

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة  
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



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

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences-Biologiques  
Spécialité: Biochimie appliquée  
Intitulé:

Evaluation du potentiel allélopathique, cytotoxique, génotoxique  
de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii*.

Présenté Par :

- ✓ Mokhnèche Fatma Zohra
- ✓ Necib Ikram
- ✓ Mihoub Rania
- ✓ Messikh Ikram

Membre de Jury:

- ✓ Zadri Fethia (MCB) Président Université. Du 20 Août 1955 – Skikda
- ✓ Nassar Meryem (MCA) Promoteur Université. Du 20 Août 1955 – Skikda
- ✓ Boulechfar Safia (MCB) Examineur Université. Du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

# Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à exprimer notre gratitude envers Allah, le Tout-Puissant, c'est grâce à lui ce travail a été réalisé.*

*Nous souhaitons remercier chaleureusement notre encadreur Dr Nasser Meryem, d'avoir accordé l'honneur de superviser ce modeste travail. Nous sommes reconnaissants de sa disponibilité, de son précieux soutien, de sa patience, de la confiance qu'il a placée en nous et surtout de sa gentillesse.*

*Nous sincères remerciement vont à Dr Zadri Fethia d'avoir accepté la présidence du jury, ce qui nous honore. Nous remercions également le Dr Boulechfar Safia d'avoir accepté d'examiner notre mémoire, ce qui est un grand honneur pour nous.*

*Les travaux relatifs à ce mémoire ont été réalisés au laboratoire de Biochimie de Hall de Technologie. Nous tenons à remercier Mme Nassira pour sa contribution.*

*Enfin, nous souhaitons exprimer notre gratitude envers nos familles, nos amis et nos camarades qui nous ont apporté un soutien constant tout au long de ce travail.*

## ***Dédicace***

*Merci mon Dieu pour la patience, la compétence et le courage qu'Il m'a donnés pour en arriver là.*

*Avec tout mon amour et mes sentiments que je dédie ce travail*

*A ma très chère mère **Nadia** qui m'a donnée la vie ; qui m'a bercée et a veillée mes nuits ; celle qui n'a vécu que me voir un jour réussir.*

*A mon très cher père **Abdallah** qui a consacré sa vie ; et qui n'a jamais su dire non pour subvenir à mes besoins.*

*A ma très chère sœur **Amani** qui m'a fourni du courage, du soutien, et tous ces efforts et moyens pour que je termine mes études.*

*A mon très cher frère **Mohamed** pour son amour et encouragement, souviens-toi toujours que ta sœur est toujours là pour te protéger, te soutenir et t'aimer jusqu'à la fin des temps.*

*A l'âme de mon grand-père **Mahmoud** qui est toujours présent dans mon cœur, je prie Dieu pour lui accorder son infinie miséricorde et l'accueille dans son éternel paradis. Que Dieu le bénisse.*

*A mes grands-mères **Fatma** et **Zohra**.*

*A mes tantes, oncles, cousins et cousines.*

*A toute la famille **NECIB** et **BOUCHELLITE**.*

*A mes amies : **Sana**, **Zahra** et **Chaima**.*

*A tous ceux et toutes celles qui m'ont accompagné et soutenu durant ma vie.*

*A mes collègues **Fatma El Zahra**, **Ikram** et **Rania** que je remercie pour leur ponctualité, ainsi que leur volonté tout au long de la réalisation de ce travail.*

***NECIB Ikram***

## *Dédicace*

*Avant tout, je souhaite exprimer ma gratitude envers **Dieu** pour m'avoir doté de la capacité d'écrire et de réfléchir, ainsi que pour la force de croire en moi-même et la patience de poursuivre mes rêves.*

*Avec une profonde gratitude et un amour sincère, je dédie humblement ce travail :  
À ma mère, **Rebaï Aïcha** la femme la plus courageuse, sensible, généreuse, celle qui a su me donner amour et joie de vivre, celle qui a toujours montrée affection et compréhension à mon égard, ma mère j'aime.*

*À mon père, **Boudjema** qui a travaillé sans relâche pour ma réussite, à travers son amour, son soutien inconditionnel, les nombreux sacrifices consentis et ses précieux conseils, ainsi que pour sa présence précieuse dans ma vie.*

*À ma chère sœur, **Yamina**, j'en aurais long et beaucoup à dire, mais ce que je ressens le besoin de faire, c'est de te dire merci d'être avec moi.*

*À mes chers frères, **Houcine et Aymen** pour leur soutien et leurs encouragements tout au long de ce parcours.*

*À toute ma famille, qui a été une source d'inspiration et de soutien permanent.*

*A mes chères aïmes, **Rahma et Amira**, merci pour vos amours et vos encouragements.*

*À mon encadreur, qui a consacré son temps et ses efforts à la réalisation de cette recherche.*

*À mes collègues **Fatima Zohra, Ikram et Rania**, je vous remercie pour votre contribution et vos efforts dans la réalisation de ce travail.*

***Ikram Messikh***

## ***Dédicace***

*Je remercie tout d'abord le bon **Dieu** pour la volonté et la patience qu'il m'a donné durant ces longues années d'étude afin que je puisse arriver à ce stade.*

*Je dédie ce dédicace modeste aux deux personnes que J'aime le plus dans la vie, ma raison de vivre qui méritent tout le respect du monde.*

*Mon très cher père, **Foudil**, L'homme le plus parfait dans le monde, mon grand exemple et le secret de ma réussite ; Que dieu le protège et lui réserve une longue vie pleine de bonheur et de santé.*

*A ma mère, **Razika Haddad** source de compassion et de tendresse, l'exemple de patience et de sacrifice, la raison de mon existence et le support de ma vie.*

*A mes chers sœurs, **Chaima, Djouhaina, Malek et Hanine** la lumière de ma vie, qui m'a aidé à avancé et m'a donné la force et le courage. Merci pour votre amour, votre patience et votre soutien continu. Sans vous, je ne serais pas là.*

*A ma nièce **Tasnime**, je t'aime.*

*A toute la famille, **Mokhnèche**.*

*A toutes mes chères amies **Roukaya, Rahma, Amira, Ferial et Amani**, merci pour vos amours et vos encouragements.*

*À mes collègues, **Ikram Messikh, Ikram Necib et Rania**, merci pour votre soutien, moral, efforts et vos patiences.*

*Et à la fin, je souhaite à tous mes proches la santé, le bien-être, le bonheur et enfin la réussite.*

***Fatma El Zahra***

## *Dédicace*

*Merci mon dieu de m'avoir donné la capacité et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.*

*J'ai l'honneur de dédier ce travail :*

*A ma chère mère **Fahima** celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite.*

*A mon père **SAID** et mes frères **Amer** et **mohamed** je vous souhaite un avenir plein de joie de bonheur de réussite et de sérénités.*

*A tous les membres de ma famille, petite et grande.*

*A mes chers amies **Rayane**, **Amina** et **nadjlaa**.*

*A mes collègues **Fatma El Zahra**, **Ikram** et **Ikram** que je remercie.*

*Tous ceux qui m'aiment et que j'aime.*

*Mihouk Rania*

## Liste des Figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	Répartition géographique de la famille des Lamiacées dans le monde entier.	<b>04</b>
<b>Figure 2</b>	Morphologie de thym.	<b>05</b>
<b>Figure 3</b>	Distribution géographique de thym dans le monde.	<b>06</b>
<b>Figure 4</b>	Photo de la plante <i>Thymus guyonii</i>	<b>09</b>
<b>Figure 5</b>	Schéma représentatif des phases de la division cellulaire.	<b>11</b>
<b>Figure 6</b>	Différentes étapes du cycle cellulaire.	<b>13</b>
<b>Figure 7</b>	Photographie de noyaux endommagés et d'un noyau non endommagé.	<b>16</b>
<b>Figure 8</b>	Principe de la mesure des adduits BPDE-N2-d Guo par HPLC couplée à la spectrométrie de masse en mode tandem (HPLC/MS/MS).	<b>17</b>
<b>Figure 9</b>	Schéma de formation des micronoyaux.	<b>17</b>
<b>Figure 10</b>	Principe d'application du test d'Ames	<b>18</b>
<b>Figure 11</b>	Les étapes d'extraction méthanolique de <i>Thymus guyonii</i> .	<b>19</b>
<b>Figure 12</b>	La préparation des concentrations.	<b>20</b>
<b>Figure 13</b>	Test allélopathique sur les graines de l' <i>Allium cepa</i> avec les différentes concentrations de l'extrait de <i>Thymus guyonii</i> .	<b>21</b>
<b>Figure 14</b>	Courbe d'étalonnage des polyphénols réalisée à l'aide de l'acide gallique.	<b>23</b>
<b>Figure 15</b>	Courbe d'étalonnage des flavonoïdes réalisée à l'aide de la Quercitine.	<b>23</b>
<b>Figure 16</b>	Courbe d'étalonnage des tanins condensés réalisée à l'aide de la Catecheine.	<b>24</b>
<b>Figure 17</b>	Courbe de l'activité antioxydant réalisée à l'aide d'acide Ascorbique	<b>25</b>
<b>Figure 18</b>	Effet des différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Thymus guyonii</i> sur pourcentage de germination (%).	<b>26</b>
<b>Figure 19</b>	Effet des différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Thymus guyonii</i> sur la vitesse moyenne de germination VMG (%).	<b>27</b>
<b>Figure 20</b>	Variation de la longueur racinaire en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de <i>Thymus guyonii</i> après 5 jours d'incubation.	<b>28</b>
<b>Figure 21</b>	Indice mitotique pour les cinq concentrations de l'extrait de <i>Thymus guyonii</i> .	<b>29</b>
<b>Figure 22</b>	Indice d'aberration chromosomique pour les cinq concentrations de l'extrait <i>Thymus guyonii</i> .	<b>31</b>
<b>Figure 23</b>	Les aberrations chromosomiques induites par les différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Thymus guyonii</i> .	<b>32</b>

## Liste des Tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Localisation des principales espèces de genre <i>Thymus</i> en Algérie.	<b>07</b>
<b>Tableau 2</b>	Effet de l'extrait de <i>Thymus guyonii</i> sur la division mitotique de l' <i>Allium cepa</i> .	<b>30</b>
<b>Tableau 3</b>	Fréquence des différents types d'aberrations chromosomique.	<b>32</b>
<b>Tableau 4</b>	Criblage des Dosages des polyphénols, flavonoïdes et des tanins de l'extrait de <i>Thymus guyonii</i>	<b>33</b>
<b>Tableau 5</b>	Criblage de L'activité antioxydant de l'extrait de <i>Thymus guyonii</i>	<b>33</b>



## Liste d'abréviation

<b>ADN</b>	Acide DésoxyriboNucléique
<b>AC</b>	Aberrations Chromosomiques
<b>AlCl3</b>	Le chlorure d'aluminium
<b>APR</b>	Le pouvoir anti-radicalaire
<b>CAT</b>	Catechine
<b>DPPH</b>	1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl
<b>EC<sub>50</sub></b>	La demi-concentration efficace maximale
<b>IC<sub>50</sub></b>	La demi-concentration inhibitrice maximale
<b>GAE</b>	Gallic Acid Equivalent
<b>GP</b>	Pourcentage de germination
<b>IM</b>	Index Mitotique
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Le carbonate de sodium
<b>Ni</b>	Nombre de graines germé au jour
<b>VMG</b>	Vitesse moyenne de germination
<b>Ti</b>	Nombre totale des grains germés

# Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Liste des Figures	
Liste d'abréviation	
Introduction.....	1
Chapitre 1. Généralités .....	3
1. Généralité sur la famille de Lamiacées.....	3
1.1. Description botanique de la Famille de Lamiacées .....	3
1.2. Distribution géographique des Lamiacées .....	3
1.3. Usage pharmacologique et nutritionnel des Lamiacées.....	4
2. Description botanique de genre <i>Thymus</i> .....	4
2.1. Distribution géographique du genre <i>Thymus</i> .....	5
2.2. Propriétés et usage traditionnel de quelques espèces du genre <i>Thymus</i> .....	7
3. Description botanique de <i>Thymus guyonii</i> de Noé.....	8
3.1. Classification botanique de l'espèce <i>Thymus guyonii</i> .....	8
4. Les métabolites secondaires des plantes.....	9
4.1. Métabolites secondaires isolés de genre <i>Thymus</i> .....	9
4.2. Composés phénoliques .....	10
Chapitre 2. cytotoxicité et génotoxicité.....	11
1. Le cycle cellulaire.....	11
2. Définition de la cytotoxicité.....	13
3. Les tests de cytotoxicité.....	13
4. Définition de la génotoxicité.....	14
5. Les agents génotoxiques.....	14
6. Les tests de génotoxicité.....	15
a. Le test des comètes .....	15
b. Test des adduits .....	16
c. Test des micronoyaux .....	17
d. Test d'Ames .....	18
e. Test des aberrations chromosomiques .....	18

Chapitre 3. Matériel et Méthodes .....	21
1. Matériel .....	19
1.1. Matériel végétale .....	19
2. Méthodes.....	19
2.1. Extraction .....	19
2.2. Préparation des concentrations testées de l'extrait de <i>Thymus guyonii</i> .....	20
2.3. Test d' <i>Allium cepa</i> .....	20
2.4. Le test de cytotoxicité et génotoxicité .....	21
2.5. L'analyse phytochimique .....	22
Chapitre 4. Résultats et Discussion .....	26
Résultats.....	26
1. Évaluation de l'activité allélopathique .....	26
2. Evaluation de l'activité cytotoxique.....	27
3. Evaluation de l'activité génotoxique .....	30
4. Dosages des polyphénols et des flavonoïdes .....	33
5. L'activité antioxydant.....	33
Discussion.....	34
Conclusion .....	39
Résumé .....	40
Références bibliographiques .....	44

# **Introduction**

## Introduction

---

### Introduction

Les plantes ont toujours été intégrées à la vie quotidienne de l'homme, servant à se nourrir, se soigner et parfois dans des rituels religieux. Depuis des millénaires, elles ont été utilisées dans la médecine traditionnelle, et au fil des siècles, notre connaissance des plantes médicinales et des remèdes à base de plantes n'a cessé de s'enrichir (Mpondo *et al.*, 2017).

L'Algérie bénéficie d'une position géographique particulière qui lui confère une grande diversité de végétation, notamment en ce qui concerne les plantes aromatiques médicinales. La flore algérienne regorge d'un riche patrimoine végétal, mais celui-ci est malheureusement peu connu en raison du manque d'études sur ses vertus et ses richesses potentielles, et il est très peu exploité (Boudoumi, 2014). Les plantes médicinales et aromatiques ont de nombreuses utilisations dans l'industrie cosmétique, pharmaceutique et la production alimentaire. Leur utilisation en tant qu'herbicides pour la gestion des mauvaises herbes contribue grandement au succès de l'agriculture (effet allélopathique). Plusieurs extraits de plantes médicinales ont été approuvés pour leur capacité à présenter des effets cytotoxique et antiprolifératifs. Ces propriétés sont fréquemment exploitées pour entraver la multiplication des cellules tumorales (Konuk *et al.*, 2007; Barman *et al.*, 2020). Ils contribuent également à prévenir ou réduire les risques de diabète, d'athérosclérose, de maladies coronariennes et de processus de vieillissement. Cependant, malgré les avantages thérapeutiques profonds que possèdent les plantes médicinales, certains de leurs constituants se sont révélés potentiellement toxiques, mutagènes, cancérigènes et tératogènes (Tahriet *et al.*, 2012).

Dans le but de valoriser la flore algérienne, notre travail se concentre sur *Thymus guyonii* de Noé, une espèce médicinale rare et endémique de la famille des Lamiacées, présente dans le nord du Sahara algérien (Quezel et Santa, 1963).

En effet, l'objectif principal de notre travail est de mettre en évidence l'effet allélopathique de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii*, d'évaluer son effet cytotoxique et génotoxique, et d'évaluer également son activité antioxydant et de doser certains métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins.

Pour illustrer ces objectifs, notre étude sera divisée en deux parties principales :

La première partie, de nature théorique, présentera une revue bibliographique traitant de la description botanique de la famille, du genre et de l'espèce, ainsi qu'un rappel sur l'allélopathie, les métabolites secondaires et la génotoxicité.

## **Introduction**

---

La deuxième partie, de nature expérimentale, détaillera le matériel utilisé, les méthodes suivies et les résultats obtenus. Enfin, une conclusion résumera les principaux résultats de notre travail.

## **Partie bibliographique**

# **Chapitre 1. Généralités**



### 1. Généralité sur la famille de Lamiacées

#### 1.1. Description botanique de la Famille de Lamiacées

En raison de la forme particulière de la corolle, les Lamiacées sont également connues sous le nom de Labiées, dérivé du nom latin "labium", signifiant lèvres. (Bouhaddouda, 2016). L'une des premières familles à être distinguée par les botanistes est celle des Lamiacées, un groupe d'angiospermes dicotylédones appartenant à l'ordre des Lamiformes. La famille comprend environ 260 genres et plus de 6500 espèces (Spichiger *et al.*, 2004). Ce sont des plantes à fleurs herbacées ou arborescentes très aromatiques (Silvant, 2015), 40% des espèces de Lamiacées contiennent des composés aux propriétés aromatiques (Verse, 2007). En raison des huiles essentielles (HE) produits dans glandulaire, les poils sont répartis sur les organes aériennes de la végétation et de la reproduction (Marija *et al.*, 2008). De nombreuses Lamiacées seront rencontrées en herborisation, lamier blanc, lierre terrestre, bugle, Ballote fétide, origan et sauge.

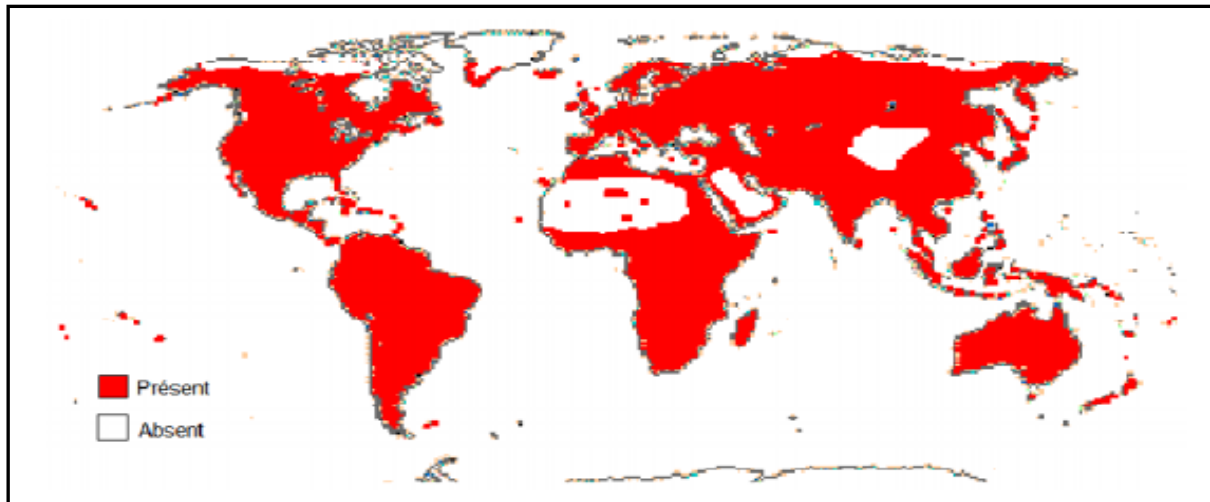
#### 1.2. Distribution géographique des Lamiacées

##### A- Dans le monde

Il existe environ 3000 espèces de Lamiacées, qui ont une très large distribution, mais prédominant dans le bassin méditerranéen: thym, lavande, romarin, qui caractérisent la flore des garrigues. Les Lamiacées sont rares, par contre, dans les régions arctiques et en haute montagne (Guignard et Dupont, 2004). Les Labiées sont surtout des plantes méditerranéennes qui au Sahara ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne (Ozanda, 1991/2004).

##### B- En Algérie

Dans la flore algérienne, les Lamiacées comptent 146 espèces réparties en 28 genres. Certains genres sont difficiles à déterminer en raison de l'extrême variabilité des espèces (Bendif, 2017) (Figure 1).



**Figure1.** Répartition géographique de la famille des Lamiacées dans le monde entier (Tabti et Tahdjerit, 2017).

### 1.3. Usage pharmacologique et nutritionnel des Lamiacées

Cette famille est une source importante d'huiles essentielles, d'infusions et d'antibiotiques dans les industries de la parfumerie et du cosmétique. Il existe de nombreuses espèces cultivées comme condiments (Sauge, Thym, Basilic, Menthe, etc...). Plantes ornementales telle que lavande. Les essences de nombreuses Lamiacées sont utilisées en pharmacie et en parfumerie : lavande, menthe poivrée, romarin, basilic, thym... Enfin, plusieurs sont cultivées et utilisées comme légume comme les sauges à fleurs rouges, *Stachys tuberosa* qui fournit les croûtes du Japon. C'est une famille très homogène: les Lamiacées sont très faciles à identifier (Guignard et Dupont, 2004).

### 2. Description botanique du genre *Thymus*

Les genres *Thymus* sont des arbustes pérennels herbacés avec des racines ligneuses, qui peuvent atteindre une hauteur de 45 cm (2 pieds). Les tiges sont verticales, les branches sont persistantes, les feuilles sont aromatiques et recouvertes de glandes et les fleurs sont colorées avec une couleur violette pâle à deux lèvres avec un calice glandulaire (Charles, 2012).

Parmi les noms qui ont été donnés aux espèces du genre *Thymus* on a Azukni, Tazuknite en Amazigh, et Ziitra en Arabe (Stahl-Biskup et Saez, 2002).

Ce genre est le plus populaire dans le monde, il contient plusieurs propriétés aromatiques et médicinales. Ces espèces se rencontrent, en plaine, en montagne, dans les rochers, les garrigues, les pelouses et les broussailles (Bellakhdar, 1997) (Figure 2).

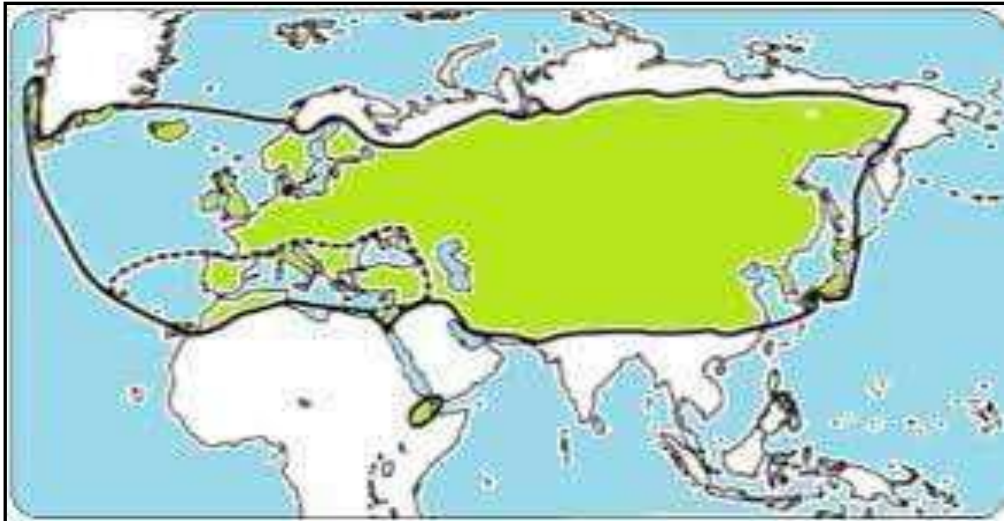


**Figure 2.** Morphologie de thym (Iserin, 2001).

### **2.1. Distribution géographique du genre *Thymus***

#### **A. Dans le monde**

Il y a environ 350 espèces de thym réparties en Europe, en Asie occidentale et en Méditerranée, selon Dob *et al.* (2006). Ce genre est largement répandu dans le nord-ouest de l'Afrique de l'Ouest, notamment au Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Libye. On le trouve également en Éthiopie et il traverse la péninsule égyptienne du Sinaï jusqu'au sud-ouest de l'Arabie. Le thym peut même être trouvé en Sibérie, dans l'Himalaya, ainsi que dans la région tropicale et au Japon (Jalas, 1971 ; Mebarki, 2010). Il pousse dans divers habitats tels que les plaines, les montagnes, les rocailles, les garrigues, les pelouses et les broussailles, comme indiqué par Bellakhdar (1997). La répartition mondiale du thym est illustrée dans la figure 3.



**Figure 3.** Distribution géographique de thym dans le monde (Stahl-biskup et Saez, 2002).

### **B. En Algérie**

L'Algérie est très riche par les plantes médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Ce genre comprend plusieurs espèces qui sont difficiles à déterminer en raison de leurs variabilités et leur tendance à s'hybrider facilement, 12 d'entre elles sont réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides de l'Algérie (Saidj, 2006 ; Mebarki, 2010) et 9 d'entre elles sont endémiques (Kabouche *et al.*, 2005 ; Dob *et al.*, 2006). Le tableau 1 montre les principales espèces de thym et leurs localisations en Algérie.

## Généralités

**Tableau 1.** Localisation des principales espèces de genre *Thymus* en Algérie (Quezel et Santa, 1963 ; Saidj, 2006 ; Mebarki, 2010).

Espèce	Découverte par	Localisation
<i>Thymus capitatus</i>	Hoffman et Link	Rare dans la région de Tlemcen
<i>Thymus fontanesii</i>	Boiss et Reuter	Commun dans le Tell Endémique Est Algérie-Tunisie
<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans : Le sous-secteur de l'atlas tellien. La grande et la petite Kabylie. De Skikda à la frontière tunisienne et Tell constantinois
<i>Thymus commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran
<i>Thymus guyonii</i>	Noé	Rare dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais et constantinois
<i>Thymus lancéolatus</i>	Desfontaine	Rare dans :Le secteur de l'atlas tellien (Terni de Médéa Benchicao) et dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret) et constantinois
<i>Thymus pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous-secteur de l'Atlas Saharien et constantinois
<i>Thymus hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur le littoral
<i>Thymus glandulosus</i>	Lag	Très rare dans le sous-secteur des hauts plateaux Algérois
<i>Thymus algériensis</i>	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais
<i>Thymus munbyanus</i>	Boiss et Reuter	Endémique dans le secteur Nord algérois

### 2.2. Propriétés et usage traditionnel de quelques espèces du genre *Thymus*

A cause de ses diverses propriétés importantes, le genre du *Thymus* possède un large spectre d'utilisations tel que il soulage les spasmes gastro-intestinaux, la stomatite et aussi l'expulsion des gaz intestinaux, les nausées de mauvaise digestion, l'inflammation des gencives, le *Thymus* est aussi recommandé comme un régulateur de l'estomac (Carrió et Vallès, 2012 ; Mushataq *et al.*, 2016). Les composants principaux du *Thymus* démontrent des propriétés anthelminthiques (Al-Bayati, 2008).

Il possède encore des propriétés antioxydants, anti inflammatoires, antibactériennes, antivirales et antifongiques (Golmakani et Rezaei, 2008).

De plus, le *Thymus* peut être utilisé comme antiseptique, antispasmodique, sédatif, stimulant, pour guérir les maux de tête et la fièvre, pour soigner les infections et inflammations pulmonaires, thoraciques, respiratoires et les infections dues au froid (Baba Aissa, 1990 ; Rasooli *et al.*, 2006; Haddouche, 2011). Il est recommandé contre tous les types de faiblesse et l'arthrite (Djerroumi et Nacef, 2004 ; Mayer, 2012).

D'ailleurs, en Europe, les applications du *Thymus* ont principalement porté sur les maladies cardiovasculaires telles que l'hypertension artérielle, les problèmes cardiaques, les

palpitations, les hématomes, l'hypercholestérolémie et le diabète (Sarić-Kundalić *et al.*, 2010; Ertaş *et al.*, 2015).

Notamment, il est appliqué pour le traitement des maladies rénales telles que les calculs rénaux, l'infection urinaire et pour un effet diurétique (Alarcon, *et al.*, 2015). Il est intéressant de noter que les plantes du genre *Thymus* sont également bonnes pour la santé des femmes. Son usage est très reconnu comme désinfectant dermique, soulage les blessures cutanées superficielles, les plaies, traitement de l'inflammation de la peau, l'acné et l'eczéma (Gilca *et al.*, 2018).

En plus de ce qui précède, les plantes de *Thymus* aromatiques connues par leur odeur agréable sont couramment utilisées en cuisine pour assaisonner les aliments et les boissons en raison de leurs qualités gustatives et aromatiques. Aussi, le *Thymus* est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons durant leur stockage (Selmi et Sadok, 2008).

D'autre part, il entre dans la composition des produits cosmétiques. Son HE riche en thymol est couramment utilisée pour la confection de savons, des produits de beauté, des parfums, détergents et articles de toilette, produits d'hygiène, et d'autres produits, (Saidj, 2007 ; Bentayeb et Djemmal, 2014)

### **3. Description botanique de *Thymus guyonii* de Noé**

Feuille de 5-7mm, tout au plus 2 fois plus longue que large non ciliées comportant des glandes rougeâtres. Calice glabre avec des glandes assez denses, généralement non cilié ou avec de très petits cils. Fleurs blanches petites (5-6mm) en inflorescences courtes (1-2cm). Corolle blanche, jusqu'à 7mm, légèrement ciliée, avec des glandes rougeâtres ce qui la différencie de toutes les autres espèces. Tiges plus ou moins prostrées rampantes. Pousse dans les rocailles des montagnes du Sahara septentrional (Quezel et Santa, 1963). (Figure 4)

#### **3.1. Classification botanique de l'espèce *Thymus guyonii***

Selon (Mebarki, 2010 ; Madi, 2010)

- Règne : Plantae (végétal)
- Sous règne : Tracheobionta
- Division : Magnoliophyta
- Embranchement : Spermaphytes (phanérogames)
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Astéridae
- Ordre : Lamiales



## Généralités

---

- Famille : Lamiaceae (Labiées)
- Genre : *Thymus*
- Espèce: *Thymus guyonii*



**Figure 4.** Photo des feuilles de l'espèce *Thymus guyonii* (Zaghib, 2013).

### 4. Les métabolites secondaires des plantes

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophe (Abderrazak et Joel, 2007). Elles décrivent une vaste gamme de composés à structure chimique souvent complexe, très dispersés et très différents selon les espèces des plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques, indirectement essentielles à la vie, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques (Cuendet, 1999; Gravot, 2008).

Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en trois groupes: les composés phénoliques, les composés azotés (les alcaloïdes) et les terpènes, chacun renferme une très grande diversité biologique (Macheix *et al.*, 2005 ; Bruneton, 2009).

#### 4.1. Métabolites secondaires isolés de genre *Thymus*

Les espèces du genre *Thymus* ont fait l'objet de nombreuses recherches phytochimiques en raison de leur diversité, qui a permis la séparation d'un certain nombre de métabolites secondaires, y compris les acides phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles (terpénoïdes et autres composés), etc. dont le contenu varie selon les variations régionales, climatiques, de séchage, de stockage et de méthodes de recherche (extraction et détection).

### 4.2. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux (Macheix *et al.*, 2005). Ils forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels, sont divisés en plusieurs catégories: les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes existent en nombres considérables (Dacosta, 2003).

#### a. Les polyphénols

Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols (Middleton *et al.*, 2000).

Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

#### b. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments jaunes, généralement polyphénoliques, très répandus chez les végétaux, ils sont responsables en particulier de la coloration des fleurs, des fruits et même des feuilles. Abondants chez les plantes supérieures, ils sont présents dans tous les organes jeunes, feuilles et boutons floraux (Roux et Catier, 2007) dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et le vin rouge (Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006).

#### c. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton (Peronny, 2005), ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant. Très répandus dans le règne végétal ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ils sont localisés dans les vacuoles, quelque fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes (Roux et Catier, 2007).



## **Chapitre 2. Cytotoxicité et génotoxicité**

### 1. Le cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est l'ensemble des modifications qu'une cellule subit depuis sa formation après la division d'une cellule mère jusqu'au moment où elle a fini de se diviser en deux cellules filles, ayant les mêmes caractères morphologiques et physiologiques de la cellule mère (Figure 5).

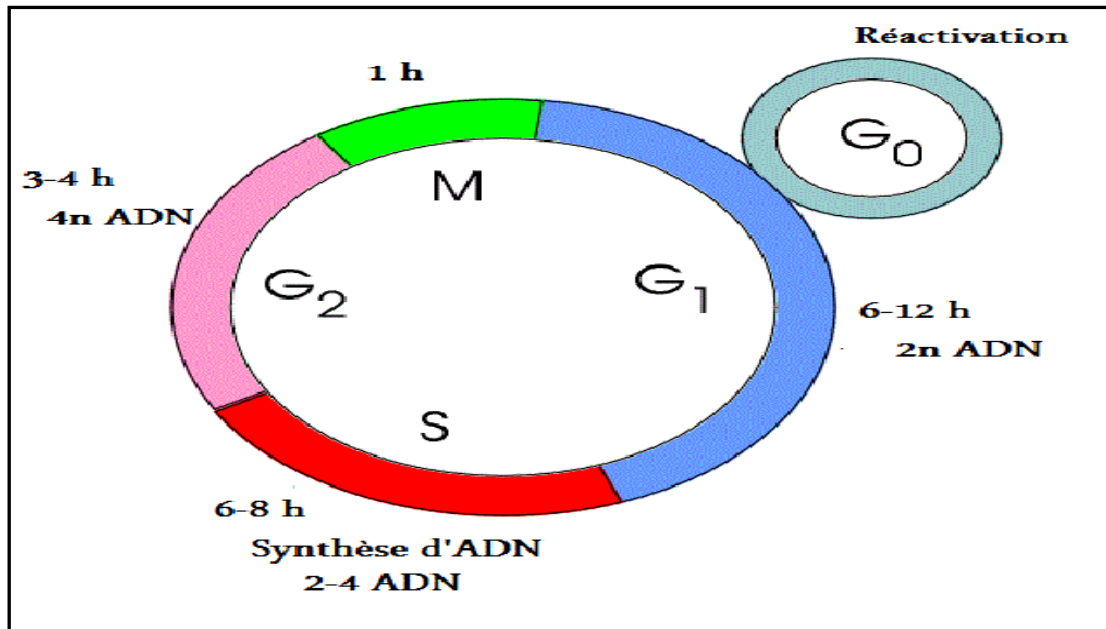


Figure 5. Schéma représentatif des phases de la division cellulaire (Charmot, 2006).

Le « cycle cellulaire » est essentiellement constitué de deux temps, l'interphase, au cours de laquelle les chromosomes sont répliqués, et la mitose, au cours de laquelle les chromosomes se répartissent entre les deux cellules filles (Meijer, 2003).

- **Interphase** : L'interphase se décompose en trois phases successives : la phase G<sub>1</sub>, la phase S et la phase G<sub>2</sub>

- **La phase G<sub>1</sub>** : La phase G<sub>1</sub> (Vient d'un mot anglais « GAP » =intervalle), est un intervalle pendant lequel les cellules se préparent à la synthèse d'ADN. Elles subissent une étape de croissance pour avoir leurs tailles finales. Elles vont aussi, lors de cette étape travailler et effectuer les différentes fonctions pour lesquelles elles sont programmées (Klug, 2006).

- **La Phase S** : La phase S correspond à la phase de synthèse d'ADN, où une copie conforme du matériel génétique de la cellule est générée. La réplication s'initie sur de nombreuses origines conséquemment au recrutement de l'ADN polymérase par les complexes pré-répliatifs formés en G<sub>1</sub> (Li *et al.*, 2007).

- **La Phase G2** : Comme la phase G1, elle représente une phase de croissance cytoplasmique. La cellule prend du volume au maximum pour se préparer à une nouvelle division (Klug, 2006).

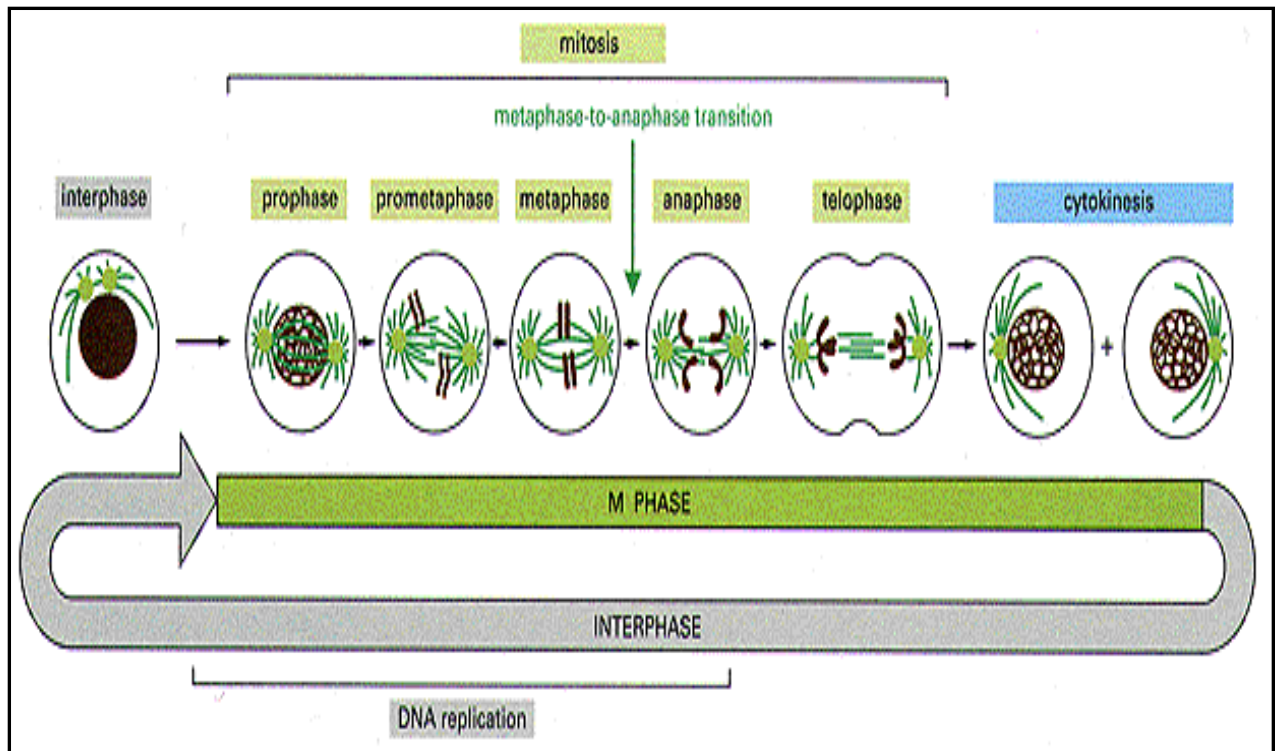
- **Mitose** : La mitose se déroule en quatre étapes caractéristiques qui sont la prophase, la métaphase, l'anaphase et la télophase

- **Prophase** : Elle se caractérise par la condensation de la chromatine en chromosomes, la disparition de l'enveloppe nucléaire et l'apparition de fibres entre les 2 pôles cellulaires (Petit et Julien, 2007).

- **Métaphase** : Tous les chromosomes sont bien orientés et alignés sur l'équateur du fuseau (plaque métaphasique) par leurs centromères (Meijer, 2003). Les microtubules attachés aux kinétochores sont responsables de ce mouvement (Stansfield, 2003).

- **Anaphase** : Se caractérise par la séparation des deux chromatides sœurs (appelées à partir de ce moment chromosomes) au niveau de leur centromère (Lodish *et al.*, 1997). La transition métaphase-anaphase requiert la dégradation protéolytique des molécules qui régulent l'appariement des chromatides sœurs. Durant l'anaphase, les chromatides sœurs séparées se dirigent en direction des deux pôles du fuseau, qui eux même s'éloignent l'un de l'autre (Tomas., 2004).

- **Télophase**: dure de 15 à 60 minutes. Elle se caractérise par la formation d'un noyau, la transformation des chromosomes en chromatine, la disparition des fibres, la division du cytoplasme et la formation d'une nouvelle membrane plasmique, c'est la cytokinèse (Elord et Stansfield, 2003) (Figure 6).



**Figure 6.** Différentes étapes du cycle cellulaire (Albert *et al.*, 2002).

### 2. Définition de la cytotoxicité

La mort cellulaire par des effets endogènes et (ou) exogènes est appelée cytotoxicité, donc l'effet qui mène à la mort cellulaire est appelé effet cytotoxique. L'effet cytotoxique peut être physique, chimique ou biologique. Les substances chimiques et biologiques ou des agents physiques peuvent provoquer une cytotoxicité en affectant les cellules à des degrés divers (Istifli et Ila, 2019).

### 3. Les tests de cytotoxicité

Les tests de cytotoxicité sont parmi les premiers tests biologiques *in vitro* utilisés pour prédire la toxicité de diverses substances dans différents tissus (Istifli et Ila, 2019). Ces tests ont été mis au point comme méthode alternative à la manipulation sur les animaux (rongeurs, lapin, cochon,...).

Le test de cytotoxicité permet la recherche d'un effet toxique sur un type cellulaire par une méthode évaluant un paramètre donné (croissance cellulaire, intégrité cellulaire, activité fonctionnelle cellulaire...). Plusieurs méthodes d'étude de la cytotoxicité existent à ce jour ; entre autres les méthodes fondées sur des perturbations de la perméabilité membranaire et les méthodes fondées sur des altérations de la prolifération cellulaire (Ahou Kouame, 2009).

### 4. Définition de la génotoxicité

La génotoxicité est la propriété de certains agents physiques, chimiques ou biologiques qui, si les dommages ne sont pas réparés, détruisent l'information génétique des cellules et provoquent des mutations irréversibles dans le matériel génétique. Ces agents sont appelés mutagènes. Bien que la génotoxicité soit souvent confondue avec la mutagénicité, tous les mutagènes sont génotoxiques, mais certaines substances génotoxiques ne sont pas forcément mutagènes. Pour détecter ces molécules, les chercheurs recherchent des dommages à l'ADN dans les cellules exposées à des substrats toxiques.

L'altération peut avoir des effets directs ou indirects sur l'ADN (Mateuca *et al.*, 2006). Ces altérations structurelles de l'ADN appelées lésions primaires impliquent principalement une modification des bases constitutives de l'ADN ou des cassures affectant l'ADN, une perte de réparation par excision, une réticulation, des sites de base instables, des mutations ponctuelles et des aberrations dans la structure et le nombre des chromosomes, potentiellement nocifs pour la santé. Des organismes exposés et leur descendance: mortalité embryonnaire, malformations congénitales, des dysfonctionnements enzymatiques (Botta, 2006).

### 5. Les agents génotoxiques

Les agents génotoxiques sont divisés en trois différents groupes :

Les agents chimique: plusieurs produits chimiques qui provoquent des mutations (Winter *et al.*, 2000). Quatre groupes d'agents chimiques sont distingués :

- Les Analogues de base qui entraînent la délétion, l'insertion ou la modification d'une ou plusieurs bases d'ADN, comme le 5-bromouracil ou la 2-aminopurine (Cachot, 2009).
- Les intercalants tels que le bromure d'éthidium ou la proflavine sont des molécules à géométrie plane qui peuvent s'insérer entre des paires de bases, provoquant une déformation de l'ADN.
- Les agents de désamination qui génèrent des mutations ponctuelles, mais aussi des mutations plus larges et inactivatrices, comme l'azoture de sodium (Le Blanc Louvry *et al.*, 2012). L'acide nitreux, qui conduit à la désamination de la cytosine ou de l'adénine pour produire de l'uracile ou de l'hypoxanthine respectivement.
- Les agents alkylants capables de provoquer une méthylation, une éthylation ou une alkylation au niveau des bases nucléotidiques notamment guanine (G) (Cachot, 2009).

Les agents physiques mutagènes comprennent les rayonnements ionisants et non ionisants (Samouelian *et al.*, 2009).

Les rayonnements ionisants à haute énergie, tels que les rayons X ou les rayons gamma, peuvent causer des dommages importants aux molécules d'ADN, des ruptures de brins et des

dommages aux sucres et aux bases (Winter *et al.*, 2000; Aftab *et al.*, 2014). Les rayonnements non ionisants, tels que la lumière ultraviolette, provoquent la transition GC vers AT (Guiraud, 1993).

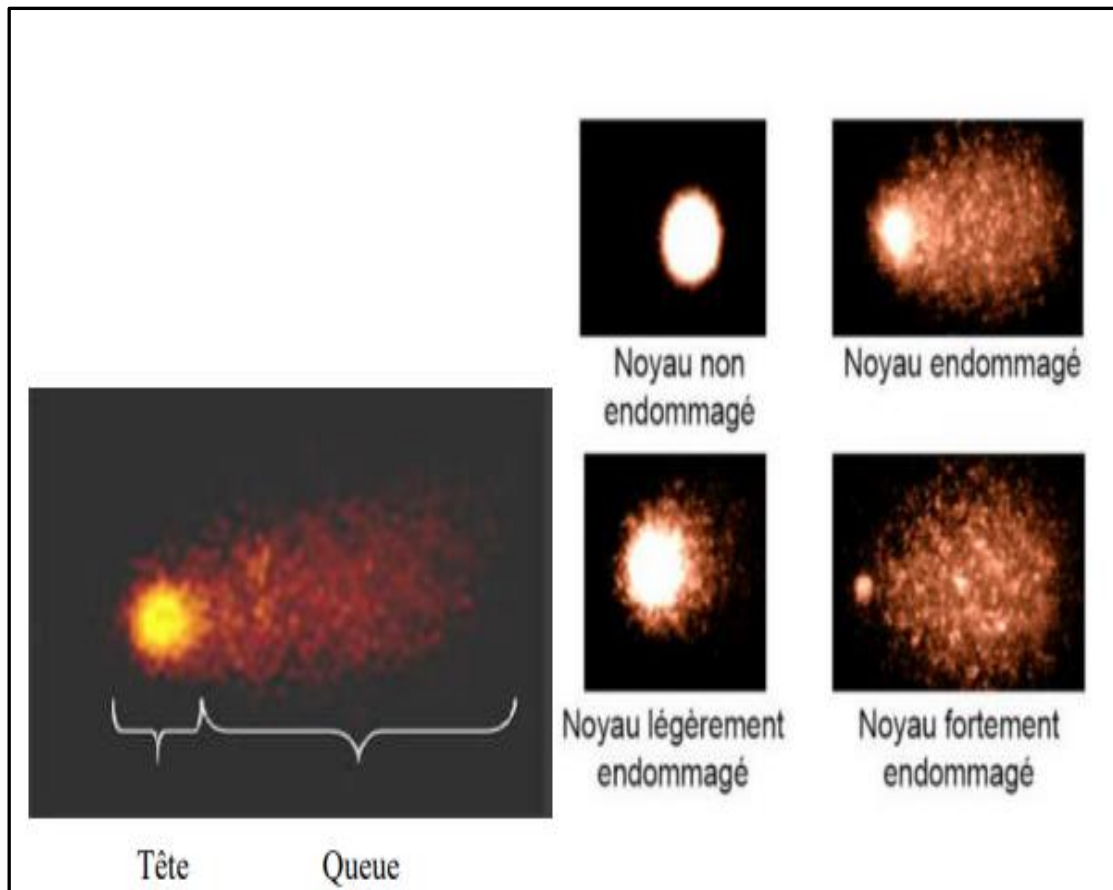
Les agents biologiques: certains agents biologiques, tels que les endoparasites, les virus (Akcha *et al.*, 2003). Les plasmides et les transposons, peuvent s'insérer dans l'ADN de la cellule hôte et perturber la séquence du génome, provoquant des mutations (David, 2013).

### **6. Les tests de génotoxicité**

Les tests de génotoxicité et de mutagénicité ont pour but de mettre en évidence l'induction de modifications considérées comme plus ou moins prédictives d'un potentiel mutagène, les plus fréquemment utilisés sont les tests d'Ames, la mesure des adduits à l'ADN, les tests des comètes, des micronoyaux, et le test des aberrations chromosomiques (Tarantini, 2009).

#### **a. Le test des comètes**

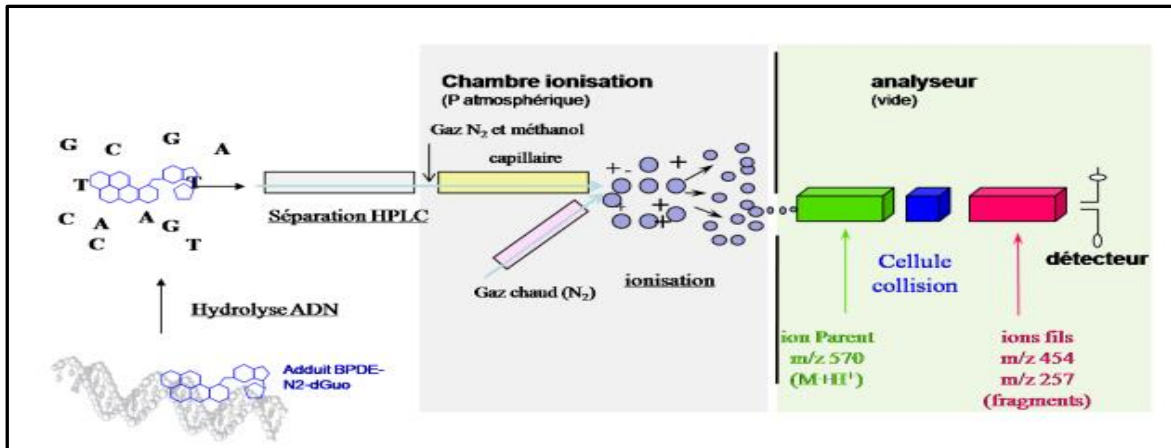
Le test des comètes (Figure 7) permet de détecter et mesurer des cassures simple et double brin, au niveau de l'ADN ainsi que les sites abasiques instables en milieu alcalin et qui génèrent une cassure pour objet d'identifier les substances causant des dommages à l'ADN. Cette technique est simple, rapide et sensible et nécessite très peu de cellules ce qui permet de miniaturiser les expériences. Par contre elle ne fournit qu'une estimation qualitative du nombre de cassures (Tarantini, 2009).



**Figure7.** Photographie de noyaux endommagés et d'un noyau non endommagé (Michel, 2011).

### **b. Test des adduits**

La technique des adduits permet de détecter ces liaisons aux macromolécules comme l'ADN (adduits à l'ADN) ou aux protéines (adduits aux protéines), lors de l'exposition de l'organisme à des agents génotoxiques (Pillière et Falcy, 1991). Cette méthode même si elle est très sensible présente l'inconvénient majeur de ne pas être spécifique. De plus, les réactions enzymatiques utilisées ne sont pas complètes ce qui gêne l'aspect quantitatif de la mesure (Tarantini, 2009) (Figure 8).

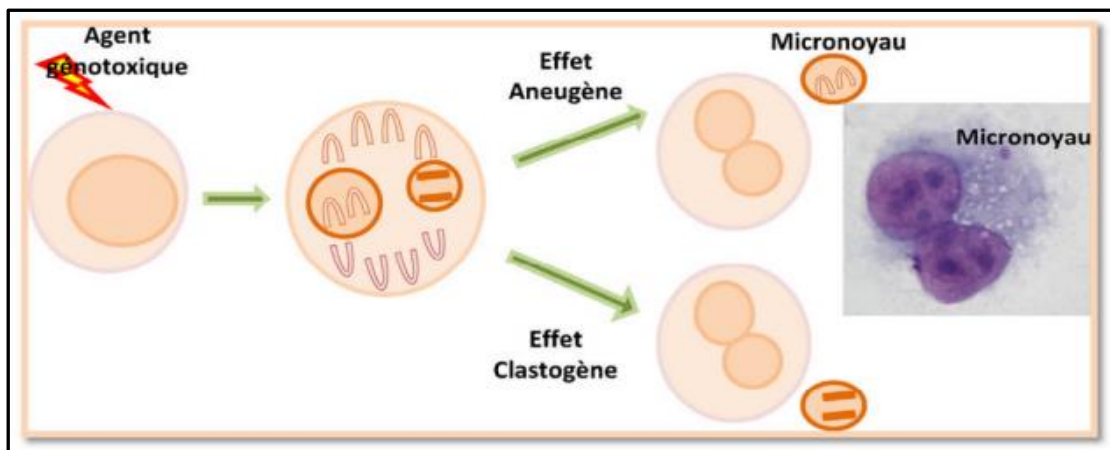


**Figure 8.** Principe de la mesure des adduits BPDE-N2-dGuo par HPLC couplée à la spectrométrie de masse en mode tandem (HPLC/MS/MS) (Tarantini, 2009)

**c. Test des micronoyaux**

Cette technique repose sur l'utilisation de cytochalasine B, un inhibiteur de la polymérisation des filaments d'actine nécessaire à la formation de l'anneau microfilaments qui permet la cytotéière. La cellule se retrouve ainsi dans un état binucléé. Les chromosomes lésés par le stress sont incapables de migrer vers les pôles durant de la mitose.

Ce test présente l'avantage de mettre en évidence à la fois les lésions aneugènes (anomalies du nombre des chromosomes) et les lésions clastogènes et constitue un biomarqueur d'effet précoce qui semble aussi prédictif du risque de cancer (Tarantini, 2009) (Figure 9).



**Figure 9.** Schéma de formation des micronoyaux (Berthelot *et al.*, 2013).

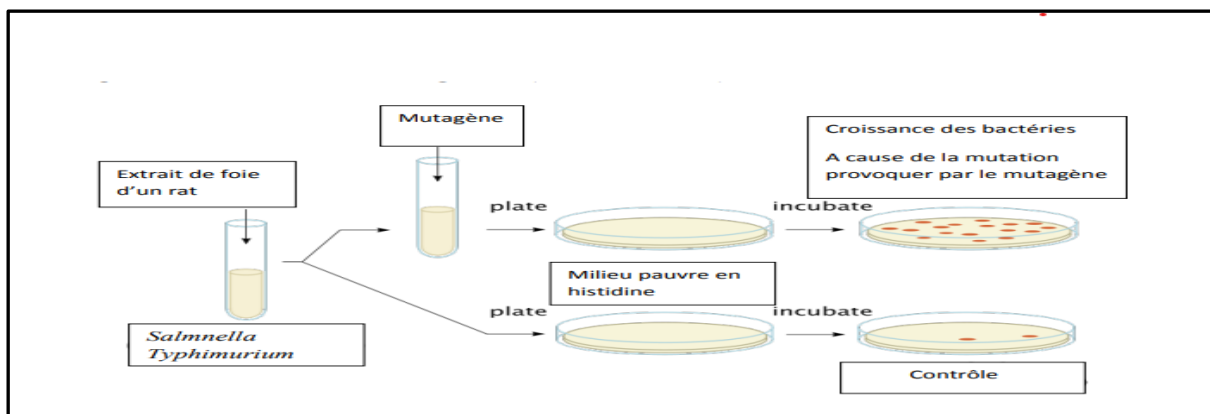


### d. Test d'Ames

Le test d'Ames a été spécifiquement développé pour déterminer la mutagenicité induite par les produits chimiques qui sont capables d'induire des mutations chez une bactérie (Pillière et Falcy, 1991). *Salmonella typhimurium* qui ne peut pas croître en absence d'histidine c'est-à-dire elles sont auxotrophes pour l'histidine (Figure 10) (Tarantini, 2009).

Un extrait de foie de rat (S-9mix) est ajouté parce que les bactéries sont incapables de métaboliser les produits chimiques par le cytochrome P450 comme les mammifères et certains vertébrés. Dans le test d'Ames le mutagène est défini comme un composé permettant la réversion de la première mutation c'est-à-dire que les souches deviennent prototrophes, (figure 10) (Guy, 2014).

Les résultats peuvent être qualitatifs (absence ou présence de mutagenicité) ou quantitatifs. Ce test est simple, rapide à réaliser et reproductible (Pillière et Falcy, 1991) (Figure 10).



**Figure 10.** Principe d'application du test d'Ames (Maron et Ames, 1983).

### e. Test des aberrations chromosomiques

Le test des aberrations chromosomiques consiste à examiner au microscope optique et déceler des anomalies telles que des cassures de chromosomes avec ou sans délétion, des modifications de structures et d'appariements, des erreurs survenues au cours de mitose (échanges entre chromatides sœurs...). Cet examen se fait au cours de la métaphase de la mitose. La fréquence des aberrations est évaluée sur 200 mitoses par lames de microscope. L'augmentation de la fréquence des aberrations chromosomiques est prédictive de la survenue de cancers (Bonassi 1995, Hagmar *et al.*, 1998).

# **Partie expérimentale**

## **Chapitre 3. Matériel et Méthodes**

# Matériel et méthodes

---

## 1. Matériel

Notre étude a pour objectif d'une part, l'évaluation de l'effet cytotoxique et génotoxique de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* en utilisant le test d'*Allium cepa* et d'autre part l'évaluer l'activité antioxydante et doser quelques métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins. Il est à noter que le test *A.cepa*, a été accepté comme étant un test efficace par plusieurs agences environnementales (USEPA 1996; Grant 1999; OECD 2006), et il a été utilisé pour évaluer la génotoxicité de différents extraits et polluants environnementaux (Silveira *et al.*, 2017)

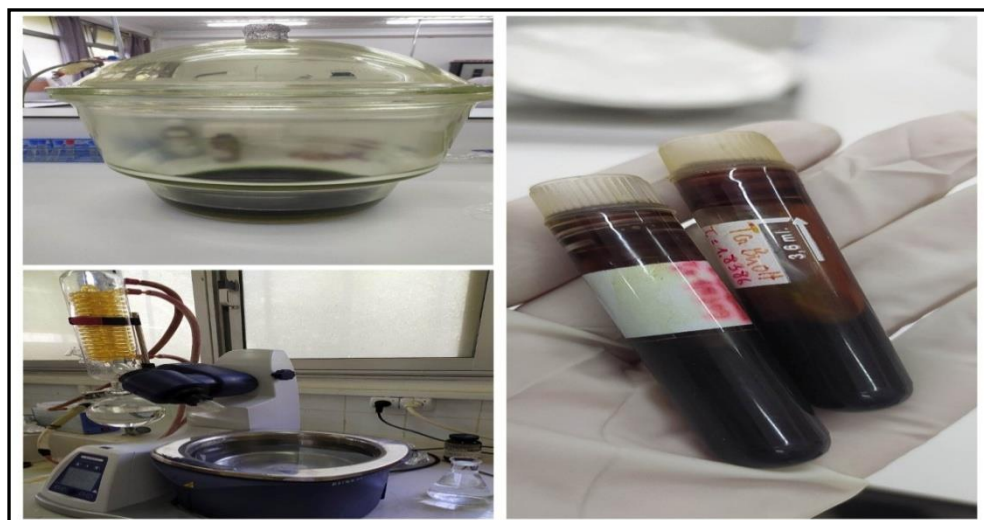
### 1.1. Matériel végétale

*Thymus guyonii* est une espèce qui propage abondamment dans la région de Zelfana (wilaya de Ghardaïa), cette dernière se caractérise par un climat désertique chaud. Après avoir récolté une quantité suffisante de *Thymus guyonii*, les feuilles et les fleurs ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 7 jours. Après le séchage, l'échantillon est broyé avec un tamise jusqu'à l'obtention d'une poudre de granulométrie homogène qui permet l'extraction d'un taux important des composés. La poudre est conservée dans des sachets bien fermés

## 2. Méthodes

### 2.1. Extraction

100 g de la poudre végétale a été mis dans un dessiccateur avec une solution hydroalcoolique (3v/1v) (méthanol/eau distillée) pendant 48h, à l'abri de la lumière. Après la filtration du macérât, il a été mis pour évaporation dans un évaporateur rotatif sous vide jusqu'à l'obtention d'un liquide concentré. L'extrait liquide obtenu a subi un séchage pendant 24h dans l'étuve réglée à 40°C (Figure 11).

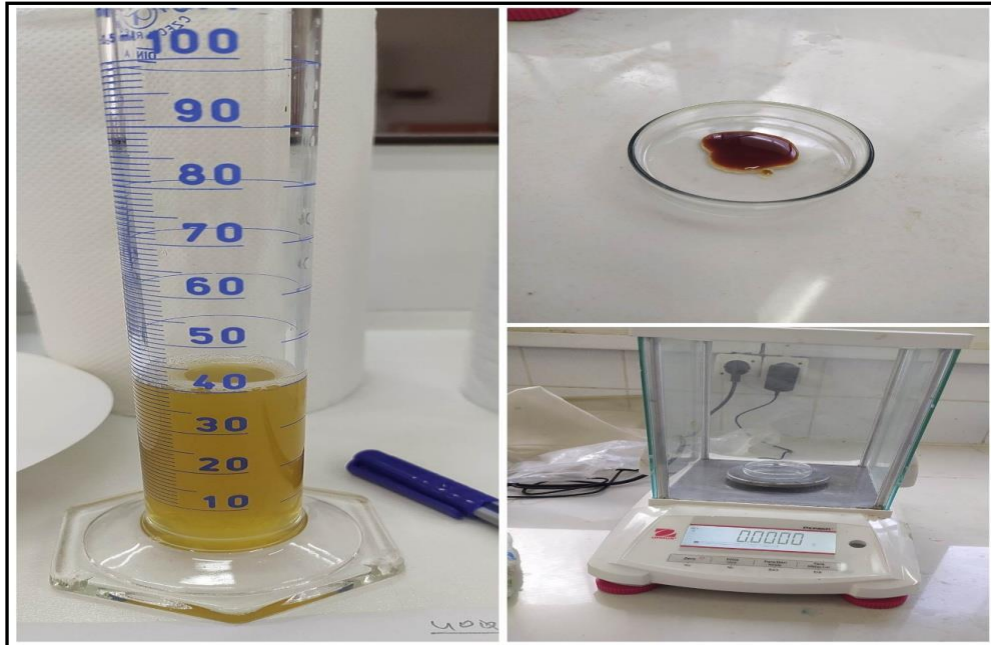


**Figure 11.** Les étapes d'extraction méthanolique de *Thymus guyonii*

## Matériel et méthodes

### 2.2. Préparation des concentrations testées de l'extrait de *Thymus guyonii*

Après avoir obtenu un extrait entièrement sec, une concentration mère de 10 mg/ml a été préparée à partir de laquelle différentes concentrations filles ont été testées (0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml) (Figure 12).



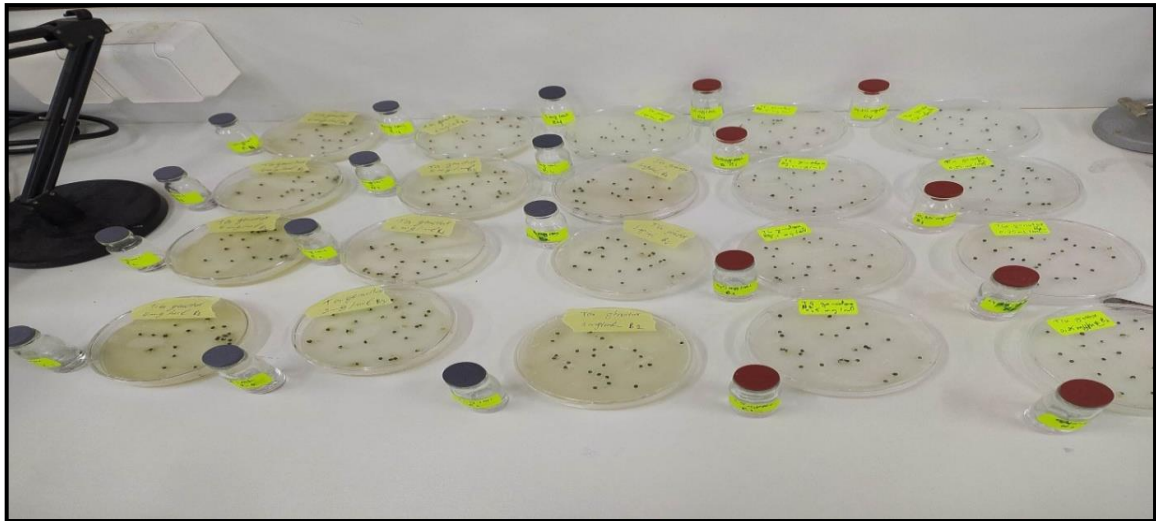
**Figure 12.** La préparation des concentrations

### 2.3. Test d'*Allium cepa*

Les plantes supérieures sont considérées comme de bons modèles génétiques pour détecter les mutagènes environnementaux et sont souvent utilisées dans la recherche scientifique. Parmi les espèces végétales les plus utilisées pour l'évaluation des dommages de l'ADN, on a l'*Allium cepa* (Leme et Marin-Morales, 2009). L'*Allium cepa* est l'une des espèces comestibles du grand genre (*Allium*), qui comprend plus de 700 espèces (Burnie *et al.*, 1999).

#### 2.3.1. Le test allélopathique

Les graines de l'*Allium cepa* ont été utilisées comme plante modèle pour évaluer le potentiel allélopathique de l'extrait aqueux de la partie aérienne de *Thymus guyonii*. L'expérience a suivi un plan expérimental comprenant quatre répétitions. Chaque répétition correspond à une boîte de Pétri (9 cm de diamètre) contenant 25 graines. Les graines ont été disposées sur du papier filtre humidifié avec 5 ml de l'extrait. Pour cela cinq concentrations de l'extrait (0.25, 0.5, 1, 2 et 4 mg/ml) ont été évaluées. De l'eau distillée a été utilisée comme témoin négatif. Après le traitement, les boîtes ont été maintenues à température ambiante  $\pm 2$  °C dans une petite pièce à l'obscurité pendant 7 jours (Figure 13).



**Figure 13.** Test allélopathique sur les graines de l'*Allium cepa* avec les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii*.

Le pourcentage de graines germées a été noté après 24 heures d'exposition aux traitements, tandis que la croissance de la partie racinaire a été déterminée à l'aide d'une règle après chaque 24 heures d'exposition à l'extrait pendant 5 jours. Trois paramètres ont été évalués : pourcentage de germination (PG), vitesse moyenne de germination (VMG), croissance des racines (RG) en mm, selon Aragão *et al.* (2015).

Pourcentage de germination (PG)

- $PG(\%) = \frac{\text{Nombre des graines germées}}{\text{Nombre des graines totale}} \times 100.$

Vitesse moyenne de germination (VMG)

- $VMG = \frac{\sum(N_i \times T_i)}{\sum N_i} = \frac{N_1 \times T_1 + N_2 \times T_2 + N_3 \times T_3 + N_i \times T_i}{N_1 + N_2 + N_3 + N_i}$

$N_i$  = Nombre de graines germé au jour  $i$

$T_i$  = Nombre de jour à partir du début de la germination jusqu'au jour  $i$

$\sum n_i = N_1 + N_2 + N_3 + N_i$  = Nombre totale de graines germées.

#### 2.4. Le test de cytotoxicité et génotoxicité

Pour évaluer la cytotoxicité et la génotoxicité de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii*, des graines de l'*Allium cepa* ont été exposées dans les mêmes conditions que celles décrite précédemment (test allélopathique), toutes les graines ayant des racines dont la taille varie de 1-1,5 cm ont été récoltées

## Matériel et méthodes

---

et fixées dans une solution d'éthanol : acide acétique, puis stockées à 4 °C pendant au moins 24 heures.

Les lames ont été préparées par la technique de l'écrasement. Le noyau et les chromosomes ont été colorés avec le réactif de Schiff (30 minutes à l'obscurité, à température ambiante) et les cellules ont été colorées avec 2% d'acétocarmin. Chaque lame a été préparée en utilisant un méristème traité, et cinq lames ont été évaluées par traitement. 600 cellules ont été évaluées par lame, pour un total de 3000 cellules méristématiques observées par traitement. Les différentes phases de division mitotique ainsi que les éventuelles altérations chromosomiques et nucléaires ont été observées et enregistrées. Les paramètres de cytotoxicité tels que l'indice mitotique (IM), et l'indice de phase (IP) (prophase, métaphase, anaphase et télophase) ont été obtenus selon Aragão *et al.* (2015).

- $IM (\%) = \frac{\text{Nombre totale de cellules en division}}{\text{Nombre de cellules examinées}} \times 100.$
- $IP (\%) = \frac{\text{Nombre totale de cellules en phase } i}{\text{Totale des cellules examinées}} \times 100.$

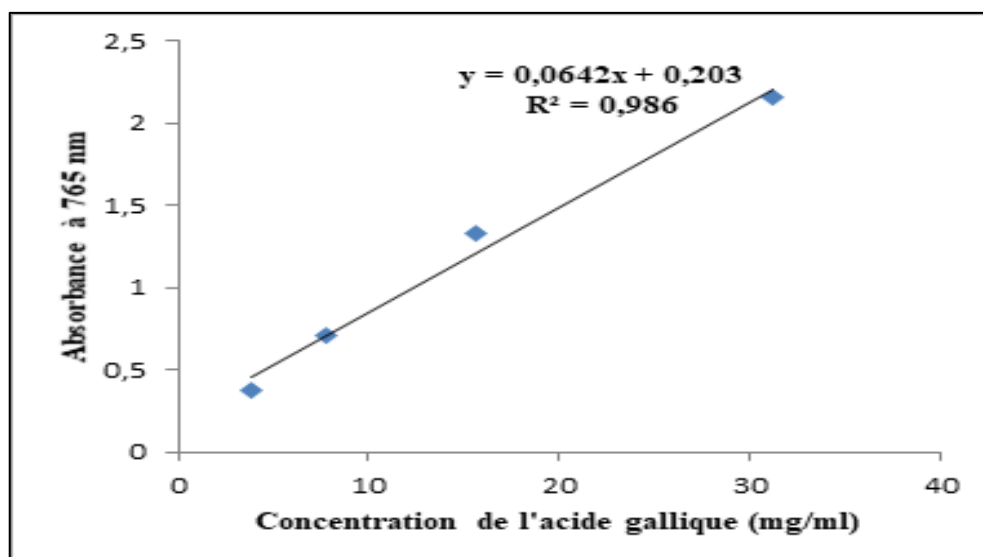
Pour les paramètres de génotoxicité on a l'indice d'altérations chromosomiques (IA) qui a été obtenu selon Aragão *et al.* (2015).

- $IA (\%) = \frac{\text{Nombre totale d'aberrations chromosomiques}}{\text{Totale des cellules examinées}} \times 100.$

## 2.5. L'analyse phytochimique

### 2.5.1. Dosage des polyphénols totaux

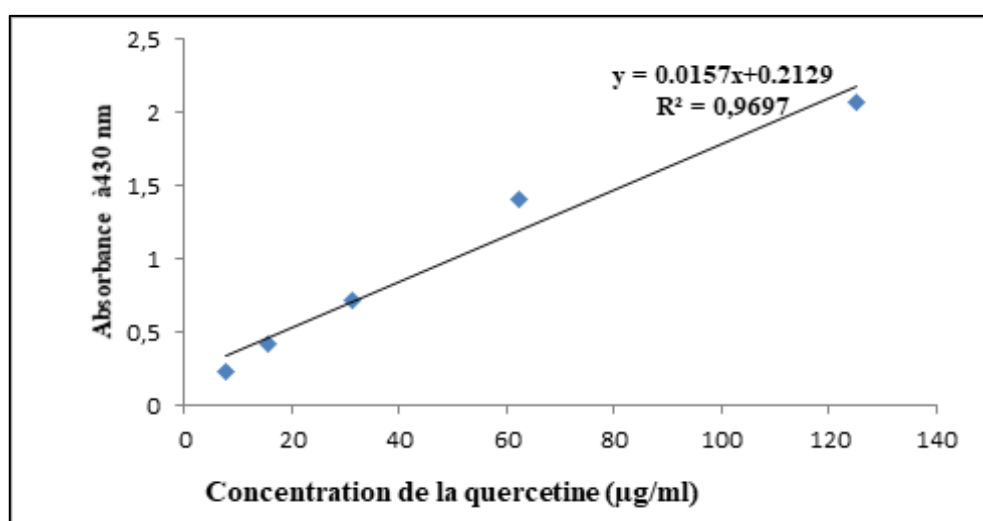
La teneur en polyphénols totaux de l'extrait a été déterminée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Pour cela, 200 µl d'extrait à différentes concentrations (0.5 mg/ml, 1 mg/ml) ont été mélangés avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué à un rapport de 1:10. Après 4 minutes, 800 µl de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 7,5%) ont été ajoutés au mélange. Le mélange a ensuite été incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 2 heures. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 765 nm par rapport à un blanc en utilisant un spectrophotomètre UV (Maity *et al.*, 2013). Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait) (Figure 14).



**Figure 14.** Courbe d'étalonnage des polyphénols réalisée à l'aide de l'acide gallique

### 2.5.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique du trichlorure d'aluminium. Pour cela, 1 ml d'une solution d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ , 2 %) a été ajouté à 1 ml de l'extrait à deux concentrations (0.5 mg/ml, 1 mg/ml). Le mélange a été incubé pendant 10 minutes à température ambiante, ensuite la lecture a été effectuée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Un blanc a été utilisé en utilisant 1 ml de ( $\text{AlCl}_3$  + 1 ml d'éthanol) (Turkoglu *et al.*, 2007). Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents de la quercétine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait) (Figure 15).



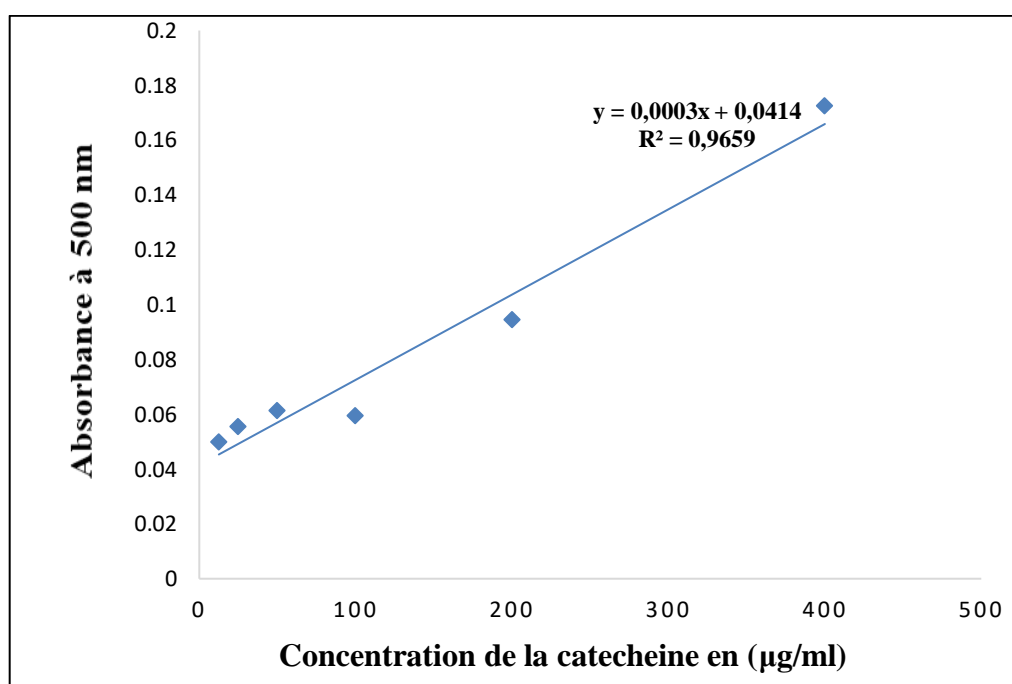
**Figure 15.** Courbe d'étalonnage des flavonoïdes réalisée à l'aide de la Quercitine.



## Matériel et méthodes

### 2.5.4. Dosage des tanins condensés

La quantification des tanins condensés a été déterminée selon la méthode de Schofield *et al.*, (2001). Cette technique est basée sur la formation d'un complexe rouge entre la vanilline et les tannins. Pour cela 3 ml d'une solution de vanilline (4%) et 1.5 ml d'acide hydrochlorique concentré ont été ajoutés à 400µl de chaque échantillon ou standard. Après 15 min d'incubation l'absorbance est lue à 500 nm. La concentration des tanins condensés a été déterminée à partir d'une gamme d'étalonnage établie par la catéchine (0-400 µg/ml) et les résultats sont exprimés en microgramme équivalents de la catéchine par milligramme d'extrait (µg ECT/mg d'extrait) (Figure 16).



**Figure 16.** Courbe d'étalonnage des tanins condensés réalisée à l'aide de la Catechine

### 2.5.3. Activité antioxydant

L'activité anti-radicalaire de l'extrait a été évaluée par spectrophotométrie en utilisant la méthode du piégeage des radicaux libres DPPH. Cette méthode est basée sur le principe selon lequel plus la perte de couleur de la solution de DPPH est rapide, plus le composé testé est considéré comme un antioxydant puissant (Belmokhtar, 2015). Le radical DPPH (DPPH<sup>+</sup>) est réduit par un donneur d'hydrogène (AH) pour former le radical DPPH-H (A<sup>-</sup>).

Un volume de 50 µl de différentes concentrations de l'extrait testé ainsi que de l'acide ascorbique (référence) ont été ajoutés à 1950 µl de solution de DPPH préparée dans du méthanol. Un blanc a été préparé en ajoutant 50 µl de méthanol à 1950 µl de la solution de DPPH. Après 30 minutes

## Matériel et méthodes

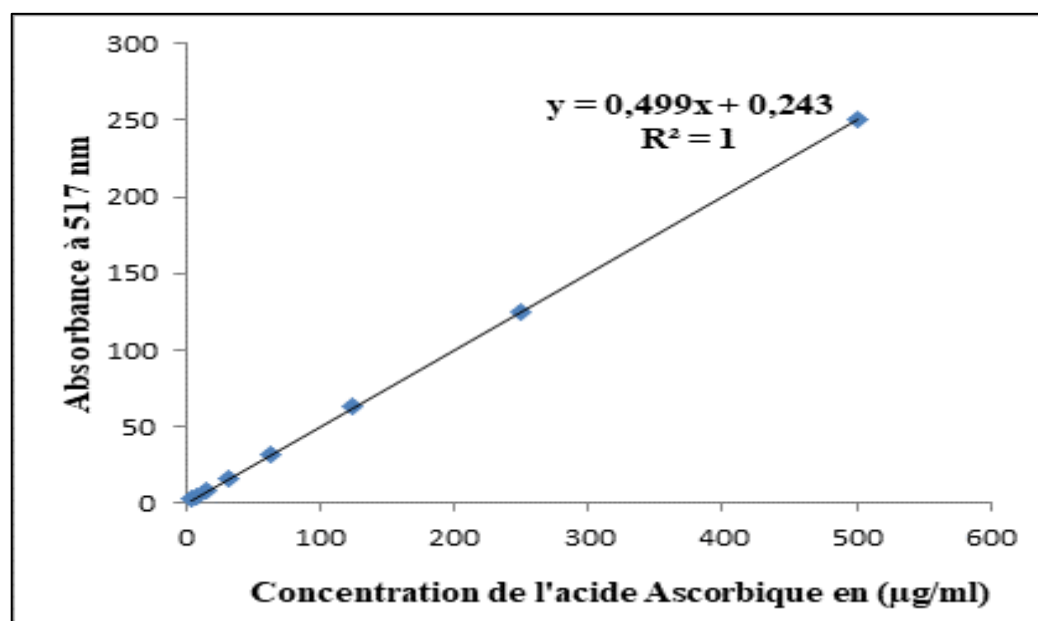
d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le pourcentage d'inhibition du DPPH est établi par l'équation suivante:

$$\text{Activité anti radicalaire (\%)} = [(\text{Ab contrôle} - \text{Ab échantillon}) / \text{Ab contrôle}] \times 100$$

Ab contrôle : l'absorbance du blanc.

L'activité antioxydant de l'extrait testé a été exprimée en IC<sub>50</sub>, qui est défini comme la concentration (en µg/ml) nécessaires pour inhiber 50% des radicaux du DPPH, le IC<sub>50</sub> de l'extrait a été comparée par la suite au IC<sub>50</sub> de l'acide ascorbique (Figure 17).



**Figure 17.** Courbe de l'activité antioxydant réalisée à l'aide d'acide Ascorbique.

Concernant les analyses phytochimiques, chaque mesure a été effectuée en triplicate et la valeur finale correspond à la moyenne des trois répétitions pour chaque dosage.

### 3. L'analyse statistique

Les données ont été traitées à l'aide du logiciel (SPSS. 25), les données allélopathiques ont été obtenus à partir de quatre répétitions, alors que les données cytotoxiques et génotoxiques ont été obtenus à partir de cinq répétitions, les résultats ont été exprimés sous la forme de la moyenne  $\pm$  l'écart-type (SD). Une analyse de variance à un facteur (ANOVA) suivie du test de comparaison multiple de Dunnetta été utilisée pour comparer les moyennes à  $p \leq 0.05$ .

## **Chapitre 4. Résultats et Discussion**

## Résultat et Discussion

### Résultats

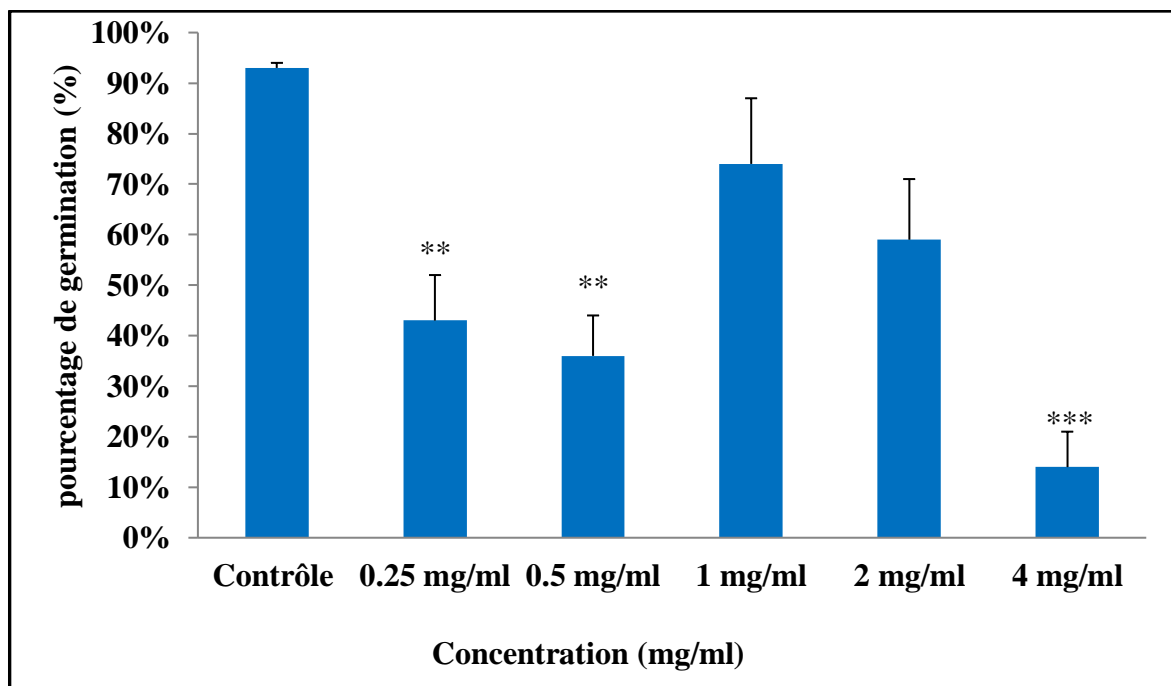
#### 1. Évaluation de l'activité allélopathique

Selon les résultats obtenus, nous avons observé que l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* a un effet variable sur les paramètres de germination de l'*Allium cepa*, tels que la vitesse moyenne de germination (VMG) et le pourcentage de germination. L'effet de l'extrait varie en fonction des concentrations testées, à savoir 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml et 4 mg/ml.

##### 1.1. Pourcentage de germination

Le contrôle a enregistré le pourcentage le plus élevé de graines germées, atteignant 93%. D'une manière générale, l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* à différentes concentrations a présenté un effet allélopathique sur la germination des graines de l'*Allium cepa*. Une légère influence sur le taux de germination avec les concentrations de 1 mg/ml et 2 mg/ml (74%, 59%) a été signalée.

Mais une diminution encore plus importante (hautement significative,  $p < 0.01$ ) a été constatée avec les concentrations faibles (0.25 mg/ml et 0.5 mg/ml). En revanche, la concentration la plus élevée 4 mg/ml de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* a donné le pourcentage de germination le plus faible parmi toutes les concentrations testées (14%,  $p < 0.001$ ) (Figure 18).

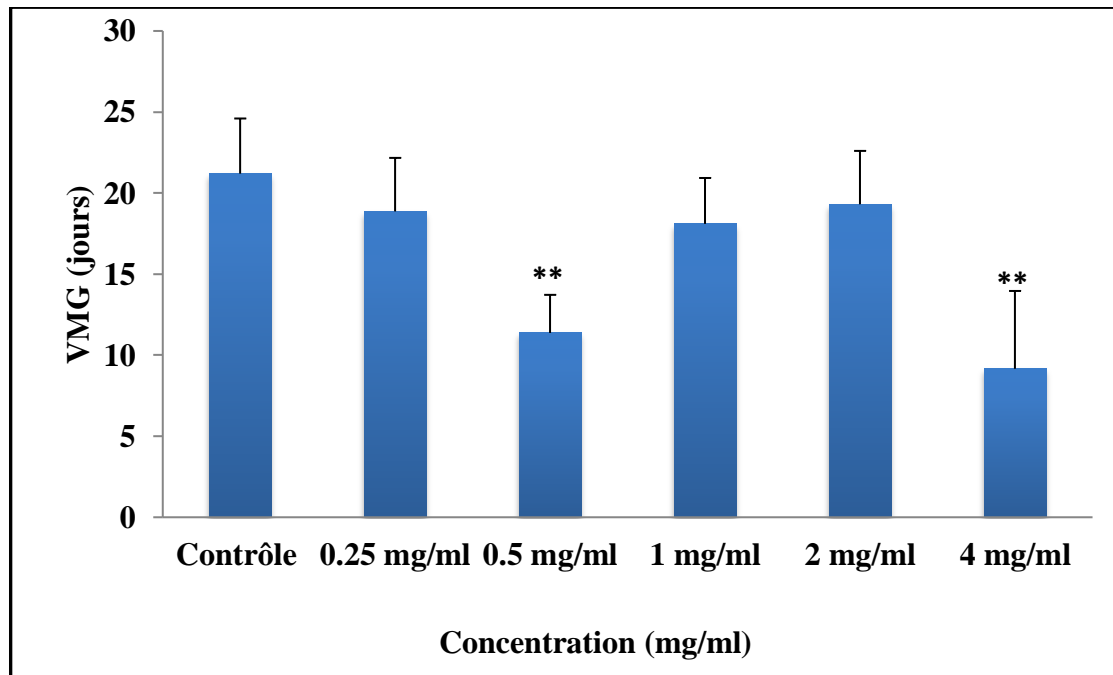


**Figure 18.** Effet des différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* sur pourcentage de germination % (\*\* $p < 0.01$ ) (\*\*\*) $p < 0.001$ )

## Résultat et Discussion

### 1.2. La vitesse moyenne de germination

Les résultats de la vitesse moyenne de germination sont indiqués sur la figure 19, une légère diminution est observée aux concentrations de 0.25 mg/ml, 1 mg/ml et 2 mg/ml, cependant une forte diminution hautement significative ( $p < 0.01$ ) de la vitesse de germination a été constatée avec la concentration 0.5 mg/ml et 4 mg/ml. (Figure 19). Ces résultats sont corrélés positivement avec les résultats indiqués ci-dessus en ce qui concerne le pourcentage de germination notamment pour les concentrations (0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml et 4 mg/ml) (Figure 19).



**Figure 19.** Effet des différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* sur la vitesse moyenne de germination VMG (jours) (\*\* $p < 0.01$ ).

## 2. Evaluation de l'activité cytotoxique

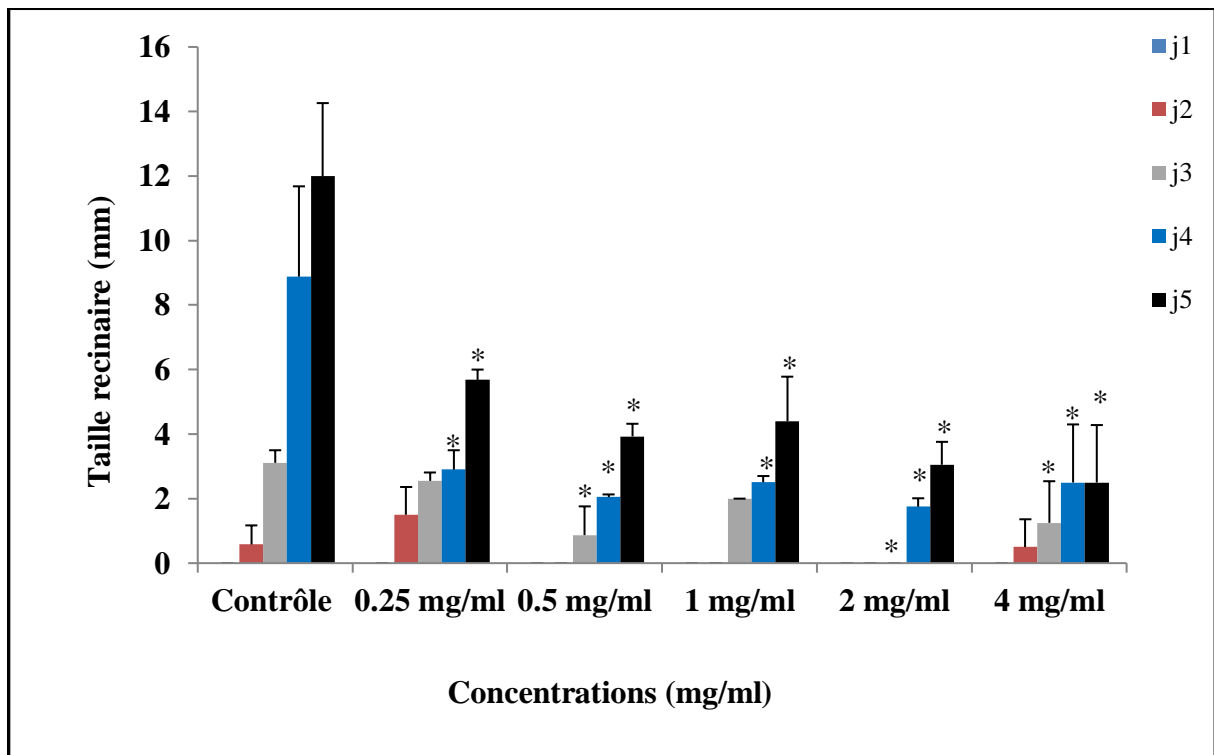
### 2.1. Etude de la taille racinaire

Les résultats indiqués dans la figure 20, révèlent que la croissance des racines des graines de *Allium cepa* traitées avec les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* (0.25, 0.5, 1, 2 et 4 mg/ml) se poursuit pendant les cinq jours (120 h) de traitement. Cependant, le rythme de croissance est très ralenti. Les tailles des racines étaient respectivement (5.58, 3.93, 4.4, 3.05, 2.5 mm) comparées à celle du contrôle (12 mm).

La diminution de la longueur des racines était hautement significativement ( $p < 0,001$ ) dans tous les groupes sans exception et la réduction de la taille racinaire est supérieure à la moitié par rapport à celle du groupe contrôle. Cela implique que les concentrations testées sont à la fois inhibitrices et

## Résultat et Discussion

cytotoxiques. Comme indiqué dans la figure 20, l'inhibition de l'élongation des racines augmente en augmentant la concentration de l'extrait.



**Figure 20.** Variation de la longueur racinaire en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* après 5 jours d'incubation. (\* $p < 0,001$ ).

### 2.2. Etude de l'indice mitotique (IM)

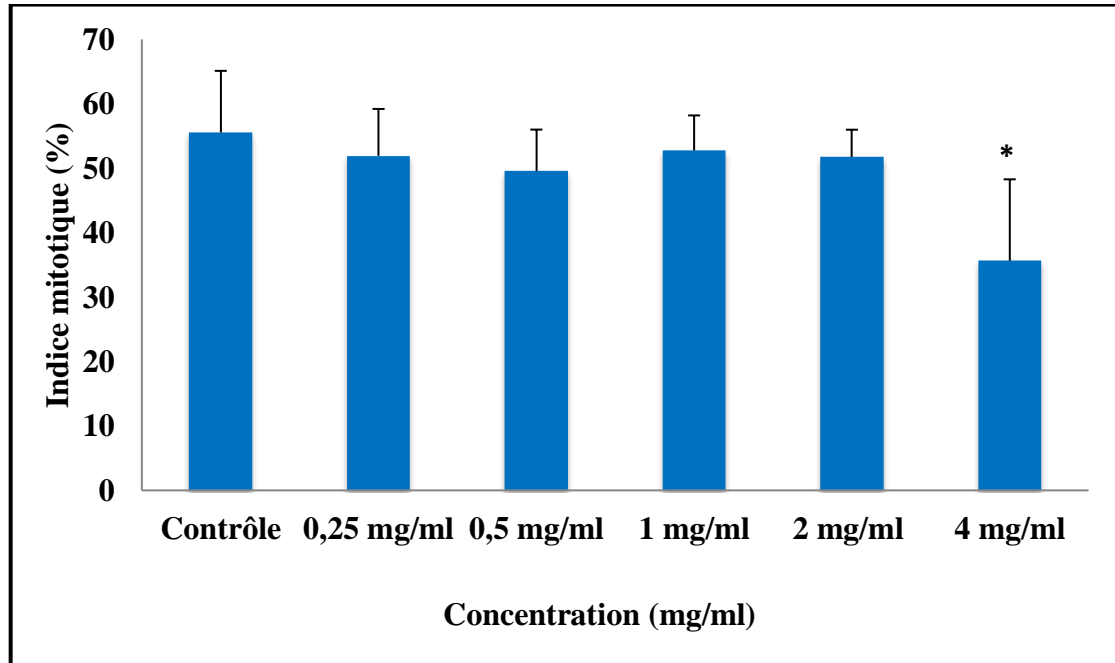
Dans cette étude, l'indice mitotique a été évalué en comptant le pourcentage de cellules en mitose dans les méristèmes racinaires d'*Allium cepa*, ce qui permet d'estimer la fréquence des divisions cellulaires dans ce tissu spécifique.

Le calcul de l'indice mitotique a permis de mettre en évidence l'effet cytotoxique de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* sur les cellules méristématiques de l'*Allium cepa* à différentes concentrations (0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml et 4 mg/ml) par rapport au contrôle.

Le taux de division cellulaire varie en fonction des concentrations testées. La diminution de l'élongation racinaire a été accompagnée par diminution de la division cellulaire mitotique, cependant cette diminution n'est significative ( $p > 0,05$ ) et presque constante notamment chez les groupes traités avec les concentrations (0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml et 2 mg/ml) de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii*, où l'indice mitotique (IM) a diminué de 55% pour le groupe contrôle vers 50% pour les groupes cités ci-dessus.

## Résultat et Discussion

Cependant une diminution significative a été notée à la concentration la plus élevée 4 mg/ml ( $p < 0,05$ ), dont le taux de division a diminué jusqu'à 35% par rapport à celui du contrôle (55%) (Figure 21).



**Figure 21.** Indice mitotique pour les cinq concentrations de l'extrait de *Thymus guyonii* (\* $p < 0,05$ )

### 2.3. L'indice de phase

Le tableau (2) présente la fréquence des différentes phases de la division cellulaire chez *Allium cepa*, en fonction des cinq concentrations (0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml) testées par l'extrait aqueux de *Thymus guyonii*. On observe que l'extrait réduit le pourcentage de cellules en métaphase et anaphase pour toutes les concentrations par rapport au contrôle. Cependant nous avons remarqué une augmentation du pourcentage de cellules en télophase comparé au contrôle (Tableau 2).

## Résultat et Discussion

**Tableau 2.** Effet de l'extrait de *Thymus guyonii* sur la division mitotique de l'*Allium cepa*

(\*\*p<0.01), (\*\*\*)p<0.001).

Concentrations	Interphase	Prophase	Métaphase	Anaphase	Télophase	IM
<b>Contrôle</b>	44.432±9.557	18.996±4.583	11.93±5.016	14.03±5.381	12.496±3.91 6	58.91±9.5 5
<b>0.25 mg/ml</b>	48.064±7.276	17.964±5.493	7.396±3.638	6.496±3.540* *	20.064±10.4 12	51.93±7.2 7
<b>0.5 mg/ml</b>	50.43±6.438	23.596±4.952	4.33±0.949**	3.964±1.589* **	17.644±3.64 8	49.562±6. 44
<b>1 mg/ml</b>	47.23±5.440	27.362±7.097	3.198±2.048** *	2.93±1.480 ***	19.264±5.04 9	51.764±5. 43
<b>2 mg/ml</b>	48.23±4.222	24.96±7.149	5.132±1.538**	3.498±1.158* **	19.028±4.40 5	48.6±4.22
<b>4 mg/ml</b>	64.398±12.13 4**	14.762±11.89 0	5.162±2.668**	3.63±1.301 ***	12.83±8.047	35.6±12.6 4*

### 3. Evaluation de l'activité génotoxique

#### 3.1. Etude de l'indice d'aberration chromosomiques IA

Le test de génotoxicité a été réalisé afin d'évaluer l'impact de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* sur la division cellulaire de l'*Allium cepa*. Les résultats ont révélé la présence de différentes anomalies de la division cellulaire, dont la fréquence est exprimée par l'indice d'aberration chromosomique.

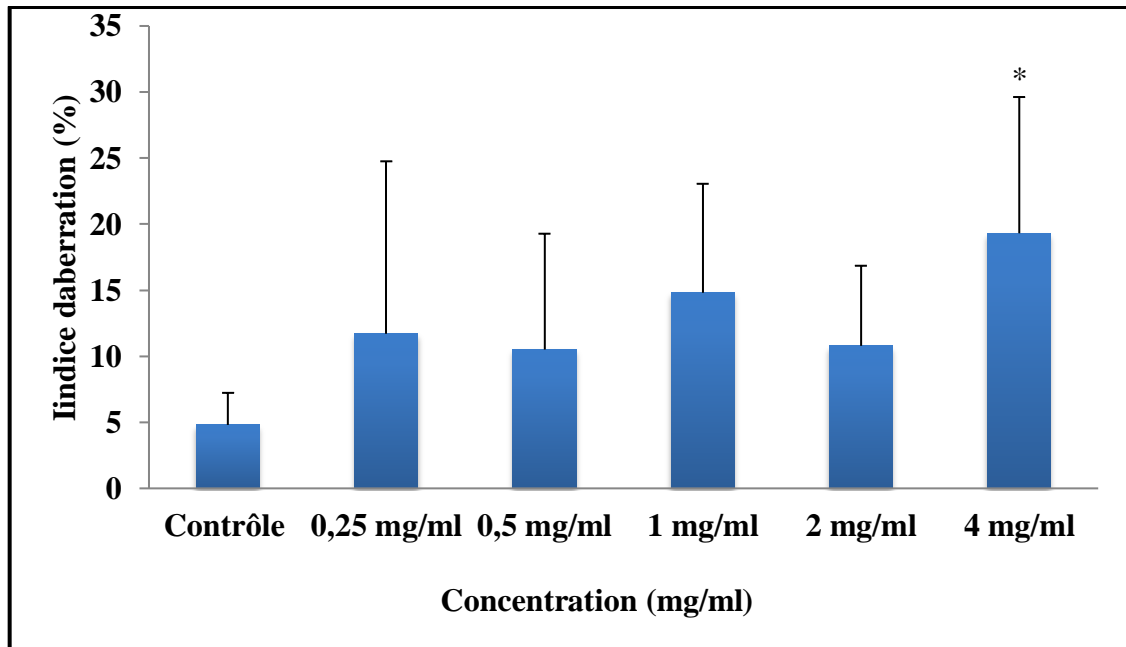
L'évaluation de cet effet génotoxique a été réalisée en mesurant l'indice d'aberration IA (%) qui correspond au pourcentage des cellules avec un génome anormale après 24h d'incubation avec cinq concentrations différentes de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* (0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml et 4 mg/ml).

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que le taux des aberrations chromosomiques dans les cellules de l'*Allium cepa* a augmenté après le traitement avec l'extrait aqueux de l'espèce étudiée, de sorte que, le taux d'aberration chromosomique augmente proportionnellement à la concentration, en particulier à 4 mg/ml, la valeur de l'indice d'aberration chromosomique rapportée étant de 19,31 % (\*p<0,05) (Tableau 3). Et malgré que la concentration 4 mg/ml entraîne une diminution significative de l'indice mitotique, le taux d'aberration est extrêmement élevé (significatif) interprétant une division complètement désordonnée.



## Résultat et Discussion

Sur la base de ces résultats, il semble que l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* exerce un effet génotoxique, ce qui entraîne l'apparition d'aberrations chromosomiques et une augmentation de leurs fréquences (Figure 22).



**Figure 22.** Indice d'aberration chromosomique pour les cinq concentrations de l'extrait de *Thymus guyonii* (\* $p < 0.05$ ).

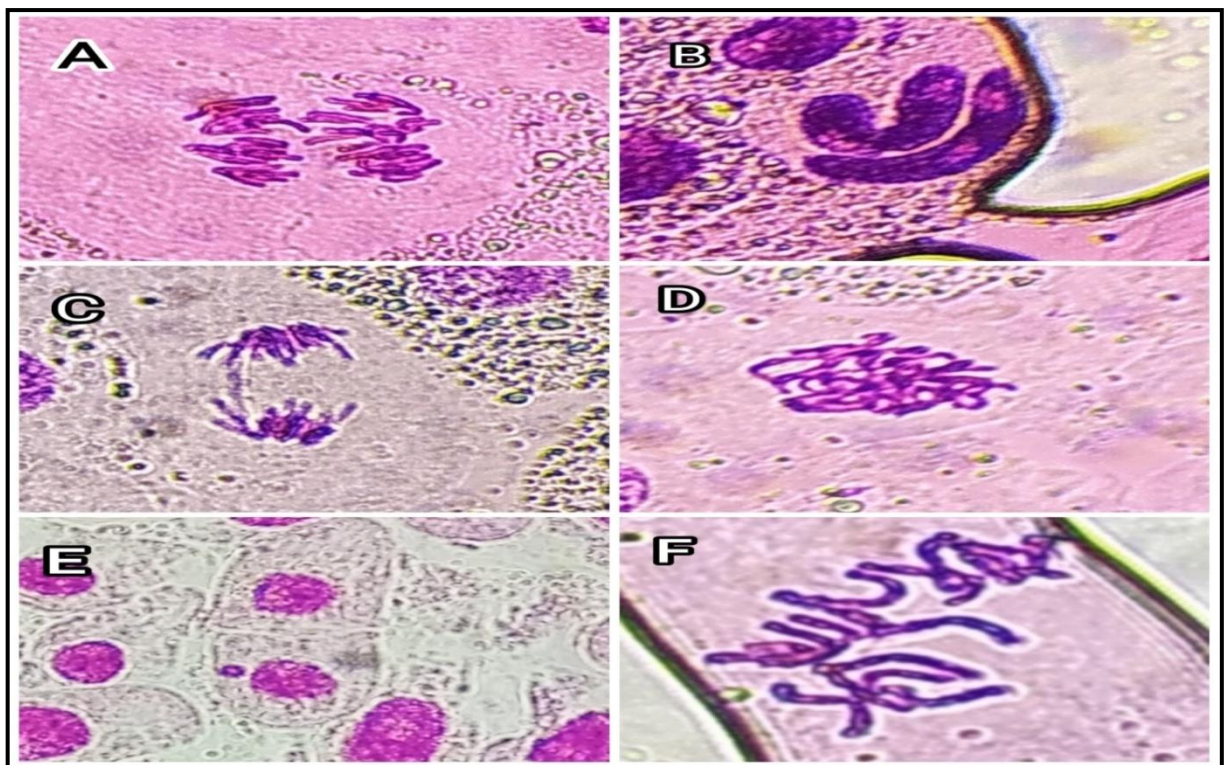
### 3.2. Les type d'aberrations reconnues

L'examen des diverses aberrations chromosomiques révèle que l'adhérence (Stickness), le c-mitose et le noyau allongé constituent les aberrations chromosomiques les plus rencontrées sur les 3000 cellules de l'*Allium cepa* étudiées dans chaque groupe, la fréquence de ces dernières varie en fonction de la concentration. D'autres types ont également été enregistrés tel que la fragmentation, le chromosome vagabond et le micronoyau, mais leur fréquence est très faible par rapport aux types mentionnés précédemment. Sachant que le contrôle a la plus faible fréquence d'aberrations chromosomiques (4.80 %) (Tableau 3, Figure 23).

## Résultat et Discussion

**Tableau 3.** Fréquence des différents types d'aberrations chromosomique. (\*p<0.05)

Groupes	C-mitose	Micro noyau	pont	Télo étoilé	Multi polaire	Stickness	Noyau allongé	Fragment	Vagabond	IA
Contrôle	0.496± 0.335	0.443± 0.098	0.553± 0.422	0.33± 0.17	0.83± 0.67	1.22± 0.381	0.386± 0.098	0.386± 0.098	0.163± 0.165	4.80± 2.43
0.25 mg/ml	0.664± 0.484	1.73± 2.222	0.698± 1.209	0.164± 0.165	0.896± 0.825	3.096± 3.089*	4.16± 4.636*	0.164± 0.204	0.132± 0.217	11.70 4± 13.05
0.5 mg/ml	1.762± 2.003	0.53± 0.544	0.664± 0.457	0.198± 0.217	1.098± 0.584	2.166± 1.390*	3.664± 2.814*	0.098± 0.147	0.43± 0.609	10.51 2± 8.76
1 mg/ml	2.596± 0.671	0.464± 0.950	1.73± 1.645	0.33± 0.311	1.732± 1.140	3.53± 1.282*	3.198± 1.103*	0.164± 0.204	1.064± 0.399	14.80 8± 8.24
2 mg/ml	2.364± 1.243	0.398± 0.559	0.662± 0.314	0.564± 0.534	2.096± 0.862	2.428± 0.871*	1.796± 0.943*	0.398± 0.433	0.264± 0.301	10.79 ± 6.06
4 mg/ml	1.764± 1.122	1.932± 1.818	0.93± 0.481	0.432± 0.301	1.764± 1.903	5.73± 1.198*	6.498± 2.769*	0.164± 0.204	0.098± 0.147	19.31 2± 10.31 *



**Figure 23.** Les aberrations chromosomiques induites par les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii*. **A:** anaphase multipolaire, **B:** noyau allongé, **C:** pont chromosomique (anaphase), **D:** adhésion chromosomique (Stickness), **E:** micro-noyau, **F:** c-mitose.

## Résultat et Discussion

### 4. Dosages des polyphénols et des flavonoïdes

Les tests phytochimiques qui ont été réalisés sur l'extrait de notre plante *Thymus guyonii* ont permis de mettre en évidence la présence de certains groupes et l'absence d'autres métabolites secondaires. La détection de ces composés chimiques était basée sur des essais des réactions colorimétriques, un changement de couleur spécifique. Les résultats sont récapitulés au suivant :

Les résultats expérimentaux de tests phytochimiques (tableau 4) ont révélé la présence des polyphénols 152,6 mg dans 1g et flavonoïdes 24,19 mg dans 1g. Cependant, l'absence de tanins totaux.

**Tableau 4.** Criblage des Dosages des polyphénols, flavonoïdes et des tanins de l'extrait de *Thymus guyonii*

	Polyphénols totaux mg GAE/g	Flavonoïdes Totaux mg Q/g	Tanins totaux mg CAT/g
<i>Thymus guyonii</i>	152,6 ±10,09	24,19 ± 0,66	0 ± 0

### 5. L'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydants de l'extrait de *Thymus guyonii* a été au moyen du test de DPPH.

Les résultats indiqués dans le tableau 5 sont relatifs à l'IC<sub>50</sub> (Concentration des molécules actives nécessaires pour inhiber 50% des radicaux libres) de l'extrait méthanolique de *Thymus guyonii*, et de l'acide ascorbique (référence). La valeur de l'IC<sub>50</sub>=75x10<sup>3</sup>µg/ml de l'extrait testé est très élevée par rapport à celle de l'acide ascorbique 2 µg/ml ce qui reflète une activité antioxydant modérée.

**Tableau 5.** Criblage de L'activité antioxydant de l'extrait de *Thymus guyonii*.

	IC <sub>50</sub> (µg/ml)	EC <sub>50</sub>	APR
<i>Thymus guyonii</i>	4,57x10 <sup>3</sup> ±0,14	1,14±0.04	0,875±0,03
Acide Ascorbique	2± 0,01	0.0005	2000

## Résultat et Discussion

---

### Discussion

Le test *Allium cepa* a souvent été utilisé pour la détermination de la cytotoxicité et/ou les effets génotoxiques de différentes substances (Grant, 1982). Il est considéré comme une procédure standard pour un test rapide et la détection des niveaux de toxicité et de pollution dans l'environnement.

Dans la présente étude, nous avons essayé de donner une caractérisation phytochimique de l'extrait méthanolique de *Thymus guyonii* ainsi qu'étudier la cytotoxicité et la génotoxicité de l'extrait aqueux de l'espèce en question en utilisant le test de l'*Allium cepa*. Pour cela quelques paramètres ont été pris en considération notamment: effet allélopathique, l'élongation racinaire, l'effet sur l'index mitotique et l'étude des aberrations chromosomiques.

Pour les raisons suscitées, nous allons présenter et discuter des résultats de certaines études similaires portant sur la toxicité et la génotoxicité de *Thymus guyonii* sur les d'*Allium cepa*.

### Effet allélopathique

Les résultats des effets allélopathiques de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* sur la germination des graines d'*Allium cepa*, présentés dans Figure 18, indiquent que l'extrait de *Thymus guyonii* à différentes concentrations a présenté un effet allélopathique sur la germination des graines de l'*Allium cepa*, et le pourcentage de germination diminue en augmentant les concentrations de l'extrait. Selon Awan *et al.* (2009) la germination des graines et la croissance des plantes de plusieurs espèces peuvent être inhibées par d'autres espèces végétales qui produisent des substances allélochimiques. Ces substances sont libérées par les plantes allélopathiques dans l'environnement par l'exsudation des racines, la lixiviation par la rosée et la pluie, ainsi que la volatilisation ou la décomposition des tissus végétaux (Rice, 1984). Ces composés produits par les végétaux et impliqués dans les phénomènes d'allélopathie agissent comme des inhibiteurs des auxines et gibbérellines qui sont des phytohormones responsables de l'élongation cellulaire chez les plantes (Doré *et al.*, 2004). A cet effet, ces espèces allélopathiques peuvent être utilisées comme des bioherbicides pour la gestion des mauvaises herbes chose qui permet d'apporter à l'agriculture un grand succès (About *et al.*, 2019). Dans notre cas une diminution du pourcentage de germination, de la vitesse de germination ainsi que de l'élongation racinaire chez les graines de l'*Allium cepa* après avoir été traitées avec les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Thymus guyonii*. Il paraît que l'extrait possède des propriétés allélopathiques et renferment des composés allélochimiques qui ont affecté la germination des graines de l'*Allium cepa*. La présence des effets allélopathiques a été déjà notée chez plusieurs espèces appartenant à la famille des Lamiacées (Ashrafi et Rahnavard, 2008, Verdeguer *et al.*, 2009), (Masoud *et al.*, 2018).

## Résultat et Discussion

---

### Élongation racinaire

L'analyse des résultats de l'élongation racinaire a montré qu'une augmentation de la concentration de l'extrait entraîne une diminution hautement significative de la longueur racinaire ( $p < 0,001$ ). Ces résultats suggèrent que les concentrations utilisées ont des effets à la fois inhibiteurs et cytotoxiques, et que l'inhibition de l'élongation des racines augmente proportionnellement avec la concentration de l'extrait aqueux.

De plus, l'extrait a non seulement inhibé l'élongation racinaire, mais il a également retardé la sortie de la racine (diminution de la vitesse de germination). Des résultats similaires ont été rapportés par Masoud *et al.* (2018), Oraon et Mondal (2020), ont également suggéré que la longueur des racines diminuait avec l'augmentation de la concentration des extraits aqueux.

Les effets inhibiteurs sur l'allongement des racines pourraient être dus au contact direct des racines avec l'extrait aqueux. Non seulement l'extrait aqueux, mais également leurs constituants, ont également été signalés comme de puissants inhibiteurs de la germination des graines et de l'allongement des racines (Zunino et Zygadlo, 2004).

La diminution de l'élongation racinaire a été accompagnée par une diminution de la division cellulaire mitotique chez les cellules de l'*Allium cepa*. Les allélochimiques peuvent réduire la division cellulaire, il est présumé que l'activité mitotique des cellules est supprimée par les allélochimiques des plantes, ce qui entrave le développement initial des cellules et inhibe donc la germination des graines (Rice, 1985).

### L'indice mitotique

L'indice mitotique, paramètre estimant la fréquence de la division cellulaire et considéré comme indicateur de la cytotoxicité (Truta *et al.*, 2011). L'indice mitotique a été calculé à partir de l'observation des mitoses de 600 cellules méristématiques de l'*Allium cepa* dans chaque pointe racinaire. Le traitement des extrémités des racines avec l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* de différentes concentrations a montré une diminution progressive de l'indice mitotique, cette diminution augmente en augmentant la concentration de l'extrait. Cependant cette diminution n'est pas significative ( $p > 0,05$ ) chez les groupes traités avec les concentrations (0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml et 2 mg/ml). Elle devient significative ( $p < 0,05$ ) à la concentration la plus élevée (4 mg/ml). Selon (Hoshina, 2002) une réduction significative de l'indice mitotique peut indiquer des changements résultant de l'effet de l'extrait testé sur la croissance et le développement des organismes exposés.

Une diminution de l'indice mitotique a été notée avec toutes les concentrations de l'extrait aqueux cela est traduit par un effet mitodépresseur de l'extrait exercé sur la division cellulaire de l'*Allium cepa*. Cette inhibition du cycle cellulaire par des agents mitodépresseurs présents dans l'extrait a

## Résultat et Discussion

---

été expliquée par le blocage de la phase G1 et par conséquent l'inhibition de la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) (El-Ghamery *et al.*, 2000). Ou par un blocage de la phase G2 du cycle cellulaire, empêchant ainsi les cellules d'entrer en mitose et au blocage de la synthèse des nucléoprotéines (Sudhakar *et al.*, 2001). Selon Christopher et Kapoor (1988), la réduction de l'IM pourrait être due à l'obstruction du début de la prophase, à l'arrêt d'une ou plusieurs phases mitotiques, ou au ralentissement du taux de progression cellulaire à travers la mitose.

La présence des effets cytotoxiques et antiprolifératifs a été approuvés chez plusieurs extraits des plantes médicinales, ces propriétés sont souvent utilisées pour inhiber la multiplication anarchiques des cellules tumorales (Konuk *et al.*, 2007; Barman *et al.*, 2020). Les études ont suggéré que la diminution de la croissance des racines et de l'indice mitotique signifiait un potentiel mitodépresseur, inhibiteur, cytotoxique, d'apoptose cellulaire, de synthèse altérée de la nucléoprotéine et d'inhibition de la synthèse d'ADN (Rajneet *et al.*, 2014 ; Trapp et Hister 2020 ; Mayara *et al.*, 2020).

### Test d'aberrations chromosomique

De nombreux chercheurs ont utilisé le test *Allium cepa* pour évaluer le potentiel génotoxique des plantes médicinales (Knoll *et al.*, 2006 ; Fachinnetto *et al.*, 2007 ; Lubini *et al.*, 2008 ; Fachinnetto et Tedesco, 2009). Il est considéré comme le test modèle sensible qui identifie les altérations et les aberrations chromosomiques causées par l'exposition aux substances génotoxiques. De plus, l'espèce *Allium cepa* bénéficie de plusieurs avantages. Par ailleurs, l'espèce *Allium cepa* présente de nombreux avantages telles que la stabilité du caryotype, dont les phases mitotiques sont très claires, la réaction claire et rapide aux substances génotoxiques, de plus elle fournit des informations importantes pour évaluer les mécanismes d'action d'un agent et ses effets sur le matériel génétique (Leme *et al.*, 2009).

Dans notre étude on note une augmentation des aberrations chromosomiques avec toutes les concentrations testées par rapport au contrôle, cette augmentation est significatif à la concentration 4 mg/ml (\* $p < 0.05$ ). Ces aberrations chromosomiques sont des altérations dans la localisation et la structure des chromosomes résultant de rupture ou d'échange de matériel chromosomique. La plupart de ces anomalies cellulaires sont mortelles, mais il existe également de nombreuses variations apparentées qui peuvent engendrer des effets génétiques, somatiques ou héréditaires (Raudsep et Chowdhary, 2016).

Les types d'anomalies observées étaient principalement : le C-mitose, l'adhésion chromosomique (Stickness), l'anaphase multipolaire, le micronoyau, le pont chromosomique, le noyau allongé, la fragmentation chromosomique, la télophase étoilée et le chromosome vagabond. Selon Türkoglu, (2008) le pont chromosomique, l'adhésion chromosomique et la fragmentions chromosomique sont



## Résultat et Discussion

---

dus au dysfonctionnement de la chromatine. Les ponts entre chromosome et/ou chromatide pourraient se produire pendant la translocation d'un échange inégal de chromatides ou en raison de la présence de chromosomes dicentriques. L'adhésion chromosomique (Stickness) peut être causée par une liaison subchromatide entre les chromosomes où les chromosomes perdent leurs capacités de mouvement. Cela peut aussi être expliqué par l'adhésion physique des protéines chromosomiques. Le C-mitose est du à l'échec du fuseau chromosomique (Mesi *et al.*, 2013). Selon (Singh, 2003). Un effet clastogène est indiqué par la fragmentation chromosomique, tandis qu'un effet aneugène est indiqué par des chromosomes vagabonds, une adhérence chromosomiques et une C-mitose.

Les résultats de l'analyse de la cytotoxicité provoquée par l'extrait méthanolique indiquée que les effets génotoxique suggèrent une interférence potentielle de l'extrait testé avec les processus normal de la mitose, à la fois sur le plan antimitotique et génotoxique.

L'analyse cytogénétique dans notre étude, a permet de détecter l'existence de différents types d'aberrations chromosomiques dans les cellules d'*Allium cepaa* savoir, l'anaphase multipolaire, le noyau allongé, l'adhésion chromosomiques le pont chromosomique, le micronoyau et le C-mitose.

### Les métabolites secondaires

Au meilleur de notre connaissance, il n'y a pas de littérature rapportée concernant la composition phénolique de *Thymus guyonii*. Donc à travers cette étude, nous nous sommes intéressés à l'étude des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de l'extrait *Thymus guyonii* qui été caractérisé par la présence d'acides phénoliques et de flavonoïdes, qui sont en partie liés à son activités biologiques.

Le test de DPPH a montré que l'extrait méthanolique de *Thymus guyonii* possède une faible activité antioxydant avec un  $IC_{50} = 4,57 \times 10^3 \mu\text{g/ml}$  par rapport a celle de l'acide ascorbique  $IC_{50} = 2 \mu\text{g/ml}$ . L'activité antioxydant est due à la présence de polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait de l'espèce étudiée. Les composés phénoliques sont des substances naturelles dotées d'un potentiel antioxydant connu, agissant dans la prévention ou la réduction du risque de cancer, de diabète, d'athérosclérose, de maladies coronariennes et de processus de vieillissement (Rufino *et al.*, 2011). Ainsi, l'activité antioxydant démontrée par l'extrait méthanolique de *Thymus guyonii* par le test du radical DPPH peut être attribuée à l'action des composés phénoliques notamment les flavonoïdes.

Selon (Silva *et al.*, 2010) les composés phénoliques ayant une activité antioxydant, tels que les acides hydroxycinnamiques, l'acide benzoïque et les flavonoïdes, peuvent également présenter des propriétés allélopathiques qui se traduit par un effet inhibiteur de la germination et l'élongation des racines et la croissance de l'épicotyle des graines (Basile *et al.*, 2000). Des extraits aqueux de *Chrysanthemum coronarium* ont inhibé la germination des graines de *Triticum durum*, *Zea mays*,

## Résultat et Discussion

---

*Sinapis arvensis* et *Phoenix canariensis* de manière dose-dépendante et ont démontré des effets phytotoxiques sur la longueur de la radicule et de l'élongation de la pousse des espèces testées. L'étude de (Fonseca *et al.*, 2017) a montré que l'activité allelopathique de l'extrait aqueux de *Smilax brasiliensis* sur les graines de l'*Allium cepa* est due principalement au flavonoïdes et d'acides phénoliques, tels que la rutine et l'acide chlorogénique. De plus l'extrait de *Thymus guyonii* a également présenté une augmentation significative de la fréquence des cellules aberrantes. Les polyphénols présents dans l'extrait testé ont des propriétés détergentes et peuvent se lier aux membranes cellulaires, par conséquent, le fonctionnement cellulaire est affecté, ce qui peut entraîner la mort cellulaire (Rizvi et Rizvi, 1992). L'un des facteurs qui peuvent amener les cellules à activer les mécanismes de mort cellulaire (apoptose), se traduisant par une fréquence plus élevée des aberrations chromosomiques, est la survenue de lésions non réparées de l'ADN.



# **Conclusion**

## Conclusion

---

### Conclusion

Des effets allélopathiques et toxiques significatifs de l'extrait de *Thymus guyonii* sur l'oignon ont été observés. L'extrait de *Thymus guyonii* contient des substances bioactives telles que des polyphénols et des flavonoïdes, qui sont probablement responsables du ralentissement et de l'inhibition de la germination d'*Allium cepa*, en particulier à des concentrations élevées (2 et 4 mg/ml). Ces propriétés pourraient être utilisées dans le domaine de l'agriculture comme bioherbicides "écologiques" pour le contrôle des mauvaises herbes. Des effets cytotoxiques et génotoxiques ont également été démontrés. Ils se manifestent par une inhibition de la croissance des racines, une diminution de l'indice mitotique, ainsi que par l'induction d'aberrations chromosomiques et de lésions nucléaires. Cette efficacité cytotoxique et génotoxique contre les cellules d'*Allium cepa* pourrait avoir des effets antitumoraux potentiels dans le traitement du cancer. Cependant, il est important de souligner la nécessité d'études supplémentaires pour déterminer la nature des substances bioactives de l'extrait responsables des effets cytotoxiques et inhibiteurs.

# Résumé

## Résumé

L'extrait de *Thymus guyonii* a été étudié afin d'analyser son teneur totale en polyphénols et en flavonoïdes, son activité de piégeage des radicaux libres DPPH, son activité allélopathique, cytotoxique et génotoxique. La teneur totale en polyphénols (méthode de Folin-Ciocalteu) s'est révélée être 152 mg EAG/g. La teneur totale en flavonoïdes (méthode du Chlorure d'aluminium) a montré que la teneur totale en flavonoïdes est 24,24 mg EQ/g. La teneur en tanins 0 mg CAT/g. L'étude a révélé que l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* présente un puissant effet allélopathique, en particulier à des concentrations élevées, entraînant une réduction significative (4 mg/ml) de la vitesse de germination ainsi que du taux de germination des graines d'oignon. De plus, il a été observé que l'extrait aqueux de *Thymus guyonii* inhibe la croissance racinaire, réduit l'indice mitotique et augmente l'indice d'aberration chromosomique. Des altérations chromosomiques dans les cellules de l'*Allium cepa* telles que : le C-mitose, Stickness, le pont chromosomique, les chromosomes fragmentés, les chromosomes vagabonds, l'anaphase multipolaire, télophase étoilé, noyau allongé et micronoyau ont été apparues. En conclusion, il est nécessaire de prendre en considération l'effet cytotoxique de cette plante lors de son usage en tant que plante thérapeutique.

**Mots-clés :** *Thymus guyonii*, *Allium cepa*, allélopathique, cytotoxicité, génotoxicité, indice mitotique et aberration chromosomique, polyphénols, flavonoïdes, Activité antioxydante, phytochimique.

## **Abstract**

The extract of *Thymus guyonii* was studied to analyze its total content of polyphenols and flavonoids, its DPPH free radical scavenging activity, its allelopathic, cytotoxic, and genotoxic activities. The total polyphenol content (Folin-Ciocalteu method) was found to be 152 mg GAE/g. The total flavonoid content (aluminum chloride method) indicated a total flavonoid content of 24.24 mg QE/g. The tannin content was 0 mg CAT/g. The study revealed that the aqueous extract of *Thymus guyonii* exhibits a powerful allelopathic effect, particularly at high concentrations, resulting in a significant reduction (4 mg/ml) in germination rate and germination percentage of onion seeds. Furthermore, it was observed that the aqueous extract of *Thymus guyonii* inhibits root growth, reduces the mitotic index, and increases the chromosomal aberration index. Chromosomal alterations in *Allium cepa* cells such as C-mitosis, stickiness, chromosomal bridges, fragmented chromosomes, wandering chromosomes, multipolar anaphase, starry telophase, elongated nucleus, and micronucleus were observed. In conclusion, it is necessary to consider the cytotoxic effect of this plant when used as a therapeutic plant.

**Keywords:** *Thymus guyonii*, *Allium cepa*, allelopathic, cytotoxicity, genotoxicity, mitotic index and chromosomal aberration, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, phytochemical.

## ملخص

مستخلص من *Thymus guyonii* تم دراسته لتحليل محتواه الكلي من البوليفينولات والفلافونويدات، ونشاطه في اصطبياد الجذور الحرة DPPH ، ونشاطه البيئي والسمية والتحور الجيني. تبين أن المحتوى الكلي للبوليفينولات (طريقة-Folin Ciocalteu) كان 152 ملغ/EAG غ. أظهرت طريقة كلوريد الألومنيوم أن المحتوى الكلي للفلافونويدات هو 24.24 ملغ/EQ غ. وكانت محتوى التانين صفر ملغ/CAT غ. أظهرت الدراسة أن المستخلص المائي لـ *Thymus guyonii* يعرض تأثيرًا بيئيًا قويًا، خاصةً في التراكيز العالية، مما يؤدي إلى تقليل كبير (4 ملغ/مل) في سرعة الإنبات ومعدل الإنبات لبذور البصل. بالإضافة إلى ذلك، لوحظ أن المستخلص المائي لـ *Thymus guyonii* يثبط نمو الجذور، ويقلل من مؤشر الانقسام الانتقالي ويزيد من مؤشر الشذوذ الكروموسومي. ظهرت تغيرات كروموسومية في خلايا *Allium cepa* مثل-C : انقسام، التصاق، جسر كروموسومي، تجزئة الكروموسومات، التجوال الكروموسومي، التأويه المتعددة، تيلوفاز النجمة، نواة مطولة ونواة صغيرة. في الختام، من الضروري أخذ تأثير هذه النبتة السمية في الاعتبار عند استخدامها كنبات علاجي.

### الكلمات الدالة :

*Thymus guyonii*، *Allium cepa*، بيئي، سمية، تحور جيني، مؤشر الانقسام الانتقالي والشذوذ الكروموسومي، البوليفينولات، الفلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة، المركبات النباتية.



## **Références bibliographiques**



## Références bibliographiques

- **Abderrazak M et Joel R. 2007.** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris, p. 177.
- **About M, Bensellem El, Moutiq R, El Yacoubi H, Rochdi A .2019.**Effet allélopathique de quelques plantes médicinales sur la germination des graines de *Phalaris canariensis* L. et *Lactuca sativa* L. Revue Marocaine de Protection des Plantes, N° 13: 1-7
- **Aftab T, Masroor M, Khan A, Naeem M, Mohd I, Siddiqi M et Varshney L. 2014.** Effect of irradiated sodium alginate and phosphorus on biomass and artemisinin production in *Artemisia annua*. Carbohydrate Polymers Elsevier.110 :396–404.
- **Ahou Kouame J.** Etudes des propriétés cytotoxiques et antiradicalaires d’extraits de feuilles et de Galles de *Guiera Senegalensis* J.F. Gmel (Combretaceae). Thèse de doctorat. Pharmacie. Université d’Ouagadougou. 2009, 132 p
- **Akcha F, Vincent-Hubert F, Leszkowicz A.2003.** Potential value of the Comet assay and DNA adduct measurement in dab (*Limanda limanda*) for the assessment of in situ exposure to genotoxic compounds. Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 534: 21-32
- **Akroum S. 2011.** -étude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels.Thèse doctorat physio-toxicologie univ Mentouri de Constantine. p1.
- **Alarcón R, Pardo-de-Santayana M, Priestley C, Morales R et Heinrich M. 2015.**Medicinal and local food plants in the south of Alava (Basque Country, Spain). Journal of Ethnopharmacology, 176, 207–224. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.10.022>.
- **Al-Bayati F. 2008.** Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. Journal of ethnopharmacology, 116(3), 403–406.
- **Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. 2002.** Molecular Biology of the Cell, Garland Science, New York. P: 1463.
- **Aragao. FB , M. J. Palmieri, A. Ferreira, A. V. Costa, V. T. Queiroz,P. F. Pinheiro and L. F. Andrade-Vieira. 2015.** Phytotoxic and cytotoxic effects of Eucalyptus essential oil on lettuce (*Lactuca sativa* L.) Allelopathy Journal 35 (1): 259-272.
- **Ashrafi, Z.Y, & Rahnavard, R. 2008.**‘Study of allelopathic potential of extracts of *Azadirachtaindica* (Neem)’, OnLine Journal of Bio-logical Sciences, 8 (3), pp. 57

- **Awan, I.U, Khan M.A, Zareef M, and Khan E.A. 2009.** Weed management in sunflower with allelopathic water extract and reduce doses of an herbicide, Weed science Society of Pakistan, 15, 19-30.
- **Baba Aissa F. 1990.** Les plantes médicinales en Algérie, édition le monde d'espharmacien, p 173.
- **Barman M, Roy, S. and Ray, S. 2020.** Mitotic abnormality inducing effects of leaf aqueous extract of *Clerodendrum inerme* Gaertn. on *Allium cepa* root apical meristem cells. Cytologia 86: 113–118.
- **Basile A, Sorbo S, Giordano S, Ricciardi L, Ferrara S, Montesano D, Cobianchi RC, Vuotto ML et Ferrara L. 2000.**Antibacterial and allelopathic activity of extract from castanea sativa leaves (71): p 110-116.
- **Belmokhtar. 2015.** Identification et caractérisation des molécules du métabolisme secondaire de *Retama monosperma*. L Boiss, intérêt pharmaceutique. Thèse de doctorat, Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, 97p.
- **Bendif H. 2017.** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae:*Ajuga iva*(L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus*subsp. *Coloratus* (Boiss. &Reut.) Greuter&Burdet et *Rosmarinuseriocalyx* Jord &Fourr., thèse de doctorat, l'école normale supérieure de KOUBA-Alger, département des sciences naturelles, biotechnologie végétale, P. 26.
- **Benteyeb A, Djemmal S. 2014.** Contribution à la mise en évidence in vitro de l'efficacité des huiles essentielles de *Thymus ciliatus* et *Thymus dreatensis* contre les champignons lignivores, thèse de master en microbiologie, université Constantine 1, p 4-10.
- **Bellakhdar J. 1997.** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Paris : Ibis Press. p.358.
- **Berthelot-Ricou A, Perrin J, Orsière T, Aye M, Roustan A, Botta A et Courbiere B. 2013.** Risque génotoxique et ovocytes : Principes de toxicologie génétique et applications. Gynécologie Obstétrique et Fertilité. 41 :544-547.
- **Boizot N et Charpentier J-P. 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, Le Cahier des Techniques del'INRA, 79-82.
- **Bonassi S, Abbondandolo A, Camurri L, Dal Pra L, De Ferrari M, Degrassi F, Forni A, Lamberti L, Lando C, Padovani P, Sbrana I, Vecchio D, Puntoni R. 1995.** Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future cancer onset in humans? Preliminary results of an Italian cohort study. Cancer Genetics Cytogenetics 1995 Feb;79(2):133-5.

- **Botta A. 2006.** Relations entre génotoxicité, mutagénèse et cancérogénèse. l'environnement IPMdsd (ed) Journées Nationales de Santé au Travail dans le BTP. Service Hospitalouniversitaire de Médecine et Santé au Travail, Marseille, Annales : 28 :9-13
- **Boudoumi K. 2014.** Etude de l'Influence du lieu et de la période de récolte de l'espèce «*Thymus vulgaris* L. » sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles. Mémoire de Master. Université de Djelfa, Algérie.
- **Bouhaddouda N. 2016.** Activités antioxydants et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. thèse doctorat, univ. Annaba, p.24
- **Bruneton J. 2009.** Pharmacopée, photochimie, plantes médicinales, 4ème éd. Lavoisier, paris, 366-424.
- **Burnie G, Forrester S, Greig D, Guest S, Harmony M, Hobley S, Jackson G, Lavarack P, Melanie L, Donald RM, Macoboy S, Molynenx B, Moodie D, Moore J, North T, Newan D, Pienaar k, Purdy G, Skil J, Rayn S and Schien G. 1999.** Botanicia : The illustrated A-Z of over 10,000 garden plants, (3rd Ed), Random House Australia Pty Ltd, New south Wales, pp74.
- **Cachot J. 2009.** La génotoxicité : Quel risque pour les espèces aquatiques. Fascicules Seine aval. pp 1-36.
- **Carrió E, Vallès J. 2012.** Ethnobotany of medicinal plants used in Eastern Mallorca (Balearic Islands, Mediterranean Sea). Journal of ethnopharmacology, 141(3), 1021–1040. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.03.049>.
- **Charles DJ. 2012.** Antioxidant properties of spices, herbs and other sources. Springer Science & Business Media. New York Heidelberg Dordrecht London p588.
- **Charmot D. 2006.** Le cycle cellulaire, la mitose et la méiose. Edition De Boeck. Marseille.212p.
- **Christopher HB, Kapoor MB. 1988.** The cytogenetic effects of sodium salicylate on the root meristem cells of *Allium sativa* L. Cytologia.54: 203–209.
- **Cuendet M. 1999.** Recherche de nouveaux composés capteur de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : *Fragraea blumei* (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : *Bartsia alpina* (Scrophulariaceae), *Loiseleuria procumbens* (Ericaceae) et *Campanulaba* (Doctoral dissertation, Université de Lausanne, Faculté des sciences).
- **Dacosta Y. 2003.** Les phytonutriments bioactifs, Ed Yves Dacosta, Paris, 317 p.
- **David C. 2013.** Les agents biologiques. Institut National de Recherche et de sécurité. Paris. 117 : 14
- **Djerroumi A et Nacef M. 2004.** 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre, P135-131.

- **Dob T, Dahmane D, Benabdelkader T, Chelghoum C. 2006.** Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss, et Reut. Int J Aromather 16: 95–100.
- **Doré T, Sène, M, Pellissier F. & Gallet C. 2004.** Approche agronomique de l'allélopathie. Cahiers Agricultures, 13(3), 249-256.
- **ErtaşA , Boga M ,Yilmaz M , Yeşil Y, Tel G, Temel H, , Haşimi N, Gazioğlu I, Öztürk M, Ugurlu P. 2015.** A detailed study on the chemical and biological profiles of essential oil and methanol extract of *Thymus nummularius* (Anzer tea): Rosmarinic acid. Industrial Crops and Products. 67:336-345. 10.1016/j.indcrop.2015.01.064.
- **Elord S et Stansfield W. 2003.** Génétique. 4<sup>ème</sup> Edition. Dunod. Paris.
- **El- Gharmery AA, El-Nahas AL et Mansour MM .2000.** The action of atrazine herbicide as inhibitor of cell division on chromosomes and nucleic acids content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. Cytologia 55: 209-215.
- **Fachinetto J.M, Bagatini M.D, Silva A.C.F.et Tedesco S.B. 2007.** Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*, Rev. bras. farmacogn., 17, 1, pp. 49-54, ISSN: 0102695X .
- **Fachinetto J.M. & Tedesco S.B. 2009.** Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*, Rev. Bras. Pl. Med., 11, 4, pp. 360-367, ISSN 1516-0572.
- **Fonseca J, Barbosa M, Silva I, Duarte-Almeida J, Castro A, Dos Santos Lima L. 2017.** Antioxidant and allelopathic activities of *Smilax brasiliensis Sprengel* (Smilacaceae), South African Journal of Botany 111: 336-340.
- **Gilca M, Tiplica G et Salavastru C. 2018.** Traditional and ethnobotanical dermatology practices in Romania and other Eastern European countries. Clinics in dermatology, 36(3), 338-352.
- **Guy R.C, 2014.** Ames test. Encyclopedia of toxicology.3: 187-188.
- **Golmakani M et Rezaei K. 2008.** Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. Food chemistry, 109(4), 925–930.
- **Grant. 1982.** Chromosomes aberration assays in *Allium cepa* : A report of the US Environmental Protection Agency geno-tox program.
- **Grant WF. 1999.** Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations—a brief historical background on their use for screening and monitoring

environmental chemicals. *Mutat. Res.* 426 (2):107–12. doi:10.1016/S0027-5107(99)00050-0.

- **Gravot A. 2008.** Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1– L2.
- **Guignard JL et Dupont F. 2004.** Botanique systématique moléculaire, 13ed MASSON, Belgique, p234-237.
- **Guiraud J P. 1993.** Génétique microbienne : Bases théoriques et introduction aux applications pratiques. Techniques et documentation. Lavoisier. pp 89-111.
- **Haddouche K. 2011.** Étude de l'effet antibactérien des huiles essentielles de *Thymus ciliatus* sp. *coloratus*, thèse de master en SCIENCE DES ALIMENTS, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, p19-22.
- **Hagmar L, Bonassi S, Strömberg U, Mikoczy Z, Lando C, Hansteen IL, Montagud AH, Knudsen L, Norppa H, Reuterwall C, Tinnerberg H, Brøgger A, Forni A, Högstedt B, Lambert B, Mitelman F, Nordenson I, Salomaa S, Skerfving S. 1998.** Cancer predictive value of cytogenetic markers used in occupational health surveillance programs: a report from an ongoing study by the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of mutagenesis*, p171-178
- **Hoshina MM. 2002.** Evaluation of a possible contamination of the waters of the Claro River, municipality of Rio Claro, part of the Corumbatai River basin, With mutagenicity tests using *Allium cepa*. State University of Sao Paulo, Rio Claro, SP (in Portuguese).
- **Iserin P. 2001.** Encyclopedie Des Plantes Medicinales. Ed : Larousse Bourdasse. Paris.P.335.
- **Istifli ES, Ila HB.** Cytotoxicity – Definition, Identification, and cytotoxic compounds. IntechOpen. London, united kingdom. 2019, 105 p.
- **Jalas J. 1971.** Note of *Thymus L.* (Labiatae) in Europe. I. Supraspecific classification and nomenclature. *Bot. J. Linn.Soc.*, 64, P199-215.
- **Kabouche Z-A. 2005.** Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae. Thèse Doctorat.Univ. Constantine 1.
- **Klug W, Cummings M, Spencer C. 2006.** Génétique. 8ème Editions. Pearson. Paris.
- **Knoll M.F, Silva A.C.F, Tedesco S.B. & Canto-Dorow, T.S. 2006.** Effects of *Pterocaulon polystachyum* DC. (Asteraceae) on onion (*Allium cepa*) root-tip cells. *Genet. Mol. Biol.*, 29, 3, pp. 539-542, ISSN 1415-4757.
- **Konuk M, Liman R. and Cigerci I. H. 2007.** Determination of genotoxic effect of boron on *Allium cepa* root meristematic cells. *Pak. J. Bot.* 39: 73.

- **Le Blanc-Louvry I, Laburthe-Tolra P, Massol V, Papin F, Goullé J.P, Lachatre G, Gaulier JM et Proust B. 2012.** Suicidal sodium azide intoxication: An analytical challenge based on a rare case. *Forensic Science International*. 221: 17-20.
- **Leme D et Marin-Morales M A. 2009.** *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 682, 71-81.
- **Li L., Zhou Y., Sun L., Xing G., Tian C., Sun J., Zhang L. et He F. (2007).** NuSAP is degraded by APC/C-Cdh1 and its overexpression results in mitotic arrest dependent of its microtubules affinity. *Cell Signal*. 19:2046-55.
- **Lodish H, Baltimore D, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira ., Darnell J. 1997.** Biologie moléculaire de la cellule, p: 178-179.
- **Lubini G, Fachinetti J.M, Laughinghouse IV, H.D., Paranhos, J.T., Silva, A.C.F. & Tedesco, S.B. 2008.** Extracts affecting mitotic division in root-tip meristematic cells, *Biologia*, 63, pp. 647-651.
- **Macheix JJ, Fleuriet A et Christian JA. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Collection biologique, press polytechniques et universitaires, Romandes, 1-192.
- **Madi A. 2010.** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques thèse de magister en Biotechnologie végétale, Université-Mentouri Constantine, p1-2.
- **Maity S, Chatterjee S, Variyar P, Sharma A, Adhikar S et Mazumder S. 2013.** Evaluation of antioxidant activity and characterization of phenolic constituents of *Phyllanthus amarus* root.
- **Marija M, Senzana B, Dusica J, Sonja D ET Milica L. 2008.** Morphology, distribution, and histochemistry of trichomes of *Thymus lykæ* Degen & Jav. (Lamiaceae) *Arch. Biol. Sci.*, Belgrade, 60 (4), 667-672.
- **Maron DN, Ames BN, 1983.** Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*. 113, 173-215.
- **Mateuca R, Lombaert N, Aka PV, Decordier I, Kirsch-Volders M. 2006.** Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*. 88 : 1515-1531.
- **Mayara CS, Aline FM, Hataanderson LCS, Jennifer VG, Danilo GNP, Gabriela LP, Ellen BDR, Mayara JCL, Raphael SA, Leonardo OB, Helcio RB, Viviane ML. Laurus nebilis L. 2020.** Assessment of the cytotoxic and genotoxic potential of aqueous extracts by micronucleus and *Allium cepa* assays. *Brazilian J Pharmaceut Sci*. 2020; 56: e18302

- **Mayer F. 2012.** Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite, thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, p 17.
- **Mebarki N. 2010.** extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanisii* et application à la formulation à une forme médicamenteuse-antimicrobienne thèse de magister en technologie des hydrocarbures, département génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, université M'Hamed Bougara-Boumesdes.
- **Meijer L. 2003.**Le cycle de division cellulaire et sa régulation. Oncologie- paris 5(7/8), 311-326.
- **Mesi A, Kopliku D, Neziri A. et Golemi S. 2013.**Correlative evaluation between nickel ion concentrations doped in some riverside water bodies of Nen-Shkodra lowland and root growth of *Allium cepa*(L.). Asian J. Chem. 25(5). 2687-2689.
- **Michel C. 2011.** Biomarqueurs de génotoxicité chez *Dreissena polymorpha* : Indicateurs de la pression chimique urbaine et variabilité naturelle des lésions de l'ADN. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie. 193
- **Middleton E, Kandaswami C et Theoharides T. 2000.** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. Pharmacol Rev, 52, 673-839.
- **Mpondo E, Paul Ngene J, Mpounze Som L, Etame Loe G, Ngo Boumsong P, Yinyang J. 2017.**Connaissances et usages traditionnels des plantes médicinales du département du haut Nyong. Journal of Applied Biosciences, 113: 11229-11245.
- **Moussa Masoud, Mohamed A. K. Omar. Saleh. A. Abugarsa. 2018.** Libyan Journal of Science & Technology 7:1 (2018) 17-20
- **Mushtaq A, Khan M-P-Z, Mukhtar A, Zafar M, Sultana S et Jahan S. 2016.** 'Ethnopharmacological survey on medicinal plants used in herbal drinks among the traditional communities of Pakistan', Journal of Ethnopharmacology 184, 154–186.
- **OECD .2006.** Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. OECD-Organ. For Eco. Coop. Dev. Paris 208: 6. 10.1787/9789264070066-
- **Oraon and Mondal. 2021.** Allelopathic Effect of Lamiaceous Weeds on Aromatic Rice Acta Agrobotanica / 2021 / Volume 74 / Article 741 Publisher: Polish Botanical Society
- **Ozenda P. 1991, 2004.** Flore et végétation du Sahara. 3èmeEd.CNRSedition, Paris. P.399.
- **Peronny S. 2005.** La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*). Thèse de doctorat. Muséum national d'histoire naturelle, France. 151p.
- **Petit JM et Julien R. 2007.** Mini manuel de génétique. Edition Dunod. Paris. 260p.

- **Pillière F et Falcy M. 1991.** Exposition aux produits chimiques génotoxiques : Marqueurs biologiques pour la surveillance des salariés. Documents pour le médecin du travail. 336p.
- **Quezel P et Santa S. 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques. Tome II, Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 600p.
- **Rajneet KS, Avinas N, Jatinder KK. 2014.** *Allium cepa* root chromosomal aberration assay: An efficient test system for evaluating genotoxicity of Agricultural soil. Int. J Sci Res. 2014; 3(8):245-250
- **Rasooli I, Rezaei MB et Allameh A. 2006.** Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases, 10(3), 236–241.
- **Raudsepp T, Chowdhary BP. 2016.** Chromosome aberrations and fertility disorders in domestic animals, Annu Rev Anim Biosci. 4: 15-43.
- **Rice E.L. 1984.** Allelopathy. 2nd ed. New York, Academic Press, Orlando, FL.
- **Rice E. L. 1985.** Allelopathy: An overview. In G. A. Cooper-Driver, T. Swain, & E. E. Conn (Eds.), Chemically mediated interactions between plants and other organisms (pp. 85–105). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9658-2\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9658-2_4)
- **Rizvi S.J.H et Rizvi V .1992.** Exploitation of allelochemicals in improving crop productivity, pp443-472
- **Rufino M, Alves R, Fernandes F et Brito E. 2011.** Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts.
- **Roux D et Catier O. 2007.** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. Collection du " cahier du préparateur en pharmacie ",141- 146.
- **Roy S, Kundu L M, Roy G C, Barman M and Ray, S. 2021.** Cytotoxic and micronuclei Inducing effects of petroleum ether fraction of leaf aqueous extract of *Clerodendrum viscosum* Vent. in *Allium cepa* root tip cells. Cytologia 86: 261–266.
- **Saidj F. 2006.** Extraction de l'huile essentielle de thym : *Thymus numidicus kabylica* thèse de magister en technologie des hydrocarbures, département génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, université M'Hamed Bougara-Boumesdes.
- **Saidj F. 2007.** Extraction de l'huile essentielle de thym : *Thymus numidicus kabylica*, thèse de magister d'ingénieur d'état en Génie chimique, université Mohamed Bougera-Boumerdes, p5.
- **Samouelian F, Gaudin V et Boccara M. 2009.** Génétique moléculaire des plantes. Quae. Paris. 230p.



- **Sarić-Kundalić B, Dobes C, Klätte-Asselmeyer V et Saukel J. 2010.** Ethnobotanical study on medicinal use of wild and cultivated plants in middle, south and west Bosnia and Herzegovina. *Journal of ethnopharmacology*, 131(1), 33–55.
- **Schofield P, Mbugua DM & Pell, A.N. 2001.** Analysis of condensed tannins: a review. *Anim. Feed Sci. Technol*, 91, 21-40.
- **Selmi S et Sadok S. 2008.** The Effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus) on flesh quality of tuna (*Thunnus thynnus* (Linnaeus) during chilled storage. *Pan- American Journal of Aquatic Sciences*. 3. 36-45.
- **Silva A, Martinello T, Novakovich, Praes C, Feferman I. 2010.**Antioxidant kinetics of plant-derived substances and extracts. (32), p73-80.
- **Silvant C. 2015.** L'aromathérapie la nature au service de l'humanité, Ed. Publibook, Paris
- **Silveira GL, MG Lima, GB Reis, M. J. Palmieri, and L. F. Andrade-Vieira. 2017.** Toxic effects of environmental pollutants: Comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L. *Chemosphere* 178:359–67. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.03.048.
- **Singh RJ. 2003.** *Plant Cytogenetics*, CRC Press Boca Raton, Florida, USA..
- **Spichiger RE, Vincent VS, Figeat M et Jeanmonod D. 2004.** *Botanique systématique des plantes a fleurs « une approche polygénétique nouvelle des angiospermes des régions tempères et tropicales*. 3eme Ed. press polytechniques et universitaire romandes Lausanne, Suisse, p.328.
- **Stahl-Biskup E,Saez F. 2002.** Essential oil chemistry of the genus *Thymus*: a global view. In: *Thyme D the Genus Thymus*. Francis & Taylor, London, p.124.
- **Stansfield W. 2003.** *Génétique*. Edition Dunod. Paris. 165p.
- **Sudhakar R, Gowda N. and Venu G. 2001.** Mitotic Abnormalities Induced by Silk Dyeing Industry Effluents in the Cells of *Allium cepa*. *Cytologia*, 66, 235-239.
- **Tabti M et tahdjerit O. 2017.**étude taxonomique de quelques populations de *Salviaverbenaca* ssp. *Euverbenaca* et ssp.*clandestina* (Lamiaceae) du golfe de Bejaia et de la vallée de la soummam.mémoire de l'obtention du diplôme master on taxo-génétique végétale et évolution.univ. Bejaia.
- **Tahri N, El Basti A, Zidane L, Rochdi A, Douira A.2017.** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la province de settat (Maroc).
- **Tarantini A. 2009.** Modulation de la génotoxicite des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélanges. Thèse de doctorat, Ecole doctorale Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement de Grenoble.
- **Tomas D, Pollard-Wiliam C, Earnshaw. 2004.** *Biologie cellulaire* p: 721-774.

- **Trapp KC, Hister CAL, Laughinghouse IV HD, Boligon AD, Tedesco SB. 2020.** Determination of phenolic compounds and evaluation of cytotoxicity in *Plectranthus barbatus* using the *Allium cepa* test. *Caryologia*. 2020; 73(2):145-153
- **Truta E, Maria M Z, Zenovia O. 2011.** Caffeine induced genotoxic effects in *Phaseolus Vulgaris* L. and *Raphanus Sativus* L.
- **Tsimogiannins D et Oreopoulou V. 2006.** The contribution of flavonoid C ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food Sci Emerg Tech*, 7, 140-146.
- **Turkoglu S. 2008.** Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*.
- **Turkoglu A, Mehemet ED, Nazime M, Ibrahim K, Kidret G. 2007.** Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Food chemistry* 101(1), 267-273, 2007.
- **USEPA. 1996.** Ecological effects test guidelines (OPPTS 850.4200): Seed germination/Root elongation toxicity test. Washington, D.C: US Environmental Protection Agency, Office of Toxic Substances.
- **Verdeguer M, Blázquez MA & Boira. H. 2009.** 'Phytotoxic effects of *Lantana camara*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Eriosepha-lusafricanus* essential oils in weeds of Mediterranean summer crops', *Biochemical Systematics and Ecology*, 37, pp. 362-369.
- **Veres K. 2007.** Variability and biologically active components of some Lamiaceae species. Ph.D. thesis. Département de pharmacognosy. Univ. Szeged, Hungary, p.3.
- **Winter P, Hickey G ET Fletcher H. 2000.** L'essentiel en génétique. Port Royal livres. pp 101-115.
- **Zeghad N. 2008.** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de magister (Ecole doctorale). Université Mentouri Constantine, 130p.
- **Zaghib A. 2013.** Etude phytochimique et activité antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de endémiques du genre *Thymus*. Thèse de Doctorat. Université des Frères Mentouri
- **Zunino MP et Zygadlo JA. 2004.** 'Effect of monoterpenes on lipid oxidation in maize', *Planta*, 219, pp. 303-309.