

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**



**Université du 20 Août 1955 Skikda**

**Faculté des sciences**

**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**



## **Thèse**

**En Vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat (LMD)**

**Domaine : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES**

**Spécialité : BIOCHIMIE APPLIQUEE**

**Intitulé**

**Caractérisation phytochimique de *Tribulus terrestris* et le pouvoir anti-détoxifiant de ses substances actives en cas d'une toxicité par Spirotetramat chez les pigeons domestiques (*Columba livia domestica*)**

**Présenté par : BOUZEKRI Ali**

**Membres de jury :**

**Président : Pr. Djerrou Zouhir**

**Examineur : Pr. Khelili Kamel**

**Examinatrice : Dr. Belambri Sahra Amel**

**Directrice de thèse : Pr. Slimani Souheila**

**Co-directrice de thèse : Dr. Nassar Meryem**

**Invité : Pr. Cherif Abdennour**

**Université de Skikda**

**Université d'Annaba**

**Université de Skikda**

**Université de Skikda**

**Université de Skikda**

**Université d'Annaba**

**Année universitaire : 2022-2023**

## REMERCIEMENT

Au terme de ce travail, nous remercions Dieu qui nous a aidés à réaliser ce travail.

"Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à mes directrices de thèse **Pr. SLIMANI Souheila** et **Dr. NASSAR Meryem**, pour leurs précieux conseils, leurs commentaires et leur soutien tout au long du processus de recherche. Leurs connaissances et leur expertise ont gagné à façonner mon travail et assurer son succès.

Je tiens également à remercier les membres de comité de thèse **Pr. DJERROU Zouhir**, **Pr. KHLILI Kamel**, **Dr. BELAMBRI SAHRA Amel**, et **Pr. CHERIF Abdennour** pour leurs commentaires perspicaces, leurs critiques constructives et leurs suggestions utiles, qui ont amélioré la qualité de ma recherche.

Mes sincères remerciements vont également à mes parents, ma grande famille, et ma petite famille pour leur amour indéfectible, leurs encouragements et leur compréhension tout au long de ce parcours difficile. Leur soutien constant et leur motivation ont été une source d'inspiration pour moi, et je n'aurais pas pu mener à bien cette thèse sans eux.

Enfin, je tiens à exprimer ma gratitude à tous ceux qui ont méconnu à ma recherche d'une manière ou d'une autre, pour leur précieuse contribution et leur aide. Leurs contributions ont été inestimables et je leur suis reconnaissant de leur aide."

**Que Dieu vous bénisse tous.**

## RESUME

Cette étude vise à évaluer les éventuelles propriétés protectrices de l'extrait hydrométhanolique de *Tribulus terrestris* (TT) contre la toxicité induite par l'insecticide Spirotetramat (SPT) chez les pigeons domestiques mâles (*Columba livia domestica*). Une analyse phytochimique a été réalisée en premier temps. Cette dernière a révélé une quantité significative de polyphénols et de flavonoïdes ainsi l'identification de neuf composés par l'analyse HPLC, suggérant la présence de composés antioxydants. Ensuite, l'étude examine les effets cytotoxiques et génotoxiques de SPT et TT sur deux modèles de plantes l'*Allium cepa* et le *Vicia faba*, en analysant la croissance, la morphologie, et la couleur des racines, ainsi que l'indice mitotique (IM), et les aberrations chromosomiques (ACs) comme marqueurs précis de la génotoxicité. Enfin, nous avons abordés le pouvoir détoxifiant de la plante. A cet égard une étude *in vivo* a été réalisée sur un modèle biologique ; les pigeons domestiques (*Columba livia domestica*), et le SPT comme facteur de la toxicité. Plusieurs fonctions vitales ont été explorées (reproduction, hépatique, rénales ...etc.). Pour cela, trente (30) pigeons mâles soumis à un régime photopériodique long de (19L :5D) ont été divisés en six groupes et traités par voie orale de la manière suivante : Le contrôle a reçu de l'eau distillée, le groupe SPT a reçu 15 mg/kg. PC de SPT, les groupes TT100 et TT50 ont reçu 100 et 50 mg/kg. PC de TT, respectivement, en plus les groupes (SPT+ TT100) et (SPT+ TT50). Le volume testiculaire et le poids corporel ont été mesurés une fois tous les 15 jours pendant dix semaines consécutives. Les testicules, le foie et les reins ont été pesés et examinés après le sacrifice des pigeons. Une évaluation des taux d'hormones sexuelles (Testostérone, FSH, LH) et des paramètres lipidiques (Cholestérol Total, HDL-C, LDL-C, Triglycérides) a été réalisée après la collecte d'échantillons sanguins. Les biomarqueurs hépatiques et néphrotiques (ALAT, ASAT, GGT, glucose, protéines totales, créatinine, acide urique) ont été également examiné dans le plasma. Les résultats de cette étude ont montré que le SPT et le TT entraînent des effets cytotoxiques et génotoxiques significatifs sur les racines de l'*A. cepa* et le *V. faba* se manifestent par une diminution de la longueur moyenne des racines et de l'IM, ainsi qu'une augmentation des ACs. Ces effets étaient proportionnels à la concentration et la durée d'exposition. Nos résultats *in vivo* ont montré que l'administration des deux doses de TT a entraîné une augmentation significative du volume testiculaire chez les pigeons dès la deuxième semaine. En revanche, l'exposition au SPT a provoqué une diminution significative du volume testiculaire. Les groupes ayant reçu SPT ainsi que les deux doses de TT ont présenté une augmentation significative des taux de FSH et de LH. Toutefois, une diminution significative du taux de testostérone (T) a été observé chez les

pigeons exposés au SPT, tandis qu'il a augmenté chez ceux traités par TT. Par ailleurs, une augmentation notable des taux de cholestérol total (CT), HDL-C et LDL-C a été observée dans le groupe SPT. La supplémentation par TT chez les pigeons exposés à SPT a réduit les effets négatifs de SPT sur le volume, le poids testiculaires, les taux de T, et les paramètres lipidiques. SPT a induit des changements significatifs dans le poids relatif des organes, les activités enzymatiques et les paramètres biochimiques examinés, mais la supplémentation par TT a inversé ces changements. L'analyse histopathologique a montré des altérations dans les tissus des organes ciblés par SPT, mais le traitement combiné avec TT a permis de réduire ces lésions. Les résultats de cette étude ont mis en évidence que TT possède des propriétés protectrices contre les effets toxiques induits par SPT sur les fonctions reproductive, hépatique et rénale, réduisant significativement les altérations causées par SPT, tout en stimulant fortement la production d'hormones sexuelles masculines. Cette étude a également démontré l'ampleur des effets génotoxiques que SPT pourrait causer en induisant des changements dans le génome des organismes non ciblés. Elle souligne également la nécessité d'utiliser TT rationnellement et de manière appropriée, en fonction des besoins thérapeutiques fondamentaux.

**Mots clés :** *Tribulus terrestris*, Spirotetramat, HPLC, Cytotoxicité et génotoxicité, Pigeon, Reproduction saisonnière, Foie et rein

## ABSTRACT

This study aims to assess the potential protective properties of the hydromethanolic extract of *Tribulus terrestris* (TT) against the toxicity induced by the insecticide Spirotetramat (SPT) in male domestic pigeons (*Columba livia domestica*). Firstly, a phytochemical analysis was conducted, revealing a significant quantity of polyphenols and flavonoids, as well as the identification of nine compounds through HPLC analysis, suggesting the presence of antioxidant compounds. Subsequently, the study examines the cytotoxic and genotoxic effects of SPT and TT on two plant models, *Allium cepa* and *Vicia faba*, analyzing growth, morphology, root color, mitotic index (MI), and chromosomal aberrations (CAs) as accurate markers of genotoxicity. Finally, we addressed the detoxifying power of the plant. In this regard, an *in vivo* study was conducted on a biological model: domestic pigeons (*Columba livia domestica*), with SPT as a toxicity factor. Several vital functions were explored (reproduction, hepatic, renal...). For this purpose, thirty (30) male pigeons subjected to a long photoperiodic regime (19L:5D) were divided into six groups and treated orally as follows: the control group received distilled water, the SPT group received 15 mg/kg of SPT, the TT100 and TT50 groups received 100 and 50 mg/kg of TT, respectively, and the (SPT+ TT100) and (SPT+ TT50) groups received SPT along with TT100 and TT50, respectively. Testicular volume and body weight were measured every 15 days for ten consecutive weeks. The testicles, liver, and kidneys were weighed and examined after sacrificing the pigeons. Evaluation of sex hormone levels (Testosterone, FSH, LH) and lipid parameters (Total Cholesterol, HDL-C, LDL-C, Triglycerides) was performed after collecting blood samples. Hepatic and nephrotic biomarkers (ALT, AST, GGT, glucose, total proteins, creatinine, uric acid) were also examined in the plasma. The results of this study showed that both SPT and TT induce significant cytotoxic and genotoxic effects on the roots of *A. cepa* and *V. faba*, manifested by a decrease in average root length and MI, as well as an increase in CAs. These effects were proportional to the concentration and duration of exposure. Our *in vivo* results demonstrated that administration of both doses of TT led to a significant increase in testicular volume in pigeons from the second week. In contrast, exposure to SPT caused a significant decrease in testicular volume. Groups receiving SPT along with both doses of TT showed a significant increase in FSH and LH levels. However, a significant decrease in testosterone (T) levels was observed in pigeons exposed to SPT, while it increased in those treated with TT. Moreover, a notable increase in total cholesterol (TC), HDL-C, and LDL-C levels was observed in the SPT group. Supplementation with TT in pigeons exposed to SPT reduced the negative effects of SPT on testicular volume,

weight, testosterone levels, and lipid parameters. SPT induced significant changes in the relative organ weights, enzymatic activities, and examined biochemical parameters, but supplementation with TT reversed these changes. Histopathological analysis showed alterations in the tissues of organs targeted by SPT, but combined treatment with TT reduced these lesions. The results of this study highlighted that TT possesses protective properties against the toxic effects induced by SPT on reproductive, hepatic, and renal functions, significantly reducing the alterations caused by SPT while strongly stimulating the production of male sex hormones. This study also demonstrated the extent of genotoxic effects that SPT could cause by inducing changes in the genome of non-targeted organisms. It also emphasizes the need for rational and appropriate use of TT based on fundamental therapeutic needs.

**Keywords:** *Tribulus terrestris*, Spirotetramat, HPLC, Cytotoxicity and genotoxicity, Pigeon, Seasonal reproduction, Liver and kidney.

## الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الخصائص الوقائية المحتملة للمستخلص الميثانولي لنبات الحسك (*Tribulus terrestris*) ضد السمية المستحدثة بواسطة المبيد الحشري سيبروتترامات (SPT) في ذكور الحمام الأهلي البالغ (*Columba livia domestica*). لقد تم إجراء تحليل كيميائي نباتي أولاً، كشف عن كمية كبيرة من البوليفينولات والفلافونويدات، إلى جانب تحديد تسع مركبات من خلال تحليل الـ HPLC، مما يشير إلى وجود مركبات مضادة للأكسدة. بعد ذلك، تمت دراسة التأثيرات السمية للخلايا والجينات التي يمكن أن يسببها كل من SPT و TT وذلك باستعمال نموذجين نباتيين هما البصل الأحمر (*Allium cepa*) والفاصوليا (*Vicia faba*)، حيث تم تحليل نمو، شكل، ولون الجذور ومعدل مؤشر الانقسام (IM) والتشوهات الكروموسومية (ACs). بالإضافة إلى ذلك، تمت دراسة لتقييم الوظائف الحيوية (التكاثرية، الكبدية، والكلوية) لثلاثين من ذكور الحمام الأهلي حيث تم تقسيمها إلى ست مجاميع وعولجت كلها عن طريق الفم لمدة عشرة أسابيع تحت تأثير فترة طويلة من الإضاءة كما يلي: المجموعة الشاهدة، تلقت الماء المقطر، المجموعة SPT تلقت جرعة 15 ملغم/كغ/وزن الجسم من SPT، مجموعتا TT100 و TT50 تلقتا جرعة 100 و 50 ملغم/كغ/وزن الجسم من TT على التوالي، بالإضافة إلى المجموعتين (SPT+ TT100) و (SPT+ TT50). خلال هذه الدراسة تم قياس حجم الخصيتين ووزن الجسم بمعدل مرة واحدة كل أسبوعين، كما تم وزن الخصيتين والكبد والكلى ودراستها وذلك بعد التضحية بالحمام. بعد جمع عينات من دم المجموعات، تم تقييم مستويات الهرمونات الجنسية (T، FSH، LH) والمعايير الدهنية (CT، TG، HDL-C، LDL-C) بالإضافة أيضًا إلى فحص المؤشرات الكبدية والكلوية (ALAT، ASAT، GGT، البروتين الكلي، اليوريا، الكرياتينين، الجلوكوز، حمض البول) في البلازما. لقد أظهرت نتائج هذه الدراسة أن SPT و TT لها تأثيرات سمية على خلايا وجينات نباتي البصل الأحمر والفاصوليا تجلت في انخفاض المتوسط الطولي للجذور ومؤشر الانقسام IM، بالإضافة إلى زيادة في التشوهات الصبغية ACs بعد التعرض لـ SPT و TT، لكن كانت هذه التأثيرات متفاوتة ومتناسبة مع التراكيز المطبقة ومدة التعرض لهما. كما أظهرت نتائجنا بشأن الوظائف التكاثرية، الكبدية، والكلوية أن تناول كل من الجرعتين من المستخلص أدى إلى زيادة ملحوظة في حجم الخصيتين لدى الحمام ابتداءً من الأسبوع الثاني. وعلى الجانب الآخر، تسبب التعرض للمبيد الحشري في انخفاض ملحوظ في حجم الخصيتين. كما أظهرت المجاميع التي تلقت SPT متبوعاً بأحد الجرعتين من TT زيادة ملحوظة في مستويات LH و FSH. ورافق ذلك انخفاض مستوى التستوستيرون (T) لدى الحمام الذي تعرض لـ SPT، بينما ارتفع لدى الذين تم علاجهم بـ TT. علاوة على ذلك، لوحظ ارتفاع ملحوظ في مستويات الكوليسترول الكلي (CT) و HDL-C و LDL-C في مجموعة SPT. كما أدت التكملة بـ TT للحمام المعرضين لـ SPT إلى تقليل التأثيرات السلبية لـ SPT على حجم ووزن الخصية ومستويات T والمعايير الدهنية. كما أن SPT قد سبب تغييرات ملحوظة في الوزن النسبي لأعضاء الحمام ونشاط الإنزيمات والمعايير البيوكيميائية المدروسة، ولكن التكملة بـ TT قد خففت بشكل كبير هذه التغييرات. من جهة أخرى، لقد أظهر التحليل المرضي للأنسجة الخاص بالمجموعات التي تعرضت لـ SPT تغييرات واختلالات كبيرة في أنسجة الأعضاء المدروسة، ولكن المعالجة المقرونة بـ TT أدت إلى تقليل هذه الأضرار. لقد أبرزت نتائج هذا البحث أن TT لديها خصائص وقائية هامة ضد التأثيرات السمية لـ SPT على الوظائف التكاثرية والكبدية والكلوية، حيث قللت من التأثيرات السلبية التي سببها SPT بشكل ملحوظ، كما عززت إنتاج الهرمونات الجنسية الذكورية وبشكل كبير. كما أتت هذه الدراسة مدى

التأثيرات السمية التي قد يسببها SPT في احداث تغيرات في جينوم الكائنات الحية غير المستهدفة. كما تؤكد هذه الدراسة على ضرورة استخدام TT بعقلانية وبطريقة مناسبة وفعالة ووفقًا للاحتياجات العلاجية الأساسية.

**الكلمات المفتاحية:** تريبوليس تيراستريس، سيروتونينات، HPLC، السمية الخلوية والجينية، الحمام، التكاثري الموسمي، الكبد والكلية.

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Image photographique d'un pigeon domestique ( <i>Columba livia domestica</i> ).....	5
<b>Figure 2.</b> Le cerveau, la moelle épinière et les voies nerveuses principales d'un pigeon. ...	6
<b>Figure 3.</b> Une coupe transversale de l'œil typique d'un oiseau.....	7
<b>Figure 4.</b> Le système urinaire aviaire et la structure d'un néphron dans le rein.....	9
<b>Figure 5.</b> Le tractus reproducteur mâle et femelle chez le pigeon.....	10
<b>Figure 6.</b> Cascade de transduction du signal photopériodique chez les oiseaux. ....	12
<b>Figure 7:</b> Mode d'action du SPT.....	14
<b>Figure 8.</b> Voies de dégradation du SPT dans différentes parties de la plante d'épinard et dans le sol.....	16
<b>Figure 9.</b> Les différentes parties de TT. (A) et (C) : Feuilles, tiges, et fleurs, (B) : La plante entière, (D) : Les fruits. ....	20
<b>Figure 10.</b> Saponines de Spirostanol (à gauche) et de Furostanol (à droite).....	21
<b>Figure 11.</b> Les composés les plus courants trouvés dans l'extrait de TT. ....	23
<b>Figure 12.</b> Les composés les plus courants trouvés dans l'extrait de TT. ....	23
<b>Figure 13.</b> Les différentes activités pharmacologiques de TT. ....	25
<b>Figure 14.</b> Les mécanismes d'actions présumées responsables des effets des extraits de TT dans les troubles sexuels.....	27
<b>Figure 15.</b> Les différentes parties de la plante TT de la région de Skikda. (A) et (C) : la plante entière avec les fruits, (B) et (D) : La plante entière avec fleurs.....	33
<b>Figure 16.</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). ....	36
<b>Figure 17.</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). ....	37
<b>Figure 18.</b> Représentation graphique résume les étapes de l'étude phytochimique.....	38
<b>Figure 19.</b> Traitement des bulbes de l' <i>A. cepa</i> avec différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique de TT et de SPT.....	40
<b>Figure 20.</b> Traitement des graines de <i>V. faba</i> avec différentes concentrations de SPT. ...	40
<b>Figure 21.</b> Représentation graphique résume les étapes de l'étude cytotoxique et génotoxique. ....	42
<b>Figure 22.</b> Les différentes étapes du protocole expérimentale de l'étude biologique <i>in vivo</i> . ....	45
<b>Figure 23.</b> Teneurs en composés phénoliques de l'extrait hydrométhanolique de TT. ....	53

<b>Figure 24.</b> Chromatogramme HPLC de l'extrait hydrométhanolique de TT.....	54
<b>Figure 25.</b> L'effet de différentes concentrations du SPT sur l'IM chez les cellules méristématiques de l' <i>A. cepa</i> et de <i>V. faba</i> (12 h) (A) et (24 h) (B).....	59
<b>Figure 26.</b> L'effet de différentes concentrations du SPT sur les ACs dans les cellules de l' <i>A. cepa</i> et le <i>V. faba</i> . Après 12 h (A) et après 24 h (B).....	61
<b>Figure 27.</b> Fréquence des différents types d'aberration chromosomique (FA%) induite par différentes concentrations de SPT (%) chez les cellules de l' <i>A. cepa</i> (A-B) et le <i>V. faba</i> (C-D).....	61
<b>Figure 28.</b> Photomicrographies montrant les différentes ACs induites par différentes concentrations de SPT dans les cellules méristématiques de l' <i>A. cepa</i> .....	63
<b>Figure 29.</b> Photomicrographies montrant les différentes ACs induites par différentes concentrations de SPT dans les cellules méristématiques de <i>V. faba</i> .....	63
<b>Figure 30.</b> L'effet de différentes concentrations du TT sur l'index mitotique (IM) chez les cellules de l' <i>A. cepa</i> et le <i>V. faba</i> après 12 h (A) et après 24 h (B).....	68
<b>Figure 31.</b> L'effet de différentes concentrations du TT (mg/mL) sur le % des aberrations chromosomiques (ACs) chez les cellules de l' <i>A. cepa</i> et le <i>V. faba</i> . Après 12 h (A) et après 24 h (B).....	70
<b>Figure 32.</b> Fréquence des différents types d'aberration chromosomique (FA%) induites par différentes concentrations de TT (mg/mL) chez les cellules de l' <i>A. cepa</i> (A-B) et le <i>V. faba</i> (C-D).....	70
<b>Figure 33.</b> Photomicrographies montrant les différentes ACs induites par différentes concentrations de TT (mg/mL) dans les cellules de l'extrémité des racines de l' <i>A. cepa</i> ..	72
<b>Figure 34.</b> Photomicrographies montrant les différentes ACs induites par différentes concentrations de TT (mg/mL) dans les cellules de l'extrémité des racines de <i>V. faba</i> .....	72
<b>Figure 35.</b> Variation du poids corporel (g) du contrôle et de différents groupes de pigeons traités pendant 10 semaines consécutives sous une longue photopériode (19L :5D). .....	74
<b>Figure 36.</b> Effet de SPT et TT sur le poids des testicules (g) après 10 semaines consécutives de traitement sous une longue photopériode (19L :5D). .....	77
<b>Figure 37.</b> Variation du volume testiculaire (mm <sup>3</sup> ) de contrôle et de différents groupes de pigeons traités pendant 10 semaines consécutives sous une longue photopériode (19L :5D).. .....	78

<b>Figure 38.</b> Effet du SPT et TT sur (A) : l'hormone folliculostimulante (FSH), (B) : l'hormone lutéinisante (LH), (C) : la testostérone sérique après 10 semaines de traitement consécutive soumis à une longue photopériode (19L :5D).....	81
<b>Figure 39.</b> Effet de SPT et TT sur (A) : le cholestérol total, (B) : le cholestérol-HDL, (C) : le cholestérol-LDL-C, et (D) : les triglycérides dans le plasma après 10 semaines consécutives de traitement sous une longue photopériode (19L :5D).....	85
<b>Figure 40.</b> Effet du SPT et du TT sur le poids relatif du foie (A) et des reins (B) de pigeons après dix semaines consécutives. ....	87
<b>Figure 41.</b> Effet du SPT et du TT sur les activités plasmatiques AST (A), ALT (B) et GGT (C) des pigeons mâles après dix semaines de traitement consécutives.....	90
<b>Figure 42.</b> Effet du SPT et TT sur les concentrations plasmatiques de la créatinine (A), l'acide urique (B), les protéines totales (C), et le glucose sanguin (D) des pigeons mâles après dix semaines de traitement consécutives. ....	92
<b>Figure 43.</b> Structure histologique des testicules de différents groupes de pigeons traités sous une longue photopériode (19L :5D).....	96
<b>Figure 44.</b> Photomicrographie histologique de la structure des testicules de différents groupes traités par TT50, SPT+TT100 et SPT+TT50 sous une longue photopériode (19L :5D).....	97
<b>Figure 45.</b> Effet hépato-protecteur du TT chez des pigeons mâles exposés au SPT pendant dix semaines consécutives.....	99
<b>Figure 46.</b> Effet néphroprotecteur du TT chez des pigeons mâles exposés au SPT pendant dix semaines consécutives.....	101

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b> Classification des pigeons ( <i>Columba livia domestica</i> ) .....	5
<b>Tableau 2.</b> Les propriétés physico-chimiques du SPT .....	13
<b>Tableau 3.</b> Les paramètres pertinents sur le plan éco-toxicologique pour les oiseaux et les mammifères. ....	17
<b>Tableau 4.</b> Classification de la plante <i>Tribulus terrestris</i> .....	21
<b>Tableau 5.</b> Groupes expérimentaux de l' <i>A. cepa</i> et de <i>V. faba</i> et différents traitements. .	39
<b>Tableau 6.</b> Teneurs en composés phénoliques de l'extrait hydrométhanolique de TT...	53
<b>Tableau 7.</b> Analyse par L'HPLC de l'extrait hydrométhanolique de <i>T. terrestris</i> .....	54
<b>Tableau 8.</b> L'effet de différentes concentrations de SPT (%) et de durées d'expositions sur la longueur des racines (cm) de l' <i>A. cepa</i> . ....	57
<b>Tableau 9.</b> L'effet de différentes concentrations de SPT (%) et de durées d'expositions sur la longueur des racines (cm) de <i>V. faba</i> .....	57
<b>Tableau 10.</b> Les conséquences des différentes concentrations de SPT sur l'indice mitotique (IM) et les aberrations chromosomiques (ACs) ont été étudiées chez les cellules de l' <i>A. cepa</i> et de <i>V. faba</i> . Après 12 h et 24 h de traitement. ....	62
<b>Tableau 11.</b> L'effet de différentes concentrations de TT (mg/mL) et de durées d'expositions sur la longueur des racines (cm) de l' <i>A. cepa</i> . ....	66
<b>Tableau 12.</b> L'effet de différentes concentrations de TT (mg/mL) et de durées d'expositions sur la longueur des racines (cm) de <i>V. faba</i> .....	66
<b>Tableau 13.</b> L'effet de différentes concentrations de TT (mg/mL) sur l'indice mitotique l'IM (%) et les aberrations chromosomiques ACs (%) dans les cellules de l' <i>A. cepa</i> et de <i>V. faba</i> . Après 12 h et 24 h de traitement.....	71
<b>Tableau 14.</b> Variation du poids corporel (g) de différents groupes traités pendant 10 semaines consécutives sous une longue photopériode (19L :5D).....	74
<b>Tableau 15.</b> Variation du poids relatif testiculaire du contrôle et de différents groupes traités pendant 10 semaines consécutives sous une longue photopériode (19L :5D). ....	76
<b>Tableau 16.</b> Variation du volume testiculaire (mm <sup>3</sup> ) chez les pigeons du contrôle et les groupes traités sous une longue photopériode (19L :5D).....	77
<b>Tableau 17.</b> Variation du T, FSH, et LH du contrôle et de différents groupes traités pendant 10 semaines consécutives sous une longue photopériode (19L :5D).....	80

<b>Tableau 18.</b> Variation du taux des paramètres lipidiques (CT, HDL-C, LDL-C, et TRI) après 10 semaines consécutives de traitement sous une longue photopériode (19L :5D).	84
<b>Tableau 19.</b> Variation des taux plasmatiques des protéines totales, du glucose, et l'activité des enzymes plasmatiques (ALAT, ASAT, GGT).....	89
<b>Tableau 20.</b> Évolution de la concentration plasmatique de la créatinine, de l'acide urique, de protéines totales, et du glucose chez les différents groupes traités pendant une période de 10 semaine consécutive.....	92

## LISTE DES ABREVIATIONS

- ACC** : Acétyl-CoA carboxylase
- AChE** : Acétylcholinestérase
- ACs** : Aberrations chromosomiques
- ALAT** : Alanine transaminase
- ASAT** : Aspartate transaminase
- C** : Corticostérone
- COX-2** : Cyclooxygénase-2
- CT** : Cholestérol total
- DDT** : Dichloro-diphényl-trichloroéthane
- DL50** : Dose létale 50
- FSH** : Hormone folliculo-stimulante
- GABA** : Acide  $\gamma$ -aminobutyrique
- GGT** : Gamma-glutamyltransférase
- GST** : Glutathion S-transférase
- HDL-C** : High-density lipoprotein cholesterol
- HPG** : Hypothalamo-hypophyso-gonadique
- IM** : Index mitotique
- LDL-C** : Low-density lipoprotein cholesterol
- LH** : Luteizing hormone
- MDA** : Malondialdehyde
- NOX** : Naringénine-oxime
- PC** : Poids corporel
- ROS** : Reactive oxygen species
- SOD** : Superoxyde dismutase, : SuperOxyde Dismutase
- SPT** : Spirotetramat
- T** : Testostérone
- TT** : *Tribulus terrestris*

Remerciement	
Résumés	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Liste des abréviations	

## SOMMAIRE

INTRODUCTION .....	1
--------------------	---

### CHAPITRE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

#### PARTIE 1. GENERALITES SUR LES PIGEONS DOMESTIQUES

1. Classification .....	5
2. Morphologie.....	5
3. Anatomie et physiologie.....	6
3.1. Système nerveux.....	6
3.2. Anatomie de l'œil .....	6
3.3. Hormones et glandes .....	7
3.4. Reins et autres organes liés à l'hydratation .....	8
3.5. Système reproductif.....	9
3.6. Reproduction saisonnière chez les pigeons .....	10
3.7. Cascade de transduction du signal photopériodique chez les oiseaux .....	11

#### PARTIE 2. SPIROTETRAMAT

1. Définition.....	13
2. Propriétés physicochimiques .....	13
3. Mode d'action.....	13
4. Métabolisme et Toxicocinétique .....	15
4.1. Absorption .....	15
4.2. Distribution.....	15
4.3. Métabolisme .....	15
4.4. Elimination .....	16
5. Toxicité aiguë.....	16
6. Toxicité chronique .....	17
7. Cytotoxicité et génotoxicité.....	18

### **PARTIE 3. *TRIBULUS TERRESTRIS***

1. Description et caractérisation.....	20
2. Dénomination et taxonomie .....	21
3. Composition chimique.....	21
3.1. Saponines stéroïdiennes .....	22
3.2. Flavonoïdes.....	22
4. Applications en médecine traditionnelle.....	24
5. Propriétés pharmacologiques.....	24
5.1 Amélioration de la fonction sexuelle .....	25
5.2. Activité diurétique.....	27
5.3. Activité sur les maladies cardiaques .....	27
5.4. Activité antidiabétique.....	28
5.5. Activité immunomodulatrice .....	28
5.6. Activité antimicrobienne.....	28
5.7. Activité anti-inflammatoire .....	29
5.8. Amélioration de l'activité athlétique.....	29
5.9. Activité antioxydante .....	29
5.10. Action sur le système nerveux central.....	30
6. <i>Tribulus terrestris</i> et l'effet cytogénétique.....	30

### **CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES**

1. Matériel.....	33
1.1 Matériel végétal.....	33
1.2. Matériel biologique .....	34
1.3. Matériel chimique .....	34
2. Méthodes .....	35
2.1. Préparation et étude du matériel végétal .....	35
2.1.1. Préparation de l'extrait hydrométhanolique.....	35
2.2. Etude phytochimique.....	35
2.2.1. Dosage des composés phénoliques .....	35
2.2.2. Analyse par l'HPLC.....	37
2.3. Etude de cytotoxicité et génotoxicité.....	38
2.3.1. Test de cytotoxicité .....	38

2.3.2. Test de génotoxicité .....	39
2.3.2.1. Préparations cytogénétique .....	40
2.3.2.2. Observation des spécimens .....	41
2.3.2.3. Détermination de la génotoxicité .....	41
3. Etude des activités biologiques <i>in vivo</i> .....	42
3.1. Préparation de l'extrait hydrométhanolique .....	42
3.2. Préparation du traitement au Spirotetramat.....	42
3.3. Animaux et conditions d'élevage .....	42
3.4. Traitement des pigeons.....	43
3.5. Évaluation du poids corporel et du volume testiculaire .....	43
3.6. Sacrifices des pigeons et prélèvement des échantillons.....	44
3.6.1. Prélèvement sanguin .....	44
3.6.2. Dissection et prélèvement des organes.....	44
3.7. Techniques de dosage .....	45
3.7.1. Dosage des hormones sexuelles.....	45
3.7.2. Dosage des paramètres biochimiques .....	46
3.7.3. Dosage des marqueurs plasmatiques du foie .....	47
3.7.4. Dosage des marqueurs plasmatiques des reins.....	48
3.8. Etude de l'architecture histologique des organes.....	49
4. Traitement statistique des résultats.....	51

### CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Etude phytochimique.....	53
1.1. Teneur en composés phénoliques.....	53
1.2. Analyse par l'HPLC.....	54
2. Etude cytotoxique et génotoxique .....	55
2.1. Spirotetramat .....	55
2.1.1. Cytotoxicité .....	55
2.1.2. Génotoxicité .....	58
2.2. <i>Tribulus terrestris</i> .....	64
2.2.1. Cytotoxicité.....	64
2.2.2. Génotoxicité .....	67
3. Etude biologique <i>in vivo</i> .....	73

3.1. Evaluation du poids corporel .....	73
3.2. Impact du traitement sur la reproduction saisonnière .....	75
3.2.1. Variation du poids relatif testiculaire .....	76
3.2.2. Variation du volume testiculaire .....	77
3.2.3 Evaluation du taux de la Testostérone (T), de la FSH, et la LH .....	80
3.2.3.1. Testostérone .....	80
3.2.3.2. FSH .....	80
3.2.3.3. LH.....	80
3.3. Effet du traitement sur le profil lipidique.....	83
3.3.1. Cholestérol-totale (CT) et HDL.....	83
3.3.2. LDL.....	84
3.3.3. Triglycérides (TG) .....	84
3.4. Effet du traitement sur la fonction hépatorenale .....	86
3.4.1. Evaluation du poids relatif du foie et des reins .....	87
3.4.2. Evaluation de l'activité des enzymes plasmatiques .....	88
3.4.2.1. Aminotransaminases.....	88
3.4.2.2. GGT ( $\gamma$ -glutamyl transférase.....	89
3.4.3. Evaluation des marqueurs biochimiques plasmatiques .....	91
3.4.3.1. Protéines totales.....	91
3.4.3.2. Glucose .....	91
3.4.3.3. Créatinine .....	91
3.4.3.4. Acide urique .....	92
3.5. Effet du traitement sur l'architecture des organes .....	94
3.5.1. Etude histologique des testicules .....	94
3.5.2. Etude histologique du foie .....	98
3.5.3. Etude histologique des reins .....	100
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>103</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>106</b>
<b>PRODUCTION SCIENTIFIQUE.....</b>	<b>130</b>

**INTRODUCTION  
GENERALE**

## INTRODUCTION GENERALE

Les pesticides sont des composés synthétiques ou des substances naturelles utilisés pour attirer, éliminer ou limiter l'activité des organismes nuisibles. Ils sont principalement utilisés dans le secteur agricole pour protéger les cultures contre les effets néfastes des insectes, des mauvaises herbes et des infections microbiennes pendant la phase de croissance. En outre, les pesticides sont utilisés pour protéger les denrées alimentaires des dommages potentiels causés par les rongeurs, les insectes ou d'autres contaminants biologiques pendant le stockage (**Bolognesi, 2003**).

SPT est un nouvel insecticide dérivé de l'acide tétronique, classé dans le groupe des pesticides Kéto-énoliques. Selon **Zhang et al. (2020)**, l'utilisation de cette substance est courante dans le domaine de l'agriculture pour lutter contre les cochenilles et les pucerons. L'efficacité du SPT contre divers insectes se nourrissant du phloème a été attribuée à son mode d'action particulier (**Bruck et al. 2009; Ouyang et al. 2011**). Néanmoins, l'impact du SPT sur l'environnement et les organismes non ciblés a été étudié par de nombreux chercheurs. **Yin et al. (2014)** ont mené une étude sur les têtards de crapauds chinois et ont constaté que l'exposition à des doses sublétals de SPT peut entraîner un stress oxydatif et une peroxydation chez ces organismes. **Wu et al. (2012)** ont prouvé que SPT a la capacité de subir une absorption et une conversion en résidus dans divers organes et tissus. En outre, **Liu (2011)** a documenté que les rats auxquels on a administré du SPT pendant une durée de sept jours ont montré une réduction notable de leur poids corporel et ont développé des lésions hépatiques et gonadiques. De plus, **Chen (2018)** a rapporté que l'administration de SPT a entraîné un retard dans le développement des embryons de poisson zèbre, induisant un stress oxydatif et diminuant l'expression des gènes cibles liés à l'acétyl-CoA carboxylase et à la protéine régulatrice des stérols. Outre, une étude précédente a révélé que l'exposition aux SPT a endommagé les gonades et perturbé le système endocrinien (**Zhang et al., 2020b**). De plus, Divers essais biologiques sont utilisés dans de nombreuses études pour évaluer les effets cytotoxiques et génotoxiques de divers herbicides, insecticides et fongicides (**Kuchy et al. 2015; Rosculete et al., 2018 ; Macar, 2020 ; Sheikh et al., 2020**).

L'homme a toujours eu recours à la médecine traditionnelle. En raison de leurs effets secondaires minimes et de leurs bienfaits pour la santé, les produits pharmacologiques dérivés des plantes intriguent depuis longtemps les scientifiques (**Aye et al., 2019**). Malgré les améliorations apportées par la médecine moderne, la plupart des gens préfèrent les traitements

traditionnels. Des statistiques récentes montrent que 80 % de la planète utilise des remèdes traditionnels, qui impliquent généralement des extraits de plantes ou des composants bioactifs (**Azam et al., 2019**).

La plante TT est répartie dans le monde entier, notamment dans des pays comme l'Inde, le Pakistan, la Chine, l'Australie, l'Europe du Sud et de l'Ouest et l'Afrique du Nord (**Meena et al., 2019**). Cette plante appartient à la famille des Zygophyllaceae, qui est une famille largement distribuée comprenant 25 genres et environ 250 espèces. TT est une plante herbacée qui pousse dans les climats arides et les sols sablonneux, avec une hauteur maximale d'un mètre (**Stefănescu et al., 2020**). Les préparations dérivées des parties supérieures de la plante sont recherchées par les athlètes et les personnes souffrant de troubles hormonaux, de dysfonctionnements sexuels, de problèmes cardiaques et de maladies des reins et de la peau (**Semerdjieva et Zheljaskov, 2019**).

L'importance de l'étude des propriétés phytopharmacologiques de la plante TT est soulignée par sa vaste distribution, l'abondance de ses composés actifs, notamment les saponines stéroïdiennes, les terpénoïdes, les flavonoïdes, les tanins, les phénols, les alcaloïdes et les acides carboxyliques, et son utilisation fréquente dans la médecine traditionnelle, comme l'indiquent **Stefănescu et al. (2020)**. Il est impératif d'évaluer l'impact cytotoxique et génotoxique potentiel de la plante en raison de la toxicité possible de ses composés actifs. Cette évaluation est cruciale pour garantir la sécurité et l'efficacité de l'utilisation de cette plante à des doses appropriées (**Celik, 2012**). Malgré les recherches menées par de multiples scientifiques concernant les avantages thérapeutiques de cette plante, il reste à évaluer si la TT possède le potentiel de générer des effets cytotoxiques et génotoxiques sur les cellules méristématiques.

Notre étude a débuté par une analyse phytochimique visant à quantifier et identifier les composants présents dans la plante TT par un dosage photo-spectrométrique et une analyse HPLC. Nous avons ensuite mené une étude pour évaluer le potentiel cytotoxique et génotoxique de l'insecticide SPT ainsi que de la plante TT sur deux plantes modèles, *A. cepa* et *V. faba*. Nous avons également étudié l'effet protecteur de l'extrait hydrométhanolique de la plante TT sur la toxicité induite par le SPT dans différentes fonctions vitales des pigeons domestiques (*Columba livia domestica*), notamment la reproduction, la fonction hépatique et la fonction rénale.

Une stratégie tripartite a été formulée dans cette étude.

La première étape consiste à effectuer une analyse documentaire englobant les connaissances fondamentales sur les pigeons domestiques comprise l'anatomie et la

physiologie de certains systèmes physiologiques ainsi le mécanisme de la reproduction saisonnière des pigeons. De plus, des informations générales sur l'insecticide étudié SPT et des connaissances générales sur sa toxicité dans divers environnements et organismes. L'étude a passé en revue des données sur la phytothérapie, les composés phénoliques de TT et leurs effets thérapeutiques.

La deuxième partie a consisté à analyser les propriétés phytochimiques de l'extrait hydrométhanolique de TT et à évaluer les effets cytotoxiques et génotoxiques de l'extrait hydrométhanolique de TT et de l'insecticide SPT.

La troisième partie a été destinée à l'étude expérimentale *in vivo* sous une longue photopériode (19L :5D), en évaluant les effets protecteurs de l'extrait hydrométhanolique de TT contre la toxicité du SPT induite au niveau des fonctions vitales (reproduction, hépatique, et rénale) des pigeons domestiques par :

- ❖ La détermination du poids corporel et du volume testiculaire.
- ❖ La détermination du poids relatif de quelques organes (testicules, foie, et reins).
- ❖ Le dosage des hormones sexuelles (Testostérone, FSH, et LH).
- ❖ La détermination des paramètres biochimiques et lipidiques.
- ❖ L'évaluation des paramètres enzymatiques (ALAS, ASAT, et GGT).
- ❖ L'examen histologique de trois organes spécifiques, à savoir les testicules, le foie et les reins, a été effectué.

# CHAPITRE I

## REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités sur les pigeons domestiques
  2. Spirotetramat
  3. *Tribulus terrestris*
-

## PARTIE 1. GENERALITES SUR LES PIGEONS DOMESTIQUES

### 1. Classification

Le pigeon domestique, scientifiquement connu sous le nom de *Columba livia domestica*, appartient à la famille des Columbidae. Ainsi, le pigeon domestique est une sous-espèce du pigeon biset (*Columba livia*) et a été domestiqué par les humains depuis longtemps. Les pigeons domestiques sont élevés pour diverses raisons, notamment comme animaux de compagnie, messagers, ou pour la pratique du pigeon voyageur (David *et al.*, 2001). Le **Tableau 1** montre la classification des pigeons (*Columba livia domestica*) selon (Naumann, 1823).

Règne	Animalia
Embranchement	Chordata
Classe	Aves
Ordre	Columbiformes
Famille	Columbidae
Sous-famille	Columbinae
Genre	<i>Columba</i>
Espèce	<i>Columba livia</i>
Sous-espèce	<i>Columba livia domestica</i>

### 2. Morphologie

Les pigeons bisets pèsent environ 250 à 370 g. Johnston (1992) rapporte un poids de 369 g pour les mâles et de 340 g pour les femelles en saison de reproduction. Le dimorphisme sexuel est faible, même si les mâles ont tendance à être plus gros que les femelles et à avoir une caroncule (petite excroissance blanche située au-dessus du bec) plus large.

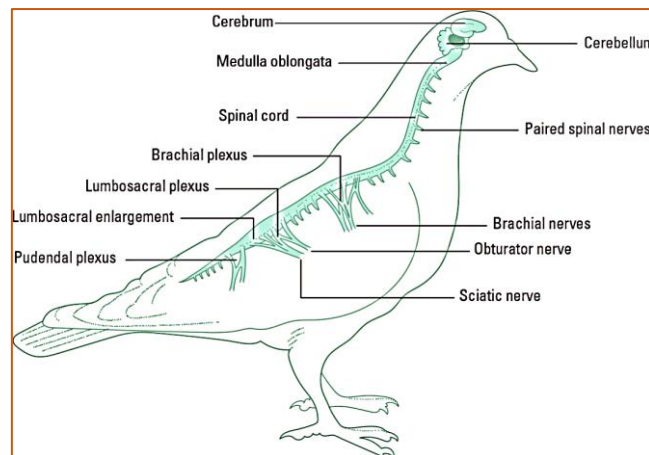


**Figure 1.** Image photographique d'un pigeon domestique (*Columba livia domestica*).

### 3. Anatomie et physiologie

#### 3.1. Système nerveux

Le système nerveux joue un rôle clé dans la régulation de divers processus physiologiques internes, ainsi que dans les fonctions mentales supérieures. Comme les autres tétrapodes, les oiseaux possèdent un cerveau bien développé et une moelle épinière (le système nerveux central). La moelle épinière est composée de nombreux faisceaux de cellules nerveuses ou neurones semblables à des fibres, très longs. Le cerveau est protégé à l'intérieur du crâne, et la moelle épinière passe à travers les trous centraux de la chaîne de vertèbres, envoyant des nerfs vers d'autres parties du corps en chemin, formant ainsi le système nerveux périphérique. Les nerfs plus importants sont composés de plusieurs neurones, mais ils continuent à se ramifier, chaque ramification devenant plus petite. Les cellules nerveuses individuelles s'étendent pratiquement dans tous les tissus corporels, et elles sont toutes connectées à d'autres neurones et finissent par être connectées au cerveau. Certains neurones dans le corps sont afférents, transportant des signaux vers le cerveau à partir du tissu de destination, tandis que d'autres sont efférents, transportant des signaux dans l'autre direction. Le cerveau lui-même contient un nombre considérable de neurones, chacun ayant de multiples connexions avec ses voisins. Les neurones dans le cerveau et le système nerveux périphérique sont bien protégés par d'autres types de tissus (Taylor, 2020).



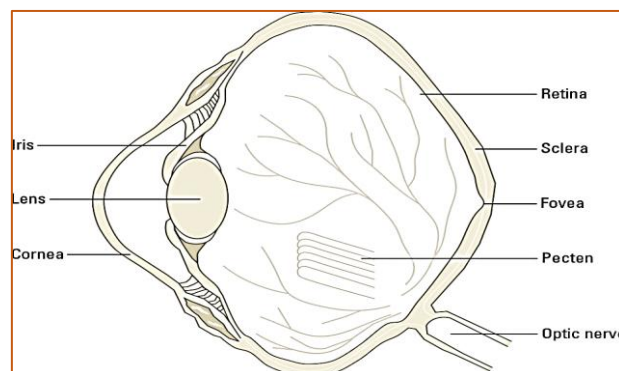
**Figure 2.** Le cerveau, la moelle épinière et les voies nerveuses principales d'un pigeon (Taylor, 2020).

#### 3.2. Anatomie de l'œil

L'œil de l'oiseau n'est pas radicalement différent de celui des mammifères comme nous. Le globe oculaire de l'oiseau est protégé par une épaisse membrane blanche (sclère), sauf à la

partie qui est ouverte à l'air. Celle-ci est recouverte par la cornée, transparente et légèrement bombée, et à l'endroit où la cornée se confond avec la sclère se trouvent les petits os de soutien de l'anneau sclérotique. La cornée se trouve au-dessus de l'iris, un muscle circulaire coloré avec un trou central (pupille) qui s'agrandit et se rétrécit lorsque l'iris se contracte, modifiant la quantité de lumière qui peut passer. La lumière passe à travers un cristallin transparent suspendu juste derrière l'iris celui-ci focalise la lumière sur la rétine, qui tapisse la paroi intérieure à l'arrière du globe oculaire. Ses cellules sensibles à la lumière sont connectées, via des neurones, au nerf optique, qui sort à l'arrière du globe oculaire. Les nerfs optiques de chaque œil se connectent à l'optique dans le cerveau (Taylor, 2020).

L'intérieur du globe oculaire est rempli d'une substance gélatineuse appelée corps vitré, tandis que l'espace entre la cornée et l'iris contient l'humeur aqueuse, claire et plus fluide. Entre la rétine sensible à la lumière et la sclère résistante et protectrice se trouve une autre couche de tissu, la choroïde, qui transporte les vaisseaux sanguins alimentant l'œil. Une extension de la choroïde, le pecten, est une section concentrée de vaisseaux sanguins qui pénètre dans le globe oculaire et se trouve au-dessus du nerf optique. Les vaisseaux sanguins du pecten transportent des nutriments et contribuent à maintenir l'équilibre du pH correct du corps vitré. En regroupant de nombreux vaisseaux sanguins dans un espace restreint, les perturbations qu'ils causent sur le trajet de la lumière vers la rétine sont réduites au minimum. Le pecten est pigmenté pour aider à protéger les vaisseaux sanguins qu'il contient de la lumière ultraviolette (Taylor, 2020).



**Figure 3.** Une coupe transversale de l'œil typique d'un oiseau (Taylor, 2020).

### 3.3. Hormones et glandes

Les hormones, ainsi que les glandes et les organes qui les libèrent, font tous partie du système endocrinien de l'oiseau. La fonction des différentes hormones est principalement régulatrice et stimulante, maintenant les niveaux d'eau, de sels et d'autres substances dans la

plage appropriée pour un bon fonctionnement (homéostasie) et contrôlant les processus cycliques dans le corps de l'oiseau. L'activité hormonale régit le cycle de reproduction, le cycle du sommeil et le cycle de la mue, et est également impliquée dans la croissance, le métabolisme, l'équilibre des niveaux de calcium et de glucose dans le sang, ainsi que divers aspects du comportement. Certaines hormones ont pour fonction de stimuler d'autres glandes à libérer leurs hormones. La structure chimique des hormones varie - beaucoup sont des protéines, tandis que d'autres sont des acides gras oxydés et des stéroïdes. Elles agissent en se liant chimiquement à des sites récepteurs des membranes cellulaires dans les tissus qu'elles activent, déclenchant ainsi divers processus cellulaires (**Taylor, 2020**).

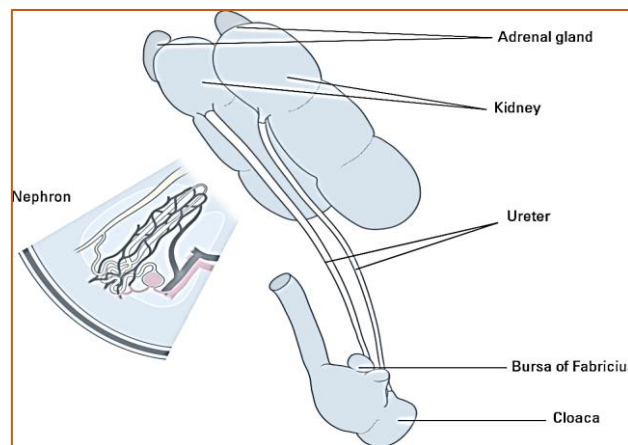
L'hypophyse, située dans le cerveau, libère sept hormones : l'hormone folliculostimulante "mature" les ovules dans les ovaires ; l'hormone lutéinisante stimule les ovaires et les testicules à produire les "hormones sexuelles" ; la prolactine influe sur le nombre d'œufs dans une couvée et le degré de soins parentaux ; l'hormone de croissance stimule la croissance ; l'hormone adrénocorticotrope contribue à réguler le cycle veille/sommeil ; l'hormone stimulant la thyroïde régule l'activité de la glande thyroïde ; et l'hormone mélanotrope affecte le dépôt de pigment mélanine dans le corps (**Taylor, 2020**).

D'autres glandes importantes comprennent : Le pancréas, qui produit l'insuline et d'autres hormones impliquées dans la régulation de la glycémie. La thyroïde et les parathyroïdes dans la gorge, qui libèrent des hormones qui influencent la température corporelle et le métabolisme alimentaire. Les glandes surrénales situées au-dessus des reins, qui régulent la pression sanguine et sont impliquées dans la réponse "combat ou fuite" au stress, régulée par les systèmes nerveux sympathique et parasympathique. Les gonades (testicules et ovaires) possèdent un tissu glandulaire qui produit les trois hormones sexuelles : l'œstrogène, la testostérone et la progestérone. Les trois hormones jouent un rôle dans la fonction sexuelle et le comportement reproducteur (**Taylor, 2020**).

### **3.4. Reins et autres organes liés à l'hydratation**

Comme chez les autres vertébrés, les oiseaux filtrent leur sang à travers leurs deux reins, qui retiennent les cellules sanguines, les molécules utiles transportées dans le flux sanguin et la majeure partie de l'eau, tout en extrayant l'acide urique (un sous-produit de la dégradation des protéines) et autres déchets à des fins d'excrétion. Les reins des oiseaux sont des organes longs et étroits avec une structure lobulaire, et ils se trouvent au-dessus du tractus digestif. Dans le cortex du rein (couche externe) se trouvent de nombreux néphrons. Chaque néphron comprend

une capsule creuse reliée à un tubule collecteur d'urine et un faisceau de capillaires sanguins (glomérule) à l'intérieur de la capsule. Le plasma sanguin passe à travers les membranes des capillaires glomérulaires dans la capsule, puis les électrolytes et autres métabolites sont filtrés et réabsorbés, ainsi qu'une partie de l'eau. Ce qui reste dans le tubule passe dans un canal collecteur. Cette urine circule le long des canaux collecteurs pour atteindre finalement les uretères, deux longs conduits qui relient les reins au cloaque. L'urine est expulsée dans le cloaque et de là, elle remonte vers le côlon et le caecum. L'eau contenue dans l'urine est réabsorbée ici, selon les besoins du corps, tandis que l'acide urique est ajouté aux matières fécales et excrété. L'acide urique constitue la partie blanche des fèces des oiseaux. La réabsorption de l'eau dans le côlon aide à compenser le fait que les reins des oiseaux sont relativement inefficaces. Cependant, les oiseaux s'en sortent généralement moins bien que les mammifères en cas de manque d'eau, bien que leur plus grande mobilité leur permette de trouver beaucoup plus facilement une source d'eau que de nombreux mammifères (Taylor, 2020).



**Figure 4.** Le système urinaire aviaire et la structure d'un néphron dans le rein (Taylor, 2020).

### 3.5. Système reproductif

Les oiseaux mâles ont deux testicules fonctionnels, chacun étant relié à une voie (canal déférent) conduisant au cloaque. Ils s'ouvrent juste en dessous de la sortie de l'uretère (le canal reliant le rein à la cloaque). Les spermatozoïdes - précurseurs des spermatozoïdes - se forment dans les tubules séminifères des testicules et se transforment en spermatozoïdes. Chez la plupart des oiseaux, les spermatozoïdes passent du mâle à la femelle lorsqu'ils rapprochent leurs cloaques, mais chez les oiseaux sauvages, les ratites et quelques autres familles, le cloaque du mâle contient un organe inversé, équivalent au pénis des mammifères, qui sort du cloaque et

pénètre la femelle. Il est court et droit chez certaines espèces, mais long et en forme de tire-bouchon chez d'autres (Taylor, 2020).

Chez les femelles de la plupart des espèces d'oiseaux, il n'y a qu'un seul ovaire et un seul oviducte fonctionnel du côté gauche - les organes du côté droit ne se développent jamais complètement. Les rapaces sont des exceptions, ayant généralement deux ovaires et oviductes entièrement formés et fonctionnels. Bien que l'oviducte soit un tractus continu, la partie élargie où la coquille est ajoutée à un œuf est parfois appelée utérus, et la partie la plus basse, juste avant d'entrer dans le cloaque, est parfois appelée vagin. L'ovaire contient entre 500 et 4 000 ovocytes (les cellules qui se développeront en ovules) dans des follicules. Les follicules contenant les ovules matures sont beaucoup plus gros que les autres, ce qui donne à l'ovaire actif l'apparence d'une grappe de raisin (Taylor, 2020).

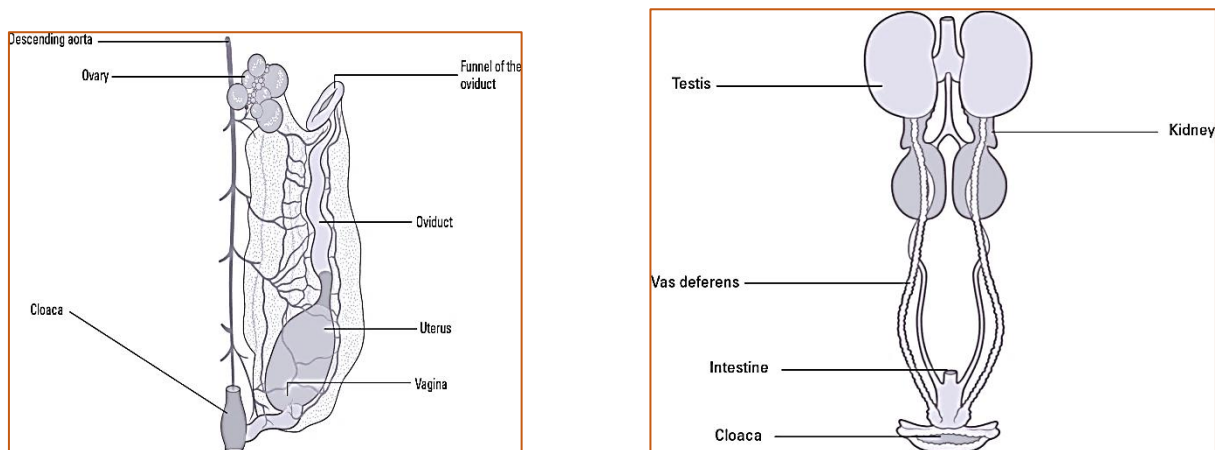


Figure 5. Le tractus reproducteur mâle et femelle chez le pigeon (Taylor, 2020).

### 3.6. Reproduction saisonnière chez les pigeons

Chez la plupart des espèces d'oiseaux, ce processus se manifeste d'une façon périodique ou saisonnière (Hahn et Macdougall-shackleton, 2008 ; Yoshimura, 2013). Chez les oiseaux, la période de reproduction est synchronisée avec certains facteurs de l'environnement comme la nourriture, la température et surtout la photopériode (Sharp, 2005). Ces trois facteurs sont étroitement liés, et seule la période de l'année où les oiseaux sont physiologiquement capables de se reproduire, est répétable d'une année à l'autre, la température et les ressources alimentaires étant plus variables (Malpaux *et al.*, 1996). Le timing de la reproduction exige,

donc, l'existence d'un système de mesure de la photopériode qui informe l'animal de l'approche de la saison de reproduction (**Goldman, 2001**). Ainsi, l'allongement de la durée du jour (qui coïncide avec le début du printemps), stimule la croissance testiculaire, suite à l'activation de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Cette étape est suivie, sous les mêmes jours longs, d'une régression gonadique rapide : c'est la phase photoréfractaire. La première réponse à la photostimulation est l'élaboration des gonadotrophines releasing-hormones (GnRH) suivie d'une importante sécrétion de LH et de FSH, provoquant la croissance des testicules (**Perera, 1992**). La photo-activation est suivie chez la plupart des oiseaux par une période d'insensibilité même aux jours longs (**Sharp et Blache, 2003**). Malgré le maintien de la photopériode, les oiseaux entament une phase d'involution des gonades ou phase photoréfractaire, qui entraîne des bouleversements physiologiques importants, parmi lesquels une diminution de la sécrétion des gonadotrophines releasing- hormones (GnRH) hypothalamiques, l'hormones hypophysaires (LH et FSH), et une augmentation de certains paramètres plasmatiques comme la T4, la prolactine, le cholestérol, les triglycérides, la testostérone, ainsi que le déclenchement de la mue (**Malpaux et al., 1996**). Certaines études ont montré l'implication de la glande thyroïde dans les mécanismes provoquant le développement de la photoréfraction (**Yoshimura, 2013**). Il semble donc que la photogonado-stimulation est une action dont le point de départ est rétinien et le centre de contrôle est situé au niveau de l'hypothalamus (**Yoshimura et al., 2003**).

### 3.7. Cascade de transduction du signal photopériodique chez les oiseaux

Les oiseaux peuvent calculer la durée de la photopériode en utilisant soit le nycthémère soit la présence d'une horloge biologique endogène (**Refinetti, 2019**). Contrairement à ce que l'on trouve chez les mammifères, L'information lumineuse est transmise beaucoup plus transcrânienne qu'oculaire chez les oiseaux, grâce aux photorécepteurs encéphaliques. En fait, l'horloge biologique a son propre fonctionnement et son propre rythme (**Benoit, 1970**).

Les informations lumineuses détectées par les neurones positifs pour OPN5 (Opsin5, neuropsin) en contact avec le liquide céphalorachidien (LCR) sont transmises à la pars tuberalis de l'hypophyse, induisant la sécrétion de l'hormone thyroïdienne (TSH). La TSH agit sur les cellules épendymaires pour induire l'enzyme activatrice des hormones thyroïdiennes, la déiodinase de type 2 (DIO2). La triiodothyronine (T3), convertie à partir de la thyroxine (T4) par la DIO2, régule l'interaction neuro-glière entre les terminaisons nerveuses de la GnRH et les pieds des processus gliaux. Ce changement morphologique régule la sécrétion de la GnRH

et donc la sécrétion des gonadotrophines par l'hypophyse antérieure (Nakane et Yoshimura, 2010) (Figure 6).

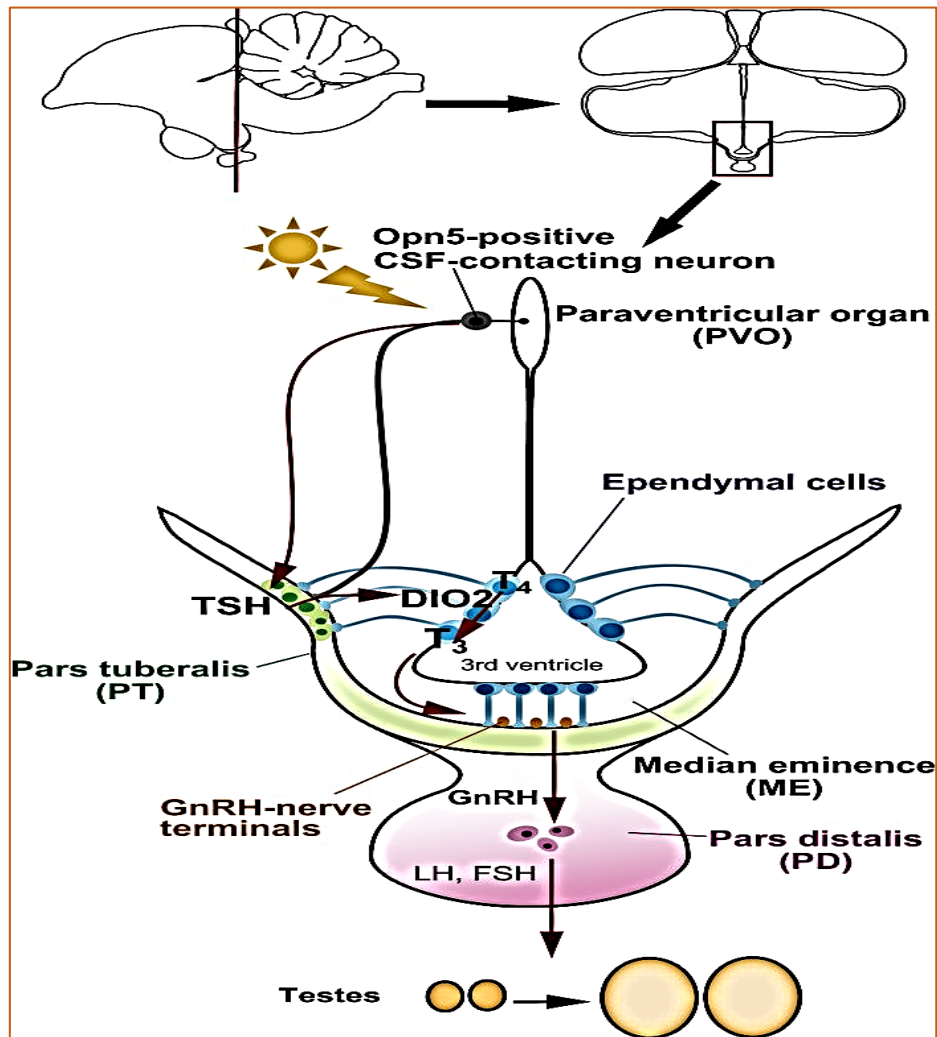


Figure 6. Cascade de transduction du signal photopériodique chez les oiseaux (Nakane et Yoshimura, 2010).

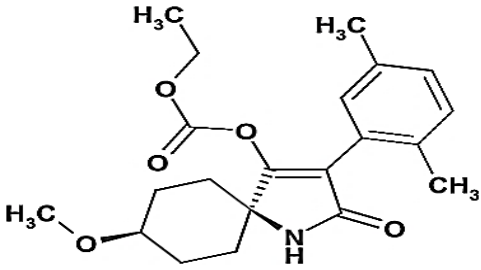
## PARTIE 2. SPIROTETRAMAT

## 1. Définition

SPT est un nouvel insecticide à base d'acide tétronique qui fait partie de la famille des pesticides kéto-énols. Sa manière d'agir est innovante car elle entrave la synthèse de lipides chez les insectes (**Gong et al., 2016b**). Il a été développé par Bayer Crop Science (Allemagne), et a été enregistré en Chine en 2011 sous le nom commercial Movento (**Yin et al., 2014**).

## 2. Propriétés physicochimiques

Le **Tableau 2** résume les propriétés physico-chimiques du SPT (**Mccormack, 2009**).

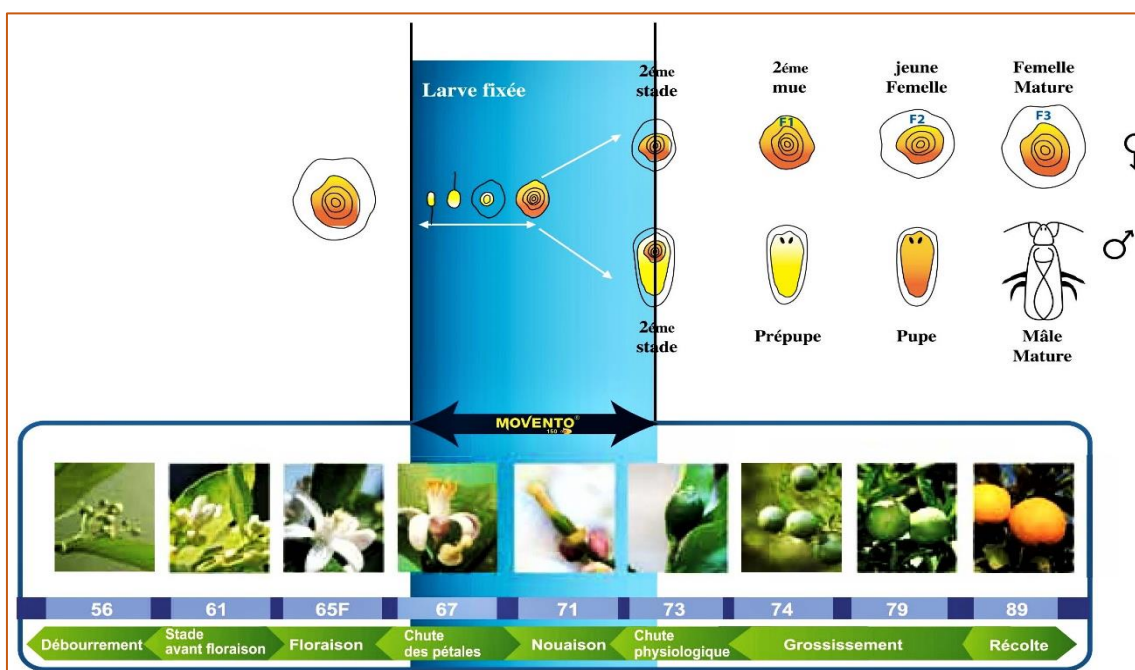
Propriété	Résultat
Matière active	Spirotetramat
Utilité	Insecticide
Nom chimique	Carbonate d'éthyle et de cis-3-(2,5-diméthylphényl) -8-méthoxy-2-oxo-1-azaspiro [4.5] déc-3-én-4-yle
Couleur et état physique	Dispersion huileuse (OD) beige clair à brun clair
Odeur	Faible, caractéristique
Ph	3,5 - 6,0 à 1 % (23 °C)
Température d'inflammabilité	env. 405 °C
Densité	env. 0,98 g/cm <sup>3</sup> à 20 °C
Numéro CAS	203313-25-1
Formule moléculaire	C <sub>21</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>5</sub>
Poids moléculaire	373,45 g/mol
Formule développée	 <p>The image shows the chemical structure of Spirotetramat. It consists of a spirocyclic system where a cyclohexane ring is fused to a five-membered ring containing a nitrogen atom and a carbonyl group. The cyclohexane ring has a methoxy group (-OCH<sub>3</sub>) attached. The five-membered ring is substituted with an ethyl ester group (-COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) and a 2,5-dimethylphenyl group (-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).</p>
Pureté nominale de la matière active	97,37 % (limites: 96 % à 100 %)

## 3. Mode d'action

Dans des études de développement biologique menées à travers le monde, SPT s'est prouvé particulièrement efficace contre les pucerons, les écailles, le psylle, certains types de thrips et les aleurodes (mouches blanches) (**Bell, 2013**). Le meilleur moment pour appliquer le SPT (Movento® 150) est entre le moment de l'adhésion des larves et la période de construction

du bouclier. C'est-à-dire, du stade larvaire fixe au deuxième stade larvaire (stade L2) (**Science, 2012**) (**Figure 7**). À la suite de son application sur le feuillage des plantes, le SPT se déplace à travers la cuticule des feuilles, où il s'hydrolyse au SPT-énol correspondant la forme active présumée du SPT. Le SPT-énol est transloqué principalement dans le phloème et un peu dans le xylème des plantes (**Sur, 2008**). Grâce à son double système de distribution (ascendant et descendant), le SPT se répartit uniformément dans toute la plante traitée. Son mode d'action chez les insectes et les acariens repose sur l'inhibition de la biosynthèse des acides gras en ciblant spécifiquement l'acétyl-CoA carboxylase. Cela le rend efficace contre les stades juvéniles des parasites ciblés (**Bruck *et al.*, 2009**). Dans le cas des femelles adultes, si elles sont nourries sur le feuillage de la plante et ses racines le composé réduit énormément la fécondité et la fertilité sont, par conséquent, réduites les populations d'insectes (**Nauen *et al.*, 2007**).

- SPT agit en bloquant la biosynthèse des lipides, ce qui entraîne l'inhibition des mues chez les jeunes stades des cochenilles en développement.
- La stérilité des femelles.
- L'arrêt de la production de la coque protectrice (bouclier) de la cochenille, augmentant ainsi sa sensibilité à des agents externes ou ennemis naturels (**Science, 2012**).



**Figure 7:** Mode d'action du SPT (**Science, 2012**).

#### 4. Métabolisme et Toxicocinétique

SPT est un insecticide récent qui fonctionne en entravant la production de lipides chez les insectes visés (**Gong et al., 2016b**). Contrairement à certains autres produits, il ne se décompose pas et ne s'accumule pas dans l'environnement. La dégradation biotique est le principal processus de dégradation dans l'écosystème, et il se décompose rapidement dans le sol, ce qui le rend peu persistant (**PRD, 2008**). Cependant, son utilisation sur des sols perméables peut entraîner une contamination des eaux souterraines si la nappe phréatique est peu profonde (**USEPA, 2016**).

##### 4.1. Absorption

Plusieurs études montrent que Spirotetramat est rapidement absorbé tels que les résultats de **Mccormack (2009)** sur des rats mâles où il a remarqué que l'absorption de SPT a été rapide après une dose unique ou répétée par voie gastro-intestinale. Les demi-vies d'absorption étaient comprises entre 0,6 et 10 minutes. Le taux d'absorption minimal était de 90% à 98% de la radioactivité totale récupérée dans tous les tests, calculé à partir des valeurs de l'urine et du corps sans le tractus gastro-intestinal (**Mccormack, 2009**).

##### 4.2. Distribution

SPT et ses métabolites ont été détectés en quantité importante dans le foie, les intestins, les reins, la vessie et le sang lors d'un examen auto-radiographique et quantitatif du corps entier (**ARLA, 2005**). La radioactivité a été distribuée uniformément dans le sang, les organes et les tissus, avec une tendance à se concentrer davantage dans le foie et les reins (**VKM, 2012**).

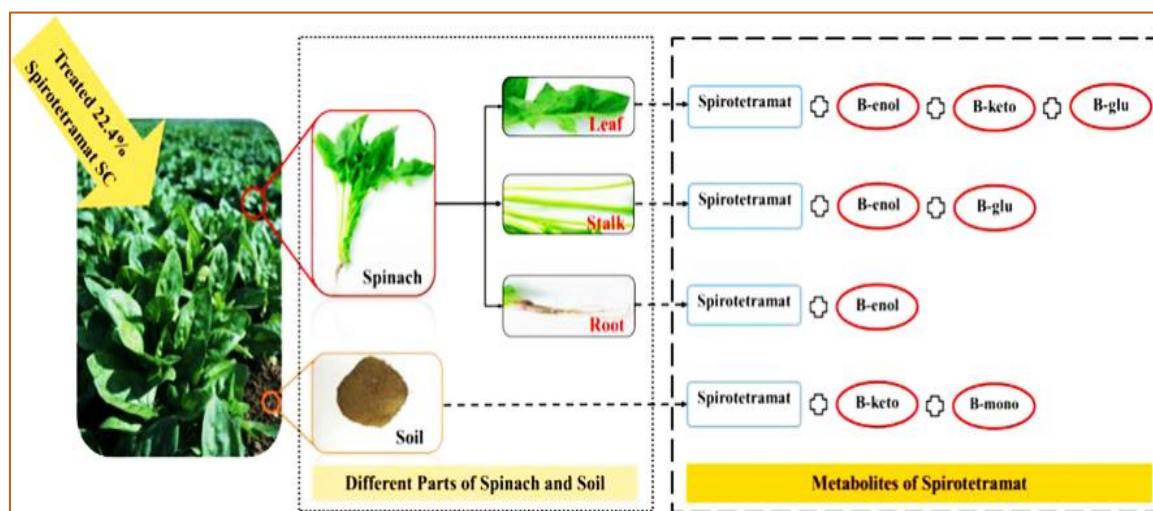
##### 4.3. Métabolisme

Aucun composé parent n'a été détecté dans l'urine, ce qui indique un métabolisme complet du SPT (**VKM, 2012**). Le SPT-énol est le métabolite prédominant (53-87 % de la dose) et tous les autres métabolites peuvent en être produits par clivage du groupe ester. Le SPT-déméthyl-énol est le deuxième métabolite le plus courant (5 à 37 %). Il y avait aussi le SPT-énol-GA (glucuronide) et le SPT-énolalcool, qui étaient tous des métabolites en aval (**NSCFS, 2012**). Selon un autre essai, le SPT-énol et le SPT-desmethyl-enol étaient également les produits de biotransformation primaires, mais le SPT-desmethyl-enol s'est produit à des concentrations plus faibles. La saturation des mécanismes de transport actif dans les organes excréteurs et l'épuisement et l'excrétion lents des résidus peuvent potentiellement entraîner une accumulation dans le corps après une exposition élevée répétée (**VKM, 2012**).

#### 4.4. Elimination

Une étude auto-radiographique, l'élimination de la radioactivité des tissus et des organes a été pratiquement terminée après 48 heures dans les deux groupes de traitement unique et répété, ce qui suggère que la rétention et l'accumulation de SPT est improbable (mais peut se produire à des doses élevées) (VKM, 2012). L'excrétion urinaire était très rapide (essentiellement terminée en 24 heures) et constituait la principale voie d'excrétion à ces doses. L'excrétion fécale représentait de 2 à 11 % de la dose (McCormack, 2009).

Selon les résultats de Chen *et al.* (2016) ont indiqué que SPT a pu être adsorbé par les sols et s'est combiné avec l'humus pour former des résidus liés ou a été absorbé par les racines des épinards. SPT a pu être dégradé en différents métabolites dans différentes parties de la plante d'épinard et dans le sol (la Figure 8).



**Figure 8.** Voies de dégradation du SPT dans différentes parties de la plante d'épinard et dans le sol. (Chen *et al.*, 2016).

#### 6. Toxicité aigüe

Les études précédentes sur le SPT se sont principalement concentrées sur sa synthèse ainsi que sur son efficacité dans le contrôle des organismes cibles. La toxicité aigüe du SPT a été testé par plusieurs études comme la recherche de Marcic *et al.* (2011) sur les femelles adultes du tétranyque (*Tetranychus urticae* Koch). Ils ont trouvé que SPT exerce des effets toxiques sur les femelles représentés par une diminution significative du nombre d'œufs pondus et du taux de survie des femelles. Ces résultats indiquent que SPT pourrait être un acaricide efficace contre les stades mobiles. Dans une étude de Yin *et al.* (2014), le SPT est potentiellement toxique pour les amphibiens. De plus, Li *et al.* (2014) ont montré que les

concentrations médianes létales (CL50) à 72 et 96 heures étaient respectivement de 5.898 et 3.642 mg/L. Ces résultats ont montré que SPT est modérément toxique et provoque dans une certaine mesure un phénomène d'apoptose chez le poisson zèbre. **Xie *et al.* (2011)** ont montré que le SPT présente une forte activité insecticide sur les œufs et les larves de la mouche blanche, mais a des effets faibles sur les adultes. **Liu (2011)** a constaté que les rats administrés avec du SPT pendant 7 jours perdent du poids et souffrent de lésions du foie et des organes génitaux. Une autre étude de **Yin *et al.* (2011)** a montré que SPT présente une toxicité modérée pour les têtards du crapaud chinois (*B. gargarizans*), et que l'exposition répétée au SPT a affecté les taux d'activité de SOD et de GSH-Px dans les groupes expérimentaux par rapport au groupe témoin à l'acétone pendant 4 jours.

Le **Tableau 3** représente les paramètres pertinents sur le plan éco-toxicologique pour les oiseaux et les mammifères (**Maus, 2008**).

Espèce testé	Régime de test	Résultats
<b>Les oiseaux</b>		
<b>Colins de Virginie</b>	Aigüe	DL50 > 2000 mg /kg. PC
<b>Colins de Virginie</b>	5-jours de traitement	DL50 > 498 mg /kg. PC/J
<b>Canard colvert</b>	5- jours de traitement	DL50 > 475 mg /kg. PC/J
<b>Les mammifères</b>		
<b>Rat</b>	Aigüe	DL50 > 5000 mg /kg. PC
<b>Rat</b>	Spirotetramat-cis-ketohydroxy, Aigüe	DL50 > 5000 mg /kg. PC
<b>Rat</b>	Spirotetramat-monohydroxy, Aigüe	DL50 > 5000 mg /kg. PC
<b>Rat</b>	Spirotetramat-desmethyl-ketohydroxy, Aigüe	DL50 > 5000 mg /kg. PC

## 7. Toxicité chronique

De nombreux chercheurs ont exploré les effets du SPT sur l'environnement et les espèces non ciblées. **Ping He *et al.* (2022)** a démontré les effets toxiques du SPT sur le développement, la vitalité, la synthèse des protéines et la fécondité du ver à soie. Cette toxicité se manifeste par un changement du taux de l'expression de différent gènes impliqués dans le métabolisme des acides gras comme de l'acétyl-CoA carboxylase (ACC), de la réductase de la fatty acyl-CoA, de l'énoyl-CoA hydratase, de la déshydrogénase, de l'hydrolase de l'époxyde de l'hormone juvénile et de la phytanoyl-CoA dioxygénase. Dans une autre étude, Il a été démontré un effet négatif du SPT sur la croissance des algues marines propices à la reproduction du zooplancton et un effet stimulant sur les algues indésirables (**ARZUL *et al.*, 2006**). **Houssou *et al.* (2018)** a révélé que SPT a provoqué des effets toxiques sur *Cyclops abyssorum* résultant par une prolongation de la période embryonnaire avec une forte mortalité des nauplies a été observée. Ainsi, Le nombre d'œufs pondus a également été affecté. Le ratio des sexes à l'âge

adulte a montré une féminisation significative de la population, d'environ le double de celle observée en l'absence de polluants.

**Chen (2018)** a démontré que le traitement au SPT pouvait retarder le développement de l'embryon du poisson zèbre et entraîner une déformation des tissus, provoquant du stress oxydatif et inhibant l'activité et l'expression de l'ACC cible ainsi que l'expression des gènes de la synthèse des acides gras et de la protéine de liaison à l'élément régulateur stérol. Wu a récemment étudié les traitements au SPT et leurs effets sur les caractéristiques biochimiques et histologiques de l'ovaire du poisson zèbre, révélant les effets indésirables du SPT sur le développement des ovocytes, en particulier sur la taille et la maturation (**Wu et al., 2018**). Selon le mode d'action du SPT qui inhibe l'ACC et provoque la diminution de la fécondité des nuisibles femelles. **Zhang et al. (2020)** ont émis l'hypothèse que le SPT pouvait également altérer le système endocrinien chez le poisson zèbre, et entraîné une diminution de la fécondité de manière dépendante du temps et de la dose. Dans ce contexte, **Zhang et al. (2020)** ont conclu que l'exposition au SPT a entraîné des altérations histologiques des cellules de la thèque, bloquant ainsi la production normale de testostérone (T), et a entraîné une diminution significative de l'estradiol (E2), et des taux plasmatiques de vitellogénine. La toxicité et le mécanisme toxique du SPT chez les rats mâles ont montré que les testicules et le foie étaient plus sensibles que les autres organes. La coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (HE) a révélé que les tubes séminifères, les cellules de soutien et les cellules interstitielles étaient endommagés et que la structure de l'épithélium séminifère était altérée. La quantité de sperme a diminué de manière significative avec une dose de 10 mg/kg/j pendant 20 jours (**Wu, 2013**). Dans une étude récente, Le SPT peut induire un stress oxydatif dans l'ovaire des poissons-zèbres, entraînant une surexpression des gènes SOD et CAT et l'accumulation de MDA après 14 jours de traitement. De plus, l'exposition au SPT peut influencer l'expression des gènes FSHr et LHr. La coloration à l'hématoxyline et à l'éosine a montré que le SPT peut affecter les ovocytes en modifiant leur diamètre et leur maturation (**Wu et al., 2018**).

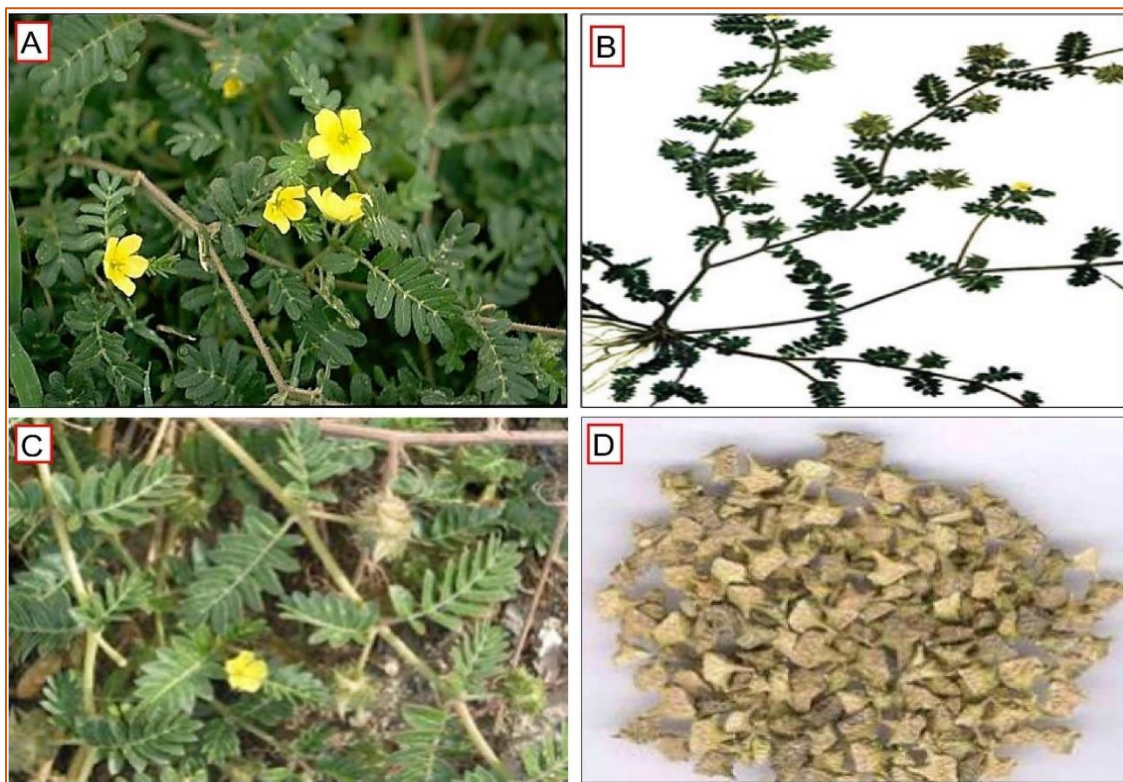
## 8. Cytotoxicité et génotoxicité

Les chercheurs se sont depuis longtemps intéressés aux effets génotoxiques et cytotoxiques des contaminants environnementaux tels que les pesticides. Ces molécules sont hautement bioactives en raison de leur capacité à interagir avec les macromolécules biologiques, notamment l'ADN (**de Souza et al., 2016**). Il est noté que Les études cytotoxiques et génotoxique sur SPT sont très rares mais de nombreuses études utilisent différentes

bioanalyses pour évaluer les effets cytotoxiques et génotoxiques des herbicides, insecticides et fongicides largement utilisés. Par exemple, l'étude de **Sheikh *et al.* (2020)** a montré que le Malathion et le Cyperméthrine provoquent des effets cytotoxiques et génotoxiques significatifs sur les racines d'*A. cepa*. De plus, les résultats de l'étude de **Kuchy *et al.* (2015)** sur les deux insecticides (Endosulfan et Dichlorvos) et le fongicide Carbendazime, ainsi que les découvertes de **Macar (2021)** sur le fongicide Tétraconazole, ont montré l'impact cytotoxique et génotoxique de ces pesticides sur les cellules méristématiques de l'oignon. En outre, des aberrations chromosomiques et des altérations mitotiques significatives ont été observées dans les cellules méristématiques d'*A. cepa* traitées avec les herbicides diuron (**Chauhan *et al.*, 1998**) et Quizalofop-p-éthyl et Cycloxydime (**Rosculete *et al.*, 2018**).

**PARTIE 3. *TRIBULUS TERRESTRIS*****I. Description et caractérisation**

C'est une plante herbacée vivace à racines pivotantes qui pousse généralement dans les climats arides et les sols sablonneux et qui pousse jusqu'à un mètre de haut (Meena *et al.*, 2019). Les tiges sortent de la couronne pour atteindre un diamètre d'environ 10 cm à plus d'un mètre, et se ramifient fréquemment. Elles sont habituellement prostrées, constituant des taches plates, bien qu'elles puissent se développer plus vers le haut à l'ombre ou au sein de plantes plus hautes (Figure 9). Les feuilles sont composées de manière pincée avec des feuillettes de moins d'un quart de pouce de long. Les fleurs ont une largeur de 4 à 10 mm, avec cinq pétales jaune citron. Une semaine après la floraison, chaque fleur est suivie d'un petit fruit qui se détache facilement en quatre ou cinq noix à une seule graine. C'est une herbe rampante avec des poils fins, et des feuilles complexes de 3 à 6 paires jusqu'à 8 cm de long. Les fleurs sont soyeuses, blanches ou jaunes, solitaires, et poussent à l'aisselle des feuilles. Fruits ronds, épineux ou tuberculeux avec des Cocci ligneux finement poilus avec deux paires d'épines fortes et pointues, une paire plus longue que l'autre (Akram *et al.*, 2011).



**Figure 9.** Les différentes parties de TT. (A) et (C) : Feuilles, tiges, et fleurs, (B) : La plante entière, (D) : Les fruits.

## 2. Dénomination et taxonomie

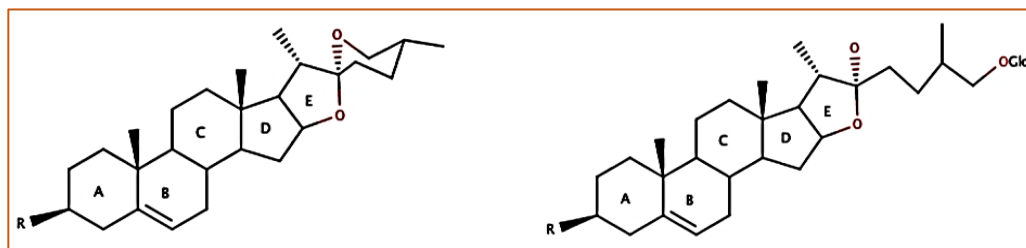
La famille des zygothylacées (**Tableau 4**) qui comprend environ 250 espèces réparties en 25 genres, parmi lesquels se trouve la plante *Tribulus Terrestris*, largement répandue en Afrique du Sud, en Australie, en Inde et en Europe. Son nom provient du terme grec "Tribolos", signifiant "fruit en épi". Les fruits de la plante sont utilisés dans différentes pratiques médicales traditionnelles, telles que la médecine traditionnelle chinoise, la médecine ayurvédique en Inde et la médecine traditionnelle bulgare, pour traiter divers troubles. (**Kokate et al., 2007**). TT est communément appelé Gokshur (sanskrit) ; vigne à piquer, caltrops terrestres (ou petits) (anglais) ; et hask, Zufatulajooz, Hamasulameer (Arabe) (**Anonymous, 2007**).

**Tableau 4.** Classification de la plante *Tribulus terrestris*.

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Division</b>	Phanérogames
<b>Subdivision</b>	Angiospermes
<b>Catégorie</b>	Dicotylédone
<b>Sous-classe</b>	Polypétales
<b>Série</b>	Disciflorae
<b>Ordre</b>	Giraniales
<b>Famille</b>	Zygothylaceae
<b>Genre</b>	<i>Tribulus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Tribulus terrestris</i>

## 3. Composition chimique

Les fruits de TT renferment des métabolites secondaires importants tels que des saponines, des composés polyphénoliques et des alcaloïdes. Les saponines stéroïdiennes sont principalement de type furostanol et spirostanol (illustrés dans la **Figure 10**). Les saponines furostanol sont considérées comme des précurseurs biogénétiques des analogues Spiro. Jusqu'à présent, plus de 70 composés différents ont été identifiés dans le TT (**Stefănescu et al., 2020**).



**Figure 10.** Saponines de Spirostanol (à gauche) et de Furostanol (à droite).

### 3.1. Saponines stéroïdiennes

Les saponines spirostanol et furostanol sont considérées comme les produits chimiques les plus caractéristiques de la TT. À ce jour, 108 sortes de saponines stéroïdiennes ont été isolées de TT. Parmi elles, il y a 58 sortes de saponines spirostanes et 50 sortes de saponines furostanes. Le site saponines stéroïdiennes, telles que la protodioscine et la protogracilelin, sont censées conférer à TT des activités biologiques spécifiques (**Zhu et al., 2017a**).

### 3.2. Flavonoïdes

Les principales sources de flavonoïdes présents dans le thé vert sont la quercétine, le kaempférol et l'isorhamnétine. Parmi ces composés, les flavonoïdes dérivés de la quercétine sont les plus répandus, suivis par ceux dérivés de l'isorhamnétine et du kaempférol (**Qu et Yang, 2007; Alavia et al., 2008**). Les flavonoïdes à base de quercétine comprennent la quercétine elle-même, l'iso-quercitrine, la rutine et d'autres, tandis que les flavonoïdes à base d'isorhamnétine comprennent l'isorhamnétine et d'autres. D'autres flavonoïdes à base de kaempférol incluent le kaempférol-3-O-glu et le kaempferol-3-O-gent, entre autres (**Su et al., 2009**).

Plusieurs études ont révélé que la composition des plantes est étroitement liée à leur origine. En outre, des variations de composition peuvent être observées entre les différents organes de la plante. Ces variations significantes de la composition du TT expliquent les effets pharmacologiques opposés obtenus dans des études réalisées (**Stefănescu et al., 2020**). Dans les **Figure 11** et **12** sont présentées les structures chimiques des principaux composés trouvés dans le TT, autres que les composés stéroïdiens.

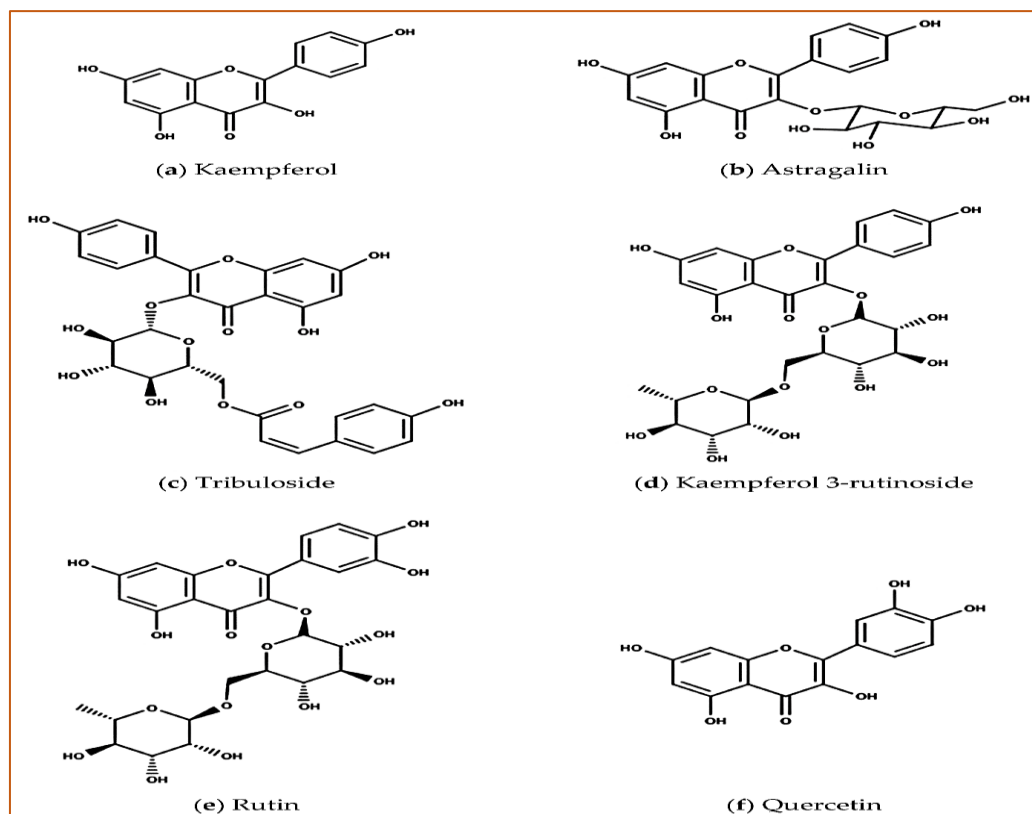


Figure 11. Les composés les plus courants trouvés dans l'extrait de TT.

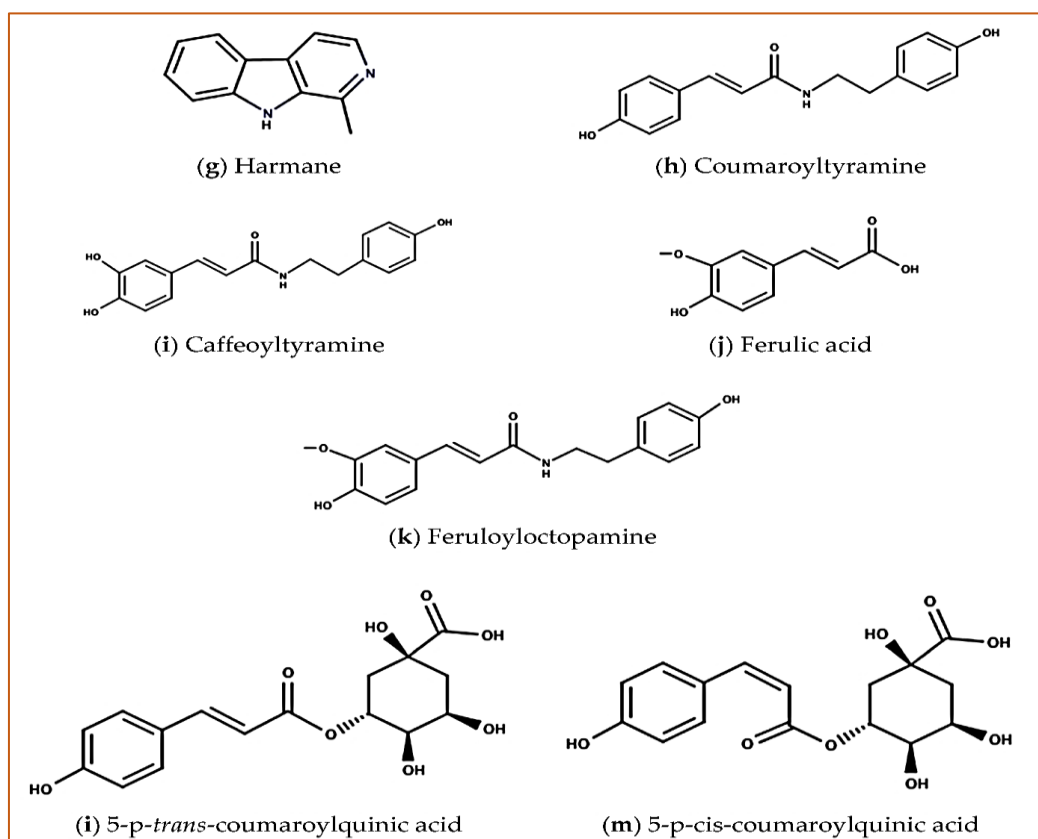


Figure 12. Les composés les plus courants trouvés dans l'extrait de TT.

#### 4. Applications en médecine traditionnelle

La TT est une plante annuelle faisant partie de la famille des zygophyllacées. Elle est indigène à plusieurs régions du monde, notamment l'Europe, l'Europe du Sud et de l'Est, l'Asie tropicale et tempérée, l'Afrique et l'Australie du Nord. Cette plante est couramment utilisée pour améliorer les performances sexuelles et physiques masculines. TT contient des substances phytochimiques bioactives, notamment des saponines et des flavonoïdes, qui ont divers effets pharmacologiques (Zhu *et al.*, 2017a).

L'utilisation de la TT en médecine traditionnelle est pratiquée depuis longtemps dans les principales cultures de ces régions, comme la médecine traditionnelle chinoise, et la médecine traditionnelle du sud-est de l'Europe. Cela a contribué à définir son importance ethnopharmacologique en tant que plante médicinale (Neychev et Mitev, 2016).

Dans la pharmacopée chinoise, les fruits du TT ont été utilisés pour renforcer les reins, comme diurétique et comme expectorant (Commission, 2015). De plus, ces plantes ont été employées pour soulager les démangeaisons cutanées, les céphalées, les étourdissements et pour dégager les conduits lactifères obstrués. Dans la médecine ayurvédique, les fruits de la plante ont été utilisés pour traiter divers problèmes tels que l'infertilité, l'impuissance et la faible libido. En outre, les effets cardiotoniques du système racinaire et des fruits de cette plante sont également connus (Mohammed *et al.*, 2014). Au Pakistan, il est également utilisé comme diurétique (Akram *et al.*, 2011).

#### 5. Propriétés pharmacologiques

Pendant de nombreuses années, les systèmes de médecine traditionnelle ont utilisé TT pour traiter diverses maladies, y compris pour améliorer la fonction sexuelle, prévenir et traiter les maladies cardiovasculaires et le diabète. De plus, les effets bénéfiques de TT comprennent la protection hépatique, les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes, antiviellissement et antitumorales (Neychev et Mitev, 2016).

La protodioscine est le composant dominant des fruits de TT et est considérée comme la principale saponine stéroïdienne pharmacologiquement active (Dinchev *et al.*, 2008). Les recherches sur les caractéristiques pharmacocinétiques de la protodioscine ont produit des conclusions contradictoires. Par exemple, les résultats de Zhang *et al.* (2016) ont suggéré que la biodisponibilité *in vivo* de la protodioscine était faible. Cependant, le même groupe d'auteurs

a montré qu'après l'administration d'un extrait de *Dioscorea*. Le profil pharmacocinétique de la protodioscine révélait une bonne biodisponibilité (Zhang *et al.*, 2015). Malgré de multiples études *in vivo* sur le TT, on sait très peu de choses sur la pharmacocinétique des composés thérapeutiquement actifs. Il existe cependant des études pharmacocinétiques pour la protodioscine et la dioscine après l'administration de différents extraits de *Dioscorea sp* (Tang *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2015).

Les saponines, en raison de leur molécule amphiphile, ont des propriétés de perméabilisation des membranes, ainsi, elles pourraient augmenter l'absorption d'autres composés. Cette propriété a une grande importance car des effets toxiques pourraient apparaître chez les patients atteints de pathologies multiples et qui subissent des traitements chroniques (Stefănescu *et al.*, 2020). La Figure 13 illustre les différentes activités pharmacologiques de TT.

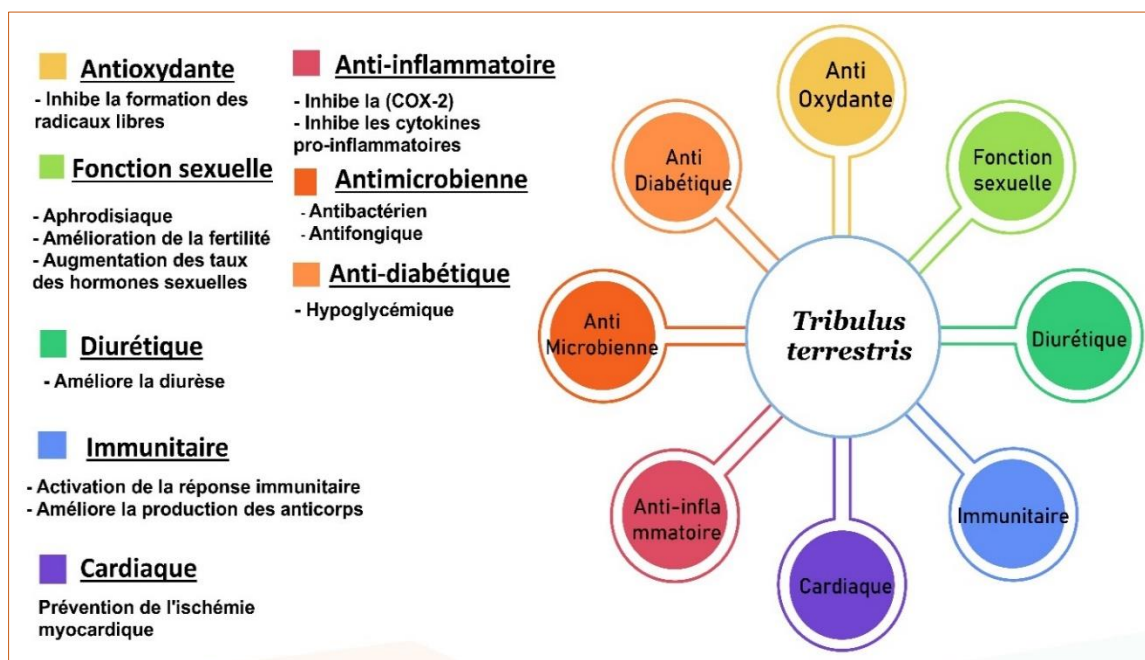


Figure 13. Les différentes activités pharmacologiques de TT.

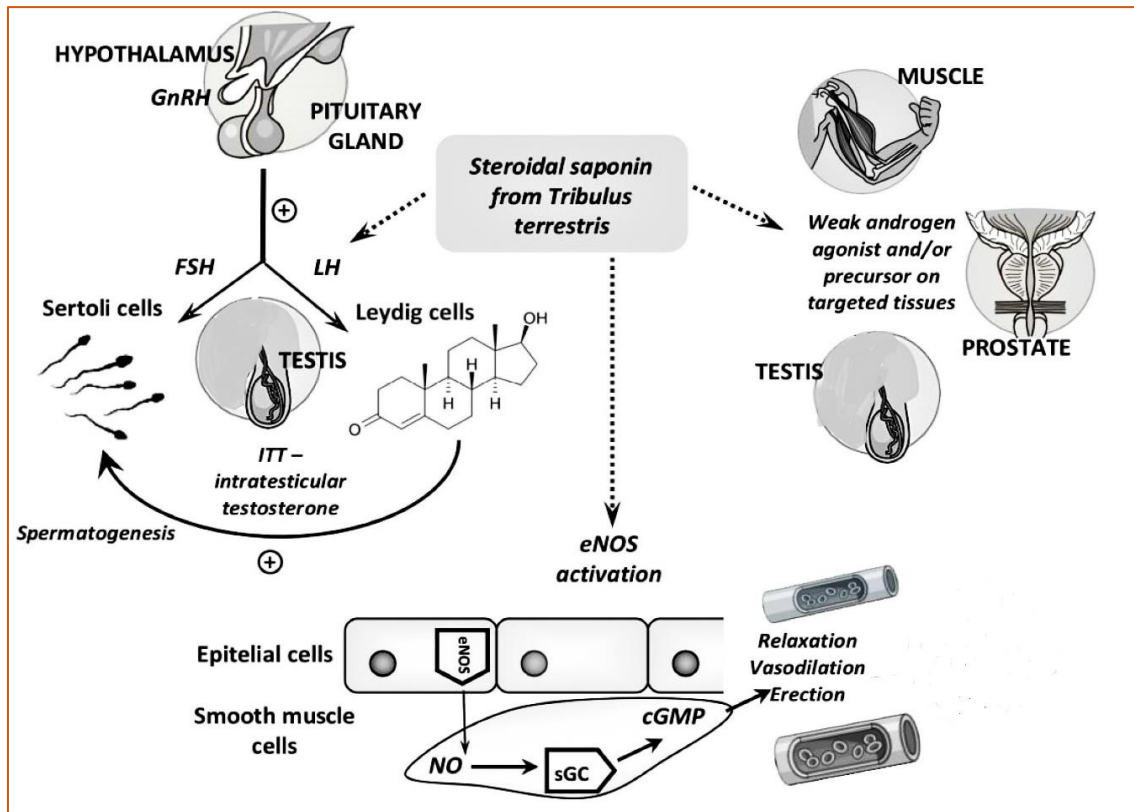
### 5.1 Amélioration de la fonction sexuelle

Différents produits contenant des extraits de TT sont largement utilisés pour améliorer la dysfonction érectile, principalement en raison de la commercialisation de suppléments destinés aux athlètes professionnels, sur la base de l'effet présumé à la stimulation de la testostérone (Stefănescu *et al.*, 2020). Les extraits actifs et les composants de TT pourraient améliorer la fonction sexuelle en activant l'aphrodisiaque et en améliorer la fertilité chez les

hommes. Il pourrait également activer le désir sexuel chez les femmes ménopausées (**Neychev et Mitev, 2016**).

Des recherches en phytochimie et en pharmacologie sur des animaux et des humains ont montré que TT est bénéfique pour le traitement des problèmes de dysfonction érectile et de baisse de la libido (**Zhu et al., 2017b**). Aussi, des études précédentes ont rapporté que, la saponine présente dans TT augmente la quantité d'hormone lutéinisante (LH), motiver la spermatogénèse et les résultats dans la motivation de testostérone. Ces activités peuvent aider à améliorer la qualité et la quantité de spermatozoïdes de manière significative (**Mohammed et al., 2010**). Le saponine extrait de TT montre un effet positif sur la spermatogénèse des béliers pendant la saison de reproduction avec augmentation du nombre de spermatozoïdes, temps de viabilité et motilité des spermatozoïdes (**Kistanova et al., 2005**).

Les effets stimulants des extraits de TT ont été confirmés par certains auteurs par des recherches expérimentales et des études cliniques. Les données disponibles sur les troubles sexuels peuvent être résumées dans la **Figure 14 (Stefănescu et al., 2020)**. Les saponines stéroïdiennes de TT augmentent les taux de testostérone endogène en raison d'une action indirecte de type LH (**Sanagoo et al., 2019a**) des saponosides stéroïdiens ou d'une action de type agoniste androgénique faible, mais ces mécanismes sont niés par d'autres de la 17-hydroxy stéroïde déshydrogénase, l'enzyme qui transforme l'androstènedione en testostérone (**Banihani, 2019**).



**Figure 14.** Les mécanismes d'actions présumées responsables des effets des extraits de TT dans les troubles sexuels (Stefănescu et al., 2020).

**GnRH**, hormone de libération des gonadotrophines ; **FSH**, hormone folliculostimulante ; **LH**, hormone lutéinisante **ITT**, testostérone intra-testiculaire ; **NO**, oxyde nitrique ; **eNOS**, oxyde nitrique synthase endothéliale ; **GMPc**, guanosine monophosphate cyclique ; et **sGC**, guanylate cyclase soluble.

## 5.2. Activité diurétique

Il a été trouvé que la plante est bénéfique dans la diurèse. Cette action pourrait être attribuée à la présence de potassiums et à une forte concentration de nitrates dans la plante (Ukani et al., 1997). L'administration orale de TT induit une diurèse positive un peu plus importante que le furosémide, mais augmente le chlorure de sodium et le tonus des muscles lisses dans l'urine. Les actions diurétiques guérissent les troubles liés aux calculs des voies urinaire (Anand et al., 1994).

## 5.3. Activité sur les maladies cardiaques

TT contient de la diosgénine, qui guérit les lésions rénales aiguës et est utilisée pour traiter les dysfonctionnements rénaux, le stress oxydatif et les dommages cellulaires. L'extrait

hydrométhanolique des fruits de TT prévient l'ischémie myocardique in-vitro (lignée cellulaire H9c2) et *in-vivo* (rat Wistar) (Altug Tuncer *et al.*, 2009).

#### 5.4. Activité antidiabétique

TT possède des saponines importantes qui inhibent la glucosidase et atténuent les symptômes du diabète insulino-dépendant (Ercan et El, 2016). La plante TT possède des caractéristiques hypoglycémiques et hydroalcooliques qui réduisent les taux de glucose sanguin, de triglycérides et du cholestérol totale. TT améliore la circulation coronaire chez les patients diabétiques (Samani *et al.*, 2016).

Plusieurs études ont mis en évidence que les extraits de TT ont la capacité d'inhiber l'activité de l'alpha-glucosidase et de l'alpha-amylase in vitro, enzymes impliquées dans la dégradation des glucides. L'inhibition de ces enzymes permet de réduire l'hyperglycémie postprandiale chez les patients diabétiques. En outre, les extraits de TT ont montré une plus grande capacité d'inhibition sur l'alpha-amylase que sur l'alpha-glucosidase (Ercan et El, 2016). Selon une étude (Stefănescu *et al.*, 2020), l'activité totale de l'extrait était supérieure à celle de la saponine isolée, ce qui suggère que d'autres composants de l'extrait de TT agissent en synergie. En outre, les amides de l'acide cinnamique ont été identifiés comme ayant la capacité d'inhiber l'activité de l'alpha-glucosidase, tandis que les alcaloïdes peuvent agir en synergie avec les saponines stéroïdiennes (Song *et al.* 2016).

#### 5.5. Activité immunomodulatrice

Les saponines de TT sont utilisées pour étudier les fonctions de phagocytose in vitro des macrophages péritonéaux murins en référence aux réponses immunologiques cellulaires non spécifiques. Des doses significatives de saponines administrées à des souris albinos ont augmenté la phagocytose après une semaine. De plus, les anticorps humoraux et les réponses d'hypersensibilité retardée sont élevés de façon similaire (Tilwari *et al.*, 2011).

#### 5.6. Activité antimicrobienne

Des recherches menées in vitro ont démontré que les extraits totaux ou fractionnés de TT présentent une activité antibactérienne puissante contre différentes souches de bactéries, qu'elles soient Gram-négatives ou Gram-positives (Mohammed, 2008; Amir *et al.*, 2017; Nasir *et al.*, 2020). Bien que les composants responsables de cette activité antibactérienne ne

soient pas encore clairement identifiés, il a été établi que les alcaloïdes jouent un rôle dans l'effet général antibactérien des extraits totaux (**Jindal et al., 2013**).

### 5.7. Activité anti-inflammatoire

Plusieurs recherches ont confirmé que les extraits de TT possèdent des propriétés anti-inflammatoires, principalement en régulant à la baisse la protéine NFκB, qui est un médiateur crucial de la voie inflammatoire (**Ranjithkumar et al., 2019**). De plus, une étude utilisant un extrait aqueux de fruits de TT originaires de Corée a montré que ces extraits peuvent induire l'apoptose dans les cellules cancéreuses du foie humain en inhibant la voie de signalisation NFκB (**Kim et al., 2011**). Des recherches antérieures ont également montré que des doses de saponine peuvent déclencher la synthèse d'oxyde nitrique et inhiber la cyclooxygénase-2 (COX-2) dans les cellules RAW264.7 (**Hong et al., 2002**). En outre, une étude menée sur des rats albinos a montré qu'un extrait éthanolique de TT peut supprimer les cytokines pro-inflammatoires telles que TNF-alpha et IL-4 dans la lignée cellulaire des macrophages après une semaine d'administration (**Naseri et al., 2019**). D'autres recherches in vitro ont également confirmé les effets anti-inflammatoires des extraits de TT (**Ghareeb et al., 2014; Tian et al., 2019**).

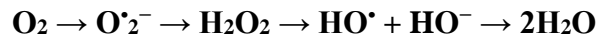
### 5.8. Amélioration de l'activité athlétique

La capacité athlétique est généralement évaluée par les taux de testostérone (T) et de corticostérone (C) et le rapport T/C. Des plantes et des mélanges de plantes ont été utilisés pour améliorer les capacités athlétiques en imitant les effets de l'épinéphrine et de la testostérone et en augmentant la corticotropine et le cortisol (**Stefănescu et al., 2020**). Le TT comprend la gitonine, la protodioscine et les tribulosaponines A et B, qui sont considérées comme imitant les actions de la testostérone chez les humains en raison de leurs propriétés moléculaires (**Di Pasquale, 1995 et Bucci, 2002**). Leur principal impact est l'augmentation de l'activité anabolique et androgène de la testostérone en activant la synthèse endogène de la testostérone (**Saudan et al., 2008**).

### 5.9. Activité antioxydante

Les extraits de TT contiennent des composés tels que des flavonoïdes et des acides carboxyliques polyphénoliques, qui ont été confirmés pour leur activité antioxydante grâce à leur capacité à fournir de l'hydrogène (**Stefănescu et al., 2020**). Les polyphénols peuvent

neutraliser les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyle (HO•), peroxyde (RO<sub>2</sub>•) et superoxyde (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>) (**Bors *et al.*, 1990**).



Néanmoins, l'effet des flavonoïdes varie et est strictement lié à leurs caractéristiques chimiques et à leurs groupes fonctionnels. Des effets de piégeage plus faible ont été observés sur l'oxygène singulet, et seulement pour les flavonones et les acides phénoliques (**Aboul-Enein *et al.*, 2007**).

Selon une étude de **Saudan *et al.* (2008)**, TT a montré une activité antioxydante efficace. Une expérience a également démontré que le GST peut augmenter l'activité de la SOD et la concentration en MDA chez les lapins souffrant d'une pression intraoculaire chronique élevée, ce qui indique un effet antioxydant remarquable (**Li *et al.*, 2013**). Par rapport à l'extraction éthanolique, l'extrait de butanol (1 mg/mL) était très riche en saponine et possédait une inhibition importante de l'oxyde nitrique (90,30 %), des radicaux hydroxyles (90,02 %) et des radicaux de peroxyde d'hydrogène (89 %) (**Hemalatha et Hari, 2013**).

### 5.10. Action sur le système nerveux central

Plusieurs études ont démontré l'effet neuroprotecteur des extraits de TT, notamment dans la maladie d'Alzheimer induite chez les rats par le chlorure d'aluminium, grâce à l'activité antioxydante de l'extrait et aux propriétés chélatrices des flavonoïdes (**Chauhdary *et al.*, 2019**). Une étude distincte a examiné comment la protodioscine affectait les convulsions chez la souris provoquées par la pilocarpine, et a indiqué que cet effet était influencé par le système GABAergique (**Song *et al.*, 2018**).

## 6. *Tribulus terrestris* et l'effet cytotoxique et génotoxique

Les médicaments à base de plantes sont souvent utilisés parce que beaucoup de gens croient que tout ce qui est naturel n'est pas toxique ni nocif pour la santé. C'est une croyance erronée, car de nombreuses plantes thérapeutiques présentent une forte toxicité et des effets nocifs sur la santé humaine (**Proença da Cunha *et al.* 2012**). De nombreuses études examinent les effets biologiques des extraits de différentes plantes pour leur utilisation thérapeutique potentielle. Cependant, il existe peu de données disponibles sur les effets cyto-génotoxiques de la plupart des plantes. Les chercheurs s'intéressent depuis longtemps aux effets génotoxiques et cytotoxiques de substances naturelles telles que les extraits de plantes. **Abudayyak *et al.* (2015)**

ont signalé que TT avait des activités œstrogéniques et génotoxiques dans des lignées de cellules rénales de rat exposées à cette plante. Une autre étude menée par **Kumar et al. (2013)** sur l'effet de *T. cordifolia* sur les cellules méristématiques d'*A. cepa* a montré une cytotoxicité et une génotoxicité significatives à des concentrations élevées. De plus, les résultats obtenus dans l'étude génotoxique d'**Ayubi et al. (2021)** ont montré que l'extrait hydro-alcoolique de *Z. multiflora* n'avait aucun effet génotoxique. **Bocayuva Tavares et al. (2021)** ont rapporté que l'extrait de protéines de graines de *S. saponaria* provoque des effets cytotoxiques et génotoxiques dans la lignée cellulaire du cancer du foie humain.

Les plantes supérieures, y compris l'*A. cepa* et le *V. faba*, sont souvent utilisées pour évaluer la génotoxicité de ces polluants environnementaux (**Leme et Marin-Morales 2009**). De plus, les tests d'*A. cepa* et de *V. faba* étaient idéaux pour évaluer les dommages chromosomiques et les perturbations du cycle mitotique en raison de leurs excellentes caractéristiques chromosomiques, notamment leur taille importante et leur nombre réduit, avec un caryotype stable (**Fiskesjo 1985**). En outre, cette méthode de test a démontré une grande sensibilité, basée sur une réponse rapide dans la dynamique du développement des racines et la détection simple des points finaux associés à la génotoxicité (**Firbas et Amon 2014**). Les points finaux génotoxiques comprennent les changements dans les valeurs d'IM par rapport aux témoins (**Akgündüz et al. 2020**), les modifications morphologiques et numériques des chromosomes exprimées sous forme d'aberrations chromosomiques, et la fréquence des micronoyaux en tant que caractéristique quantitative simple (**Bonciu et al. 2018; Younis et al. 2019**).

Malgré les recherches menées par plusieurs scientifiques sur les effets thérapeutiques de cette plante, l'analyse des éventuels impacts cytogénétiques de TT sur les cellules méristématiques n'a pas encore été réalisée.

**CHAPITRE II**  
**MATERIEL ET METHODES**

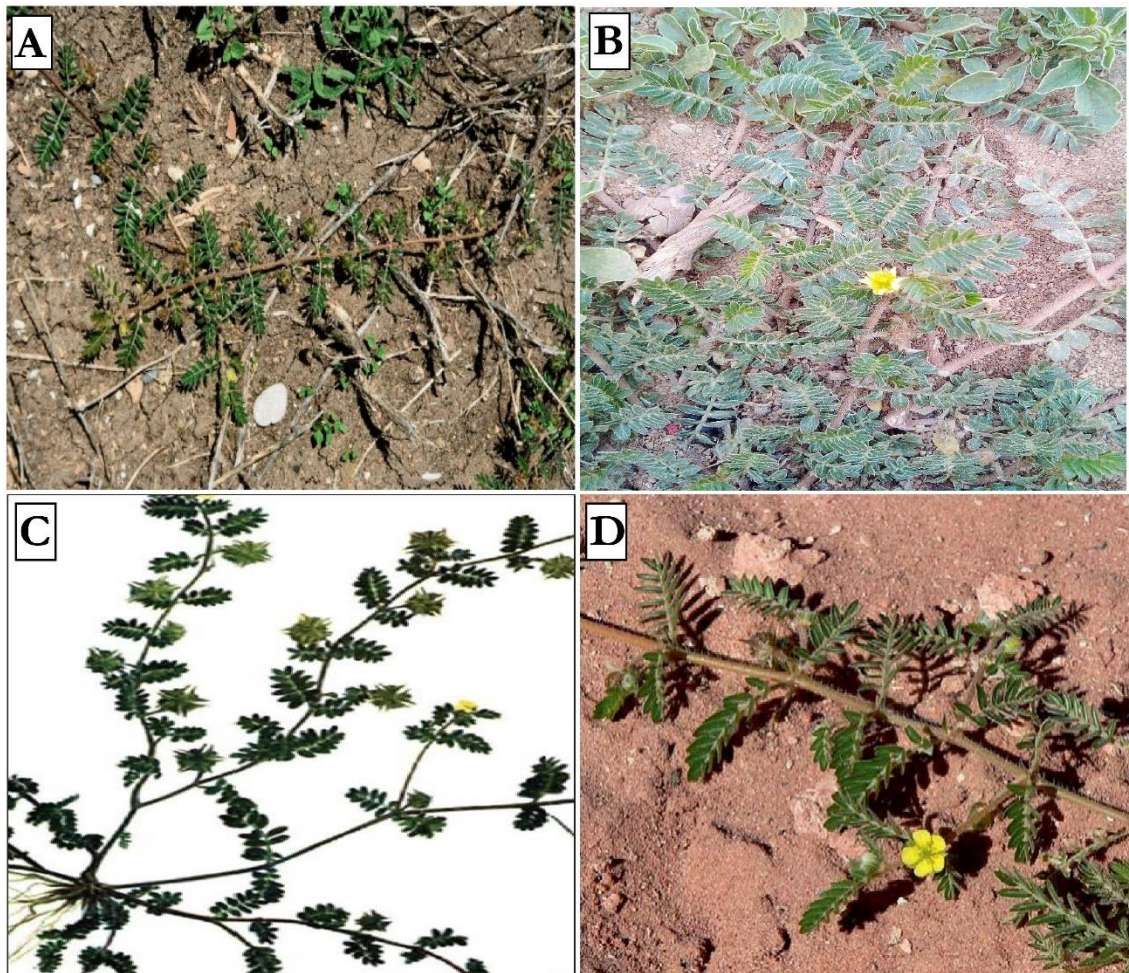
## CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES

## 1. Matériel

## 1.1 Matériel végétal

## ❖ Pour l'étude biologique

Les parties aériennes de *Tribulus terrestris* (**Figure 15**) ont été récoltées à Skikda (nord-est de l'Algérie) en période allant de mois de mai jusqu'à août 2021. L'identification taxonomique de la plante a été réalisée par Dr. Sakhraoui Nora au département de biologie à l'université de Skikda. La plante collectée a été séchée à l'ombre.



**Figure 15.** Les différentes parties de la plante TT de la région Skikda. (A) et (C) : la plante entière avec les fruits, (B) et (D) : La plante entière avec fleurs.

### ❖ Pour l'étude cytotoxique et génotoxique

Deux modèles de plante sont utilisés pour l'évaluation des effets cytotoxique et génotoxique, les bulbes de l'*A. cepa* et les graines de *V. faba*. L'utilisation de l'*A. cepa* (oignon commun) et de *V. faba* (fève) dans les tests de cytotoxicité et génotoxicité présente plusieurs avantages en raison de leurs caractéristiques biologiques et de leur sensibilité aux substances toxiques. Ces deux plantes sont couramment utilisées dans les études de cytotoxicité pour évaluer les effets génotoxiques potentiels des substances chimiques sur les cellules vivantes.

### 1.2. Matériel biologique

La recherche a porté sur des pigeons domestiques mâles adultes (*Columba livia domestica*) d'un poids moyen de  $309,2 \pm 14,41$  g obtenus à la fin du mois de janvier dans la wilaya de Skikda. Avant de mener l'étude expérimentale, une période d'adaptation de 15 jours a été accordée aux pigeons afin de s'adapter aux conditions de l'établissement d'hébergement des animaux. Ces conditions comprenaient une plage de température de  $23 \pm 2$  °C, des niveaux d'humidité relative de  $50 \pm 10$  % et une ventilation satisfaisante. Les pigeons étaient placés dans des cages en polypropylène de 90x90x90 cm. Les pigeons ont reçu de la nourriture et de l'eau librement et ont été maintenus à température ambiante tandis que leur rythme circadien était régulé par un long cycle photopériodique (19L :5D).

### 1.3. Matériel chimique

L'insecticide utilisé dans cette étude était une formation commerciale (Movento®, 150 OD). Contenant l'ingrédient actif Spirotetramat 150 g/l. le nom chimique de Spirotetramat est Carbonate d'éthyle et de cis-3-(2,5-diméthylphényl) -8-méthoxy-2-oxo-1-azaspiro [4.5] déc-3-én-4-yle (C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>5</sub>), avec un numéro d'enregistrement CAS N° 203313-25-1, pureté de 98,5 %. Ce produit est fabriqué par la société Bayer Crop Science (Allemagne) et distribué par Bayer Algérie spa. Le SPT a été préparé par dissolution dans une quantité appropriée d'eau distillée.



## 2. Méthodes

### 2.1. Préparation et étude du matériel végétal

#### 2.1.1. Préparation de l'extrait hydrométhanolique

L'extrait de TT a été préparé en faisant macérer 1,5 kg de poudre dans une solution hydrométhanolique à 80% (4 litres) à température ambiante pendant 24 h, avec une agitation occasionnelle. Après avoir été filtré à travers un papier filtre Whatman No. 1, le filtrat obtenu a ensuite été soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un appareil RE-100 Pro à une température de 45 °C. Ce processus a finalement abouti à la formation d'un extrait condensé qui est séché dans l'étuve (**Figure 18**). Ensuite, cet extrait a été dissous dans de l'eau distillée pour préparer deux doses distinctes de 50 et 100 mg/kg. PC

### 2.2. Etude phytochimique

#### 2.2.1. Dosage des composés phénoliques

##### ❖ Dosage des polyphénols totaux

**Singleton et Rossi (1965)** ont conçu la méthode Folin-Ciocalteu, qui a été utilisée pour quantifier la teneur en polyphénols totaux dans les extraits de plantes. La technique implique la réduction des acides phosphomolybdique et phosphotungstique présents dans le réactif Folin-Ciocalteu au moyen des phénols présents dans les extraits en milieu alcalin. Pour déterminer la teneur en polyphénols totaux, les extraits ont été préparés à différentes concentrations, à savoir 0,5 mg/mL et 1 mg/mL. Par la suite, 200 µL de chaque concentration ont été combinés avec 1 mL de réactif Folin-Ciocalteu (1/10). Après une période d'incubation de 4 minutes, une solution de 800 µL de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 7,5 %) a été introduite, et le mélange résultant a été soumis à une période d'incubation de 2 h à température ambiante en l'absence de lumière. La détermination des valeurs d'absorbance a été exécutée à une longueur d'onde de 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (7220G). La courbe d'étalonnage a été formulée en utilisant des valeurs croissantes de concentrations d'acide gallique variant de 0 à 400 µg/mL (**Figure 16**). Lors de la construction de la courbe d'étalonnage, la concentration de polyphénols totaux dans les extraits a été déterminée puis exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg GAE/g d'extrait). Les mesures ont été effectuées trois fois pour assurer la précision des résultats. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (1mL/mL).

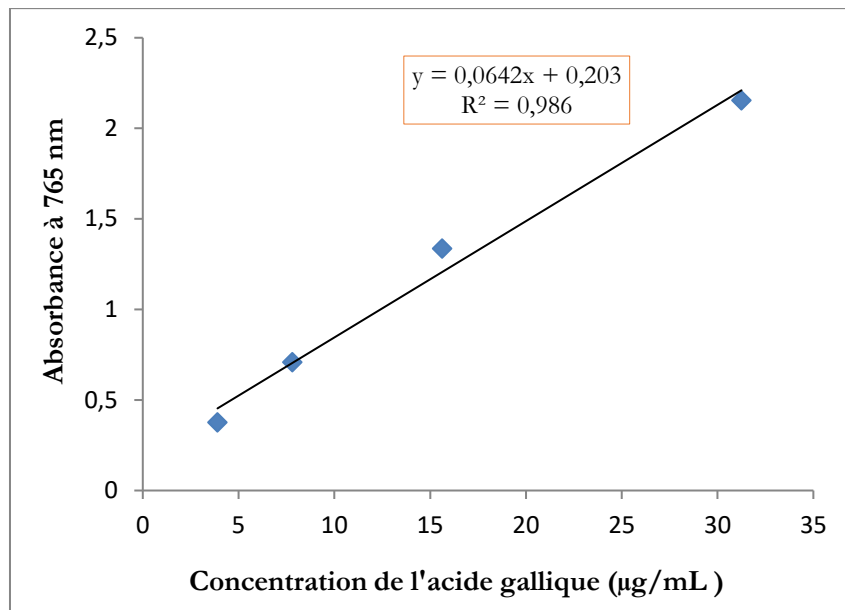


Figure 16. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (µg/mL).

#### ❖ Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de l'extrait hydrométhanolique de TT a été évaluée à l'aide de la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (**Park et al., 1997**). Cette approche repose sur la capacité des flavonoïdes à générer des complexes jaunes avec les chlorures d'aluminium. L'échantillon a été mélangé à 1 ml de solution de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ , 2%) à différentes concentrations (0,5 mg/mL, 1 mg/mL) et maintenu à température ambiante pendant 10 min. Par la suite, la lecture a été effectuée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée en les comparant à une plage d'étalonnage composée de quercétine à des concentrations de 2,5, 5, 10, 20 et 40 µg/mL (**Figure 17**). Les résultats ont été exprimés en mg eq/g d'extrait. Chaque concentration a été mesurée trois fois pour assurer des résultats précis.

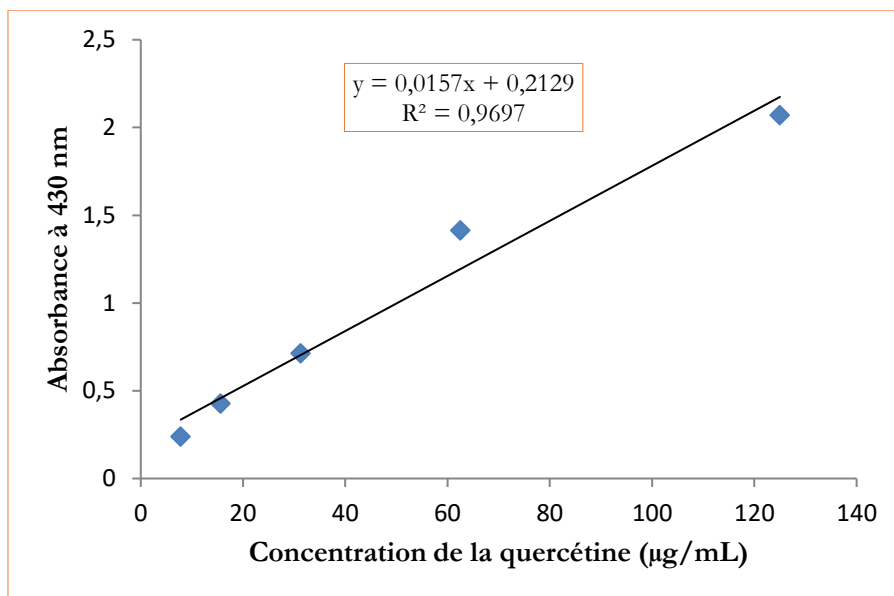


Figure 17. Courbe d'étalonnage de la quercétine ( $\mu\text{g/mL}$ ).

### 2.2.2. Analyse par l'HPLC

Cette analyse a été effectuée au laboratoire de Domaine de la Technologie des Ressources Forestières, Centre de Recherches Scientifiques et Technologiques d'Extrémadure (Espagne).

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a été réalisée avec un échantillonneur automatique Shimadzu équipé d'une pompe LC-10AT et d'un détecteur UV-visible SPD-10AV. Une colonne de shim-pack CLC-ODS (C-18), de dimensions 25 cm  $\times$  4,6 mm et de particules de diamètre 5  $\mu\text{m}$ , a été utilisée, avec une injection de volume de 40  $\mu\text{L}$ . La phase mobile était composée d'eau et d'acide acétique dans un rapport de 94:6 en tant que solvant A, et d'acétonitrile à 100% en tant que solvant B. Le débit de la phase mobile était de 1 mL/min. Le spectre d'absorption UV a été enregistré à une longueur d'onde de 280 nm pour les échantillons standards et les échantillons à analyser. La phase mobile utilisée pour le kaempférol était un mélange d'acétonitrile, de dichlorométhane et de méthanol dans un rapport de 60:20:20. Le spectre d'absorption a été enregistré à une longueur d'onde de 248 nm pour le kaempférol. La solution mère de l'échantillon standard a été préparée dans du méthanol de qualité HPLC à une concentration de 1 mg/mL. La phase mobile ainsi que la solution mère des échantillons et des standards ont été dégazées en les plaçant dans un sonicateur, puis filtrées à travers un filtre membranaire de taille 0,45  $\mu\text{m}$  (Millipore). L'analyse HPLC a été réalisée à température ambiante et en triplicata. L'identification des composés a été effectuée en comparant les temps

de rétention et les spectres d'absorption UV des standards et des échantillons (Tokuşođlu *et al.*, 2003 ; Sultana et Anwar, 2008).

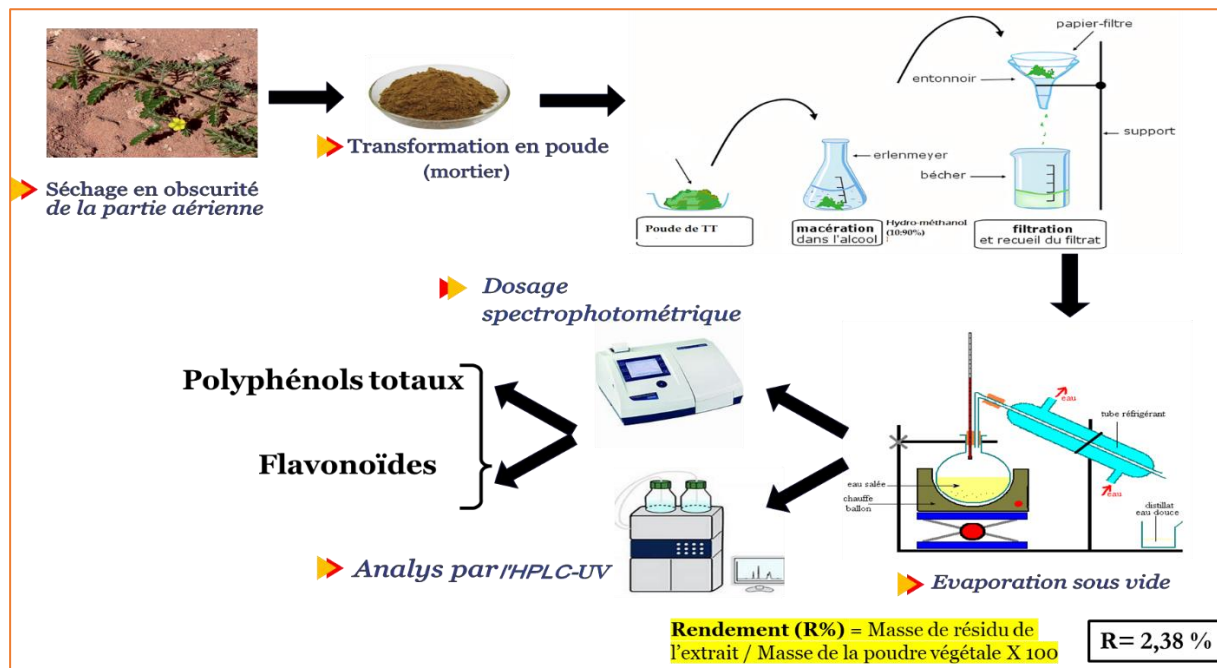


Figure 18. Représentation graphique résume les étapes de l'étude phytochimique.

## 2.3. Etude de cytotoxicité et génotoxicité

### 2.3.1. Test de cytotoxicité

L'étude a utilisé des bulbes d'oignon (*A. cepa*) et des graines de fèves (*V. faba*) sains achetés sur un marché local comme matériel expérimental (Figure 19, 20). Les deux spécimens ont été immergés dans l'eau du robinet jusqu'à ce que leurs racines atteignent une longueur de 1,5 à 2 cm. Les bulbes et les graines ont été divisés en six groupes y compris le contrôle ont été exposé aux concentrations (0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01 et 0.02%) de l'insecticide SPT, et d'autre six groupes ont été exposé aux différentes concentrations (0.00625, 0.0125, 0.025, 0.05, et 0.1 mg/mL) de l'extrait de la plantes TT. Un minimum de trois bulbes et sept graines ont été exposés à chaque concentration testée pendant cinq jours dont les solutions ont été changées quotidiennement. La longueur des racines a été mesurée chaque 24 h à l'aide d'une règle. D'autres signes de toxicité, tels que les changements de couleur et l'intégrité des racines ont également été évalués.

### 2.3.2. Test de génotoxicité

La présente étude visait à examiner les indications potentielles de génotoxicité en soumettant des bulbes de *A. cepa* et des graines de *V. faba* dont la longueur des racines était comprise entre 1,5 et 2 cm à différentes concentrations de SPT (0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01 et 0.02%) et de TT (0.00625, 0.0125, 0.025, 0.05 et 0.1 mg/mL) pendant 12 h et 24 h (**Tableau 5**, **Figure 21**). Les bulbes et les graines traitées ont été soigneusement lavées ensuite transférées dans une solution d'éthanol/acide acétique (3v/1v) pendant 24 h et conservées dans l'éthanol à 70% à 4°C jusqu'à utilisation. Les racinaires sont été rincées avec l'eau distillée ensuite hydrolysées dans une solution de HCl 1 N pendant 5 min à 60°C et à la fin colorées avec le réactif de Schiff pendant 20 min (**Sharma et Sharma, 2014**). Les méristèmes apicaux ont été écrasés dans une goutte d'acide acétique à 45 %, ensuite examinées au microscope optique à un grossissement x40 et x100.

**Tableau 5.** Groupes expérimentaux de *A. cepa* et de *V. faba* et différents traitements.

Groupes	Traitement			
	<i>Allium cepa</i>		<i>Vicia faba</i>	
	Nr	Concentration (%)	Nr	Concentration (%)
<b>Contrôle</b>	15	Eau de robinet	7	Eau de robinet
<b>SPT 0.00125</b>	15	0.00125	7	0.00125
<b>SPT 0.0025</b>	15	0.0025	7	0.0025
<b>SPT 0.005</b>	15	0.005	7	0.005
<b>SPT 0.01</b>	15	0.01	7	0.01
<b>SPT0.02</b>	15	0.02	7	0.02
Groupes	<i>Allium cepa</i>		<i>Vicia faba</i>	
	Nr	Concentrations (mg/mL)	Nr	Concentrations (mg/mL)
<b>Contrôle</b>	15	Eau de robinet	7	Eau de robinet
<b>TT 0.0125</b>	15	0.00625	7	0.00625
<b>TT 0.25</b>	15	0.0125	7	0.0125
<b>TT 0.5</b>	15	0.025	7	0.025
<b>TT 1</b>	15	0.05	7	0.05
<b>TT 2</b>	15	0.1	7	0.1

**Nr** : Nombre de racines exposées à chaque concentration.



Figure 19. Traitement des bulbes de l'*A. cepa* avec différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique de TT et de SPT.



Figure 20. Traitement des graines de *V. faba* avec différentes concentrations de SPT.

### 2.3.2.1. Préparations cytogénétique

Les racines de chaque traitement ont été obtenues après 12 h et 24 h d'incubation sont fixées dans une solution d'éthanol et d'acide acétique (3v/1v) pendant 24 heures, puis transférées dans des flacons contenant de l'éthanol à 70 %, puis conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation (Fachinnetto et Tedesco, 2009). Les extrémités des racines ont été traitées pour la préparation des lames. Après un dernier rinçage, les racines ont été soumises à une hydrolyse dans 2,5 ml de HCl 1N à 60 °C pendant une durée de 8 min. Après ce traitement, un rinçage à l'eau distillée a été effectué pendant 2 min, puis les racines ont été colorées avec le réactif de Schiff à l'abri de la lumière pendant une période de 20 à 30 min, suivi d'un autre rinçage à l'eau distillée. Afin de faciliter les observations microscopiques, les racines ont été écrasées entre une lame et une lamelle dans une goutte d'acide acétique à 45%.

### 2.3.2.2. Observation des spécimens

La méthode de **Staykova *et al.* (2005)** et **Mustafa et Suna Arikan (2008)** a été utilisée pour l'hydrolyse, l'écrasement, la coloration des cellules et la préparation des lames. Les lames ont été examinées au microscope optique avec des grossissements de x40 et x100.

Des photographies des différents stades mitotiques et des anomalies chromosomiques observées ont été prises en se servant d'un appareil photo numérique. Des photomicrographies ont été réalisées et un minimum de 1000 cellules par lame a été analysé (5 lames ont été observées pour chaque traitement) (**Özkara *et al.*, 2015; Rambo *et al.*, 2017**).

### 2.3.2.3. Détermination de la génotoxicité

Pour déterminer les pourcentages de l'IM et des ACs, au moins 1000 cellules ont été examinées sur chaque lame et cinq lames ont été utilisées pour chaque concentration (**Fiskesjo 1985; Bakare *et al.* 2000**).

Le pourcentage des ACs dans les cellules ainsi que l'IM et la fréquence d'aberration chromosomique (FA) ont été mesurés en utilisant les formules suivantes (**Akwu *et al.*, 2019**):

- L'Index Mitotique (IM) (%) =  $\frac{\text{nombre des cellules en division}}{\text{nombre Total des cellules observées}} \times 100$ .
- Les Aberrations Chromosomiques (ACs) (%) =  $\frac{\text{nombre des cellules aberrantes}}{\text{nombre Total des cellules observées}} \times 100$ .
- La Fréquence du type d'Aberration (FA) (%) =  $\frac{\text{nombre de type d'aberration cellulaire}}{\text{nombre des cellules aberrantes}} \times 100$ .

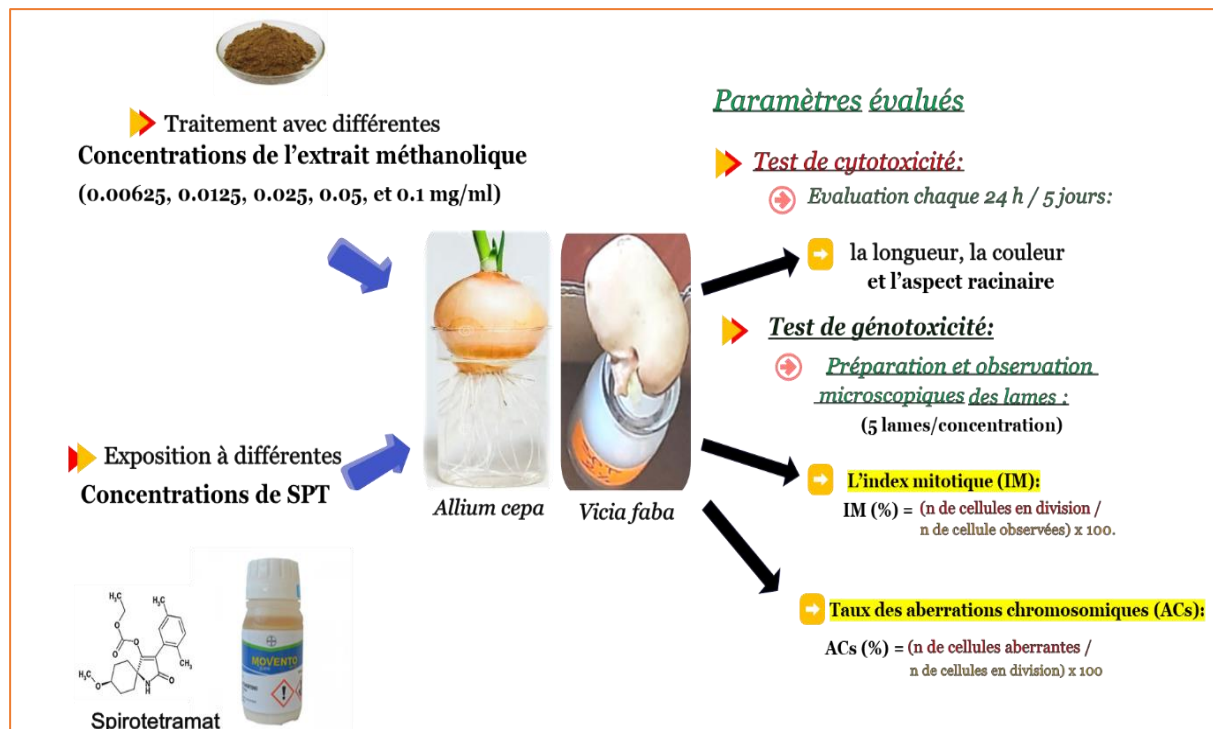


Figure 21. Représentation graphique résume les étapes de l'étude cytogénétique.

### 3. Etude des activités biologiques *in vivo*

#### 3.1. Préparation de l'extrait hydrométhanolique

La méthode de préparation de l'extrait hydrométhanolique a été abordée dans la première partie. L'extrait utilisé comme traitement a été préparé pour avoir deux doses de 100 et 50 mg/kg PC.

#### 3.2. Préparation du traitement au Spirotetramat

La doses de SPT utilisée dans la présente étude était de 15 mg/kg de poids corporel. Cette doses a été retenue en respectant la  $DL_{50}$  du SPT pour les oiseaux qui est supérieure à 2000 mg/kg (Weil, 1952; Maus, 2008).

#### 3.3. Animaux et conditions d'élevage

Pour notre étude, nous avons travaillé sur 30 pigeons mâles adultes (*Columba livia domestica*) qui pesaient en moyenne  $309,2 \pm 14,41$  g. Les pigeons ont été obtenus à la fin de mois de janvier dans la wilaya de Skikda. Avant d'être utilisés dans les expériences, les pigeons

ont bénéficié d'une période d'adaptation de 15 jours pour s'acclimater à des conditions environnementales optimales. Ces conditions comprenaient une température de  $23 \pm 2$  °C, une humidité relative de  $50 \pm 10$  % et une aération adéquate, le tout étant maintenu dans l'animalerie du département de SNV. Les pigeons ont été élevés dans des cages en polyéthylène de 90 x 90 x 90 cm et ont eu un accès libre à la nourriture et à l'eau. Après la période d'adaptation, les pigeons ont été divisés en six groupes, chacun contenant cinq pigeons, et soumis à une longue photopériode artificielle (19L :5D) pendant une période de dix semaines consécutives. Tout au long de l'expérience, les cages ont été nettoyées quotidiennement.

### 3.4. Traitement des pigeons

Nous avons réparti 30 pigeons mâles en six groupes de cinq animaux chacun. Pendant dix semaines consécutives, les pigeons ont été traités par voie orale (1 mL) à un horaire fixe (10h00 du matin) comme suit :

- (1) **Groupe (CT)** a été servi comme contrôle, et reçoit de l'eau distillée.
- (2) **Groupe (SPT)** traité par SPT d'une dose de 15 mg/kg. PC /jour.
- (3) **Groupe (TT100)** traité par TT d'une dose de 100 mg/kg. PC/jour.
- (4) **Groupe (TT50)** traité par TT d'une dose de 50 mg/kg. PC/jour.
- (5) **Groupe (SPT+TT100)** traité par SPT (15 mg/kg. PC/jour) avec supplémentation en TT (100 mg/kg/jour).
- (6) **Groupe (SPT+TT50)** traité par SPT (15 mg/kg. PC/jour) avec supplémentation en TT (50 mg/kg. PC/jour).

Tous les animaux ont été maintenus sous une longue photopériode artificielle (19L :5D) à l'aide d'une horloge électrique. La **Figure 22** résume les différentes étapes du protocole expérimentale de l'étude biologique *in vivo*.

### 3.5. Évaluation du poids corporel et du volume testiculaire

Le poids corporel et le volume testiculaire des pigeons ont été évalués toutes les deux semaines pendant les dix semaines de traitement. Pour ce faire, les pigeons ont été pesés avec une balance de précision avant chaque administration et l'étude du développement gonadique a été évaluée par laparotomie. Une petite incision a été pratiquée dans la paroi corporelle entre les deux dernières côtes, après avoir anesthésié la zone avec de la lidocaïne visqueuse. Les

dimensions du testicule gauche ont été mesurées avec une précision d'environ 0.5 mm. Le volume testiculaire (V) a été calculé comme suit :

$$V = \frac{4}{3} \pi a^2 \cdot b \quad \text{a : la moitié de la largeur, b : la moitié de la longueur}$$

### 3.6. Sacrifices des pigeons et prélèvement des échantillons

A la fin de l'expérimentation les pigeons de différents groupes sont sacrifiés par décapitation.

#### 3.6.1. Prélèvement sanguin

Après le sacrifice des pigeons, des échantillons de sang ont été collectés et placés dans des tubes héparinisés et d'autres non héparinisés et étiquetés. Ensuite, les tubes ont été centrifugés à une vitesse de 6000 tours/minute pendant 15 min afin de séparer le sérum et le plasma. Le sérum ainsi obtenu a été utilisé pour effectuer les dosages hormonaux, et le plasma pour le dosage biochimiques et enzymatiques requis.

#### 3.6.2. Dissection et prélèvement des organes

Immédiatement après leur sacrifice, les animaux ont été disséqués afin d'extraire efficacement leur foie, leurs reins et leurs testicules. Ces organes ont été soigneusement nettoyés avec une solution de Na Cl à 0.9% avant d'être pesés avec précision à l'aide d'une balance de précision. Par la suite, les organes ont été conservés de manière immuable dans une solution de formol à 10 % pour préparer les futures coupes histologiques.

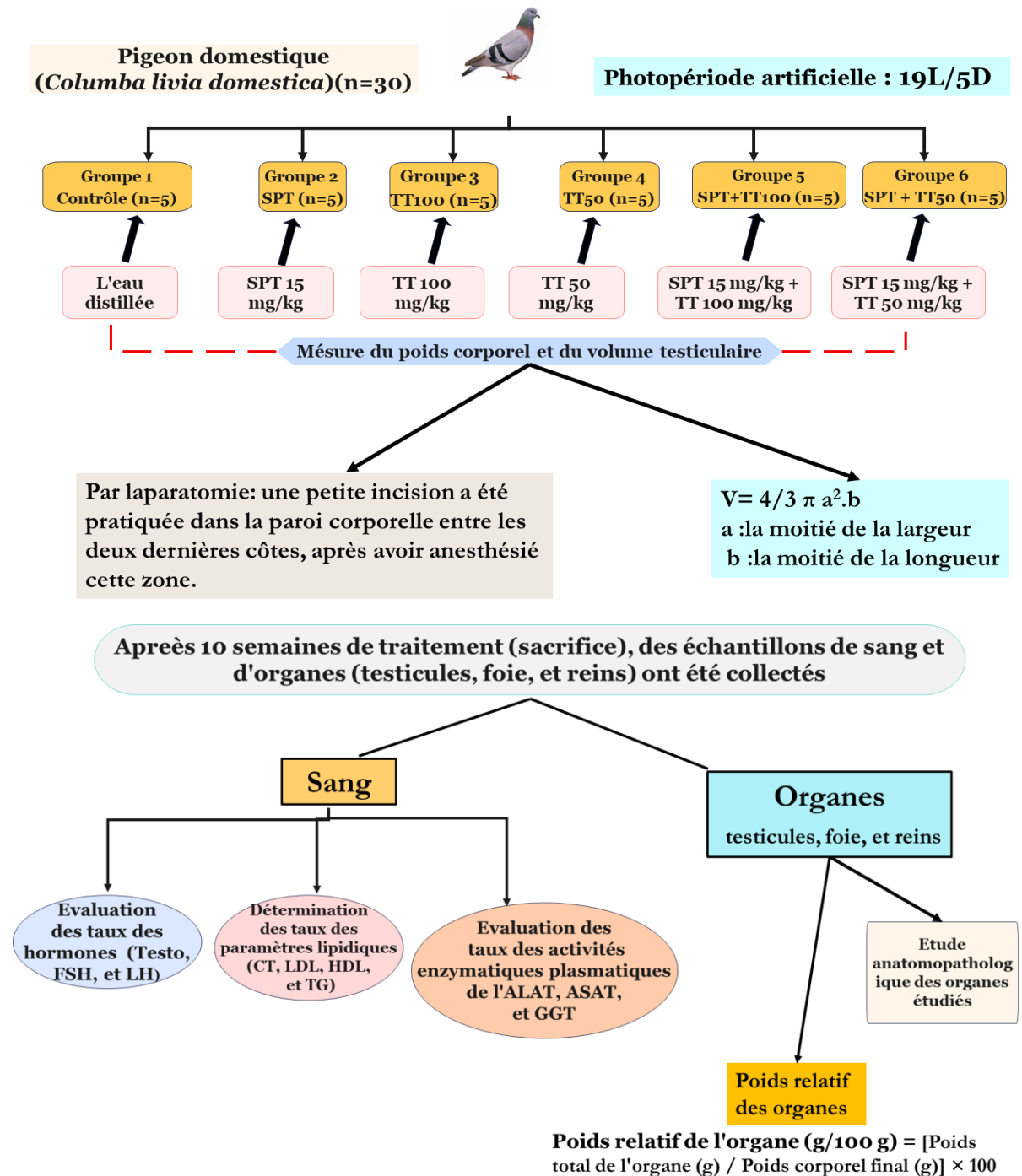


Figure 22. Les différentes étapes du protocole expérimentale de l'étude biologique *in vivo*.

### 3.7. Techniques de dosage

#### 3.7.1. Dosage des hormones sexuelles

Les taux de FSH, LH et testostérone ont été évalués par la méthode ELFA sur un automate VIDAS-BIOMÉRIEUX au laboratoire d'analyses médicales de SONATRACH à Skikda. Les résultats ont été calculés automatiquement par l'appareil et imprimés. Le test a nécessité un étalonnage initial et un réétalonnage de 14 jours pour chaque lot de réactifs. Les

résultats ont été fournis en nmol/L avec une plage de 6 à 320 nmol/L. Avant chaque dosage, les échantillons ont été mis à température ambiante et équilibrés avec 200  $\mu$ L (**Anderson *et al.*, 2017**).

### 3.7.2. Dosage des paramètres biochimiques

Les analyses biochimiques des échantillons ont été effectuées au laboratoire d'analyse médicale de SONATRACH à Skikda en utilisant des méthodes enzymatiques et colorimétriques. Pour cela, un analyseur sanguin automatisé Beckman-Coulter Synchron LX20 PRO a été utilisé. Ce dernier est équipé d'un microprocesseur et permet le traitement simultané d'une large gamme de produits chimiques. Le système optique du LX20 permet également la réalisation d'analyses de taux précises (**Mikolaenko *et al.*, 2000**).

#### ❖ Dosage du cholestérol total

##### ❖ Principe

Les lipoprotéines sont dégradées par les détergents, libérant du cholestérol et des esters de cholestérol. L'enzyme cholestérol estérase hydrolyse les esters de cholestérol, produisant du cholestérol libre. Ce dernier est ensuite oxydé en 4-cholesténone par le cholestérol oxydase, ce qui génère du peroxyde d'hydrogène. En présence d'une peroxydase, le  $H_2O_2$  réagit avec le phénol et la 4-aminophénazone pour former du quinone imine qui a une coloration rosâtre. La couleur générée est corrélée à la quantité de cholestérol, avec une concentration plus élevée entraînant une coloration plus intense de l'échantillon (**Meiattini *et al.*, 1978; Naito et Kaplan, 1984**).

#### ❖ Dosage du HDL et LDL-cholestérol

##### ❖ Principe

En présence de magnésium, le phosphotungstate permet de précipiter les VLDL et les LDL. Le HDL est récupéré dans le surnageant après centrifugation, et le cholestérol HDL est déterminé à partir de ce dernier (**Grove, 1979 ; Naito et Kaplan, 1984**).

#### ❖ Dosage des triglycérides

L'hydrolyse des triglycérides catalysée par la lipoprotéine lipase produit des acides gras libres et du glycérol. Sous l'action de la glycérol kinase et de l'ATP, le glycérol est métabolisé en ADP et G3P. Par la suite, le G3P est transformé en dihydroxyacétone phosphate et  $H_2O_2$

grâce à l'enzyme glycérol phosphate déshydrogénase. La combinaison de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produit avec la 4-aminophénazone et le p-chlorophénol par une peroxydase conduit à la formation de quinone, un composé coloré en rose. L'intensité de couleur générée est en corrélation directe avec la concentration de triglycérides dans l'échantillon (**Meiattini *et al.*, 1978; Fossati et Prencipe, 1982; Kaplan *et al.*, 1984**).

### 3.7.3. Dosage des marqueurs plasmatiques du foie

#### ❖ Détermination de l'activité d'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO)

L'AST est une enzyme qui catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'aspartate au  $\alpha$ -cétoglutarate, produisant du glutamate et de l'oxaloacétate. En présence de NADH et de MDH, l'oxaloacétate formé est réduit en malate. La vitesse de réduction de la concentration de NADH est proportionnelle à la capacité catalytique de l'AST présente dans l'échantillon. Cette enzyme est principalement présente dans les cellules du muscle cardiaque, du foie et du muscle squelettique, ainsi que dans divers autres tissus en quantités moindres (**Murray, 1984; Burtis A *et al.*, 1999**).

#### ❖ Détermination de l'activité d'alanine aminotransférase (ALAT/TGP)

En 1956, **Wroblewski et Ladue** ont créé une méthode de dosage. En 1960, **Henry *et al.*** ont effectué des ajustements pour améliorer les conditions du substrat et éliminer les réactions secondaires. L'ALAT, ou TGP, est une enzyme qui transfère un groupe amine de l'alanine au  $\alpha$ -cétoglutarate, produisant du glutamate et du pyruvate. Le pyruvate est ensuite réduit en lactate par la LDH et le NADH. La conversion du NADH en NAD<sup>+</sup> dans l'échantillon entraîne une diminution de l'absorbance à 340 nm, et cette diminution est proportionnelle à l'activité de l'ASAT (**Bergmeyer *et al.*, 1986**).

#### ❖ Détermination de l'activité GGT

Le réactif GGT est utilisé pour mesurer l'activité de la  $\gamma$ -glutamyl transférase par une méthode de taux enzymatique (**Lum et Gambino, 1972**). Dans la réaction,  $\gamma$ -glutamyl transférase catalyse le transfert d'un groupe gamma-glutamyle du substrat incolore ( $\gamma$ -glutamyl-p-nitroaniline) à l'accepteur (la glycylglycine) avec production du produit coloré (la p-nitroaniline).

Les systèmes SYNCHRON® dosent automatiquement les volumes appropriés d'échantillon et de réactif dans la cuvette. Le rapport servi est d'une partie d'échantillon pour 20 parties de réactif. Le système surveille la variation de l'absorbance à 410 nanomètres. Cette variation d'absorbance observée est proportionnelle à l'activité de la GGT présente dans l'échantillon et sert au système pour calculer et exprimer l'activité de la GGT.

#### 2.7.4. Dosage des marqueurs plasmatiques des reins

##### ❖ Dosage de la créatinine

##### ❖ Principe

La méthode de Jaffé est une technique couramment utilisée pour mesurer la concentration de créatinine dans un échantillon. Elle repose sur la formation d'un complexe rouge-orange qui résulte de la réaction entre la créatinine et l'acide picrique en présence d'une solution alcaline. La cinétique de développement de la couleur est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon et peut être mesurée à une longueur d'onde inférieure ou égale à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (**Fabiny et Ertingshausen, 1971; Labbe *et al.*, 1996**).

##### ❖ Dosage de l'acide urique

##### ❖ Principe

L'uricase catalyse la conversion de l'acide urique en acide allantoinique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier produit réagit ensuite avec la peroxydase, la 4-aminophénazone (4-AP) et le 2,4-sulfonate de dichlorophénol pour former un complexe coloré connu sous le nom de complexe de quinone imine (**Fossati *et al.*, 1980; Schultz, 1984**).

##### ❖ Dosage des protéines totales

##### ❖ Principe

En présence d'un milieu alcalin, les liaisons peptidiques des protéines interagissent avec les ions cuivre, conduisant à la formation d'un complexe coloré bleu-violet. Il est possible de déterminer la quantité de protéines totales dans l'échantillon en mesurant le degré de coloration produite, qui est directement proportionnel à la quantité de protéines présentes (**Koller, 1984; Burtis *et al.*, 1999**).

##### ❖ Dosage du glucose

##### ❖ Principe

Lorsque le glucose est présent, il est converti en acide gluconique en présence de glucose oxydase, ce qui libère du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ . Ce  $H_2O_2$  réagit ensuite avec du phénol et de la 4-aminophénasone en présence de peroxydase pour former un complexe coloré rosâtre. La quantité de glucose dans l'échantillon peut être déterminée par la mesure de l'intensité de couleur, qui est proportionnelle à la concentration de glucose (**Trinder, 1969; Kaplan *et al.*, 1984**).

### 3.8. Etude de l'architecture histologique des organes

Au service d'anatomie pathologique de l'hôpital de Skikda, une étude histologique a été effectuée à l'aide d'un dispositif automatisé. Pour la réalisation des coupes histologiques, nous avons suivi la méthode classique décrite par **Hould en 1984**, qui comprend les étapes suivantes :

#### ❖ Fixation

Les spécimens prélevés pour l'examen histologique ont été conservés dans du formol. Après cela, les organes examinés de chaque pigeon ont été retirés du formol et découpés à l'aide d'un bistouri pour obtenir des échantillons. Ces échantillons avaient une surface d'environ 1 à 2  $cm^2$  et une épaisseur d'environ 1.5 mm. Ensuite, les morceaux ont été placés dans des cassettes spécialisées dotées de parois tournées pour former des canaux, permettant ainsi aux liquides de circuler.

#### ❖ Déshydratation

Les pièces ont été traitées en les plongeant dans des bains d'éthanol à concentration croissante (70, 80, 90 et 100 %) pour des durées adaptées à l'épaisseur de leurs parois, avant d'être immergées dans des bains de xylène. Un rinçage à l'eau distillée a été effectué entre le troisième et le quatrième bain.

#### ❖ Inclusion et réalisation des blocs

Après l'étape de déshydratation, un passage des sections anatomiques dans de différents bains de paraffine liquide est nécessaire pour que ces pièces anatomiques sont imprégnées de paraffine liquide. Chaque pièce est récupérée dans le dernier bain d'imprégnation et immédiatement placée entre des barres de Leuckart à fond de paraffine. Cette étape est appelée étape de l'enrobage. Après les étapes de refroidissement et de solidification, un bloc de paraffine dure est formé, et la pièce prélevée est positionnée dans ce bloc. Le but de cette procédure est d'utiliser des dispositifs d'encastrement qui contiennent un réservoir de paraffine

maintenu à l'état liquide par un système de chauffage. Ces dispositifs sont équipés d'un petit robinet et d'une plaque métallique refroidie. Le but de cette opération est d'obtenir la solidification rapide du bloc de paraffine qui contient le tissu. Une étiquette d'identification est fixée à l'extrémité du bloc lorsqu'il est terminé.

#### ❖ Confection des coupes

Les coupes histologiques sont obtenues en utilisant un outil spécialisé appelé microtome, qui permet de préparer des sections de 2 à 5 µm d'épaisseur assemblées sous forme de rubans. Ces rubans sont ensuite étalés, dépliés et fixés sur des lames en utilisant de l'eau gélatineuse chauffée.

#### ❖ Déparaffinage et réhydratation

Pour obtenir les échantillons à partir des lames incluses, il faut suivre une procédure inverse. Les lames sont chauffées à 100°C pendant 20 min dans une étuve, puis plongées dans deux bains de xylène, un solvant de la paraffine. Ensuite, pour réhydrater les tissus, les lames sont immergées successivement dans des bains d'éthanol de concentrations de plus en plus faibles (100, 90, 80 et 70 %), puis dans de l'eau distillée.

#### ❖ Coloration

La coloration est réalisée en utilisant la méthode Hématoxyline-Eosine. Celle-ci implique l'ajout d'alcool acide, d'eau ammoniacale et d'une solution d'Eosine. Elle suit les étapes suivantes :

- 1- Immerger les lames dans un bain d'hématoxyline pendant une durée de quinze minutes, ce qui permettra de colorer en bleu-violet les noyaux des structures basophiles.
- 2- Effectuer la différenciation dans de l'alcool acide, puis rincer à l'eau ordinaire, et enfin examiner la différenciation en se servant d'un microscope.
- 3- Placer les cellules dans un bain contenant de l'ammoniac pour les bleuir.
- 4- Tremper l'échantillon dans un bain d'Eosine pendant une durée de 15 secs à 2 min, ce qui permettra de colorer en rose les structures acidophiles, c'est-à-dire le cytoplasme.
- 5- Enfin, déshydrater les échantillons, éclaircissez-les et montez-les entre une lame et une lamelle. Ensuite, passez à l'observation en vous servant d'un microscope photonique, qui est couplé à une caméra permettant la prise d'images.

#### 4. Traitement statistique des résultats

Pour l'analyse statistique des résultats, on a utilisé la version 9.2.0 de GraphPad Prism (GraphPad Software, LLC, CA, USA). Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne  $\pm$  écart type (SD). Les données des différents groupes ont été comparées à l'aide d'une analyse unidirectionnelle de la variance (one-way ANOVA), suivie d'un test post-hoc de Tukey (pour l'étude biologique *in vivo*) et le test du dunnett (pour l'étude cyto-génotoxique). Tous les résultats ont été considérés comme significatifs si la valeur de  $P < 0.05$ .

**CHAPITRE III**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

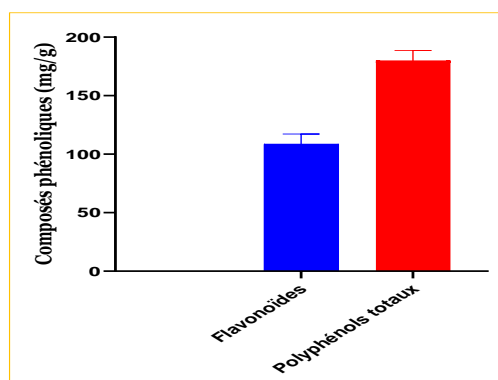
## CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Etude phytochimique

#### 1.1. Teneur en composés phénoliques

La quantité de polyphénols présents dans l'extrait hydrométhanolique de TT a été mesurée à l'aide de la méthode Folin-Ciocalteu, avec l'acide gallique comme étalon. Une courbe d'étalonnage a été créée en utilisant différentes concentrations d'acide gallique et en mesurant les valeurs d'absorbance correspondantes. Les résultats ont été analysés à l'aide de l'équation de régression ( $y = 0.0642 x + 0.203$  ;  $R^2 = 0.986$ ) de l'acide gallique, et exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait végétal (mg EAG/g). Selon nos résultats, l'extrait hydrométhanolique de TT contenait  $180.1 \pm 8.57$  mg EAG/g de polyphénols (voir **Tableau 6** et **Figure 23**).

La quantité de flavonoïdes présente dans TT a été mesurée par une méthode colorimétrique utilisant le chlorure d'aluminium. Les résultats ont été obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage ( $y = 0.0175 x + 0.2129$  ;  $R^2 = 0.9697$ ) de quercétine et exprimés en mg d'équivalents de quercétine par gramme d'extrait végétal (mg EQ/g). Nos résultats indiquent que la teneur en flavonoïdes de TT est de  $108.8 \pm 8.40$  mg EQ/g (voir **Tableau 6** et **Figure 23**). Ces résultats mettent en évidence une quantité importante de flavonoïdes et de polyphénols dans l'extrait hydrométhanolique de TT.



**Figure 23.** Teneurs en composés phénoliques de l'extrait hydrométhanolique de TT.

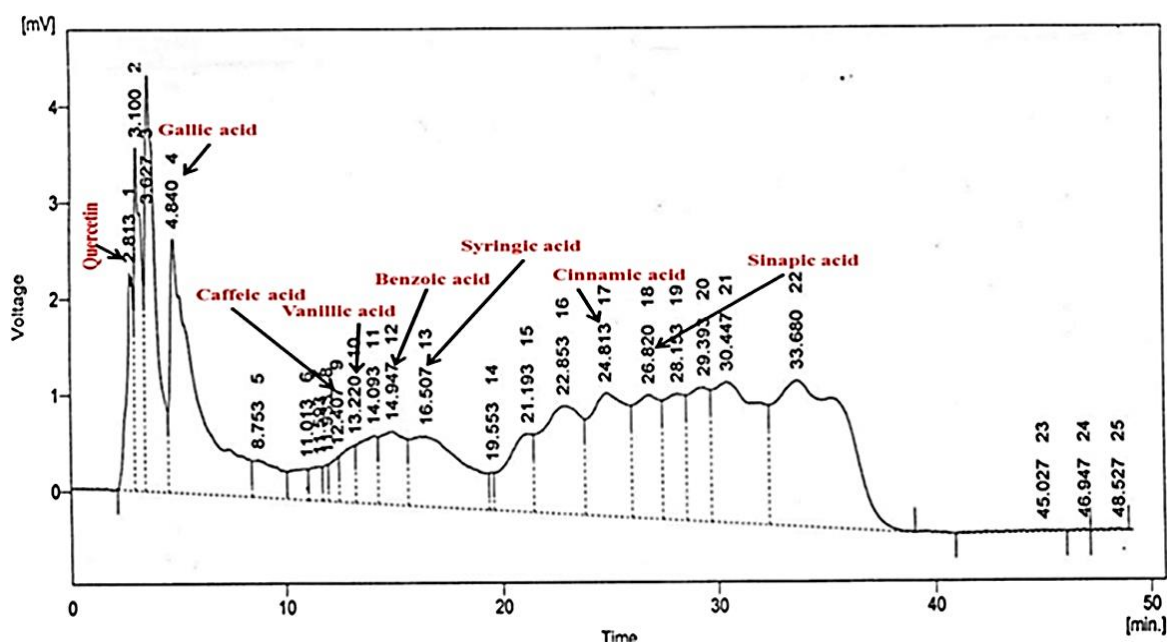
**Tableau 6.** Teneurs en composés phénoliques de l'extrait hydrométhanolique de TT.

Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g)	180.1 ± 8.57
Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g)	108.8 ± 8.40

EAG : Equivalents d'acide gallique. EQ : Equivalents de quercétine.

## 1.2. Analyse par l'HPLC

La quercétine, l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide vanillique, l'acide benzoïque, l'acide syringique, l'acide cinnamique, l'acide sinapique et le kaempférol ont été identifiés par l'analyse HPLC (**Figure 24**). La quantité de ces composés dans l'ordre décroissant est la suivante : kaempférol, 32,98 > acide gallique, 7,99 > acide benzoïque, 6,37 > acide cinnamique, 4,74 > acide syringique, 3,71 > quercétine, 2,65 > acide vanillique, 1,54 > acide sinapique, 1,37 > acide caféique, 0,57 (**Tableau 7**).



**Figure 24.** Chromatogramme HPLC de l'extrait hydrométhanolique de TT.

**Tableau 7.** Analyse par L'HPLC de l'extrait hydrométhanolique de *T. terrestris*.

Peak N°	Composé	TR	Aire (mV s)	Aire (%)	Quantité en ppm
1	Quercetine	2.813	50.074	2.4	2.65
2	Acide gallique	4.840	222.419	10.8	7.99
3	Acide caféique	12.407	12.519	0.6	0.57
4	Acide vanillique	13.220	24.918	1.2	1.54
5	Acide benzoïque	14.947	59.501	2.9	6.37
6	Acide syringique	16.507	127.503	6.2	3.71
7	Acide cinnamique	24.813	153.591	7.4	4.74
8	Acide sinapique	26.820	105.455	5.1	1.37
9	Kaempferol	1.860	106.438	31.2	32.98

Il est bien connu que les composés phénoliques et flavonoïdes contribuent directement à l'activité biologique des matières végétales (**Rice-Evans et al., 1996**). Ces résultats démontrent que TT contient de grandes quantités de composés phénoliques. En plus, l'analyse

par l'HPLC montre que cette plante est enrichie en alcaloïdes, en flavonoïdes et en saponines stéroïdiennes, qui sont bénéfiques contre le stress oxydatif. D'autres études ont montré la présence de quantités importantes de composés phénoliques et de flavonoïdes dans l'extrait de feuilles de TT, par rapport à nos résultats (Abbas *et al.*, 2022). Nos résultats sont en accord avec ceux de Hussnain Siddique *et al.* (2022), qui ont également démontré des teneurs significatives en polyphénols ( $51 \pm 0.7$  mg EAG) et flavonoïdes ( $66.5 \pm 0.4$  mg EQ). Les composés phénoliques présents dans les plantes peuvent varier au cours des étapes de traitement telles que la culture, la récolte, le stockage et les procédures technologiques utilisées (Lombardo *et al.*, 2010).

Les propriétés antioxydantes des composés phénoliques dans les plantes sont importantes pour la santé humaine et ont attiré l'attention des chercheurs (Quicke *et al.*, 2022). Les flavonoïdes sont connus pour leurs propriétés antioxydantes grâce à leurs groupes hydroxyles, qui ont la capacité de piéger les radicaux libres, d'agir comme des agents réducteurs et des chélateurs de métaux (Agati *et al.*, 2012). Selon Agati *et al.* (2012), la composition phénolique d'un échantillon influe fortement sur son activité d'élimination des radicaux libres.

## 2. Etude cytotoxique et génotoxique

Cette étude examine les impacts génotoxiques et cytotoxiques de SPT et de l'extrait hydrométhanolique de TT en analysant des paramètres macroscopiques tels que la croissance et la morphologie des racines de l'*A. cepa* et de *V. faba*, et en évaluant des paramètres microscopiques tels que l'IM et les types et les pourcentages des ACs. Les racines traitées avec SPT et TT ont présenté des effets cytotoxiques et génotoxiques, tels qu'une inhibition de la croissance de la longueur des racines, une altération de la couleur et de la structure des racines, une diminution de l'indice mitotique et une augmentation des anomalies chromosomiques avec différents types d'aberrations chromosomiques. Ces résultats dépendent de différentes concentrations et de la durée de l'exposition au SPT et au TT.

### 2.1. Spirotetramat

#### 2.1.1. Cytotoxicité

Les résultats illustrés dans le **Tableau 8 et 9**, montrent des changements dans la longueur et la morphologie des racines de l'*A. cepa* et le *V. faba* par rapport à celles du contrôle après avoir été exposées à différentes concentrations du SPT. L'effet inhibiteur du SPT augmente en augmentant la concentration et le temps d'exposition. Ainsi, la croissance

maximale des racines a été observée chez le contrôle où avaient des longueurs moyennes de  $10.77 \pm 0.6$  cm et  $10.48 \pm 0.5$  cm après 120 h chez l'*A. cepa* et le *V. faba* respectivement. Alors, aucun effet significatif de la concentration 0.00125% sur la longueur moyenne des racines de l'*A. cepa* et les concentrations 0.00125%, 0.0025%, 0.005%, et 0.01% sur les longueurs moyennes des racines de *V. faba* n'a été observé lors les 5 jours de traitement.

Cependant, l'exposition des racines de l'*A. cepa* à la gamme des concentrations 0.0025%, 0.005%, 0.01% et 0.02% a provoqué une diminution significative de la taille racinaire dont les valeurs sont respectivement, 4.26, 3.87, 3.61 et 3.58 cm. De même, une diminution significative ( $P < 0,05$ ) de la taille racinaire chez le *V. faba* a été notée à la concentration 0.02% (4.15 cm) par rapport au contrôle.

En parallèle, l'effet inhibiteur du SPT augmentant positivement avec la concentration et le temps d'exposition dont la valeur passe de 35.85% (0.00125%) à 61.1% (0.02%) après 120 h d'exposition. En outre, il a été remarqué que les racines de l'*A. cepa* étaient plus sensibles au SPT que les racines de *V. faba* (61.1% et 53.54% d'inhibition, respectivement).

Concernant l'aspect morphologique des racines, des altérations de la structure et de la couleur ont été observées, en particulier chez le *V. faba*. Les racines traitées avec la concentration 0.005% sont apparues visqueuses brunes jusqu'à brunes foncées par rapport à celles du contrôle. Cependant les racines exposées aux concentrations 0.01% et 0.02% sont devenues nécrosées après 120 h de traitement.

**Tableau 8.** L'effet de différentes concentrations de SPT (%) et de durées d'expositions sur la longueur des racines (cm) de *A. cepa*.

Contrôle et SPT (%)	Nr	Moyenne de la longueur racinaire (cm) et l'inhibition (%) induites par SPT dans les racines de l' <i>A. cepa</i> .											La longueur moyenne $\pm$ SD	Forme et couleur	
		00 h		24 h		48 h		72 h		96 h		120 h			
		Moy $\pm$ SD	Moy $\pm$ SD	In%	Moy $\pm$ SD	In%	Moy $\pm$ SD	In%	Moy $\pm$ SD	In%	Moy $\pm$ SD	In%			
Contrôle	15	1.80 $\pm$ 0.04	4.18 $\pm$ 0.03	-	5.65 $\pm$ 0.03	-	7.32 $\pm$ 0.06	-	9.57 $\pm$ 0.04	-	10.77 $\pm$ 0.06	-	7.49 $\pm$ 2.17	Droite, blanche	
0.00125%	15	1.78 $\pm$ 0.04	3.61 $\pm$ 0.08	13.54	4.57 $\pm$ 0.02	19.12	5.18 $\pm$ 0.08	29.24	6.43 $\pm$ 0.04	32.62	6.91 $\pm$ 0.03	35.85	5.34 $\pm$ 1.34	Droite, blanche	
0.0025%	15	1.80 $\pm$ 0.01	3.31 $\pm$ 0.05	20.05	3.99 $\pm$ 0.01	29.39	4.37 $\pm$ 0.06	40.31	4.56 $\pm$ 0.06	52.36	5.09 $\pm$ 0.03	52.74	4.26 $\pm$ 0.66**	Droite, blanche	
0.005%	15	1.83 $\pm$ 0.02	2.96 $\pm$ 0.07	29.19	3.44 $\pm$ 0.02	29.19	3.92 $\pm$ 0.07	46.45	4.33 $\pm$ 0.04	54.76	4.71 $\pm$ 0.03	56.27	3.87 $\pm$ 0.69**	Droite, blanche	
0.01%	15	1.75 $\pm$ 0.06	2.64 $\pm$ 0.05	37	3.32 $\pm$ 0.02	39.12	3.55 $\pm$ 0.05	51.51	4.27 $\pm$ 0.04	55.39	4.30 $\pm$ 0.04	60.08	3.61 $\pm$ .69***	Mince, blanche	
0.02%	15	1.82 $\pm$ 0.01	2.61 $\pm$ 0.1	37.8	3.29 $\pm$ 0.01	41.76	3.64 $\pm$ 0.05	50.43	4.17 $\pm$ 0.02	56.43	4.19 $\pm$ 0.04	61.1	3.58 $\pm$ .66***	Mince, blanche	

Les résultats sont exprimés en moyenne (Moy)  $\pm$  SD, avec l'inhibition en pourcentage (In %). Les significations statistiques sont indiquées par des astérisques (\*P< 0.05, \*\*P< 0.01 et \*\*\*P< 0.001) par rapport au contrôle, en utilisant un test de Dunnett et une ANOVA à sens unique.

**Tableau 9.** L'effet de différentes concentrations de SPT (%) et de durées d'expositions sur la longueur des racines (cm) de *V. faba*.

Contrôle et SPT (%)	Nr	Moyenne de la longueur racinaire (cm) et l'inhibition (%) induites par SPT dans les racines de <i>V. faba</i> .											Moyenne de la longueur $\pm$ SD	Forme et couleur	
		00 h		24 h		48 h		72 h		96 h		120 h			
		Moy $\pm$ SD	Moy $\pm$ SD	In%	Moy $\pm$ SD	In%	Moy $\pm$ SD	In%	Moy $\pm$ SD	In%	Moy $\pm$ SD	In%			
Control	7	1.80 $\pm$ 0.02	3.38 $\pm$ 0.04	-	4.78 $\pm$ 0.02	-	6.24 $\pm$ 0.05	-	8.55 $\pm$ 0.03	-	10.48 $\pm$ 0.05	-	6.68 $\pm$ 2.85	Droite, blanche	
0.00125%	7	1.82 $\pm$ 0.01	3.1 $\pm$ 0.04	8.83	4.41 $\pm$ 0.03	7.75	5.08 $\pm$ 0.04	18.86	5.48 $\pm$ 0.05	35.91	6.00 $\pm$ 0.01	42.75	4.81 $\pm$ 1.12	Droite, blanche	
0.0025%	7	1.81 $\pm$ 0.01	3.17 $\pm$ 0.06	6.22	4.32 $\pm$ 0.04	9.63	5.00 $\pm$ 0.02	19.88	5.41 $\pm$ 0.04	36.73	5.62 $\pm$ 0.04	46.38	4.70 $\pm$ 0.99	Droite, blanche	
0.005%	7	1.86 $\pm$ 0.06	3.12 $\pm$ 0.02	7.7	4.25 $\pm$ 0.03	11.09	4.97 $\pm$ 0.02	20.36	5.19 $\pm$ 0.02	39.77	5.22 $\pm$ 0.04	50.2	4.54 $\pm$ 0.88	Vaseux, brune	
0.01%	7	1.83 $\pm$ 0.07	3.35 $\pm$ 0.05	7.99	4.28 $\pm$ 0.03	10.47	4.90 $\pm$ 0.03	21.48	5.10 $\pm$ 0.03	40.36	5.15 $\pm$ 0.03	50.86	4.55 $\pm$ 0.75	Mince, brune foncée	
0.02%	7	1.84 $\pm$ 0.02	3.08 $\pm$ 0.02	8.88	3.85 $\pm$ 0.04	19.46	4.37 $\pm$ 0.03	29.97	4.58 $\pm$ 0.04	43.05	4.87 $\pm$ 0.03	53.54	4.15 $\pm$ 0.70 *	Mince, brune foncée	

Les résultats sont exprimés en moyenne (Moy)  $\pm$  écart type (SD), avec le pourcentage d'inhibition (In %) indiqué, Les significations statistiques sont indiquées par \* p< 0,05 par rapport au contrôle (ANOVA à sens unique ; test de Dunnett).

A partir des data obtenus, il s'est avéré que l'application de SPT a provoqué des effets cytotoxiques et génotoxiques dans les cellules des extrémités des racines de l'*A. cepa* et le *V. faba*. Ces effets se manifestent par une inhibition de la croissance des racines, changement de la couleur et de la structure des racines, diminution de l'IM (%), et l'augmentation des ACs (%) avec l'apparition de différents types d'aberration chromosomique. Ces résultats sont dépendants de différentes concentrations et de la durée d'exposition au SPT. Des résultats similaires ont été obtenus par l'étude de **Sheikh et al. (2020)** sur les deux pesticides Malathion, et Cyperméthrine et la recherche de **Macar (2021)** sur le fongicide Tétraconazole qui ont révélé que ces pesticides peuvent provoquer un grave retard de croissance, des dommages génotoxiques et des troubles des cellules méristématiques sur l'*A. cepa*. Selon **Wierzbicka, (1988)**, La croissance des racines pendant la différenciation cellulaire est liée directement à l'activité méristématique et l'élongation cellulaire. L'élongation des racines dépend de plusieurs facteurs, notamment de l'activité enzymatique qui favorise l'élongation et le détachement de la paroi cellulaire lors de la différenciation cellulaire (**Silveira et al., 2017**). Par conséquent, l'inhibition de la croissance des racines observée après le traitement avec SPT pourrait être due à l'effet inhibiteur de ce composé sur l'activité enzymatique qui favorise normalement l'élongation de la zone méristématique.

### 2.1.2. Génotoxicité

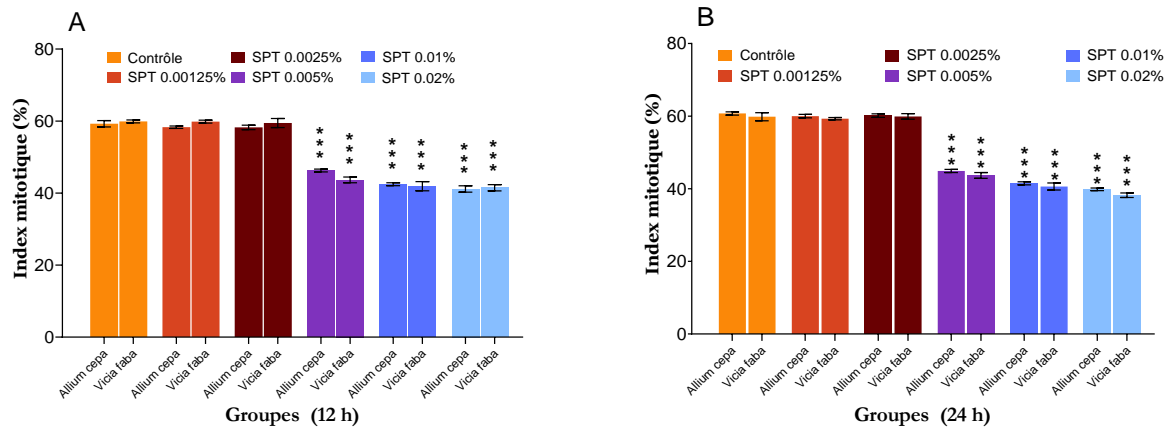
#### ❖ Effet sur l'index mitotique

L'effet de différentes concentrations du SPT sur l'IM de l'*A. cepa* et le *V. faba* est présenté dans la **Figure 25** et le **Tableau 10**. Une diminution significative de l'IM a été détectée chez les cellules méristématiques de l'*A. cepa* et *V. faba* exposées au SPT par rapport au contrôle.

L'analyse des résultats de la **Figure 25** révèle que le contrôle possède l'IM le plus élevé aussi bien chez l'*A. cepa* que chez le *V. faba* ( $59.26 \pm 0,88\%$  et  $59.90 \pm 0.40\%$ , respectivement) (12h), et ( $60.74 \pm 0.45\%$  et  $60.14 \pm 0.48\%$ , respectivement) (24h).

Il a été noté que chez l'*A. cepa* et le *V. faba*, le traitement cellulaire avec des concentrations de 0.00125% et 0.0025% n'a pas entraîné une diminution du taux de division cellulaire. En effet, les valeurs obtenues étaient aussi élevées que celles du groupe contrôle, avec ( $60.00 \pm 0.48\%$  et  $60.16 \pm 0.47\%$ , respectivement) pour l'*A. cepa* et ( $59.30 \pm 0.32\%$  et  $59.92 \pm 0.75\%$ , respectivement) pour le *V. faba*. Néanmoins, les effets cytotoxiques ont été

remarqués à partir de la concentration de 0.005%, accompagnés d'une diminution significative de l'IM ( $P < 0.001$ ) après une exposition de 12 h et 24 h aux concentrations de 0.005%, 0.01% et 0.02%.

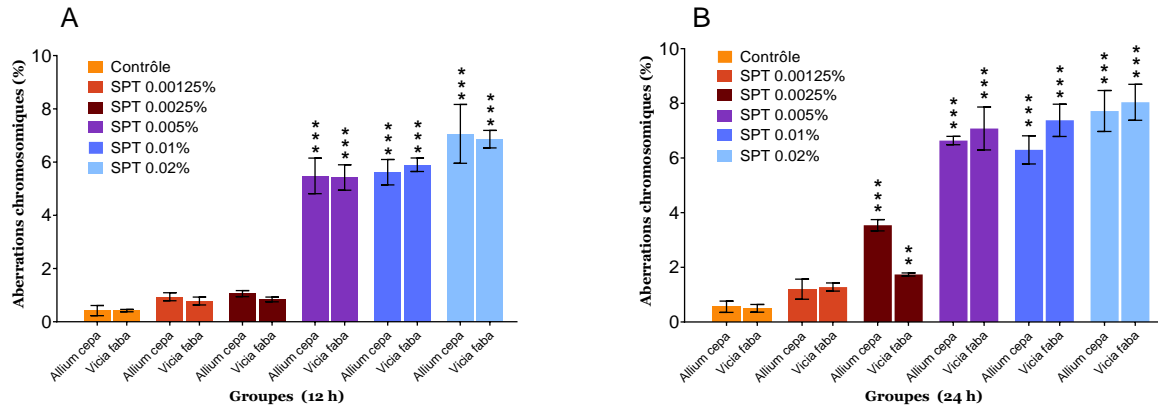


**Figure 25.** L'effet de différentes concentrations du SPT sur l'IM chez les cellules méristématiques de *A. cepa* et de *V. faba* (12 h (A) et 24 h (B)). Les résultats sont exprimés en moyenne (Moy)  $\pm$  SD. Les significations statistiques sont indiquées par des astérisques (\*\*\*) ( $P < 0.001$ ) par rapport au contrôle, en utilisant un test de Dunnett et une ANOVA à sens unique.

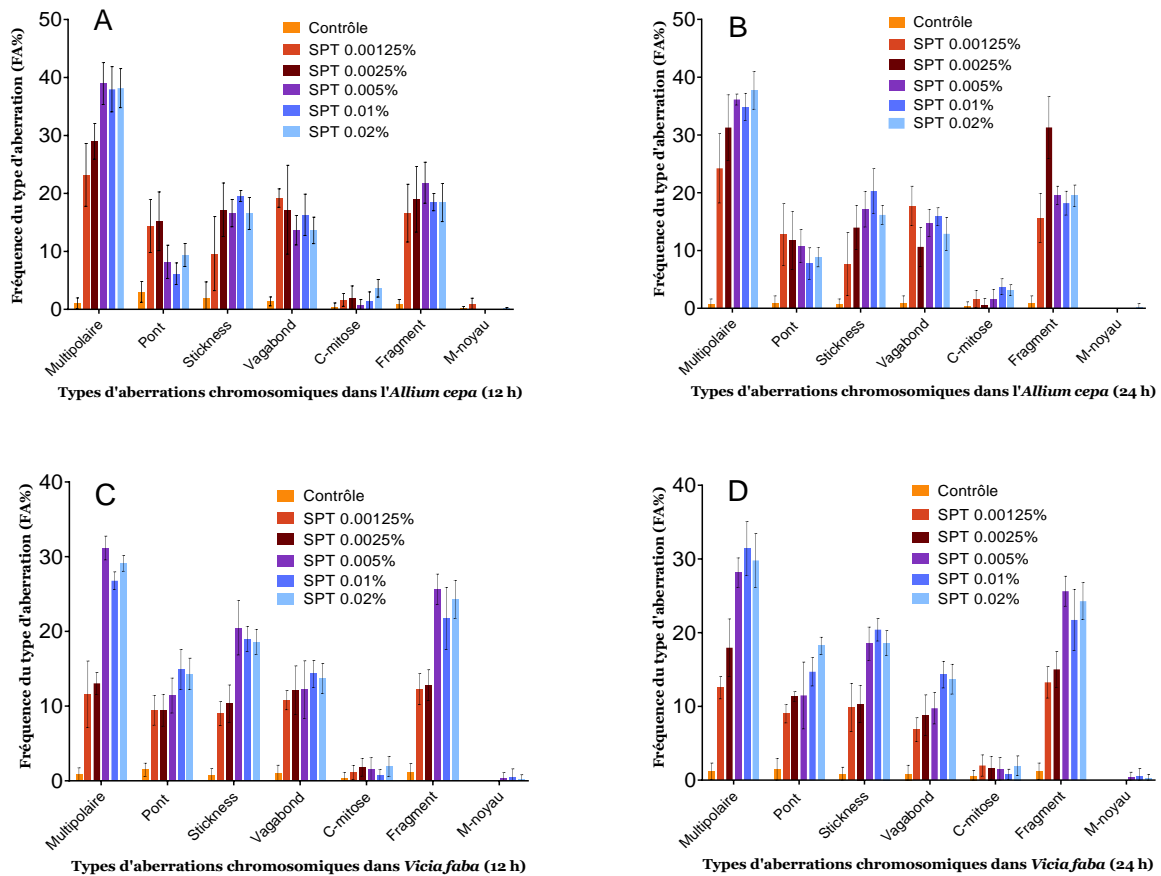
L'index mitotique est considéré comme un marqueur de la cytotoxicité causée par les agents polluants (Leme et Marin-Morales, 2009). Il permet également de déterminer la proportion des cellules en division et celles en arrêt cellulaire au cours du cycle cellulaire (Rojas et al., 1993). Dans ce travail, la diminution de l'IM après 12 h et 24 h d'exposition au SPT a démontré son effet cytotoxique potentiel significatif. Le SPT inhibe la prolifération des cellules de *A. cepa* et de *V. faba*, ce qui a entraîné une diminution significative de l'IM à des concentrations élevées. Cependant, les recherches sur la dégradation mitotique induite par le SPT sont rares. Différents travaux testant différents pesticides tels que l'herbicide Atrazine (El-Ghamery et al., 2000), l'Abamectin (Kalefetoğlu, 2020), et le Malathion et la Cyperméthrine (Sheikh et al., 2020). Selon de Souza et al. (2016), il est suggéré que la diminution de l'IM est corrélée avec l'augmentation de la fréquence des ACs, qui est attribuable à l'effet antiprolifératif puissant de l'herbicide testé. En outre, une réduction significative de l'IM pourrait être attribuée à l'inhibition de la phase G2 (El-Ghamery et al., 2000). Nos résultats suggèrent qu'une cytotoxicité potentielle est causée par le SPT et cette cytotoxicité selon Bonciu et al. (2018) est due à une perturbation de la progression régulière du cycle cellulaire.

### ❖ Effet sur les aberrations chromosomiques

Le taux d'aberration et les différents induits par la SPT sont présentés dans les **Figures 26, 27, 28, 29, et le Tableau 9**. L'augmentation des pourcentages d'aberrations chromosomiques dépend de la concentration de SPT ainsi que de la durée de traitement, comparativement au groupe contrôle. Aucun effet significatif sur le pourcentage des ACs n'a été enregistré après traitement avec les concentrations 0.00125% et 0.0025% (12 h), et 0.00125% (24 h) chez l'*A. cepa* et *V. faba*. Alors qu'une augmentation significative ( $p < 0.001$ ) des ACs (%) a été révélée dans les cellules traitées avec les concentrations 0.005%, 0.01%, et 0.02% (12 h) et à 0.0025%, 0.005%, 0.01%, et 0.02% (24 h) par rapport au contrôle. Les pourcentages les plus élevés d'ACs chez l'*A. cepa* et *V. faba* étaient respectivement de  $7.72 \pm 0.74$  % et  $8.04 \pm 0.65$  % après un traitement de 24 heures avec la concentration de 0.02 %, et les plus faibles étaient respectivement de  $0.94 \pm 0.15$  % et  $0.78 \pm 0.14$  % à la concentration de 0.00125 % (12 h). Les types d'ACs les plus courants étaient le multipolaire. On a enregistré chez l'*A. cepa* ( $38.95 \pm 3.59$  %) (12 h) et ( $37.73 \pm 3.27$  %) (24 h) et chez le *V. faba* ( $31.17 \pm 1.59$  %) (12 h) et ( $31.44 \pm 3.64$  %) (24 h), suivis par fragment, chez l'*A. cepa* ( $21.84 \pm 3.53$  %) (12 h) et ( $31.29 \pm 5.37$  %) (24 h) et chez le *V. faba* ( $25.63 \pm 2.03$ %) (12 h) et ( $25.63 \pm 2.03$ %) (24 h), Puis stickness dans l'*A. cepa* ( $19.55 \pm 0.96$ %) (12 h) et ( $20.30 \pm 3.86$ %) (24 h) et dans le *V. faba* ( $20.48 \pm 3.63$ %) (12 h) et ( $20.41 \pm 1.54$ %) (24 h). Ensuite le vagabond, ou on a observé dans l'*A. cepa* ( $19.21 \pm 1.58$ %) (12 h) et ( $17.71 \pm 3.42$ %) (24 h) et chez le *V. faba* ( $14.33 \pm 1.81$ %) (12 h) et ( $14.33 \pm 1.81$ %) (24h). Le pont chromosomique a été remarqué par les pourcentages de ( $15.20 \pm 5.07$ %) (12 h) et ( $12.78 \pm 5.33$ %) (24 h) chez *A. cepa* et dans le *V. faba* par ( $14.90 \pm 2.71$ %) (12 h) et ( $18.22 \pm 1.18$ %) (24 h). Une autre aberration chromosomique a été enregistré c'est la c-mitose dans l'*A. cepa* ( $3.62 \pm 1.50$ %) (12 h) et ( $3.72 \pm 1.36$ %) (24 h) et dans le *V. faba* ( $1.94 \pm 1.34$ %) (12 h) et ( $1.98 \pm 1.43$ %) (24 h). Aussi le M-noyau a été remarqué dans *A. cepa* ( $0.15 \pm 0.15$ %) (12 h) et ( $0.25 \pm 0.57$ %) (24 h) et chez *V. faba* ( $0.49 \pm 1.10$ %) (12 h) et ( $0.49 \pm 1.10$ %) (24 h).



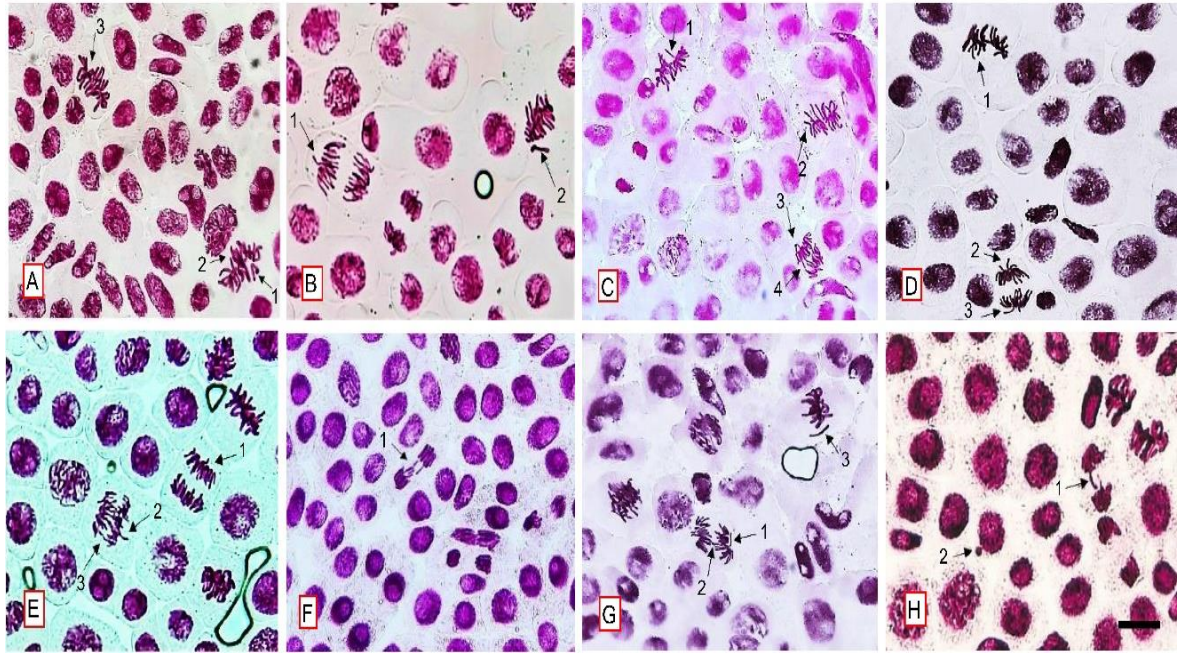
**Figure 26.** L'effet de différentes concentrations du SPT sur les ACs dans les cellules de l'*A. cepa* et le *V. faba*. Après 12 h (A) et après 24 h (B). Les résultats sont exprimés en moyenne (Moy) ± SD. Les significations statistiques sont indiquées par des astérisques (\*\*\*)  $P < 0.001$  par rapport au contrôle, en utilisant un test de Dunnett et une ANOVA à sens unique.



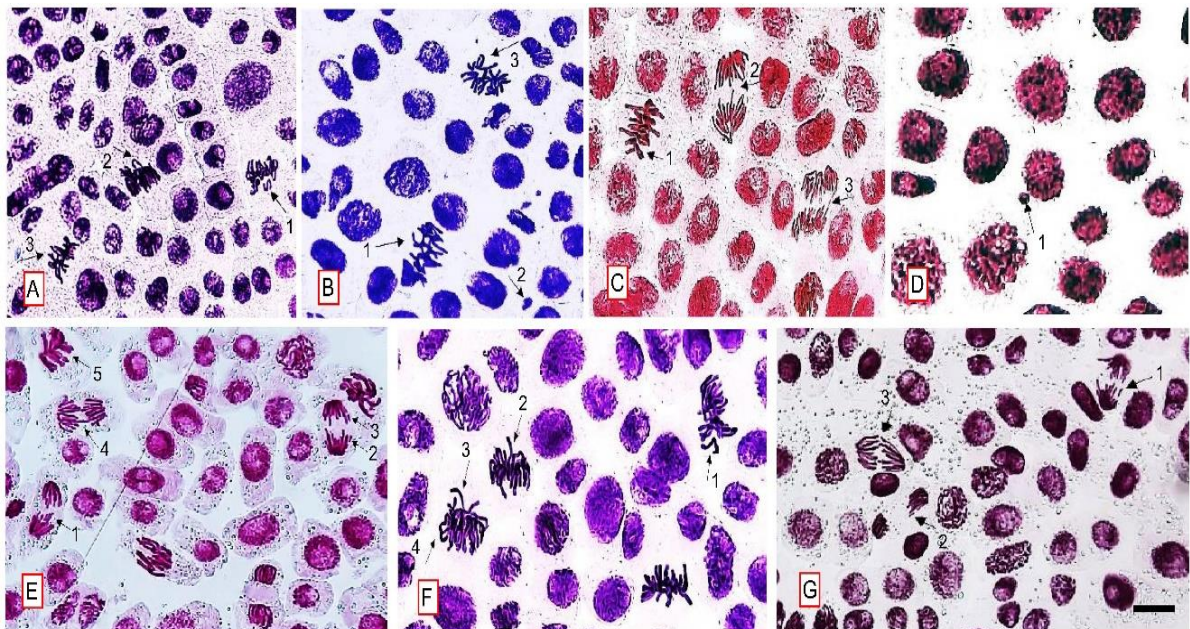
**Figure 27.** Fréquence des différents types d'aberration chromosomique (FA%) induite par différentes concentrations de SPT (%) chez les cellules de l'*A. cepa* (A-B) et le *V. faba* (C-D).

**Tableau 10.** Les conséquences des différentes concentrations de SPT sur l'indice mitotique (IM) et les aberrations chromosomiques (ACs) ont été étudiées chez les cellules de *A. cepa* et de *V. faba*. Après 12 h et 24 h de traitement.

Traitement (%)	n	Index de phase (%) + SD					IM ± SD (%)	ACs ± SD (%)	
		Interphase	Prophase	Métaphase	Anaphase	Télophase			
<i>Allium cepa</i> (12h)	Contrôle	5000	40.74 ± 0.88	16.14 ± 0.56	14.80 ± 0.58	14.18 ± 0.20	14.14 ± 0.51	59.26 ± 0,88	0.42 ± 0.19
	SPT0.00125	5000	40.82 ± 0.39	16.78 ± 0.42	15.14 ± 0.38	13.36 ± 0.45	13.90 ± 0.52	58,30 ± 0.33	0.94 ± 0.15
	SPT 0.0025	5000	40.28 ± 1.45	17.46 ± 0.64	14.82 ± 1.19	14.56 ± 0.72	12.88 ± 0.65	58,24 ± 0.62	1.06 ± 0.11
	SPT 0.005	5000	56.34 ± 0.80	12.92 ± 0.34	11.54 ± 0.43	9.46 ± 0.51	9.74 ± 0.51	46,28 ± 0.39***	5.48 ± 0.66***
	SPT 0.01	5000	57.54 ± 0.41	11.98 ± 0.23	10.12 ± 0.27	10.16 ± 0.32	10.20 ± 0.20	42,46 ± 0.41***	5.62 ± 0.47***
	SPT 0.02	5000	58.52 ± 0.85	10.68 ± 0.39	10.28 ± 0.19	10.38 ± 0.34	10.14 ± 0.33	41,14 ± 0.89***	7.06 ± 1.10***
<i>Vicia faba</i> (12h)	Contrôle	5000	40.10 ± 0.40	15.96 ± 0.27	14.82 ± 0.52	14.84 ± 0.50	14.28 ± 0.31	59.90 ± 0.40	0.42 ± 0.04
	SPT0.00125	5000	42.52 ± 1.05	15.62 ± 0.39	14.70 ± 0.35	14.00 ± 0.60	13.16 ± 0.27	59.86 ± 0.40	0.78 ± 0.14
	SPT 0.0025	5000	44.30 ± 0.66	14.52 ± 0.38	14.32 ± 0.97	14.30 ± 0.47	12.56 ± 0.33	59.46 ± 1.25	0.84 ± 0.08
	SPT 0.005	5000	56.34 ± 0.80	12.92 ± 0.34	11.54 ± 0.43	9.46 ± 0.48	9.74 ± 0.51	43.66 ± 0.80***	5.42 ± 0.47***
	SPT 0.01	5000	58.08 ± 1.27	12.22 ± 0.55	11.24 ± 0.42	9.12 ± 0.59	9.34 ± 0.39	41.92 ± 1.27***	5.90 ± 0.25***
	SPT 0.02	5000	58.52 ± 0.85	10.68 ± 0.39	10.28 ± 0.19	10.38 ± 0.34	10.14 ± 0.33	41.48 ± 0.85***	6.86 ± 0.32***
<i>Allium cepa</i> (24h)	Contrôle	5000	39.26 ± 0.40	16.70 ± 0.38	15.14 ± 0.15	14.88 ± 0.20	14.02 ± 0.39	60,74 ± 0.45	0.56 ± 0.20
	SPT0.00125	5000	40.00 ± 0.48	16.82 ± 0.22	15.46 ± 0.30	14.56 ± 0.36	13.16 ± 0.30	60,00 ± 048	1.20 ± 0.36
	SPT 0.0025	5000	39.84 ± 0.47	17.02 ± 0.32	15.76 ± 0.29	14.24 ± 0.36	13.14 ± 0.57	60,16 ± 0.47	3.54 ± 0.20***
	SPT 0.005	5000	55.10 ± 0.43	12.34 ± 0.32	11.52 ± 0.30	10.66 ± 0.20	10.38 ± 0.31	44,90 ± 0.43***	6.64 ± 0.15***
	SPT 0.01	5000	58.52 ± 0.42	10.62 ± 0.27	10.64 ± 0.43	10.04 ± 0.11	10.18 ± 0.37	41,48 ± 0.42***	6.30 ± 0.51***
	SPT 0.02	5000	60.15 ± 0.35	10.90 ± 0.23	10.20 ± 0.18	9.58 ± 0.40	9.16 ± 0.64	39,84 ± 0.35***	7.72 ± 0.74***
<i>Vicia faba</i> (24h)	Contrôle	5000	39.96 ± 0.48	16.68 ± 0.31	15.16 ± 0.18	14.44 ± 0.52	13.86 ± 0.50	60.14 ± 0.48	0.50 ± 0.14
	SPT0.00125	5000	40.70 ± 0.32	16.42 ± 0.41	15.24 ± 0.34	14.34 ± 0.55	13.30 ± 0.33	59.30 ± 0.32	1.28 ± 0.14
	SPT 0.0025	5000	40.08 ± 0.76	16.60 ± 0.46	14.80 ± 0.40	14.96 ± 0.42	13.56 ± 0.46	59.92 ± 0.75	1.74 ± 0.05**
	SPT 0.005	5000	56.34 ± 0.80	12.92 ± 0.34	11.54 ± 0.43	9.46 ± 0.48	9.74 ± 0.51	43.66 ± 0.80***	7.08 ± 0.78***
	SPT 0.01	5000	59.38 ± 0.98	11.52 ± 0.28	10.86 ± 0.45	9.04 ± 0.61	9.20 ± 0.40	40.62 ± 0.98***	7.38 ± 0.58***
	SPT 0.02	5000	61.78 ± 0.63	10.06 ± 0.30	9.80 ± 0.59	9.54 ± 0.47	8.82 ± 0.47	38.22 ± 0.63***	8.04 ± 0.65***



**Figure 28.** Photomicrographies montrant les différentes ACs induites par différentes concentrations de SPT dans les cellules méristématiques de l'*A. cepa* : vagabond (A1) avec stickness (A2, A3), multipolaire (B1) et vagabond (B2), fragment (C1) et c-mitose (C2) avec multipolaire (C3) et pont (C4), stickness (D1) et fragment (D2, D3), multipolaire (E1, E2) avec un pont chromosomique (E3), fragment (F1), multipolaire (G1) avec pont chromosomique (G2) et vagabond (G3), pont chromosomique (H1) avec un micro-noyau (H2). Après 12 h et 24 h de traitement. Barre d'échelle = 0.5  $\mu$ m.



**Figure 29.** Photomicrographies montrant les différentes ACs induites par différentes concentrations de SPT dans les cellules méristématiques de *V. faba* : vagabond (A1) et stickness (A2, A3), c-mitose (B1, B3) et micro-noyau (B2), stickness (C1) et multipolaire avec pont (C2, C3), micro-noyau (D1), fragment (E1, E2, E3) avec pont chromosomique (E4) et stickness

(E5), vagabond (F1) et stickness (F2, F3, F4), fragment (G1, G2) et pont chromosomique (G3). Après 12 h et 24 h de traitement. Barre d'échelle = 0.5  $\mu\text{m}$ .

Les aberrations chromosomiques induites par SPT ont été observé à toutes les concentrations. L'insecticide SPT implique un effet génotoxique significatif à partir de la concentration 0.005% (12 h) et 0.0025% (24 h) ce qui perturbe le cycle cellulaire et provoque une ségrégation anormale des chromosomes ainsi différentes anomalies chromosomiques sont formées, les plus fréquentes sont, le multipolaire, le fragment, le stickness, le vagabond, le pont, la c-mitose et le micro-noyau. Des résultats génotoxiques similaires sont obtenus lors des études menées sur des pesticides agissant comme des agents génotoxiques et mutagènes (**Adesuyi et al., 2018; Kumari et al., 2020; Macar, 2020**).

L'analyse des données a révélé que les ACs les plus fréquentes étaient l'anaphase multipolaire. Selon **Khallef et al. (2019)**, la multipolarité au stade de l'anaphase peut correspondre à une instabilité au niveau des fuseaux mitotiques. La présence des anomalies chromosomiques, telles que les fragments et les ponts chromosomiques, indique des activités clastogènes (**Sabeen et al. 2020**). Le fragment et le stickness sont des anomalies chromosomiques qui ont été souvent observées dans cette étude. Selon **Kuchy et al. (2015)**, une condensation chromosomique excessive ou une synthèse incorrecte des nucléoprotéines peuvent contribuer à la fréquence de l'adhérence chromosomique. Une autre aberration importante est le vagabond chromosomique. Cette aberration peut être produite par la mauvaise distribution des chromosomes pendant l'anaphase (**Fiskesjo 1985**). Les micronoyaux et les c-mitoses se produisent à une faible fréquence. Leur existence pourrait s'expliquer par l'incapacité de l'appareil fusiforme à s'organiser et à fonctionner normalement (**Rosculete et al., 2019**).

## **2.2. *Tribulus terrestris***

### **2.2.1. Cytotoxicité**

Les **Tableaux 11** et **12** présentent les variations de la longueur, de la forme et de la couleur des racines de l'*A. cepa* et de *V. faba* après traitement avec TT comparativement au contrôle. On constate que l'effet inhibiteur de TT augmente en fonction de la concentration et de la durée du traitement. Ainsi, le contrôle a montré la plus grande élancement racinaire, avec des longueurs moyennes de  $10.77 \pm 0.06$  cm et  $10.48 \pm 0.05$  cm après 120 h chez l'*A. cepa* et le *V. faba*, respectivement.

En revanche, tout au long du traitement de 5 jours, les longueurs moyennes des racines de *A. cepa* n'ont pas été affectées par les concentrations de 0.00625 mg/mL et 0.0125 mg/mL et de 0.00625, 0.0125, 0.025 et 0.05 mg/mL chez le *V. faba*.

Cependant, chez *A. cepa*, la croissance racinaire a significativement diminué avec des valeurs de 4.71 cm, 3.92 cm et 3.16 cm respectivement pour les concentrations de 0.025 mg/mL, 0.05 mg/mL et 0.1 mg/mL. De plus, une diminution significative ( $P < 0,05$ ) de la longueur des racines a été observée chez les *V. faba* traitées avec une concentration de 0.1 mg/mL par rapport au contrôle. L'effet inhibiteur de TT a également augmenté positivement avec la concentration et la durée d'exposition. Après 120 h d'exposition, la valeur est passée de 26.84% (0.006125 mg/mL) à 62.77% (0.1 mg/mL). Par ailleurs, il a été constaté que *A. cepa* était plus vulnérable au TT que le *V. faba*, avec une inhibition de croissance de 62.77 % et 55.92 % respectivement.

En ce qui concerne la morphologie et la couleur des racines, des modifications de structure et de couleur ont été observées, notamment dans les racines de *V. faba* traitées à partir de la concentration de 0.05 mg/mL, qui sont apparues visqueuses à visqueuses et brunes foncées par rapport au contrôle. Cependant, après 120 h de traitement, les racines traitées aux concentrations de 0.05 et 0.1 mg/mL ont montré une nécrose.

**Tableau 11.** L'effet de différentes concentrations de TT (mg/mL) et de durées d'expositions sur la longueur des racines (cm) de *A. cepa*.

Contrôle et TT (mg/mL)	Nr	Moyenne de la longueur racinaire (cm) et l'inhibition (%) induites par TT dans les racines de <i>A. cepa</i> .												La longueur Moyenne ± SD	Forme et couleur
		00 h		24 h		48 h		72 h		96 h		120 h			
		Moy ± SD	Moy ± SD	In %	Moy ± SD	In %	Moy ± SD	In %	Moy ± SD	In %	Moy ± SD	In %			
Contrôle	15	1.78 ± 0.08	4.18 ± 0.03	-	5.65 ± 0.02	-	7.32 ± 0.05	-	9.57 ± 0.09	-	10.77 ± 0.06	-	7.49 ± 2.71	Droite, blanche	
0.00625	15	1.87 ± 0.07	4.01 ± 0.04	4.07	5.02 ± 0.03	11.16	5.84 ± 0.04	20.22	7.03 ± 0.07	26.55	6.91 ± 0.03	26.84	5.95 ± 1.54	Droite, blanche	
0.0125	15	1.87 ± 0.07	3.83 ± 0.07	8.38	4.55 ± 0.06	19.47	5.09 ± 0.04	30.47	6.66 ± 0.07	30.41	5.09 ± 0.03	31.30	5.50 ± 1.48	Droite, blanche	
0.025	15	1.71 ± 0.07	3.56 ± 0.04	14.84	4.20 ± 0.11	25.67	4.93 ± 0.06	32.66	5.35 ± 0.04	44.10	4.71 ± 0.03	48.57	4.71 ± 0.82*	Droite, blanche	
0.05	15	1.86 ± 0.05	2.98 ± 0.03	28.71	3.3 ± 0.04	41.60	3.97 ± 0.03	45.77	4.45 ± 0.09	53.51	4.30 ± 0.04	54.14	3.92 ± 0.80**	Mince, blanche	
0.1	15	1.69 ± 0.02	2.24 ± 0.06	46.42	2.95 ± 0.05	47.79	3.01 ± 0.08	58.88	3.59 ± 0.05	62.49	4.19 ± 0.04	62.77	3.16 ± .67***	Mince, blanche	

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type, où **Nr** représente le nombre de racines, **In (%)** indique le pourcentage d'inhibition, \* p < 0,05, \*\* p < 0,01 et \*\*\* p < 0,001 par rapport au contrôle (test de Dunnett ; ANOVA à sens unique).

**Tableau 12.** L'effet de différentes concentrations de TT (mg/mL) et de durées d'expositions sur la longueur des racines (cm) de *V. faba*.

Contrôle et TT (mg/mL)	Nr	Moyenne de la longueur racinaire (cm) et l'inhibition (%) induites par TT dans les racines de <i>V. faba</i>												La longueur Moyenne ± SD	Forme et couleur
		00 h		24 h		48 h		72 h		96 h		120 h			
		Moy ± SD	Moy ± SD	In %	Moy ± SD	In %	Moy ± SD	In %	Moy ± SD	In %	Moy ± SD	In %			
Contrôle	7	1.78 ± 0.08	3.38 ± 0.04	-	4.78 ± 0.06	-	6.24 ± 0.04	-	8.55 ± 0.06	-	10.48 ± 0.04	-	6.68 ± 2.85	Droite, blanche	
0.00625	7	1.79 ± 0.07	3.20 ± 0.04	5.53	4.27 ± 0.05	10.67	5.01 ± 0.04	19.72	6.77 ± 0.07	20.82	8.21 ± 0.06	21.67	5.49 ± 2.00	Droite, blanche	
0.0125	7	1.77 ± 0.02	3.01 ± 0.06	10.95	4.17 ± 0.02	12.77	4.77 ± 0.03	23.56	6.02 ± 0.05	29.60	7.32 ± 0.06	30.16	5.05 ± 1.66	Droite, blanche	
0.025	7	1.74 ± 0.06	2.89 ± 0.07	14.50	3.68 ± 0.04	23.02	4.04 ± 0.05	35.26	5.22 ± 0.08	38.95	6.01 ± 0.03	44.56	4.36 ± 1.24	Mince, blanche	
0.05	7	1.80 ± 0.03	2.32 ± 0.06	31.37	2.98 ± 0.03	37.66	3.67 ± 0.06	41.19	4.52 ± 0.05	47.14	4.99 ± 0.02	52.39	3.69 ± 1.09	Mince, brune foncée	
0.1	7	1.81 ± 0.06	2.22 ± 0.07	34.32	2.58 ± 0.10	46.03	3.24 ± 0.06	48.08	3.99 ± 0.09	50.34	4.62 ± 0.05	55.92	3.33 ± 0.98 *	Mince, brune foncée	

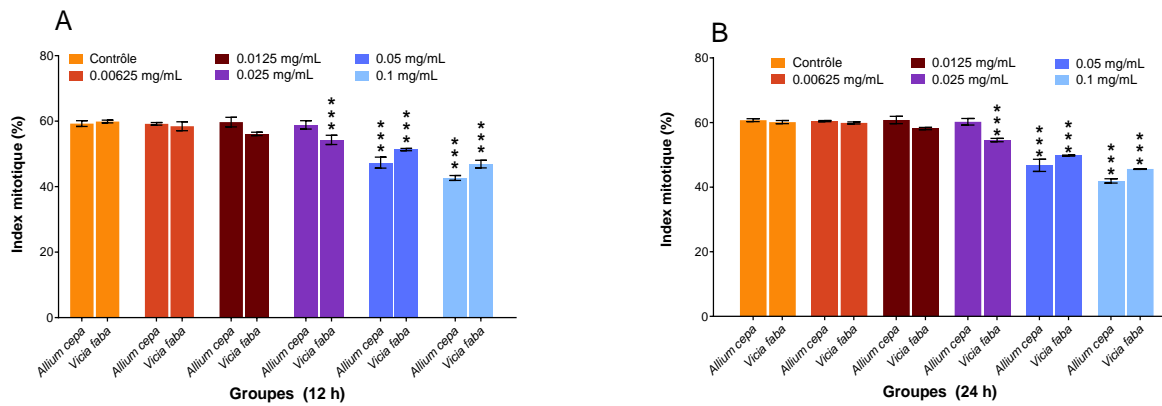
Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type, où **Nr** représente le nombre de racines, **In (%)** indique le pourcentage d'inhibition, \* p < 0,05, par rapport au contrôle (test de Dunnett ; ANOVA à sens unique).

Les résultats obtenus sur la croissance et la structure des racines sont similaires aux résultats de **Basu and Tripura (2021)** sur *Cascabela thevetia* qui ont trouvé une diminution de la croissance des racines, une turgescence et un changement de couleur chez l'*A. cepa* et le *V. faba* traités avec une forte concentration d'extrait de *Cascabela thevetia*. De plus, des résultats similaires ont été approuvés par les études de **Issa et al. (2020)** sur les racines d'*Avena fatua* et d'*Echinochloa crus-galli* exposées à une forte concentration de *Vitex negundo*. Selon **Wierzbicka (1988)**, la croissance des racines est directement liée à l'activité enzymatique et à l'élongation cellulaire de la zone méristématique. Cette activité favorise l'élongation cellulaire et la libération de la membrane pendant la différenciation cellulaire (**Silveira et al., 2017**). Ainsi, le ralentissement de la croissance des racines peut être dû à l'effet inhibiteur de TT sur l'activité enzymatique qui favorise l'élongation de la zone méristématique.

### 2.2.2. Génotoxicité

#### ❖ Effet sur l'index mitotique

La **Figure 30** et le **Tableau 13** présentent les résultats de l'impact de diverses concentrations de TT sur l'indice mitotique de l'*A. cepa* et de *V. faba*. Les résultats ont montré que les cellules méristématiques de l'*A. cepa* et de *V. faba* traitées avec TT ont présenté une baisse significative de l'IM par rapport au contrôle. Nos résultats montrent que le contrôle a l'IM le plus élevé à la fois chez l'*A. cepa* et le *V. faba* ( $59.26 \pm 0.88\%$  et  $59.90 \pm 0.40\%$ , respectivement) (12 h), et ( $60.74 \pm 0.45\%$  et  $60.14 \pm 0.48\%$ , respectivement) (24 h). En outre, la division cellulaire n'a pas été affectée par les concentrations de 0.00625, 0.0125 et 0.025 mg/mL chez l'*A. cepa* et de 0.00625 et 0.0125 mg/mL chez le *V. faba*. En revanche, les valeurs étaient aussi élevées que le témoin (12 h et 24 h) chez l'*A. cepa* ( $60.24 \pm 0.18\%$ ,  $60.80 \pm 1,12\%$  et  $60.24 \pm 1.00\%$ , respectivement) et *V. faba* ( $59.88 \pm 0.32\%$  et  $58.14 \pm 0.35\%$ , respectivement). Toutefois, des résultats cytotoxiques ont été constatés chez le *V. faba* à partir d'une concentration de 0.05 mg/mL et chez l'*A. cepa* à partir de 0.025 mg/mL, entraînant une baisse significative de l'IM ( $P < 0.001$ ) à la fois à 12 h et 24 h.



**Figure 30.** L'effet de différentes concentrations du TT sur l'index mitotique (IM) chez les cellules de l'*A. cepa* et le *V. faba* après 12 h (A) et après 24 h (B). Les résultats sont exprimés en moyenne (Moy)  $\pm$  SD. Les significations statistiques sont indiquées par des astérisques (\*\*\*) par rapport au contrôle, en utilisant un test de Dunnett et une ANOVA à sens unique.

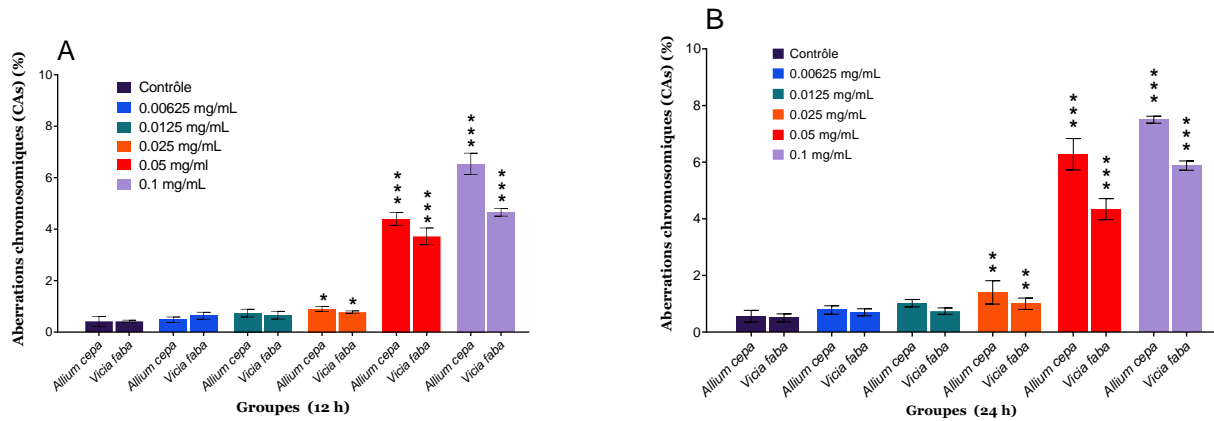
Dans cette étude, la diminution de l'IM après 12 h et 24 h de traitement avec TT a suggéré l'effet cytotoxique significatif de cette plante. De plus, nos résultats indiquent que TT inhibe la division cellulaire dans l'*A. cepa* et le *V. faba*, réduisant significativement l'IM à des concentrations élevées. Les effets cytotoxiques et génotoxiques des plantes sont évalués par plusieurs études, notamment *Vitex negundo* (Issa *et al.*, 2020), *Citrus aurantiifolia* (Fagodia *et al.*, 2017) et *Plantago major* (Ždralović *et al.*, 2019). Cependant, les recherches étudiant la génotoxicité du TT sur les cellules méristématiques sont rares.

Les résultats de l'étude actuelle ont mis en évidence une relation de corrélation entre l'augmentation de la concentration de TT et la diminution de l'IM. Selon les résultats de Qari *et El-Assouli* (2019), l'extrait aqueux du fruit de TT peut inhiber la prolifération des lymphocytes humains en culture. Cette diminution de l'IM pourrait être causée par l'arrêt des phases mitotiques ou par la décélération du processus de cytokinèse (Kundu *et Ray*, 2017). Cependant, nos résultats suggèrent que cette inhibition est causée par les effets génotoxiques d'un ou plusieurs composants de l'extrait TT qui peuvent endommager les brins d'ADN d'une manière spécifique (Qari *et El-Assouli*, 2019). En outre, Kundu *et Ray* (2017) ont constaté que l'extrait de fruit de TT peut inhiber la division cellulaire en raison d'un défaut de l'ADN. Les résultats indiquent que le TT a le potentiel d'être utilisé comme agent anticancéreux, car il peut inhiber la prolifération cellulaire, est sûr à faible dose pour l'ADN et possède une composante antioxydante (Kundu *et Ray*, 2017).

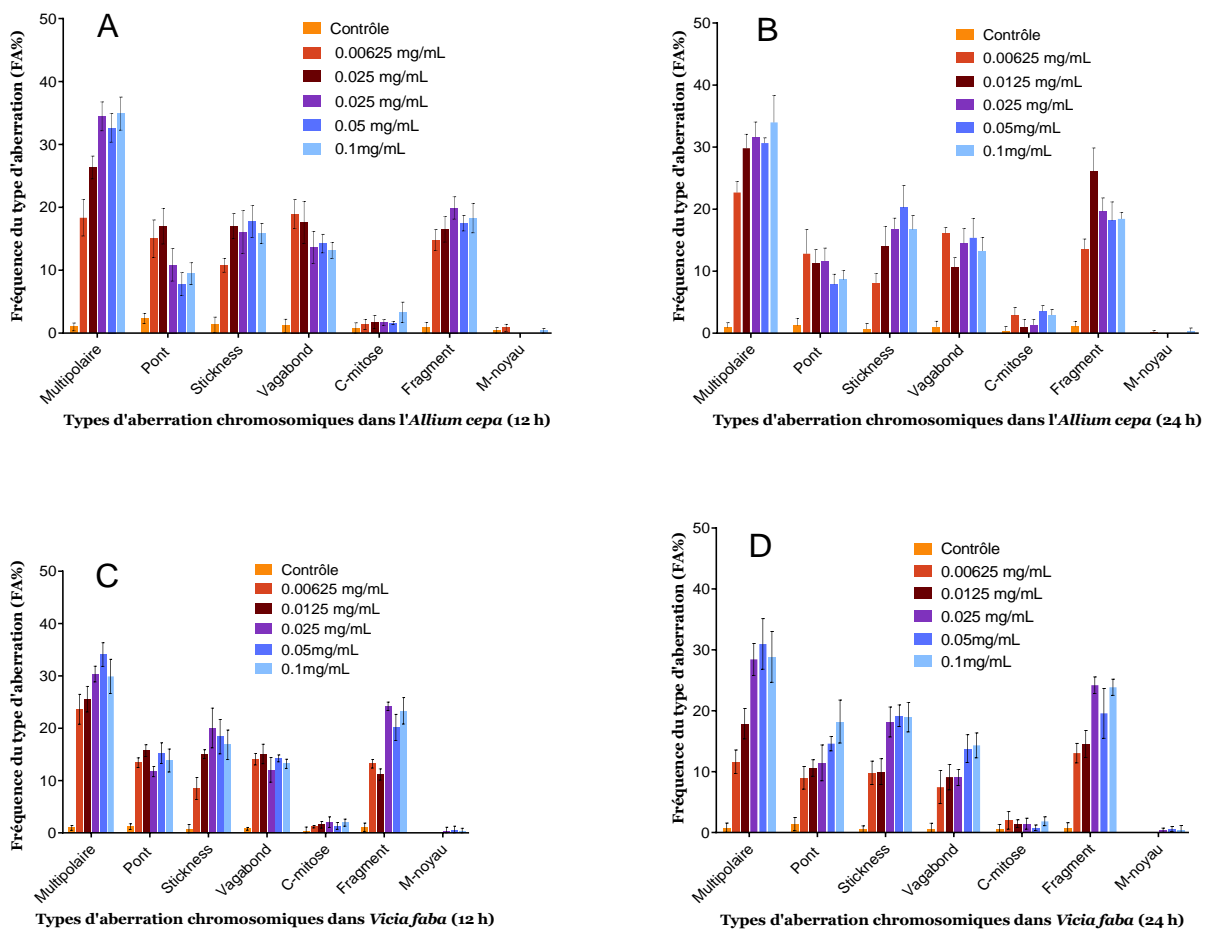
### ❖ Effet sur les aberrations chromosomiques

Les **Figures 31, 32, 33, 34 et le Tableau 13** présentent les pourcentages des ACs induites par TT ainsi que les différentes anomalies chromosomiques observées. Les résultats ont indiqué que l'augmentation des pourcentages des ACs dépendait de la durée du traitement et de la concentration de TT utilisée. Pour les traitements avec les concentrations de 0.00625 et 0.025 mg/mL (12 h et 24 h), aucune augmentation significative des pourcentages des ACs n'a été observée chez l'*A. cepa* et le *V. faba* par rapport au contrôle. Cependant, une augmentation significative des ACs (%) a été observée chez les cellules traitées avec les concentrations de 0.025, 0.05 et 0.1 mg/mL (12 h et 24 h) par rapport au témoin ( $P < 0.001$ ). Les pourcentages des ACs les plus élevés chez l'*A. cepa* et le *V. faba* ont été observés après un traitement de 24 h avec une concentration de 0.1 mg/mL, soit  $7.5 \pm 0.129 \%$  et  $5.88 \pm 0.16 \%$  respectivement, tandis que les pourcentages les plus faibles ont été observés avec une concentration de 0.00625 mg/mL (12 h), soit  $0.48 \pm 0,10 \%$  et  $0.64 \pm 0.13 \%$  respectivement.

Les types d'ACs les plus fréquents étaient multipolaires chez l'*A. cepa* ( $34.89 \pm 2.30\%$ ) (12 h) et ( $33.97 \pm 4.36\%$ ) (24 h) et chez le *V. faba* ( $34.08 \pm 2.23\%$ ) (12 h) et ( $30.96 \pm 4.13\%$ ) (24 h), suivis par fragment chez l'*A. cepa* ( $19.89\% \pm 1.75\%$ ) (12 h) et ( $26.07 \pm 3.79\%$ ) (24 h) et chez le *V. faba* ( $24.20 \pm 0.79\%$ ) (12 h) et ( $24.19 \pm 1.35\%$ ) (24 h), Puis stickness chez l'*A. cepa* ( $17.49 \pm 1.25\%$ ) (12 h) et ( $20.24 \pm 3.58\%$ ) (24 h) et chez le *V. faba* ( $20.05 \pm 3.79\%$ ) (12 h) et ( $19.18 \pm 1.77\%$ ) (24 h). Suivi par le chromosome vagabond chez L'*A. cepa* ( $18.94 \pm 2.27\%$ ) (12 h) et ( $15.38 \pm 3.11\%$ ) (24 h) et chez le *V. faba* ( $15.07 \pm 1.88\%$ ) (12 h) et ( $14.31 \pm 2.05\%$ ) (24h). Ensuite le pont chromosomique chez *A. cepa* ( $17.00 \pm 2.82\%$ ) (12 h) et ( $12.80 \pm 3.89\%$ ) (24 h) et chez le *V. faba* ( $15.73 \pm 1.10\%$ ) (12 h) et ( $18.22 \pm 3.52\%$ ) (24 h), puis C-mitose chez l'*A. cepa* ( $3.29 \pm 1.63\%$ ) (12 h) et ( $3.52 \pm 0.91\%$ ) (24 h) et chez le *V. faba* ( $2.06 \pm 0.98\%$ ) (12 h) et ( $1.89 \pm 1.34\%$ ) (24 h), et le micro-noyau chez l'*A. cepa* ( $0.35 \pm 0.39\%$ ) (12 h) et ( $0.52 \pm 0.75\%$ ) (24 h) et chez le *V. faba* ( $0.54 \pm 0.74\%$ ) (12 h) et ( $0.59 \pm 0.49\%$ ) (24 h).



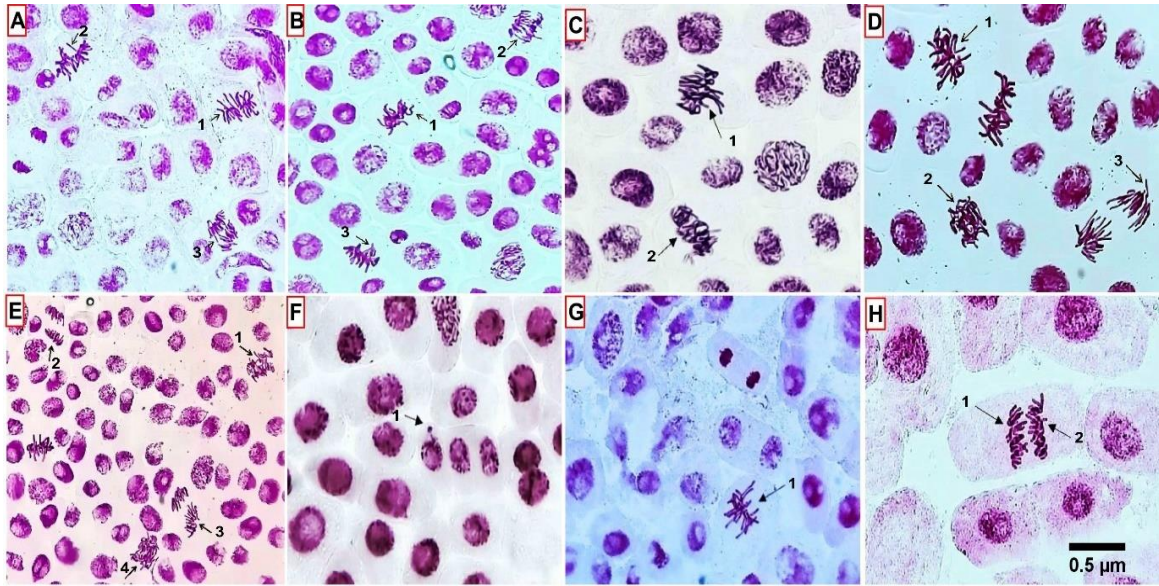
**Figure 31.** L'effet de différentes concentrations du TT (mg/mL) sur le % des aberrations chromosomiques (ACs) chez les cellules de l'*A. cepa* et le *V. faba*. Après 12 h (A) et après 24 h (B). Les résultats sont exprimés en moyenne (Moy) ± SD. Les significations statistiques sont indiquées par des astérisques (\*\*\*) P < 0.001 par rapport au contrôle, en utilisant un test de Dunnett et une ANOVA à sens unique.



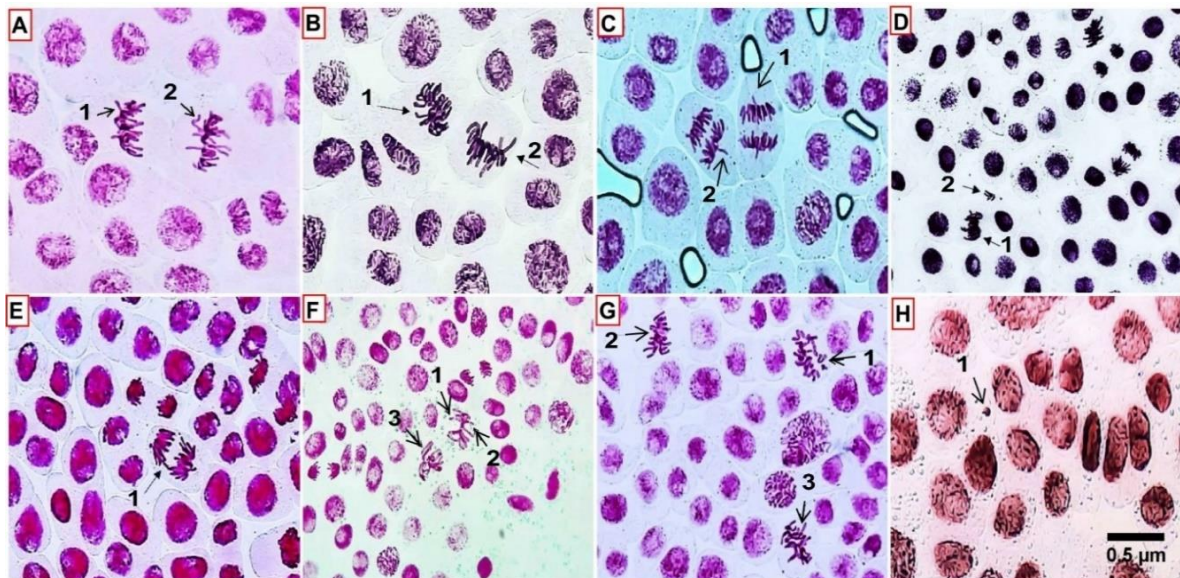
**Figure 32.** Fréquence des différents types d'aberration chromosomique (FA%) induite par différentes concentrations de TT (mg/mL) chez les cellules de l'*A. cepa* (A-B) et le *V. faba* (C-D).

**Tableau 13.** L'effet de différentes concentrations de TT (mg/mL) sur l'indice mitotique l'IM (%) et les aberrations chromosomiques ACs (%) dans les cellules de *A. cepa* et de *V. faba*. Après 12 h et 24 h de traitement.

Traitement (mg/mL)	N	Index de phase (%) + SD					IM ± SD (%)	ACs ± SD (%)	
		Interphase	Prophase	Métaphase	Anaphase	Télophase			
<i>Allium cepa</i> (12h)	Contrôle	5000	<b>40.74 ± 0.88</b>	<b>16.14 ± 0.56</b>	<b>14.80 ± 0.58</b>	<b>14.18 ± 0.20</b>	<b>14.14 ± 0.51</b>	<b>59.26 ± 0,88</b>	<b>0.42 ± 0.19</b>
	TT0.00625	5000	40.28 ± 1.45	17.46 ± 0.64	14.82 ± 1.19	13.36 ± 0.45	13.90 ± 0.52	59.18 ± 0.38	0.48 ± 0.10
	TT 0.0125	5000	41.14 ± 1.28	16.60 ± 0.91	15.16 ± 0.91	14.56 ± 0.72	12.88 ± 0.65	59.72 ± 1.45	0.74 ± 0.15
	TT 0.025	5000	52.66 ± 1.69	13.20 ± 0.36	12.46 ± 1.02	13.56 ± 0.67	13.54 ± 0.43	58.86 ± 1.28	0.90 ± 0.10*
	TT 0.05	5000	57.34 ± 0.74	12.24 ± 0.60	10.92 ± 0.87	11.52 ± 0.74	10.16 ± 0.69	47.34 ± 1.69***	4.40 ± 0.24***
	TT 0.1	5000	40.82 ± 0.39	16.78 ± 0.42	15.14 ± 0.38	10.84 ± 0.86	8.66 ± 0.45	42.66 ± 0.74***	6.54 ± 0.41***
<i>Vicia faba</i> (12h)	Contrôle	5000	<b>40.10 ± 0.40</b>	<b>15.96 ± 0.27</b>	<b>14.82 ± 0.52</b>	<b>14.84 ± 0.50</b>	<b>14.28 ± 0.31</b>	<b>59.90 ± 0.40</b>	<b>0.42 ± 0.04</b>
	TT0.00625	5000	40.26 ± 0.73	16.76 ± 0.49	14.84 ± 0.61	14.24 ± 0.45	13.90 ± 0.21	59.74 ± 0.73	0.64 ± 0.04
	TT 0.0125	5000	40.46 ± 1.03	16.66 ± 0.30	14.88 ± 0.57	14.34 ± 0.64	13.66 ± 0.38	59.54 ± 1.03	0.66 ± 0.15
	TT 0.025	5000	45.70 ± 1.41	14.48 ± 0.80	13.52 ± 0.55	13.24 ± 0.27	13.06 ± 0.47	54.30 ± 1.41***	0.78 ± 0.04*
	TT 0.05	5000	48.66 ± 0.35	14.54 ± 0.20	12.62 ± 0.46	12.08 ± 0.41	12.10 ± 0.23	51.34 ± 0.35***	3.72 ± 0.32***
	TT 0.1	5000	53.10 ± 1.17	12.22 ± 0.22	12.22 ± 0.22	11.10 ± 0.88	11.36 ± 0.24	46.90 ± 1.17***	4.66 ± 0.15***
<i>Allium cepa</i> (24h)	Contrôle	5000	<b>39.26 ± 0.40</b>	<b>16.70 ± 0.38</b>	<b>15.14 ± 0.15</b>	<b>14.88 ± 0.20</b>	<b>14.02 ± 0.39</b>	<b>60,74 ± 0.45</b>	<b>0.56 ± 0.20</b>
	TT0.00625	5000	39.56 ± 0.18	17.48 ± 0.85	16.56 ± 0.84	13.74 ± 0.84	12.66 ± 0.75	60.44 ± 0.18	0.78 ± 0.14
	TT 0.0125	5000	39.20 ± 1.12	18.26 ± 0.36	16.24 ± 0.68	14.16 ± 0.86	12.14 ± 1.23	60.80 ± 1.12	1.02 ± 0.13
	TT 0.025	5000	39.76 ± 1.00	17.04 ± 0.32	15.20 ± 0.57	14.74 ± 0.91	13.26 ± 0.66	60.24 ± 1.00	1.4 ± 0.41**
	TT 0.05	5000	53.26 ± 1.88	14.68 ± 0.49	12.52 ± 0.79	9.62 ± 0.46	9.62 ± 0.74	46.74 ± 1.88***	6.28 ± 0.55***
	TT 0.1	5000	58.06 ± 0.66	12.84 ± 0.24	10.72 ± 0.28	10.44 ± 0.56	7.94 ± 0.47	41.94 ± 0.66***	7.50 ± 0.12***
<i>Vicia faba</i> (24h)	Contrôle	5000	<b>39.96 ± 0.48</b>	<b>16.68 ± 0.31</b>	<b>15.16 ± 0.18</b>	<b>14.44 ± 0.52</b>	<b>13.86 ± 0.50</b>	<b>60.14 ± 0.48</b>	<b>0.50 ± 0.14</b>
	TT0.00625	5000	40.12 ± 0.32	16.70 ± 0.50	14.94 ± 0.43	14.24 ± 0.45	14.00 ± 0.43	59.88 ± 0.32	0.70 ± 0.12
	TT 0.0125	5000	40.20 ± 1.12	16.64 ± 0.45	14.74 ± 0.39	14.80 ± 0.40	13.62 ± 0.52	59.98 ± 1.10	0.74 ± 0.11
	TT 0.025	5000	45.42 ± 0.51	15.10 ± 0.32	13.80 ± 0.49	13.16 ± 0.21	12.52 ± 0.45	54.58 ± 0.51***	1.00 ± 0.2**
	TT 0.05	5000	50.24 ± 0.16	12.96 ± 0.32	12.72 ± 0.41	12.18 ± 0.37	11.90 ± 0.43	49.76 ± 0.16***	4.34 ± 0.37***
	TT 0.1	5000	54.38 ± 0.11	11.98 ± 0.32	11.56 ± 0.35	11.26 ± 0.41	10.82 ± 0.51	45.62 ± 0.10***	5.88 ± 0.16***



**Figure 33.** Photomicrographies montrant les différentes ACs induites par différentes concentrations de TT (mg/mL) dans les cellules de l'extrémité des racines de l'*A. cepa* : vagabond (A1) avec fragment (A2) et pont (A3), multipolaire et pont (B2), fragment (B1) et stickness (B3), stickness (C1, C2), c-mitose (D1), stickness (D2) et fragment (D3), stickness (E1, E4) et multipolaire (E2, E3), micro-noyau (F1), c-mitose (G1), stickness (H1, H2). Après 12 h et 24 h de traitement. Barre d'échelle = 0,5 µm.



**Figure 34.** Photomicrographies montrant les différentes ACs induites par différentes concentrations de TT (mg/mL) dans les cellules de l'extrémité des racines de *V. faba* : stickness (A1) et vagabond (A2), stickness (B1, B2), multipolaire (C1) et multipolaire avec fragment (C2), stickness (D1) et vagabond (D2), multipolaire avec pont (E1), fragment (F1, F2, F3), c-mitose (G1) et stickness (G2, G3), micro-noyau (H1). Après 12 h et 24 h de traitement. Barre d'échelle = 0,5 µm.

Différents types d'ACs ont été observés à tous les traitements. Il y a une augmentation significative des ACs (%) à partir de la concentration de 0.025 mg/mL. Elle a également produit une ségrégation chromosomique aberrante, entraînant des anomalies multipolaires, de fragment, de stickness, de vagabond, de pont, de c-mitose et de micro-noyau. Des résultats similaires ont été rapportés par **Anita Sharma et al. (2019)**, qui ont étudié les effets de l'extrait de *H. suaveolens* sur des cellules de racines de l'*A. cepa*. De plus, **Sabeen et al. (2020)** ont suggéré que les ACs sont causées par une protéolyse et un blocage de la synthèse de l'ADN.

L'analyse des données a montré que les anaphases multipolaires étaient les ACs les plus courantes. Selon **Khallef et al. (2019)**, les instabilités du fuseau mitotique peuvent produire la multipolarité des anaphases, et **Sabeen et al. (2020)** suggèrent que les ACs comme le fragment et les ponts chromosomiques, indiquent une activité clastogène. Cependant, stickness, qui entraîne la mort cellulaire, peut être causée par une condensation chromosomique excessive ou une biosynthèse inappropriée des nucléoprotéines. **Khallef et al. (2019)** indiquent que la multipolarité en anaphase peut indiquer une instabilité du fuseau mitotique. Cependant, les fragments et les ponts chromosomiques indiquent une activité clastogène (**Sabeen et al., 2020**).

Cette étude a trouvé typiquement les fragments chromosomiques et le stickness. **Kuchy et al. (2015)** suggèrent qu'une condensation chromosomique ou une production de nucléoprotéines excessives peuvent provoquer des stickness. Une autre anomalie notable était le vagabond chromosomique. Cette aberration peut être causée par une mauvaise distribution des chromosomes pendant l'anaphase (**Fiskesjo, 1985**). La c-mitose et le micro-noyau étaient rares et leur présence peut être due à l'incapacité de l'appareil fusiforme à s'organiser et à fonctionner de manière appropriée (**Rosculete et al. 2019**).

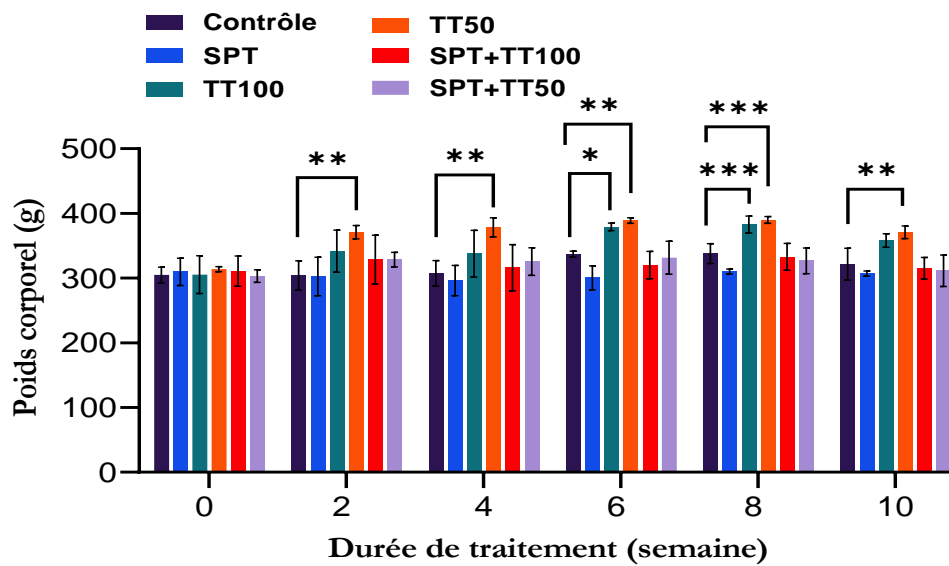
### 3. Etude biologique *in vivo*

#### 3.1. Evaluation du poids corporel

Le **Tableau 14** et la **Figure 35** présentent les données relatives aux variations de poids corporel obtenues dans notre étude. Au début de l'expérience, les pigeons avaient un poids corporel moyen de  $309.20 \pm 14.41$  g. Nous avons constaté une augmentation significative ( $P < 0.001$ ) du poids corporel chez les groupes ayant reçu les doses de 50 mg/kg et de 100 mg/kg de TT par rapport au contrôle. Cependant, à partir de la quatrième semaine, une diminution du poids corporel a été observée chez les pigeons traités avec le SPT par rapport au contrôle.

**Tableau 14.** Variation du poids corporel (g) de différents groupes traités pendant 10 semaines consécutives sous une longue photopériode (19L :5D).

Durée Semaines	n	Variation du poids corporel (g) (M±SD)					
		Lots expérimentaux					
		Contrôle	SPT	TT 100	TT 50	SPT+TT100	SPT+TT50
0	5	304.8 ± 12.29	309.8 ± 21.15	305.4 ± 29.27	313.8 ± 3.83	310.8 ± 23.27	303 ± 9.64
2	5	304 ± 22.61	302.6 ± 29.71	341.6 ± 32.60	371 ± 10.24	328.6 ± 37.85	328.6 ± 11.14
4	5	307.4 ± 19.57	296.2 ± 23.53	337.6 ± 36.11	378.4 ± 14.89	316 ± 35.69	325.6 ± 21.36
6	5	337 ± 4.52	300.4 ± 18.58	379.2 ± 5.84	389 ± 4.18	320.2 ± 21.21	331.6 ± 25.41
8	5	338 ± 15.28	310,2 ± 3.70	382.8 ± 13.19	389.8 ± 5.11	332.8 ± 20.75	326.8 ± 19.86
10	5	321.6 ± 24.67	307 ± 3.80	358 ± 10.36	370.8 ± 9.73	315.4 ± 16.60	311.4 ± 24.31



**Figure 35.** Variation du poids corporel (g) du contrôle et de différents groupes de pigeons (n=5) traités pendant 10 semaines consécutives sous une longue photopériode (19L :5D). Valeurs = Moyenne ± SD. Les significations statistiques sont indiquées par des astérisques (\*\*P< 0.01 et \*\*\*P< 0.001), en utilisant un test de Tukey et une ANOVA à sens unique.

La surveillance du poids corporel est couramment utilisée comme un indicateur de la santé générale des oiseaux. Les résultats de notre étude ont révélé une diminution non significative du poids corporel des pigeons exposés au SPT par rapport au contrôle.

Des résultats similaires ont été obtenus par **Alarcán et al. (2020)** chez des rats Wistar exposés à différentes doses d'imazalil, de thiaclopride et de clothianidine pendant 28 jours, ainsi que dans d'autres études menées sur des rats exposés à des carbamates, où une diminution significative du poids corporel a été observée (**El-Demerdash et al., 2004**). **Mossa et al. (2015)** ont également indiqué que l'exposition à plusieurs pesticides peut entraîner une perte de poids corporel, principalement due à une réduction de la masse grasse suivie d'une réduction de la masse maigre.

L'acétyl-CoA carboxylase (ACC) joue un rôle essentiel dans la biosynthèse des acides gras en convertissant l'acétyl-CoA en malonyl-CoA, ce qui représente la première étape de cette voie métabolique. En inhibant cette enzyme, la synthèse des acides gras peut être réduite tout en augmentant l'oxydation des acides gras (**Harwood, 2005**). Selon nos résultats, la diminution du poids corporel observée chez les pigeons exposés au SPT pourrait être due à l'inhibition de l'acétyl-CoA carboxylase induite par cette substance (**Gong et al., 2016**). D'autres études ont également montré que l'inhibition de l'ACC peut réduire la masse grasse et entraîner une perte de poids (**Harwood, 2005**). Cependant, notre étude a également montré que l'administration de TT entraînait une augmentation significative du poids corporel, en accord avec les résultats de plusieurs autres études menées sur des rats (**Gautaman et al., 2003; Bashir et al., 2009, et Abadjieva et al., 2019**). Ces résultats suggèrent que l'effet androgénique du TT peut stimuler l'appétit, et que cette amélioration est renforcée par l'effet protecteur du TT contre la toxicité induite par le SPT (**Abadjieva et al., 2019**).

### **3.2. Impact du traitement sur la reproduction saisonnière**

Depuis les années 1950, les insecticides de synthèse ont été largement utilisés à travers le monde. L'utilisation intensive et persistante de produits chimiques a entraîné une contamination progressive de l'environnement. De nombreuses études menées ces dernières années ont révélé la présence de pesticides dans divers milieux, notamment les aliments, l'eau, le sol et l'air, ce qui indique que l'ensemble de la population est fréquemment exposé à des produits chimiques d'origines diverses (**Rety et al., 2012 ; Schummer et al., 2012**). Les pesticides peuvent perturber le système endocrinien, et sont associé à divers effets nocifs sur la santé, notamment les maladies neurologiques, le cancer, et les anomalies de la reproduction (**Mostafalou et Abdollahi, 2013**). La toxicité de la reproduction en général est attribuée aux agents environnementaux ou aux xénobiotiques, tels que les pesticides (**Risk, 1996**). Cette toxicité de la reproduction peut s'exprimer par des modifications des fonctions reproductives tel que l'apparition de défauts de natalité, réduction de la capacité de fécondation, infertilité et altération du développement (**Collotta et al., 2013**). SPT est un nouvel insecticide dérivé de l'acide tétronique mis au point pour lutter contre les cochenilles et les pucerons (**Zhang et al., 2020**). Des recherches antérieures ont conclu que l'exposition au SPT causait des dommages aux gonades, des altérations du système endocrinien et une réduction du taux de croissance (**Zhang et al., 2020b**).

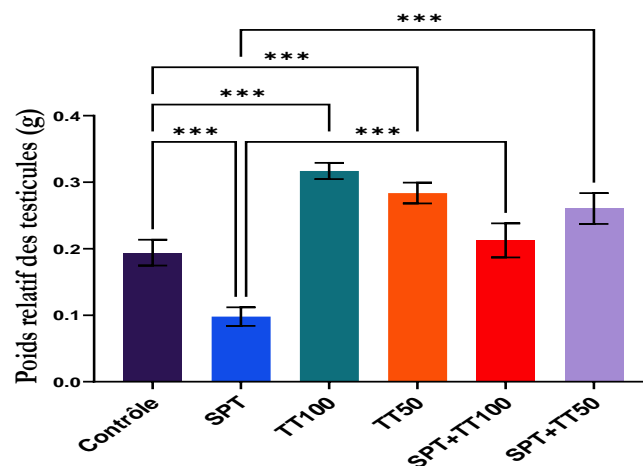
Ainsi, l'objectif principal de cette étude était d'analyser les effets protecteurs de l'extrait hydrométhanolique de TT contre la toxicité reproductive induite par SPT chez les pigeons mâles. Pendant une période de dix semaines consécutives et sous une longue photopériode, plusieurs paramètres ont été évalués, notamment le poids corporel, le volume testiculaire, le poids relatif testiculaire, les taux sériques des hormones sexuelles (FSH, LH et testostérone), les taux plasmatiques de certains paramètres lipidiques (cholestérol total, HDL-C, LDL-C et TG) ainsi que l'étude histopathologique des testicules. L'analyse de ces paramètres est cruciale pour détecter toutes lésions testiculaires et toute perturbation du système endocrinien chez les pigeons traités.

### 3.2.1. Variation du poids relatif testiculaire

Le changement du poids relatif testiculaire a été évalué à la fin de notre étude et présentées dans le **Tableau 15** et la **Figure 36**. Nos résultats ont démontré une augmentation significative ( $P < 0.001$ ) de la masse relative des testicules chez les animaux traités avec les doses de TT (TT100 mg/kg et TT50 mg/kg) en comparaison avec le contrôle. Cependant, SPT a significativement réduit le poids relatif des testicules ( $P < 0.001$ ) en comparaison avec le groupe témoin. Néanmoins, la supplémentation avec TT (TT100 mg/kg et TT50 mg/kg) chez les pigeons exposés au SPT a significativement rétabli ( $P < 0.001$ ) la masse testiculaire abaissée par SPT.

**Tableau 15.** Variation du poids relatif testiculaire du contrôle et de différents groupes traités pendant 10 semaines consécutives sous une longue photopériode (19L :5D).

Organe	n	Poids relatif testiculaire (g/100g PC)					
		Lots expérimentaux					
		Contrôle	SPT	TT 100	TT 50	SPT+TT100	SPT+TT50
<b>Testicules</b>	5	0.19 ± 0.01	0.097 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.28 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.26 ± 0.02



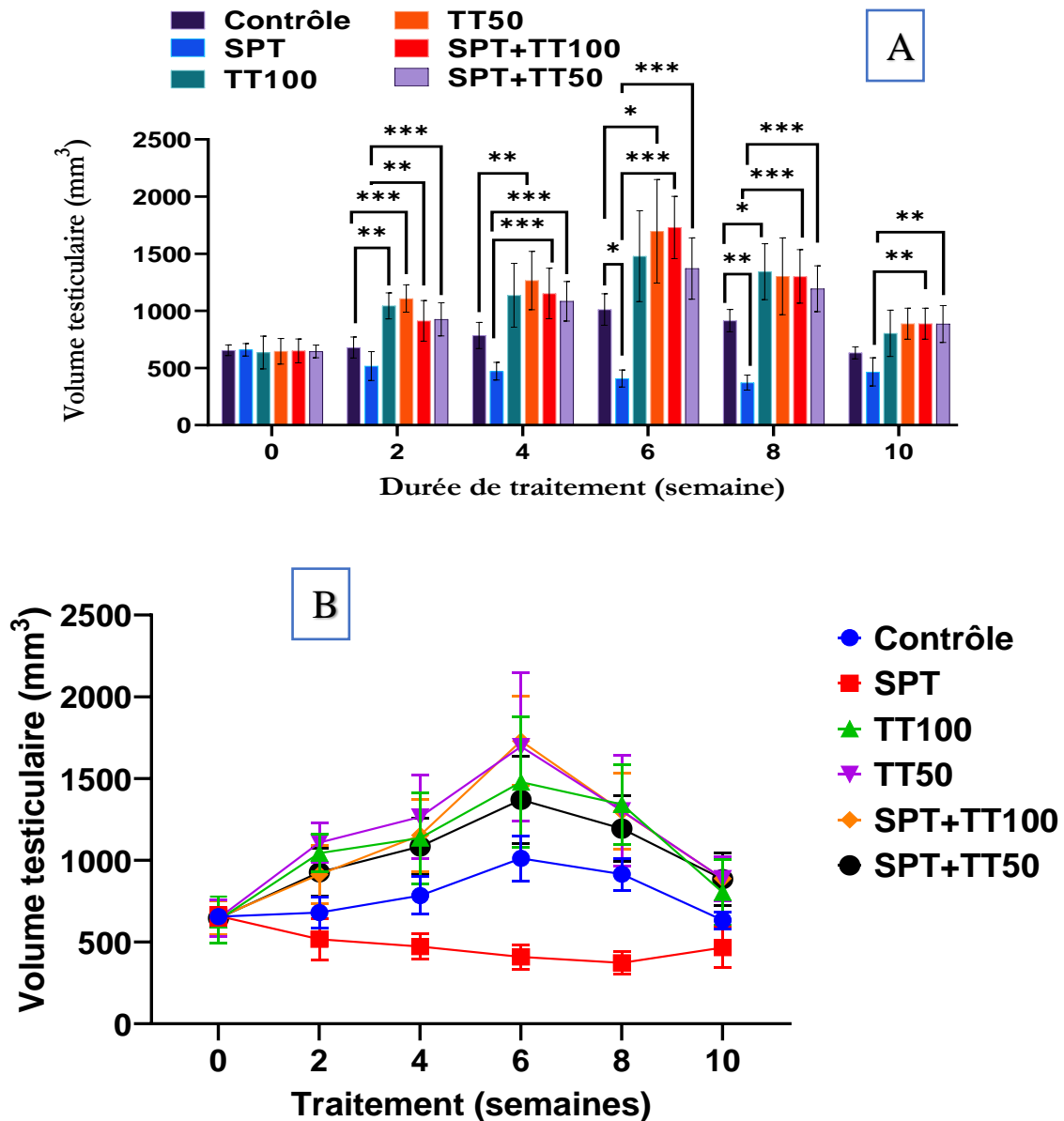
**Figure 36.** Effet de SPT et TT sur le poids des testicules (g) après 10 semaines consécutives de traitement (n=5) sous une longue photopériode (19L :5D). Les significations statistiques sont indiquées par des astérisques (\*\*P< 0.001), en utilisant un test de Tukey et une ANOVA à sens unique.

### 3.2.2. Variation du volume testiculaire

Le **Tableau 16** et la **Figure 37** présentent l'évolution du volume testiculaire tout au long de notre étude, après une longue photopériode artificielle (19L :5D). Au début de l'étude, le volume testiculaire moyen initial des pigeons était de  $648.5 \pm 85.12 \text{ mm}^3$ . Les pigeons contrôles ont achevé leur cycle de reproduction de six semaines avec un volume testiculaire plus élevé de  $1011,76 \text{ mm}^3$ . Les groupes traités avec 100 mg et 50 mg de TT ont montré une augmentation hautement significative ( $P < 0,01$  et  $P < 0,001$ , respectivement) du volume testiculaire par rapport au contrôle. En revanche, les pigeons exposés au SPT ont montré une réduction significative du volume testiculaire. Cependant, l'administration de TT combinée au SPT a significativement augmenté le volume testiculaire ( $P < 0,001$ ).

**Tableau 16.** Variation du volume testiculaire ( $\text{mm}^3$ ) chez les pigeons du contrôle et des groupes traités au cours 10 semaines consécutives de traitement et sous une longue photopériode (19L :5D).

Durée (Semaines)	n	Variation de volume testiculaire ( $\text{mm}^3$ ) (M $\pm$ SD)					
		Lots expérimentaux					
		Contrôle	SPT	TT 100	TT 50	SPT+TT100	SPT+TT50
0	5	654.82 $\pm$ 46.85	659.67 $\pm$ 54.87	635.01 $\pm$ 143.16	646.14 $\pm$ 111.19	650.02 $\pm$ 104.33	645.35 $\pm$ 55.82
2	5	679.87 $\pm$ 92.18	517.16 $\pm$ 125.91	1044.14 $\pm$ 113.4	1108.48 $\pm$ 120.14	912.55 $\pm$ 177.93	926.28 $\pm$ 144.74
4	5	783.95 $\pm$ 114.86	472.09 $\pm$ 77.04	1135.75 $\pm$ 279.06	1265.46 $\pm$ 255.78	1152.44 $\pm$ 220.22	1084.29 $\pm$ 172.65
6	5	1011.75 $\pm$ 137.28	408.36 $\pm$ 74.65	1478.45 $\pm$ 397.17	1695.40 $\pm$ 453.02	1729.85 $\pm$ 272.66	1370.47 $\pm$ 267.86
8	5	915.10 $\pm$ 97.5	372.47 $\pm$ 66.57	1342.33 $\pm$ 244.83	1302.83 $\pm$ 336.98	1300.87 $\pm$ 234.05	1193.55 $\pm$ 201.03
10	5	632.85 $\pm$ 53.31	465.51 $\pm$ 123.19	803.70 $\pm$ 202.82	887.51 $\pm$ 135.91	887.51 $\pm$ 135.91	885.04 $\pm$ 162.23



**Figure 37.** Variation du volume testiculaire (mm<sup>3</sup>) (A et B) de contrôle et de différents groupes de pigeons (n=5) traités pendant 10 semaines consécutives sous une longue photopériode (19L :5D). Valeurs = Moyenne  $\pm$  SD. Les significations statistiques sont indiquées par des astérisques (\*P < 0.05, \*\*P < 0.01 et \*\*\*P < 0.001), en utilisant un test de Tukey et une ANOVA à sens unique.

L'analyse du volume et du poids relatif des testicules est cruciale pour évaluer la santé sexuelle et reproductive des pigeons traités, étant donné que l'exposition aux pesticides entraîne généralement une diminution du poids des organes chez les animaux (Dutta et Sahu, 2013). Cela explique les résultats obtenus dans notre étude, qui ont montré une réduction significative du volume et du poids testiculaire chez les pigeons exposés au SPT par rapport au contrôle. Selon Ruiz-Olvera *et al.* (2018), la spermatogenèse, la taille des testicules, la production de spermatozoïdes et d'hormones sont étroitement liées. Les cellules de Sertoli qui tapissent les

tubules séminifères représentent également 90% du tissu testiculaire (**Stewart et al., 2009**). Le volume du parenchyme testiculaire est associé au nombre de cellules de Leydig, qui produisent la testostérone, ainsi qu'au nombre de cellules de Sertoli qui régulent la formation des spermatozoïdes (**Rua et al., 2017**).

Selon l'étude actuelle, une exposition de dix semaines au SPT a entraîné une diminution de la taille et du poids relatif des testicules, ainsi qu'une perturbation du cycle de reproduction, par rapport au contrôle. Ces résultats sont conformes à une étude antérieure (**Zhang et al., 2020**), qui a montré une diminution du volume testiculaire après une exposition au SPT. Des études précédentes ont également rapporté une diminution de la masse testiculaire chez les pigeons traités avec du Propinèbe (0.2 g/L et 2 g/L) (**Slimani et al., 2014**), et avec du Manèbe à la dose de 1g/L (**Slimani et al., 2015**). Des facteurs environnementaux tels que la disponibilité de nourriture et la durée de la photopériode peuvent également affecter la croissance et la régression des gonades chez les oiseaux **Budki et al. (2009)**. Les résultats de cette étude suggèrent que l'exposition au SPT a altéré le développement des gonades et causé des lésions à ces dernières. La diminution de la taille et du poids relatif des testicules est due à la dégénérescence des cellules de Sertoli (**Damsgaard et al., 2016**), tandis que le stress oxydatif sur ces cellules peut réduire leur nombre, ce qui entraîne des testicules plus petits (**Arafa et al., 2019**). D'autres recherches ont mis en évidence les effets perturbateurs des pesticides sur les fonctions gonadiques, surrénaliennes et thyroïdiennes (**Diamanti-Kandarakis et al., 2009; Fraites et al., 2009; Pandey et al., 2017**). Selon **Rey (2014)** et **Sadov et al. (2016)**, SPT agit comme les Dithiocarbamates, pouvant potentiellement altérer le système endocrinien et affecter le développement, le métabolisme et la reproduction.

Dans cette étude, le traitement avec TT et la supplémentation en TT aux pigeons exposés au SPT ont augmenté significativement le volume testiculaire et le poids relatif testiculaire. Ces résultats sont compatibles avec les résultats de **Neylanne et al. (2015)** et **Bashir et al. (2009)** concernant l'augmentation du poids des testicules, de la longueur totale des tubes, du volume tubulaire et de la hauteur de l'épithélium séminifère chez les rats traités avec des extraits de TT. Les résultats ainsi obtenus suggèrent qu'ils sont liés aux caractéristiques androgéniques du TT. Par ce que, en plus du développement des organes reproducteurs, les androgènes sont essentiels à la croissance et à la différenciation des tissus et sont nécessaires au développement de la puberté testiculaire (**Bagatell et Bremner, 1996**).

### 3.2.3 Evaluation du taux de la Testostérone (T), de l'FSH, et l'LH

Le **Tableau 17** et la **Figures 38** montrent l'effet du TT et SPT sur les taux sériques de la testostérone, du FSH, et du LH chez les pigeons males traités à différentes doses sous une longue photopériode artificielle (19L :5D) pendant dix semaines consécutives.

#### 3.2.3.1. Testostérone

Les groupes traités avec des doses de 100 mg/kg et de 50 mg/kg de TT ont montré une augmentation hautement significative ( $P < 0.001$ ) de la concentration de testostérone par rapport au contrôle. En revanche, les pigeons exposés à SPT ont subi une diminution hautement significative ( $P < 0.001$ ) du taux sérique de testostérone. Cependant, l'administration combinée de TT100 et TT50 mg/kg avec SPT 15 mg/kg a rétabli le taux sérique de testostérone abaissé par SPT.

#### 3.2.3.2. FSH

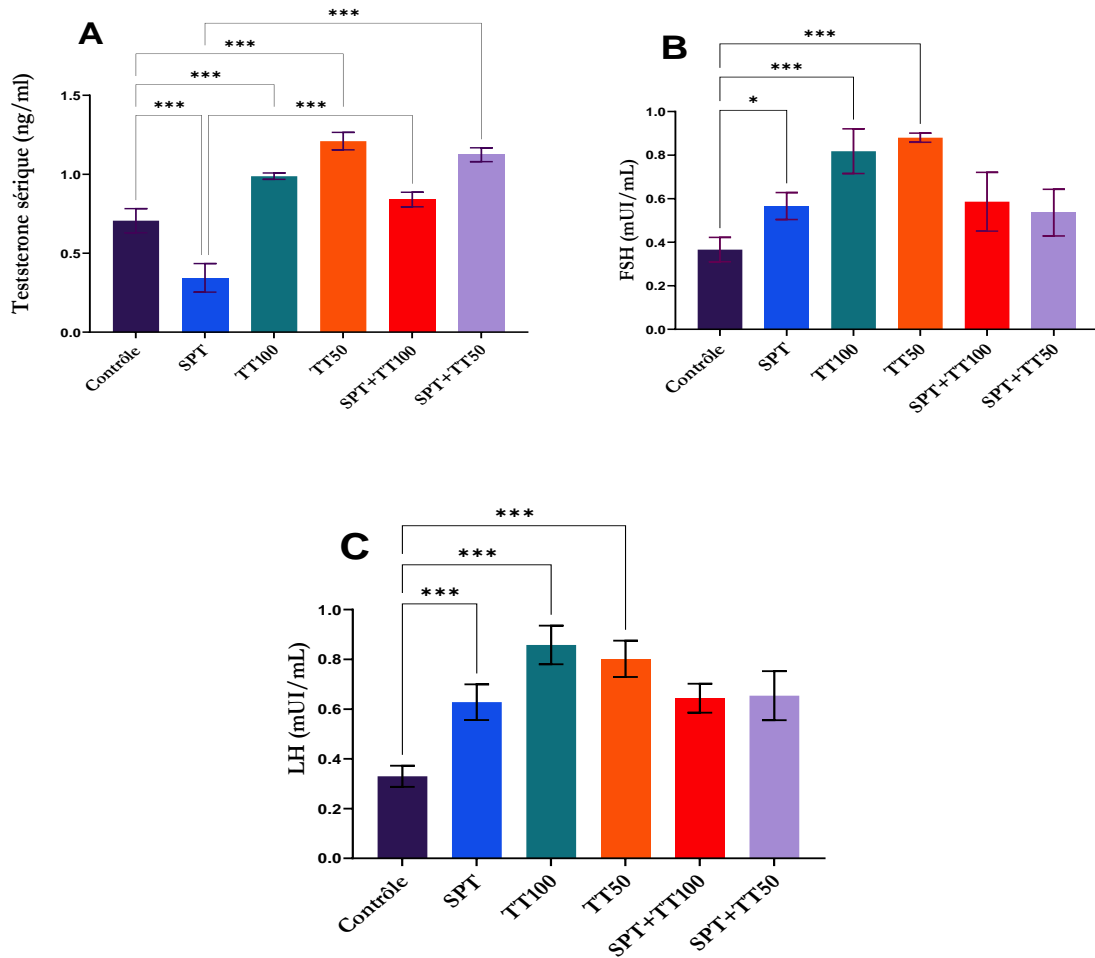
Les résultats de notre étude ont montré une augmentation significative ( $P < 0.001$  et  $P < 0.05$ ) du taux plasmatique en hormone folliculostimulante (FSH) chez les pigeons traités respectivement avec TT et SPT par rapport au contrôle.

#### 3.2.3.3. LH

Les données recueillies au cours de notre recherche révèlent une hausse extrêmement significative ( $P < 0.001$ ) du taux de LH chez les pigeons ayant reçu TT100 mg/kg, TT50 mg/kg et SPT 15 mg/kg par rapport au contrôle.

**Tableau 17.** Variation du T, FSH, et LH du contrôle et de différents groupes traités pendant 10 semaines consécutives sous une longue photopériode (19L :5D).

Paramètres	n	Lots expérimentaux (M ± SD)					
		Contrôle	SPT	TT 100	TT 50	SPT+TT100	SPT+TT50
T (ng/mL)	5	0.70 ± 0.76	0.34 ± 0.9	0.98 ± 0.02	1.21 ± 0.05	0.84 ± 0.04	1.12 ± 0.04
FSH (mUI/mL)	5	0.36 ± 0.05	0.56 ± 0.06	0.81 ± 0.1	0.88 ± 0.02	0.58 ± 0.13	0.53 ± 0.1
LH (mUI/mL)	5	0.33 ± 0.04	0.62 ± 0.07	0.85 ± 0.07	0.80 ± 0.07	0.64 ± 0.05	0.65 ± 0.09



**Figure 38.** Effet du SPT et TT sur (A) : l'hormone folliculostimulante (FSH), (B) : l'hormone lutéinisante (LH), (C) : la testostérone sérique après 10 semaines de traitement consécutif (n=5) soumis à une longue photopériode (19L :5D). Valeurs = Moyenne  $\pm$  SD. Les significations statistiques sont indiquées par des astérisques (\*P < 0.05 et \*\*\*P < 0.001), en utilisant un test de Tukey et une ANOVA à sens unique.

La testostérone est une hormone stéroïde produite dans les cellules de Leydig dans les testicules sous l'influence des hormones folliculostimulantes (FSH) et lutéinisantes (LH). Il est impliqué dans la dysfonction érectile causée par le stress réactif des espèces d'oxygène (ROS) (Sheweita *et al.*, 2015).

Par rapport au contrôle, les taux de testostérone du groupe SPT ont diminué significativement dans cette étude. En raison du nombre de pesticides liés à la toxicité testiculaire, il est possible que SPT a interféré avec la fonction testiculaire indirectement ou directement en perturbant les activités hypothalamiques ou hypophysaires (Recio *et al.*, 2005; Mitra et Maitra, 2018).

Des recherches antérieures ont révélé que l'exposition au SPT endommage les tissus des testicules, ce qui pourrait avoir une incidence sur la production de testostérone (**Zhang et al., 2020**). De plus, **Zhang et al. (2020)** ont démontré que l'exposition au SPT pouvait réduire le taux plasmatique de l'estradiol-2, de la testostérone, de la 11-cétéstostérone et à de nombreux autres gènes, y compris le gène *hsd* impliqué dans la production de testostérone, qui est devenu inactif après l'exposition au SPT. Il est connu que la production de testostérone dépend de la disponibilité du cholestérol ; nous avons pensé que l'influence indirecte de la SPT sur la biosynthèse de la testostérone, où elle inhibe l'activité de l'acétyl-CoA carboxylase, était à l'origine de l'augmentation du taux de testostérone. Cette enzyme convertit l'acétyl-CoA en malonyl-CoA, la première étape de la biosynthèse du cholestérol.

La production de spermatozoïdes chez les hommes nécessite la FSH, la LH et la signalisation cellulaire Sertoli/Leydig (**Dandona et Rosenberg, 2010**). Selon **Wingfield et Farner (1993)**, une augmentation de la photopériode peut améliorer la production de la GnRH, ce qui augmente la sécrétion de gonadotrophine, ainsi que la sécrétion des hormones de maturation gonadiques telles que la LH et la FSH. Nos résultats sont en accord avec **Zhang et al. (2020)**, qui ont également observé une augmentation significative de la FSH et de la LH chez les rats exposés au SPT. Nous avons également constaté une augmentation significative des taux de FSH et de LH chez les pigeons exposés au SPT. Les pesticides ont été démontrés pour perturber les fonctions gonadiques, surrénaliennes et thyroïdiennes (**Diamanti-Kandarakis et al., 2009; Slimani et al., 2011; 2014; Pandey et al., 2017**). Nos résultats suggèrent que la diminution du taux de testostérone causée par le SPT peut influencer la sécrétion de FSH et de LH. De plus, des déficiences dans le développement testiculaire peuvent entraîner une faible concentration de testostérone et des niveaux élevés de LH et de FSH (**Dandona et Rosenberg, 2010**).

Dans l'étude actuelle, le traitement avec les deux doses d'extraits de TT a augmenté significativement les taux de testostérone, de FSH et de LH par rapport au contrôle. De plus, le traitement combiné TT + SPT a rétabli considérablement la forte diminution du taux sérique de la testostérone induite par SPT. Les résultats de notre étude sont similaires à celles rapportées par **Shalaby et Hammouda, (2014), Pavin et al., (2018), Sanagoo et al., (2019) et (Kamenov et al., 2017)**, qui ont observé une augmentation de la testostérone, de la FSH et de la LH suite au traitement avec TT. Nos résultats suggèrent que l'extrait de TT possède des propriétés antioxydantes (comme démontré par **Amin et al. (2006)**) et des effets aphrodisiaques qui pourraient stimuler la synthèse de la testostérone (**Gauthaman et al., 2003**). En outre, selon

(Gauthaman et Ganesan (2008), TT est capable de protéger les cellules de Sertoli en augmentant la synthèse de testostérone dans les testicules. De plus, il a été observé chez les rats mâles que le TT stimule naturellement la sécrétion de LH, ce qui entraîne une augmentation de la production de testostérone et améliore ainsi leur fonction reproductrice, comme l'ont rapporté (Adimoelja, 2000; Shalaby et Hammouda, 2014). Des études ont également montré que les extraits méthanoliques de TT augmentent la synthèse de LH, ce qui améliore la fonction et le nombre de cellules de Leydig (Sharma *et al.*, 2020).

Avec sa teneur élevée en saponine, TT a la capacité de stimuler la production accrue de LH par l'hypophyse. Étant donné que la LH stimule la synthèse de la testostérone, il est possible que cela améliore la production de sperme, la fonction érectile et la satisfaction sexuelle (YJ *et al.*, 2001).

### 3.3. Effet du traitement sur le profil lipidique

La concentration des paramètres lipidiques CT, HDL-C, LDL-C et TG sont des biomarqueurs importants étudiés dans la présente recherche pour indiquer les altérations du métabolisme des lipides. Les TG constituent également une classe majeure de lipides neutres (Tocher, 2003). Le cholestérol est un lipide important *in vivo* (Beppu *et al.*, 2012). Sa biosynthèse a lieu principalement dans le foie, comme le plus commun des composés hydrocarbonés tétracycliques, existe en tant que composant essentiel des membranes cellulaires, assure la protection des lipides membranaires (Zang *et al.*, 2018) et essentiel pour le transport et la transduction des signaux entre les cellules (Mu *et al.*, 2018) ou sous une forme de stockage de lipides neutres estérifiés à un acide gras (Kojima *et al.*, 2009).

Dans la présente étude, la variation des taux plasmatiques du CT, HDL-C, LDL-C et TG des pigeons traités pendant dix semaines sous une longue photopériode (19L :5D) est présentée dans le **Tableau 18** et illustrée dans la **Figure 39**.

#### 3.3.1. Cholestérol-totale (CT) et HDL

Nos résultats démontrent une élévation significative ( $P < 0.001$ ) des taux de cholestérol total (CT) et de lipoprotéines de haute densité (HDL-C) chez les pigeons traités avec 15 mg/kg de SPT par rapport au contrôle. Toutefois, chez les pigeons ayant reçu les combinaisons TT100 + SPT et TT50 + SPT, une baisse significative des taux de CT et de HDL-C a été observée par

rapport au groupe traité uniquement avec SPT. Ces résultats sont exposés dans le **Tableau 18** et illustrés par la **Figure 39**.

### 3.3.2. LDL

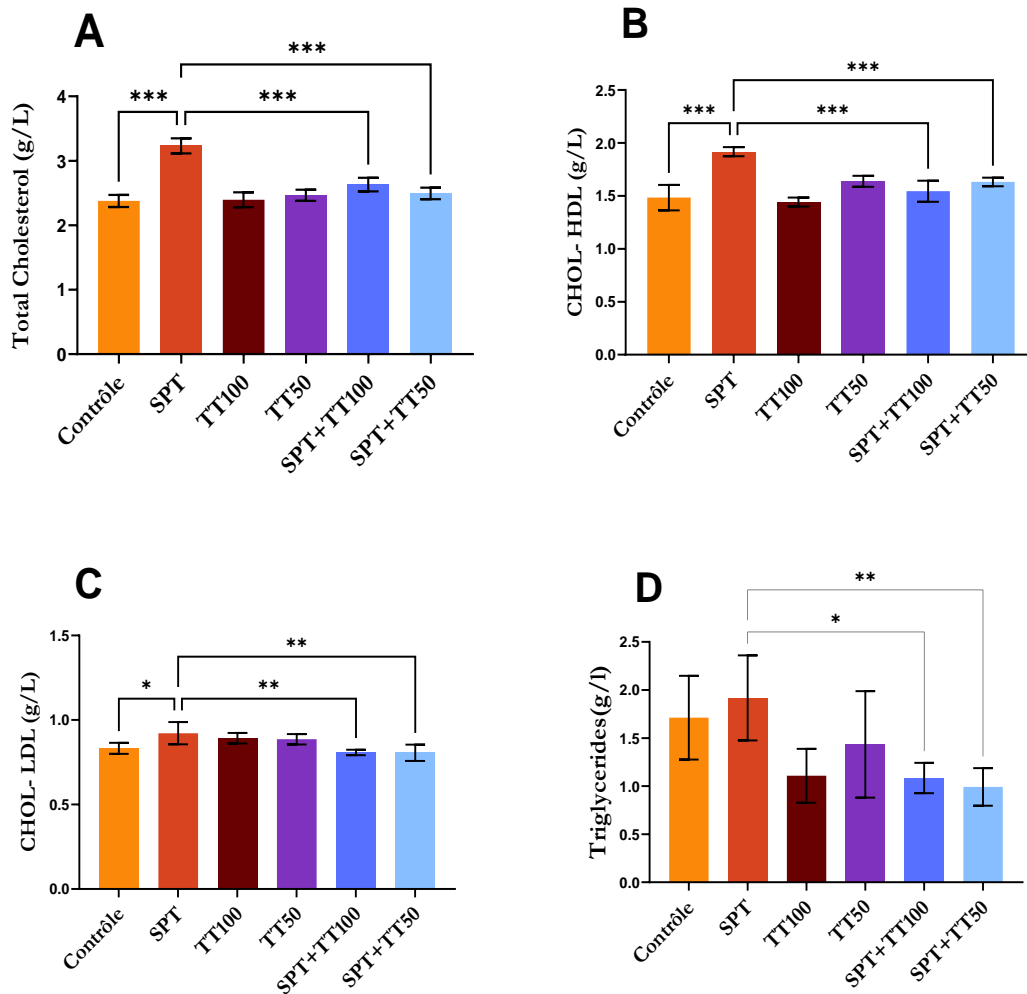
Selon nos résultats, une exposition au SPT a entraîné une augmentation très significative ( $P < 0.001$ ) de la concentration plasmatique de LDL-C chez les pigeons traités, comparativement au contrôle. Toutefois, une diminution hautement significative ( $P < 0.01$ ) du taux de LDL-C a été observée chez les groupes ayant reçu les combinaisons de TT100 + SPT et TT50 + SPT, par rapport au groupe exposé uniquement au SPT. Ces constatations sont illustrées dans le **Tableau 18** et la **Figure 39**.

### 3.3.3. Triglycérides (TG)

D'après nos résultats, il y a eu une diminution significative des triglycérides chez les pigeons ayant reçu les combinaisons de TT100 + SPT et TT50 + SPT par rapport au groupe ayant été exposé uniquement à SPT (**Tableau 18** et **Figure 39**).

**Tableau 18.** Variation du taux des paramètres lipidiques (CT, HDL-C, LDL-C, et TRI) après 10 semaines consécutives de traitement sous une longue photopériode (19L :5D).

Paramètres (g/L)	n	Lots expérimentaux					
		Contrôle	SPT	TT 100	TT 50	SPT+TT100	SPT+TT50
<b>CHOL</b>	5	2.37 ± 0.09	3.23 ± 0.11	2.39 ± 0.11	2.46 ± 0.08	2.63 ± 0.10	2.49 ± 0.09
<b>HDL</b>	5	1.48 ± 0.05	1.91 ± 0.01	1.44 ± 0.01	1.63 ± 0.02	1.54 ± 0.04	1.63 ± 0.01
<b>LDL</b>	5	0.83 ± 0.03	0.92 ± 0.06	0.89 ± 0.03	0.88 ± 0.03	0.80 ± 0.01	0.80 ± 0.04
<b>TG</b>	5	1.71 ± 0.43	1.91 ± 0.44	1.10 ± 0.28	1.43 ± 0.55	1.08 ± 0.15	0.99 ± 0.19



**Figure 39.** Effet de SPT et TT sur (A) : le cholestérol total, (B) : le cholestérol-HDL, (C) : le cholestérol-LDL-C, et (D) : les triglycérides dans le plasma après 10 semaines consécutives de traitement (n=5) sous une longue photopériode (19L :5D). Valeurs = Moyenne  $\pm$  SD. Les significations statistiques sont indiquées par des astérisques (\*P < 0.05, \*\*P < 0.01 et \*\*\*P < 0.001), en utilisant un test de Tukey et une ANOVA à sens unique.

Plusieurs études ont montré que l'HDL-C est un substrat essentiel à la synthèse de la testostérone chez les rats (Charreau *et al.*, 1981; Chu *et al.*, 2003). Le cholestérol est également un précurseur de la synthèse des stéroïdes et est essentiel à la reproduction masculine (Yokoyama, 2000; Parton et Hancock, 2004). Des recherches antérieures ont établi une corrélation positive entre les taux de testostérone et de cholestérol dans le sérum de sanglier (Wise *et al.* (1993). Une étude récente a également montré que les faibles taux de testostérone peuvent causer une hypercholestérolémie sévère (Cai *et al.*, 2015).

Notre étude révèle que l'exposition au SPT a entraîné une augmentation significative des taux de CT, LDL-C, HDL-C et TG, tandis que le taux de testostérone diminue significativement. Ces résultats suggèrent que la toxicité du SPT inhibe indirectement la synthèse de la testostérone en inhibant l'activité de l'enzyme acétyl-CoA carboxylase, qui est impliquée dans la synthèse des acides gras, conduisant ainsi à l'accumulation de cholestérol dans le sang. Cependant, le traitement par TT n'a pas d'impact sur les taux de CT, LDL-C, HDL-C ou TG. En revanche, la supplémentation en TT chez les groupes exposés au SPT a montré une réduction significative de ces paramètres lipidiques. Des études antérieures, telles que celles menées par **Chu et al. (2003)**, **Altug et al. (2009)**, et **Hussain et al. (2009)**, ont également constaté que le TT pouvait diminuer les taux plasmatiques du CT et du TG. En outre, le Tribestan de TT a été utilisé avec succès pour réduire les taux de LDL-C et de TC chez les personnes atteintes de dyslipidémie (**Doncheva et al., 2006**). Les saponines de TT ont également été trouvées pour réguler le métabolisme des lipides (**Yang et al., 1999**) et l'hyperglycémie (**Li et al., 2002**). En outre, les saponines et les flavonoïdes de TT ont été rapportés pour inhiber les processus enzymatiques qui génèrent le cholestérol (**Lirette et al., 1993**). Ainsi, le TT peut être considéré comme un composé hypolipidémique important lorsque la SPT augmente les taux de TC, de LDL-C et de HDL-C.

### 3.4. Effet du traitement sur la fonction hépatorénale

Le foie et les reins ont des structures complexes où se déroulent diverses activités métaboliques, ce qui en fait les organes cibles de multiples produits chimiques tels que les médicaments et les xénobiotiques (**Cataudella et al., 2012**).

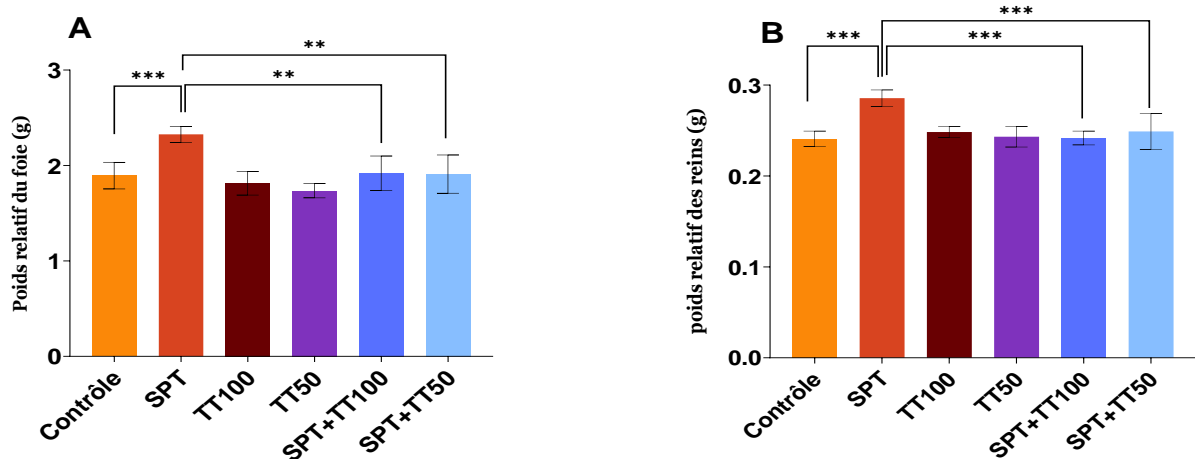
Le dysfonctionnement Réno-hépatique est l'un des éléments inévitables les plus importants lors de l'élimination des médicaments ou des xénobiotiques (**Cepa et al., 2018**). Les pesticides peuvent provoquer une toxicité pour les organes, des lésions tissulaires oxydatives, une perturbation endocrinienne, et une toxicité pour la reproduction (**Gaikwad et al., 2015**).

D'après les résultats bibliographiques, il est établi que la toxicité des pesticides et autres produits chimiques est imputable au stress oxydatif généré par les radicaux libres (**Abdollahi et al., 2004**). L'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induites par les pesticides ont été observées chez des rats albinos (**Benjamin et al., 2006**) et des souris albinos mâles (**Arfat et al., 2014**). Il est connu que les pesticides peuvent provoquer une cirrhose, une stéatose, une fibrose hépatique et une inflammation du foie (**Cataudella et al., 2012**). Toutefois, la néphrotoxicité

se manifeste par une diminution de la concentration urinaire, une tubulopathie avec protéinurie, une diminution de l'excrétion de l'ammonium, une baisse de la clairance de la créatinine, une réduction du taux de filtration glomérulaire, une élévation des taux plasmatique de la créatinine, ainsi que des modifications morphologiques des tissus rénaux (**Chinnala *et al.*, 2017**). SPT est un nouvel insecticide systémique foliaire à base d'acide tétramique, efficace contre les insectes piqueurs-suceurs tels que les pucerons, les psylles et les aleurodes (**Frank et Lebude, 2011**).

### 3.4.1. Evaluation du poids relatif du foie et des reins

Les données relatives au poids du foie et des reins ont été illustrées dans la **Figure 40**. Une augmentation significative ( $P < 0.001$ ) des poids moyens relatifs du foie et des reins des pigeons traités par SPT a été notée. Cependant, les poids relatifs des organes des groupes TT n'étaient pas significativement différents de ceux des pigeons témoins. Les Co-traitements SPT+TT abaissent significativement les poids relatifs des deux organes par rapport au groupe SPT.



**Figure 40.** Effet du SPT et du TT sur le poids relatif du foie (Moyenne  $\pm$  SD) (A) et des reins (B) de pigeons après dix semaines consécutives. Valeurs = Moyenne  $\pm$  SD. Les significations statistiques sont indiquées par des astérisques (\*\* $P < 0.01$  et \*\*\* $P < 0.001$ ), en utilisant un test de Tukey et une ANOVA à sens unique.

Au cours de cette étude, il a été observé une augmentation du poids relatif du foie et des reins chez des sujets exposés au SPT pendant 10 semaines. Ces résultats sont cohérents avec ceux **Abolaji *et al.*, (2017)**, qui ont constaté que l'exposition conjointe aux pesticides Chlorpyrifos et Carbendazime chez les rats a entraîné une diminution du gain de poids et une modification des poids relatifs des reins. **Shakeel *et al.* (2020)** ont également rapporté des

résultats similaires après l'application de l'insecticide Chlorpyrifos, qui peut entraîner une augmentation significative des poids absolus et relatifs du foie. De même, l'étude de **Silini et al. (2022)** sur les pesticides Deltaméthrine et Abamectin ainsi que leur mélange, ainsi que les résultats de **Shmani et al. (2021)** chez le pigeon (*Columba livia domestica*) exposé au fongicide Thiram ont révélé une augmentation des poids relatifs du foie et des reins. Selon **Mccormack (2009)**, le sang transporte les toxines vers des organes comme le foie et le rein après une exposition aux pesticides, dans lequel le rein a été trouvé comme un organe cible chez les rats à des doses moyennes et élevées et le foie à la dose la plus élevée. L'hypertrophie du foie chez les oiseaux exposés était une forte indication de l'hépatotoxicité du SPT (**Shakeel et al., 2020**).

L'augmentation significative du poids relatif des reins observée dans cette étude peut être expliquée par l'intoxication et l'accumulation du SPT, ce qui entraîne une augmentation de leur taille. Ce phénomène a été observé dans plusieurs études, telles que celles menées par **Karthikeyan et al. (2012)** ; **Lin et al. (2012)** et **Keshk et Katary (2016)**, qui ont montré que l'augmentation des poids absolus et relatifs des organes est un indicateur de toxicité résultant de l'exposition à des substances toxiques.

Les plantes sont couramment utilisées pour leurs propriétés curatives et préventives contre les troubles hépatiques, car elles présentent une activité antioxydante efficace contre les radicaux libres générés par les xénobiotiques, comme l'ont montré des études telles que celles menées par **Hussein et al., (2016)** et **Kahalerras et al. (2022)**. Dans cette étude, la co-administration de TT avec le SPT a permis de rétablir le poids du foie et des reins chez les pigeons exposés au SPT. Des résultats similaires ont été observés chez les rats, où la supplémentation en TT a réduit le poids des reins chez les rats exposés à la toxicité induite par la gentamicine (**Kilany et al., 2020**). De plus, le TT a protégé les animaux contre la néphrotoxicité induite par la cyclosporine (**El-Beih et al., 2017**) et contre l'hépatotoxicité induite par l'atrazine chez les poissons d'eau douce (**Nimavathi et al., 2021b**). Les effets protecteurs du TT sur les poids relatifs du foie et des reins des pigeons exposés au SPT peuvent être attribués à sa capacité à neutraliser les radicaux libres générés par le SPT.

### 3.4.2. Evaluation de l'activité des enzymes plasmatiques

#### 3.4.2.1. Aminotransaminases

Lorsqu'on compare au contrôle, on observe une augmentation significative de l'activité enzymatique des transaminases (ALAT et ASAT) chez les pigeons traités avec SPT, comme

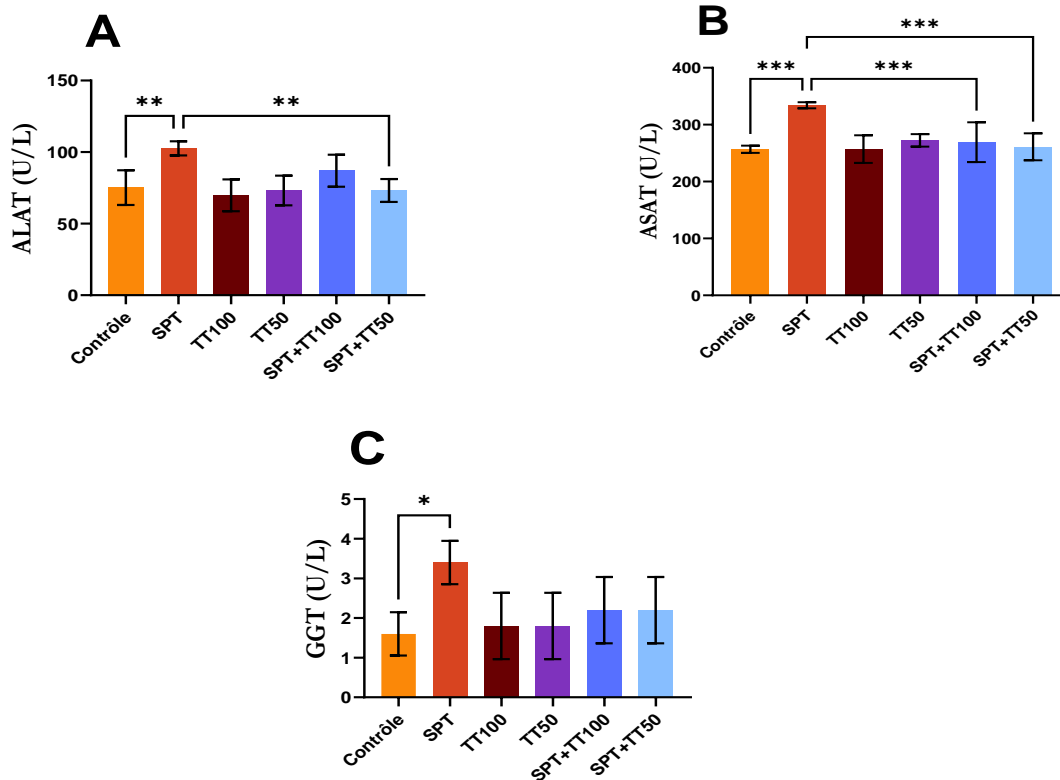
indiqué dans le **Tableau 19** et la **Figure 41**. Toutefois, la supplémentation avec TT a présenté une amélioration notable, car l'activité de l'ALAT et de l'ASAT a significativement diminué par rapport au groupe traité uniquement avec SPT.

### 3.4.2.2. GGT ( $\gamma$ -glutamyl transférase)

Nos résultats (tels que présentés dans le **Tableau 19** et la **Figure 40**) révèlent une augmentation significative ( $P < 0.05$ ) de l'activité enzymatique de la  $\gamma$ -glutamyl transférase (GGT) chez les pigeons exposés au SPT en comparaison avec le contrôle.

**Tableau 19.** Variation des taux plasmatiques des protéines totales, du glucose, et l'activité des enzymes plasmatiques (ALAT, ASAT, GGT).

Paramètres	n	Lots expérimentaux					
		Contrôle	SPT	TT 100	TT 50	SPT+TT100	SPT+TT50
ALAL (U/L)	5	75.2 $\pm$ 12.17	102.6 $\pm$ 4.93	69.8 $\pm$ 11.08	73.2 $\pm$ 10.35	87 $\pm$ 11.22	73.2 $\pm$ 8.01
ASAT (U/L)	5	256.8 $\pm$ 6.45	334.2 $\pm$ 5.35	257.2 $\pm$ 24.28	272.4 $\pm$ 10.88	269.2 $\pm$ 34.95	261.2 $\pm$ 23.72
GGT (U/L)	5	1.6 $\pm$ 0.54	3.4 $\pm$ 0.54	1.8 $\pm$ 0.83	1.8 $\pm$ 0.83	2.2 $\pm$ 0.83	2.2 $\pm$ 0.83



**Figure 41.** Effet du SPT et du TT sur les activités plasmatiques AST (A), ALT (B) et GGT (C) des pigeons mâles après dix semaines de traitement consécutives. Valeurs = Moyenne  $\pm$  SD. Les significations statistiques sont indiquées par des astérisques (\*P < 0.05, \*\*P < 0.01 et \*\*\*P < 0.001), en utilisant un test de Tukey et une ANOVA à sens unique.

Les résultats de notre étude montrent une élévation des activités enzymatiques de l'ALT, de l'AST et de la GGT chez des pigeons mâles traités avec SPT. Cette observation est similaire à celle de **Shakeel et al. (2020)**, qui ont signalé une élévation significative des activités de l'ALT, de l'AST et de l'ALP chez des pigeons (*Columba livia domestica*) exposés à l'insecticide Chlorpyrifos. De même, **Abu Zeid et al. (2019)**, ont constaté une augmentation significative des taux plasmatique d'ALT et de LDH dans le foie et le cerveau de pigeons bisets (*Columba livia domestica*) exposés à l'insecticide Imidaclopride. Ces résultats peuvent être associés à une fuite membranaire des enzymes hépatiques clés, car il a été démontré que la destruction et la nécrose des hépatocytes augmentent la perméabilité de la membrane cellulaire, entraînant ainsi une augmentation des activités aminotransférases plasmatiques (**Arfat et al., 2014**). En outre, les activités de l'ALT, de l'AST et de la GGT sont des indicateurs cruciaux d'insuffisance hépatique et d'hépatotoxicité chez les patients (**Abdel-Daim et al., 2013; Rjeibi et al., 2016**).

La toxicité du SPT chez les rats a peut-être provoqué la peroxydation des membranes lipidiques, car il a été démontré que les peroxydes provoquaient une altération rapide de la fonction et de la structure des membranes telles que celles des mitochondries, du réticulum endoplasmique et des lysosomes (**Toughan et al., 2018**). Il a été constaté que les cellules hépatiques endommagées ou enflammées pouvaient libérer davantage de métabolites et de substances, y compris des enzymes hépatiques, dans le sang (**Nimavathi et al., 2021**). **Ramaiah (2007)** a émis l'hypothèse que l'élévation plasmatique de ces enzymes était proportionnelle au degré de lésion et de nécrose des hépatocytes.

La médecine traditionnelle utilise des plantes médicinales pour leurs bienfaits préventifs et curatifs contre les troubles hépatiques. La plupart des plantes médicinales piègent les radicaux libres. D'autres plantes médicinales ont des activités antioxydantes variées, selon une étude menée par **Hussein et al. (2016)**. Le TT, qui possède des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anti-apoptose, est efficace pour traiter les troubles dégénératifs, selon une étude menée par **Tian et Cui (2019)**. Nos résultats d'évaluation de la fonction hépatique suggèrent que les pigeons traités par TT ont été protégés contre les lésions hépatiques induites par le SPT, en raison de la présence de différents composants, tels qu'une forte teneur en

polyphénols et de bonnes activités de piégeage des radicaux libres qui protègent les lésions de la membrane cellulaire et réduisent le stress oxydatif, selon l'étude menée par (**Reshma et al., 2015**).

Des études ont rapporté que le TT avait des effets bénéfiques similaires sur des souris traitées au mercure (**Sugunavarman et al., 2010**), des rats traités avec de la cyclosporine (**El-Beih et al., 2017**) et des poissons d'eau douce exposés à l'atrazine (**Nimavathi et al., 2021b**), en réduisant la néphrotoxicité, l'hépatotoxicité et en préservant l'intégrité des membranes cellulaires. En outre, **Cabrera et al. (2006)** et **Eagappan et al. (2015)** ont suggéré que les polyphénols présents dans le TT ont des propriétés antioxydantes qui peuvent stimuler la production d'enzymes antioxydantes dans les cellules. Les résultats obtenus chez les pigeons traités par SPT suggèrent que le TT a pu maintenir les taux d'enzymes hépatiques plasmatiques dans les limites normales et protéger contre la toxicité hépatique en préservant l'intégrité des membranes.

### **3.4.3. Evaluation des marqueurs biochimiques plasmatiques**

#### **3.4.3.1. Protéines totales**

Les résultats obtenus suggèrent que l'administration de SPT entraîne une augmentation significative ( $P < 0.001$ ) des taux de protéines totales dans le plasma. Cependant, l'administration des combinaisons TT100 + SPT et TT50 + SPT chez les pigeons a conduit à une amélioration significative ( $P < 0.01$ ) du taux de protéines totales dans le plasma, avec une diminution par rapport au groupe SPT (voir **Tableau 20** et **Figure 42**).

#### **3.4.3.2. Glucose**

En ce qui concerne la glycémie, notre étude a révélé que la supplémentation en doses de TT100 mg/kg et TT50 mg/kg chez les pigeons traités avec SPT15 mg/kg a entraîné une réduction significative du taux de glucose plasmatique ( $P < 0.001$ ) par rapport au groupe SPT (voir **Tableau 20** et **Figure 42**).

#### **3.4.3.3. Créatinine**

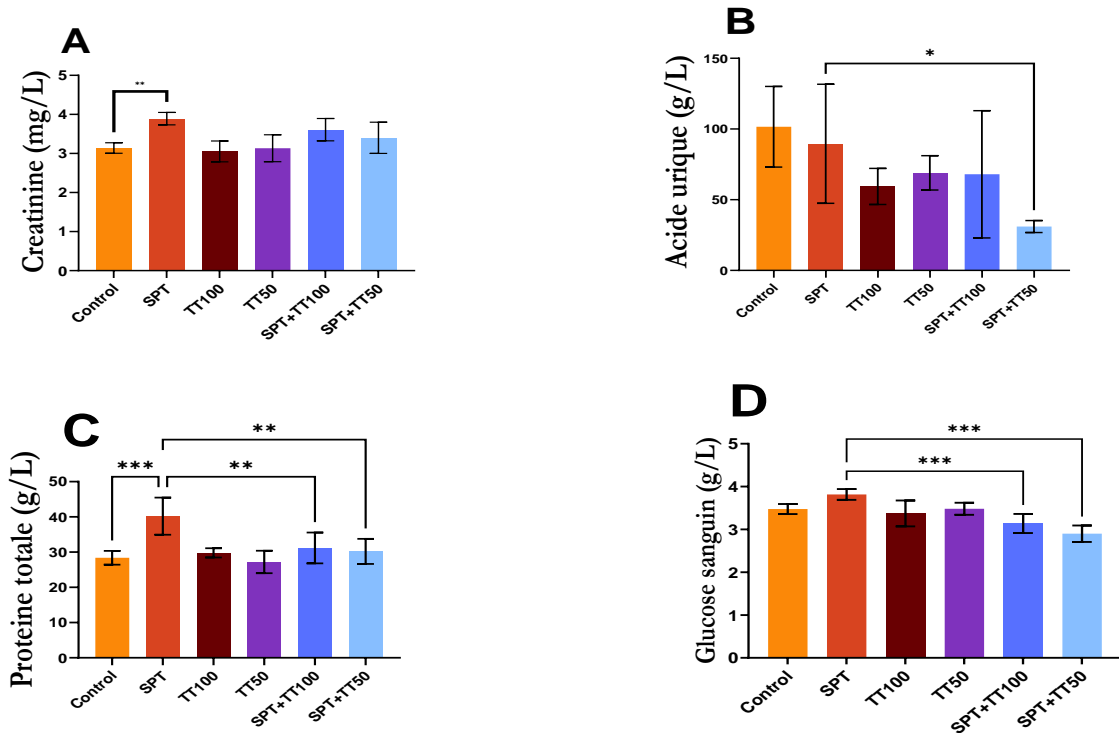
Les données recueillies (**Tableau 20**, **Figure 42**) indiquent une augmentation extrêmement significative ( $P < 0.01$ ) des niveaux plasmatiques de créatinine dans le groupe exposé au SPT par rapport au groupe témoin.

### 3.4.3.4. Acide urique

D'après l'analyse statistique des données présentées dans le **Tableau 20** et la **Figure 42**, il a été observé une diminution significative ( $P < 0.05$ ) du taux plasmatique d'acide urique chez les pigeons exposés au SPT et traités avec une dose de 50 mg/kg de TT. Aucune différence significative n'a été observée entre les autres groupes expérimentaux.

**Tableau 20.** Évolution de la concentration plasmatique de la créatinine, de l'acide urique, de protéines totales, et du glucose chez les différents groupes traités pendant une période de 10 semaine consécutive.

Paramètres	Lots expérimentaux					
	Contrôle	SPT	TT 100	TT 50	SPT+TT100	SPT+TT50
Créatinine (mg/L)	3.14 ± 0.13	3.89 ± 0.15	3.05 ± 0.26	3.13 ± 0.34	3.61 ± 0.28	3.40 ± 0.39
Acide urique (g/L)	101.6 ± 28.49	89.6 ± 42.1	59.4 ± 12.72	69 ± 12.12	68 ± 44.99	31 ± 4.24
Prot-Total (g/L)	28.4 ± 1.94	40.2 ± 5.26	29.8 ± 1.3	27.2 ± 3.19	31.2 ± 4.38	30.2 ± 3.56
Glucose (g/L)	3.47 ± 0.11	3.81 ± 0.12	3.37 ± 0.3	3.48 ± 0.14	3.13 ± 0.22	2.90 ± 0.19



**Figure 42.** Effet du SPT et TT sur les concentrations plasmatiques de la créatinine (A), l'acide urique (B), les protéines totales (C), et le glucose sanguin (D) des pigeons mâles après dix semaines de traitement consécutives. Valeurs = Moyenne ± SD. Les significations statistiques sont indiquées par des astérisques (\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  et \*\*\* $P < 0.001$ ), en utilisant un test de Tukey et une ANOVA à sens unique.

Cette étude suggère que la baisse de la concentration de protéines totales chez les pigeons exposés au SPT pendant 10 semaines pourrait résulter d'un dysfonctionnement

hépatique. Cette conclusion découle du fait que la plupart des protéines sanguines sont synthétisées dans le foie (**Yang et Chen, 2003**). Les hépatocytes pourraient être altérés, provoquant une perturbation de la synthèse des protéines, notamment de l'albumine (**Pahwa et Chatterjee, 1990**). Des études antérieures ont également suggéré que la réduction des taux de protéines totales chez les rats exposés au malathion pourrait être liée à une diminution des hépatocytes (**Elzoghby et al., 2014**).

Dans cette étude, les taux de créatinine plasmatique étaient plus élevés chez les pigeons exposés à la SPT pendant dix semaines, suggérant des altérations de la fonction rénale qui empêchent les oiseaux d'excréter ces métabolites potentiellement toxiques. Des élévations similaires ont été observées chez le pigeon (*Columba livia domestica*) exposé à l'insecticide Propoxur (**Azab et al., 2016**) et au fongicide Thiram (**Slimani et al., 2021**). Des recherches antérieures ont également révélé qu'une administration de Deltaméthrine à des poussins mâles de poulets de chair d'un jour a provoqué une élévation de la créatinine, probablement en raison de dommages causés par les radicaux libres (**Jayasree et al., 2003**).

L'élévation de l'acide urique sanguins dans l'étude actuelle peuvent être attribués au dysfonctionnement rénal induit par SPT et à la diminution du taux de filtration glomérulaire (**Azab et al., 2016**). Comme suggéré par **Kumar et al., (2011)**, l'activité mitochondriale réduite chez les souris intoxiquées par le pesticide chloropyrifos, a induit une réabsorption excessive dans le tubule proximal, affectant l'équilibre de l'acide urique et de la créatinine.

Après avoir été associé au SPT, l'administration de TT a entraîné une diminution des taux plasmatique d'acide urique et une augmentation des taux de protéines totales, suggérant une amélioration de la fonction hépatique et rénale chez les pigeons. Des études antérieures ont également montré que l'administration orale de TT avait réduit les niveaux plasmatiques de créatinine chez des rats diabétiques induits par la streptozotocine (**Amin et al., 2006**), ainsi que chez des souris traitées avec le métronidazole (**Kumari et Singh, 2015**), des rats traités avec de l'éthylène glycol (**Saxena et Argal, 2015**), et des rats traités avec du cadmium (**Kumar et Singh, 2016**).

Nos résultats indiquent que l'effet néphroprotecteur de TT pourrait être lié à la réduction du stress oxydatif rénal. Il a été démontré que l'extrait de TT réduit les dommages épithéliaux rénaux, l'inflammation et l'architecture glomérulaire chez les rats induits par l'oxalate (**Raofi et al., 2015**).

D'après nos résultats nous avons enregistré une élévation non significative du taux plasmatique du glucose chez les pigeons traités au SPT. Cette augmentation en glucose peut être expliquée par la diminution de l'excrétion d'insuline qui se résulte suite à l'impact des pesticides sur les cellules bêta de Langerhans (**Raja et al., 1992 ; Kalender et al., 2004**). D'autre part, **Khaldoun-Oularbi et al. (2015)** ont justifié l'hyperglycémie par l'augmentation des phénomènes de glycogénolyse dans les différents organes, ainsi que le phénomène de néoglucogenèse dans le foie.

Selon nos données, l'apport de TT aux pigeons exposés à la SPT a permis de maintenir le glucose plasmatique presque dans les limites physiologiques. Des études antérieures ont indiqué des résultats similaires comme celle de **Li et al., (2002)** où la saponine de TT a diminué la glycémie chez des rats diabétiques induits par l'alloxane, et celle d'**Azam et al., (2019)** sur des souris diabétiques supplémentées avec des extraits méthaniques de TT à une dose de 50 mg/kg de poids corporel après 4 et 6 heures de traitement. En outre, la combinaison de TT et d'*Andrographis paniculata*, ainsi que d'Amaryl®, ont amélioré l'abondance des cellules des îlots contre l'atrophie et la dégénérescence, spécifiquement dans la zone des cellules  $\beta$  (**Istiak et al., 2018**).

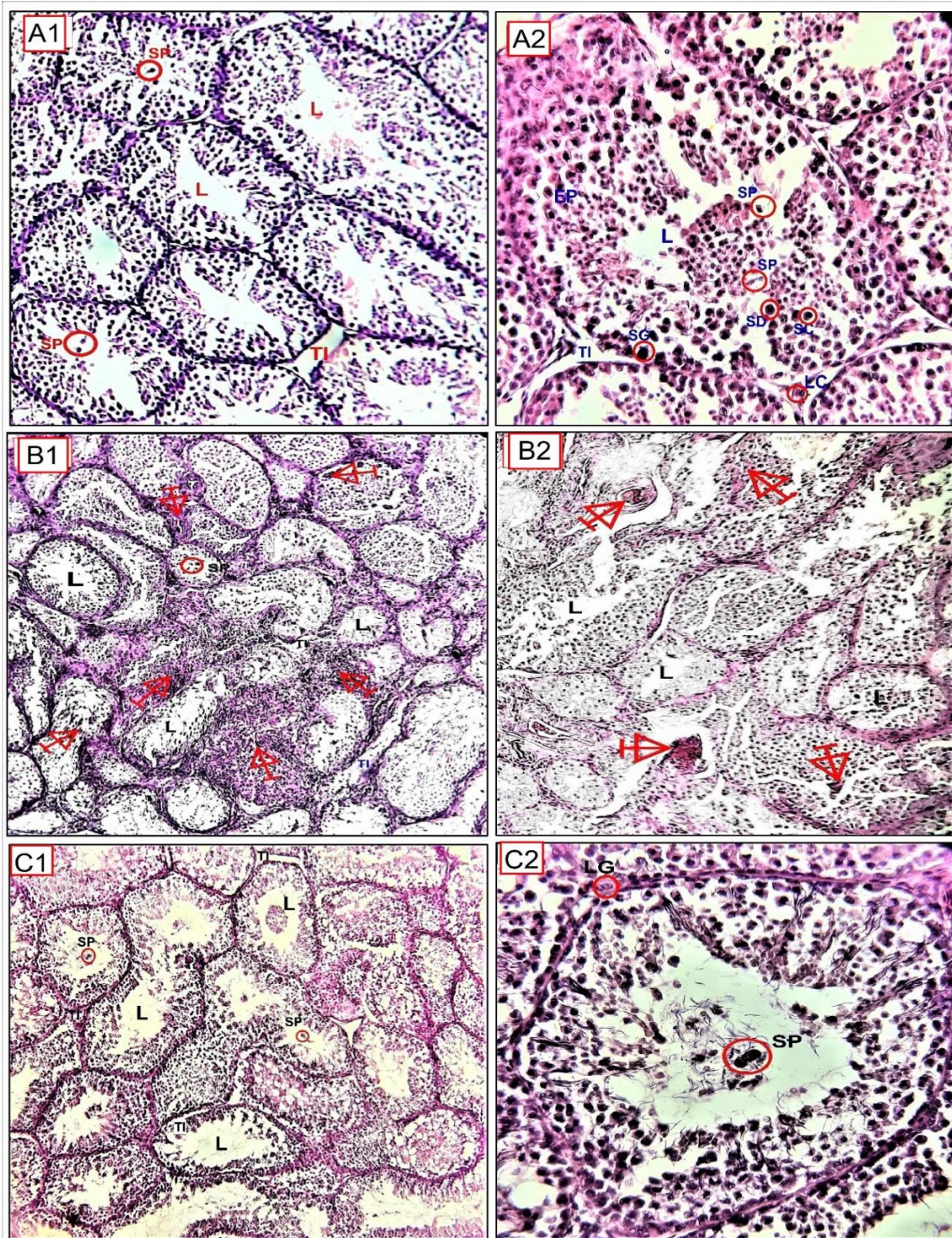
### 3.5. Effet du traitement sur l'architecture des organes

Un examen histologique des organes (reins, foie et testicules) a été effectué afin de confirmer les résultats des tests biochimiques. Grâce à l'examen histologique, nous avons pu identifier des lésions tissulaires dans les organes étudiés. En cas de stress oxydatif élevé, la peroxydation des lipides augmente, ce qui entraîne ces changements. En conséquence, cela conduit à l'initiation d'une inflammation cellulaire ainsi qu'à la dégradation des composés lipidiques (**Elgawish et al., 2015**). D'après de nombreuses études, les radicaux libres peuvent induire des altérations chimiques qui ont des répercussions sur les structures des lipides, des protéines, des glucides, ainsi que sur les nucléotides (**Gauche et Hausswirth, 2006**).

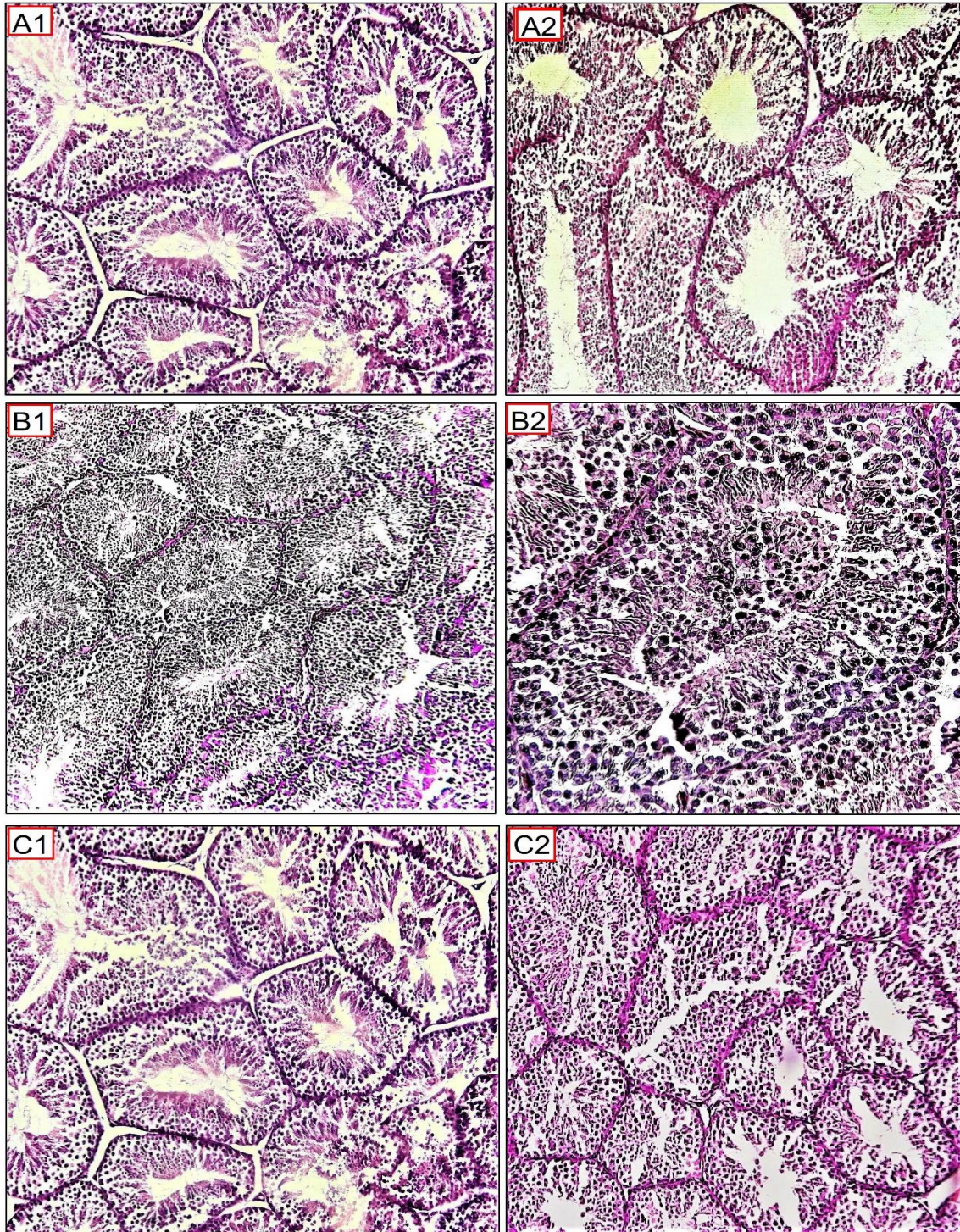
#### 3.5.1. Etude histologique des testicules

Les **Figure 43 et 44** présentent des coupes histologiques des testicules de différents groupes de pigeons ayant été traités pendant dix semaines consécutives avec une longue photopériode artificielle (19L :5D). Les pigeons du contrôle ont montré une architecture testiculaire régulière avec des tubules séminifères normaux, un stade consécutif de spermatogenèse, et un tissu épithélial normal (cellules spermato-génétiques et spermatozoïdes

fins et abondants) (**Figures 43 A1 et A2**). En revanche, les testicules des pigeons exposés au SPT ont montré des phénomènes dégénératifs tels qu'une atrophie et une irrégularité des tubules séminifères avec la présence de quelques spermatozoïdes anormaux dans la lumière tubulaire, ainsi qu'une légère réduction des espaces interstitiels, une réduction du nombre de cellules de Sertoli, une congestion vasculaire et un épaissement fibreux de la base (**Figures 43 B1 et B2**). Une histologie normale des testicules, des tubules séminifères normaux et riches en spermatozoïdes, ainsi que la présence de cellules de Leydig et de spermatocytes ont été observées chez les pigeons traités respectivement avec des doses de 100 et 50 mg/kg de TT (**Figures 43 C1 et C2 ; Figures 44 A1 et A2**). Les combinaisons de TT (100 et 50 mg/kg) avec SPT ont montré des tissus testiculaires semblables au contrôle, la spermatogenèse a été conservée dans la plupart des tubules séminifères et la lumière était occupée par des spermatozoïdes (**Figures 44 B1, B2, C1, C2**). En outre, l'extrait de TT a réduit les dommages causés par SPT.



**Figure 43.** Structure histologique des testicules de différents groupes de pigeons traités sous une longue photopériode (19L :5D). Groupe contrôle (**A1** et **A2**) montre un tissu épithélial normal (EP), lumière (L), cellule de Leydig (LC), cellule de sertoli (CS), tissu interstitiel (TI), spermatozoïdes (SP), spermatogonies (SG), spermatocytes (SC), spermatides (SD). Groupe SPT (**B1** et **B2**) montre une dégénérescence du tissu testiculaire avec des tubes séminifères irréguliers. Le groupe TT100 (**C1** et **C2**) présentent un tissu testiculaire normal, des spermatozoïdes, et des cellules germinales épithéliales normales. Grossissement : **A1**, **B1**, **C1**= X10. **A2**, **B2**, **C2**= X40. Coloration H et E.



**Figure 44.** Photomicrographie histologique de la structure des testicules de différents groupes traités par TT50, SPT+TT100 et SPT+TT50 sous une longue photopériode (19L:5D). Groupe TT50 (**A1** et **A2**) montre un tissu testiculaire normal, des tubules séminifères normaux et un nombre plus élevé de spermatozoïdes et de cellules germinales épithéliales. Les groupes SPT+TT100 (**B1** et **B2**) et SPT+TT50 (**C1** et **C2**) présentaient un tissu testiculaire qui semblait proche du contrôle. Grossissement : **A1, B1, C1, C2** = X10. **A2, B2** = X40. Coloration H et E.

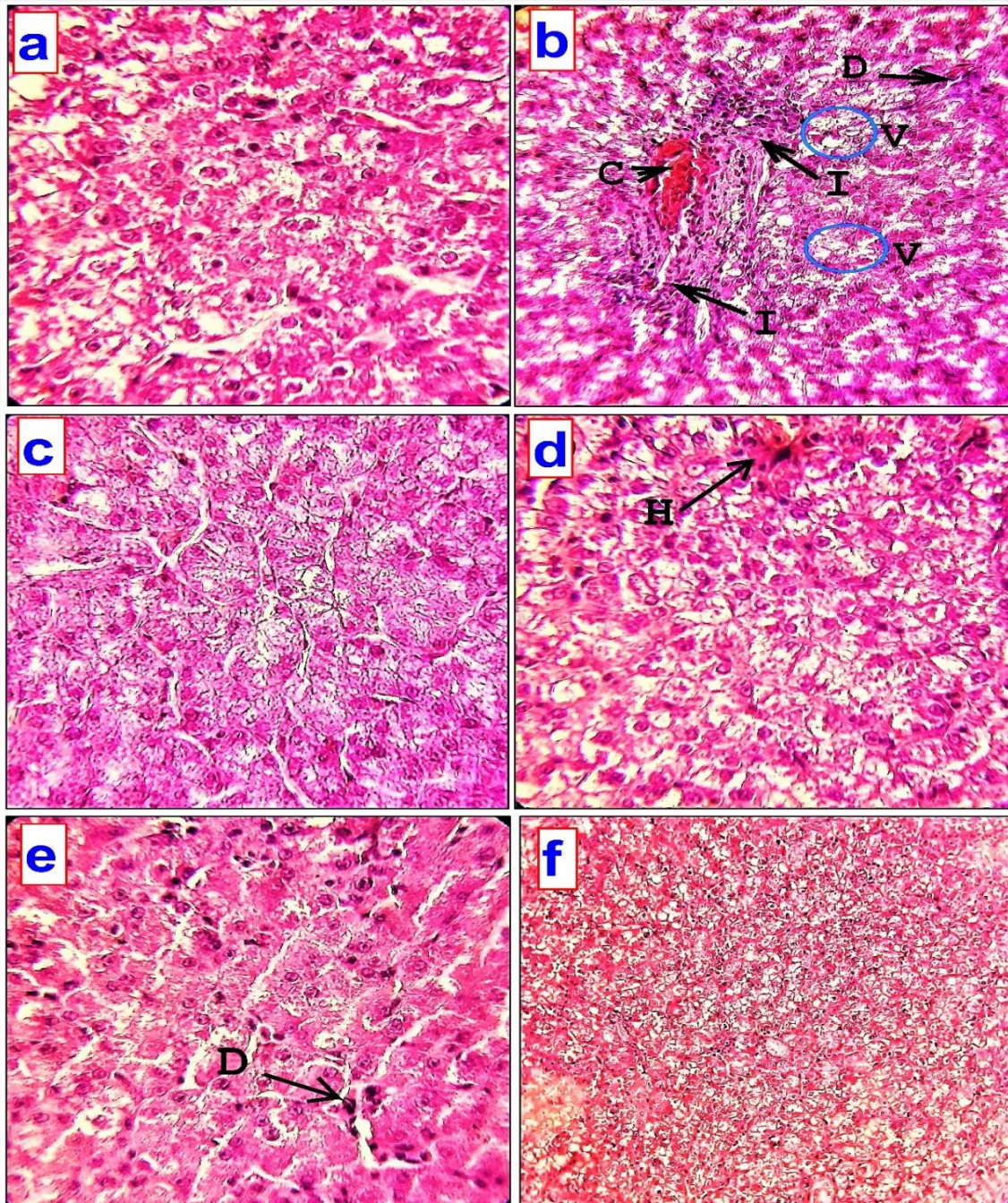
L'examen histologique des testicules des pigeons exposés au SPT révèle des altérations telles que l'atrophie et les irrégularités des tubules séminifères ainsi que la présence de spermatozoïdes aberrants dans la lumière tubulaire. Une étude menée par **Zhang et al. (2020a)** a observé que l'exposition au SPT provoque une hyperplasie et un élargissement du tissu conjonctif interstitiel et l'absence de parois des tubules séminifères, ce qui peut perturber la production moyenne de spermatozoïdes. De plus, le SPT réduit le nombre de cellules de Sertoli, provoque des congestions vasculaires et des épaisissements fibreux. Plusieurs études ont indiqué que l'exposition au SPT entraîne des dommages aux tubules séminifères et aux cellules interstitielles, ainsi qu'à l'épithélium séminifère (**Zhang et al., (2020a)**).

Cependant, la supplémentation en TT chez les pigeons exposés au SPT a restauré la morphologie testiculaire régulière et a réduit les dommages tissulaires causés par le SPT. Les résultats de l'étude sont cohérents avec ceux de **Bashir et al., (2009)**, qui ont noté une réduction des anomalies spermatogénétiques et des stades tardifs de la spermatogenèse après le traitement par TT. En outre, les recherches menées par **Kamboj et al. (2011)** ainsi que **Kumar et Singh (2016)** ont indiqué que l'effet antioxydant du TT peut aider à atténuer les dommages provoqués par les radicaux libres. La reformulation a été effectuée sans perte de données.

### 3.5.2. Etude histologique du foie

Les coupes histologiques du foie de différents groupes de pigeons traités pendant dix semaines consécutives ont été présentées dans la **Figures 45**. Les hépatocytes et autres cellules du foie du contrôle présentent une structure compacte et régulière et sont organisés systématiquement (**Figure 45 A**). Cependant, les pigeons exposés au SPT révèlent une histo-architecture hépatique partiellement déformée, avec la présence des inflammations et des nécroses dans les hépatocytes de la veine centrale, ainsi que des congestions vasculaires et sinusoïdales importantes avec des altérations dégénératives généralisées. De plus, les régions péri-portales présentent un nombre élevé d'infiltrations de cellules mononucléaires, et les sinusoïdes et les veines centrales sont fortement congestionnées (**Figures 45 B**). Les sections hépatiques du groupe traité avec TT présentent une histo-architecture hépatique normale et des hépatocytes et autres cellules du foie ont une structure normale. On a remarqué la présence de congestion légère et localisée. Il y a aussi une infiltration inflammatoire modérée du portail résiduel, bien qu'aucune dilatation sinusoïdale ou nécrose n'ait été observée (**Figures 45 C et 45 D**). Les groupe TT100 + SPT et TT50 + SPT ont montré quelques zones de dilatation fibreuse n'ont pas de fibrose ou des congestions légères, et l'architecture normale est préservée

(Figures 45 E et F). Les altérations hépatiques causées par SPT ont été améliorées par la supplémentation par TT.



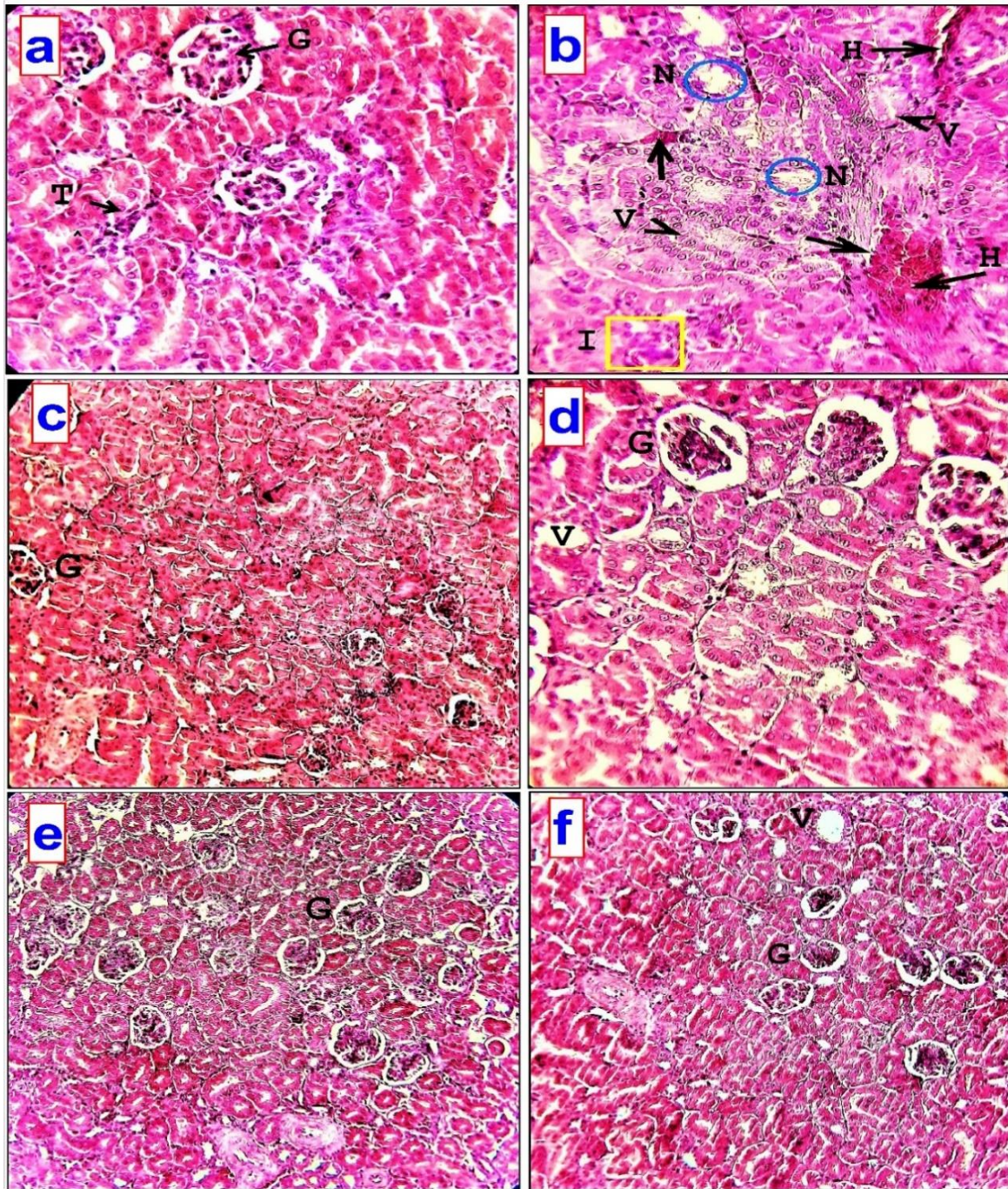
**Figure 45.** Effet hépato-protecteur du TT chez des pigeons mâles exposés au SPT pendant dix semaines consécutives. (a) : Le groupe contrôle (b) : Le groupe traité au SPT présente une infiltration portale avec des cellules inflammatoires [I] et une dégénérescence des hépatocytes [D], une congestion de la veine centrale [C] et une vacuolisation cytoplasmique [V]. (c) et (d) : Les pigeons traitées avec TT montrent une architecture tissulaire normale avec la présence de quelques hémorragies [H]. (e) et (f) : Les groupes traités par SPT+TT présentent une certaine dégénérescence des hépatocytes [D] et une légère congestion, l'architecture étant préservée. Grossissement x40 (d) et grossissement x10 (a, b, c, e, f).

Les résultats de l'analyse histologique du foie des pigeons exposés au SPT ont également montré des altérations importantes, telles que la dégénérescence des hépatocytes, l'infiltration de cellules inflammatoires au niveau de la veine centrale, une congestion vasculaire et une dilatation sinusoidale significative. Des études antérieures ont également démontré que divers pesticides, tels que l'Imidaclopride et le Chlorpyrifos, provoquent des altérations histologiques similaires (Sharma *et al.*, 2005; Arfat *et al.*, 2014; Deng *et al.*, 2016). Le SPT a également été associé à des lésions hépatiques et rénales chez les rats mâles (Falcón *et al.*, 2013). De plus, l'exposition au SPT peut endommager les gonades et induire l'inflammation et l'apoptose cellulaire chez les poissons zèbres (Zhang *et al.*, 2020b). Ces altérations histologiques pourraient être attribuables aux effets toxiques du SPT, qui génère des ROS. En revanche, les hépatocytes des pigeons supplémentés avec du TT ont montré moins d'altérations intracellulaires, avec seulement une infiltration inflammatoire modérée du portail résiduel, sans signe de dilatation sinusoidale ou de fibrose dans la zone. Des études antérieures ont montré que le TT réduisait les dommages aux tubules rénaux, le stress oxydatif et l'apoptose chez les rats traités à la Gentamicine (Harborne et Williams, 2000). Ainsi, il est suggéré que les polyphénols du TT pourraient atténuer ces altérations considérables, probablement en raison de leurs propriétés antioxydantes et de leur capacité à réguler les enzymes impliquées dans la division cellulaire, la prolifération, la détoxification, l'inflammation et la réponse immunitaire (Choi *et al.*, 2004).

### 3.5.3. Etude histologique des reins

La **Figure 46** présente des coupes histologiques de reins de différents groupes de pigeons qui ont été traités pendant dix semaines. Les sections de tissus du contrôle montrent une histologie rénale normale avec des glomérules, des tubules, des capillaires et des capsules de Bowman normaux (**Figure 46 A**). En revanche, les pigeons exposés au SPT présentent des altérations plus graves dans les régions du cortex rénal contenant des corpuscules rénaux et des tubules apparentés, tels que la dilatation tubulaire et la dégénérescence des glomérules rénaux avec une congestion minimale (**Figure 46 B**). De plus, le groupe SPT montre une dégénérescence significative des glomérules, des capsules de Bowman et de la structure tubulaire connexe, ainsi qu'un rétrécissement des glomérules et de la dilatation tubulaire, ainsi qu'une congestion accrue (**Figure 46 B**). Cependant, les pigeons traités avec TT présentent une histologie rénale normale avec des glomérules, des tubules, des capillaires et des capsules de Bowman (**Figure 46 C et D**). De plus, la supplémentation avec TT chez les pigeons exposés au SPT a amélioré les

altérations rénales induites par le SPT, réduit les signes d'inflammation et améliorer globalement l'histologie rénale (**Figure 46 E et F**).



**Figure 46.** Effet néphroprotecteur du TT chez des pigeons mâles exposés au SPT pendant dix semaines consécutives. (a) : Le groupe de contrôle présente une morphologie normale des glomérules [G] et des tubules [T] au niveau du cortex. (b) : Le groupe traité avec SPT présente des glomérules inflammatoires [I], une nécrose focale (N) des tubules rénaux associée à une hémorragie [H] et une vacuolisation [V] de l'épithélium tubulaire. (c) et (d) : Les groupes traités par TT présentent une architecture tissulaire typique avec une certaine vacuolisation [V]. (e) et (f) : Les groupes traités par SPT+TT présentent une architecture proche de la normale avec un très léger

œdème tubulaire et une certaine vacuolisation [V]. Grossissement x40 (**a**, **b** et **d**) et grossissement x10 (**c**, **e** et **f**).

Les résultats de l'analyse histologique des reins des pigeons traités par SPT ont montré des lésions rénales significatives, telles que la dilatation tubulaire, la vacuolisation étendue et la dégénérescence des glomérules rénaux par rapport au contrôle. Cependant, l'administration de TT à des pigeons exposés au SPT a considérablement atténué la gravité de ces lésions rénales. Des observations similaires ont été rapportées par **Amin et Hamza, (2006)**, **Sasipriya et Siddhuraju, (2012)**, **Zheleva-dimitrova et al, (2012)**, et **Azhar et al, (2020)** concernant l'effet protecteur des extraits de plantes médicinales contre les lésions tissulaires hépatiques et rénales induites par des produits chimiques. Les propriétés préventives de TT semblent principalement attribuées à sa richesse en composés phénoliques, qui ont des propriétés antioxydantes et sont capables de protéger de nombreux composants cellulaires contre les changements oxydatifs causés par les radicaux libres (**Yadav et al., 2019**).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif de cette étude consiste tout d'abord à évaluer la quantité de composés phénoliques présents dans l'extrait hydrométhanolique de *T. terrestris*. Ensuite, deux aspects seront étudiés : d'une part, l'effet cytotoxique et génotoxique de cette plante ainsi que de l'insecticide SPT, et d'autre part, l'évaluation de l'effet protecteur de *T. terrestris* contre la toxicité induite par SPT au niveau de l'activité reproductive, hépatique et rénale.

L'étude cytogénétique a été réalisée sur deux modèles de plantes, *A. cepa* et *V. faba*, afin d'analyser divers paramètres tels que la croissance, la morphologie, la couleur des racines, l'indice mitotique et les aberrations chromosomiques, en vue d'évaluer les effets cytotoxiques et génotoxiques du SPT et du *T. terrestris*.

Par ailleurs, une étude des activités biologiques, notamment la reproduction, la fonction hépatique et rénale, a été menée sur des pigeons domestiques mâles. Pendant une période de 10 semaines de traitement continu, sous une longue photopériode (19L :5D), des marqueurs de fertilité, des mesures biométriques et biochimiques, ainsi que des profils histologiques (testicules, foie, rein) ont été évalués.

Les résultats obtenus nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- ❖ L'analyse phytochimique de l'extrait de TT révèle une quantité significative de polyphénols et de flavonoïdes, suggérant la présence de composés antioxydants.
- ❖ L'étude cytogénétique a montré que SPT et TT ont des effets cytotoxiques et génotoxiques sur les plantes *A. cepa* et *V. faba* se manifestent par une diminution de la longueur moyenne des racines et de l'IM, ainsi qu'une augmentation des ACs. Ces effets étaient en fonction de la concentration et de la durée d'exposition.

L'administration de SPT à des pigeons mâles a engendré :

- ❖ Un effet négatif sur le développement du volume testiculaire des pigeons.
- ❖ Une diminution du poids corporel pendant la période de traitement.
- ❖ Une altération de la fonction gonadique se manifestée par une perturbation du système hormonal : Diminution significative de la testostérone, et augmentation significative du FSH et LH.

- ❖ Une perturbation des paramètres lipidiques : le cholestérol total, l'HDL-C, l'LDL-C, et les triglycérides ont été significativement augmentés.
- ❖ Une perturbation du poids relative de certains organes (testicules, foie, reins).
- ❖ Une perturbation des fonctions hépatiques et rénales chez les pigeons mâles : Le glucose, l'acide urique, la créatinine, les protéines totales l'ALT, l'AST et le GGT ont été significativement augmentés.

Les profils histologiques des pigeons exposés au SPT ont montré des altérations au niveau des tissus examinés se manifeste par :

- ❖ Tissus testiculaires : L'atrophie et l'irrégularité des tubules séminifères ainsi que la présence de spermatozoïdes aberrants dans la lumière tubulaire. De plus, SPT a réduit le nombre de cellules de Sertoli, provoque des congestions vasculaires et des épaissements fibreux.
- ❖ Tissus hépatiques : La dégénérescence des hépatocytes, l'infiltration de cellules inflammatoires au niveau de la veine centrale, des congestions vasculaires et une dilatation sinusoïdale significative.
- ❖ Tissus rénaux : La dilatation tubulaire, la vacuolisation étendue et la dégénérescence des glomérules rénaux.

La supplémentation de la plantes *Tibulus terrestris*, a produit :

- ❖ Un effet positif sur le développement du volume testiculaire ; également, le poids relatif des organes examinés.
- ❖ Une protection notable des taux plasmatiques des paramètres lipidiques (CT, HDL-C, LDL-C, triglycérides).
- ❖ Une augmentation significative du taux de la testostérone.
- ❖ Une restauration des taux normaux de glucose, l'acide urique, la créatinine, les protéines totales, l'AST, l'ALT, et le GGT.

Une amélioration de la structure histologique des tissus examinés se traduit par les observations suivantes :

- ❖ Dans les testicules, on constate une restauration de la morphologie testiculaire régulière et une réduction des dommages tissulaires causés par SPT, ainsi qu'une augmentation du nombre de spermatozoïdes et de cellules germinales épithéliales.
- ❖ Dans le foie, on observe une réduction des dommages causés aux hépatocytes par SPT.

- ❖ Dans les reins, on constate une diminution significative des lésions rénales induites par SPT, démontrant ainsi une atténuation considérable.

### **En perspective**

Il serait intéressant de poursuivre ces conclusions en :

- ❖ Identifiant les substances bioactives responsables des propriétés détoxifiantes et antioxydantes de *T. terrestris*.
- ❖ Étudiant les effets détoxifiants de ces composants au niveau cellulaire et moléculaire.
- ❖ Explorant les bienfaits potentiels de *T. terrestris* dans le renforcement du système immunitaire et de la fertilité chez les hommes et les femmes.
- ❖ Étudiant les effets cytotoxiques et génotoxiques de Spirotetramat sur des cellules animales et au niveau moléculaire.
- ❖ Convaincant les gens à renouer avec leur histoire honorable et leur culture en utilisant les plantes médicinales d'abord pour la prévention générale, puis pour le traitement des maladies.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIES

- Abadjieva, D., Grigorova, S., Gjorgovska, N., and Kistanova, E. (2019).** Dose-dependent effect of *Tribulus Terrestris* dry extract on reproductive organs of growing male rabbits. *Macedonian Journal of Animal Science*. 9(1): 19-23.
- Abbas, M. W., Hussain, M., Akhtar, S., Ismail, T., Qamar, M., Shafiq, Z., and Esatbeyoglu, T. (2022).** Bioactive Compounds, Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anti-Cancer, and Toxicity Assessment of *Tribulus terrestris*-*In Vitro* and *In Vivo* Studies *Antioxidants*. 11(6): 3-21. <https://doi.org/10.3390/antiox11061160>
- Abdel-Daim, M. M., Abuzead, S. M. M., and Halawa, S. M. (2013).** Protective Role of *Spirulina platensis* Against Acute Deltamethrin-Induced Toxicity in Rats. *PLoS One*.8(9): 1-7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072991>
- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., and Rezaie, A. (2004).** Pesticides and oxidative stress: A review. *Medical Science Monitor*. 10(6): 141-148.
- Abolaji, A. O., Awogbindin, I. O., Adedara, I. A., and Farombi, E. O. (2017).** Insecticide chlorpyrifos and fungicide carbendazim, common food contaminants mixture, induce hepatic, renal, and splenic oxidative damage in female rats. *Human and Experimental Toxicology*. 36(5): 483-493. <https://doi.org/10.1177/0960327116652459>
- Aboul-Enein, H. Y., Kruk, I., Kladna, A., Lichszeld, K., and Michalska, T. (2007).** Scavenging Effects of Phenolic Compounds on Reactive Oxygen Species. *Biopolymers*. 85(4): 392-406. <https://doi.org/10.1002/bip>
- Abu Zeid, E. H., Alam, R. T. M., Ali, S. A., and Hendawi, M. Y. (2019).** Dose-related impacts of imidacloprid oral intoxication on brain and liver of rock pigeon (*Columba livia domestica*), residues analysis in different organs. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 167: 60-68. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.09.121>
- Abudayyak, M., Jannuzzi, A. T., Özhan, G., and Alpertunga, B. (2015).** Investigation on the toxic potential of *Tribulus terrestris* in vitro. *Pharmaceutical Biology*. 53(4): 469-476. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.924019>
- Adesuyi, A., Njoku, K., Ogunyebi, A., Dada, E., Adedokun, A., Jolaoso, A., and Akinola, M. (2018).** Evaluation of the Cytogenotoxic Effects of Emulsifiable Concentrate form of Amitraz Pesticide on *Allium cepa* L. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*. 22(11): 1841-1847. <https://doi.org/10.4314/jasem.v22i11.20>
- Adimoelja, A. (2000).** Phytochemicals and the breakthrough of traditional herbs in the management of sexual dysfunctions. *International Journal of Andrology, Supplement*, 23(2): 82-84. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2605.2000.00020.x>
- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., and Tattini, M. (2012).** Flavonoids as antioxidants in

- plants: Location and functional significance. *Plant Science*. 196: 67-76. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.014>
- Akgündüz, M. Ç., Çavuşoğlu, K., and Yalçın, E. (2020).** The Potential Risk Assessment of Phenoxyethanol with a Versatile Model System. *Scientific Reports*. 10(1): 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58170-9>
- Akram, M., Asif, H. M., Akhtar, N., Shah, P. A., Uzair, M., Shaheen, G., Shamim, T., Shah, S. M. A., and Ahmad, K. (2011).** *Tribulus terrestris* Linn.: A review article. *Journal of Medicinal Plant Research*. 5(16): 3601-3605.
- Akwu, N. A., Naidoo, Y., and Singh, M. (2019).** Cytogenotoxic and biological evaluation of the aqueous extracts of *Grewia lasiocarpa*: An *Allium cepa* assay. *South African Journal of Botany*. 125: 371-380. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.08.009>
- Alarcán, J., Waizenegger, J., Solano, M. de L. M., Lichtenstein, D., Luckert, C., Peijnenburg, A., Stoop, G., Sharma, R. P., Kumar, V., Marx-Stoelting, P., Lampen, A., and Braeuning, A. (2020).** Hepatotoxicity of the Pesticides Imazalil, Thiacloprid and Clothianidin – Individual and mixture effects in a 28-day study in female Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*. 140: 111306. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111306>
- Alavia, S. H. R., Matin Yekta, M., Hadjiaghaee, R., and Ajani, Y. (2008).** Flavonoid Glycosides from *Tribulus terrestris* L. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 4(3): 231–236.
- Altug Tuncer, M., Yaymaci, B., Sati, L., Cayli, S., Acar, G., Altug, T., and Demir, R. (2009).** Influence of *Tribulus terrestris* extract on lipid profile and endothelial structure in developing atherosclerotic lesions in the aorta of rabbits on a high-cholesterol diet. *Acta Histochemica*. 111(6): 488–500. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2008.06.004>
- Amin, A., and Hamza, A. E. (2006).** Effects of Roselle and Ginger on Cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. *Asian Journal of Andrology*. 8(5): 607–612. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2006.00179.x>
- Amin, A., Lotfy, M., Shafiullah, M., and Adeghate, E. (2006).** The protective effect of *Tribulus terrestris* in diabetes. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1084, 391–401. <https://doi.org/10.1196/annals.1372.005>
- Amin, A. M. R., Lotfy, M., Shafiullah, M., and Adeghate, E. (2006).** The Protective Effect of *Tribulus terrestris* in Diabetes. *Annals New York Academy of Sciences*. 401: 391–401. <https://doi.org/10.1196/annals.1372.005>
- Amir, S., Satvati, R., Shooriabi, M., Amin, M., and Shiezadeh, F. (2017).** Evaluation of the Antimicrobial Activity of *Tribulus Allium hirtifolium* Against *Enterococcus faecalis*. *International Journal of Enteric Pathogens*. 5(2): 63-67. <https://doi.org/10.15171/ijep.2017.15>

- Anand, R., Patnaik, G., Kulshreshtha, D., and Dhawan, B. (1994).** Activity of certain fractions of *Tribulus terrestris* fruits against experimentally induced urolithiasis in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. 32(8): 548–552.
- Anderson, R., Mueller, R., Reese, S., and Wehner, A. (2017).** Evaluation of an automated enzyme-linked fluorescent assay for thyroxine measurement in cat and dog sera. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 29(3): 278–286. <https://doi.org/10.1177/1040638717696442>
- Anonymous. (2007).** The Unani Pharmacopoeia of India. (Part I. Vo). New Delhi: Govt. of India Ministry of Health and Family Welfare Dept of AYOSH.
- Arafa, M., Henkel, R., Agarwal, A., Majzoub, A., and Elbardisi, H. (2019).** Correlation of oxidation–reduction potential with hormones, semen parameters and testicular volume. *Andrologia*. 51(5): 1–7. <https://doi.org/10.1111/and.13258>
- Arfat, Y., Mahmood, N., Tahir, M. U., Rashid, M., Anjum, S., Zhao, F., Li, D. J., Sun, Y. L., Hu, L., Zhihao, C., Yin, C., Shang, P., and Qian, A. R. (2014).** Effect of imidacloprid on hepatotoxicity and nephrotoxicity in male albino mice. *Toxicology Reports*. 1: 554–561. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.08.004>
- ARLA (Agence de Réglementation de la Lutte Antiparasitaire). (2005).** Technical grade of spirotetramat. A subchronic toxicity testing study in the rat. 201136, MRID: 469045-38, DACO: 4.3.3.
- Arzul, G., Quiniou, F., Malestroit, P., Durand, G., Hureau, D., and Videau, C. (2006).** Effet des pesticides sur le milieu marin milieu marin, Cas particulier des herbicides et du phytoplancton. *Réseau de Suivi Lagunaire, Seminary “Phytosanitaires et Lagunes Montpellier”*.
- Aye, M. M., Aung, H. T., Sein, M. M., and Armijos, C. (2019).** A review on the phytochemistry, medicinal properties and pharmacological activities of 15 selected myanmar medicinal plants. *Molecules*. 24(2): 2–34. <https://doi.org/10.3390/molecules24020293>
- Ayubi, Z., Jafari, A. A., Ayatollahi-Mousavi, S. A., Jafari, H., and Panddeh, M. (2021).** Using Comet Assay for Genotoxic Evaluation of *Zataria multiflora* Boiss., An Iranian Endemic Plant. *Journal of Food Quality and Hazards Control*. 8(1): 45–49. <https://doi.org/10.18502/JFQHC.8.1.5463>
- Azab, A. E., El-Shafey, A. A., Bayomy, M. F. F., and Elsayed, A. S. I. (2016).** Effects of Subchronic Intoxication with Propoxur on Acid-Base Status in Pigeon (*Columba livia domestica*). *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*. 7(1): 153–163.
- Azam, F., Munier, S., Batool, M., Ahmad, B., and Abbas, G. (2019).** A review on advancements in ethnomedicine and phytochemistry of *Tribulus terrestris* – a plant with multiple health benefits. *International Journal of Biosciences*. 14(01): 21–37.

<https://doi.org/10.12692/ijb/14.1.21-37>

- Azhar, M., Alam, M., Ahmad, S. G., Anjum, N., and Neelam, Q. (2020).** Nephroprotective Unani drug Khar-e-Khasak Khurd (*Tribulus terrestris* Linn .) - A Review. *International Journal of Scientific Research in Biological Sciences*. 7(1): 24–36. <https://doi.org/10.26438/ijrbs/v7i1.2436>
- Bagatell, C. J., and Bremner, W. J. (1996).** Androgens in Men-Uses and Abuses. *New England Journal of Medicine*. 334(11): 707–715. <https://doi.org/10.1056/nejm199603143341107>
- Bakare, A. A., Mosuro, A. A., & Osibanjo, O. (2000).** Effect of simulated leachate on chromosomes and mitosis in roots of *Allium cepa* (L.). *Journal of Environmental Biology*. 21(3): 263–271.
- Banerjee, B. D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pasha, S. T., and Chakraborty, A. K. (1999).** Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicology Letters*. 107: 33–47. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(99\)00029-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(99)00029-6)
- Banihani, S. A. (2019).** Testosterone in Males as Enhanced by Onion ( *Allium Cepa* L .). *Biomolecules*. 9(75): 1–9. <https://doi.org/10.3390/biom9020075>
- Bashir, A., Tahir, M., Samee, W., and Munir, B. (2009).** Effects of *Tribulus Terrestris* on testicular development of immature albino rats. *Biomedica*. 25: 63-68.
- Basu, A., Sanchez, K., Leyva, M. J., Wu, M., Betts, N. M., Aston, C. E., and Lyons, T. J. (2010).** Green tea supplementation affects body weight, lipids, and lipid peroxidation in obese subjects with metabolic syndrome. *Journal of the American College of Nutrition*. 29(1): 31–40. <https://doi.org/10.1080/07315724.2010.10719814>
- Basu, S., and Tripura, K. (2021).** Differential sensitivity of *Allium cepa* L. and *Vicia faba* L. to aqueous extracts of *Cascabela thevetia* (L.) Lippold. *South African Journal of Botany*. 139: 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.01.033>
- Bell J.W. (2013).** Petition for a Three Year Extension of Exclusive Use Data Protection for spirotetramat As Provided for Under FIFRA Section 3 (c) (1) (F) (ii). 48PP.
- Benjamin, N., Kushwah, A., Sharma, R. K., and Katiyar, A. K. (2006).** Histopathological changes in liver, kidney and muscles of pesticides exposed malnourished and diabetic rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. 44(3): 228–232.
- Benoit, J. (1970).** Etude de l'action des radiations visibles sur la gonadostimulation et de leur pénétration intracrânienne chez les oiseaux et les mammifères. La photorégulation de la reproduction chez les oiseaux et les mammifères. *Colloques Internationaux Du Centre National de La Recherche Scientifique, Paris*. 172 j 121–146.
- Beppu, F., Hosokawa, M., Niwano, Y., and Miyashita, K. (2012).** Effects of dietary

- fucoxanthin on cholesterol metabolism in diabetic/obese KK-Ay mice. *Lipids in Health and Disease*. 11: 1–8. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-112>
- Bergmeyer, H. ., Horder, M., and Rej, R. (1986).** Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes Part 3. IFCC Method for Alanine Aminotransferase. (L-Alanine: 2-Oxoglutarate Aminotransferase, EC 2.6.1.2). *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*. 24(7): 481–495.
- Bocayuva Tavares, G. D., Fortes Aiub, C. A., Felzenszwalb, I., Carrão Dantas, E. K., Araújo-Lima, C. F., and Siqueira Júnior, C. L. (2021).** In vitro biochemical characterization and genotoxicity assessment of *Sapindus saponaria* seed extract. *Journal of Ethnopharmacolog*. 276: 114170. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114170>
- Bolognesi, C. (2003).** Genotoxicity of pesticides: A review of human biomonitoring studies. *Reviews in Mutation Research*. 543(3): 251–272. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(03\)00015-2](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(03)00015-2)
- Bonciu, E., Firbas, P., Fontanetti, C. S., Wusheng, J., Karaismailoğlu, M. C., Liu, D., Menicucci, F., Pesnya, D. S., Popescu, A., Romanovsky, A. V., Schiff, S., Ślusarczyk, J., de Souza, C. P., Srivastava, A., Sutan, A., and Papini, A. (2018).** An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. *Caryologia*. 71(3): 191–209. <https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1503496>
- Bors, W., Heller, W., Michel, C., and Saran, M. (1990).** Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods in Enzymology*. 186: 343–355. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86128-I](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86128-I)
- Bruck, E., Elbert, A., Fischer, R., Krueger, S., Bru, E., Klueken, A. M., Nauen, R., Niebes, J., Reckmann, U., Schnorbach, H., Steffens, R., and Waetermeulen, X. van. (2009).** Movento , an innovative ambimobile insecticide for sucking insect pest control in agriculture: Biological profile and field performance. *Crop Protection*. 28: 838–844. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.06.015>
- Bucci, L. R. (2002).** Selected herbals and human exercise performance. *American Society for Clinical Nutrition*. 72(2): 624–636. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ajcn/72.2.624S>
- Budki, P., Rani, S., & Kumar, V. (2009).** Food deprivation during photosensitive and photorefractory life-history stages affects the reproductive cycle in the migratory Red-headed Bunting (*Emberiza bruniceps*). *Journal of Experimental Biology*. 212(2): 225–230. <https://doi.org/10.1242/jeb.024190>
- Burtis A et al. (1999).** Tiets textbook of clinical chemistry (3 rd Ed AA).
- Cabrera, C., Artacho, R., and Giménez, R. (2006).** Beneficial Effects of Green Tea-A Review. *Journal of the American College of Nutrition*. 25(2): 79–99. <https://doi.org/10.1080/07315724.2006.10719518>

- Cai, Z., Xi, H., Pan, Y., Jiang, X., Chen, L., Cai, Y., Zhu, K., Chen, C., Xu, X., and Chen, M. (2015).** Effect of testosterone deficiency on cholesterol metabolism in pigs fed a high-fat and high-cholesterol diet. *Lipids in Health and Disease*. 14(1): 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0014-5>
- Cataudella, E., Malaguarnera, G., Agliano, C., Condorelli, G., Antic, T., Rampello, L., and Malaguarnera, M. (2012).** Pesticides exposure and the management of acute hepatic injury. *Acta Med Mediterr*. 28: 245–252.
- Celik, T. A. (2012).** Potential Genotoxic and Cytotoxic Effects of Plant Extracts. A Compendium of Essays on Alternative Therapy, Dr. Arup Bhattacharya ed ISBN:978-953-233-250.
- Cepa, S., Potter, D., Wong, L., Schutt, L., Tarrant, J., Pang, J., Zhang, X., Andaya, R., Salphati, L., Ran, Y., An, L., Morgan, R., and Maher, J. (2018).** Individual serum bile acid profiling in rats aids in human risk assessment of drug-induced liver injury due to BSEP inhibition. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 338: 204–213. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.11.007>
- Charreau, E. H., Calvo, J. C., Nozu, K., Pignataro, O., Catt, K. J., and Dufau, M. L. (1981).** Hormonal modulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in gonadotropin-stimulated and -desensitized testicular Leydig cells. *Journal of Biological Chemistry*. 256(24): 12719–12724. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)42954-7](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)42954-7)
- Chauhan, L. K. S., Saxena, P. N., Sundararaman, V., and Gupta, S. K. (1998).** Diuron-induced cytological and ultrastructural alterations in the root meristem cells of *Allium cepa*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 62(3): 152–163. <https://doi.org/10.1006/pest.1998.2379>
- Chauhdary, Z., Saleem, U., Ahmad, B., Shah, S., and Shah, M. A. (2019).** Neuroprotective evaluation of *Tribulus terrestris* L. in aluminum chloride induced Alzheimer's disease. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 32(2): 805–816.
- Chen, X., Meng, Z., Zhang, Y., Gu, H., Ren, Y., and Lu, C. (2016).** Degradation kinetics and pathways of Spirotetramat in different parts of spinach plant and in the soil. *Environmental Science and Pollution Research*. 23: 15053-15062 <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6665-6>
- Chen, Y. (2018).** The Effect of Spirotetramat on Zebrafish Embryo Development. *Zhejiang Agriculture and Forestry University*.
- Chinnala, K. M., Achanta, P., Vangala, V. L., and Elsani, M. M. (2017).** Evaluation for nephroprotective activity of ethanolic extract of *Allium cepa* Linn. In gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 10(3): 356–359. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i3.16271>

- Choi, J. S., Choi, Y. J., Park, S. H., Kang, J. S., and Kang, Y. H. (2004).** Flavones Mitigate Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ -Induced Adhesion Molecule Upregulation in Cultured Human Endothelial Cells: Role of Nuclear Factor- $\kappa$ B. *Journal of Nutrition*. 134(5): 1013–1019. <https://doi.org/10.1093/jn/134.5.1013>
- Chu, S., Qu, W., Pang, X., Sun, B., & Huang, X. (2003).** Effect of saponin from *Tribulus terrestris* on hyperlipidemia. *Journal of Chinese Medicinal Materials*. 26(5): 341–344.
- Collotta, M., Bertazzi, P. A., & Bollati, V. (2013).** Epigenetics and pesticides. *Toxicology*. 307: 35-14. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2013.01.017>
- Commission, C. P. (2015).** Pharmacopoeia, Chinese. In China Medical Science Press, Beijing: Vol. I.
- Damsgaard, J., Joensen, U. N., Carlsen, E., Erenpreiss, J., Blomberg Jensen, M., Matulevicius, V., Zilaitiene, B., Olesen, I. A., Perheentupa, A., Punab, M., Salzbrunn, A., Toppari, J., Virtanen, H. E., Juul, A., Skakkebaek, N. E., and Jørgensen, N. (2016).** Varicocele Is Associated with Impaired Semen Quality and Reproductive Hormone Levels: A Study of 7035 Healthy Young Men from Six European Countries. *European Urology*. 70(6): 1019–1029. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.06.044>
- Dandona, P., & Rosenberg, M. T. (2010).** A practical guide to male hypogonadism in the primary care setting. *The International Journal of Clinical Practice*. 64(6): 682–696. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2010.02355.x>
- David W. Steadman. (2001).** **Pigeons and Doves: A Guide to the Pigeons and Doves of the World.**, The Auk. 118 (4). pp 1117–1118, <https://doi.org/10.1093/auk/118.4.1117>
- de Souza, C. P., Guedes, T. de A., and Fontanetti, C. S. (2016).** Evaluation of herbicides action on plant bioindicators by genetic biomarkers: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*. 188(12): 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5702-8>
- Deng, Y., Zhang, Y., Lu, Y., Zhao, Y., and Ren, H. (2016).** Hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by the chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl metabolite, 3,5,6-trichloro-2-pyridinol, in orally exposed mice. *Science of the Total Environment*. 544: 507–514. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.162>
- Deveci, H., and Karapehlivan, M. (2018).** Chlorpyrifos-induced parkinsonian model in mice: Behavior, histopathology and biochemistry. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 144, 36–41.
- Di Pasquale, M. (1995).** Anabolic steroids substitutes from plants and herbs. *Drugs Sports*. 3:10–12.
- Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J. P., Giudice, L. C., Hauser, R., Prins, G. S., Soto, A. M., Zoeller, R. T., and Gore, A. C. (2009).** Endocrine-disrupting chemicals: An

- Endocrine Society scientific statement. *Endocrine Reviews*. 30(4): 293–342.  
<https://doi.org/10.1210/er.2009-0002>
- Dinchev, D., Janda, B., Evstatieva, L., Oleszek, W., Aslani, M. R., and Kostova, I. (2008).** Distribution of steroidal saponins in *Tribulus terrestris* from different geographical regions. *Phytochemistry*. 69(1): 176–186.  
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.07.003>
- Doncheva, N., Protich, M., Sheinkova, G., Kalinov, K., and Dobрева, D. (2006).** Effect of tribestan on lipid metabolism and hormonal status in men in andropause. *Bulg. Med.* 13(1): 8–11.
- Dutta, A. L., and Sahu, C. R. (2013).** Emblica officinalis Garden fruits extract ameliorates reproductive injury and oxidative testicular toxicity induced by chlorpyrifos in male rats. *SpringerPlus*. 2(1): 1–13. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-541>
- Eagappan, K., Sasikumar, S., Shah, D. B., and Aruna, V. (2015).** Impact of Cooked *Tribulus Terrestris* Fruit Extract on Lead Induced Hepato and Renal Toxicity. *American Journal of Ethnomedicine*. 2(1): 1–13. <http://www.ajethno.com>
- Eck-Varanka, B., Kováts, N., Hubai, K., Paulovits, G., Ferincz, Á., & Horváth, E. (2015).** Genotoxic effect of *Lythrum salicaria* extract determined by the mussel micronucleus test short communication. *Acta Biologica Hungarica*. 66(4): 460–463.  
<https://doi.org/10.1556/018.66.2015.4.10>
- El-Beih, N. M., Ramadan, G., Khorshed, M. A., and Ahmed, R. S. A. (2017).** Biochemical alterations in insecticides-treated male albino rats: Potential modulatory effects of a standardized aged garlic extract. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 16(2), 181–188.
- El-Demerdash, F. M., Yousef, M. I., Kedwany, F. S., and Baghdadi, H. H. (2004).** Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: Protective role of vitamin E and  $\beta$ -carotene. *Food and Chemical Toxicology*. 42(10): 1563–1571.  
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.05.001>
- El-Ghamery, A. A., El-Nahas, A. I., and Mansour, M. M. (2000).** The action of atrazine herbicide as an inhibitor of cell division on chromosomes and nucleic acids content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytologia*. 65(3): 277–287.  
<https://doi.org/10.1508/cytologia.65.277>
- Elgawish, A. R. R., Abdel, H. G., and Abdelrazek, H. M. A. (2015).** Green tea extract attenuates CCl<sub>4</sub>-induced hepatic injury in male hamsters via inhibition of lipid peroxidation and p53-mediated apoptosis. *Toxicology Reports*. 2: 1149–1156.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.08.001>

- Elzoghby, R. R., Hamoda, A. F., Abed-Ftah, A., and Farouk, M. (2014).** Protective role of vitamin C and green tea extract on malathion-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*. 9(3): 174–185. <https://doi.org/10.3844/ajptsp.2014.174-185>
- Ercan, P., and El, S. N. (2016).** Inhibitory effects of chickpea and *Tribulus terrestris* on lipase,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. *Food Chemistry*. 205: 163–169. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.012>
- Fabiny, D. ., and Ertingshausen, G. (1971).** Automated reaction rate method for determination of creatinine with the centrifichem. *Clinical Chemistry*. 17(8): 696–700.
- Fachinetto, J. M., and Tedesco, S. B. (2009).** Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 11(4): 360–367. <https://doi.org/10.1590/s1516-05722009000400002>
- Fagodia, S. K., Singh, H. P., Batish, D. R., and Kohli, R. K. (2017).** Phytotoxicity and cytotoxicity of *Citrus aurantiifolia* essential oil and its major constituents: Limonene and citral. *Industrial Crops and Products*. 108: 708–715. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.07.005>
- Falcón-Etchechury, M., Silveira-Gramont, M. I., Robles-Sánchez, R. M., Canett-Romero, R., Ramos-Enríquez, R., López-Cervantes, G., Rodríguez-Olibarría, G., Gutiérrez-Millán, L. E., and Aldana-Madrid, M. L. (2013).** Spirotetramat induce cambios histológicos y bioquímicos en rata wistar. In *Revista de Toxicología*. 30(2): 215–217.
- Fawcett, J. K., and Scott, J. E. (1960).** A rapid and precise method for the determination of urea. *Journal of Clinical Pathology*. 13: 156–159. <https://doi.org/10.1136/jcp.13.2.156>
- Firbas, P., and Amon, T. (2014).** Chromosome damage studies in the onion plant *Allium cepa* L. *Caryologia*. 67(1): 25–35. <https://doi.org/10.1080/00087114.2014.891696>
- Fiskesjo, G. (1985).** The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*. 12(102): 345–361. <https://doi.org/doi:10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>
- Fossati, P., and Prencipe, L. (1982).** Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry*. 28(10): 2077–2080.
- Fossati, P., Prencipe, L., and Berti, G. (1980).** Use of 3, 5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clinical Chemistry*. 26(2): 227–231. <https://doi.org/doi:10.1093/clinchem/26.2.227>
- Fraites, M. J. P., Cooper, R. L., Buckalew, A., Jayaraman, S., Mills, L., and Laws, S. C. (2009).** Characterization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to atrazine

- and metabolites in the female rat. *Toxicological Sciences*. 112(1): 88–99. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfp194>
- Frank, S. D., and Lebude, A. (2011).** Season-long insecticide efficacy for hemlock woolly adelgid, *Adelges tsugae* (Hemiptera: Adelgidae), management in nurseries. *Florida Entomologist*. 94(2): 290–295. <https://doi.org/10.1653/024.094.0223>
- Gaikwad, A. S., Karunamoorthy, P., Kondhalkar, S. J., Ambikapathy, M., and Beerappa, R. (2015).** Assessment of hematological, biochemical effects and genotoxicity among pesticide sprayers in grape garden. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 10(1): 1–6. <https://doi.org/10.1186/s12995-015-0049-6>
- Gauche, E., and Hausswirth, C. (2006).** Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice. *Science and Motricité*. 2(58): 43–66.
- Gauthaman, K., and Ganesan, A. P. (2008).** The hormonal effects of *Tribulus terrestris* and its role in the management of male erectile dysfunction – an evaluation using primates , rabbit and rat. *Phytomedicine*. 15: 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2007.11.011>
- Gauthaman, K., P, A., Ganesan, and Prasad, R. N. (2003).** Extract ( Protodioscin ): An Evaluation Using a Rat Model. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 9(2): 257–265.
- Ghareeb, D. A., ElAhwany, A. M. D., El-Mallawany, S. M., and Saif, A. A. (2014).** In vitro screening for anti-acetylcholinesterase, Anti-oxidant, Anti-glucosidase, Anti-inflammatory and anti-bacterial effect of three traditional medicinal plants. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 28(6): 1155–1164. <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.969877>
- Goldman, B. D. (2001).** Mammalian photoperiodic system: Formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. *Journal of Biological Rhythms*. 16(4): 283–301. <https://doi.org/10.1177/074873001129001980>
- Gong, Y., Shi, X., Desneux, N., and Gao, X. (2016a).** Effects of spirotetramat treatments on fecundity and carboxylesterase expression of *Aphis gossypii* Glover. *Ecotoxicology*. 25: 655–663. <https://doi.org/10.1007/s10646-016-1624-z>
- Gong, Y., Shi, X., Desneux, N., and Gao, X. (2016b).** Effects of spirotetramat treatments on fecundity and carboxylesterase expression of *Aphis gossypii* Glover. *Ecotoxicology*. 25(4): 655–663. <https://doi.org/10.1007/s10646-016-1624-z>
- Grove, T. H. (1979).** Effect of Reagent Ph on Determination of High-densityLipoprotein Cholesterol by Precipitationwith Sodium Phosphotungstate- Magnesium. *Clinicalchemistr*. 25(4): 560–564. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/clinchem/25.4.560>

- Hahn, T. P., and Macdougall-shackleton, S. A. (2008).** Adaptive specialization , conditional plasticity and phylogenetic history in the reproductive cue response systems of birds. *363(1490): 267-286.*<https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2139>
- Han, X., Shen, T., and Lou, H. (2007).** Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences. 8: 950–988.*
- Harborne, J. B., and Williams, C. A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry. 55(6): 481–504.* [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00235-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00235-1)
- Harwood Jr., H. J. (2005).** Treating the meytabolic syndrome: Acetyl-CoA carboxylase inhibition. *Expert Opinion on Therapeutic Targets. 9(2): 267–281.* <https://doi.org/10.1517/14728222.9.2.267>
- Hemalatha, S., and Hari, R. (2013).** Comparative antioxidant activities of crude ethanolic and saponin rich butanol extracts of *Tribulus terrestris* fruits . *Int J Pharma Biol Sc. 4(4): 784–793.*
- Henry, Ri. J. M. D., Golub, O. J., and Berkman, S. (1960).** Revised Spectrophotometric Methods for The Determination of Glutamic-oxalacetic Transaminase, Glutamic-pyruvic Transaminase, and Lactic acid Dehydrogenase. *American Journal of Clinical Pathology. 34: 381–398.* [https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ajcp/34.4\\_ts.381](https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ajcp/34.4_ts.381)
- Hong, C. H., Hur, S. K., Oh, O. J., Kim, S. S., Nam, K. A., and Lee, S. K. (2002).** Evaluation of natural products on inhibition of inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) in cultured mouse macrophage cells. *Journal of Ethnopharmacology. 83(1-2): 153–159.* [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00205-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00205-2)
- Hould, R. (1984).** Techniques d’histopathologie et de cytopathologie. *ED Maloine. 19–21, 225–7.*
- Houssou, A. M., Cocan, D., Bonou, C. A., Miresan, V., and Montchowui, E. (2018).** Survival and reproduction of Cyclops abyssorum (freshwater copepod) exposed to spirotetramat and 2,4-D. *Romanian Biotechnological Letters. 23(4): 13761–13770.* <https://doi.org/10.26327/RBL2018.174>
- Hussain, A. A., Mohammed, A. A., Ibrahim, H. H., and Abbas, A. H. (2009).** Study the biological activities of *Tribulus terrestris* extracts. *World Academy of Science, Engineering and Technology. 57: 433–435.* <https://doi.org/10.5281/zenodo.1085151>
- Hussein, J., Abo El-Matty, D., El-Khayat, Z., Abdel Latif, Y., Saleh, S., Farrag, A. R., and Abd-El-Ghany, W. (2016).** Kiwifruit extract attenuates DNA damage and vitamins reduction in indomethacin-induced experimental gastric ulcer. *Jokull. 65(12): 2–16.*
- Hussnain Siddique, M., Andleeb, R., Ashraf, A., Zubair, M., Fakhar-e-Alam, M., Hayat,**

- S., Muzammil, S., Atif, M., Shafeeq, S., and Afzal, M. (2022).** Integration of in silico and in vitro approaches to evaluate antioxidant and anticancer properties of *Tribulus terrestris* extracts. *Arabian Journal of Chemistry*. 15(8): 103984. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.103984>
- Issa, M., Chandel, S., Pal Singh, H., Rani Batish, D., Kumar Kohli, R., Singh Yadav, S., and Kumari, A. (2020).** Appraisal of phytotoxic, cytotoxic and genotoxic potential of essential oil of a medicinal plant *Vitex negundo*. *Industrial Crops and Products*. 145: 112083. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112083>
- Istiak, A., Hazra, P., Das, S. R., Hossain, M. I., Aminatu, A. S., and Rafiq, K. (2018).** Hypoglycemic, hypolipidemic and kidney protective potential of combined formulation of *Tribulus terrestris* and *Andrographis paniculata* in alloxan induced mice. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 12(21): 269–277. <https://doi.org/10.5897/AJPP2018.4928>
- Jayasree, U., Reddy, A. G., Reddy, K. S., Anjaneyulu, Y., and Kalakumar, B. (2003).** Evaluation of vitamin E against deltamethrin toxicity in broiler chicks. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*. 47(4): 447–452.
- Jindal, A., Kumar, P., and Gautam, K. (2013).** Evaluation of antibiotic potential of alkaloids of *Tribulus terrestris* L. against some pathogenic microorganisms. *International Journal of Green Pharmacy*. 7(2): 102–105. <https://doi.org/10.4103/0973-8258.116383>
- Johnston, R. F. (1992).** Geographic size variation in rock pigeons, *Columba livia*. *Bolletino Di Zoologia*. 59(1), 111–116. <https://doi.org/10.1080/11250009209386656>
- Kalefetoğlu Macar, T. (2020).** Investigation of cytotoxicity and genotoxicity of abamectin pesticide in *Allium cepa* L. *Environmental Science and Pollution Research*. 28(2): 2391–2399. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10708-0>
- Kalender, S., Uzun, F. G., Durak, D., Demir, F., and Kalender, Y. (2010).** Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology*. 48(2): 633–638. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.044>
- Kalender, Y., Kalender, S., Uzunhisarcikli, M., Ogutcu, A., Açikgoz, F., and Durak, D. (2004).** Effects of endosulfan on B cells of Langerhans islets in rat pancreas. *Toxicology*. 200(2–3): 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.03.017>
- Kalyabina, V. P., Esimbekova, E. N., Kopylova, K. V., and Kratasyuk, V. A. (2021).** Pesticides: formulants, distribution pathways and effects on human health - a review. *Toxicology Reports*. 8: 1179–1192. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.06.004>
- Kamboj, P., Aggarwal, M., Puri, S., and Singla, S. K. (2011).** Effect of aqueous extract of *Tribulus terrestris* on oxalate-induced oxidative stress in rats. *Indian Journal of Nephrology*. 21(3): 154–159. <https://doi.org/10.4103/0971-4065.83727>

- Kamenov, Z., Fileva, S., Kalinov, K., and Jannini, E. A. (2017).** Maturitas Evaluation of the efficacy and safety of *Tribulus terrestris* in male sexual dysfunction- A prospective , randomized , double-blind , placebo-controlled clinical trial. *Maturitas*. 99: 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2017.01.011>
- Kaplan, A., Rubaltelli, F. F., Hammerman, C., Vilei, M. T., Leiter, C., and Abramov, A. (1984).** Triglycerides. *Clin Chem The CV Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*, 437, 1194–1206.
- Karthikeyan, R., Anantharaman, P., Chidambaram, N., Balasubramanian, T., and Somasundaram, S. T. (2012).** Padina boergessenii ameliorates carbon tetrachloride induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Journal of King Saud University - Science*. 24(3): 227–232. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2011.03.002>
- Keshk, W. A., and Katary, M. A. (2016).** Transforming Growth Factor- $\beta$ 1/Smad3 Signaling and Redox Status in Experimentally Induced Nephrotoxicity: Impact of Carnosine. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 32(1): 19–25. <https://doi.org/10.1007/s12291-016-0564-y>
- Khaldoun-Oularbi, H., Allorge, D., Richeval, C., Lhermitte, M., and Djenas, N. (2015).** Emamectin benzoate (Proclaim ®) mediates biochemical changes and histopathological damage in the kidney of male Wistar rats (*Rattus norvegicus*). *Toxicologie Analytique et Clinique*. 27(2): 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.toxac.2014.11.002>
- Khallef, M., Benouareth, D. E., Konuk, M., Liman, R., Bouchelaghem, S., Hazzem, S., and Kerdouci, K. (2019).** The effect of silver nanoparticles on the mutagenic and the genotoxic properties of the urban wastewater liquid sludges. *Environmental Science and Pollution Research*. 26(18): 18403–18410. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05225-8>
- Kilany, O. E., Abdou, R. H., El-beltagy, M. A., and Hala, M. F. (2020).** Protective Effects of *Tribulus terrestris* Against Gentamicin Mediated Nephrotoxicity , Oxidative Damage and Apoptosis in Male Rats University. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences B. Zoology*. 12(1): 41–58.
- Kim, H. J., Kim, J. C., Min, J. S., Kim, M., Kim, J. A., Kor, M. H., Yoo, H. S., and Ahn, J. K. (2011).** Aqueous extract of *Tribulus terrestris* Linn induces cell growth arrest and apoptosis by down-regulating NF- $\kappa$ B signaling in liver cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 136: 197–203. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.04.060>
- Kistanova, E., Zlatev, H., Karcheva, V., and Kolev, A. (2005).** Effect of plant *Tribulus terrestris* extract on reproductive performances of rams. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 21(1–2): 55–63. <https://doi.org/10.2298/bah0502055k>
- Kojima, M., Ashino, T., Yoshida, T., Iwakura, Y., Sekimoto, M., and Degawa, M. (2009).** IL-1 regulates the Cyp7a1 gene and serum total cholesterol level at steady state in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 379: 239–242.

<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.12.032>

- Kokate, C., Purohit, A., and Gokhale, S. (2007).** Pharmacognosy (13th edn.). Nirali Prakashan Publisher.
- Koller, A. (1984).** Total serum protein. Clin Chem the C .V Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton, 1316–1324.
- Kuchy, A. H., Wani, A. A., & Kamili, A. N. (2015).** Cytogenetic effects of three commercially formulated pesticides on somatic and germ cells of *Allium cepa*. *Environmental Science and Pollution Research*. 23(7): 6895–6906. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5912-6>
- Kumar, A., Dandapat, S., Kumar, M., and Sinha, M. P. (2013).** Evaluation of Genotoxicity and Cytotoxicity of *Tinospora Cordifolia*. *The Bioscan*. 8(3): 1083–1088.
- Kumar, P., and Singh, P. (2016).** *Tribulus terrestris* ameliorates aluminium chloride – induced alterations in oxidative status and functional markers in the liver , kidney , brain , and testis of the laboratory mouse. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*. 53: 179–186.
- Kumar, R., Kumar, A., Sansthan, M. C., Kumar, S., Ali, M. S., Singh, J. K., Nath, A., and Ali, M. (2011).** Study of Bioremedial Impact of Curcumin on Chloropyrifos Induced Kidney Damage in Mice Pharmacie. *Pharmacie Globale*. 2011(5): 1–4. <https://www.researchgate.net/publication/266015237>
- Kumar, S., and Pandey, A. . (2013).** Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Sci World J*. 162750.
- Kumari, A., Arora, S., and Kaur, R. (2020).** Comparative cytotoxic and genotoxic potential of benzyl-butyl phthalate and di-n-butyl phthalate using *Allium cepa* assay. *Energy, Ecology and Environment*. 6(3): 244–257. <https://doi.org/10.1007/s40974-020-00186-y>
- Kumari, M., and Singh, P. (2015).** *Tribulus terrestris* ameliorates metronidazole-induced spermatogenic inhibition and testicular oxidative stress in the laboratory mouse. *Indian Journal of Pharmacology*. 47(3): 304–310. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.157129>
- Kundu, L. M., and Ray, S. (2017).** Mitotic abnormalities and micronuclei inducing potentials of colchicine and leaf aqueous extracts of *Clerodendrum viscosum* Vent. in *Allium cepa* root apical meristem cells. *Caryologia*. 70(1): 7–14. <https://doi.org/10.1080/00087114.2016.1254452>
- Labbe, D., Vassault, A., Cherruau, B., Baltassat, P., Bonete, R., Carroger, G., and Trepo, D. (1996).** Method selected for the determination of creatinine. *Annale de Biologie Clinique*. 54: 285–298.
- Leme, D. M., and Marin-Morales, M. A. (2009).** *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Reviews in Mutation Research*. 682(1): 71–81.

<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>

- Li, J., Lai, K., Feng, Q., Fan, Y., and Zhang, C. (2015).** Effects of spirotetramat on acute toxicity and apoptosis of zebra fish. *Chin J Trop Agric.* 35(5): 45–49.
- Li, M., Qu, W., Wang, Y., Wan, H., and Tian, C. (2002).** Hypoglycemic effect of saponin from *Tribulus terrestris*. *Zhong Yao Cai. Journal of Chinese Medicinal Materials.* 25(6): 420–422.
- Li M, W, Q., Y, W., H, W., and C, T. (2002).** Hypoglycemic effect of saponin from *Tribulus terrestris*. *Journal of Chinese Medicinal Materials.* 25(4): 420–422.
- Li, N., Huang, L., and Zeng, P. (2013).** Influence of gross saponins from *Tribulus terrestris* L. on SOD activity and MDA content for chronic high intraocular pressure in rabbit. *Int Eye Sci.* 13(5): 854–856.
- Lin, X., Zhang, S., Huang, Q., Wei, L., Zheng, L., Chen, Z., Jiao, Y., Huang, J., Fu, S., and Huang, R. (2012).** Protective effect of Fufang-Liu-Yue-Qing, a traditional Chinese herbal formula, on CCl<sub>4</sub> induced liver fibrosis in rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 142(2): 548–556. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.05.040>
- Lirette, A., Robinson, A., R., C., C, D., Lawson, P. ., Firth, N. L., Crober, D. C., Lawson, P. D., Firth, N. L., and Robinson, A. R. (1993).** Effect of oat bran, cotton seed hulls and guar gum on chicken egg and blood lipids during the early laying period. *Canadian Journal of Animal Science.* 73(3): 673–677. <https://doi.org/10.4141/cjas93-074>
- Liu, J. (2011).** Physiological Responses of Rat to Spirotetramat and its Detection Methods. In Northeast Agricultural University. Ha'er bin (In Chinese).
- Lombardo, S., Pandino, G., Mauromicale, G., Knödler, M., Carle, R., and Schieber, A. (2010).** Influence of genotype, harvest time and plant part on polyphenolic composition of globe artichoke [*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori]. *Food Chemistry.* 119(3): 1175–1181. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.033>
- Lum, G., and Gambino, S. R. (1972).** Serum Gamma-Glutamyl Transpeptidase Activity as an Indicator of Disease of Liver, Pancreas, or Bone. *Clinical Chemistry.* 18(4): 358–362. <https://doi.org/doi:10.1093/clinchem/18.4.358>
- Macar, O. (2021).** Multiple toxic effects of tetraconazole in *Allium cepa* L. meristematic cells. *Environmental Science and Pollution Research.* 28(8): 10092–10099. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11584-4>
- Marcic, D., Mutavdzic, S., Medjo, I., Prijovic, M., and Peric, L. (2011).** Spirotetramat toxicity to immatures and sublethal effects on fecundity of female adults of *Tetranychus urticae* Koch. *Zoosymposia* 6 (6): 99–103.

- Malpaux, B., Vigié, C., Thiéry, J. C., and Chemineau, P. (1996).** Contrôle photopériodique de la reproduction. *Productions Animales*. 9(1): 9–23. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.1996.9.1.4031>
- Maronpot, R. R. (2015).** Toxicological assessment of Ashitaba Chalcone. *Food and Chemical Toxicology*. 77: 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.12.021>
- Maus, C. (2008).** Ecotoxicological Profile of the Insecticide Spirotetramat. *Bayer CropScience Journal*. 61(2): 158–180.
- Mccormack, C. (2009).** Evaluation of the new active Spirotetramat in the product Movento 240 SC Insecticide. *Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority, April*. 1–58.
- Meena, P., Anand, A., and Vishal. (2019).** A comprehensive overview of Gokshura (*Tribulus terrestris* Linn.). *Journal of Ayurveda and Integrated Medical Sciences*. 4(6): 205–211. [www.jaims.in](http://www.jaims.in)
- Meiattini, F., Prencipe, L., Bardelli, F., Gianninl, G., and Tarli, P. (1978).** The 4-Hydroxybenzoate/4-Aminophenazone Chromogenic System Used in the Enzymic Determination of Serum Cholesterol. *Clinicalchemistr.* 24(12): 2161–2165. <https://doi.org/doi:10.1093/clinchem/24.12.2161>
- Mikolaenko, I., Benson, E., Konrad, R. J., Chaffin, C., Robinson, C. A., and Hardy, R. W. (2000).** Evaluation of the Beckman Coulter LX20 clinical chemistry analyzer. *Laboratory Medicine*. 31(7): 387–393. <https://doi.org/10.1309/UREA-EU4H-UM16-3B2W>
- Mitra, A., and Maitra, S. K. (2018).** Reproductive Toxicity of Organophosphate Pesticides. *Annals of Clinical Toxicology*. 1(1): 1–9.
- Mohammed, A. A., Al-Amiery, A. A. H., Al-Mosowy, H. H. I., and Abbas, A. H. (2010).** Study the biological activities of terrestris extracts. *Journal of Biotechnology Research Center (Special)*. 4(1): 55–60. <https://doi.org/10.24126/jobrc.2010.4.1.95>
- Mohammed, M. J. (2008).** Biological Activity of Saponins Isolated from *Tribulus terrestris* (Fruit ) on Growth of Some Bacteria Abstract : Introduction : Material And Methods : Results And Discussion : *Tikrit Journal of Pure Science*. 13(3): 1-4
- Mohammed, M. S., Khalid, H. S., Osman, W. J. A., and Muddathir, A. K. (2014).** A Review on Phytochemical Profile and Biological Activites of Three Anti-Inflammatory Plants used in Sudanese Folkloric Medicine. *American Journal of Pharmtech Research*. 4(4): 1–14.
- Mossa, A. H., Swelam, E. S., and Mohafrash, S. M. M. (2015).** Sub-chronic exposure to fipronil induced oxidative stress , biochemical and histopathological changes in the liver and kidney of male albino rats. 2: 775–784.

- Mostafalou, S., and Abdollahi, M. (2013).** Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 268(2): 157–177. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.01.025>
- Mu, X., Huang, Y., Li, J., Yang, K., Yang, W., Shen, G., Li, X., Lei, Y., Pang, S., Wang, C., Li, X., & Li, Y. (2018).** New insights into the mechanism of phthalate-induced developmental effects. *Environmental Pollution*. 241: 674–683. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.095>
- Murray, R. (1984).** Alanine aminotransferase. Clin Chem. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. 1088–1090.
- Mustafa, Y., and Suna Arikan, E. (2008).** Genotoxicity testing of quizalofop-P-ethyl herbicide using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Caryologia*. 61(1): 45–52. <https://doi.org/10.1080/00087114.2008.10589608>
- Naito, H., and Kaplan, K. et al. (1984).** HDL Cholesterol. Clin. Chem. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. 1207–1213 and 437.
- Nakane, Y., and Yoshimura, T. (2010).** Deep brain photoreceptors and a seasonal signal transduction cascade in birds. *Cell and Tissue Research*. 342 (3): 341–344. <https://doi.org/10.1007/s00441-010-1073-6>
- Naseri, L., Bazm, M. A., and Khazaei, M. (2019).** A review on therapeutic effects of *Tribulus terrestris*. *Journal of Medicinal Plants*. 18 (72): 1–22. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.29252/jmp.4.72.1>
- Nasir, O., Alqadri, N., Elsayed, S., Ahmed, O., Alotaibi, S. H., Baty, R., Omer, H., Abushal, S. A., and Umbach, A. T. (2020).** Comparative efficacy of Gum Arabic ( *Acacia senegal* ) and *Tribulus terrestris* on male fertility. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 28(12): 1791–1796. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2020.11.005>
- Nauen, R., Reckmann, U., Thomzik, J., and Thielert, W. (2007).** Biological profile of Spirotetramat ( Movento ) - a new two way systemic (amimobile) insecticide against sucking pests. *Bayer CropScience Journal*. 61(2): 245–277.
- Naumann, J. A. (1823).** Naturgeschichte der Vögel Deutschlands: *nach eigenen Erfahrungen entworfen* (Vol. 3). Fleischer.
- Neychev, V., and Mitev, V. (2016).** Pro-sexual and androgen enhancing effects of *Tribulus terrestris* L.: Fact or Fiction. *Journal of Ethnopharmacology*. 179: 345–355. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.12.055>
- Neylanne, N., Muniz, P., Augusto, M., Félix, R., Costa, T., Pereira, S., Gustavo, L., Rocha, P., Miranda, J. R., Gilberto, M., Eduardo, J., Pereira, B., Kelly, S., and Bertolucci, V. (2015).** Sperm Quality and Testicular Histomorphometry of Wistar Rats Supplemented with Extract and Fractions of Fruit of *Tribulus terrestris* L. *Brazilian Archives of Biology*

- and Technology*. 58: 891–897. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132015060278>
- Nimavathi, V., Jayanthi, J., & Ragunathan, M. G. (2021a)**. Ameliorative Action of *Tribulus terrestris* on Atrazine Exposed Fresh Water Fish *Oreochromis mossambicus* (W. K. H. Peters, 1852). *Uttar Pradech Journal OF Zoology*. 42 (19): 11–16.
- Nimavathi, V., Jayanthi, J., and Ragunathan, M. G. (2021b)**. Protective Efficacy of *Tribulus terrestris* on Atrazine Exposed Fresh Water Fish *Oreochromis mossambicus* (W.K.H Peters, 1952). *Uttar Pradech Journal OF Zoology*. 42(19): 73–81.
- Ouyang, Y., Montez, G. H., and Grafton-cardwell, E. E. (2011)**. Spirodiclofen and Spirotetramat bioassays for monitoring resistance in citrus red mite , *Panonychus citri* ( Acari : Tetranychidae ). *Research Article*. 68: 781–787. <https://doi.org/10.1002/ps.2326>
- Özkara, A., Akyıl, D., Eren, Y., and Erdoğan, S. F. (2015)**. Potential cytotoxic effect of Anilofos by using *Allium cepa* assay. *Cytotechnology*. 67(5): 783–791. <https://doi.org/10.1007/s10616-014-9716-1>
- Pahwa, R., and Chatterjee, V. (1990)**. The toxicity of yellow oleander (*Thevetia neriifolia juss*) seed kernels to rats. *Veterinary and Human Toxicology*. 32(6): 561–564.
- Pandey, S. P., Tsutsui, K., and Mohanty, B. (2017)**. Endocrine disrupting pesticides impair the neuroendocrine regulation of reproductive behaviors and secondary sexual characters of red munia (*Amandava amandava*). *Physiology and Behavior*. 173: 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.01.030>
- Parton, R. G., and Hancock, J. F. (2004)**. Lipid rafts and plasma membrane microorganization: Insights from Ras. *Trends in Cell Biology*. 14(3): 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2004.02.001>
- Pavin, N. F., Izaguirry, A. P., Soares, M. B., Spiazzi, C. C., Sebastian, A., Mendez, L., Leivas, F. G., Brum, S., Weber, F., and Cibin, S. (2018)**. *Tribulus terrestris* Protects against Male Reproductive Damage Induced by Cyclophosphamide in Mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5758191>
- Perera, A. D. (1992)**. in Vitro : The Dynamics Hormone Release from of the Japanese Quail. *Endocrinology*. 131(6): 2898–2908.
- Ping He, Wei, E., Wang, R., Wang, Q., Zhang, Y., Tang, X., Zhu, F., and Shen, Z. (2022)**. The spirotetramat inhibits growth and reproduction of silkworm by interfering with the fatty acid metabolism. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 188 (105282). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105282>
- PRD. (2008)**. Projet de Décision d’Homologation du spirotétramate. Publication Par l’Agence de Réglementation de La Lutte Antiparasitaire de Santé Canada. P.134.
- Proença da Cunha, A., da Silva, A. P., and Roque, O. R. (2012)**. Plantas e Produtos Vegetais

em Fitoterapia (4a Edição).

- Qari, S. H., and El-Assouli, S. M. (2019).** Evaluation of cytological and genetic effects of *Tribulus terrestris* fruit aqueous extract on cultured human lymphocytes. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 26 (1): 91–95. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.01.012>
- Qu, N. N., and Yang, S. S. (2007).** Extraction and determination of chemical constituents of flavonoides in *Tribulus terrestris* L. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*. 9 (3): 182–183.
- Quicke, J. G., Conaghan, P. G., Corp, N., and Peat, G. (2022).** Osteoarthritis year in review 2021: epidemiology and therapy. *Osteoarthritis and Cartilage*. 30 (2): 196–206. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2021.10.003>
- Raja, M., Al-Fatah, A., Ali, M., Afzal, M., Hassan, R. A. H., Menon, M., and Dhami, M. S. I. (1992).** Modification of liver and serum enzymes by paraquat treatment in rabbits. *Drug Metabolism and Drug Interactions*. 10(4): 279–292. <https://doi.org/10.1515/DMDI.1992.10.4.279>
- Ramaiah, S. K. (2007).** A toxicologist guide to the diagnostic interpretation of hepatic biochemical parameters. *Food and Chemical Toxicology*. 45(9). 1551–1557. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.06.007>
- Rambo, C. L., Zanotelli, P., Dalegrave, D., De Nez, D., Szczepanik, J., Carazek, F., Francescon, F., Rosemberg, D. B., Siebel, A. M., and Magro, J. D. (2017).** Hydropower reservoirs: cytotoxic and genotoxic assessment using the *Allium cepa* root model. *Environmental Science and Pollution Research*. 24 (9): 8759–8768. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8509-4>
- Ranjithkumar, R., Alhadidi, Q., Shah, Z. A., and Ramanathan, M. (2019).** Tribulusterine Containing *Tribulus terrestris* Extract Exhibited Neuroprotection Through Attenuating Stress Kinases Mediated Inflammatory Mechanism: In Vitro and In Vivo Studies. *Neurochem. Res*. 44: 1228–1242.
- Raofi, A., Khazaei, M., and Ghanbari, A. (2015).** Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of *Tribulus Terrestris* on Cisplatin Induced Renal Tissue Damage in Male Mice. *International Journal of Preventive Medicine*. 6 (11). <https://doi.org/10.4103/2008-7802.151817>
- Recio, R., Ocampo-Gómez, G., Morán-Martínez, J., Borja-Aburto, V., López-Cervantes, M., Uribe, M., Torres-Sánchez, L., and Cebrián, M. E. (2005).** Pesticide exposure alters follicle-stimulating hormone levels in Mexican agricultural workers. *Environmental Health Perspectives*. 113(9): 1160–1163. <https://doi.org/10.1289/ehp.7374>
- Refinetti, R. (2019).** *Circadian physiology*. CRC press.
- Reshma, P. L., Lekshmi, V. S., Sankar, V., and Raghu, K. G. (2015).** *Tribulus terrestris*

- (Linn.) attenuates cellular alterations induced by ischemia in H9c2 cells via antioxidant potential. *Phytotherapy Research*. 29(6): 933–943. <https://doi.org/10.1002/ptr.5336>
- Rety, J., Briand, O., Merlo, M., and Volatier, J.-L. (2012).** Estimation of the contribution to total dietary pesticide residue exposure of drinking water exposure in metropolitan France. *Environnement, Risques and Santé*. 11(4): 311–315. <https://doi.org/10.1684/ers.2012.0549>
- Rey, R. A. (2014).** Mini-puberty and true puberty: Differences in testicular function. *Annales d'Endocrinologie*. 75(2): 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2014.03.001>
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., and Paganga, G. (1996).** Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20(7): 933–956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
- Risk, F. R. (1996).** Guidelines for Reproductive Toxicity Risk Assessment. *Risk Assessment Forum U.S. Environmental Protection Agency Washington*. 61(212): 1–143.
- Rjeibi, I., Ben Saad, A., and Hfaiedh, N. (2016).** Oxidative damage and hepatotoxicity associated with deltamethrin in rats: The protective effects of *Amaranthus spinosus* seed extract. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 84: 853–860. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.10.010>
- Rojas, E., Herrera, L. A., Sordo, M., Gonsebatt, M. E., Montero, R., Rodriguez, R., and Ostrosky-Wegman, P. (1993).** Mitotic index and cell proliferation kinetics for identification of antineoplastic activity. *Anti Cancer Drugs*. 4(6): 637–640.
- Rosculete, C. A., Bonciu, E., Rosculete, E., and Olaru, L. A. (2018).** Determination of the environmental pollution potential of some herbicides by the assessment of cytotoxic and genotoxic effects on *Allium cepa*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 16(1): 75. <https://doi.org/10.3390/ijerph16010075>
- Rua, M. A. S., Quirino, C. R., Veja, W. H. O., Bartholazzi Junior, A., Bastos, R., Matos, L. F., and David, C. M. G. (2017).** Biometric testicular and serum testosterone concentration of Brazilian ponies stallions. *Revista Brasileira de Saude e Producao Animal*. 18(1): 204–210. <https://doi.org/10.1590/s1519-99402017000100019>
- Ruiz-Olvera, S. F., Rajmil, O., Sanchez-Curbelo, J. R., Vinay, J., Rodriguez-Espinosa, J., and Ruiz-Castañé, E. (2018).** Association of serum testosterone levels and testicular volume in adult patients. *Andrologia*. 50(3): 1–6. <https://doi.org/10.1111/and.12933>
- Sabeen, M., Mahmood, Q., Ahmad Bhatti, Z., Faridullah, Irshad, M., Bilal, M., Hayat, M. T., Irshad, U., Ali Akbar, T., Arslan, M., and Shahid, N. (2020).** *Allium cepa* assay based comparative study of selected vegetables and the chromosomal aberrations due to heavy metal accumulation. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 27(5): 1368–1374. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.12.011>

- Sadov, S., Koskenniemi, J. J., Virtanen, H. E., Perheentupa, A., Petersen, J. H., Skakkebaek, N. E., Main, K. M., and Toppari, J. (2016).** Testicular growth during puberty in boys with and without a history of congenital cryptorchidism. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 101(6): 2570–2577. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-3329>
- Samani, N. B., Jokar, A., Soveid, M., Heydari, M., and Mosavat, S. H. (2016).** Efficacy of the Hydroalcoholic Extract of *Tribulus terrestris* on the Serum Glucose and Lipid Profile of Women With Diabetes Mellitus: A Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 21(4): 91–97. <https://doi.org/10.1177/2156587216650775>
- Sanagoo, S., Sadeghzadeh Oskouei, B., Gassab Abdollahi, N., Salehi-Pourmehr, H., Hazhir, N., and Farshbaf-Khalili, A. (2019a).** Effect of *Tribulus terrestris* L. on sperm parameters in men with idiopathic infertility: A systematic review. *Complementary Therapies in Medicine*. 42: 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2018.09.015>
- Sanagoo, S., Sadeghzadeh Oskouei, B., Gassab Abdollahi, N., Salehi-Pourmehr, H., Hazhir, N., and Farshbaf-Khalili, A. (2019b).** Effect of *Tribulus terrestris* L. on sperm parameters in men with idiopathic infertility: A systematic review. In *Complementary Therapies in Medicine* 42: 95–103). Churchill Livingstone. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2018.09.015>
- Sasipriya, G., and Siddhuraju, P. (2012).** Effect of different processing methods on antioxidant activity of underutilized legumes, Entada scandens seed kernel and Canavalia gladiata seeds. *Food and Chemical Toxicology*. 50(8): 2864–2872. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.05.048>
- Saudan, C., Baume, N., Emery, C., Strahm, E., and Saugy, M. (2008).** Short term impact of *Tribulus terrestris* intake on doping control analysis of endogenous steroids. *Forensic science international*. 178(1): 7-10. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2008.01.003>
- Saxena, N., and Argal, A. (2015).** Study of antiurolithiatic activity of a formulated herbal suspension. *Herba Polonica*. 61(2), 41–49. <https://doi.org/10.1515/hepo-2015-0014>
- Schultz, A. (1984).** Uric acid. Kaplan, A. et al., Clin Chem the C.V Mosby Co. St Louis.Toronto. Princeton. 1261–1266, 418.
- Schummer, C., Salquèbre, G., Briand, O., Millet, M., and Appenzeller, B. M. R. (2012).** Determination of farm workers' exposure to pesticides by hair analysis. *Toxicology Letters*. 210(2): 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.11.019>
- Science, bayer crop. (2012).** fiche de données de sécurité conformément au règlement (CE) No.1907/2006. *Bayer CropScience*. 1907: 1–8.
- Semerdjieva, I. B., and Zheljaskov, V. D. (2019).** Chemical Constituents, Biological

- Properties, and Uses of *Tribulus terrestris*: A Review. *Natural Product Communications*. 14(8), 1–26. <https://doi.org/10.1177/1934578X19868394>
- Shakeel Ahmed Memon, Memon, N., Shaikh, S. A., and Shaikh, N. (2020).** Hepatotoxic effects on subchronic exposure to chlorpyrifos insecticide in Pigeon (*Columba livia domestica*). *Pure and Applied Biology*. 9(1): 172–179. <https://doi.org/10.19045/bspab.2020.90021>
- Shalaby, M. A., and Hammouda, A. A. E.-K. (2014).** Assessment of protective and antioxidant properties of *Tribulus terrestris* fruits against testicular toxicity in rats. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. 3(3): 113–118. <https://doi.org/10.5455/jice.20140627123443>
- Sharma, A, and Sharma, A. (2014).** Chromosome techniques: theory and practice. *Butterworth-Heinemann*.
- Sharma, Anita, Singh, H. P., Batish, D. R., and Kohli, R. K. (2019).** Chemical profiling, cytotoxicity and phytotoxicity of foliar volatiles of *Hyptis suaveolens*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 171: 863–870. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.091>
- Sharma, M., Arya, D., Bhagour, K., and Gupta, R. S. (2020).** Androgenic and spermatogenic potential of methanolic extracts of *Tribulus terrestris* in reproductively disrupted male albino rats. *Plant Archives*. 20: 1743–1747.
- Sharma, Y., Bashir, S., Irshad, M., Gupta, S. D., and Dogra, T. D. (2005).** Effects of acute dimethoate administration on antioxidant status of liver and brain of experimental rats. *Toxicology*. 206(1): 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.06.062>
- Sharp, P. J. (2005).** Photoperiodic regulation of seasonal breeding in birds. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1040 (44): 189–199. <https://doi.org/10.1196/annals.1327.024>
- Sharp, P. J., and Blache, D. (2003).** A neuroendocrine model for prolactin as the key mediator of seasonal breeding in birds under long- and short-day photoperiods. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 81(4): 350–358. <https://doi.org/10.1139/y03-025>
- Sheikh, N., Patowary, H., and Laskar, R. A. (2020).** Screening of cytotoxic and genotoxic potency of two pesticides (malathion and cypermethrin) on *Allium cepa* L. *Molecular and Cellular Toxicology*. 16(3): 291–299. <https://doi.org/10.1007/s13273-020-00077-7>
- Sheweita, S., Salama, B., and Hassan, M. (2015).** Erectile dysfunction drugs and oxidative stress in the liver of male rats. *Toxicology Reports*. 2: 933–938. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.06.002>
- Silini, S., Slimani, S., Abednnour, C., and Zaaboub, S. (2022).** Hepatotoxicity induced by chronic exposure to deltamethrin, abamectin and their mixture in male pigeon (*Columba*

- livia domestica*). *Uttar Pradesh Journal of Zoology*. 43(20): 62–69. <https://doi.org/10.56557/upjoz/2022/v43i203199>
- Silveira, G. L., Lima, M. G. F., Reis, G. B. dos, Palmieri, M. J., and Andrade-Vieria, L. F. (2017)**. Toxic effects of environmental pollutants: Comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L. *Chemosphere*. 178: 359–367. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.048>
- Singleton, V. L., and Rossi, J. A. (1965)**. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 144–153.
- Slimani, S., Boulakoud, M. S., Abdennour, C., and Gueddah, D. (2014)**. Antracol administration has disturbed the reproductive cycle of domestic pigeon *Columba livia domestica*. *Advances in Environmental Biology*. 8(24): 82–91.
- Slimani, S., Rehal, Y., Nacer, D. S., Abdennour, C., and Boulakoud, M. S. (2015)**. Exposure to low dose of maneb could affect some biological markers of pigeon *Columba livia domestica*. 7(9): 256–264.
- Slmani, S., Silni, S., Abednnour, C., and Nassar, M. (2021)**. The fungicide thiram induced hepatic and renal injuries in domestic pigeons (*Columba livia domestica*). *Annals of Clinical and Analytical Medicine*. 12(05): 547–552. <https://doi.org/10.4328/acam.20620>
- Song, S., Fajol, A., Chen, Y., Ren, B., and Shi, S. (2018)**. Anticonvulsive effects of protodioscin against pilocarpine-induced epilepsy. *European Journal of Pharmacology*. 833: 237–246. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.06.006>
- Song, Y. H., Kim, D. W., Curtis-Long, M. J., Park, C., Son, M., Kim, J. Y., Yuk, H. J., Lee, K. W., and Park, K. H. (2016)**. Cinnamic acid amides from *Tribulus terrestris* displaying uncompetitive  $\alpha$ -glucosidase inhibition. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 114: 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.02.044>
- Staykova, T., Ivanova, E., and Velcheva, I. (2005)**. Cytogenetic effect of heavy metal and cyanide in contaminated waters from the region of southwest Bulgaria. *J Cell Mol Biol*. 4: 41–46.
- Stefănescu, R., Tero-Vescan, A., Negroiu, A., Aurică, E., and And Camil-Eugen Vari. (2020)**. A Comprehensive Review of the Phytochemical , Pharmacological , and Toxicological Properties of. *Biomolecules*. 10(752): 1–32.
- Stewart, T. M., Liu, D. Y., Garrett, C., Jørgensen, N., Brown, E. H., and Baker, H. W. G. (2009)**. Associations between andrological measures, hormones and semen quality in fertile Australian men: Inverse relationship between obesity and sperm output. *Human Reproduction*. 24(7): 1561–1568. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep075>

- Su, L., Chen, G., Feng, S. G., Wang, W., Li, Z. F., Chen, H., Liu, Y. X., and Pei, Y. H. (2009).** Steroidal saponins from *Tribulus terrestris*. *Steroids*. 74(4–5): 399–403. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2008.12.008>
- Sugunavarman, T., Jagadeesan, G., and Samipillai, S. S. (2010).** *Tribulus terrestris* extract protects against mercury-induced oxidative tissue damage in mice. 59–65.
- Sultana, B., and Anwar, F. (2008).** Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chemistry*. 108 (3): 879–884. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.053>
- Sur, R. (2008).** Metabolism of spirotetramat in plants. *Bayer CropScience Journal*. 61(2): 227–244.
- Tang, Y. N., Pang, Y. X., He, X. C., Zhang, Y. Z., Zhang, J. Y., Zhao, Z. Z., Yi, T., and Chen, H. B. (2015).** UPLC-QTOF-MS identification of metabolites in rat biosamples after oral administration of Dioscorea saponins: A comparative study. *Journal of Ethnopharmacology*. 165: 127–140. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.02.017>
- Taylor, M. (2020).** *The Pocket Book of Bird Anatomy*. Bloomsbury Publishing. pp. 379.
- Tian, C., Chang, Y., Zhang, Z., Wang, H., Xiao, S., Cui, C., and Liu, M. (2019).** Extraction technology, component analysis, antioxidant, antibacterial, analgesic and anti-inflammatory activities of flavonoids fraction from *Tribulus terrestris* L. leaves. *Heliyon*. 5(8). e02234. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02234>
- Tilwari, A., Shukla, N. P., and P, U. D. (2011).** Effect of five medicinal plants used in Indian system of medicines on immune function in Wistar rats. *African Journal of Biotechnology*, 10(73). 16637–16645. <https://doi.org/10.5897/AJB10.2168>
- Tocher, D. R. (2003).** Reviews in Fisheries Science Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Reviews in Fisheries Science*. 11(2): 107–184.
- Tokuşoğlu, Ö., Ünal, M. K., & Yildirim, Z. (2003).** HPLC-UV and GC-MS characterization of the flavonol aglycons quercetin, kaempferol, and myricetin in tomato pastes and other tomato-based products. *Acta Chromatographica*. 13: 196–207.
- Toughan, H., Khalil, S. R., El-Ghoneimy, A. A., Awad, A., and Seddek, A. S. (2018).** Effect of dietary supplementation with *Spirulina platensis* on Atrazine-induced oxidative stress-mediated hepatic damage and inflammation in the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 149: 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.018>
- Trinder, P. (1969).** Determination of Glucose in Blood using Glucose Oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. Din. Biochem*. 6: 24–27.

- Ukani, M. D., Nanavati, D. D., and Mehta, N. K. (1997).** A review on the ayurvedic herb *Tribulus terrestris*. *Ancient Science of Life*. 17(2): 144150.
- USEPA. (2016).** Aquatic life benchmarks and ecological risk assessments for registered pesticides-spirotetramat-. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/aquatic-life-benchmarks-and-ecological-risk#benchmarks>.
- VKM, (vitenskapskomiteen for mattrygghel). (2012).** Risk assessment of the insecticide Movento 100SC with the active substance spirotetramat. *Norwegian Scientific Committee for Food Safety*. 13(203): 1–18.
- Weil, C. (1952).** Tables for convenient calculation of median effective dose (LD 50 or ED 50) and instructions in their use. *Biometrics*. 8: 249.
- Wierzbicka, M. (1988).** Mitotic disturbances induced by low doses of inorganic lead. *Caryologia*. 41(2): 143–160. <https://doi.org/10.1080/00087114.1988.10797856>
- Williamson, G. (2017).** The role of polyphenols in modern nutrition. *Nutrition Bulletin*. 42(3):
- Wingfield, J. ., and Farner, D. (1993).** Endocrinology of reproduction in wild species. In: Avian biology (eds. D.S. Farner, J.R. King and K.C. Parkes). *Academic Press, New York*, 163–327.
- Wise, T., Young, L. D., and Pond, G. (1993).** Reproductive, Endocrine, and Organ Weight Differences of Swine Selected for High or Low Serum Cholesterol. *J Anim Sci*. 71: 2732–2738. <https://doi.org/doi.org/10.2527/1993.71102732x>
- Wroblewski, F., and Ladue, J. S. (1956).** Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac with hepatic disease. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 91(4): 569–571. <https://doi.org/https://doi.org/10.3181/00379727-91-22330>
- WU, H., Fanglin, W., Guonian, Z., and Yonggen, L. (2012).** Study on distribution and metabolism of spirotetramat in rat. *Chinese Journal of Pesticide Science*. 14(4): 417–422.
- Xie, W., Wu, Q., Xu, B., Wang, S., and Zhang, Y. (2011).** Evaluation on the effect of spirotetramat on controlling Bemisia tabaci. *China Vegetables*. 14: 69–73.
- Xu, Y., Liu, P., Xu, S., Koroleva, M., Zhang, S., Si, S., & Jin, Z. . (2017).** Tannic acid as a plant- derived polyphenol exerts vasoprotection via enhancing KLF2 expression in endothelial cells. *Scientific Reports*. 7: 1–9.
- Yadav, H., Sharma, U., Singh, S., and Gupta, Y. (2019).** Effect of *Tribulus terrestris* in mercuric chloride-induced renal accumulation of mercury and nephrotoxicity in rat. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*. 10(3): 132–137. [https://doi.org/10.4103/japtr.JAPTR\\_386\\_18](https://doi.org/10.4103/japtr.JAPTR_386_18)

- Yang, J. L., and Chen, H. C. (2003).** Effects of gallium on common carp (*Cyprinus carpio*): Acute test, serum biochemistry, and erythrocyte morphology. *Chemosphere*. 53(8): 877–882. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00657-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00657-X)
- Yang, Y., T, W., K, H., and ZG, F. (1999).** effect of aerobic exercise and ginsenosides on lipid metabolism in diet-induced hyperlipidemia mice. *Zhongguo Yao Li Xue Bao, Acta Pharmacologica Sinica*. 20(6): 563–565.
- Yin, X. H., Jiang, S. J., Yu, J., Zhu, G. N., Wu, H. M., and Mao, C. L. (2014).** Effects of Spirotetramat on the acute toxicity, oxidative stress, and lipid peroxidation in Chinese toad (*Bufo bufo gargarizans*) tadpoles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 37(3): 1229–1235. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.04.016>
- YJ, X., SX, X., and HF, Z. (2001).** Studies on the chemical constituents from *Tribulus terrestris*. *Yao Xue Xue Bao = Acta Pharmaceutica Sinica*. 36(10): 750–753.
- Yokoyama, S. (2000).** Release of cellular cholesterol: Molecular mechanism for cholesterol homeostasis in cells and in the body. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 1529(1–3): 231–244. [https://doi.org/10.1016/S1388-1981\(00\)00152-9](https://doi.org/10.1016/S1388-1981(00)00152-9)
- Yoshimura, T. (2013).** Thyroid hormone and seasonal regulation of reproduction. *Frontiers in Neuroendocrinology Journal*. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2013.04.002>
- Yoshimura, T., Yasuo, S., Watanabe, M., Iigo, M., Yamamura, T., Hirunagi, K., and Ebihara, S. (2003).** Light-induced hormone conversion of T4 to T3 regulates photoperiodic response of gonads in birds. *Nature*. 426 (6963): 178–181. <https://doi.org/10.1038/nature02117>
- Younis, M. E., Abdel-Aziz, H. M. M., and Heikal, Y. M. (2019).** Nanopriming technology enhances vigor and mitotic index of aged *Vicia faba* seeds using chemically synthesized silver nanoparticles. *South African Journal of Botany*. 125: 393–401. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.08.018>
- Zang, Y., Fan, L., Chen, J., Huang, R., and Qin, H. (2018).** Improvement of Lipid and Glucose Metabolism by Capsiate in Palmitic Acid-Treated HepG2 Cells via Activation of the AMPK/SIRT1 Signaling Pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 66: 6772–6781. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01831>
- Ždralović, A., Mesic, A., Eminović, I., and Parić, A. (2019).** Cytotoxic and genotoxic activity of *Plantago major* l. Extracts. *Caryologia*. 72(3). 35–40. <https://doi.org/10.13128/caryologia-759>
- Zhang, J., Qian, L., Wang, C., Teng, M., Duan, M., Zhou, Y., Chen, X., Bo, R., Wang, C., and Li, X. (2020a).** Dysregulation of endocrine disruption, apoptosis and the transgenerational toxicity induced by spirotetramat. *Chemosphere*. 240. 124900. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124900>

- Zhang, J., Qian, L., Wang, C., Teng, M., Duan, M., Zhou, Y., Chen, X., Bo, R., Wang, C., and Li, X. (2020b).** Dysregulation of endocrine disruption , apoptosis and the transgenerational toxicity induced by spirotetramat. *Chemosphere*. 240. 124900. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124900>
- Zhang, J., Qian, L., Wang, C., Teng, M., Duan, M., Zhou, Y., Chen, X., Bo, R., Wang, C., and Li, X. (2020c).** Dysregulation of endocrine disruption, apoptosis and the transgenerational toxicity induced by spirotetramat. *Chemosphere*. 240. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124900>
- Zhang, X., Li, J., Ito, Y., and Sun, W. (2015).** Simultaneous quantification of five steroid saponins from *Dioscorea zingiberensis* C.H. Wright in rat plasma by HPLC-MS/MS and its application to the pharmacokinetic studies. *Steroids*. 93: 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.08.023>
- Zheleva-dimitrova, D., Obreshkova, D., and Nedialkov, P. T. (2012).** Antioxidant activity of *Tribulus terrestris*-a natural product in infertility therapy. *Int J Pharm Pharm Sci*. 4(4): 508-11.
- Zhu, W., Du, Y., Meng, H., Dong, Y., and Li, L. (2017a).** A review of traditional pharmacological uses, phytochemistry, and pharmacological activities of *Tribulus terrestris*. In *Chemistry Central Journal*. 60(11): 1–16. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0289-x>
- Zhu, W., Du, Y., Meng, H., Dong, Y., and Li, L. (2017b).** A review of traditional pharmacological uses, phytochemistry, and pharmacological activities of *Tribulus terrestris*. In *Chemistry Central Journal*. 11(1): 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0289-x>

# **PRODUCTION SCIENTIFIQUE**

## The insecticide spirotetramat may induce cytotoxic and genotoxic effects on meristematic cells of *Allium cepa* L. and *Vicia faba* L.

Ali Bouzekri<sup>1,2\*</sup>, Meryem Nassar<sup>1,2</sup> and Souheila Slimani<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, BP 26, University of 20 August 1955, El Hadaiek-Skikda route 21000, Algeria

<sup>2</sup>Laboratory of Research in Biodiversity Interaction, Ecosystem and Biotechnology, University of 20 August 1955 BP 26, El Hadaiek-Skikda route 21000, Algeria

Received January 13, 2023; accepted April 18, 2023

**Summary** Spirotetramat (SPT) is a new insecticide derivative of tetroneic acid used extensively in agriculture to enhance the protection of major food crops against scales and aphids. This study aims to determine SPT cytotoxic and genotoxic effects using two model plants, *Allium cepa* and *Vicia faba*. This evaluation consists of studying the root growth, morphology, and color and the parameters of mitotic index (MI) and chromosome aberrations (CAs) as accurate toxicity markers. Our results showed a significant decrease in mean root length in *A. cepa* from the 0.0025% concentration. In contrast, a substantial reduction in mean root length in *V. faba* recorded only at the 0.02% concentration. Furthermore, the MI was decreased proportionally with increasing concentration and time of exposure to SPT. A significant increase in CAs was observed in *A. cepa* and from the 0.0025% concentration after 24h of treatment. The substantial reduction in MI and abundance of CAs indicated strong genotoxicity of SPT. From the data obtained, it can be concluded that SPT could be absorbed by the exposed plant or other non-target organisms in the proximity, causing damage to agricultural plants, affecting their genomes, and harming the environment.

**Keywords** Spirotetramat, *Allium cepa*, *Vicia faba*, Mitotic index, Chromosome aberration.

Spirotetramat (SPT) is an innovative insecticide derivative of tetroneic acid developed by Bayer Crop Science (Germany). It possesses a new mode of action that is effective against various phloem-feeding insects, including scales, aphids, and whiteflies (Brück *et al.* 2009, Ouyang *et al.* 2011). Therefore, many researchers have explored the effects of SPT on the environment and non-target species. Yin *et al.* (2014) showed that SPT induces oxidative stress and lipid peroxidation in toad tadpoles at sublethal doses. Furthermore, SPT administration can cause gonadal damage and alter the endocrine system in zebrafish (Zhang *et al.* 2020). Researchers have long been interested in the genotoxic and cytotoxic effects of environmental contaminants such as pesticides. These molecules are highly bioactive due to their ability to interact with biological macromolecules, including DNA (de Souza *et al.* 2016).


Many studies use different bioassays to assess the cytotoxic and genotoxic effects of widely used herbicides,

insecticides, and fungicides, including the study of Sheikh *et al.* (2020), which has found that malathion and cypermethrin cause a significant cytotoxic and genotoxic effects on *A. cepa* roots. Furthermore, the results of Kuchy *et al.* (2015) on the two insecticides (endosulfan and dichlorvos) and the fungicide carbendazim and the findings of Macar (2021) on the fungicide tetraconazole showed the cytotoxic and genotoxic impact of these pesticides on onion meristematic cells. In addition, significant CAs and mitotic alterations were observed in *A. cepa* meristematic cells treated with the herbicides diuron (Chauhan *et al.* 1998) and quizalofop-p-ethyl and cycloxydim (Rosculete *et al.* 2018).

Modern agriculture's extensive use of pesticides affects crop genetics, human health, and the environment. Testing the cytotoxic and genotoxic effects of commonly used pesticides is necessary to determine the toxicity to plants and other organisms, requiring their prudent use in agriculture (Sheikh *et al.* 2020). Therefore, the present study aims to evaluate SPT's cytotoxic and genotoxic effects on two model plants, *A. cepa* and the analysis of different morphological and cytological parameters.

\* Corresponding author, e-mail: alibouzekri21@gmail.com

DOI: 10.1508/cytologia.88.225

 Licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-NC-SA 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc->



**Citation:** Ali Bouzekri, Meryem Nassar, Souheila Slimani, Zohra Chekroud (2023). Cytogenetic effects of *Tribulus terrestris* L. on meristematic cells of *Allium cepa* L. and *Vicia faba* L.. *Caryologia* 76(1): 77-86. doi: 10.36253/caryologia-2092

**Received:** March 22, 2023

**Accepted:** June 17, 2023

**Published:** September, 19, 2023

**Copyright:** © 2023 Ali Bouzekri, Meryem Nassar, Souheila Slimani, Zohra Chekroud. This is an open access, peer-reviewed article published by Firenze University Press (<http://www.fupress.com/caryologia>) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

**Competing Interests:** The Author(s) declare(s) no conflict of interest.

#### ORCID

AB: 0000-0002-1161-6957  
MN: 0000-0002-1161-6957  
SS: 0000-0002-2771-3727  
ZC: 0000-0002-9845-6027

## Cytogenetic effects of *Tribulus terrestris* L. on meristematic cells of *Allium cepa* L. and *Vicia faba* L.

ALI BOUZEKRI<sup>1,2,\*</sup>, MERYEM NASSAR<sup>1,2</sup>, SOUHEILA SLIMANI<sup>1,2</sup>, ZOHRA CHEKROUD<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, BP 26, University of 20 August 1955, El Hadaiek-Skikda route 21000, Algeria

<sup>2</sup> Laboratory of Research in Biodiversity Interaction, Ecosystem and Biotechnology "LRIBEB", University of 20 August 1955 BP 26, El Hadaiek-Skikda route 21000, Algeria

\*Corresponding author. E-mail: alibouzekri21@gmail.com

**Abstract.** *Tribulus terrestris* is a plant of the Zygophyllaceae family frequently used worldwide to treat various diseases due to the therapeutic effects of its pharmacological components. This study examines the cytotoxic and genotoxic effects of *T. terrestris* using two plant models, *Allium cepa* and *Vicia faba*. Extracts of 0.00625, 0.0125, 0.025, 0.05 and 0.1mg/mL were tested on meristematic cells of *A. cepa* and *V. faba* roots. This assessment includes the study of root growth, structure and coloration, as well as the determination of the mitotic index (MI) and chromosomal aberrations (CAs) as accurate indicators of toxicity. Our results showed a significant decrease in the mean length of roots treated with 0.025, 0.05 and 0.1 mg/ml for *A. cepa* and 0.1 mg/ml for *V. faba*. Cytotoxicity and genotoxicity results showed a significant decrease in MI from 0.025 mg/ml in *A. cepa* and from 0.05 mg/ml in *V. faba*, and this decrease in MI is linked to the increase in concentration and treatment time with *T. terrestris*. Furthermore, a significant increase in CAs was observed in *A. cepa* and *V. faba* from the 0.025 mg/ml concentration. The significant reduction in MI and CAs abundance suggests the genotoxicity of *T. terrestris*. Therefore, *T. terrestris* is a medicinal plant that should be used with caution, appropriately and based on essential therapeutic needs.

**Keywords:** *Tribulus terrestris*, *Allium cepa*, *Vicia faba*, cytotoxicity, genotoxicity.

### INTRODUCTION

Recently, there has been a rapid increase in the use of dietary supplements derived from bioactive compounds of plant origin (Izzo *et al.* 2016). Herbal medicines are often used because many people believe that all that is natural is not toxic or harmful to health. This is a mistaken belief, as many therapeutic plants have high toxicity and harmful effects on human health (Proença da Cunha *et al.* 2012). Many studies examine the biological effects of extracts from different plants for their potential therapeutic use. However, there is little data available on the cyto-genotoxic effects of most plants.



**TRIBULUS TERRESTRIS METHANOLIC EXTRACT MODULATES SPIROTETRAMAT-INDUCED LIVER AND KIDNEY TOXICITY IN DOMESTIC PIGEONS (*COLUMBA LIVIA DOMESTICA*)**A. Bouzekri<sup>1,2\*</sup>, S. Slimani<sup>1,2</sup>, M. Nassar<sup>1,2</sup>, C. Abdennour<sup>3</sup> and S. Heddami<sup>1</sup><sup>1</sup>Laboratory of Research in Biodiversity Interaction, Ecosystem and Biotechnology 'LRIBEB', University of 20 August 1955, Skikda, Algeria.<sup>2</sup> Department of Biology, University of 20 August 1955, Skikda, Algeria<sup>3</sup> Laboratory of Animal Ecophysiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University Badji Mokhtar-Annaba, Algeria.\*Corresponding author's email: [alibouzekri21@gmail.com](mailto:alibouzekri21@gmail.com)**ABSTRACT**

This research aimed to examine the protective effect of *Tribulus terrestris* (TT) methanolic extract against Spirotetramat-induced (SPT) liver and kidneys toxicity in adult domestic pigeons. Thirty male pigeons weighing  $309.20 \pm 14.41$ g were divided equally into six groups and were treated orally as follows: (CT) was used as the control, the SPT group received 15 mg/kg BW/day of SPT, the TT100 and TT50 groups were administered 100 and 50 mg/kg BW/day of TT, respectively, in addition to (SPT+ TT100) and (SPT + TT50) groups. After ten consecutive weeks of treatment, pigeons were sacrificed, and their livers and kidneys were weighed and examined. Plasma was also analyzed for hepatic and nephrotic markers represented by alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transferase (GGT), total proteins, urea, creatinine, glucose, and uric acid. The results showed that SPT administration induced a significant increase in liver and kidney weights, and plasma ALT, AST, GGT activities. The biochemical markers revealed increases in total proteins, urea, creatinine, glucose, and uric acid levels. However, the co-treatment of TT with SPT has restored liver and kidney weight, ALT, AST, GGT, and all other examined biochemical parameters. The histopathological examination showed necrotic and remarkable alterations in the liver and kidney tissues of the SPT group. However, combined treatment has reduced the hepatic and renal tissue injury induced by SPT alone. The present study demonstrated that TT possesses potential cytoprotective effects against hepato-nephrotoxicity caused by SPT.

**Keywords:** *Tribulus terrestris*, Spirotetramat, pigeons, liver, kidney

This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Published first online April 15, 2023

Published final August 04, 2023

**INTRODUCTION**

The liver and kidneys have complex structures where various metabolic activities occur, making them the target organs for multiple chemicals such as drugs and xenobiotics (Cataudella *et al.*, 2012). Hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by pesticides have been observed in albino rats (Benjamin *et al.*, 2006) and male albino mice (Arfat *et al.*, 2014). It is known that pesticides can cause cirrhosis, steatosis, hepatic fibrosis, and inflammation in the liver (Cataudella *et al.*, 2012). However, the nephrotoxicity is characterized by lower urine concentration, tubular proteinuria, decreased ammonium excretion, reduced creatinine clearance, diminished glomerular filtration rate, increased serum urea and creatinine, and provoked morphological changes of kidney tissues (Chinnala *et al.*, 2017).

SPT a novel insecticide derivative of tetroneic acid, is being developed to control scales and aphids

(Zhang *et al.*, 2020). SPT effects on the non-target animals have been studied, in which Yin *et al.* (2014) demonstrated that sub-lethal doses of SPT were mildly harmful to Chinese toad tadpoles. Wu *et al.* (2012) demonstrated that SPT might be absorbed and converted into metabolite residues in various organs and tissues. Liu (2011) reported that SPT had reduced rat weight and damaged hepatic and sexual organs. Furthermore, SPT increased acid phosphatase activity in rats, but decreased alkaline phosphatase and carboxyl esterase activity *in vivo*. Chen (2018) showed that SPT administration retarded the development of zebrafish embryos, induced oxidative stress, and reduced the activity and expression of target Acetyl CoA carboxylase, fatty acid synthesis, and sterol regulatory element associated genes. The findings obtained by González-marín *et al.* (2021) showed that Movento® 240SC insecticide is a genotoxic agent in *D. melanogaster* ovaries because it increased the genotoxic parameters (tail length, tail moment, and tail

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
 République Algérienne Démocratique et Populaire  
 وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
 Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
 المدرسة الوطنية العليا للبيطرة  
 École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger  
 مخبر البحث والصحة والإنتاج الحيواني  
 Laboratoire de Recherche Santé et Productions Animales

**ATTESTATION DE COMMUNICATION**  
 3<sup>e</sup> Webinaire International  
 Sécurité Alimentaire et Santé Animale  
 Enjeux et perspectives de la mise en œuvre de L'approche One Health en Algérie  
 9 et 10 juillet 2023

**Mr Bouzekri Ali**  
 a participé par une communication affichée intitulée :  
 « Le Pouvoir Anti-détoxifiant de Tribulus terrestris Contre La Toxicité Sur La Reproduction Induite Par Spirotetramat Chez Les Pigeons Domestiques (Columba livia domestica)»

**Présidente du Webinaire**  
  
**Pr. Meriem Hind Ben-Mahdi**

**Directrice du Laboratoire de Recherche SPA**  
  
**Pr. Hacina Ainbaziz**

Co-auteurs :




الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
 People's Democratic Republic of Algeria  
 وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
 Ministry of Higher Education and Scientific Research  
 قسم علوم الطبيعة والحياة - كلية العلوم - جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة -  
 UNIVERSITY 20 August 1955 - SKIKDA- Faculty of Sciences- Department of Natural and Life Sciences

**CERTIFICATE**  
 OF ATTENDANCE  
*Ali Bouzekri*  
 For attending :  
**1st International Seminar on Pollution, Health, Environment and Bio-monitoring**  
 SIPSEB'21 DECEMBER 27-28, 2021, SKIKDA, ALGERIA  
 And Presenting **Oral Communication** entitled :  
**L'Effet Toxique De L'Insecticide Spirotetramat Sur L'Activité De La Reproduction Chez Les Pigeons Domestiques Males (Columbia Livia Domestica)**  
**Authors: Ali Bouzekri Slimani Souheila Nasser Meryem**

CONFERENCE CHAIR  
 Dr. BOUCETTA Sabine  
 Maitre de Conférences .A

SIGNATURE  
 Université 20 Août 1955 Skikda  
 Faculté des Sciences  
 Séminaire International de Pollution, Santé, Environnement et Bio-monitoring  
 SIPSEB 2021








République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf Mila  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie  
Laboratoire des Sciences Naturelles et Matériaux



Organisent le 2<sup>ème</sup> Séminaire National en ligne sur  
**Etat des lieux, conservation et possibilités de valorisation des ressources biologiques en Algérie (SNECPVRBA'23)**  
12-13 Avril 2023

### Attestation de Participation

La présidente du séminaire national atteste que : **ALI BOUZEKRI**  
A présenté une **communication e-Poster** intitulée :  
Evaluation des effets amélioratifs de *Tribulus terrestris* sur les comportements sexuels des pigeons domestiques (*Columba livia domestica*)  
Co-auteurs : SOUHEILA SLIMANI

Présidente du Séminaire  
**Dr. BELATTAR HAKIMA**  
Présidente du 2<sup>ème</sup> Séminaire  
SNECPVRBA, 23

Directeur du laboratoire





People's Democratic Republic of Algeria  
Ministry of Higher Education & Scientific Research  
University of Echahid Hamma Lakhdar – El Oued, Algeria  
Faculty of Natural and Life Sciences



**1<sup>st</sup> International Seminar on Valorization of Bioresources in Environment & Health**  
**CERTIFICATE OF PARTICIPATION**

This Certifies That  
**(Mr., Ms.) BOUZEKRI. A**  
Département de biologie, université de 20 Aout 1955, Skikda, Algérie.

Presented a **Poster** at the “ 1<sup>st</sup> International Seminar on Valorization of Bioresources in Environment & Health (VBEH23) “ Organized on May 10-11, 2023 at the University of Echahid Hamma Lakhdar – El Oued, Algeria,  
Entitled: *Tribulus terrestris* peut améliorer les propriétés sexuelles des pigeons domestiques (*Columba livia domestica*)

President of the Seminar



Co-authors: SLIMANI. S, NASSAR. M





People's Democratic Republic of Algeria  
Ministry of Higher Education and Scientific Research

# CERTIFICATE

*Oral participation*

This certificate is delivered to :

*ALI BOUZEKRI*

For his/her oral participation entitled:

**POTENTIAL CYTOGENOTOXIC IMPACT OF TRIBULUS TERRESTRIS ON  
MERISTEMATIC CELLS OF ALLIUM CEPA L. AND VICIA FABA L.**

Co-Authors: MERYEM NASSAR, SOUHEILA SLIMANI

At the 1st International Webinar: Biodiversity Roles in Plants Protection-Arid Regions  
BRPP-AR 2023 (CRSTRA, Algeria)

President of webinar  
Dr. DEGHICHE DIALA



Director of CRSTRA  
Pr. Kecheb M. S.

