 teste des comètes	33
3.3. Teste de cytogénétique	34
3.3.1 teste des Aberration chromosomique.....	34
3.3.2. Teste de micronoyaux (MN).....	35
3.3.3. Teste <i>Allium cepa</i>	36
3.4. Cycle cellulaire	37
3.4.1. Phase des cycles cellulaire	37
3.4.1.1. Interphase.....	38
3.4.1.2. Mitose.....	38
Partie 02 : Travail expérimental	43
Chapitre 01 : Matériel et Méthodes d'Analyse.....	44
Matériels et méthodes d'analyses.....	45
1. Matériel biologique.....	45
2. Méthode d'analyse	45
2.1. Condition expérimentale.....	45
2.2 Teste <i>Allium cepa</i>	45
2.3. Teste d'inhibition de l'élongation racinaire et la(CE50.)	45
2.4. Teste de génotoxicité	46
2.4.1. Analyse de l'indice mitotique (IM), des phase mitotique(PM)et des aberrations.....	46
Chromosomique	46

Chapitre 02 : Résultats et discussion.....	47
1. Résultats et discussion.....	48
2. Teste l'inhibition de l'élongation racinaire	49
3. Evaluation de la génotoxicité	50
Conclusion.....	55
Annexe	56
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	62

Liste d'abréviations

OM : *Origanum majorana*.

PAM : plant aromatique et médicinale.

AC : Aberrations Chromosomiques

P : Prophase

M : Métaphase

A : Anaphase

T : Télaphase

MN : Micro Noyaux

IM : Index Mitotique

DTNB : Acide 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque) ou reactif d'Ellman.

SPB : sodium de phosphate buffer.

PBS : tampon phosphate salin.

GSH : des glutathion réduit.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

MDA : malondialdéhyde.

NaCl : chlorure de sodium.

TBA : acide thiobarbiturique.

TCA : acide trichloroacétique.

H₂So₄ : Acide Sulfurique.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

Liste de tableau

Tableau 1 :Classifications taxonomiques d'*Origanum majorana* 25-26

Tableau 2 : Eléments nutritionnels présents dans *O. Majorana* 28

Tableau 3 : Effet de l'extrait d'OM sur l'élongation racinaire..... 48

Tableau 4 :Effets del'extrait sur les phases mitotiques (PM) et l'index mitotique (IM) des cellules méristématique racinaires d'*Allium cepa*..... 49

Liste de figure

Figure 1 : Partie aériennes d' <i>Origanum majorana</i> L.	25
Figure 2 : Aire de distribution du genre <i>Origanum</i>	26
Figure 3 : représente la relation dose-réponse d'une substance génotoxique par le test d'ames.....	32
Figure 4 : Observations des noyaux par les tests des comètes.	34
Figure 5 : Schéma de formation des micronoyaux	35
Figure 6 : différentes phases du cycle cellulaire	37
Figure 7 : Représentation schématique d'une cellule en prophase	39
Figure 8 : Représentation schématique d'une cellule en métaphase	40
Figure 9 : Représentation schématique d'une cellule au début d'anaphase	40
Figure 10 : Représentation schématique d'une cellule en fin d'anaphase.....	41
Figure 11 : Représentation schématique d'une cellule en télophase.....	42

Introduction

Introduction

Pour des milliers d'années de l'histoire humaine, les plantes médicinales ont joué un rôle essentiel en tant que source de médicaments. De nos jours, elles sont encore aujourd'hui la fondation des pratiques systématiques de la médecine traditionnelle pendant plusieurs siècles à travers le monde. Total **(Pan et al., 2009)**. Selon **(Guinib-Fakim.,2006)**, l'utilisation thérapeutique des vertus exceptionnelles des plantes pour le traitement de toutes les maladies humaines est très ancienne et évolue au fil de l'histoire de l'humanité. Effectivement, on compte près de 500 000 espèces de plantes sur notre planète, dont 80 000 ont des vertus médicinales **(Benkhniq., 2011)**.

En Afrique, où de nombreuses populations continuent d'utiliser des médicaments à base de plantes pour des soins de santé, on connaissait empiriquement le pouvoir thérapeutique des plantes **(Koffi et al., 2009)**.

Les différentes espèces de la flore algérienne, qui appartiennent à plusieurs familles botaniques, sont encore peu étudiées tant sur le plan phytochimique que pharmacologique **(Merzoug, 2009)**. La plante possède des propriétés pharmacologiques exceptionnelles en raison de sa richesse en principes actifs, ce qui pourrait expliquer ses nombreuses indications thérapeutiques et son utilisation en traditionnelle **(Konkon et al., 2006)**.

Les métabolites secondaires ont été largement étudiés récemment, notamment dans les domaines de la phytothérapie et de l'hygiène alimentaire. En raison de leurs différentes caractéristiques biologiques : antioxydant, antimicrobiennes, hypoglycémiantes, anti-inflammatoires... etc. **(Leong et Shui., 2002)**.

De plus, ces métabolites peuvent présenter des avantages physiologiques dans la prévention des cancers et de nombreuses maladies chroniques, comme les maladies cardiovasculaires. **(Middleton et al., 2000 ; Raja et Sreenivasulu., 2015)**.

La valorisation de ces plantes demeure un domaine de grande importance pour le pays. **(Amroune., 2018)**.

Origanum Majorana (connue sous le nom de Sahtar ou Zaatar en médecine traditionnelle) actuellement nommée marjolaine douce est une plante médicinale de la famille des Lamiacées, une plante herbacée vivace du



genre *Origanum*. Au port autoportant .C est une photoautotrophe. Cette plante est répartie autour des régions méditerranéennes notamment au Maroc, en Algérie, en Egypte, en Espagne et au Portugal (**Bouyahaa ,2020**).

La marjolaine était déjà bien connue des phytothérapeutes grecs, qui l'appréciaient pour ses vertus toniques, apéritives et fortifiantes, autant que pour aider à soulager les douleurs rhumatismales. Pline recommandait la marjolaine pour faciliter la digestion. Les Égyptiens, eux, s'en servaient pour embaumer leurs morts(**FATHY et al., 2009**).

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 manuscrit est structuré de deux parties ; la première est une étude bibliographique Contenant des généralités sur *Origanum Majorana* et sur les plantes médicinales et un chapitre sur la génotoxicite. Le deuxième partie traite le matériel et les méthodes utilisées. Dans cette étude le dernier chapitre consacré par les résultats et leur discussion.



Partie 01 :
Synthèse bibliographie



Chapitre 01

Généralités Sur Les Plantes Médicinales



1. Plantes médicinales

Les plantes médicinales jouent un rôle essentiel dans le traitement de nombreuses maladies humaines à travers le monde depuis l'antiquité. La demande de remèdes naturels pour remplacer les médicaments thérapeutiques synthétiques et réduire au minimum est donc croissante. Leur toxicité et leurs effets secondaires n'ont cessé de croître (**Vuorelaa et al**). Au cours des 20 dernières années, plus de 25 % des médicaments ont été isolés directement des plantes, tandis que les 75 % restants sont obtenus à partir de leurs produits chimiques dérivés.

1.1. Principes actifs des plantes médicinales

Les composants naturels d'une plante médicinale, appelés principes actifs, sont utilisés à la fois en médecine traditionnelle et en phytothérapie. Ainsi, l'action des plantes médicinales est due à un ou plusieurs principes actifs que l'on peut identifier. Etudier chimiquement et qu'il est essentiel de saisir afin de saisir leur impact sur l'organisme. Les métabolites primaires et secondaires sont présents dans les plantes. Les métabolites secondaires jouent un rôle indirect dans la vie des plantes en contribuant à leur adaptation à leur environnement et à leur résistance aux chocs (lumière UV, insectes nocifs, variations de température...).

Les métabolites primaires jouent un rôle essentiel dans le développement et la croissance de la plante, ce qui lui confère son activité thérapeutique. Il y a des composés phénoliques, des terpènes, des stéroïdes et des composés. Les alcaloïdes sont des composés azotés. (**SEBAI M, BOUDALI M. 2012**).

1.1.1. Eléments actifs des plantes

- **Alcaloïdes**

Les composés chimiques contenant des substances organiques azotées basiques, souvent extrêmement toxiques, sont appelés renferment. (**Verdegrer, 1978**).

- **Tanins**

Ces extraits poly phénoliques provenant des plantes sont employés pour hydrater les peaux et sont réputés pour leurs propriétés antiseptiques, antibiotiques, astringentes et anti diarrhéiques. (**Schauenberget Paris, 1977**).

- **Principes Amers**

Il s'agit de substances naturelles végétales qui peuvent libérer de l'azote, avec une grande variété de saveurs et une action stimulante sur la production de suc gastrique, ce qui favorise la production de suc gastrique. La digestion est réputée pour ses propriétés de traitement des maladies hépatiques, rénale et l'anémie (**Khetouta, 1987**).

- **Glucosides**

Ils sont constitués de deux composants : un composant glucidique (Glycone) et un composant non glucidique (aglycone). Les glucosides cardioïdes, phénoliques et sudorifiques peuvent agir de manière sélective dans le corps humain, sur un ou plusieurs organes, afin de stocker les réserves nutritives en fonction de leur composition : les acides gras sulfurés, (Khetouta, 1987).

- **Huiles essentielles**

Selon la norme AFNOR NE 75-006, l'huile essentielle est définie. Dans le cas d'un produit fabriqué à partir d'une matière première végétale, que ce soit par l'utilisation d'une vapeur d'eau ou d'une hydro-distillation, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse grâce à des gestes physiques (AFN, 1986).

- **Mucilage**

Il s'agit toujours d'hétérosides. Il s'agit de molécules massives associées à des gommages qui sont de grandes concrétions de sucres. Ils se déposeront naturellement sur les tissus et agiront comme un protecteur.

- **Vitamines**

Les acides aminés indispensables, en petites quantités, pour la survie. Les vitamines sont des éléments qui ont une action limitée. Les vitamines peuvent être hydrosolubles ou liposolubles. La plupart des vitamines sont fournies par les plantes. Certains végétaux en sont riches (par exemple : le citron contient de la vitamine C ; le cresson contient des vitamines B1, B2, C, E).

- **Saponines**

L'appellation saponine provient du mot savon, qui désigne des terpènes glucidiques qui peuvent également être présents sous forme d'aglycone. Ils ont un goût amer et acre. (Hospikins, 2003).

- **Antiseptique végétaux**

Ces sont des composés antibiotiques générés par des plantes (Grunwald et Janicke., 2006)

1.2. Modes de préparation des plantes pour la phytothérapie

1.2.1. Modes de préparation des PM

La méthode de préparation d'un produit phytothérapeutique peut influencer la concentration du principe actif présent. Le moment et la saison de la récolte de la plante, ainsi que le type de sol dans lequel elle pousse, peuvent également impacter son efficacité. Habituellement, la préparation commence par le broyage des parties de la plante aux

propriétés médicinales, créant ainsi un macérat. Selon la plante et le processus utilisé, ce macérat peut être séché avant d'être broyé. Ensuite, le macérat est trempé dans un liquide pour extraire les principes actifs, ce liquide étant appelé solvant. Il existe plusieurs méthodes pour cette extraction, telles que les infusions, les décoctions, les teintures, les extraits et les cataplasmes (Taylor L. 2005).

1.2.2. Voies d'administration des PM

Les modes de préparation offrent plusieurs voies d'utilisation :

- **Voie orale** : la plus couramment utilisée.
- **Lotion** : application sur la peau ou les organes affectés.
- **Inhalation** : des vapeurs chaudes issues du liquide de préparation.
- **Bain ou lavement** (Taylor L. 2005).

1.3. Utilisations des plantes médicinales

Les plantes n'ont été utilisées dans la nature que sous forme de tisanes ou de poudres pendant longtemps. De nombreuses plantes médicinales sont désormais commercialisées sous forme de capsules, mais elles sont utilisées sous de multiples formes. Il est nécessaire de respecter des règles de bonnes pratiques pharmaceutiques pour ces préparations, telles que le nombre de plantes, les associations possibles, les saveurs, et même le goût du client. Il est important de souligner que de nombreuses plantes ne sont employées que dans le domaine de l'homéopathie. Il en est de même pour la souche d'arum à trois feuilles de la famille des Araceae ou pour la souche d'arum à trois feuilles du radis indien. Il est employé sous forme diluée pour soigner les maladies respiratoires et les tensions vocales (Beauquesne, 1986).

1.4. Toxicité de la plante médicinale

1.4.1. Toxique

L'une des substances hétérogènes à l'organisme est une toxine (du grec toxikon = poison). Il perturbe une corrélation dose-dépendante, Image médicale Les "syndromes toxiques" engendrés par les poisons sont des symptômes d'origine toxique, qui témoignent d'effets toxiques cinétiques (Génestal., 2009).

1.4.2. Plantes toxiques

Les substances toxiques pour les plantes Quand une plante est composée d'une ou de plusieurs substances, elle est toxique. Il est néfaste pour les êtres humains ou les animaux et son utilisation engendre des soucis. Plus ou moins sévère et même condamnative (Fournier, 2001).

Cette définition doit tenir compte des remarques suivantes :

- La plantation et la cueillette des plantes ont un impact sur la concentration du principe actif et donc sa toxicité.
- Une plante vénéneuse peut avoir l'ingrédient actif réparti dans toute la plante ou en priorité dans une ou plusieurs de ses parties : les racines, les baies ou les feuilles.

La notion de dose joue un rôle crucial ; certaines plantes utilisées dans le but de traiter peuvent représenter une menace pour la santé humaine à des doses élevées. Il s'agit de plantes médicinales telles que la sauge, l'armoise blanche, l'absinthe blanche et l'absinthe Artemisia, toutes trois étant extrêmement toxiques (**Royaume, 2016**).

1.4.3. Causes de phytotoxicité

La toxicité des plantes médicinales peut être expliquée par :

- **Toxicité inhérente aux ingrédients** : Les plantes médicinales se composent de combinaisons. Un mélange de différentes molécules. Ils sont composés de molécules connues pour leurs activités biologiques, telles que les hétéros glycosides, les alcaloïdes, les anthocyanes, les tanins et les stéroïdes. À l'instar de toutes les molécules biologiquement actives, ces composants peuvent être présents à des niveaux de toxicité spécifiques.
- **Intrinsèque** : La composition des produits végétaux présente une grande diversité. En outre, la composition de ces ingrédients diffèrera naturellement d'une formulation à l'autre.
- **L'identification imprécise des composants** : Lorsqu'un de ses composants, susceptible d'avoir des effets toxiques graves, n'est pas identifié ou mal identifié, une préparation à base de plantes peut devenir toxique.
- **Altéré** : La toxicité peut aussi être associée à la présence de composés modifiés. Les produits chimiques à base de plantes, que ce soit des plantes ou des produits chimiques médicinaux, sont des préparations chimiques (**Zekkour, 2008**).
- **Contamination** : Les plantes médicinales peuvent être contaminées par des substances toxiques, comme les pesticides et les métaux lourds, ainsi que par des pollens, des champignons microscopiques et des moisissures qui peuvent provoquer des réactions allergiques et/ou toxiques (**Zekkour, 2008**).

Chapitre 02

Origanum Majorana

2. Etude botanique

Origanum provient de « Oros » qui signifie « montagne » et « ganos » qui signifie « briller », ce qui pourrait être traduit par « ornement des montagnes ». Le mot « Origan » a été introduit en français au 13^{ème} siècle, avec des origines européennes (*Origanum* sp.) et mexicaines (*Lippiasp.*). Origan porte le nom de, Il est fréquemment employé à travers le monde pour désigner un parfum et une saveur épicés (**Balahbib et al ; 2021**).

La marjolaine douce, également appelée *Origanum Majorana* (en médecine traditionnelle Sahtar ou Zaatar), est une plante médicinale de la famille des Lamiacées, un genre herbacé vivace du genre *Origanum*. Le port autonome. Il s'agit d'une, photoautotrophe. Selon (**Bouyahaa ,2020**), cette plante est répandue dans les régions méditerranéennes, y compris au Maroc, en Algérie, en Égypte, en Espagne et au Portugal.

2.1. Description botanique

Les feuilles d'*Origanum Majoranas* ont ovales, petites, tendres et velues, et elles sont assez ramifiées. Ses petites fleurs, blanches ou rosées, sont regroupées en corymbes, son parfum est si fort qu'il suffit de manipuler la main. Sur une touffe afin de diffuser une odeur agréable à travers la région (**Bia S, 2019**). Dans la nature, les fleurs de cette plante sont hermaphrodites, avec les deux sexes sur la même plante. Les graines sont de petite taille, ovales, sombres et brunes et elles sont mûres d'août à septembre. Les racines l'*origanum majorana* sont pivotantes. Elles mesurent de 0,2 mm à 0,6 mm de diamètre. La plante présente des racines sub-cylindriques plissées longitudinalement avec des fissures transversales. Elle dégage une fragrance aromatique et un goût instable. Les fractures se produisent. Les cheveux sont longs, irréguliers et fibreux (**Muqaddas., 2016**).



Figure 01 : Partie aériennes d'*Origanum majorana* L. (Prerna et vasudeva, 2015).

2.1.2. Taxonomie

Origanum est un genre de plantes de la famille des *Lamiaceae* et de la sous-famille des *Nepetoideae*. Le Dr JHLetswaart a complètement modifié le point de vue taxonomique en 1980 (Balahbib et al ; 2021).

Tableau 01 : classifications taxonomiques d'*Origanum majorana*

Régne	Plantes
Sous- règne :	Chlorobiontes
Infra-règne :	Streptophytes
Super division :	Embryophyte
Division :	Trachéophytes
Sous-division	Spermatophytines
Classe :	Dicotylédones
Sous-classe :	Astéridées

Ordre	Lamiales
Famille :	Lamiacées
Sous-famille :	Népétoïdées
Tribu :	Mentheae
Genre :	<i>Origanum</i> L.
Espèce :	<i>majorana</i>

2.1. 3.Aire géographique du genre *Origanum*

- **Dans le monde**

D'après Ietswaart, les membres du genre *Origanum* sont principalement répartis dans la région méditerranéenne, avec plus de 81 % se trouvant exclusivement dans la région est méditerranéenne. Bien que la distribution soit la plus importante, il est possible de trouver des cultures en cube ou à la réunion (Bia, 2019).

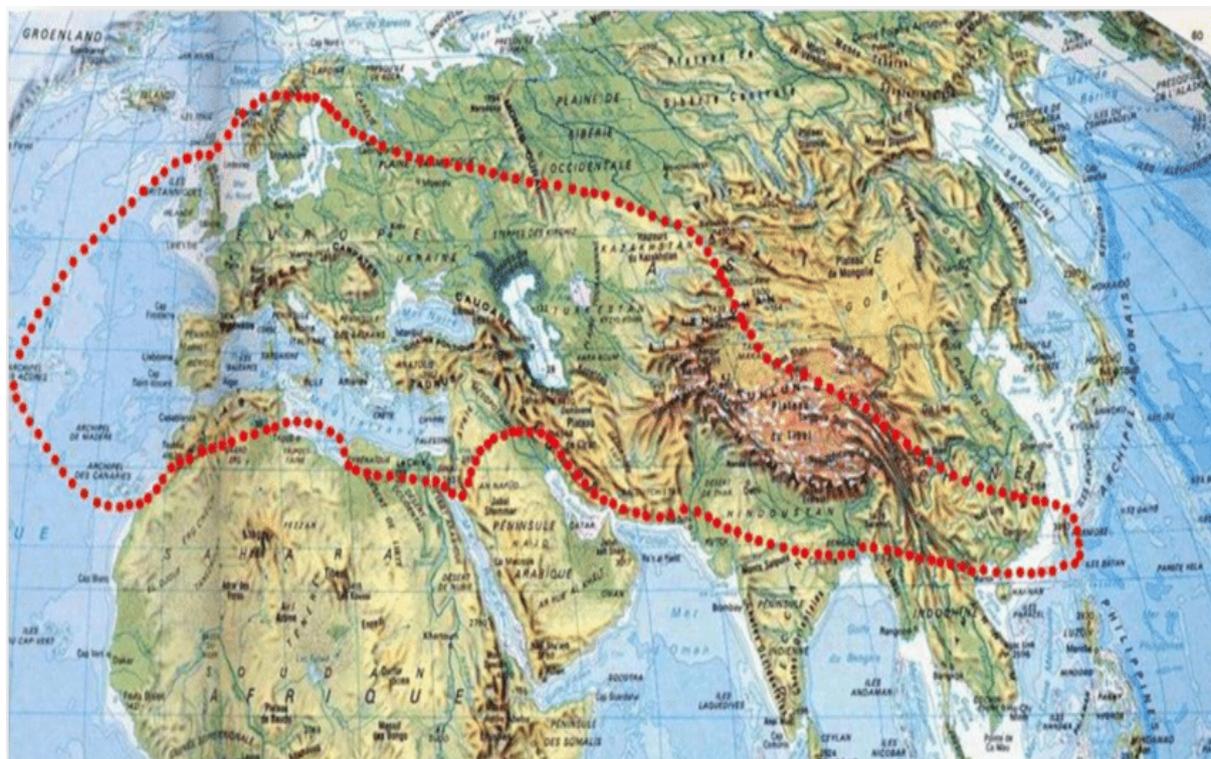


Figure 2 : Aire de distribution du genre *Origanum* (ZENSANI L, 2014).

- **En Algérie**

La richesse des plantes médicinales en Algérie est reconnue en raison de sa superficie et de sa diversité bioclimatique. La famille des Lamiacées, connue sous le nom d'Origanum, regroupe différentes espèces botaniques réparties sur tout le littoral, y compris dans les régions internes et les zones arides. En Algérie, on trouve de nombreuses espèces qui ne sont pas facilement identifiables en raison de leur diversité et de leur tendance à s'hybrider facilement. Trois espèces spontanées sont représentées de manière phylogénétique :

Endémique algéro-tunisienne, l'*Origanum majorana* et l'*Origanum vulgare* sont présents. Origine de l'*Origanum floribundum* en Algérie (Bia, 2019).

2.4. Principes actifs d'*Origanum majorana*

Une quantité importante d'antioxydants est présente dans l'organisme, ce qui permet de préserver le corps des effets néfastes de certains radicaux libres. Effectivement, elle serait composée de composés phénoliques (acides phénoliques), tels que l'acide rosmarinique, les flavonoïdes, l'épigénine, la lutéoline et l'acide carnosique (CHIKHOUNE., 2007).

La marjolaine renfermerait aussi plusieurs vitamines, dont la vitamine K, vitale pour la synthèse des protéines, la coagulation sanguine et la formation des os ; le fer, essentiel pour le transport de l'oxygène dans le sang et la formation des globules rouges ; le calcium, qui favorise la formation et la solidité des os, le maintien de la pression sanguine et la contraction des muscles. De plus, la marjolaine constituerait une importante source de manganèse, qui jouerait un rôle dans divers processus métaboliques et protégerait contre les radicaux libres. Enfin, il serait possible que la marjolaine contienne de la vitamine E, ce qui permettrait de préserver la membrane entourant les cellules (SCHAAL., 2010).

L'huile essentielle de la marjolaine est également constituée de camphre, d'esters, de bornéol, de sabinène et de terpène. Elle pourrait contribuer à la lutte contre certaines bactéries, à calmer le système nerveux, à élargir les artères, à améliorer leur tonicité et à surmonter certaines formes de spasmes (SCHAAL., 2010).

Tableau 02 : Eléments nutritionnels présents dans *O. Majorana* (Tripathy et al, 2017).

Les denrées alimentaires et les microéléments	Les valeurs nutritionnelles pour majorana
Energie	271cal
Glucides	60,56g
matières grasses totales	7,04g
Cholestérol	0mg
Fibres alimentaires	40,3g
vitamines	
Acide pantothénique	0,209mg
vitamine A	8058UI
vitamine K	621.7µg
vitamine C	51.4mg
vitamine E	1,69mg
Les Électrolytes	
Sodium	77 mg
Potassium	1522 mg
Les Minéraux	
Calcium	1990 mg
Fer	82,71 mg
Zinc	3,60 mg
Les Phytonutriments	
carotène-β	4806 µg
cryptoxanthine-β	1895 µg.

2.5. Propriétés thérapeutiques d'Organum majorana

La marjolaine serait connue pour ses propriétés apaisantes, en particulier lorsqu'on est confronté à une excitation psychique et à une excitation nerveuse. Elle contribuerait à diminuer les conséquences du stress. En ce qui concerne le système digestif, la plante jouerait un rôle dans la stimulation de l'appétit et la régulation de certains problèmes digestifs. De plus, la marjolaine pourrait avoir des effets anaphrodisiaques (AGRIMER. 2012).

Ses propriétés médicinales

- Relaxe les maux musculaires, articulaires, les crampes, les courbatures et les épisodes menstruels Douloureuses.
- Un remède pour le système nerveux.
- Nerfs, dépression, anxiété, troubles du sommeil et migraines.
- Des problèmes digestifs, des spasmes intestinaux, des flatulences, des ballonnements, des diarrhées, des nausées et une stimulation de l'appétit.
- Régule la tension artérielle.
- Effectue un nettoyage des voies respiratoires (En inhalant).
- Un antiseptique efficace contre les aphtes, maux dentaires, la gingivite et autres Infections touchant la bouche.
- Apaise les inflammations et les douleurs musculaires.
- Soigne les blessures de surface.
- Des problèmes de respiration

Chapitre 03

Génotoxicité

3. Génotoxicité

3.1. Définition

La génotoxicité est la matière nucléaire, qu'elle provoque ou non de la mutation (Umbuzeiro et al., 2016)

Les génotoxiques sont des molécules qui présentent un effet toxique sur le génome, en particulier une capacité d'altérer le matériel génétique. Ces altérations peuvent être soit directes en induisant une modification de l'ADN (mutations géniques) ou des chromosomes (mutations chromosomiques), soit indirectes comme la modification de la structure des nucléotides avant incorporation dans l'ADN ou l'inhibition des enzymes de synthèse ou de réparation (ADN polymérase, ligases, topoisomérases, etc.) (Mutations génomiques).

3.2. Tests de génotoxicité

Un certain nombre des méthodes sont actuellement utilisées ou en cours d'évaluation. Il est utile de rappeler que pour qu'un test soit valable, il doit satisfaire aux conditions suivantes:

- Etre commode à réaliser et ne comporter aucun risque pour le sujet

- Fournir des résultats précis et reproductibles avec un minimum d'erreurs analytiques possibles
- Enfin, et surtout, l'information obtenue doit être quantitativement significative en termes de risques pour la santé d'un individu ou d'un groupe d'individus. (Boudalia et al., 2015)

3.2.1. Test d'Ames

Historique et principe du test

Le test de mutation inverse bactérienne a été développé au début des années 70 par Bruce Ames et son équipe, 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* (Flamand et al., 2001). Les souches utilisées sont porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine (histidine-dépendante). 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 (**Zeiger, 2013**). Plusieurs souches bactériennes de nature génétique différente peuvent être utilisées, notamment les souches TA97a, TA98, TA100, TA102, TA1535 et TA1537. (**Fardel et al., 2009**) Dans le test d'Ames, le métabolisme de l'organisme peut se mimer en mélangeant un homogénat de foie de rat (appelé fraction S9) avec les bactéries et les cofacteurs nécessaires. Un traitement préalable des rats par un inducteur (généralement l'Aroclor 1254 ou phénobarbital + β -naphthoflavone) assure la présence de tous les systèmes enzymatiques (Fardel et al., 2009 ; Pillco et Eduardo, 2014).

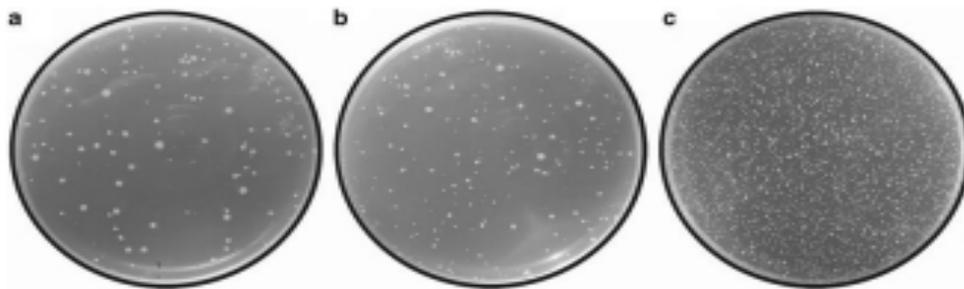


Figure 03 : représente la relation dose-réponse d'une substance génotoxique par le test d'ames (**Pillco et Eduardo, 2014**).

Les avantages et les inconvénients de test d'Ames

Avantage

- Il est moins cher par rapport à d'autres tests
- Il est moins susceptibles d'identifier faussement un non cancérigène comme un cancérigène (**Zeiger, 2013**)
- Permet d'obtenir des résultats dans un délai très court
- Permet de déterminer les métabolites génotoxiques (**Pillco et Eduardo, 2014**).
- Il est applicable à l'étude du pouvoir mutagène de produits chimiques ou de mélanges, mais aussi de fluides biologiques telles que les urines chez les sujets exposés (**Fardel et al., 2009**).

Inconvénients

- un test bactérien, pouvant rendre en théorie critiquable l'extrapolation à des cellules humaines
- Son utilisation pour la biosurveillance des sujets exposés ne témoigne cependant pas d'une génotoxicité (pas d'effet précoce génotoxique)(Fardel et al., 2009).

3.2.2. Test des comètes

Le test des comètes, ou Cometassay en anglais, encore appelé “single cellgel electrophoresisassay” (SCGE) ou “microgelelectrophoresisassay” (MGE) mesure les cassures de brin d'ADN dans des cellules individuelles (Rydberg et Johanson.1978). Furent les premiers à déterminer les dommages de l'ADN dans des cellules individuelles incluses dans un gel d'agarose et lysées dans des conditions légèrement alcalines permettant un déroulement partiel de l'ADN. Après neutralisation, les cellules étaient colorées à l'acridine orange et les dommages de l'ADN étaient quantifiés en mesurant le rapport de la fluorescence verte (indiquant l'ADN double brin) et de la fluorescence rouge (révélant l'ADN simple brin).(En 1984, Östling et Johanson)ont ajouté une étape à cette technique : après la lyse des cellules incluses dans un gel d'agarose, elles subissent une électrophorèse dans des conditions neutres et sont marquées à l'aide d'un colorant fluorescent : le bromure d'éthidium. Lors de l'électrophorèse, les molécules d'ADN étant chargées négativement, les fragments cassés ou relâchés vont davantage migrer vers l'anode et former ainsi une image ressemblant fortement à des comètes. Le test était alors baptisé, il restait à (Singh et al. 1988) à améliorer ce protocole, car les conditions de lyse étaient inefficaces pour enlever toutes les protéines. Des conditions de lyse plus rigoureuses induisant la perte de 95% des protéines cellulaires ont été obtenues en réalisant les étapes de lyse et d'électrophorèse en conditions fortement alcalines (pH > 12,3) qui facilitent ainsi la dénaturation, le déroulement de l'ADN et l'expression des cassures simple brin et des “lésions alcali-labiles” en plus des cassures double brin. Dans le domaine environnemental, le test des comètes a été appliqué avec succès à différents types d'organismes : plantes, vers, mollusques, poissons, amphibiens et mammifères. Nous ne détaillerons que les publications relatives à l'application de ce test aux plantes qui nous intéressent plus particulièrement, ayant déjà résumé les autres applications de ce test dans une revue (Cotelle, 1999). En outre, une revue de (Mitchelmore et Chipman ,1998). Consacrée uniquement aux organismes animaux aquatiques présente l'application de différentes méthodes d'analyse de la génotoxicité, dont le test des comètes.

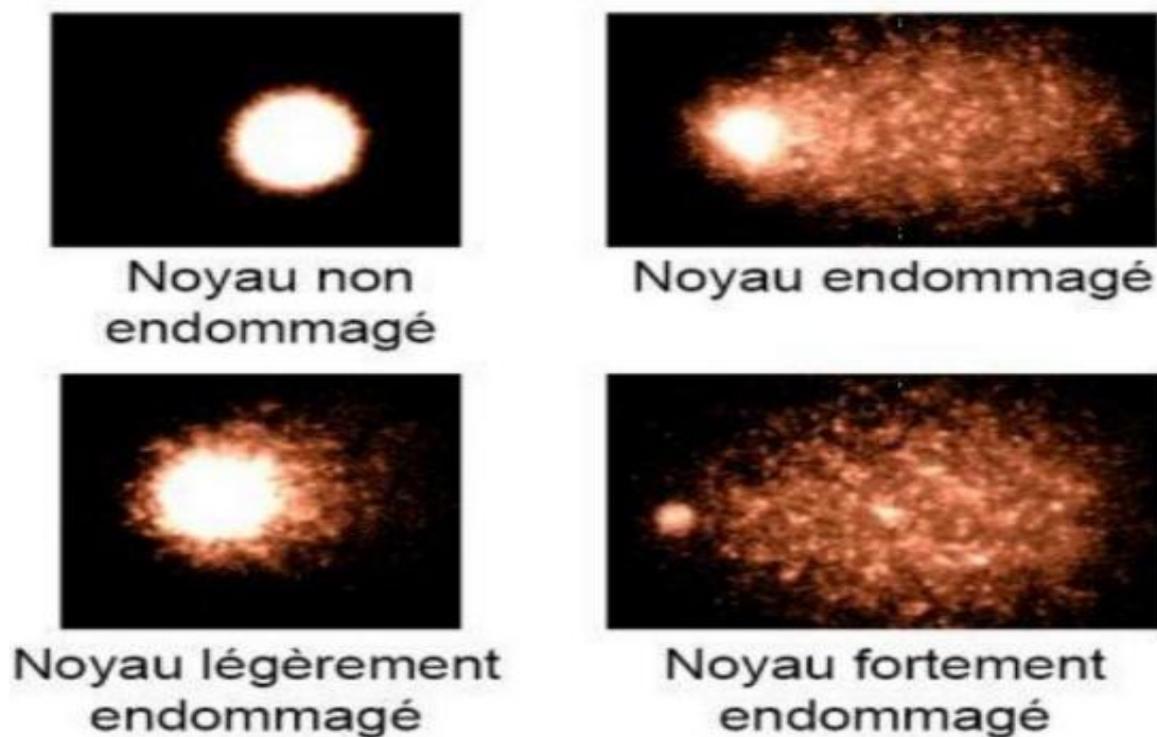


Figure 04: Observations des noyaux par les tests des comètes. (Lumière, 2014)

3.3. Tests cytogénétiques

Il s'agit de tests basés sur l'étude des dommages chromosomiques et/ou chromatidiennes entraînées par l'exposition aux génotoxiques (Muranli et al., 2015). Parmi les tests cytogénétiques les plus répandus dans les domaines pharmaceutiques sont les tests d'aberration chromosomique et micronoyau

3.3.1. Test des aberrations chromosomiques (AC)

Les aberrations chromosomiques (AC) sont caractérisées par des changements dans le nombre total de chromosomes ainsi qu'elles anomalies structurelles stables (il n'y a pas de perte/gain de matériel génétique) ou instables (fragments acentriques, dicentriques et cycliques) générées dans un ou plusieurs chromosomes. L'essai pour but d'évaluer la fréquence des AC stables et instables (Udroiu et Sgura, 2017); qui jouent un rôle dans l'étiologie des cancers et de

diverses maladies génétiques humaines. Les effets des agents peuvent être étudiés chez un animal entier « in vivo » (Amer et al., 2002) ou dans des cellules lymphocytes ou cellules de la lignée germinale en culture « in vitro » (Bonassi et al., 2008). La cellule ou l'animal est traité(e) avec la substance à tester puis incubé(e) avec un inhibiteur de métaphase (généralement la colchicine) (Turkez et al., 2014). La présence d'aberration est analysée à l'aide d'un microscope en suivant la procédure de coloration appropriée. Cette analyse n'est pas simple à réaliser car elle nécessite une connaissance précise des phases de division cellulaire et de leurs éventuelles anomalies (Leme et Marin-Morales, 2009).

3.3.2. Test de micronoyaux (MN)

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

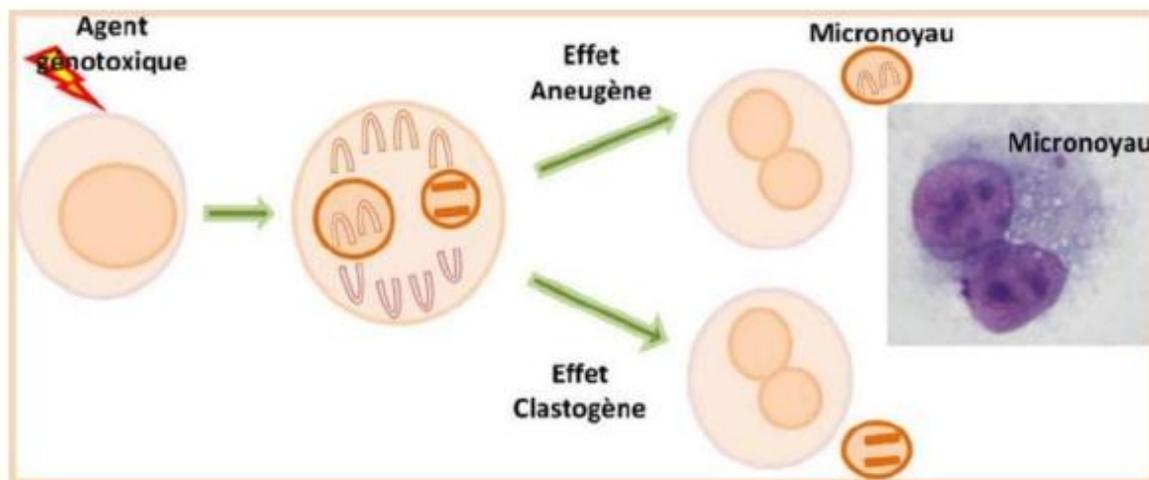


Figure 05 : Schéma de formation des micronoyaux (Berthelot-Ricou et al., 2013).

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

Ce test présente l'avantage de mettre en évidence à la fois les lésions aneugènes (anomalies du nombre de chromosomes) et les lésions clastogènes (**Tarantinientier (Udroiu et al., 2006), 2009**). C'est une technique simple qui utilise directement des cellules cibles de certains génotoxiques (Pillière et Falcy, 1991). Toutefois, ce test donne moins d'informations sur la nature des aberrations s'il n'est pas associé à d'autres tests (**Parry et Sors, 1993**).

3.3.3. Test *Allium cepa*

Le test *Allium*

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

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

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

3.4. Cycle cellulaire :

Une fois un cycle cellulaire terminé, les cellules vivantes se reproduisent elles-mêmes. Le processus essentiel de division cellulaire consiste à donner naissance à deux cellules filles identiques à la cellule mère. Le cycle cellulaire se compose principalement de l'interphase et de la mitose. Au cours de l'interphase, les chromosomes sont répliqués, et lors de la mitose, les chromosomes se répartissent entre les deux cellules filles. (Meijer, 2003; Potapova et Gorbsky, 2017).

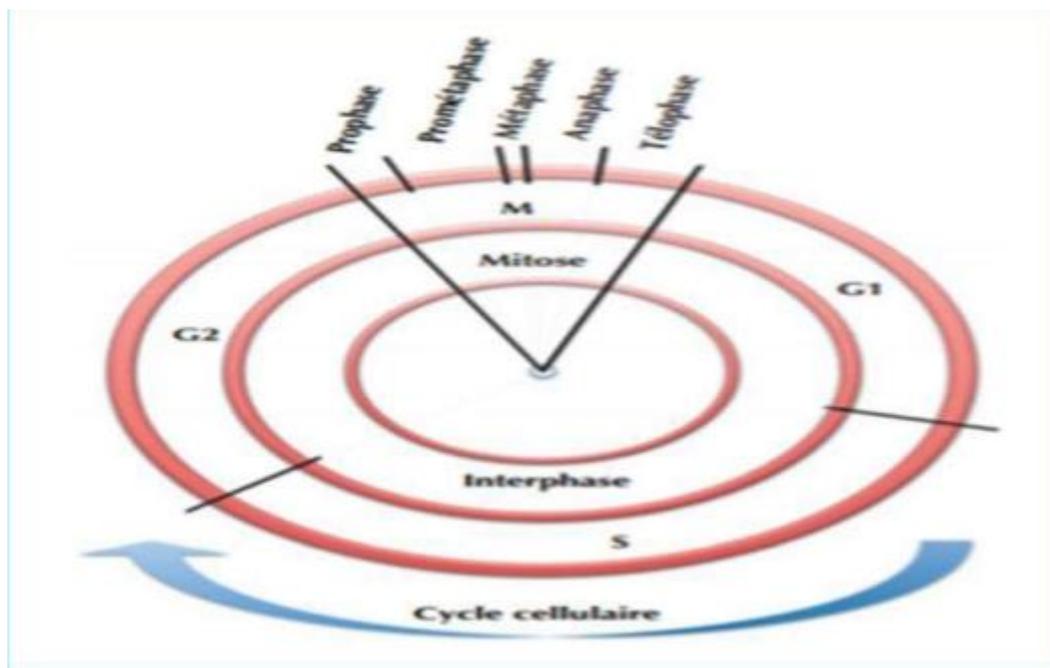


Figure 06: différentes phases du cycle cellulaire (Diallo et Prigent, 2011).

3.4.1. Phase du cycle cellulaire

Il existe quatre phases dans le cycle cellulaire des eucaryotes. De ces deux phases, la phase 1. Au cours des phases S et M, deux événements essentiels se produisent dans les cellules. La réplication du cycle. Le partage des chromosomes entre l'ADN (phase S, pour la synthèse) et 2 cellules filles (phase M, pour la mitose) est strictement égal. Pendant les deux autres phases du cycle G1 et G2, les cellules se développent, intègrent des signaux mitogènes ou anti-mitogènes et sont prêtes à effectuer correctement la phase S. En phase G2, les cellules se préparent pour la phase M (Otto et Sicinski, 2017).

3.4.1.1. Interphase :

Les trois phases de la méiose sont G1, S et G2. La phase G1 débute lorsque les cellules commencent à produire de l'ADN (**Diffley, 2004 ; Johnson et Skotheim, 2013**).

- **Phase G1**

La phase initiale de croissance (croissance) implique que les cellules atteignent leurs dimensions définitives. Pendant cette étape, ils engageront également leur travail et réaliseront différentes tâches. Ils sont conçus pour être efficaces (**Klug, 2006**). La durée de la période est d'environ 90% (**Nabors, 2009**)

- **Phase S**

La synthèse de l'ADN correspond à l'étape où une copie précise du matériel génétique est produite dans les cellules. Pour les raisons suivantes, la réplication est initiée sur de multiples sources afin de recruter des ADN polymérases (Hanaoka et Sugazawa, 2016 ; Li et al. 2007).

- **Phase G2**

Deuxième étape de croissance. Il s'agit de la phase précédant l'entrée en mitose. Selon (**Klug 2006**), la cellule augmente son volume afin de se préparer à une nouvelle division.

3.4.1.2. Mitose

La mitose consiste à produire deux cellules filles identiques de la même cellule parentale. La durée de cette phase n'est que de 10% du cycle cellulaire. Il est composé de deux étapes : la fusion du noyau et la fusion du cytoplasme. Entraîne la répartition de nouveaux noyaux. à l'intérieur des deux cellules de filles (**Nabors, 2009**).

- **Prophase**

Cette étape dure entre 15 et 60 minutes (**Petit et Julien, 2007**). Début très tôt En raison de l'individualisation des chromosomes, suivie d'une expansion et d'un raccourcissement, chaque chromosome est constitué de deux sœurs achromatisées, connues sous le nom de Centromère.

Deux centres de gravité

Les asters, qui sont accompagnés de microtubules, migrent vers les deux pôles opposés de la cellule (**Kalitsis et al. 2017**).

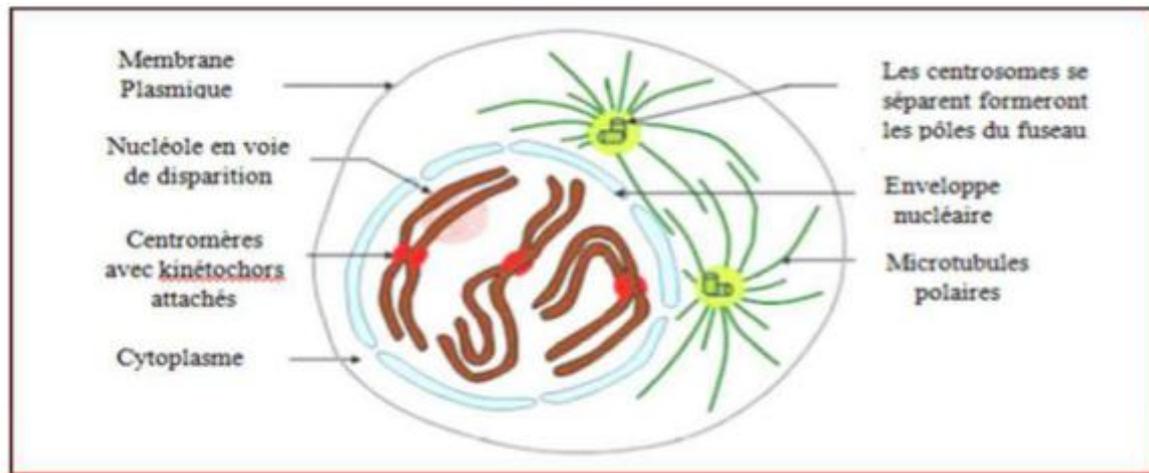


Figure 07 : Représentation schématique d'une cellule en prophase (Dolisi, 2009).

- **Prométaphase**

Les microtubules se regroupent en pro métaphase pour former des fuseaux bipolaires SES, dont les deux pôles s'organisent autour de chaque centrosome, puis se repentent en phase S. Transition entre les microtubules du fuseau et les chromosomes des structures protéiques. Ils sont connus sous le nom de centromères et se fixent au centre (Prosser et al. Pelletier, 2017).

- **Métaphase**

Ce n'est que quelques instants. Elle se distingue par la concentration des centromères dans La plaque équatoriale. L'attachement des centromères aux microtubules polaires de la cellule. Durant cette étape, tous les éléments peuvent être observés. Vue polaire des chromosomes distincts (Klug, 2006).

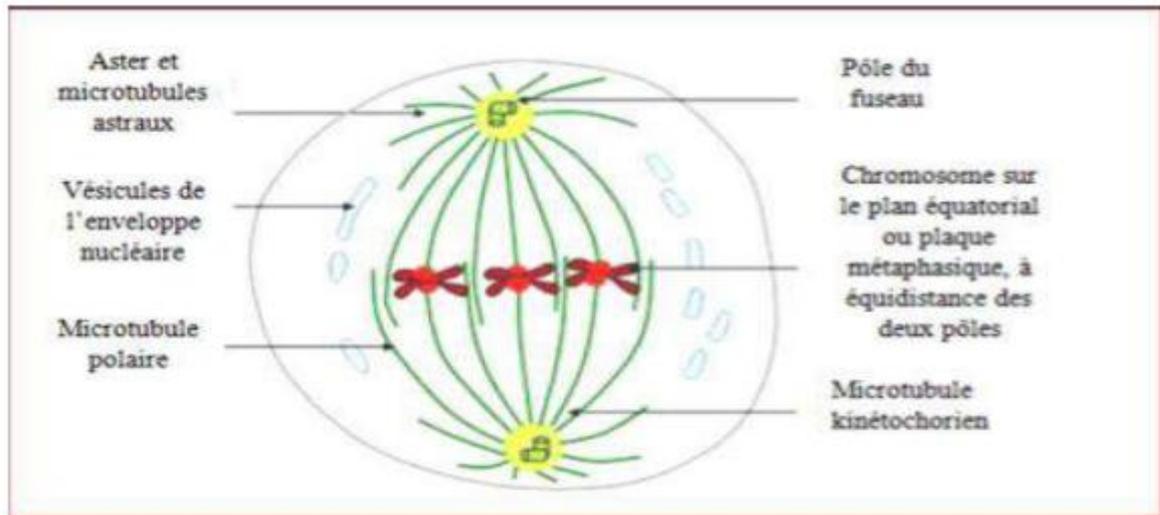


Figure 08 : Représentation schématique d'une cellule en métaphase (Dolisi, 2009).

- **Anaphase**

Cette étape est très brève (2 à 3 minutes). Chaque centre de gravité est séparé en deux.

Ensuite, les chromatides de la fibre sont transportés vers les pôles cellulaires.

Cette division a permis la découverte de deux ensembles de chromosomes monochromatiques identiques. Obtenus (Nabors, 2009).

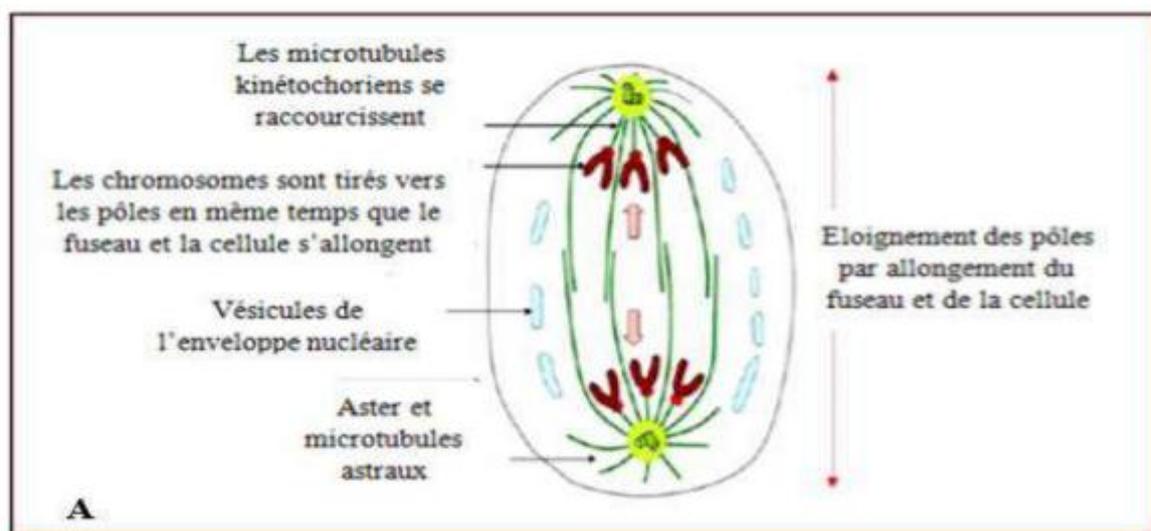


Figure 09 (A) : Représentation schématique d'une cellule au début d'anaphase (Dolisi, 2009).

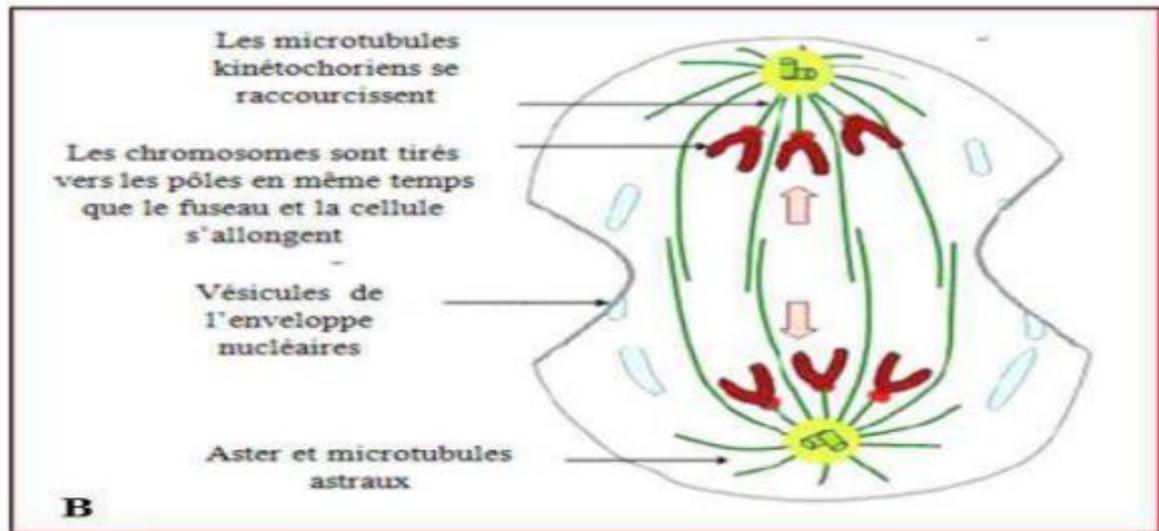


Figure 10 (B) : Représentation schématique d'une cellule en fin d'anaphase (Dolisi, 2009).

- **Télophase**

Selon (Elord et Stansfield 2003), sa durée varie de 15 à 60 minutes. Les chromosomes se sont élevés.

Poteau à broche. Formation d'une structure micro tubulaire au centre des deux lots chromosomes.

Selon (Meijer 2003), la contraction est le lieu de la cytokinèse. En revanche, La prophase ainsi que le Les étapes de la réorganisation de la membrane nucléaire sont appelées télophase.

Décadence des chromosomes et disparition des fuseaux incolores (Petit et Julien, 2007).

L'événement le plus significatif est la division du cytoplasme en deux parties, créant ainsi deux cellules filles génétiquement identiques (Delattre, 2006 ; Suryadinata et al., 2010).

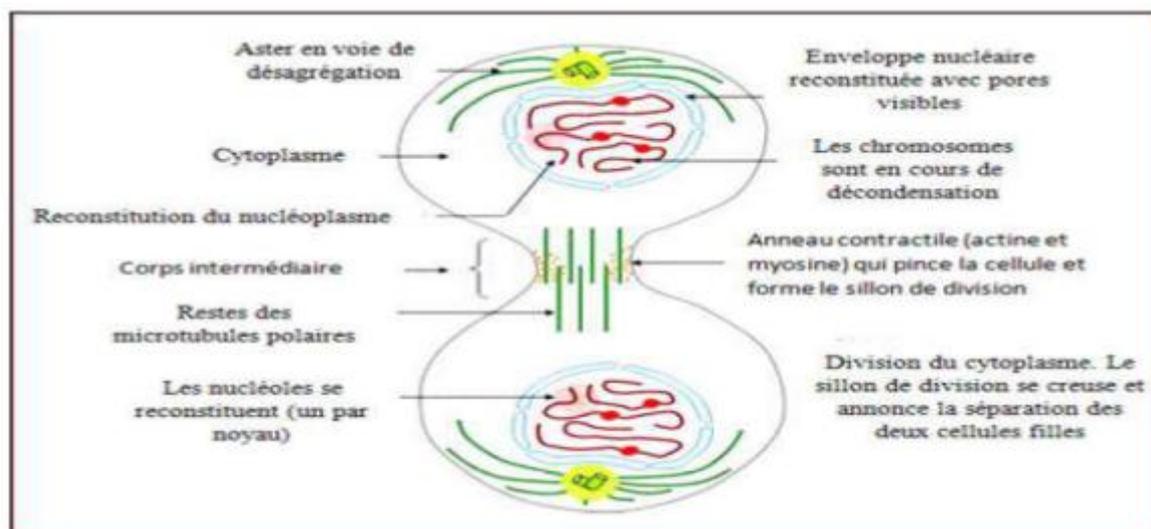


Figure 11 : Représentation schématique d'une cellule en télophase (Dolisi, 2009).

Deuxième Partie

Etude expérimental

Chapitre 01

Matériel et méthodes d'analyses

1. Matériel et méthodes d'analyse

1.1. Matériel biologique

L'extrait étudié dans la présente fut (a) été être préparé l'année passée ; cette étude vise donc à tester son efficacité.

Les bulbes de l'oignon (*Allium cepa*) : ont également été achetés sur le marché local de Guelma. Leur diamètre varie entre 5 et 8 cm. Avant le début de l'expérience, la couche externe des bulbes ainsi que les anciennes racines ont été éliminées. Pendant toutes les expériences menées, les bulbes ont été incubés à l'obscurité et à température ambiante.

1.2. Méthodes d'analyse

1.2.1. Teste *Allium cepa* :

1.2.1.1. Conditions expérimentales

Le test d'*Allium cepa* a été réalisé selon la procédure décrite par (Fiskesjo G., 1985) et (Rank J., 2003). Des bulbes d'oignon (*A. cepa* L., 2n = 16) sont obtenus du marché local à Guelma. Le diamètre des bulbes varie entre [5 et 8 cm]. La couche externe des bulbes est éliminée ainsi que les anciennes racines avant de commencer les expériences. Durant toutes les expériences réalisées, les bulbes sont incubés à l'obscurité à une température ambiante.

1.2.1.2. Test d'inhibition de l'élongation racinaire et détermination de la CE50

Pour ce test de toxicité, 45 bulbes sont utilisés par la plante et pour toutes les concentrations, y compris le contrôle négatif (eau synthétique), 5 bulbes sont utilisés pour chaque concentration. Ils sont placés dans des pots remplis par chaque solution à tester de tel sorte que la base de la racine principale se trouve plongée dans la solution. L'incubation se fait à l'obscurité pendant 2 jours dans de l'eau synthétique puis dans l'extrait avec changement des solutions chaque 24h. Après 4 jours de traitement, la longueur des racines est mesurée. La moyenne de la longueur des racines traitées et contrôles sont représentées en fonction du pourcentage d'inhibition de l'élongation racinaire et les différentes concentrations de l'extrait testé. La Concentration Efficace (CE) produisant 50% d'inhibition de la croissance des racines relativement au contrôle est calculée et exprimée comme étant CE50. A la fin de chaque expérience, les bulbes sont ré-incubés dans de l'eau synthétique pour vérifier la capacité de récupération de la croissance racinaire.

1.2.1.3. Test de génotoxicité

Ce test est réalisé avec trois concentrations de chaque extrait, choisies selon la valeur de la CE50. L'eau synthétique est utilisée comme contrôle négatif. Cinq oignons sont exposés à chaque concentration dans les mêmes conditions de laboratoire décrites ci-dessus. Pendant les 24 premières heures, les oignons sont cultivés dans l'eau synthétique, puis ils sont exposés aux extraits pendant 48 h, ce qui est proche de deux cycles cellulaires. Les solutions d'essai sont changées chaque 24 h et à la fin de l'exposition, les oignons sont préparés pour la microscopie. Les extrémités des racines de chaque groupe de test ont été immédiatement placées dans un fixateur de Carnoy pendant 24 h à 4 ° C, puis conservées dans de l'éthanol à 70% à 4°C jusqu'à utilisation. Pour l'observation microscopique, cinq lames sont préparées pour chaque groupe de test. Les pointes des racines ont été hydrolysées pendant 8 min dans de l'HCl 1N à 60 ° C puis colorées par la réaction de Feulgen ; les 2 mm apicaux sont écrasés dans une goutte d'acide acétique à 45% et les lamelles sont soigneusement abaissées pour exclure les bulles d'air. Les lamelles sont scellées sur les lames avec du vernis à ongles transparent. (Fiskesjö, 1994 ; Knoll et al., 2006 ; Fachinetto et al., 2009).

2.4.1. Analyse de l'indice mitotique (IM), des phases mitotiques (PM) et des aberrations chromosomiques (AC)

Pour l'IM et les P M, les différents stades de la mitose sont comptés cellules par concentration et exprimés en pourcentage selon (Kwankua et al., 2010). L'index mitotique est exprimé comme étant le nombre des cellules en division par toutes les cellules (Ozmen et Summer,2004 ; Sehgal et al, 2006).Selon la formule :

$$\text{MI} = \frac{P+M+A+T}{\text{Nombre total des cellules}}$$

$$\text{AC} = \frac{\text{Nombre des aberrations}}{\text{Nombre totales des cellules}}$$

Conclusion

CONCLUSION

En conclusion, les résultats obtenus dans cette étude indiquent que l'extrait méthanolique d'*Origanum majorana* a des effets cytotoxiques et génotoxique sur *Allium cepa*.

L'indice mitotique qui accompagné par des niveaux plus élevés de l'index Int-Pro et un niveau inférieur d'index des autres phases mitotiques. Cette constatation montre que la diminution de l'IM pourrait être le résultat d'une inhibition du cycle cellulaire, ralentissant ainsi la progression par mitose. Plus de cellules ont été arrêtées à l'étape d'interphase-prophase ce qui a conduit à la réduction des vitesses de division cellulaire. La génotoxicité était bien claire dans les formes des aberrations chromosomiques et mitotiques dans les cellules. Ces résultats confirment que le test *Allium cepa* sert d'excellent système de surveillance pour détecter les substances susceptibles de poser un risque génétique.

Annexe

Préparation de l'eau synthétique :

Les produit	Les concentration mg/l
CaSO ₄	60
MgSO ₄	60
NaHCO ₃	96
KCL	4

Préparation de HCL (1N) :

La solution de 100ml :

HCL8,17ml

Eau distillé91,83ml

Dans un bécher on ajoute 8,17ml d'HCL et complété jusqu'à 100ml d'eau distillé.

(Prépare sur la hotte chimique)

Préparation d'acide Acétique Glacial à 45% :

Préparation de 100ml :

Acide Acétique Glacial45ml

Eau distillé55ml

(Prépare sur la hotte chimique)

Préparation de carnoy :

Ethanol pure(96%).....33.75ml

Acide acétique glacial11,25ml

Dans bécher de 50 ml, versez 33,75ml éthanol puis 11,25ml acide acétique (conserver le carnoy dans un flacon en verre à 4°C.

Préparation de l'éthanol70% :

Ethanol pure 96%.....70ml

Eau distillé.....30ml



Figure : Les bulbes de l'Allium cepa avec de nouvelles racines



Figure : lots de traitement par différentes concentrations des extraits des plantes



Figure : la fixation des racines dans le Carnoyre

Références

Bibliographiques

A

Amroune S.2018. Phytothérapie et plantes médicinales.Université des Frères Mentouri Constantine .Algerie

B

Benkhniq O., Zidane L., Fadli M., Elyacoubi H., Rochdi A. et Douira1 A.(2011).Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). Acta Bot. Barc., Vol. 53, pp.191-216 .

Bézanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M. 1986. Les plantes dans la thérapeutique moderne, 2ème édition révisée, Ed. Maloine éditeur

BalahbibA.,ElMenyiy N.,Bouyahya A,...2021.Phytochemistry,toxicology and pharmacological propretés of Origanumelongatim.

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.

Borboa. L, C. De La Torre, (1996). The genotoxicity of Zii (II) and Cd (II) in Allium cepa root meristematic cells, New Phytol. 134 481–486.

Breu, W. (1996).Allium cepa L. (Onion) Part 1: Chemistry and analysis. Institut fur Pharmazeutische biologie, Universitar Miinchen, Germany, Selectavet, WeyarnHolzolling Germany phytomedicine, 3(3), 293-306

Berthelot-Ricou A, Perrin J, Orsière T, Aye M, Roustan A, Botta A et Courbiere B. (2013). Risque génotoxique et ovocytes : Principes de toxicologie génétique et applications. Gynécologie Obstétrique et Fertilité. 41 :544-547.

C

Cotelle S, (1999). Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures, Thèse de Doctorat de L'Université de Metz, soutenue le 22 janvier 1999.

D

Diffley, J.F. (2004). Regulation of early events in chromosome replication. *CurrentBiology*. 14: 778-786.

Delattre, B. (2006). Biologie : La mitose. Edition Dunod. p 1-21

Diallo A. et Prigent C. (2011). Les Sérine/Thréonine Kinases Contrôlant la Progression du Cycle Cellulaire Comme Cibles Thérapeutiques. *Bulletin du Cancer* ; 98, 1335-1345.

Dilek, O. and Hulya, S. (2013). Genotoxicity effects of Flusilazole on the somatic cells of *Allium cepa*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 107, 38–43.

Dolisi G, (2009). Biologie 11. 1ère Ed. Chenelière Education. Montreal, Canada. P. 199; 205.

E

El-Ghamery AA., El-Nahas AI et Mansour MM .(2000). The action of atrazine herbicide as an inhibitor of cell division on chromosomes and nucleic acids content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytologia* 65: 277–287.

F

Fathy M., Soliman. Miriam F., Yousif. Soumaya S. Zaghoul., (2009). Seasonal variation in the essential oil composition of *origanum majorana* l. cultivated in Egypt. *naturforsch*,(64), 611 – 614p.

Fiskesjö G.,(1985). The allium test an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions, *Mutat. Res.*, 197, 243–260

Fathy M., Soliman. Miriam F., Yousif. Soumaya S. Zaghoul., (2009). Seasonal variation in the essential oil composition of *origanum majorana* l. cultivated in Egypt. *naturforsch*,(64), 611 – 614p.

Fournier. P,(2001). Les Quatre Flores de France, Lechevalier, Paris, 2

Fiskesjö. (1994) .The Allium Test II: Assesment of chemical's genotoxic potential by recording aberrations in chromosomes and cell divisions in root tips of *Allium cepa*L., *Environ Toxicol Water Qual*, 9, pp. 234-241.

K

Konkon N.G., Simaga D. et Adjoungova A.L. (2006). Etude Phytochimique de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique. *Pharm. Méd. Trad. Afr.* 2006, Vol. 14, pp. 73-80

Kalitsis, P., Zhang, T., Marshall, K. M., Nielsen, C. F., & Hudson, D. F. (2017). Condensin, master organizer of the genome. *Chromosome research.* 25(1): 61-76.

Klug, W.S., Cummings, M.R. & Spencer, C. A. (2006). Génétique. 8ème édition. Pearson. Paris. 872 p

Kuras M., Nowakowska J., Sliwinska E., Pilarski R., Ilasz R., Tykarska T., Zobel A et Gulewicz K. (2006). Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium Test* induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd). *DC. Journal of Ethnopharmacology.* 107 : 211-221.

Kwankua W., Sengsai S., Kuleung C et Euawong N. (2010). Sunlight decreased genotoxicity of azadirachtin on root tip cells of *Allium cepa* and *Eurotia bicolor*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73: 949–954.

L

Leong L. P. and Shui G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry,* 76: 69-75.

Leme, D.M., and Marin-Morales, M.A, (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 682, 71–81.

M

Merzoug B. (2009). Contribution a l'étude phytochimique de deux plantes de la famille des Apiaceae : *Carum montanum* Coss. & Dur. et *Bupleurum montanum* Coss. Thèse de doctorat. "Phytochimie". Université Mentouri-Constantine. P1

Middleton E., Kandaswami C., AND Theoharides T. C.(2000). The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological reviews,* 52:673–751.

Muqaddas, Khera R. A., Nadeem F., Jilani M.I .(2016). Essential Chemical Constituents and Medicinal Uses of Marjoram (*Origanum majorana* L.). *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences* 9 : 56-62.

Muranli, G., Dilek, F., Kanev, M., & Ozdemir, K, 2015. Genotoxic effects of diazinon on human peripheral blood lymphocytes. *Arhivzahigijenu rada i toksikologiju*, 66(2), 153-158.

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

Mitchelmore CL, Chipman JK (1998). DNA strand breakage in aquatic organisms and the potential value of the comet assay in environmental monitoring. *Mutat.Res.-Fundam.Mol.Mech.Mut.* 399:135-147 .

Mesi A., Kopliku D., Neziri A. et Golemi S., (2013). Correlative evaluation between nickel ion concentrations doped in some riverside water bodies of Nen-Shkodra lowland and root growth of *Allium cepa* (L.). *Asian J. Chem.* 25(5). 2687-2689.

N

(Nabors, M. (2009). *Biologie végétale. Structure, fonctionnement, écologie et biotechnologie.* Edition Pearson. Paris. 640p.

O

Östling O, Johanson KJ (1984). Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and biophysical research communications* 123:291-298.

Ozmen, A. & Summer, S, (2004). Cytogenetic effects of kernel extracts from *Melia azedarach* L., *Caryologia*, 57, pp. 290–293.

P

Pan L., Carcache E.J de Blanco et Kinghorn A.D.(2009). Plant-Derived Natural Products as Leads for Drug Discovery. In : Osbourn AE et Lanzotti V, éditeurs. *Plantderived Natural Products ; Synthesis, Function, and Application.* London New York : Springer ;p. 547 – 551.

Prosser, S. L., & Pelletier, L. (2017). Mitotic spindle assembly in animal cells: a fine balancing act. *Nature ReviewsMolecularCellBiology*. 18(3): 187-201.

Petit J.M., et Julien R. (2007). *Mini manuel de génétique.* Edition Dunod. Paris. 260p.
pigmentosum par un test in vitro multiparamétrique, Thèse Doctorale de l'Université Joseph

Parry J.M. et Sors A. (1993). The detection and assessment of the aneugenic potential of environmental chemicals: the European Community Aneuploidy Progress. *Mutation Research*. 287 : 3-15.

Panda K. K., Patra J. et Panda, B. B. (1996). Induction of sister chromatid exchanges by heavy metal salts in root meristem cells of *Allium cepa*. *Biology Plantarum*. 38: 555-561.

R

Roberto, M.M., Jamal, C.M., Malaspina, O., & Marin-Morales, M.A. (2016). Antigenotoxicity and antimutagenicity of ethanolic extracts of Brazilian green propolis and its main botanical source determined by the *Allium cepa* test system. *Genetics and molecular biology*. 39(2): 257-269.

Rydberg B, Johanson KJ (1978). Estimation of DNA strand breaks in single mammalian cells. In: *DNA repair mechanisms*, edited by Hanawalt PC, Friedberg EC, Fox CF. Academic Press, New York, pp 465-468.

Rank J., Lopez L., Mette H. et Moretton, J. (2002). Genotoxicity of maleic hydrazide, acridine and DEHP in *Allium* root cells performed by two different laboratories. *Hereditas*. 136: 13-18.

Rank, J., and Nielsen, M.H. (1997). *Allium cepa* anaphase telophase root tip chromosome aberration assay on Nmethyl Nnitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate. *Mutation Research*, 390 : 121127.

S

Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research* 175:184-191

Schaal S, 2010. Les plantes médicinales des pelouses calcaires de la réserve naturelle de Montenach (57)., thèse doctorat. Université Henri Poincaré – Nancy 1.

T

Tripathy B., Satyanarayana S., Abedulla Khan K., Raja K. (2017). An Updated Review on Traditional Uses, Taxonomy, Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology of *Origanum majorana*. *Int J Pharma Res Health Sci* 5 (4): 1717-1723.

U

Umbuzeiro, G. D. A., Heringa, M., & Zeiger, E. (2016). In vitro genotoxicity testing.

Udroiu I., Sgura A. (2017). Cytogenetic tests for animal production: state of the art and perspectives. *Animal Genetics* [en ligne]. 48 (5) : 505-515. DOI : 10.1111/age.12581.

W

Wierzbicka M. (1988). Mitotic disturbances induced by low doses of inorganic lead. *Caryologia*, 41: 143-163.

Y

Yıldız M., Ciğerci İH., Konuk M., Fatih Fidan A et Terzi H. (2009). Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. *Chemosphere*. ;75:934–938.

Z

ZENSANI L. 2014. Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de thymus saturioides Coss et d'*Organum compact Benth* et du genre *nepeta* et évaluation de leur propriété antibactérienne. thèse doctorat. Agdal : Université Mohammed V.

Zekkour. M, (2008). Les risques de la phytothérapie, Monographies des plantes toxiques, les plus usuelles au Maroc.