

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 08 ماي 1945 قالمة
Université 08 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Science de la Terre et l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention Du Diplôme De Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Département : Biologie

Thème :

Activité antibactérienne et effet génotoxique des extraits de *Zygodhryllum cornutum*

Présenté par :

Boumerdes Ines

Cheraitia Bochra

Devant le jury composé de :

Présidente	Dr. Khallef M.	Université 8 Mai 945 - Guelma
Encadreur	Dr. Boumaza A.	Université 8 Mai 945 - Guelma
Examinatrice	Dr. Amri S.	Université 8 Mai 945 - Guelma

Juillet 19

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumés

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Partie 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Présentation de *Zygothymus cornutum*

1. Ecologie et répartition géographique 2

2. Classification..... 2

2.1. Familles des *Zygothymaceae* 3

2.2. Genre *Zygothymus* 3

2.3. Place de l'espèce *Zygothymus cornutum* dans la systématique..... 4

3. Description botanique 4

4. Usage thérapeutique..... 6

5. Composition chimique 6

5.1. Constituants phytochimiques 6

5.2. Etudes biologiques 6

5.2.1. Activité antioxydante..... 6

5.2.2. Activité antidiabétique.....7

Chapitre 2 : Toxicologie génétique

1. La génotoxicité..... 8

2. Dommages à l'ADN..... 8

Table des matières

2.1.	Dommmages endogènes	8
2.1.1.	Désamination spontanée de la base	8
2.1.2.	Sites abasiques	8
2.1.3.	Dommmages oxydatifs.....	9
2.1.4.	Méthylation d'ADN	10
2.2.	Dommmages exogènes	10
2.2.1.	Rayonnements ionisants (RI).....	10
2.2.2.	Rayonnements ultraviolets (UV)	10
2.3.	Agents chimiques exogènes	11
2.3.1.	Agents d'alkylation.....	11
2.3.2.	Amines aromatiques	12
2.3.3.	Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).....	12
2.3.4.	Toxines.....	13
3.	Voies et systèmes de réparation des dommmages à l'ADN	13
3.1.	Réparation des dommmages simples de bases d'ADN	13
3.1.1.	Réparation par inversion des dommmages	14
3.1.2.	Réparation par excision de base (BER).....	15
3.2.	Réparation de dégâts de base multiples et volumineux	15
3.2.1.	Réparation par excision de nucléotides (NER)	15
3.2.2.	Réparation de mésappariement/Mis-Match (MMR)	15
3.3.	Réparation des cassures des brins d'ADN	15
3.3.1.	Réparation de rupture simple brin	15
3.3.2.	Réparation de rupture double brin.....	15
4.	Tests de génotoxicité	16
4.1.	Tests cytogénétiques	16
4.1.1.	Détection des aberrations chromosomiques (AC)	16

Table des matières

4.1.2.	Echange de chromatides sœurs (SCE).....	16
4.1.3.	Test micronoyaux (MN).....	18
4.2.	Test des comètes.....	18
4.3.	Essais de mutation réverse sur les bactéries (test d'Ames).....	19
4.4.	Bioindicateur de génotoxicité (test <i>Allium cepa</i>).....	19

Partie 2 : Expérimentation

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

1.	Matériel.....	22
1.1.	Récolte et préparation de la plante étudiée.....	22
1.2.	Souches bactériennes.....	22
2.	Méthodes.....	22
2.1.	Préparation des extraits.....	22
2.1.1.	E. Met.....	22
2.1.2.	E. Aq.....	23
2.2.	Etude de l'activité antibactérienne.....	23
2.2.1.	Préparation de l'inoculum.....	23
2.2.2.	Ensemencement et dépôt des disques.....	24
2.3.	Etude de l'effet génotoxique (test <i>Allium cepa</i>).....	24
2.3.1.	Préparation des solutions.....	24
2.3.2.	Culture des bulbes et conditions de croissance.....	24
2.3.3.	Analyse macroscopique.....	25
2.3.4.	Fixation des extrémités racinaires.....	26
2.3.5.	Coloration des extrémités racinaires.....	26
2.3.6.	Analyse microscopique.....	28
2.3.7.	Analyse statistique.....	28

Chapitre 2 : Résultats et discussion

Table des matières

1. Etude de l'activité antibactérienne	29
2. Etude de l'effet génotoxique	34
2.1. Analyse macroscopique	34
2.2. Analyse microscopique.....	36
Conclusion et perspectives.....	41
Références bibliographiques.....	42

Remerciements

Louange à ALLAH, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux de nous avoir donné la force, le courage, la volonté et la patience tout au long de nos études et pour bien accomplir ce travail.

*Nos plus vifs remerciements et sentiments de reconnaissance s'adressent à notre encadreur **Dr. Boumaza A.** d'avoir accepté de diriger ce travail et de veiller à ce qu'il soit mené à terme. Nous tenons surtout à vous remercier pour vos conseils qui nous ont été de grande utilité.*

*Grand et respectueux remerciement va à **Dr. Khallef M.** d'avoir accepté de Présider le jury de notre mémoire. Nous vous remercions surtout pour votre entretien, vos conseils ainsi que vos précieuses discussions.*

*Nous tenons à exprimer nos considérations distinguées à **Dr. Amri S.** d'avoir accepté d'évaluer notre étude en faisant part de ses remarques et suggestions.*

Nous n'oublions pas de remercier profondément les membres de l'équipe de laborantine pour leur aide et soutien tout au long de la période de la réalisation de ce travail.

Enfin, merci à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail ainsi que ceux qui nous ont encouragé et soutenu à tout moment ; qu'ils trouvent le témoignage de notre profonde gratitude.

Bohra & Ines

Dédicaces

A mon soleil, ma chère mère : Dr. Gasmi Farida

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A ma lune, mon cher père : Cheraitia Madani

*Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que **DIEU** le tout **puissant** te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.*

A mon seul et unique étoile, mon cher petit frère : Cheraitia Med. Yacine

*Pour toute l'ambiance dont tu m'as entouré, pour toute la spontanéité et ton élan chaleureux, Je te dédie ce travail. Puisse **DIEU** le tout **puissant** exhausser tous tes vœux.*

A tous les membres de ma famille

*Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que **DIEU** vous préserve santé et longue vie.*

A ma binôme : Boumerdes Ines

Pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent, ce travail est un témoignage de mon attachement et de mon amour.

Bochra

Dédicaces

A la pomme de ma vie, ma chère mère : Tefaha

La lanterne qui éclaire mon chemin, qui a œuvré pour ma réussite. Ton amour, ton encouragement et ton soutien étaient la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments pénibles, de solitude et de souffrance. Par les inestimables sacrifices que tu as consentis pour moi, tu as tant souhaité que je parvienne à ce but.

A mon très cher père : Boumerdes Larbi

*L'épaule solide, l'œil attentif et compréhensif, à la personne la plus digne de mon estime et mon respect, qui peut être fière et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse **DIEU** faire en sorte que ce travail porte son fruit ; merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanents venus de toi.*

A mes chers frères : Sofiane, Skander, Khaled, et Fahed

*En témoignage de mon affection fraternel de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et succès et que **DIEU** vous garde et vous protège.*

A mes chères amies : Nardjes et Kamila

Pour leur complicité et en guise de gratitude pour avoir rendue mes jours meilleurs

A ma chère binôme : Cheraitia Bochra

*Pour ton soutien moral, ta patience et ta compréhension. Que **DIEU** exhausse tous tes vœux inchaa Allah.*

Ines

Abstract

A large number of plant species represent a source of biologically active compounds whose effect on human health is elusive. *Zygophyllum cornutum*, which is commonly used as an infusion against diabetes mellitus, is the focus of our study. On one hand, the antibacterial potential of two different extracts (methanolic and aqueous extract) of *Zygophyllum cornutum* aerial part was tested by the diffusion method of disks against three reference strains of the American Type Culture Collection. : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. No antibacterial activity was exerted on the growth of the three studied bacterial species for both extracts. On the other hand, the genotoxic effect of the same plant was investigated by the analysis of the meristematic root cells of *Allium cepa* treated with the methanolic extract. A statistically significant mito-depressive and genotoxic effect was exerted by the two tested concentrations. As conclusion, even that further studies must be carried out, the mutagenic activity and the genotoxic effect of *Zygophyllum cornutum* should be taken in consideration when used as therapeutic plant.

Keywords: Antibacterial activity, genotoxic effect, *Zygophyllum cornutum*.

Résumé

Un grand nombre d'espèces végétales représente une source de composés biologiquement actifs dont l'effet sur la santé humaine est insaisissable. *Zygophyllum cornutum* qui est utilisée communément en infusion contre le diabète sucré représente le pivot de notre étude. D'une part, le potentiel antibactérien de deux extraits différents (méthanolique et aqueux) de la partie aérienne de *Zygophyllum cornutum* a été testé par la méthode de diffusion des disques vis-à-vis de trois souches de référence de l'American Type Culture Collection : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Aucun pouvoir antibactérien n'a été exercé sur la croissance des trois espèces bactériennes étudiées dans le cas des deux extraits. D'une autre part, l'effet génotoxique de la même plante a été investigué par l'analyse des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* traitées avec l'extrait méthanolique. Un effet mitotique dépressif statistiquement significatif a été exercé par les deux concentrations testées. En conclusion, même si d'autres études doivent être menées, il convient de prendre en compte l'activité mutagène et l'effet génotoxique de *Zygophyllum cornutum* lors de son utilisation en tant que plante thérapeutique.

Mots clés : Acivité antibacterienne, effet génotoxique, *Zygophyllum cornutum*.

يمثل عدد كبير من الأنواع النباتية مصدرا للمركبات النشطة بيولوجيا والتي تكون معرفة تأثيرها الفعلي على صحة الانسان صعبة المنال. نبات العقاية يشاع استخدامه كمضاد لداء السكري، هذا النبات هو محور دراستنا. من ناحية، تم اختبار القدرة المضادة للبكتيريا لمستخلصين مختلفين (المستخلص المائي ومستخلص الميثانول)، كلاهما محضرين من الجزء الهوائي لنبات العقاية. تم الاختبار باستعمال طريقة نشر الأقراص ضد ثلاث سلالات بكتيرية مرجعية: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. لم يتم ممارسة أي نشاط مضاد للجراثيم على نمو الأنواع البكتيرية المدروسة، وذلك باستعمال كلا المستخلصين. من ناحية أخرى، تم التحقيق في تأثير السمية الوراثية لنفس النبات من خلال الدراسة التحليلية للخلايا الجذرية المرستيمية ل *Allium cepa* التي عولجت بمستخلص الميثانول. تمت اظهار انخفاض معتبر في سرعة انقسام الخلايا المرستيمية وحدوث تسمم جيني على مستوى المادة الوراثية باستعمال التركيزين المختبرين من المستخلص الميثانولي للنبته المدروسه. في الختام تستنتج انه، ورغم وجوب إجراء مزيد من الدراسات، يجب أن يؤخذ في الاعتبار النشاط الطفري والتأثير السمي على الجينات للعقايه عند استخدامها كنبات علاجي.

الكلمات المفتاحية: القدرة المضادة للبكتيريا، تأثير السمية الوراثية، نبات العقاية.

Liste des figures

Figure 1: <i>Zygothymus cornutum</i>	2
Figure 2: Motifs de deux genres appartenant à la famille Caltrop	5
Figure 3: Parties constitutives de l'espèce <i>Zygothymus cornutum</i>	5
Figure 4: Lésions communes à base d'ADN	9
Figure 5: Principales lésions de base d'ADN induites par les rayons UV	11
Figure 6: Structure d'agents d'alkylation	11
Figure 7: Structure des amines aromatiques	12
Figure 8: HAP	12
Figure 9: Structure d'Aflatoxine B1	13
Figure 10: Voies directes de réparation de d'ADN	14
Figure 11: Métaphase lymphocytaire périphérique de bovins normaux et infectés par le virus du papillome visualisée par la coloration de Giemsa	17
Figure 12: Frottis sanguin d'un cheval (<i>Equus caballus</i>) teinté avec Giemsa	18
Figure 13: Évaluation des dommages à l'ADN des spermatozoïdes à l'aide du test des comètes	19
Figure 14: Illustration de l'espèce <i>Allium cepa</i>	21
Figure 15: Lots de bulbes traités par l'ES, 10 et 12 mg/l d'E. Met.	25
Figure 16: Fixation des extrémités racinaires dans la solution Carnoy.	26
Figure 17: Coloration des extrémités racinaires.	27
Figure 18: Effet de l'AK, la GEN, L'EDS et des SM des extraits Met et Aq sur la croissance des espèces bactériennes étudiées.	31
Figure 19: Effet des dilutions 2, 4, 6, 8, 10 et 12 mg/ml de l'E. Aq sur la croissance des espèces bactériennes étudiées	31
Figure 20: Effet des dilutions 20, 50, 100, 500 et 1000 µg/ml sur la croissance des espèces bactériennes étudiées	31
Figure 21: Aspect morphologique des racines	35
Figure 22: Stades de la division cellulaire régulière et normale dans des méristèmes racinaires d' <i>Allium cepa</i> non traités	37
Figure 23: Types d'AC rencontrées dans des méristèmes racinaires d' <i>Allium cepa</i> traitées par 10 et 12 mg/l d'E. Met de <i>Zygothymus cornutum</i> pendant 48 heures.	38

Liste des tableaux

Tableau 1: Taxonomie de l'espèce <i>Zygophyllum cornutum</i> .	4
Tableau 2: Taxonomie de l'espèce <i>Allium cepa</i>	21
Tableau 3: Souches bactériennes utilisées dans l'étude de l'effet antibactérien des extraits de <i>Zygophyllum cornutum</i>	22
Tableau 4: Valeurs limites des D des zones d'inhibition pour les souches de références utilisées	29
Tableau 5: D des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'AK, la GEN, l'EDS et les extraits Met et Aq.	30
Tableau 6: Valeurs de l'ER des racines d' <i>Allium cepa</i> exposées à des concentrations croissantes de l'E. Met de <i>Zygophyllum cornutum</i> pendant 48 heures	35
Tableau 7: Valeurs de l'IM des cellules du méristème racinaire d' <i>Allium cepa</i> exposées à des concentrations croissantes de l'E. Met de <i>Zygophyllum cornutum</i> pendant 48 heures..	36
Tableau 8: Taux d'AC en ana-télophases des cellules du méristème racinaire d' <i>Allium cepa</i> exposées pendant 48 heures à l'ES, a 10 et 12 mg/l d'E. Met de <i>Zygophyllum cornutum</i> .	37

Liste des abréviations

AAF : N-Acétyl-2-AminoFluorène

AC : Aberration Chromosomique

AF : 2-AminoFluorène

AK : Amikacine

AP : APurique/APyrimidique

ATCC : American Type Culture Collection

BER : Réparation par Excision de Base

CPD : Dimères de Cyclobutane Pyrimidine

D : Diamètre

DRO : Dérivés Réactifs de l'Oxygène

E. Aq : Extrait Aqueux

EDS : Eau Distillée Stérile

E. Met : Extrait Méthanolique

EMS : MéthaneSulfonate d'Ethyle

EP : Eau Physiologique

ER : Elongation Racinaire

ES : Eau Synthétique

FPG : Fluorescence Plus Giemsa

GEN : Gentamycine

GG- : Génome Globale

G1 : Gap

HAP : Hydrocarbure Aromatique Polycyclique

HR : Recombinaison Homologue

Liste des abréviations

IM : Indice Mitotique

MMR : Réparation de Mésappariement (Mis-Match)

MMS : MéthaneSulfonate de Méthyle

MN : MicroNoyau

MNNG : N-Méthyl-N-nitro-N-nitrosoGuanidine

MNU : MéthylNitrosoUrée

NER : Réparation par Excision de Nucléotide

NHEJ : Jonction d'Extrémités Non Homologues

OH : Hydroxyl

O₂⁻ : Superoxyde

pH : Potentiel Hydrogène

PM : Phases Mitotiques

RI : Rayonnement Ionisant

SAM : S-AdénosylMéthionine

SCE : Echange de Chromatides Sœurs

SM : Solution Mère

TC- : Transcription

TDP1 : Tyrosyl-ADN PhosphoDiesterase1

UV : UltraViolet

5-BrdU : 5-bromo-2-désoxyuridine

5mC : 5-méthyl-Cytosine

Introduction

Introduction

Compte tenu des difficultés rencontrées pour trouver de nouveaux médicaments efficaces, sûrs, abordables et accessibles ; les études ethnobotaniques et ethnopharmacologiques jouent un rôle important dans l'identification de plantes médicinales pertinentes pouvant être développées plus avant (**Girma et al, 2018**). Les plantes médicinales, qui étaient à la base des pratiques de la médecine traditionnelle, ont longtemps été utilisées par l'humanité à des fins préventives et curatives (**Gurib-Fakim, 2006**). Historiquement, les études ethnobotaniques ont abouti à la découverte de médicaments pour de nombreuses affections (**Cragg et Newman, 2005**). Les produits naturels jouent un rôle prépondérant dans la découverte de ces nouveaux médicaments, car plus de 60% des médicaments approuvés ou à un stade avancé de développement (entre 1989 et 1995) sont d'origine naturelle (**Cragg et al, 1997**).

Etant donné que les preuves scientifiques des propriétés médicinales de telles plantes ne sont pas toujours démontrées (**Kuete et al, 2012**), une évaluation des propriétés chimique, biologique, antioxydante, antibactérienne outre l'étude du potentiel mutagène/antimutagène demeure une tâche très importante, intéressante et utile.

Le genre *Zygothymum* inclut des espèces végétales médicinales riches en sels minéraux, ce qui leur confère un pouvoir cicatrisant et anti-inflammatoire. Des propriétés thérapeutiques abondantes accordées à l'espèce *Zygothymum cornutum* ont été mises en évidence, elles sont dues à la présence des composés actifs tels que les polyphénols (**Baba Aïssa, 1990 ; Shawky et al, 2014**).

Nous avons donc entrepris le travail actuel pour évaluer les propriétés antibactériennes de deux extraits différents : l'extrait méthanolique (E. Met) et l'extrait aqueux (E. Aq) de la partie aérienne de *Zygothymum cornutum* vis-à-vis de trois espèces bactériennes. Ainsi qu'à estimer le potentiel génotoxique de l'E. Met par le bio-indicateur de génotoxicité : *Allium cepa*.

Pour illustrer ces objectifs, notre étude est structurée en deux parties. Dans la première partie, une revue bibliographique va mettre en exergue deux chapitres. Le premier chapitre abordera une identification de l'espèce végétale étudiée, le deuxième sera consacré à la génotoxicité et les tests qui permettent de la mettre en évidence.

La partie expérimentale quant à elle sera subdivisée en deux chapitres, le premier présentera le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de cette étude. Les résultats obtenus, suivis de la discussion feront l'objet du second.

Partie 1

Synthèse bibliographique

Chapitre 1
Présentation de
Zygophyllum cornutum

1. Ecologie et répartition géographique

Zygophyllaceae (famille Caltrop) est une famille d'environ 25 genres et 240 espèces adaptées aux climats semi-désertiques et méditerranéens (Hammoda *et al*, 2013). Le genre *Zygophyllum* comprend 100 espèces réparties dans des habitats de désert et de steppe de la Méditerranée à l'Asie centrale, en Afrique du Sud et en Australie (Amini-Chermahini *et al*, 2014). Neuf espèces sont répandues dans les déserts et les marais salants d'Egypte et de la péninsule du Sinäï (Sheahan et Cutler, 1993).

Zygophyllum cornutum ou 'Aggaïa' (nom vernaculaire) (Fig.1), espèce du genre *Zygophyllum* qui est le plus répondu de la famille (Hussein *et al*, 2011) est d'une distribution assez restreinte. C'est un arbrisseau des terrains salés, endémique dans les régions présahariennes et les hauts plateaux. Répondu principalement en Algérie (Biskra, El-Oued), et sur les deux pays maghrébins limitrophes, le Maroc et la Tunisie ou on l'appelle 'Bougriba' (Baba Aïssa, 1990).

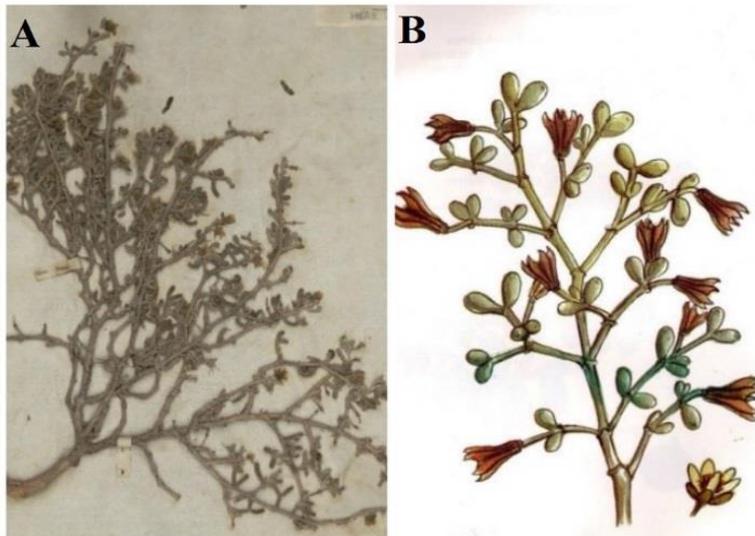


Figure 1: *Zygophyllum cornutum* : A) Plante réelle récoltée en 1858, El-Outaia Constantine (science.mnhn.fr) ; B) Illustration de *Zygophyllum cornutum* (Baba Aïssa, 1990).

2. Classification

Représentant un groupe de plantes succulentes résistantes à la sécheresse et/ou au sel, vivant dans des conditions climatiques extrêmes et sèches (Saleh et El-Hadidi, 1997). En outre, de nombreux auteurs l'ont décrite comme l'une des composantes importantes de la végétation du désert (Hammad et Qari, 2010). L'abondance des espèces liées à ce genre

pourrait être attribuée à leur grande tolérance aux stress environnementaux ainsi qu'à leur caractère non palatable. (Amini-Chermahini *et al*, 2014).

2.1. Familles des Zygophyllaceae

Les plantes de Zygophyllaceae comptent parmi les composants les plus importants et les plus caractéristiques en raison de leur contribution à la flore et de leur impact sur l'environnement (Kubitzki et Bayer, 2003). Les caractéristiques morphologiques et anatomiques (anneaux de croissance évidents, plaque de perforation simple, ponction alternée, fibres non cloisonnées, parenchyme axial confluent paratrachéal, épaissements hélicoïdaux et rayons hétérocellulaires) indiquent que les plantes de Zygophyllaceae peuvent utiliser l'eau efficacement et sont bien adaptées aux habitats des zones sèches (Yang et Furukawa, 2006). De plus, Zygophyllaceae est l'une des 19 familles d'angiospermes qui utilisent la voie de la photosynthèse C4 (Sage, 2016), ce qui est avantageux sous la menace de conditions extrêmes (sécheresse, soleil et température élevée) (Christin *et al*, 2011).

2.2. Genre *Zygophyllum*

Les Zygophyllaceae se subdivisent en cinq sous-familles : Zygophylloideae, Larreoideae, Morkillioideae, Seetzenioideae et Tribuloideae. Les Zygophylloideae, constituent la sous famille la plus large avec 180 espèces, regroupées en quatre genres : *Auge* (monotypique), *Tetraena* (monotypique), *Fagonia* (30 espèces), et *Zygophyllum* (150 espèces) (Sheahan et Chase, 2000). Trois plantes sahariennes, appartenant au genre *Zygophyllum*, sont des antidiabétiques réputés : *Zygophyllum geslini*, espèce endémique répandue au Sahara septentrional algérien ; *Zygophyllum album*, espèce des pâturages désertiques algériens et tunisiens ; *Zygophyllum cornutum*, espèce endémique algéro-tunisienne commune sur les terrains salés des zones présahariennes. De même, les *Zygophyllum* sont riches en zinc et en cuivre, ce qui pourrait justifier leurs activités cicatrisante et anti-inflammatoire que préconise la médecine traditionnelle. Enfin, la facilité que possèdent les *Zygophyllum* à se développer, à partir de graines au pouvoir germinatif élevé, pourrait ouvrir des perspectives intéressantes en vue de décontaminer les sols puisque ces espèces poussent au voisinage des sites d'exploitation pétrolière et au carrefour des voies de communication vers les oasis du sud du pays et de l'Afrique subsaharienne (Smati *et al*, 2011).

2.3. Place de l'espèce *Zygophyllum cornutum* dans la systématique

Tableau 1: Taxonomie de l'espèce *Zygophyllum cornutum* (Quezel *et al*, 1962 in **Betina-Bencharif, 2014**).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheophyta
Super-division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae II
Ordre	Zygophyllales
Famille	Zygophyllaceae
Sous-famille	Zygophyllodeae
Genre	<i>Zygophyllum</i>
Espèce	<i>Zygophyllum cornutum</i>

3. Description botanique

Les plantes appartenant à la famille des Zygophyllaceae sont très reconnaissables à l'aspect de leurs herbes, arbustes, ou arbres. Elles ont des feuilles stipulées, très polymorphes. Les fleurs de tétra ou pentamères, isolées ou en inflorescences, possèdent une corolle, également tétra ou pentamère, parfois nulle (**Fig.2**). Généralement, ces plantes renferment dix étamines, le plus souvent, à stipules unies, un ovaire de quatre à cinq carpelles, à un ou plusieurs ovules par loge. Les fruits, sont en général, capsulés, loculicides, ou septicides, se dissociant en coques, parfois bacciformes (**Quezel *et al*, 1962 in Betina-Bencharif, 2014**).

L'espèce vivace et rarement annuelle *Zygophyllum cornutum* pousse en buissons ramifiés, à feuilles composées par deux folioles cylindriques et charnues de même couleur que les rameaux (**Fig.3**). A l'aisselle des feuilles naissent de très petites fleurs à cinq pétales. Les fruits composés de cinq segments cornus au sommet prennent une coloration ocre-violacé à maturation (**Baba Aïssa, 1990**). Grace à ses racines horizontales qui parcourent de longs chemins pour atteindre les nappes souterraines, *Zygophyllum cornutum* s'adapte parfaitement au milieu désertique (**Betina-Bencharif, 2014**).

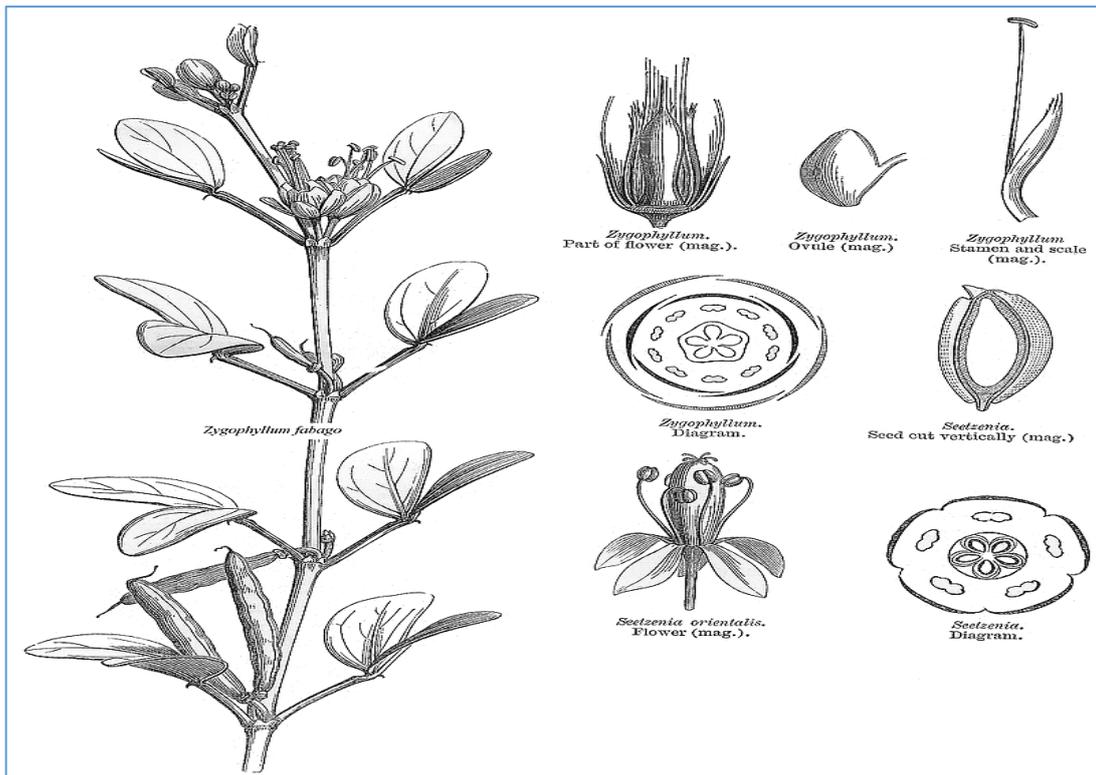


Figure 2 : Motifs de deux genres appartenant à la famille Caltrop (Zygophyllaceae) : *Zygophyllum* et *Seetzenia* (Watson et Dallwitz, 1992).

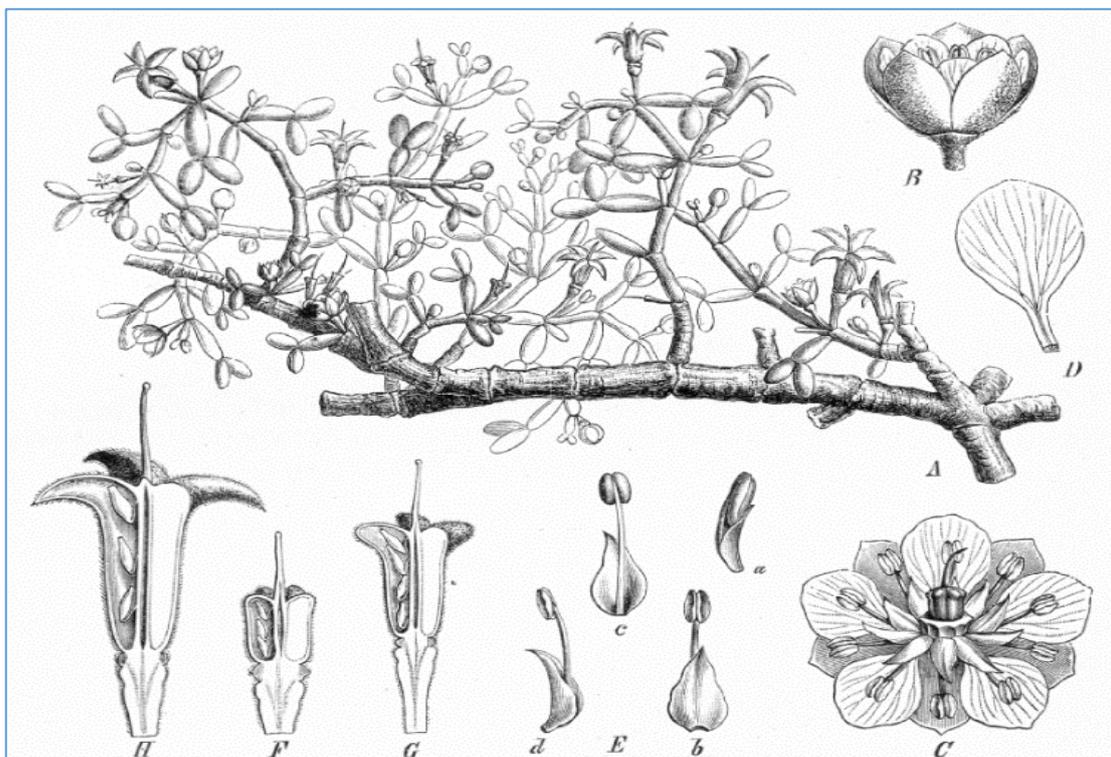


Figure 3 : Parties constitutives de l'espèce *Zygophyllum cornutum* (Engler, 1910).

4. Usage thérapeutique

En littérature scientifique, les plantes du genre *Zygophyllum* sont censées être des plantes médicinales, ainsi que dans le folklore. Leurs valeurs médicinales et leurs propriétés thérapeutiques sont bien documentées. Notamment, certaines sont recommandées contre le rhumatisme, la goutte, le diabète et l'hypertension. D'autres sont connues comme des antispasmodiques, anti-eczéma et comme remède contre les douleurs au niveau de l'estomac et le foie (**Ayad et al, 2012**).

L'*Aggaïa* est connue surtout dans le sud où elle est utilisée comme hypoglycémiant sous forme de poudre ou en infusion de sommités fleuries dont le goût est amer et salé. On l'emploie aussi pour les soins corporels des nourrissons et comme cicatrisant externe. Ce mode d'utilisation est connu au Maroc (**Baba Aïssa, 1990**).

5. Composition chimique

Il est indéniable que les plantes médicinales contiennent des composants qui exercent une activité biologique sur l'organisme. En réalité, chacune d'elle offrirait deux à trois cents composants différents. C'est de l'interaction entre ces différentes substances que naîtrait l'efficacité thérapeutique (**Betina-Bencharif, 2014**).

5.1. Constituants phytochimiques

Il a été signalé que les plantes appartenant au genre *Zygophyllum* sont riches en huiles essentielles, stérols, triterpènes, composés phénoliques, flavonoïdes et saponines. Les constituants phytochimiques précédemment isolés à partir des espèces du genre *Zygophyllum* sont présentés avec leurs classes et structures chimiques par **Shawky et al** en **2019**. Ceux isolés de l'espèce rapportée *Zygophyllum cornutum* sont : l'Isorhamnetin-3-O- β -rutinoside appartenant à la classe des flavonoïdes et le β -sitostérol appartenant à la classe des stérols.

5.2. Etudes biologiques

5.2.1. Activité antioxydante

L'un des effets les plus remarquables des membres du genre *Zygophyllum* est leur activité antioxydante. Une telle activité est attribuée à la présence des composés phénoliques comme cela a été rapporté dans le cas de *Zygophyllum cornutum* récemment en **2014**, toujours par **Shawky et al**, ainsi que dans d'autres espèces (*Zygophyllum album*,

Zygodphyllum coccenium, *Zygodphyllum hamiense*, *Zygodphyllum simplex* et *Zygodphyllum fabago*). Les extraits les plus actifs avec la plus haute activité antioxydante ; étaient ceux des alcools (méthanol et éthanol) suivis des extraits au dichlorométhane, alors que les extraits à l'hexane étaient peu actifs (**Bourgou et al, 2017**). En conséquence, le genre *Zygodphyllum* représente une source économique importante d'agents antioxydants.

5.2.2. Activité antidiabétique

Après avoir traité des rats diabétiques à l'E. Met de *Zygodphyllum cornutum*, une diminution significative de la glycémie a été constatée à partir de la deuxième semaine. L'effet hypoglycémiant de l'E. Met de *Zygodphyllum cornutum* peut être attribué à sa teneur en saponines (**Boumaza et al, 2016**).

Chapitre 2

Toxicologie génétique

1. Génotoxicité

L'acide désoxyribonucléique (ADN) est le support universel de l'hérédité contenant l'information génétique des êtres vivants. Il assure le fonctionnement cellulaire des organismes et permet à la cellule de rester réactive aux messages de son environnement (Cécile, 2011). Le terme de génotoxicité se réfère à l'effet d'agents physiques ou chimiques, dits génotoxiques qui interagissent de façon directe ou indirecte avec la machinerie cellulaire et/ou avec l'ADN (Bolt et Degen, 2004) qui subit quotidiennement un très grand nombre d'agressions de sources endogènes ou exogènes (Homeijmakers, 2001). Ces lésions d'ADN 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 conséquences pour la cellule. Si la réparation est imparfaite, incomplète ou absente, les lésions vont 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) (Bolt et Degen, 2004). En cas d'atteinte du génome des cellules germinales, l'effet génotoxique risque d'entraîner une toxicité vis-à-vis de la reproduction et/ou un risque théorique de transmission des mutations à la descendance (Meek *et al*, 2003 ; Thybaud *et al*, 2007).

2. Dommages à l'ADN

2.1. Dommages endogènes

2.1.1. Désamination spontanée de la base

La désamination des bases est une source majeure de mutagenèse spontanée dans les cellules humaines, où la cytosine (C), l'adénine (A), la guanine (G) (Fig.4A) et la 5-méthyl-C (5mC) présentes dans l'ADN deviennent leur amine exocyclique pour devenir respectivement de l'uracile (U), hypoxanthine, xanthine et thymine (T) (Fig.4B) (Lindahl, 1993 ; Yunekura *et al*, 2009).

2.1.2. Sites abasiques

Des sites abasiques (AP) (apuriniques/aprimidiques) sont créés en permanence dans l'ADN lorsque la liaison N-glycosyle, qui relie la base azotée et le squelette du phosphate de sucre s'hydrolyse spontanément ou est clivée par une ADN-glycosylase (Lindahl et Barnes, 2000). Les conditions de pH extrêmes et les températures élevées ont un impact positif sur leur génération (Lindahl, 1993).

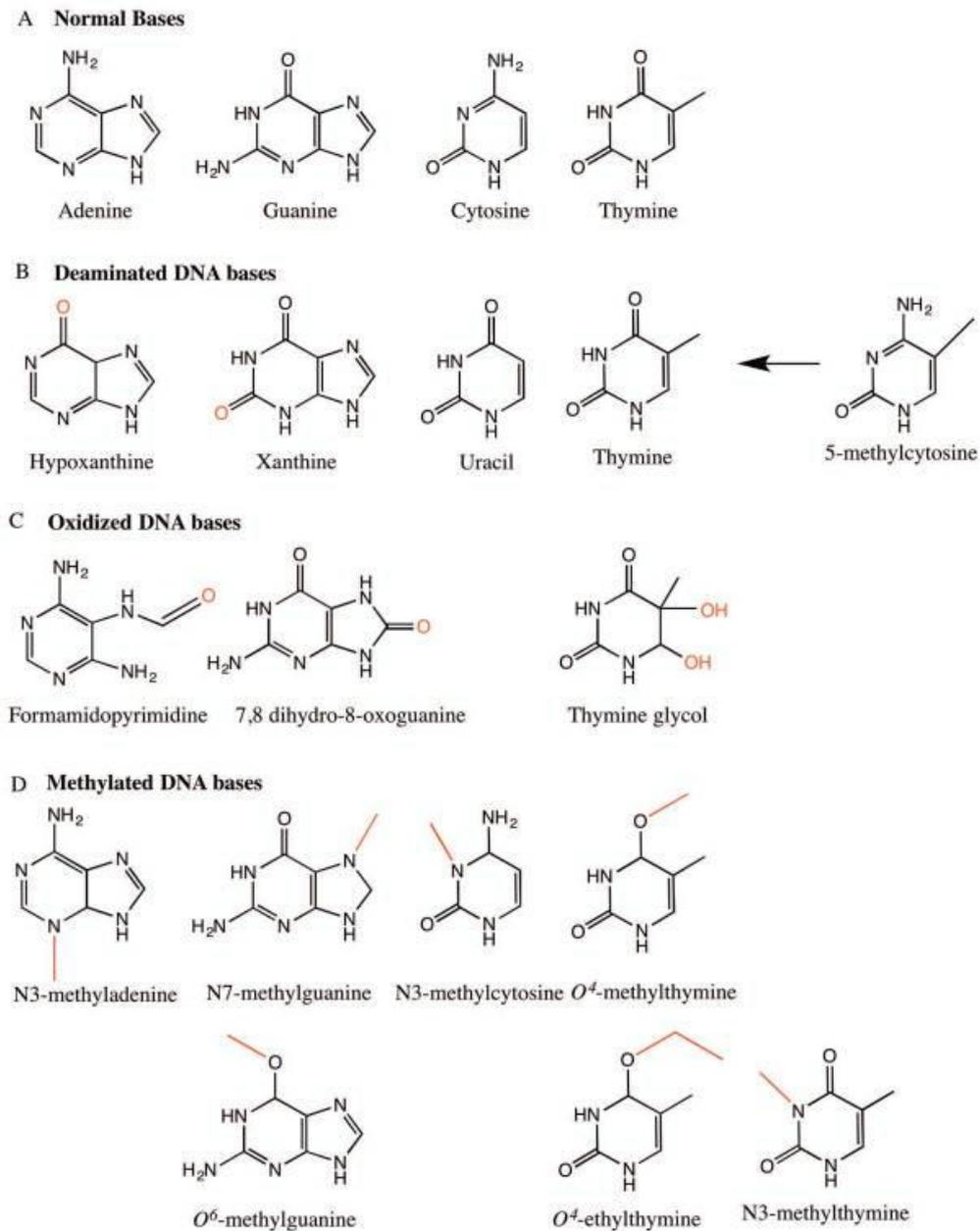


Figure 4 : Lésions communes à base d’ADN : **A)** Structures normales des bases d’ADN ; **B)** Bases désaminées ; **C)** Bases oxydées ; **D)** Bases méthylées (Chatterjee et Walker, 2017).

2.1.3. Dommages oxydatifs

Les dérivés réactifs de l’oxygène (O) (DRO) sont les sous-produits typiques de la chaîne de transport d’électrons lors de la respiration cellulaire d’organismes aérobies. Ils sont en outre dérivés d’oxydases cataboliques, de processus anaboliques et du métabolisme peroxysomal (Henle et Linn, 1997). En excès, les DRO peuvent provoquer au total environ 100 lésions de bases oxydantes différentes (Bjelland et Seeberg, 2003). Les DRO les plus

remarquables sont le radical superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle (OH) (**Fig.4C**) (**Tropp, 2011**).

2.1.4. Méthylation d'ADN

La S-adénosylméthionine (SAM), utilisée comme donneur de méthyle par les méthyltransférases dans les réactions de méthylation normales, peut générer spontanément jusqu'à 4000 N7-méthyl-G, 600 N3-méthyl-A et 10 à 30 O6-méthyl-G par cellule et par jour chez les mammifères (**Rydberg et Lindahl, 1982**). Ce dernier et les résidus apparentés O4-méthyl-T et O4-éthyl-T (**Fig.4D**) sont fortement mutagènes et produisent des mutations de transitions $G : C \rightarrow A : T$ et $T : A \rightarrow C : G$ respectivement. En revanche, la N3-méthyl-A n'est que partiellement cytotoxique en raison de l'inhibition de la synthèse de l'ADN, alors que le résidu N7-méthyl-G est essentiellement inoffensif sauf s'il subit un clivage spontané pour générer un site AP (**Larson et al, 1985**). Les autres lésions méthyliques mineures produites par SAM sont les mutagènes N3-méthyl-T et N3-méthyl-C (**Boiteux et Laval, 1982**).

2.2. Dommages exogènes

2.2.1. Rayonnements ionisants (RI)

Les RI, composés d'alpha, de bêta, de gamma, de neutrons et de rayons X, sont abondants dans notre environnement et proviennent de sources diverses, allant des roches, des sols et du radon, aux rayonnements cosmiques et aux dispositifs médicaux. Les RI produisent un spectre de lésions basales similaire à celui généré par les DRO : les lésions majeures incluent la 8-oxo-guanaïne, la T glycol et les formamidopyrimidines (**Desouky et al, 2015**). Outre les lésions de base, les RI provoquent également des ruptures d'un seul brin. Une lésion induite par les radiations particulièrement importante est la rupture à double brin, formée de multiples sites endommagés situés près des deux brins d'ADN (**Hutchinson, 1985**).

2.2.2. Rayonnements ultraviolets (UV)

En règle générale, les rayons UV sont classés en trois classes en fonction de la plage de longueur d'onde : UV-C (190–290 nanomètres), UV-B (290–320 nm) et UV-A (320–400nm). L'ADN absorbe le rayonnement ultraviolet maximal à 260 nm, au-delà duquel la photoabsorption chute considérablement (**Davies, 1995**). Les UV-C endommagent l'ADN

principalement en créant des liaisons covalentes entre deux pyrimidines adjacentes. Les deux principaux photoproduits sont les dimères de cyclobutane pyrimidine (**Fig.5A**) et la pyrimidine (6-4) pyrimidone (**Fig.5B**) (**Varghese, 1972**). D'autres photoproduits mineurs sont également générés, tels que l'hydrate de pyrimidine, la T glycol et les adduits de dipurine.

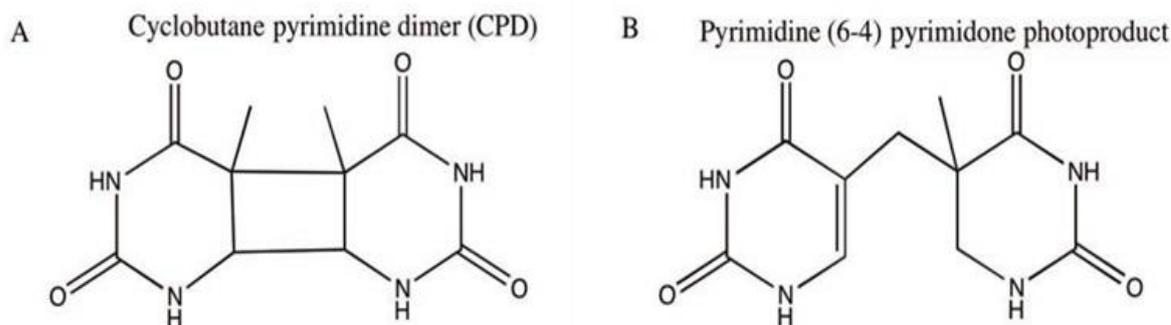


Figure 5 : Principales lésions de base d'ADN induites par les rayons UV : **A**) Dimères de cyclobutane pyrimidine ; **B**) Photoproduit de pyrimidine (6-4) pyrimidone (**Chatterjee et Walker, 2017**).

2.3. Agents chimiques exogènes

2.3.1. Agents d'alkylation

Les agents alkylants exogènes réagissent avec une affinité accrue pour les azotes (N), en particulier le N7 de la G et le N3 de l'A, et un peu moins avec les O (**Singer et Kusmierek, 1982**). Ceux qui sont les plus couramment utilisés dans les laboratoires, notamment le méthanesulfonate de méthyle (MMS), le méthanesulfonate d'éthyle (EMS), la N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) et la méthylnitrosourée (MNU) (**Fig.6**) réagissent avec l'ADN pour générer des lésions mutagènes et cancérogènes (**Wyatt et Pittman, 2006**).

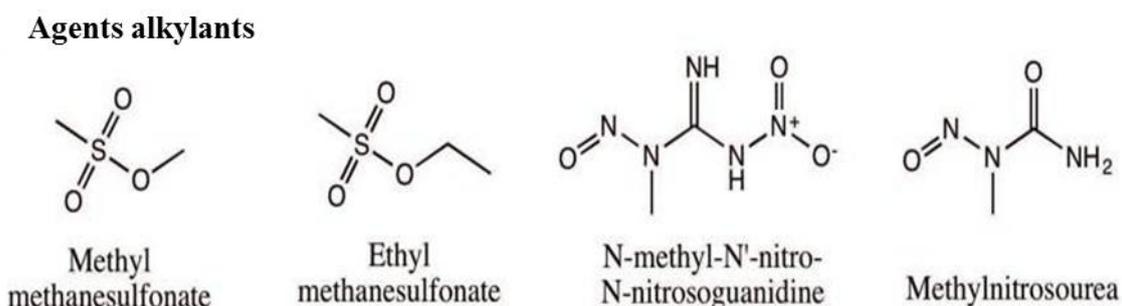


Figure 6 : Structure d'agents d'alkylation (**Chatterjee et Walker, 2017**).

2.3.2. Amines aromatiques

Lors de l'activation par le système monooxygénase P450, les amines aromatiques sont converties en agents alkylants carcinogènes (ester et sulfate) qui attaquent la position C8 de la G (**Hammons, 1997**). Les exemples d'amines aromatiques les plus étudiés sont le 2-aminofluorène (AF) et son dérivé acétylé, le N-acétyl-2-aminofluorène (AAF) (**Fig.7**) (**Kriek, 1992**). Les lésions de G C8 formées à partir d'aminofluorènes sont connues pour former des lésions persistantes qui donnent lieu à des substitutions de bases et à des mutations de décalage de trame (**Mah et al, 1989**).

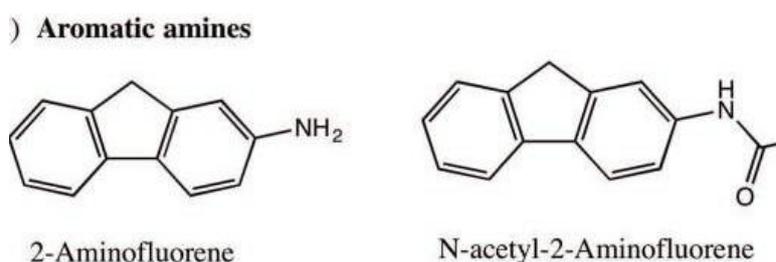


Figure 7 : Structure des amines aromatiques (**Chatterjee et Walker, 2017**).

2.3.3. Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Les HAP sont des composés du carbone avec deux cycles aromatiques ou plus et sont généralement connus pour être des cancérogènes inertes, non polaires et largement répandus dans l'environnement (**Harvey, 1991**). Ils dépendent du système P450 du foie pour générer des intermédiaires réactifs qui réagissent avec l'ADN (**Phillips, 1983**). Le naphthalène, l'anthracène, le pyrène, le 1-hydroxypyrène, le 1-nitropyrène, le benzo (*a*) pyrène et le dibenzo [*a, l*] pyrène (**Fig.8**) sont des exemples notoires de HAP.

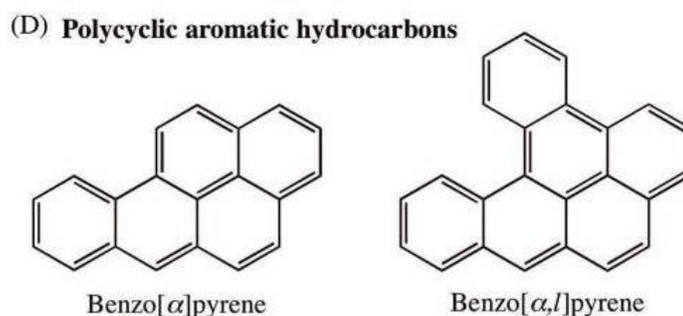


Figure 8 : HAP : benzo (*a*) pyrène et dibenzo [*a, l*] pyrène (**Chatterjee et Walker, 2017**).

2.3.4. Toxines

Les toxines naturelles constituent une classe de composés génotoxiques et cancérigènes, qui sont normalement utilisées par les microorganismes ou les champignons dans les réponses de défense (Ames *et al*, 1990). Les expositions humaines et animales résultent de la contamination de céréales, d'oléagineux, d'épices, de noix, de lait et de produits laitiers (Lopez *et al*, 2002). Les aflatoxines sont des toxines naturelles d'*Aspergillus flavus* et d'*Aspergillus parasiticus*, dont l'aflatoxine B1 (Fig.9) est l'agent cancérigène le plus puissant pour le foie (Bennett et Klich, 2003).

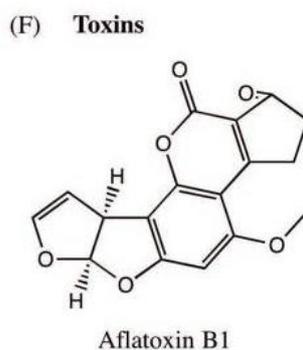


Figure 9: Structure d'Aflatoxine B1 (Chatterjee et Walker, 2017).

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

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

3.1. Réparation des dommages simples de bases d'ADN

3.1.1. Réparation par inversion des dommages

Trois mécanismes majeurs de réparation directe de l'ADN ont été identifiés à ce jour : 1) Les photolyases qui inversent les photolésions induites par la lumière UV ; 2) Les O6-Alkyl-G-ADN-Alkyltransferases qui inversent un ensemble de dommages à l'ADN O-alkylé ; 3) Les dioxygénases qui inversent les produits d'addition des bases alkylées (Fig.10) (Friedberg *et al*, 2005).

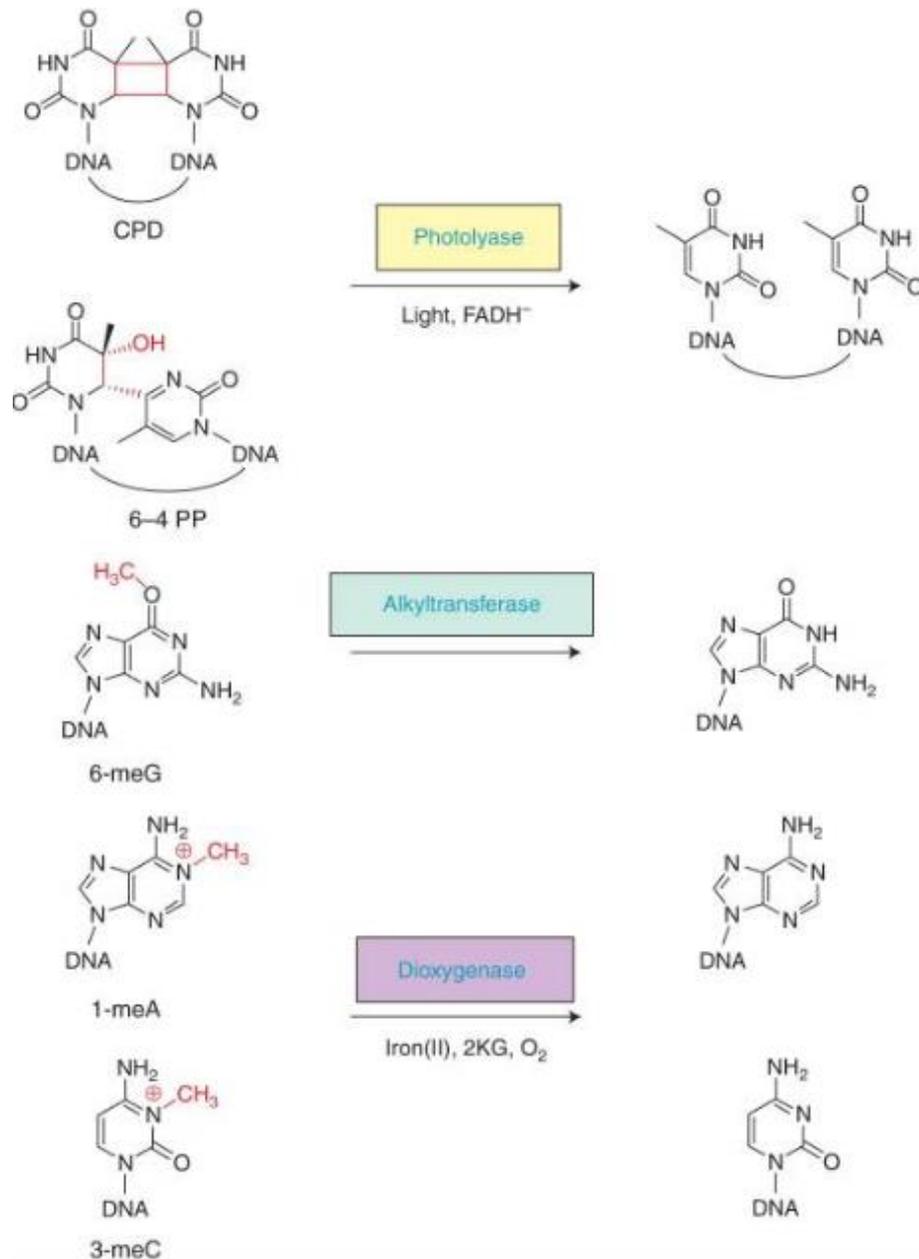


Figure 10 : Voies directes de réparation de d'ADN : substrats représentatifs, protéines de réparation et cofacteurs, et produits de réparation correspondants (Yi et He, 2013).

3.1.2. Réparation par excision de base (BER)

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

3.2. Réparation de dégâts de base multiples et volumineux

3.2.1. Réparation par excision de nucléotides (NER)

NER est une voie de réparation importante de l'ADN qui élimine une grande variété de lésions de base, notamment les photoproduits induits par les rayons UV et les dimères de cyclobutane pyrimidine (CPD). Le NER de mammifères comprend deux sous-voies : le génome global NER (GG-NER), qui opère dans tout le génome, et le NER couplé à la transcription (TC-NER), qui est spécialisé dans l'élimination des lésions du brin transcrit de gènes actifs (**Tornaletti et Hanawalt, 1999**).

3.2.2. Réparation de mésappariement/Mis-Match (MMR)

La voie MMR s'occupe de la correction des mésappariements de substitution de bases générées lors de la réplication d'ADN, et celles du mécanisme d'insertion-délétion au sein de séquences d'ADN répétitives résultant d'événements de glissement de brins (**Kunkel et Erie, 2005 ; Jiricny, 2006**). Les protéines impliquées dans le système MMR participent à une grande variété de transactions d'ADN, de sorte que leur inactivation peut avoir de profondes conséquences biologiques sur les microbes, les populations microbiennes et les organismes multicellulaires (**Kunkel et Erie, 2005**).

3.3. Réparation des cassures des brins d'ADN

3.3.1. Réparation de rupture simple brin

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

3.3.2. Réparation de rupture double brin

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

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

4. Tests de génotoxicité

Il existe de nombreuses techniques permettant d'identifier et de mesurer les dommages causés à l'ADN lors de l'exposition à un agent génotoxique présumé. Les informations résultant de ces mesures pourraient éventuellement être développées pour quantifier le niveau de génotoxicité induite par les toxines environnementales et les cancérigènes, ou même pour diagnostiquer les stades précoces de la maladie. Cependant, ces techniques bien que fiables, elles ont souvent une application tissulaire limitée, nécessitent un grand volume d'échantillons, elles sont limitées soit par l'instrumentation avancée et les compétences nécessaires pour effectuer les analyses, soit par le temps nécessaire et par les informations limitées obtenues concernant les types de dommages à l'ADN générés. Les progrès récents des méthodes cellulaires ont abouti à la collecte rapide et simple de données fiables et spécifiques sur le niveau du dommage et l'identité de ses produits (Roy, 2018).

4.1. Tests cytogénétiques

4.1.1. Détection des aberrations chromosomiques (AC)

Les AC comprennent l'aneuploïdie (nombres anormaux de chromosomes) ainsi que les anomalies structurales stables (équilibrées, durant lesquelles il n'y a pas de perte/gain de matériel génétique ; alors que cela caractérise les déséquilibrées) ou instables (fragments acentriques, dicentriques et cycliques) générées dans un ou plusieurs chromosomes. L'essai a 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/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 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.

4.1.2. Echange de chromatides sœurs (SCE)

Les échanges réciproques de fragments chromosomiques entre deux chromatides homologues du même chromosome lors de la réplication d'un ADN endommagé sont identifiés comme des SCE (Wolff et Perry, 1974). Les SCE peuvent survenir uniquement lorsque les dommages à l'ADN n'ont pas été éliminés avant que la cellule n'atteint la phase

S du cycle cellulaire. Ainsi, lorsque les chromatides sœurs condensés se couplent, des échanges ont lieu entre des séquences d'ADN identiques proches les unes des autres (**Udroiu et Sgura, 2017**). Dans le test SCE, les cellules de mammifère sont exposées à l'agent et développées pendant deux cycles de réplication dans un milieu contenant de la 5-bromo-2-désoxyuridine (5-BrdU). Après avoir été traitées avec un agent inhibiteur de fuseau tel que la colchicine pour arrêter les cellules au stade métaphase de la mitose, les cellules sont collectées et les chromosomes sont préparés pour l'observation avec la procédure de fluorescence plus Giemsa (FPG) (**Fig.11**) (**Russo, 2000**).

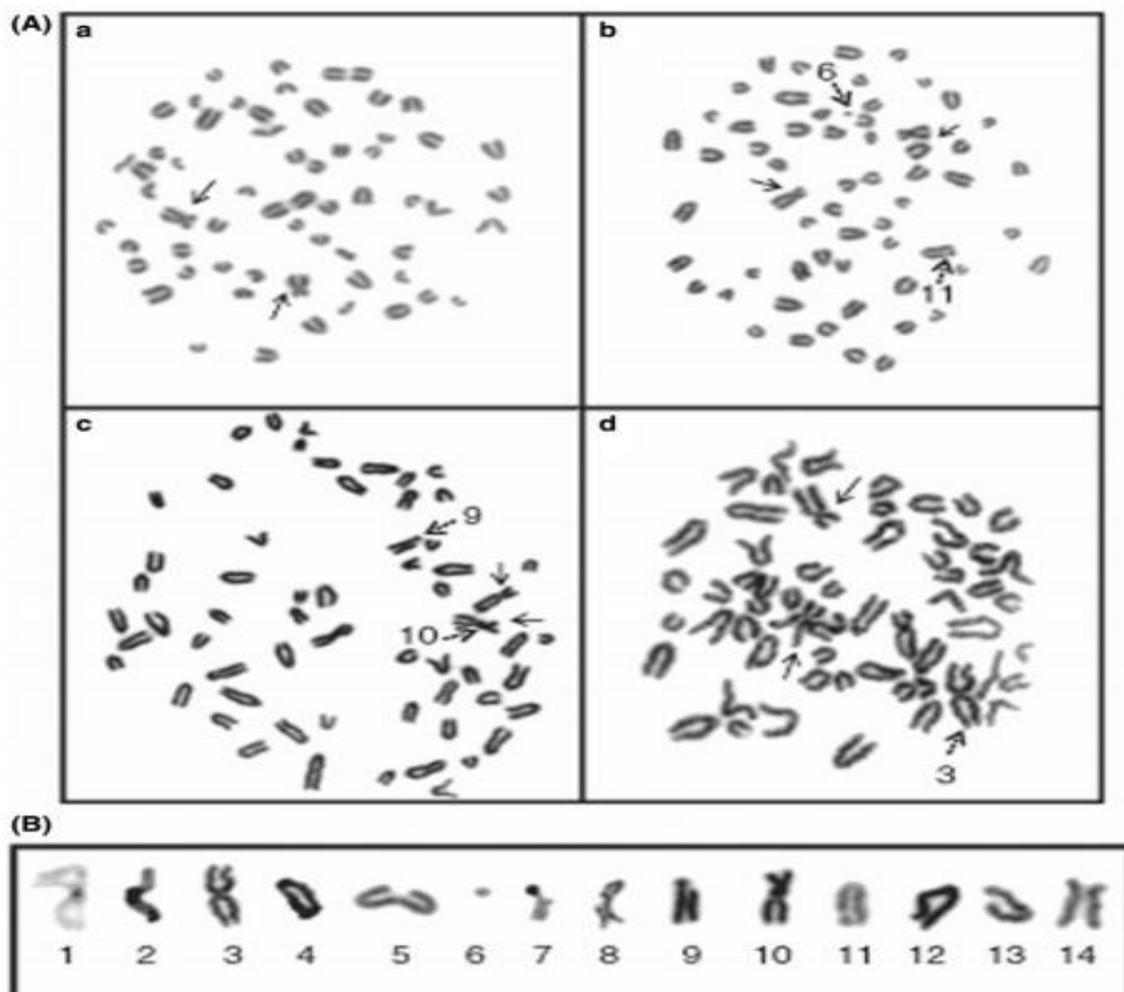


Figure 11 : Métaphase lymphocytaire périphérique de bovins normaux (a) et infectés par le virus du papillome (b-d) visualisée par la coloration de Giemsa. Les chromosomes X sont indiqués par des flèches noires et les aberrations par des flèches en pointillés. Les numéros de flèche indiquent différents types d'aberrations illustrées en (B) : associations centriques (1-3), association télomérique (4), association télomérique par un seul chromatide (5), fragment acentrique (6), rupture de chromatide (7-9), rupture de chromosome (10), espace vide (11), ajout ou suppression de segment de chromosome (12,13) et ségrégations précoces de chromatides (14) (**Melo et al, 2011**).

4.1.3. Test micronoyaux (MN)

Un MN apparaît lors de la mitose lorsqu'un chromosome/chromatide entier(e) ou un fragment chromosomique ne sont pas inclus dans les noyaux filles en raison de la non-fixation correcte au fuseau pendant la ségrégation (**Fenech, 2010**). L'évaluation des variations des fréquences des MN est réalisée au moyen d'un dosage cytogénétique validé, qui mesure les effets génotoxiques d'agents chimiques et physiques, à la fois in « *vivo* » et in « *vitro* ». De plus, la coloration aux anticorps anti-kinétochores CREST permet la distinction des MN entre ceux contenant des fragments chromosomiques et ceux avec un chromosome entier (**Udroiu et al, 2006**).

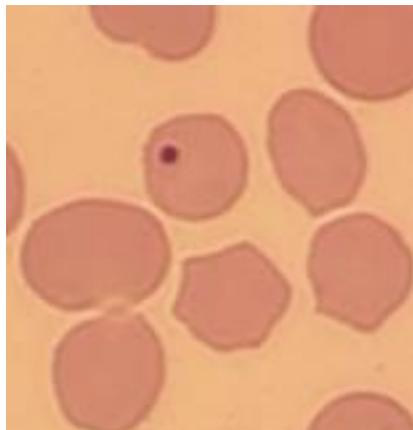


Figure 12 : Frottis sanguin d'un cheval (*Equus caballus*) teinté avec Giemsa. Un érythrocyte micronucléé est clairement visible au centre (**Udroiu et Sgura, 2017**).

4.2. Test des comètes

Également appelé électrophorèse sur gel monocellulaire ou électrophorèse sur micro-gel, a été décrit par **Ostling et Johanson en 1984**. Dans cet essai, les cellules sont déposées sur une lame en verre, recouvertes d'agarose puis lysées dans une solution saline et un détergent qui sert pour éliminer les composants cellulaires solubles, les membranes et les histones. La révélation se réalise à l'aide d'un colorant de liaison à l'ADN fluorescent et l'observation suscite l'utilisation de microscopie à fluorescence (**Turkez et al, 2017 ; Udroiu et Sgura, 2017**). L'ADN non endommagé et composé de grands brins conserve une association très organisée, ce qui ralentit son déplacement. D'autre part, les petits fragments d'ADN migrent plus rapidement. Ainsi, l'image de fluorescence ressemble à une comète (**Fig.13**) (**Tice et al, 2000**).

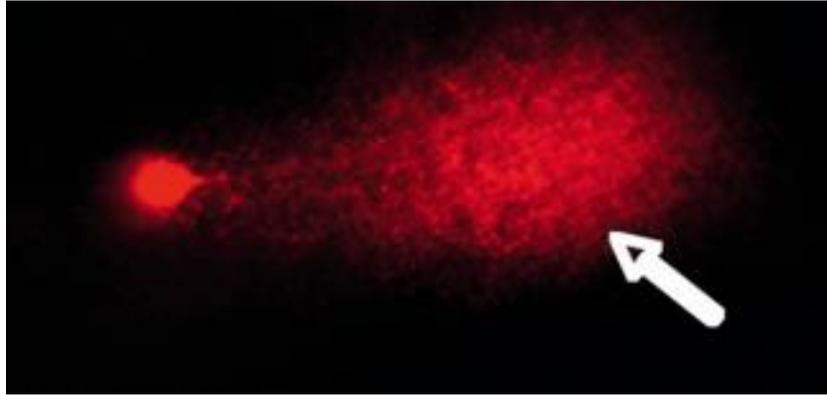


Figure 13 : Évaluation des dommages à l'ADN des spermatozoïdes à l'aide du test des comètes : deux noyaux, dont l'un (fragmenté) se présente sous forme de comète (Li *et al*, 2007).

4.3. Essai de mutation réverse sur les bactéries (test d'Ames)

Les essais bactériens de mutation réverse utilisent des cellules procaryotes qui diffèrent des cellules de mammifères, notamment du point de vue du transport, du métabolisme, de la structure des chromosomes et des processus de réparation de l'ADN. Ils sont pratiqués sur des souches de *Salmonella typhimurium* et d'*Escherichia coli* auxotrophes à l'égard d'un acide aminé (histidine/tryptophane). Ils servent à détecter des mutations ponctuelles résultant de la substitution, de l'addition ou de la délétion d'une ou de quelques paires de bases de l'ADN. Le principe repose sur la détection de mutations qui inversent des mutations déjà présentes dans la souche d'essai et rétablissent ainsi la capacité fonctionnelle des bactéries de synthétiser un acide aminé indispensable. Les révertants sont détectés d'après leur capacité de se développer en l'absence de l'acide aminé requis par la souche d'essai parentale. (Ames *et al*, 1975 ; Ames et Dorothy, 1983 ; Gatehouse *et al*, 1994). Le nombre de colonies révertantes induites spontanément est relativement constant. Cependant, lorsqu'un mutagène est ajouté, ce nombre va augmenter, généralement en fonction de la dose introduite (Turkez *et al*, 2017 ; Mortelmans et Zeiger, 2000).

4.4. Bioindicateur de génotoxicité (test d'*Allium cepa*)

Le potentiel économique du matériel génétique d'espèces médicinales est un atout qu'il convient de préserver et de développer, ce qui en fait une forme de thérapie alternative plus abordable pour le grand public, tout en préservant la diversité génétique des plantes. Pour que cela devienne une réalité, des études sur la caractérisation de ces plantes à plusieurs

niveaux, biologique et/ou agronomique, sont essentielles, y compris la capacité de leurs extraits agissant sur d'autres organismes vivants.

L'étude de mutagènes dans les noyaux eucaryotes a été observée par des méthodes cytologiques. Il est connu qu'une mutation peut résulter d'une action de radiations, de médicaments et de virus, comme d'une stabilité intrinsèque des acides nucléiques. Sur ce compte, les mutagènes peuvent être détectés cytologiquement par inhibition cellulaire ; perturbation en métaphase ; induction d'AC, numériques et structurelles, en allant de la fragmentation chromosomique jusqu'à la désorganisation du fuseau mitotique, et par conséquent de toutes les phases mitotiques (PM) ultérieures dépendantes (**Tedesco et Laughinghouse, 2012**).

L'analyse des AC sert de test de mutagénicité et est l'une des rares méthodes directes de mesure des dommages dans les systèmes exposés à d'éventuels agents mutagènes ou cancérogènes. Pour permettre l'évaluation des effets ou des dommages que les agents mutagènes pourraient causer, il est nécessaire de faire pousser des racines d'une plante vasculaire en contact direct avec l'échantillon en maintenant les cellules du méristème racinaire en division mitotique constante, cherchant à identifier et prédire les effets toxiques et les modifications éventuelles se produisant au cours d'un cycle cellulaire (**Silva et Fonseca, 2003**). Pour ce faire, Parmi les espèces *Allium*, *Allium cepa* (l'oignon commun) s'est avérée la plus utile et a été maintes fois suggérée comme matériel de test standard (**Stich et al, 1975**). Son utilisation a été introduite par **LEVAN** en **1938**, lors de l'étude des effets de la colchicine. Elle a été utilisée principalement comme un bioindicateur de la pollution environnementale (**Bagatini et al, 2009**), ainsi que pour évaluer le potentiel génotoxique des plantes médicinales (**Camparoto et al, 2003**). D'autres essais biologiques peuvent être réalisés cette fois si avec les graines d'*Allium cepa* placées pour germer dans un incubateur à demande biochimique en O et à température contrôlée, ces essais sont utilisés pour les tests d'allélopathie et l'évaluation de la génotoxicité (**Tedesco et Laughinghouse, 2012**).

Dans un atelier sur « les systèmes de plantes supérieures en tant que contrôleurs de mutagènes environnementaux » il a été déclaré : “ *les systèmes végétaux semblent particulièrement bien adaptés à la recherche dans les domaines des mécanismes de base, du criblage et de la surveillance de l'environnement* ” (**DE SERRES, 1978**).

Allium cepa, communément appelée l'oignon, est une plante bulbeuse largement cultivée dans presque tous les pays du monde, avec une production de premier plan en Chine,

en Inde et aux États-Unis (Akash *et al*, 2014). C'est une espèce de jardin bisannuelle, ayant un scape apparaissant la deuxième année, de 2 à 4 pieds d'hauteur, nu, lisse, droit, trapu, gonflé à la base et fistuleux. Les feuilles sont rondes et fistuleuses, de couleur vert brillant, aiguës et plus courtes que la tige (Fig.14). La partie utilisée est le bulbe, il est tunique, comprimé ou rond, ou de forme oblongue, recouvert d'une membrane brillante, mince et sèche, de couleur rougeâtre ou blanche (Kumar *et al*, 2010).

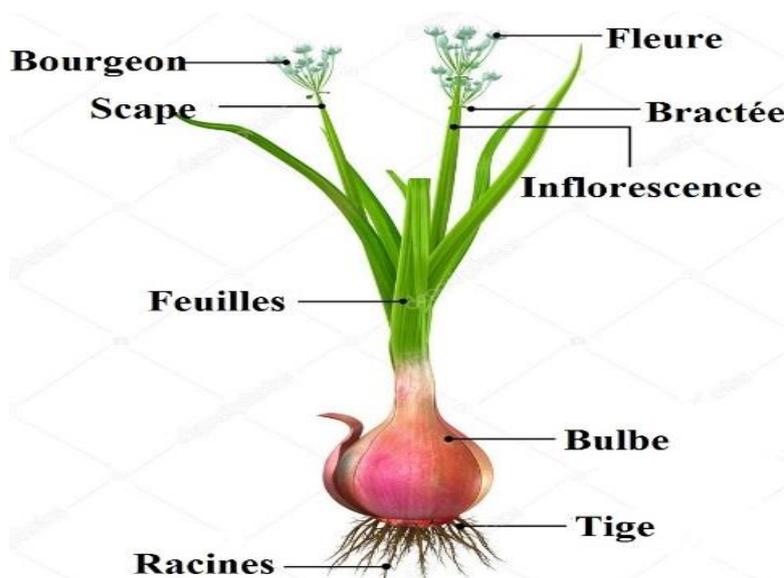


Figure 14 : Illustration de l'espèce *Allium cepa* (sciencepics).

Toute population d'*Allium cepa* possède ($2n = 16$) chromosomes larges et longs, ce qui facilite l'identification des AC après simple coloration et montre une bonne corrélation avec d'autres systèmes de tests biologiques (Vander, 1993)

Tableau 2 : Taxonomie de l'espèce *Allium cepa* (Kumar *et al*, 2010).

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

Partie 2

Expérimentation

Chapitre 1

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Récolte et préparation de la plante étudiée

Nous présentons ci-dessous les informations relatives à la récolte de la plante médicinale étudiée dans le présent travail, *Zygophyllum cornutum*. L'espèce sélectionnée a été collectée dans le Sahara Algérien, région d'El-Bayad (wilaya d'El-Oued) entre le mois de Février et Mars 2018. La partie aérienne (feuilles, fleurs et tiges) de *Zygophyllum cornutum* a été séchée à l'abri de la lumière du soleil puis broyée et tamisée en poudre fine prête à l'utilisation.

1.2. Souches bactériennes

L'activité antibactérienne des extraits de la plante a été évaluée en utilisant des souches de référence de l'American Type Culture Collection (ATCC) (**Tab.3**), aimablement fournies par l'institut Pasteur d'Alger. Les souches ont été conservées à 4°C dans des tubes à essai contenant de la gélose nutritive inclinée, au laboratoire de microbiologie, département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et l'univers, Université 08 mai 1945.

Tableau 3 : Souches bactériennes utilisées dans l'étude de l'effet antibactérien des extraits de *Zygophyllum cornutum*.

Souche	ATCC	Famille	Gram
<i>Escherichia coli</i>	25922	Enterobacteriaceae	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Pseudomonadaceae	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Staphylococcaceae	+

2. Méthodes

2.1. Préparation des extraits

2.1.1. Extrait méthanolique (E. Met)

L'E. Met utilisé dans la présente étude a été préparé en 2018 par macération de 1200g de la poudre à température ambiante dans du méthanol 70% à raison de 25% (P/V) avec agitation de temps en temps. Après filtration, le filtrat a été évaporé à 45°C en utilisant un

évaporateur rotatif. Le résidu final a été lyophilisé et conservé dans un flacon sombre hermétiquement fermé.

2.1.2. Extrait aqueux (E. Aq)

L'E. Aq de *Zygophyllum cornutum* a été préparé par décoction pendant 10 minutes dans de l'eau distillée à différentes concentrations (2, 4, 6, 8, 10 et 12 mg/ml). Après refroidissement à température ambiante, les extraits sont filtrés avec du papier filtre pour éliminer les particules des poudres. Un filtrat prêt à l'utilisation a été obtenu (**Ben Ammar et al, 2008**).

2.2. Etude de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'E. Met et l'E. Aq de *Zygophyllum cornutum* a été réalisée par la méthode de diffusion de disques. L'extrait de la plante diffuse de son réservoir à travers le milieu d'agar qui estensemencé avec le microorganisme à tester. Généralement, le réservoir est un disque de papier filtre de 6mm de diamètre (D) placé sur une surface d'agar. Si l'extrait de la plante est microbiologiquement actif, une zone d'inhibition (halo) se développe autour du disque après l'incubation. Le D de la zone d'inhibition décrit proprement le pouvoir antibactérien de l'extrait à tester (**Horvath et al, 2016**).

Pour l'E. Aq, les concentrations testées sont (2, 4, 6, 8, 10 et 12 mg/ml). Pour l'E. Met les concentrations testées sont (20, 50, 100, 500 et 1000 µg/ml) préparées à partir d'une solution mère (SM) de 10mg/ml. Les dilutions de l'E. Met sont préparées dans de l'eau distillée (EDS).

2.2.1. Préparation de l'inoculum

Les espèces bactériennes sont d'abord repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri contenant un milieu d'isolement non sélectif (gélose nutritive) et incubées à 37°C pendant 18 heures afin d'optimiser leur croissance. Une ou plusieurs colonies pures et bien isolées sont raclées à l'aide d'une anse de platine flambée par la flamme du bec Benzène puis refroidit. Cette dernière est déchargée dans 5 ml d'EP stérile contenue dans des tubes à essai stériles. La suspension bactérienne est par la suite homogénéisée à l'aide d'un Vortex, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une densité optique de 0,08 à 0,10 à 625 nm.

2.2.2. Ensemencement et dépôt des disques

Le milieu de culture Mueller Hinton constitue le milieu universellement utilisé pour déterminer l'activité antibactérienne « *in vitro* ». Un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, essoré en pressant fermement sur la paroi interne du tube puis frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Les disques de papier filtre stériles imprégnés de 10 µl d'extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

- Contrôle positif : des disques standards contenant les antibiotiques de référence (Gentamycine (GEN) 10 µg/disque et Amikacine (AK) 30 µg/disque) servent de témoin positif.
- Contrôle négatif : Bien que le choix de la méthode d'extraction puisse avoir un effet significatif sur la qualité de l'extrait, le solvant utilisé constitue le moyen le plus évident d'influencer la composition qualitative de l'extrait. La toxicité du solvant employé peut être critique. L'attention devrait être prêtée aux interactions possibles entre le solvant et les corps dissous, car le solvant peut réagir avec certains composés pour produire des complexes ou pour causer la décomposition, la déshydratation, ou l'isomérisation de ces composés (Nyiredy, 2000). Pour cela, des disques de papier filtre stériles sont imprégnés de 10 µl avec le solvant de choix qui est l'EDS.

2.3. Etude de l'effet génotoxique (test d'*Allium cepa*)

2.3.1. Préparation des solutions

Des concentrations variables de solutions de l'E. Met de *Zygophyllum cornutum*, à savoir 10 et 12 mg/l ont été préparées à partir de l'E. Met brut.

2.3.2. Culture des bulbes et conditions de croissance

Le test d'*Allium cepa* a été réalisé selon la procédure décrite par Fiskesjö en 1985 et Rank en 2003. Les bulbes d'oignons sains et proches de taille ont été obtenus sur un marché...a.... Le choix des bulbes a été effectué soigneusement selon la taille (D variant entre 30-50 mm), le poids (40-60 g), la qualité (racines non abimées, non sèches et plaque primordial de couleur blanche) et l'apparence (dureté, couleur et brillance des écailles

extérieurs). Avant l'utilisation, les écailles externes lâches de couleur jaune brunâtre ont été précautionneusement retirées et les plaques de fond sèches ont été raclées sans détruire l'anneau des racines, pour l'émergence de nouvelles racines (El-Shahaby *et al*, 2003). La procédure du test a été réalisée à la température ambiante et à l'abri de la lumière directe du soleil.

Pour mettre en place l'expérience permettant la croissance des racinelles, tous les bulbes ont été placés initialement dans des petits gobelets en plastique transparent de 50 ml contenant de l'ES pendant 48 heures afin que les racinelles puissent émerger. L'ES a été renouvelée toutes les 24 heures (Tedesco et Laughinhouse, 2012).

L'expérience a commencé lorsque les nouvelles racines émergentes avaient atteint 15 à 20 mm de long. Le bulbe ayant la plus faible croissance dans chaque série a été jeté et les cinq autres ont été transférés dans d'autres récipients propres et secs, comprenant les solutions de traitement (Fig.15). Les gobelets en plastique déjà utilisés pour le traitement de contrôle peuvent être réutilisés, afin de minimiser l'effet du plastique sur l'environnement. Toutes les 24 heures, les solutions de test étaient remplacées par des solutions fraîches. Les racines nouvellement émergées sont exposées aux solutions de traitement pendant 48 heures (El-Shahaby *et al*, 2003 ; Tedesco et Laughinhouse, 2012 ; Boumaza *et al*, 2017).



Figure 15 : Lots de bulbes traités par l'ES, 10 et 12 mg/l d'E. Met.

2.3.3. Analyse macroscopique

Des signes de toxicité, tels que des modifications de la consistance et de la couleur des racines et la présence de tumeurs, de racines en crochet et de racines tordues, ont également été examinés (Fernández *et al*, 2016).

2.3.4. Fixation des extrémités racinaires

Après l'achèvement de la durée de l'exposition aux solutions traitantes (48 heures, ce qui est proche à deux cycles cellulaires), les racines (5 racines par bulbe d'oignon soit 25 racines par concentration) ont été coupées précocement à l'aide d'un ciseau et recueillies immédiatement dans 2,5 ml d'un mélange d'éthanol et d'acide acétique glacial (3 : 1) fraîchement préparé à 4°C pendant 24 heures (**Liman *et al*, 2010**) (**Fig.16**). Ce mélange (Fig.) appelé solution fixatrice de Carnoy est très instable, il peut se produire une estérification si la préparation n'est pas au moment de l'utilisation. L'éthanol a pour effet de précipiter et dénaturer les protéines, de dissoudre certains lipides et de durcir les tissus. L'acide acétique est un bon fixateur de chromosomes, il précipite les protéines du noyau (**Cotelle *et al*, 1999**). Ensuite, les extrémités racinaires ont été conservées dans 2,5 ml d'éthanol à 70% à 4°C jusqu'au moment de l'utilisation (**Liman *et al*, 2010**). Il est important de souligner que toute la verrerie utilisée pour conserver les radicelles doit être identifiée par : numéro/nom d'échantillon, nom du traitement et sa concentration, ainsi que par la date à l'aide de l'étiquetage, évitant ainsi toute sorte d'erreur avec les échantillons.



Figure 16 : Fixation des extrémités racinaires dans la solution Carnoy.

2.3.5. Coloration des extrémités racinaires

Au moment de la coloration, les extrémités des racines ont été hydrolysées dans une solution d'HCl 1N à 60°C dans un bain Marie pendant 8 minutes (**Fig.17A**). L'hydrolyse a pour but la destruction de la lamelle moyenne composée principalement de pectines, ce qui facilite les étalements cellulaires (**Cotelle *et al*, 1999**). Les pointes des racines ont subies par la suite trois lavages successifs à l'eau distillée pendant 15 minutes (**Fig.17B**). Puis, elles ont été mises en contact avec la réaction de Feulgen pendant 20 à 25 minutes à l'abri de la

lumière (**Fig.17C**). Un dernier lavage a été effectué à l'eau distillée pendant 2 minutes (**Fig.17D**). L'extrémité racinaire a été déposée sur une lame, après un bref passage sur papier buvard sans que la pointe ou la coiffe de la racine ne soit touché (**Fig.17E**). Ensuite, seule la région méristématique des racelles (en éliminant le reste à l'aide d'un scalpel) a été fragmentée en morceaux très fins dans une goutte d'acide acétique à 45% (**Fig.17F, G**). La distance (environ 2mm apicaux) par rapport au méristème apical, où nous trouvons l'emplacement avec la majorité des cellules en division varie selon les espèces, et au sein d'une seule espèce, en fonction de l'âge de la racine (**Tedesco et Laughinhouse, 2012**). Une lamelle a été soigneusement pressée avec du papier filtre de manière physique par les doigts afin d'exclure les bulbes d'air et éliminer l'excès de l'acide acétique à 45%. Ensuite, en tenant une des extrémités de la lamelle, elle a été tapotée plusieurs fois à l'aide d'une aiguille histologique pour bien étaler les cellules. Une force excessive lors du tapotement peut déchirer les cellules ; cela ne doit pas être confondu avec une altération morphologique. Enfin, les bords de la lamelle ont été scellés sur la lame à l'aide d'un vernis à ongle transparent (numéro 00) (**Fig.17H**) pour éviter l'évaporation de la solution (**Liman *et al*, 2010**).

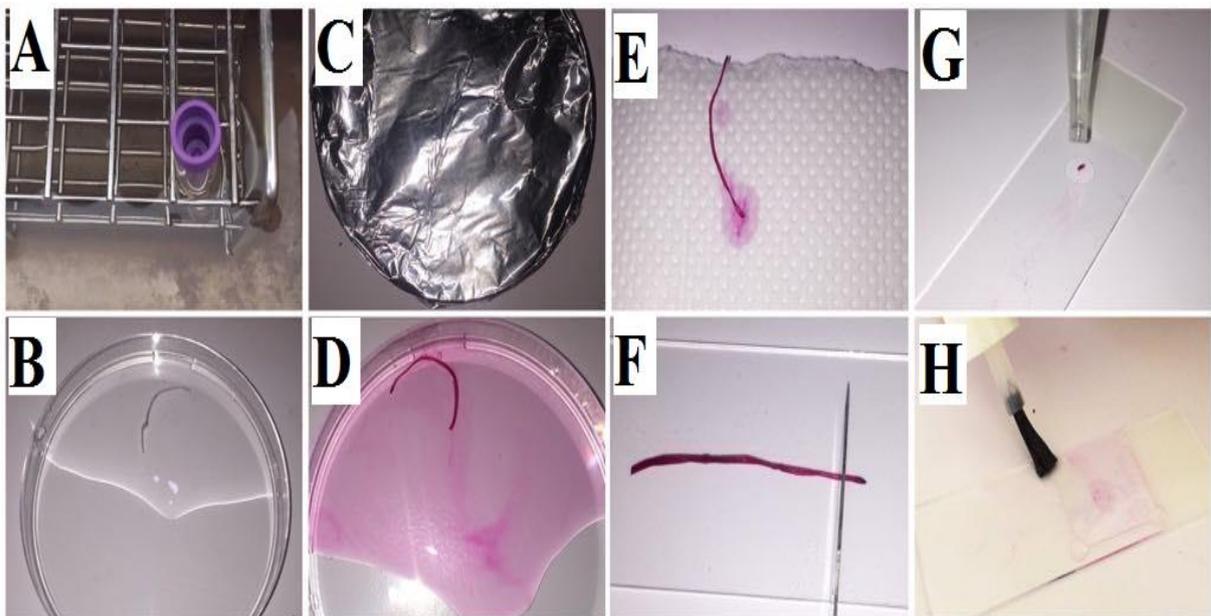


Figure 17 : Coloration des extrémités racinaires : **A**) Hydrolyse a l'HCL 1N ; **B**) 3 lavages successifs à l'ED ; **C**) Mise en contact avec la coloration de Feulgen ; **D**) Lavage à l'ED ; **E**) séchage ; **F**) coupage ; **G**) ajout d'une goutte d'acide acétique à 45% ; **H**) Fixation des bords de lamelle.

2.3.6. Analyse microscopique

L'analyse microscopique comprenait la détermination de l'indice mitotique (IM) et la notation des AC dans les cellules mitotiques selon (Saxena *et al*, 2005). Les préparations microscopiques ont été analysées pour déterminer l'intensité de la division cellulaire. Les différents stades de la mitose (prophase + métaphase + anaphase + télophase) ont été comptés dans 4000-5000 cellules/concentration. Les diapositives ont été codées au hasard et marquées à l'aveugle. L'IM été déterminé en pourcentage (%) entre le nombre de cellules en division (N') et le nombre total de cellules analysées (N) selon l'équation :

$$IM (\%) = \frac{N'}{N} \times 100$$

Des analyses chromosomiques ont été effectuées dans 400-500 cellules/concentration afin d'identifier les AC telles que les ponts, boucles et fragments de chromosomes, ainsi que les altérations des perturbations du centromère et du fuseau mitotique, via l'apparition d'anaphases multipolaires (Çavuşoğlu *et al*, 2011).

2.3.7. Analyse statistique

Les données de l'étude de l'effet génotoxique ont été exprimées en moyenne \pm SD. Les différences statistiquement significatives entre les données du contrôle négatif et les différentes concentrations de l'E. Met ont été déterminées par le test ANOVA en utilisant XLSTAT pour Windows. Le niveau de signification statistique est déterminé à $p \leq 0.05$.

Chapitre 2

Résultats et discussion

1. Etude de l'activité antibactérienne

L'étude « *in vitro* » du pouvoir antibactérien des différentes concentrations données des deux extraits Met et Aq isolés de *Zygothallium cornutum*, ainsi que celle des SM a été testée vis-à-vis trois souches bactériennes via la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Mueller Hinton). L'activité antibactérienne a été estimée en termes de D de la zone d'inhibition (halo) autour des disques d'antibiotiques (contrôle positif), des disques imprégnés d'extraits à savoir ceux imprégnés d'EDS (contrôle négatif).

Tableau 4 : Valeurs limites des D des zones d'inhibition pour les souches de références utilisées (Reller *et al*, 2009).

Antibiotique testé	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
	D des zones d'inhibition (mm)		
AK 30 µg/disque	19-26	20-26	18-26
GEN 10 µg/disque	19-26	19-27	17-23

- La souche *Escherichia coli* ATCC 25922 ayant avec l'AK et la GEN un $D < 19\text{mm}$; $19\text{mm} \leq D \leq 26\text{mm}$; $D > 26\text{mm}$ est considérée respectivement comme souche résistante, sensible et extrêmement sensible.
- La souche *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ayant avec l'AK $D < 20\text{mm}$; $20\text{mm} \leq D \leq 26\text{mm}$; $D > 26\text{mm}$ et avec la GEN un $D < 19\text{mm}$; $19\text{mm} \leq D \leq 27\text{mm}$; $D > 27\text{mm}$ est considérée respectivement comme souche résistante, sensible et extrêmement sensible.
- La souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ayant avec l'AK un $D < 18\text{mm}$; $18\text{mm} \leq D \leq 26\text{mm}$; $D > 26\text{mm}$ et avec la GEN un $D < 17\text{mm}$; $17\text{mm} \leq D \leq 23\text{mm}$; $D > 23\text{mm}$ est considérée respectivement comme souche résistante, sensible et extrêmement sensible (**Tab.4**).

Les SM, les dilutions préparées à partir de l'E. Met ayant les concentrations 20, 50, 100, 500 et 1000 µg/ml, et celles préparées à partir de l'E. Aq ayant les concentrations 2, 4,

6, 8, 10 et 12 mg/ml issus de la plante *Zygophyllum cornutum* n'ont représentées aucune zone d'inhibition/halo autour des disques (**Tab.5**).

Tableau 5 : D des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'AK, la GEN, l'EDS et les extraits Met et Aq.

		<i>Escherichia coli</i> ATCC 26922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 26923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
		D des zones d'inhibition (mm)		
Contrôle positif	AK 30 µg/disque	24	29	27
	GEN 10 µg/disque	26	30	29
Contrôle négatif	EDS 10 µl	0	0	0
SM	E. Met 10 mg/ml	0	0	0
	E. Aq 10 mg/ml	0	0	0
Extrait	E. Met 20-1000 µg/ml	0	0	0
	E. Aq 2-12 mg/ml	0	0	0

Aucun effet inhibiteur sur la croissance des trois espèces étudiées n'a été observé (**Fig.18, 19, 20**). Par conséquent, les différentes concentrations des deux extraits de *Zygophyllum cornutum* n'exercent pas d'activité antibactérienne sur les souches trois étudiées. Les antibiotiques utilisés comme contrôle positif ont donné les résultats suivant :

- *Escherichia coli* ATCC 25922 est sensible vis-à-vis de l'AK avec un $19\text{mm} \leq D=24\text{mm} \leq 26\text{mm}$. Tandis que, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 est extrêmement sensible avec un $D=29\text{mm} > 26\text{mm}$. Pareillement pour *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec un $D= 27\text{mm} > 26\text{mm}$.
- *Escherichia coli* ATCC 25922 est sensible vis-à-vis de la GEN avec un $D=26 \leq 26\text{mm}$. Tandis que, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 est extrêmement sensible avec un $D=30\text{mm} > 27\text{mm}$ et c'est le cas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec un $D=29\text{mm} > 23\text{mm}$.

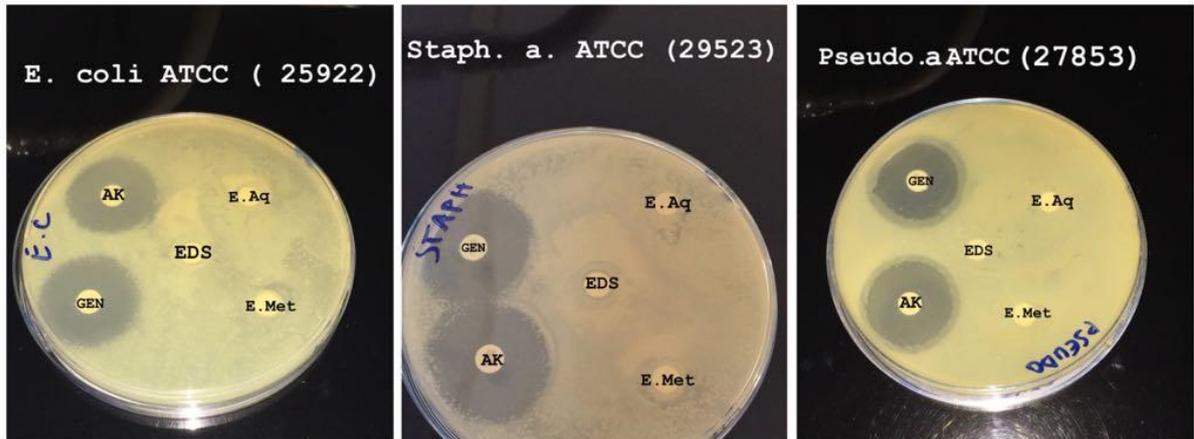


Figure 18 : Effet de l'AK, la GEN, L'EDS et des SM des extraits Met et Aq sur la croissance des espèces bactériennes étudiées.

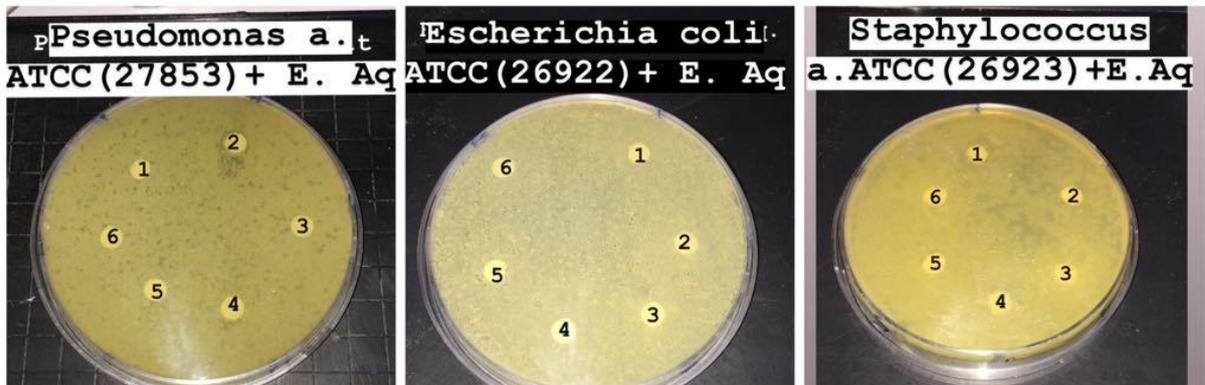


Figure 19 : Effet des dilutions 2, 4, 6, 8, 10 et 12 mg/ml de l'E. Aq sur la croissance des espèces bactériennes étudiées.

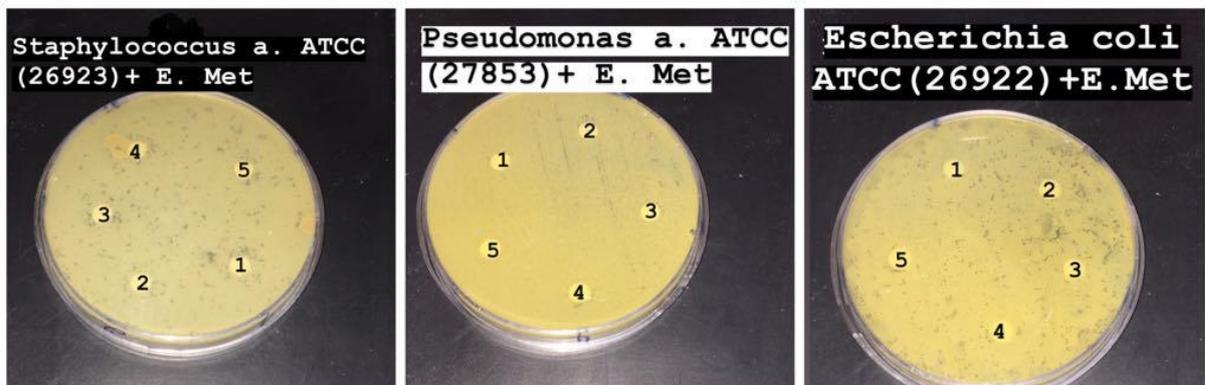


Figure 20 : Effet des dilutions 20, 50, 100, 500 et 1000 µg/ml sur la croissance des espèces bactériennes étudiées.

Une des activités les plus attractives des extraits du genre *Zygothymum* est l'activité antimicrobienne contre des bactéries à gram positif, des bactéries à gram négatif et plusieurs champignons. Un bon exemple démontré par (**Barzegar et al, 2017 ; Elbadry et al, 2015 ; Kaplan et al, 2013**) est bien l'efficacité des extraits Met et Aq des racines de *Zygothymum dumosum*, *Zygothymum coccineum* et *Zygothymum qatarense* sur l'inhibition de la germination des spores de *Verticillium albo-atrum* et de *Fusarium oxysporum*. Dans une autre étude, il a été convenu que l'extrait éthanolique de *Zygothymum coccineum* a une activité antimicrobienne contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Microsporum canis* et *Trichophyton mentagrophytes* (**Khafagi et Dewedar, 2000**). L'E. Met de *Zygothymum simplex* a montré une activité antimicrobienne marquée contre sept bactéries standard (*Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) et un champignon standard (*Candida albicans*) (**Emad et Gamal, 2013**). Encore, l'extrait à l'acétate d'éthyle de *Zygothymum coccineum* a montré une activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Fusarium moniliforme* et *Klebsiella pneumoniae* (**Khafagi et Dewedar, 2000**). *Zygothymum cornutum* à son tour a été étudiée en termes d'activité antimicrobienne. Le potentiel antimicrobien de deux extraits (Met et Aq) a été évalué contre quatre espèces bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas sp*, *klebsiella sp* et *Staphylococcus aureus*) et deux espèces fongiques (*Aspergillus phoenicis* et *Condida sp*). Aucune trace d'activité antimicrobienne n'a été notée sauf avec *Staphylococcus aureus* (**Boumaza, 2009**). Cette activité peut être due à la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes et des tanins (**Brantner et al, 1996**). En revanche, nos résultats obtenus sont complètement négatifs pour les trois espèces bactériennes vis-à-vis desquelles les extraits Met et Aq de *Zygothymum cornutum* ont été testés.

Cette étude doit être poursuivie pour couvrir divers périodes de l'année vu que la composition chimique des plantes varie selon le cycle végétatif, la période de l'année et selon l'origine géographique. Cela permettrait d'établir la meilleure période de récoltes des parties les plus importantes de la plante. De plus, l'intervention de l'homme par la culture de ces plantes pourrait avoir une influence sur leur composition chimique. C'est pourquoi, une meilleure connaissance de l'adaptation de la plante aux conditions du milieu et des phases de production optimale permettra une utilisation efficiente de ses extraits (**Etchike et al, 2011**).

Certaines considérations générales doivent être établies pour l'étude de l'activité antibactérienne des extraits de plantes et des composés qui en sont isolés. La définition de paramètres communs tels que le matériel végétal, les techniques utilisées, le milieu de croissance et les microorganismes testés revêt une importance capitale. Des critères scientifiques doivent être utilisés dans la sélection du matériel végétal. De plus, pour éviter l'utilisation de critères aléatoires, la sélection des plantes doit être faite dans une perspective ethnopharmacologique. Toutes les espèces testées doivent être parfaitement décrites et identifiées ; ceci doit inclure les détails de la collecte, y compris le lieu, la saison, la date et l'heure de la journée (**Ríos et Recio, 2005**).

Le solvant et le système d'extraction peuvent tous deux modifier les résultats finaux. Les extraits sont le plus souvent préparés par infusion ou décoction, en fonction de la partie de la plante utilisée. En infusion, l'extraction est réalisée lorsque le matériel végétal est maintenu dans de l'eau bouillante, dans un récipient couvert, pendant une certaine période. Les infusions peuvent être appliquées sur des parties de plantes à structure molle, qui doivent être battues, coupées ou pulvérisées grossièrement selon leur nature, de manière à pouvoir être facilement pénétrées et extraites avec de l'eau. Toutefois, la décoction consiste à maintenir le matériel végétal en contact, pendant un certain temps, avec un solvant bouillant (généralement de l'eau). C'est une technique d'utilisation restreinte, car de nombreuses substances actives sont altérées par une période de chauffage prolongée et il est habituel de l'utiliser avec des plantes rigides/ligneuses (**Simões, 2001**). La méthode la plus appropriée serait celle dans laquelle l'extrait est identique à celui utilisé en médecine traditionnelle ou en phytothérapie. Bien que dans le laboratoire l'utilisation du méthanol ou de l'extrait d'éthanol soit beaucoup plus répandue, laissant parfois la place à l'huile essentielle. Les résultats sont notablement affectés (**Ross et al, 2001**).

Le pH des composés en dilution modifie également les résultats, comme on peut parfois l'observer lorsque des composés phénoliques ou carboxyliques sont présents dans l'extrait (**Janssen et al, 1987**).

La méthodologie employée est un autre point qui nécessite à approfondir. L'utilisation des techniques de dilution solide pour l'étude d'extraits de plantes ou de composés non polaires semble plus adéquate que les techniques de diffusion. Le recours aux techniques de diffusion n'est peut-être plus approprié que si une petite quantité d'échantillon est disponible (**Ríos et Recio, 2005**). La composition du milieu de croissance pourrait également influencer sur l'activité des extraits ou des composés testés (**Ross et al, 2001**).

Les micro-organismes sélectionnés doivent être choisis de manière appropriée et le numéro de la souche de l'organisme d'essai doit être mentionné. Les tests peuvent être effectués avec des souches de collection, mais des analyses supplémentaires avec des agents pathogènes isolés seraient intéressantes dans le cas d'extraits ou de composés actifs.

Cependant, une erreur courante est de revendiquer une activité positive pour de légères dilutions ou des concentrations excessivement élevées. Par exemple, les expériences avec des quantités supérieures à 1 mg/ml pour les extraits ou à 0,1 mg/ml pour les composés isolés doivent être évitées, alors que la présence d'activité est très intéressante dans le cas de concentrations inférieures à 100 µg/ml pour les extraits et à 10 µg/ml pour les composés isolés (Janssen *et al*, 1987).

2. Etude de l'effet génotoxique

2.1. Analyse macroscopique

L'évaluation de l'effet génotoxique de l'E. Met de *Zygophyllum cornutum* a été effectuée macroscopiquement en mesurant la croissance en longueur des racines du support végétal (*Allium cepa*) nouvellement émergées après une exposition pendant 48 heures à des concentrations croissantes de l'E. Met. Comme présenté dans le (Tab.6), l'élongation racinaire (ER) a diminué dépendamment de l'augmentation de la concentration des solutions de traitements. A 10mg/l, l'effet inhibiteur était fort et une croissance racinaire légère (3,50 cm) s'est produite. A 12 mg/l, l'effet inhibiteur était extrême et une croissance racinaire légère ou nulle (2,81 cm) s'est produite à la fin de la durée d'exposition. Il faut mentionner que les racines qui ont poussées dans l'ES pendant 48 heures (non traitées) avaient la plus grande croissance racinaire (5, 62 cm en moyenne).

L'aspect morphologique des racines des bulbes d'oignons traitées avec l'E. Met de *Zygophyllum cornutum* pendant 48 heures variait selon la concentration de ce dernier. A 10 mg/l, les racines étaient légèrement jaunâtres et elles ont présentées une apparence tordue. A 12mg/l, les racines étaient brunâtres, les pointes étaient étourdies et courbées dans de différentes directions à la fin de la durée d'exposition aux solutions de traitement. Il faut mentionner que les racines qui ont poussées dans l'ES pendant 48 heures (non traitées) ont gardées leur aspect morphologique normal (élongation verticale, fréquence normale, apparence saine et couleur blanche).

Tableau 6 : Valeurs de l'ER des racines d'*Allium cepa* exposées à des concentrations croissantes de l'E. Met de *Zygophyllum cornutum* pendant 48 heures.

Temps (heure)	Concentration (mg/l)	ER moyenne de cinq bulbes/concentration (cm)		ER moyenne (cm)
48	0	Bulbe 1	4,35	5,62±1,4
		Bulbe 2	4,05	
		Bulbe 3	7,72	
		Bulbe 4	5,85	
		Bulbe 5	6,15	
48	10	Bulbe 1	3,25	3,50±1,32*
		Bulbe 2	3,50	
		Bulbe 3	3,55	
		Bulbe 4	4,00	
		Bulbe 5	3,20	
48	12	Bulbe 1	2,40	2,81±0,21**
		Bulbe 2	3,90	
		Bulbe 3	2,85	
		Bulbe 4	2,75	
		Bulbe 5	2,15	

L'ER pour chaque concentration est présentée en moyennes ± SD n=5. () Différence significative par rapport au control négatif avec $p < 0,05$. (**) Différence significative par rapport au control négatif avec $p < 0,01$.*

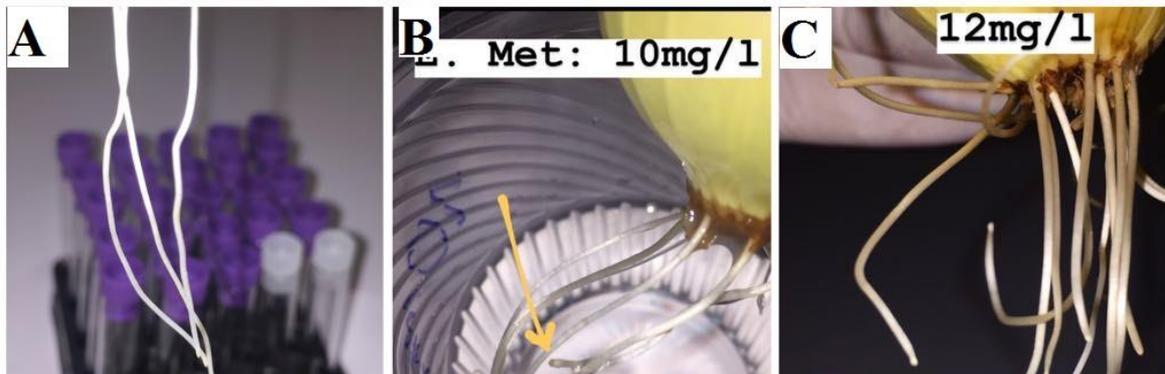


Figure 21 : Aspect morphologique des racines : **A)** Racines saines poussées dans l'ES pendant 48 heures ; **B)** Racines jaunâtres et tordues traitées avec 10 mg/l d'E. Met pendant 48 heures ; **C)** Racines brunâtres et courbées traitées avec 12 mg/l d'E. Met pendant 48 heures.

2.2. Analyse microscopique

L'effet de l'E. Met de *Zygophyllum cornutum* sur l'IM des cellules du méristème racinaire d'*Allium cepa* est donné dans le (Tab.7). En fonction des deux concentrations ascendantes utilisées (10 mg/l, 12mg/l) pour l'incubation des racines pendant 48 heures, la valeur d'IM est descendante (7,7% et 4,3% respectivement) par rapport à celle du contrôle négatif (ES) (24,4%). La décroissance de l'IM était accompagnée d'une diminution significative dans le nombre des PM par rapport au témoin négatif. Cette diminution a caractérisée toutes les PM : prophase, métaphase, anaphase et télophase.

Tableau 7 : Valeurs de l'IM des cellules du méristème racinaire d'*Allium cepa* exposées à des concentrations croissantes de l'E. Met de *Zygophyllum cornutum* pendant 48 heures.

Temps (heure)	Concentration (mg/l)	N (cellule)	N' (cellule)				IM(%)
			Pro-phase	Méta-phase	Ana-phase	Télo-phase	
48	0	4146	497	183	267	66	24,4
48	10	4567	167	87	65	35	7,7**
48	12	4436	79	53	42	21	4,3**

(**) *Différence significative par rapport au control négatif avec $p < 0,01$.*

Pour analyser la division cellulaire chez *Allium cepa*, il est nécessaire d'identifier correctement toutes les phases prises en compte pour le calcul de l'IM. Les phases régulières de la division cellulaire d'*Allium cepa* sont présentées et illustrées dans la fig.22. Dans ces phases de la mitose, il existe un exemple de cellules régulières lorsque les racines ne poussent que dans de l'ES, ne présentant pas d'anomalies chromosomiques. La fig.22B montre la prophase avec des chromosomes bien visibles, ce qui est caractéristique de cette phase. Fig.22C est une métaphase avec des chromosomes disposés dans la plaque équatoriale de la cellule en attente d'un mouvement ultérieur vers les pôles opposés pendant l'anaphase. Fig.22D montre une anaphase avec les chromosomes se déplaçant de manière stable vers les pôles opposés de la cellule. Fig.22E est la phase qui finalise la division cellulaire mitotique, la télophase, montrant les chromosomes déjà organisés sur les pôles opposés de la cellule, dans l'attente de l'étape suivante de la cytokinèse, formant 2 nouvelles cellules filles.

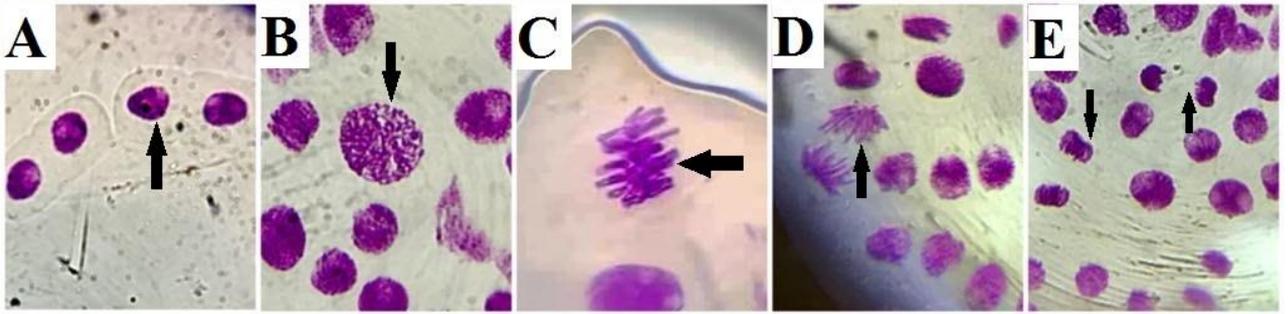


Figure 22 : Stades de la division cellulaire régulière et normale dans des méristèmes racinaires d'*Allium cepa* non traités : **A)** Interphase ; **B)** Prophase ; **C)** Métaphase ; **D)** Anaphase ; **E)** Télophase.

Le comptage des AC (**Tab.8**) dans un total de 500 cellules en ana-télophase du méristème racinaire d'*Allium cepa*, le control négatif présentait peu d'anomalies (44/505) par rapport aux deux autres concentrations de solutions de traitements après 48 heures d'exposition. Le nombre de fragments de chromosomes/chromatides (**Fig.23C, N**) (13) dépassait légèrement celui des ponts chromosomiques (**Fig.23B**) (6), alors que les chromosomes bouclés étaient absents, idem pour les ana-télophases perturbées. A 10mg/l, les 4 sortes d'AC ont été observées, ainsi que d'autres types d'aberrations (**Fig.23**) (lésions nucléaires (**Fig.23G**), métaphase perturbée, prophase perturbée, perte de chromosomes (**Fig.23H**), chromosome collant (**Fig.23E**), mauvaise polarisation...). Le nombre des fragments était dominant. Le plus grand nombre d'AC était noté à 12mg/l, les chromosomes fragmentés étaient abondants (184) et pas mal de ponts chromosomiques étaient comptés (61). Les boucles (**Fig.23I**) et les phases perturbées (**Fig.23J**) étaient aussi présentes.

Tableau 8 : Taux d'AC en ana-télophases des cellules du méristème racinaire d'*Allium cepa* exposées pendant 48 heures à l'ES, a 10 et 12 mg/l d'E. Met de *Zygophyllum cornutum*.

Temps (heure)	Concentration (mg/l)	N	Aberrations en ana-télophases				Autres
			Ponts	Fragments	Boucles	Perturbations	
48	0	505	6	13	-	-	25
48	10	501	41	171	9	18	129
48	12	515	61	184	10	23	172

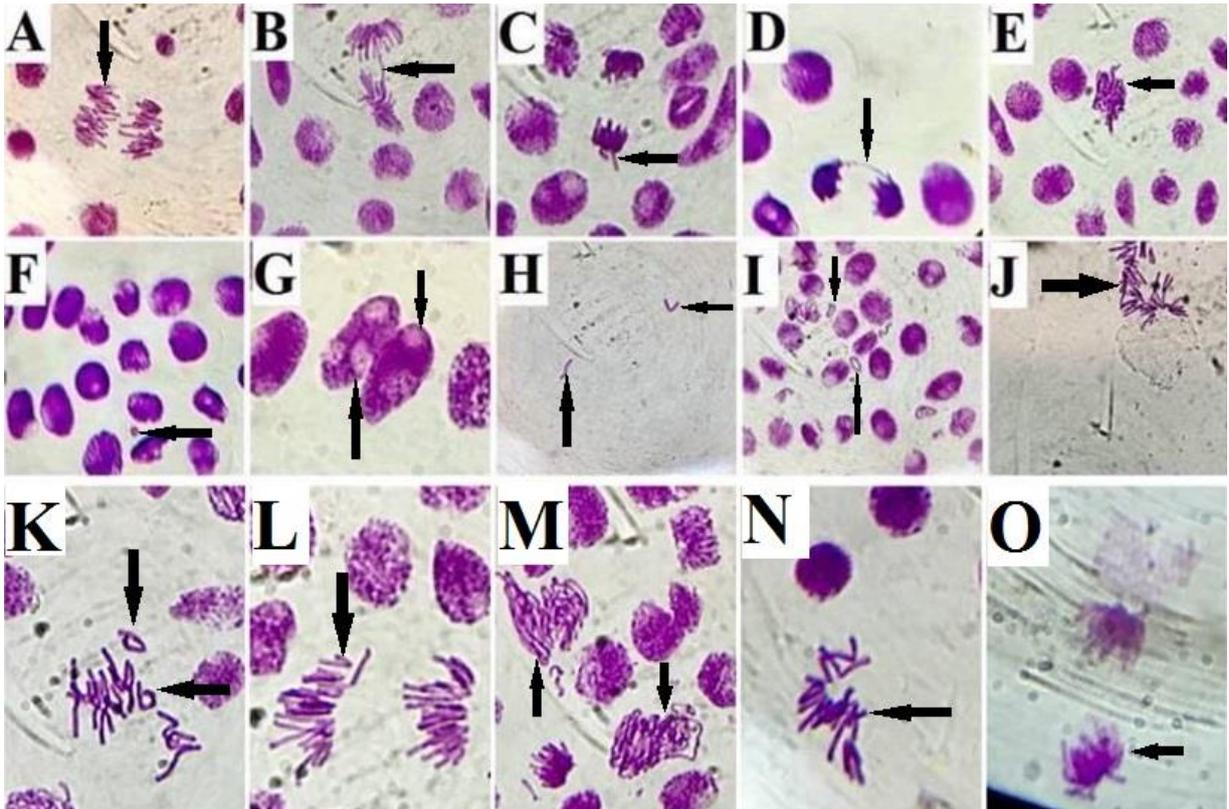


Figure 23 : Types d'AC rencontrées dans des méristèmes racinaires d'*Allium cepa* traitées par 10 et 12 mg/l d'E. Met de *Zygophyllum cornutum* pendant 48 heures : **A)** Anaphase multipolaire (10mg/l) ; **B)** Pont chromosomique unique en anaphase en mauvaise polarisation (10mg/l) ; **C)** Fragments chromosomiques en télophase (12 mg/l) ; **D)** Pont chromosomique unique en télophase (12 mg/l) ; **E)** Chromosomes collants (12 mg/l) ; **F)** MN ; **G)** Lésions nucléaires ; **H)** chromosomes vagabonds ; **I, K)** Boucles de chromosomes ; **J)** C-métaphase. ; **L)** C-télophase ; **M)** C-prophase ; **N)** Fragments de chromatides ; **O)** Mauvaise polarisation de télophase.

Dans des études menées par (Siddiqui *et al*, 2011), les auteurs ont indiqué que les essais biologiques sur les plantes étaient de plus en plus populaires pour les évaluations toxicologiques, et que les principales raisons de l'utilisation généralisée de ses méthodes étaient la simplicité, la sensibilité et le faible coût, ainsi que la corrélation positive avec d'autres tests de toxicité. Leme et Marin-Morales ont procédé en 2009 à un examen approfondi du test *Allium cepa* indiquant que les plantes vasculaires sont reconnues comme d'excellents modèles génétiques pour la détection des mutagènes environnementaux par l'analyse cytologique et sont fréquemment utilisées dans les études de surveillance. Ils ont également expliqué comment *Allium cepa* présente des avantages par rapport à d'autres tests du point de vue du temps de préparation des

échantillons et que, même si les plantes présentent de faibles concentrations d'enzymes oxydases, leurs résultats sont cohérents et peuvent servir d'avertissement pour d'autres systèmes biologiques, car la cible est l'ADN, ce qui est commun à tous.

L'essai d'inhibition de l'ER est couramment utilisé comme paramètre quantitatif pour évaluer la toxicité chez les plantes supérieures (**Wierzbicka, 1988**). Cet indicateur très sensible a désigné que l'ER moyenne était réduite dans les bulbes traités (exposés à l'E. Met de *Zygophyllum cornutum*) comparativement aux bulbes non traités (exposés à l'ES). Sachant que, l'effet inhibiteur de *Zygophyllum cornutum* sur la croissance racinaire a été précédemment rapporté. Des concentrations plus faibles (2, 4, 6 et 8 mg/ml) ont exercées une inhibition d'ER (**Fecih et al, 2018**). Bien que la diminution progressive de la longueur des racines soit fréquemment rapportée en raison de divers stress environnementaux, les mécanismes sous-jacents restent en partie insaisissables. Cependant, 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 même par de très faibles doses, ce qui peut être causé par des modifications au niveau des caractéristiques de la paroi cellulaire (**Lane et al, 1978**). Ceci concorde bien avec les changements macroscopiques (virement de couleur, étourdissement et formation de crochets) observés au niveau des racines de certains bulbes traités. Leur cause probable est que le mutagène perturbe la polarité cellulaire, amenant les cellules à s'agrandir dans la «mauvaise» direction, devenant ainsi isodiamétriques plutôt qu'allongées.

Le niveau de cytotoxicité d'un composé à tester peut être déterminé en fonction de l'augmentation ou de la diminution de l'IM. Dans la présente étude, la division cellulaire a été réduite de manière significative avec une augmentation des concentrations de l'E. Met de *Zygophyllum cornutum* par rapport au contrôle négatif après 48 heures d'exposition. Des doses particulières de cette plante peuvent provoquer la mort cellulaire (apoptose), ce qui peut apparaître comme une diminution d'IM. On pourrait penser qu'une diminution significative de l'activité mitotique indique l'interférence d'un effet mito-dépressif avec le développement normal de la mitose,

empêchant ainsi un certain nombre de cellules d'entrer dans la prophase et bloquant le cycle de la mitose pendant l'interphase (**Rustenbil et Poortvliet, 1992**), ou attribuer à une augmentation de la durée des phases G2 et S (**Borboa et De La Terre, 1996**). L'inhibition de l'IM peut également être attribuée à l'effet mutagène exercé sur la synthèse ADN/protéine du système biologique (**Chauhan et al, 1998**).

Les AC sont la conséquence d'une cassure de l'ADN double brin non réparée ou mal réparée (**Maluszynska et Juchimiuk, 2005**). Une augmentation des AC a été observée, notamment après le traitement avec l'E. Met de *Zygophyllum cornutum*, en dépendance directe de la concentration. Les types d'AC les plus courants étaient les ponts chromosomiques, les chromosomes collants, les chromosomes vagabonds, la c-anaphase et la multipolarité. L'induction des ponts chromosomiques peut être attribuée à des ruptures chromosomiques, à la viscosité et à la rupture et à la réunion des extrémités cassées. Ce type d'effet clastrogène est probablement irréversible. (**Liu et al, 1992**) ont suggérés que les chromosomes collants reflètent des effets hautement toxiques, généralement de type irréversible, et mènent probablement à la mort cellulaire. Le caractère collant (une aberration du type chromatide) a été attribué comme résultat de l'effet mutagène sur la dégradation ou la dépolymérisation de l'ADN chromosomique (**Darlington et McLEISH, 1951**), sur sa condensation (**Österberg et al, 1984**) et sur l'enchevêtrement des fibres de chromatine interchromosomique, ce qui a conduit à des connexions de sous-chromatides entre chromosomes (**Chauhan et al, 1986**). L'induction de chromosomes vagabonds entraîne la séparation d'un nombre inégal de chromosomes dans les noyaux filles et la formation ultérieure de cellules filles avec des noyaux de taille inégale ou de forme irrégulière à l'interphase (**El-Ghamery et al, 2003**). La présence de c-anaphases montre le faible effet toxique comme effet éventuellement réversible (**Odeigah et al, 1997**).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Zygothymus cornutum représente l'un des trésors de notre patrimoine végétal utilisé traditionnellement pour son effet antidiabétique, bien qu'il existe évidemment d'autres usages attribués à cette espèce.

En effet, notre étude s'est portée d'une part sur l'activité antibactérienne de deux extraits (Met et Aq) de *Zygothymus cornutum* vis-à-vis de trois souches bactériennes de référence, et d'une autre part sur l'évaluation de l'effet génotoxique de l'E. Met de la même espèce végétale sur le méristème racinaire d'*Allium cepa*. La mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disques a montré que les différentes concentrations testées dans le cas des deux extraits n'ont aucun effet inhibiteur sur la croissance d'*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

La cytotoxicité et la génotoxicité de l'E. Met de *Zygothymus cornutum* étaient évidente aux concentrations choisies. Les deux concentrations testées ont diminué significativement l'ER, l'IM et le PM, ce qui peut être le résultat d'une inhibition du cycle cellulaire, ralentissant ainsi la progression par mitose. Le blocage des cellules en interphase de plus en plus a réduit la vitesse de la division cellulaire. Avec cela, le nombre d'anomalies mitotiques et chromosomiques qui a augmenté parallèlement avec la concentration de la solution de traitement confirme encore une fois l'effet génotoxique de *Zygothymus cornutum*.

Au plan des perspectives, certains aspects des résultats acquis nécessitent une investigation plus poussée ; il s'agit entre autre d'étendre le choix des germes à tester à d'autres souches pathogènes telles que les germes multirésistants qui sont à l'origine de nombreux échecs de l'antibiothérapie et de procéder à un fractionnement de l'E. Met afin d'identifier les fractions actives qui pourront faire l'objet d'une étude toxicogénétique et de mieux situer leur génotoxicité.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Akash M., S., H., Rehman K., Chen S. (2014). Spice plant *Allium cepa*: Dietary supplement for treatment of type 2 diabetes mellitus. Nutrition [en ligne]. 30(10): 1128-1137. DOI: 10.1016/j.nut.2014.02.011.

Amer S. M., F. M., Aly F. A. E., Farghaly A. A. (2002). Cytogenetic studies on the effect of feeding mice with stored wheat grains treated with malathion. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis [en ligne]. 513(1): 1-10. DOI: 10.1016/S1383-5718(01)00261-3.

Ames B. N., Profet M., Gold L. S (1990). Dietary pesticides (99.99% all natural). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America [en ligne]. 87 (19): 7777-7778.

Ames N., Dorothy M. M. (1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Elsevier Biomedical Press [en ligne]. 113():173-215.

Ames B. N., Mccan J., Yamasaki E. (1975). methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test*. Elsevier Scientific Publishing Company [en ligne].

Amini-Chermahini F., Ebrahimi M., Farajpour M., Bordbar Z. T. (2014). Karyotype analysis and new chromosome number reports in *Zygophyllum* species. Caryologia [en ligne]. 67(4): 321-324. DOI: 10.1080/00087114.2014.980098.

Ayad R., Rahai M., Azouzi S., Louaar S., Dendougui H., Akkal S., Medjroubi K. (2012). PHYTOCHEMICALS INVESTIGATION OF THE ENDEMIC PLANT *Zygophyllum cornutum* [en ligne]. Disponible à l'adresse : https://www.researchgate.net/profile/Salah_Akkal/publication/233946283_R_Ayad_M_Rahai_S_Azouzi_S_Louaar_H_Dendougui_S_Akkal_and_K_Medjroubi_Phytochemicals_in_vestigation_of_the_endemic_plant_Zygophyllum_cornutum_collected_in_the_Algerian_Sahara_Chemistry_of_Natural_Compou/links/02bfe50ddfc1eb2483000000/R-Ayad-M-Rahai-S-Azouzi-S-Louaar-H-Dendougui-S-Akkal-and-K-Medjroubi-Phytochemicals-investigation-of-the-endemic-plant-Zygophyllum-cornutum-collected-in-the-Algerian-Sahara-Chemistry-of-Natural-C.pdf.

Bagatini M. D., Fachinetto J. M., Silva A. C. F., Tedesco S. B. (2009). Cytotoxic effects of infusions (tea) of *Solidago microglossa* DC. (Asteraceae) on the cell cycle of *Allium cepa*. Revista Brasileira de Farmacognosia [en ligne]. 19(2B) : 632-636. DOI : 10.1590/S0102-695X2009000400022.

Barzegar R., Safaei H. R., Nemati Z., Ketabchi S., Talebi E. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using *Zygophyllum Qatarense* Hadidi leaf extract and evaluation of their antifungal activities. J App Pharm Sci [en ligne].

Ben Ammar R., Kilani S., Bouhlel I., Ezzi L., Skandrani I., Boubaker J., Ben Sghaier M., Naffeti A., Mahmoud A., Chekir-Ghedira L., Ghedira K. (2008). Antiproliferative,

Références bibliographiques

Antioxidant, and Antimutagenic Activities of Flavonoid-Enriched Extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* L.: Combination with the Phytochemical Composition. Drug and Chemical Toxicology [en ligne]. 31(1) : 61-80. DOI : 10.1080/01480540701688725.

Bennett J. W., Klich M. (2003). Mycotoxins. Clinical Microbiology Reviews [en ligne] 16(3) : 497-516. DOI : 10.1128/CMR.16.3.497-516.2003.

Betina B. S. (2014). ISOLEMENT ET CARACTÉRISATION DE SAPONOSIDES EXTRAITS DE DEUX PLANTES MÉDICINALES *Cyclamen africanum*, *Zygophyllum cornutum* ET ÉVALUATION DE LEUR ACTIVITÉ ANTI-INFLAMMATOIRE [en ligne]. Biotechnologie végétale. Constantine : Université De Constantine 1, Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie, Département De Biologie Et Ecologie. 217p. Disponible à l'adresse : <https://nuxeo.u-bourgogne.fr/nuxeo/site/esupversions/e625d98d-a544-402c-a02c-832aea92b2da>.

Bjelland S., Seeberg E. (2003). Mutagenicity, toxicity and repair of DNA base damage induced by oxidation. Mutation Research [en ligne]. 531(1-2): 37-80.

Boiteux S., Laval J. (1982). Mutagenesis by alkylating agents: coding properties for DNA polymerase of poly (dC) template containing 3-methyl-C. Biochimie [en ligne]. 64(8-9): 637-641.

Bolt H. M., Degen G. H. (2004). Human Carcinogenic Risk Evaluation, Part II: Contributions of the EUROTOX Specialty Section for Carcinogenesis. Toxicological Sciences [en ligne]. 81(1) : 3-6. DOI : 10.1093/toxsci/kfh178.

Bonassi S., Norppa H., Ceppi M., Strömberg U., Vermeulen R., Znaor A., Cebulska-W. A., Fabianova E., Fucic A., Gundy S., Hansteen I. L., Knudsen L. E., Lazutka J., Rossner P., Sram R. J., Boffetta P. (2008). Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries. Carcinogenesis [en ligne]. 29(6) : 1178-1183 DOI : 10.1093/carcin/bgn075.

Borboa L., D. L. T. C. (1996). The genotoxicity of Zn (II) and Cd (II) in *Allium cepa* root meristematic cells. New Phytologist [en ligne]. 134(3) : 481-486. DOI : 10.1111/j.1469-8137.1996.tb04365.x.

Boumaza A., Lalaoui K., Khallef M., Sbayou H., Talbi H., Hilali A. (2016). Assessment of Cytotoxic and Genotoxic Effects of Clodinafop-propargyl Commercial Formulation on *Allium cepa* L. 8p.

Boumaza A., Ferdi S., Sbayou H., Khelifi Touhami F., Belmahi M. H., Benlatreche C. (2016). Therapeutic Effect of *Zygophyllum cornutum* on Metabolic Disturbances, Oxidative Stress in Heart Tissue and Histological Changes in Myocardium of Streptozotocin-induced Diabetic Rats. Journal of Life Sciences [en ligne]. 10(4).

Références bibliographiques

Boumaza. (2009). Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Toxicologie moléculaire et cellulaire [en ligne]. Université de Constantine. 126p.

Bourgou S., Megdiche W., Ksouri R., Neffati M., Najjaa H., Mathé A. (2017). The Halophytic Genus *Zygophyllum* and *Nitraria* from North Africa: A Phytochemical and Pharmacological Overview **IN** Medicinal and Aromatic Plants of the World – Africa. Springer Netherlands [en ligne]. (3): 345-356. ISBN: 978-94-024-1120-1.

Brantner A., Maleš Ž., Pepeljnjak S., Antolić A. (1996). Antimicrobial activity of *Paliurus spina-christi* Mill. (Christ's thorn). Journal of ethnopharmacology [en ligne]. 52(1): 119–122.

Caldecott K. W. (2008). Single-strand break repair and genetic disease. Nature Reviews Genetics [en ligne]. 9(8) : 619p. DOI : 10.1038/nrg2380.

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 [en ligne]. 25(1): 85-89. DOI: 10.1590/S1415-47572002000100016.

Çavuşoğlu K., Yalçın E., Türkmen Z., Yapar K., Çavuşoğlu K., Çiçek F. (2011). Investigation of Toxic Effects of the Glyphosate on *Allium cepa*. Journal of Agricultural Sciences [en ligne]. 17() : 131-142.

Cécile M. (2011). Biomarqueurs de génotoxicité chez *Dreissena polymorpha* : indicateurs de la pression chimique urbaine et variabilité naturelle des lésions de l'ADN [en ligne]. Ecotoxicologie. Paris : Université Pierre et Marie Curie Paris VI, Ecole Doctorale Géosciences et Ressources Naturelles. 218p. disponible à l'adresse : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00703238/document>.

Chatterjee N., Walker G. C. (2017). Mechanisms of DNA damage, repair and mutagenesis. Environmental and molecular mutagenesis [en ligne]. 58(5) : 235-263. DOI : 10.1002/em.22087.

Chauhan L. K. S., Dikshith T. S. S., Sundararaman V. (1986). Effect of deltamethrin on plant cells I. Cytological effects on the root meristems of *Allium cepa*. Mutation Research/Genetic Toxicology [en ligne]. 171(1): 25-30. DOI: 10.1016/0165-1218(86)90005-4.

Chauhan L. K. S., Saxena P. N., Sundararaman V., Gupta S. K. (1998). Diuron-Induced Cytological and Ultrastructural Alterations in the Root Meristem Cells of *Allium cepa*. Pesticide Biochemistry and Physiology [en ligne]. 62(3): 152-163. DOI: 10.1006/pest.1998.2379.

Références bibliographiques

- Christin P.A., Osborne C. P., Sage R. F., Arakaki M., Edwards E. J. (2011).** C (4) eudicots are not younger than C (4) monocots. *Journal of Experimental Botany* [en ligne]. 62(9) : 3171-3181. DOI : 10.1093/jxb/err041.
- Cotelle S., Masfaraud J. F., Férard J. F. (1999).** Assessment of the genotoxicity of contaminated soil with the *Allium/Vicia*-micronucleus and the *Tradescantia*-micronucleus assays. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* [en ligne]. 426(2): 167-171. DOI: 10.1016/S0027-5107(99)00063-9.
- Cragg G. M., Newman D. J., Snader K. M. (1997).** Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Products* [en ligne]. 60(1) : 52-60. DOI : 10.1021/np9604893.
- Cragg Gordon M., Newman David J. (2005).** Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology* [en ligne]. 100(1-2) : 72-79. DOI : 10.1016/j.jep.2005.05.011.
- Darlington C. D., McLEISH John. (1951).** Action of Maleic Hydrazide on the Cell. *Nature* [en ligne]. 167 (4245): 407p. DOI: 10.1038/167407a0.
- Davies R. J. (1995).** Royal Irish Academy Medal Lecture. Ultraviolet radiation damage in DNA. *Biochemical Society Transactions* [en ligne]. 23(2) : 407-418.
- Desouky O., Ding N., Zhou G. (2015).** Targeted and non-targeted effects of ionizing radiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* [en ligne]. 8(2):247-254. DOI: 10.1016/j.jrras.2015.03.003.
- Dianov Grigory L., Hubscher U. (2013).** Mammalian Base Excision Repair: the Forgotten Archangel. *Nucleic Acids Research* [en ligne]. 41 (6): 3483-3490. DOI: 10.1093/nar/gkt076.
- El-Ghamery A. A., El-Kholy M. A., Abou El-Yousser M. A. (2003).** Evaluation of cytological effects of Zn²⁺ in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* [en ligne]. 537(1): 29-41. DOI: 10.1016/S1383-5718(03)00052-4.
- El-Shahaby O. A., Abdel M. H. M., Soliman M. I., Mashaly I. A. (2003).** Genotoxicity Screening of Industrial Wastewater Using the *Allium cepa* Chromosome Aberration Assay - SciAlert Responsive Version. *Pakistan Journal of Biological Sciences* [en ligne]. 6(1) : 23-28. DOI : 10.3923/pjbs.2003.23.28.
- Elbadry M. A., Elaasser M. M., Elshiekh H. H., Sheriff M. M. (2015).** Evaluation of Antimicrobial, Cytotoxic and Larvicidal Activity of *Zygophyllum Coccineum* North Sinai, Egypt. *Med Aromat Plants* [en ligne]. 4(214) : 2167–0412.
- Emad A. M., Gamal El-Ghazali E. (2013).** Screening for antimicrobial activity of some plants from Saudi folk medicine. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine* [en ligne]. 2(4): 189.

Références bibliographiques

- Etchike C. A., Sassa A. M., Abba A., Nyonbourg E. (2011).** Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne de cinq plantes de la pharmacopée traditionnelle de l'Adamaoua (Cameroun). *Cameroon Journal of Experimental Biology* [en ligne]. 7(1): 22-27. DOI: 10.4314/cajeb.v7i1.69788.
- Fecih N. E. H., Guetitni M., Maghmoul S. (2018).** Effets cytotoxiques et génotoxiques des extraits aqueux de *Zygophyllum cornutum* et *Atractylis gummifera* sur *Allium cepa*. *Biologie moléculaire et cellulaire* [en ligne]. Université 08 Mai 1945. 30p.
- Fenech M. (2010).** THE LYMPHOCYTE CYTOKINESIS-BLOCK MICRONUCLEUS CYTOME ASSAY AND ITS APPLICATION IN RADIATION BIODOSIMETRY. *Health Physics* [en ligne]. 98 (2) : 234p. DOI : 10.1097/HP.0b013e3181b85044.
- Fernández F. P., Peropadre A., Rosal R., Pérez M. J. M., Hazen María J. (2016).** Toxicological assessment of third generation (G3) poly (amidoamine) dendrimers using the *Allium cepa* test. *Science of The Total Environment* [en ligne]. 563-564 () :899-903. DOI : 10.1016/j.scitotenv.2015.07.137.
- Fiskesjö G. (1985).** The Allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas* [en ligne]. 102(1): 99-112. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x.
- Friedberg E. C., Walker G. C., Siede W., Wood R. D. (2005).** DNA Repair and Mutagenesis. American Society for Microbiology Press [en ligne]. 2845p. ISBN: 978-1-55581-319-2.
- Gatehouse D., Haworth S., Cebula T., Gocke E., Kier L., Matsushima T., Melcion C., Nohmi T., Ohta T., Venitt S., Zeiger E. (1994).** Recommendations for the performance of bacterial mutation assays. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects* [en ligne]. 312(3) : 217-233. DOI : 10.1016/0165-1161(94)90037-X. [Consulté le 18/05/19].
- Girma B., Mulisa E., Tessema S., Amelo W. (2018).** Ethnomedicine Claim Directed in Silico Prediction of Anticancer Activity. *Ethiopian Journal of Health Sciences* [en ligne]. 28(1): 83-92.
- Gurib-Fakim A. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* [en ligne]. 27(1): 1-93. DOI: 10.1016/j.mam.2005.07.008.
- Haber J. E. (2000).** Partners and pathways: repairing a double-strand break. *Trends in Genetics* [en ligne]. 16 (6) : 259-264. DOI : 10.1016/S0168-9525(00)02022-9.
- Hammad I., Qari S. H. (2010).** Genetic diversity among *Zygophyllum* (*Zygophyllaceae*) populations based on RAPD analysis. *Genetics and Molecular Research* [en ligne]. 9(4): 2412-2420.

Références bibliographiques

- Hammoda H. M., Ghazy N. M., Harraz F. M., Radwan M. M., ElSohly Mahmoud A., Abdallah I. I. (2013).** Chemical constituents from *Tribulus terrestris* and screening of their antioxidant activity. *Phytochemistry* [en ligne]. 92(): 153-159. DOI: 10.1016/j.phytochem.2013.04.005.
- Hammons G. J., Milton D., Stepps K., Guengerich F. P., Tukey R. H., Kadlubar F. F. (1997).** Metabolism of carcinogenic heterocyclic and aromatic amines by recombinant human cytochrome P450 enzymes. *Carcinogenesis* [en ligne]. 18(4): 851-854.
- Harvey R. G. (1991).** Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Chemistry and Carcinogenicity. The University of Cambridge Press Archive [en ligne]. 426p. ISBN: 978-0-521-36458-4.
- Henle E. S., Linn S. (1997).** Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide. *The Journal of Biological Chemistry* [en ligne]. 272(31): 19095-19098.
- Horvath Gy., Bencsik T., Acs K., Kocsis B. (2016).** SENSITIVITY OF ESBL-PRODUCING GRAMNEGATIVE BACTERIA TO ESSENTIAL OILS, PLANT EXTRACTS, AND THEIR ISOLATED COMPOUNDS. Institute of Pharmacognosy, Medical School, University of Pecs, Pécs, Hungary ; 2 Institute of Medical Microbiology and Immunology, Medical School, University of Pecs, Pécs, Hungary. Elsevier Inc [en ligne]. Disponible à l'adresse : <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803642-6.00012-5>.
- Hussein S. R., Marzouk M. M., Ibrahim L. F., Kawashty S. A., Saleh N. A. M. (2011).** Flavonoids of *Zygophyllum album* L.f. and *Zygophyllum simplex* L. (Zygophyllaceae). *Journal of Biochemical Systematics and Ecology* [en ligne]. 39(4-6): 778-780.
- Hutchinson F. (1985).** Chemical changes induced in DNA by ionizing radiation. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* [en ligne]. 32(): 115-154.
- Jackson S. P. (2002).** Sensing and repairing DNA double-strand breaks. *Carcinogenesis* [en ligne]. 23(5) :687-696.
- Janssen A. M., Scheffer J. J. C., Svendsen A. Baerheim. (1987).** Antimicrobial Activity of Essential Oils: A 1976-1986 Literature Review. Aspects of the Test Methods. *Planta Medica* [en ligne]. 53(5): 395-398. DOI: 10.1055/s-2006-962755.
- Jiricny Josef. (2006).** The multifaceted mismatch-repair system. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [en ligne].7(5):335p. DOI: 10.1038/nrm1907.
- Kaplan D., Maymon M., Agapakis C. M., Lee A., Wang A., Prigge B. A., Volcogon M., Hirsch A. M. (2013).** A survey of the microbial community in the rhizosphere of two dominant shrubs of the Negev Desert highlands, *Zygophyllum dumosum* (Zygophyllaceae) and *Atriplex halimus* (Amaranthaceae), using cultivation-dependent and cultivation-independent methods. *American Journal of Botany* [en ligne]. 100 (9): 1713-1725. DOI: 10.3732/ajb.1200615.

Références bibliographiques

- Khafagi I. K., Dewedar A. (2000).** The efficiency of random versus ethno-directed research in the evaluation of Sinai medicinal plants for bioactive compounds. *Journal of Ethnopharmacology* [en ligne]. 71(3): 365-376. DOI: 10.1016/S0378-8741(00)00164-1.
- Kriek E. (1992).** Fifty years of research on N-acetyl-2-aminofluorene, one of the most versatile compounds in experimental cancer research. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* [en ligne]. 118(7): 481-489.
- Kubitzki K., Bayer K. (2003).** Flowering plants, Dicotyledons: Malvales, Capparales, and non-betalain Caryophyllales Part of The Families and Genera of Vascular Plants book series [en ligne]. Springer Berlin Heidelberg. 418p. DOI: 10.1007/978-3-662-07255-4.
- Kuete V., Wiench B., Hegazy M. E., Mohamed T., Fankam A., Shahat A., Efferth T. (2012).** Antibacterial Activity and Cytotoxicity of Selected Egyptian Medicinal Plants. *Planta Medica* [en ligne]. 78(02): 193-199. DOI: 10.1055/s-0031-1280319.
- Kumar K. P. S., Bhowmik D., Chiranjib, B., Tiwari P. (2010).** *Allium cepa*: a traditional medicinal herb and its health benefits. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* [en ligne]. 2(1): 283-291.
- Kunkel T. A., Erie D. A. (2005).** DNA MISMATCH REPAIR. *Annual Review of Biochemistry* [en ligne]. 74(1) :681-710. DOI : 10.1146/annurev.biochem.74.082803.133243.
- Lane S. D., Martin E. S., Garrod J. F. (1978).** Lead toxicity effects on indole-3-ylacetic acid-induced cell elongation. *Planta* [en ligne]. 144(1): 79-84. DOI: 10.1007/BF00385010.
- Larson K., Sahm J., Shenkar R., Strauss B. (1985).** Methylation-induced blocks to in vitro DNA replication. *Mutation Research* [en ligne]. 150(1-2): 77-84.
- Leme D. M., Marin-Morales M. A. (2009).** *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* [en ligne]. 682(1): 71-81. DOI: 10.1016/j.mrrev.2009.06.002.
- Li M. W., Meyers S., Tollner T. L., Overstreet J. W. (2007).** Damage to Chromosomes and DNA of Rhesus Monkey Sperm Following Cryopreservation. *Journal of Andrology* [en ligne]. 28(4): 493-501. DOI: 10.2164/jandrol.106.000869.
- Liman R., Akyil D., Eren Y., Konuk M. (2010).** Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/Salmonella and Allium test. *Chemosphere* [en ligne]. 80(9) : 1056-1061. DOI : 10.1016/j.chemosphere.2010.05.011.
- Lindahl T. (1979).** DNA glycosylases, endonucleases for apurinic/aprimidinic sites, and base excision-repair. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* [en ligne]. 22(): 135-192.

Références bibliographiques

- Lindahl T. (1993).** Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* [en ligne]. 362(6422) : 709-715. DOI : 10.1038/362709a0.
- Lindahl T., Barnes D. E. (2000).** Repair of endogenous DNA damage. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* [en ligne]. 65(): 127-133.
- Liu D., Jiang W. (1992).** Effects of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*. *Hereditas* [en ligne]. 117(1): 23-29. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1992.tb00003.x.
- Lopez C., Ramos L., Bulacio L., Ramadan S., Rodriguez F. (2002).** Aflatoxin B1 content in patients with hepatic diseases. *Medicina* [en ligne]. 62 (4): 313-316.
- Mah M. C., Maher V.M., Thomas H., Reid T. M., King C. M., McCormik J. J. (1989).** Mutations induced by aminofluorene-DNA adducts during replication in human cells. *Carcinogenesis* [en ligne]. 10(12): 2321-2328.
- Maluszynska J., Juchimiuk J. (2005).** Plant Genotoxicity: A Molecular Cytogenetic Approach in Plant Bioassays. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* [en ligne]. 56(2): 177-184.
- Meek M. E., Bucher J. R., Cohen S. M., Dellarco V., Hill R. M., Lehman-McKeeman L. D., Longfellow D. G., Pastoor T., Seed J., Patton D. E. (2003).** A Framework for Human Relevance Analysis of Information on Carcinogenic Modes of Action. *Critical Reviews in Toxicology* [en ligne]. 33(6): 591-653. DOI: 10.1080/713608373.
- Mortelmans K., Zeiger E. (2000).** The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* [en ligne]. 455 (1-2) : 29-60. DOI : 10.1016/S0027-5107(00)00064-6.
- Nyiredy Sz. (2000).** Solid-liquid extraction strategy on the basis of solvent characterization. *Chromatographia* [en ligne]. 51(1): S288-S296. DOI : 10.1007/BF02492820.
- Odeigah P. G., Ijimakinwa J., Lawal B., Oyeniyi R. (1997).** Genotoxicity screening of leachates from solid industrial wastes evaluated with the *Allium* test. *ATLA, Alternatives to Laboratory Animals* [en ligne].
- Österberg R., Persson D., Bjursell G. (1984).** The Condensation of DNA by Chromium (III) Ions. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* [en ligne]. 2(2): 285-290. DOI: 10.1080/07391102.1984.10507567.
- Ostling O., Johanson K. J. (1984).** Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [en ligne]. 123 (1): 291-298. DOI: 10.1016/0006-291X (84)90411-X.
- Phillips D. H. (1983).** Fifty years of benzo (a) pyrene. *Nature* [en ligne]. 303 (5917) : 468-472.

Références bibliographiques

- Quezel P., Santa S., Schotter O. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales - v. 1-2. Centre National de la Recherche Scientifique [en ligne]. Disponible à l'adresse : <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF2015024768>.
- Rank J. (2003).** The method of *Allium* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Ekologija* [en ligne]. 1(1): 38–42.
- Reller L. Barth, W. M., Jorgensen J. H., Ferraro M. J. (2009).** Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Clinical Infectious Diseases* [en ligne]. 49(11): 1749-1755. DOI: 10.1086/647952.
- Ríos J. L., Recio M. C. (2005).** Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology* [en ligne]. 100 (1-2): 80-84. DOI: 10.1016/j.jep.2005.04.025.
- Ross Z. M., O’Gara E. A., Hill D. J., Sleightholme H. V., Maslin D. J. (2001).** Antimicrobial Properties of Garlic Oil against Human Enteric Bacteria: Evaluation of Methodologies and Comparisons with Garlic Oil Sulfides and Garlic Powder. *Applied and Environmental Microbiology* [en ligne]. 67(1) : 475-480. DOI : 10.1128/AEM.67.1.475-480.2001.
- Rothkamm K., Krüger I., Thompson L. H., Löbrich M. (2003).** Pathways of DNA Double-Strand Break Repair during the Mammalian Cell Cycle. *Molecular and Cellular Biology* [en ligne]. 23 (16) : 5706-5715. DOI : 10.1128/MCB.23.16.5706-5715.2003.
- Roy M. D. (2018).** Approach for assessing total cellular DNA damage. *Futur Science* [en ligne]. © 2007 Author(s). DOI : 10.2144/000112441.
- Russo A. (2000).** In vivo cytogenetics: mammalian germ cells. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* [en ligne]. 455 (1): 167-189. 10.1016/S0027-5107(00)00115-9.
- Rustenbil J. W., Poortvliet T. C. W. (1992).** Copper and zinc in estuarine water: Chemical speciation in relation to bioavailability to the marine planktonic diatom *Ditylum brightwellii*. *Environmental Toxicology and Chemistry* [en ligne]. 11(11): 1615-1625. DOI: 10.1002/etc.5620111111.
- Rydberg B., Lindahl T. (1982).** Nonenzymatic methylation of DNA by the intracellular methyl group donor S-adenosyl-L-methionine is a potentially mutagenic reaction. *The EMBO journal* [en ligne]. 1(2) : 211-216.
- Sage R. F. (2016).** A portrait of the C4 photosynthetic family on the 50th anniversary of its discovery: species number, evolutionary lineages, and Hall of Fame. *Journal of Experimental Botany* [en ligne]. 67(14) : 4039-4056. DOI : 10.1093/jxb/erw156.

Références bibliographiques

- Saleh Nabel A. M., El-Hadidi M. N. (1997).** An approach to the chemosystematics of the zygothylaceae. *Biochemical Systematics and Ecology* [en ligne]. 5(2): 121-128. DOI: 10.1016/0305-1978(77)90040-0.
- Saxena P. N., Chauhan L. K. S., Gupta S. K. (2005).** Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: Spectroscopic basis of chromosome damage. *Toxicology* [en ligne]. 216(2): 244-252. DOI: 10.1016/j.tox.2005.08.008.
- Shawky E. M., Gabr N. M., Elgindi M. R., Mekky R. H. (2019).** A Comprehensive Review on Genus *Zygophyllum*. *Journal of Advanced Pharmacy Research* [en ligne] [consulté le 16/03/2019]. 3 (1): 1-16.
- Sheahan M. C., Cutler D. F. (1993).** Contribution of vegetative anatomy to the systematics of the Zygothylaceae R.Br. *Botanical Journal of the Linnean Society* [en ligne]. 113(3): 227-262. DOI: 10.1111/j.1095-8339.1993.tb00339.x.
- Sheahan Mary C., C. M. W. (2000).** Phylogenetic Relationships within Zygothylaceae Based on DNA Sequences of three Plastid Regions, with Special Emphasis on Zygothylloideae. *Journal of Systematic Botany* [en ligne]. 25(2): 371-384.
- 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.
- Siddiqui A. H., Tabrez S., Ahmad M. (2011).** Validation of plant based bioassays for the toxicity testing of Indian waters. *Environmental Monitoring and Assessment* [en ligne]. 179(1): 241-253. DOI: 10.1007/s10661-010-1732-9.
- Silva J., Fonseca M. B. (2003).** Toxicological Studies in the Environment and Human Health, E: Toxicological Genetics. *Toxicological Genetics* [en ligne]. Edition: Ed. Alcance, Porto Alegre. Editeur : Silva, J., Erdtmann, B., Henriques, J. A. P.
- Simões C. M. O. (2001).** Farmacognosia: da planta ao medicamento. UFRGS; Florianópolis: UFSC [en ligne].
- Singer B., Kusmierk J. T. (1982).** Chemical Mutagenesis. *Annual Review of Biochemistry* [en ligne]. 51(1): 655-691. DOI: 10.1146/annurev.bi.51.070182.003255.
- Smati D., Hammiche V., Azzouz M., Alamir B. (2011).** Dosage des métaux lourds dans les *Zygophyllum* réputés antidiabétiques. *Annales de Toxicologie Analytique* [en ligne]. 23(3) : 125-132.
- Stich H. F., Lam P., Lo L. W., Koropatnick D. J., San R. H. C. (1975).** The Search for Relevant Short Term Bioassays for Chemical Carcinogens: The Tribulation of a Modern

Références bibliographiques

Sisyphus. Canadian Journal of Genetics and Cytology [en ligne]. 17(4): 471-492. DOI: 10.1139/g75-062.

Tedesco S. B., Laughinghouse H. D. (2012). Eight Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. Semantic Scholar [en ligne].

Thybaud M., Aardema M., Clements J., Dearfield K., Galloway S. Hayashi M., Jacobson-Kram D., Kirkland D., MacGregor J. T., Marzin D., Ohyama W., Schuler M., Suzuki H., Zeiger E. (2007). Strategy for genotoxicity testing: Hazard identification and risk assessment in relation to in vitro testing. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis [en ligne]. 627(1): 41-58. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2006.10.003.

Tice R. R., Agurell E., Anderson D., Burlinson B., Hartmann A., Kobayashi H., Miyamae Y., Rojas E., Ryu J-C., Sasaki Y. F. (2000). Single cell gel/comet assay: Guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. Environmental and Molecular Mutagenesis [en ligne]. 35 (5): 206-221. DOI: 10.1002/ (SICI) 1098-2280(2000)35:3<206 : AID-EM8>3.0.C 2-J.

Tornaletti S., Hanawalt P. C. (1999). Effect of DNA lesions on transcription elongation. Biochimie [en ligne]. 81 (1) : 139-146. DOI : 10.1016/S0300-9084(99)80046-7.

Tropp B. E. (2011). Molecular biology. From gene to protein. Jones & Bartlett Learning [en ligne].4(): 1100p.

Turkez H., Arslan M. E, Ozdemir O. (2017). Genotoxicity testing: progress and prospects for the next decade. Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology [en ligne]. 13(10) : 1089-1098. DOI : 10.1080/17425255.2017.1375097.

Turkez H., Yousef M. I., Sönmez E., Togar B., Bakan F., Sozio P., Stefano A. D. (2014). Evaluation of cytotoxic, oxidative stress and genotoxic responses of hydroxyapatite nanoparticles on human blood cells. Journal of Applied Toxicology [en ligne]. 34 (4) : 373-379. DOI : 10.1002/jat.2958.

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

Udroiu L., Ieradi L. A., Cristaldi M., Tanzarella C. (2006). Detection of clastogenic and aneugenic damage in newborn rats. Environmental and Molecular Mutagenesis [en ligne]. 47 (5) : 320-324. DOI : 10.1002/em.20209.

Varghese A. J. (1972). Photochemistry of nucleic acids and their constituents. Photophysiology [en ligne]. 7() : 207-274.

Watson L., Dallwitz M. J. (1992). The grass genera of the world. Disponible à l'adresse : <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19920758232>.

Références bibliographiques

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.

Wolff S., Perry P. (1974). Differential giemsa staining of sister chromatids and the study of sister chromatid exchanges without autoradiography. *Chromosoma* [en ligne]. 48 (4) : 341-353. DOI : 10.1007/BF00290991.

Wyatt M. D., Pittman D. L. (2006). Methylating agents and DNA repair responses: methylated bases and sources of strand breaks. *Chemical research in toxicology* [en ligne]. 19(12): 1580-1594. DOI: 10.1021/tx060164e.

Yang S., Furukawa I. (2006). Anatomical adaptations of three species of Chinese xerophytes (*Zygophyllaceae*). *Journal of Forestry Research* [en ligne]. 17(3): 247–251.

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

Annexe

Annexe

1. Mueller Hinton

Agar Mueller Hinton.....	38 g
Eau distillée.....	1000 ml

2. Eau physiologique

NaCl.....	9 g
Eau distillée.....	1000 ml

3. Eau synthétique

MgSO ₄	60 mg
NaHCO ₃	96 mg
KCL.....	4 mg
CaSO ₄	60 mg
Eau distillée.....	1000 ml

4. HCL 1N

HCL.....	8,1726 ml
Eau distillée.....	100 ml

5. Solution Carnoy (40 ml)

Ethanol.....	10 ml (1v)
Acide acétique glacial.....	30 ml (3v)

6. Feulgen

Fushine basique.....	0,25 g
HCL 1N.....	5 ml
K ₂ S ₂ O ₈	0,5 g
Eau distillée.....	80 ml

7. Ethanol 70%

Ethanol absolu.....	70 ml
Eau distillée.....	30 ml

8. Acide acétique 45%

Acide acétique glacial.....	45 ml
Eau distillée.....	55 ml