

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU**  
**FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES**  
**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**



**Mémoire de Fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de**

**MASTER en Ecologie et environnement.**

**Option: Biodiversité et écologie végétale.**

**Evaluation *in vitro* de l'effet antimitotique de l'extrait d'acétate d'éthyle des  
feuilles de *Peganum harmala L.* de la région de Laghouat (Algérie).**

Le : 14/11/2019

**Membres du jury :**

Présidente : <b>Mme Aiche-Iratni G.</b>	<b>MCB</b>	<b>UMMTO.</b>
Promotrice : <b>Mme Smail-Saadoun N.</b>	<b>Professeur</b>	<b>UMMTO.</b>
Co-promotrice : <b>Mme Ouzid Y.</b>	<b>Docteur</b>	<b>UMMTO.</b>
Examinatrice : <b>Mme Ghazi-Yaker A.</b>	<b>MAA</b>	<b>UMMTO.</b>

Réalisé par l'étudiant : **MADI Aghiles-Ouali**

# Remerciements

Mes sincères remerciements sont adressés à mon enseignante et ma promotrice **Pr SMAIL SAADOUN N.** Tout d'abord pour ses cours durant tout le cycle master, pour l'encadrement qu'elle m'a prodigué en m'accueillant dans son laboratoire, ses conseils et pour toutes ses remarques explicatives. Que ce modeste travail vous honore et vous témoigne ma sincère reconnaissance et remerciement.

J'exprime ma gratitude et ma sincère reconnaissance envers ma co-Promotrice **Dr OUZID Y.** pour sa patience, ses conseils lors des séances de travail, ses encouragements, son soutien et son orientation. Je vous remercie du fond du cœur madame.

Je tiens à remercier **Mme Aiche-Iratni G.** d'avoir accepté d'être membre de jury et l'honneur qu'elle nous fait d'être président du jury.

Un remerciement spécial pour **Mme Ghazi-Yaker A.** pour avoir accepté de faire partie des membres de jury et assurer le rôle d'examineur lors de ma soutenance.

Un grand merci aussi pour **Mme Sekhi-Rezki L.** et à tous les membres du laboratoire de ressources naturelles de l'UMMTO pour cette aimable période de travail partagée avec eux.

## **Dédicaces**

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents et grands-parents, à ma sœur et mon frère et à toute ma famille et tous mes proches.

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	01
<b>Partie bibliographique</b> .....	04
I. Cycle cellulaire et mitose .....	04
1.1. Rappels génétiques. ....	04
1.1.1 Historique et définition du chromosome .....	04
1.1.2. Constituants moléculaires et structure du chromosome.....	04
1.2. Cycle cellulaire .....	04
1.3. Modèle de base du cycle de division cellulaire.....	05
1.3.1 Interphase.....	05
1.3.2 Phase G1.....	05
1.3.3. Phase S.....	05
1.3.4. Phase G2 .....	06
1.3.5. Microtubules .....	06
1.4. Différentes phases de la mitose .....	08
1.4.1. Prophase .....	08
1.4.2. Prométaphase.....	08
1.4.3. Métaphase .....	09
1.4.4. Anaphase .....	10
1.4.5. Télophase .....	10
1.4.6. Cytodiérèse.....	11
2. Antimitotiques .....	11
2.1 Historique .....	11
2.2. Antimitotiques et mécanisme d'action .....	12
2.3. Molécules antimitotiques issues du végétal .....	12
II. <i>Peganum Harmala</i> L.....	14
2.1. Description des différentes parties de <i>Peganum harmala</i> L.....	14
2.2. Systématique et taxonomie de <i>Peganum harmala</i> L.....	15
2.3. Aire de répartition et distribution de <i>Peganum harmala</i> L.....	15
2.4. Ethnobotanique et utilisation thérapeutiques de <i>Peganum harmala</i> L.....	16
2.5. Etude phytochimique de <i>Peganum harmala</i> L.....	16
2.6. Activités biologiques de <i>Peganum harmala</i> L.....	18

<b>Partie expérimentale</b> .....	19
I. Matériel et méthodes.....	19
1.1. Lieu d'étude et expérimentation.....	19
1.2. Matériel biologique .....	19
1.3. Matériel de laboratoire .....	21
1.3.1 Solvant et réactifs utilisés.....	21
1.4 Méthodes utilisées :.....	22
1.5. Déroulement des différentes parties de l'expérimentation.....	23
1.6 Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antimitotique des extraits aqueux d'acétate d'éthyle des feuilles de <i>Peganum harmala</i> L. ....	25
1.7. Evaluation microscopique .....	26
1.7.1. Indice mitotique (IM%) .....	27
1.7.2. Indice des phases (IP%) .....	27
1.7.3. Valeur limite de cytotoxicité (VLC).....	27
1.7.4. Indices des aberrations (IA%) .....	27
II. Résultats et discussions .....	28
2.1. Différentes phases de la mitose observées chez le témoin négatif.....	28
2.2. Aberrations observées et enregistrées .....	29
2.3. Indices mitotiques (IM)% et valeurs limites de cytotoxicité (VLC)%.....	31
2.3.1. Comparaison des indices mitotiques (IM) et les valeurs limites de cytotoxicité (VLC).....	33
2.3.2. Moyennes des indices mitotiques des différents extraits.....	34
2.3.3. Moyennes des valeurs limites de cytotoxicité.....	36
2.3.4. Moyennes des indices de phases.....	37
2.4. Discussions des moyennes des aberrations observées.....	40
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	44

# Résumé

Les plantes médicinales sont une source inépuisable de molécules bioactives à l'origine de plusieurs activités biologiques. C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés à l'évaluation *in vitro* de l'activité antimittotique (Test *Allium cepa*) des extraits d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala L.*, une plante spontanée des zones arides d'Algérie (Laghouat). Différentes concentrations (16 ; 10 ; 4 ; 1mg/ml), ainsi que les deux standards à la concentration 1mg/ml : la colchicine et la quercétine ont été testés. Des indices mitotiques (IM%); des valeurs limites de cytotoxicité (VLC%) et des indices de phases (IP%) ont été calculés, et différentes aberrations ont été recensées chez les cellules méristématiques d'*Allium cepa L.*, traitées par les différentes concentrations ainsi que les deux standards. Nos résultats révèlent que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala L.* inhibe la mitose, avec un effet comparable à celui des deux standards. L'augmentation des concentrations en extrait s'accompagne par une diminution des différents indices calculés. Des moyennes d'IM (%) de  $43,80 \pm 0,46\%$  et de  $29,13 \pm 0,55\%$ , ainsi que des VLC de  $1,16 \pm 0,20\%$  et  $33,20 \pm 0,07\%$  ont été obtenues pour les concentrations 16 et 1 mg/ml respectivement. Nos extraits bloquent la mitose en prophase qui est majoritairement présente, et causent une augmentation d'indices d'anomalies (IA%), représenté par des taux dominants d'agglutinations, de fragmentations chromosomiques et des cellules binucléés. L'analyse statistique type ANOVA et le test de Newman Keuls appuie l'effet antimittotique des extraits d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala L.* à différentes concentrations, similaire aux deux standards (colchicine et quercétine).

**Mots clés :** *Peganum harmala L.*; activité antimittotique; extrait d'acétate d'éthyle, molécules bioactives, colchicine, quercétine, Laghouat.

## Abstract

Medicinal plants are an inexhaustible source of bioactive molecules at the origin of several biological activities. It's with this in mind that we are interested in the in vitro evaluation of the antimitotic activity (*Allium cepa* test) of the ethyl acetate extracts of the leaves of *Peganum harmala* L, a spontaneous plant in the arid zones, Algeria,(Laghouat). Different concentrations (16, 10, 4, 1 mg / ml) as well as the two standards at 1mg /ml concentration: colchicine and quercetin were tested. Mitotic indices (MI%); cytotoxicity limit values (VLC%) and phase indices (IP%) were calculated, and different aberrations were recorded in the meristematic cells of *Allium Cepa* L. treated with the different concentrations as well as the two standards. Our results reveal that the ethyl acetate extract of the leaves of *Peganum harmala* L. inhibits mitosis, with an effect similar to that of both standards. The increase in extract concentrations is accompanied by a decrease in the various indices calculated. MI (%) averages of  $43.80 \pm 0.46$  of  $29.13 \pm 0.55$ , as well as VLC (%) of  $1.16 \pm 0.20$  and  $33.20 \pm 0.07$  (%) were obtained for the concentrations 16 and 1 mg / ml respectively. Our extracts block the predominantly present prophase mitosis, and cause an increase in abnormality indices (IA%), represented by dominant rates of agglutination, chromosome fragmentation and bi-nucleate cells. The ANOVA statistical analysis and the Newman Keuls test support the antimitotic effect of the ethyl acetate extracts of *Peganum harmala* L. leaves at different concentrations, similar to both standards (colchicine and quercetin).

**Keywords:** *Peganum harmala* L, antimitotic activity, ethyl acetate extract, bioactive molecules, colchicine, quercetine, Laghouat.

# Liste des figures

N°	Intitulé	page
1	Schéma du cycle cellulaire	4
2	Représentation schématique d'une cellule en prophase. structure du chromosome	6
3	Représentation schématique de la prométaphase	6
4	Dynamique de la formation des microtubules	8
5	les protéines motrices des microtubules	8
6	Représentation schématique du fuseau mitotique en métaphase	9
7	Représentation schématique d'une cellule en anaphase	10
8	Cytodirèse cellule animale et cellule végétale ; (a) zygote d'un oursin ; (b) formation de la plaque cellulaire	10
9	Structures chimiques des molécules antimitotiques	12
10	Photo de <i>Peganum harmala</i> L, Photo de la fleur, Fruits et graines de <i>Peganum harmala</i> L. Dayate Aiat (Laghouat, Algérie).	14
11	Principaux alcaloïdes de <i>Peganum harmala</i> L	17
12	Synthèse des $\beta$ -carbolines de <i>Peganum harmala</i> L. et de la sérotonine à partir du tryptophane	17
13	Région de l'échantillonnage des feuilles de <i>Peganum harmala</i> L	18
14	Utilisation des racines d' <i>Allium cepa</i> comme témoins à suivre pour définir les différentes phases de la division mitotique	19
15	Protocole de transformation des feuilles de <i>Peganum harmala</i> L. en poudre.	20
16	Photo et schéma illustratif de la mise en croissance des racines d' <i>Allium cepa</i>	20
17	Préparation et dilutions de différents extraits	21
18	Schéma récapitulatif du protocole expérimental de l'extraction par l'acétate d'éthyle et de l'activité antimitotique	22
19	coloration au carmin acétique.	24
20	Observations des différentes phases de la mitose chez les cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> (x400) (Témoin négatif).	26
21	Aberrations causés par la Colchicine [1mg/ml] sur les cellules méristématiques des extrémités racinaires d' <i>Allium cepa</i> Observé au microscope Optique (X400) (Témoin Positif 01).	27
22	Aberrations causés par la Quercétine[1mg/ml] sur les cellules méristématiques des extrémités racinaires d' <i>Allium cepa</i> Observé au microscope Optique (X400). (Témoin positif 02).	28
23	Aberrations causés par l'extrait brut d'acétate d'éthyle des feuilles de <i>Peganum Harmala</i> L sur les cellules méristématiques des extrémités racinaires d' <i>Allium cepa</i> observé au microscope Optique (X400).	30
24	Histogramme des aberrations observées.	39

# Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Intitulé</b>	<b>page</b>
<b>1</b>	Principaux constituants des microtubules	<b>8</b>
<b>2</b>	Solvants et réactifs utilisés	<b>19</b>
<b>3</b>	Les indices mitotiques (IM) et les valeurs limites de Cytotoxicité (VLC) des deux témoins négatifs utilisés dans notre étude.	<b>29</b>
<b>4</b>	Comparatif des indices mitotiques (IM) et les valeurs limites de cytotoxicité (VLC) obtenus dans notre étude	<b>31</b>
<b>5</b>	Comparaison multiple des moyennes des indices mitotiques des différents extraits	<b>32</b>
<b>6</b>	Comparaison multiple des moyennes des valeurs limites de cytotoxicité des différents extraits	<b>34</b>
<b>7</b>	Les moyennes des indices de phases comparées au témoin	<b>35</b>
<b>8</b>	Les résultats de comparaison de moyennes pour les indices de prophase	<b>36</b>
<b>9</b>	Les résultats de comparaison de moyennes pour les indices de métaphase	<b>36</b>
<b>10</b>	Les résultats de comparaison de moyennes pour les indices d'anaphase	<b>36</b>
<b>11</b>	Les résultats de comparaison de moyennes pour les indices de télophase	<b>37</b>
<b>12</b>	Moyennes des aberrations rencontrées lors de nos observations	<b>39</b>
<b>13</b>	Les résultats des comparaisons des moyennes des indices d'aberrations.	<b>41</b>

# Introduction générale

L'étude des relations entre l'homme et les plantes existe depuis 3 millions d'années, où il est confirmé que l'homme utilisait ces dernières premièrement comme source de nourriture, mais bien plus encore, aussi pour se soulager de ces maux et douleurs. La plupart des produits utilisés par l'homme pour des fins thérapeutiques étaient d'origine végétale. Cela a été clairement mentionné dans plusieurs écrits historiques (Tablettes sumériennes, Papyrus d'Egypte, recueil d'HIPPOCRATE, DeMateria Medica de DIOSCORIDE). En effet, les hominidés n'ont pas attendu l'émergence de la disciplines scientifique pour apprendre à classer et utiliser les plantes, il était vital pour eux de distinguer les plantes utiles de celles à éviter, pour se nourrir, pour prévenir des maladies ou se soigner (Anonyme 1, 2002).

De nos jours, même si le développement de la recherche scientifique et des industries pharmaceutiques est important, les plantes médicinales et les remèdes qu'on pouvait en tirer ne sont pas abandonnés. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que 80% de la population mondiale utilise des plantes à des fins thérapeutiques (BOUSLIMAN *et al.*, 2012). Les plantes médicinales sont une source importante de molécules bioactives, à l'origine de plusieurs activités biologiques à savoir : antioxydante, antibactérienne, antiproliférative, antimitotique, etc... (ZHAO *et al.*, 2010 ; TENGURIA *et al.*, 2011). l'effet antimitotique des molécules bioactives issue de végétale prend le devant pour l'effet irréversible que ce derniers à sur l'organisme biologique cela explique

L'Algérie avec sa position géographique, présente plusieurs étages bioclimatiques, induisant à une biodiversité importante (AMEENAH *et al.*, 2006). Malgré tout cela, peut d'efforts dans le domaine des plantes médicinales ont été fournis, pour améliorer les sources des molécules bioactives recherchées et intéressantes pour l'homme.

*Peganum harmala* L. est l'une des espèces de plantes qui présente des vertus thérapeutiques. Elle appartient à la famille des Zygophyllacées et elle est très répandue dans les régions arides et semi-arides (DARABPOUR *et al.*, 2011). Elle possède plusieurs noms : Bender Tiffin, Syrian Rue, dans les sociétés anglophones, Rue sauvage, Rue verte, en France, harmel, harmel el sahari en Algérie et en Afrique du Nord. Elle est caractérisée par son odeur forte, désagréable, qui repousse tous les herbivores. Le seul animal qui l'a consomme est le lézard saharien pour résister aux piqûres des scorpions, cela peut nous inspirer l'idée de la présence de molécules bioactives très intéressantes (BELAKHDAR *et al.*, 1997).

Les recherches faites à travers l'histoire se sont intéressées davantage à l'effet antimitotique vu son effet irréversible sur l'organisme biologique.

Au cours de cette étude, nous allons déterminer l'effet antimitotique des extraits en se basant sur le test d'*Allium cepa*, mis au point par DEYSSON *et al.* (1948). Ce test représente un modèle de référence pour l'évaluation de l'activité antimitotique *in vitro*. Il est validé par le programme d'environnement des nations unies (UNEP) et par le programme international de la sécurité mondiale (IPCS) (MEDJEBER *et al.*, 2018).

Dans notre présente étude nous nous sommes intéressés à l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L. des régions arides et semi arides d'Algérie. Ce travail rentre dans les problématiques du laboratoire Ressources Naturelles de l'Université de Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou (UMMTO).

# Partie bibliographique

## I. Cycle cellulaire et mitose

### 1.1. Rappels génétiques.

#### 1.1.1. Historique et définition du chromosome

Le terme chromosome a été utilisé pour la première fois en 1888 par WALDEYER *et al.* (1888), pour désigner les éléments colorés, visibles au cours de la division cellulaire. Le nombre de chromosomes varie entre 16 et 24 pour les cellules haploïdes et 32 à 48 pour les cellules diploïdes, en fonction des matériels et des techniques utilisées (coupes de tissus, écrasement sur lame ou «squash») (TURPIN et LEUJEUNE *et al.*, 1965 ; SANDBERG *et al.*, 1990). Le nombre exact de 46 chromosomes somatiques humains a été établi en 1956 par TJIO et LEVAN, qui ont utilisé des cultures de fibroblastes de poumons embryonnaires, en bloquant les mitoses au stade métaphase par la colchicine, appliquant ensuite un choc hypotonique (HSU *et al.*, 1952).

#### 1.1.2. Constituants moléculaires et structure du chromosome

Le chromosome est un édifice formé par un ensemble organisé de molécules, au sein duquel, l'ADN, représente un constituant permanent, des protéines, les histones, intimement associées à l'ADN, jouent un rôle essentiellement architectural. Les chromosomes sont composés de deux chromatides identiques, attachées au niveau du centromère lors de la métaphase. Aux extrémités de chaque chromatide se trouvent les télomères, constitués de séquences répétitives d'ADN, qui assurent une protection des terminaisons chromosomiques. Les télomères et le centromère ne codent pas d'information génétique, il s'agit d'ADN non codant épi-génome. En microscopie optique, on distingue sur les chromosomes des régions condensées, formées d'hétérochromatine et des régions décondensées formées d'euchromatine. Les gènes exprimés se localisent principalement au niveau de l'euchromatine. Le chromosome est une entité cellulaire en équilibre dynamique (BERKALOFF *et al.*, 1981).

### 1.2. Cycle cellulaire

La division cellulaire peut conduire à des résultats très différents selon l'espèce ou le stade de développement auquel elle a lieu. De la même façon, il est possible d'observer, en fonction des espèces et de leur stade de développement, des cycles de division cellulaire qui prennent plus ou moins de temps pour se dérouler en totalité, c'est-à-dire jusqu'à la production de deux cellules filles à partir d'une cellule mère (DOLISI *et al.*, 2009).

## 1.3. Modèle de base du cycle de division cellulaire

Le cycle de division cellulaire le plus complexe se compose de quatre phases successives qui ont été, pour certaines, initialement identifiées grâce aux changements de la structure du matériel génétique dans les cellules en division, alors que la réplication de l'acide désoxyribonucléique (ADN) découverte plus tardive dans les années 1950, était liée à une période plus discrète du cycle de division cellulaire pendant l'interphase. Le déroulement de ces phases est schématisé ci-dessous (Figure 1).

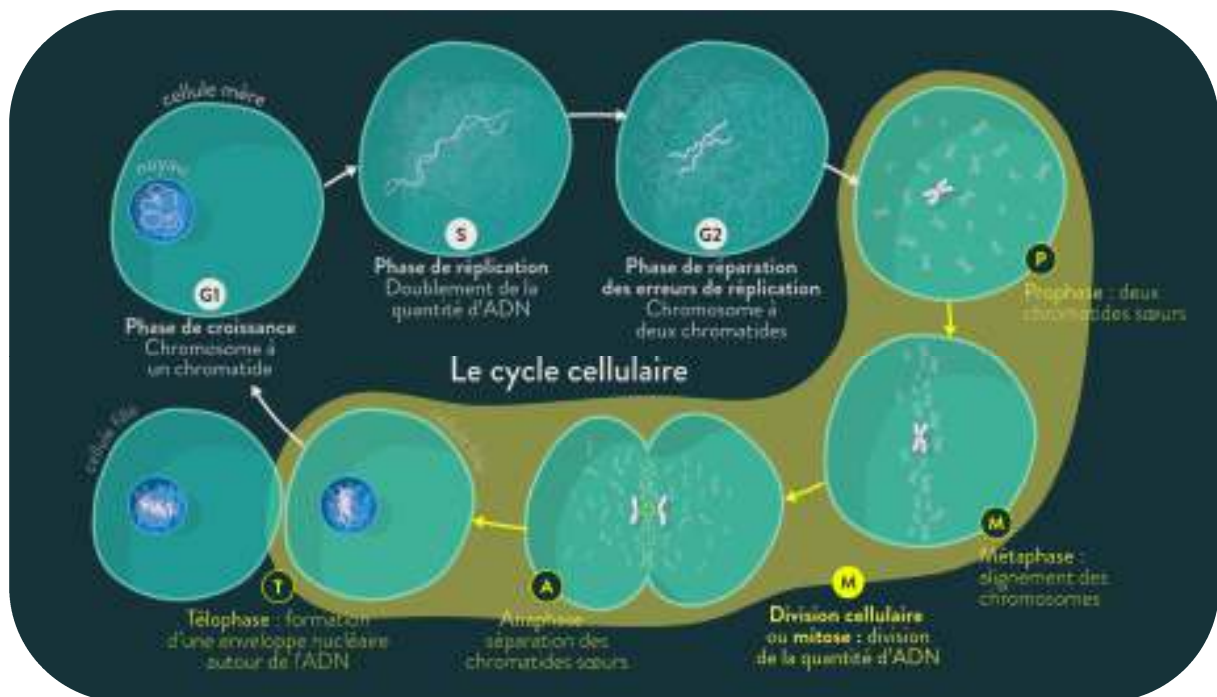


Figure 1 : schéma du cycle cellulaire (GALAS *et al.*, 2008).

### 1.3.1 Interphase

L'interphase est la période comprise entre la fin d'une division et le début de la division suivante, elle constitue 90% du temps du cycle cellulaire (plus grande partie du cycle), L'interphase se décompose en une phase G1 (G: initiale de gap, intervalle), une phase S (synthèse) et une phase G2 (pré mitotique), qui se succèdent dans l'ordre (MAILLET *et al.*, 2002). La durée de cette phase non proliférative varie en fonction de la nature et des conditions physiologiques de la cellule (MAILLET et LEMULLOIS *et al.*, 2006).

## 1.3.2 Phase G1

C'est un intervalle de temps qui s'écoule entre la fin de la mitose et le début de la phase suivante. C'est une phase de présynthèse où la cellule croît et prépare la duplication de l'ADN (synthèse d'enzyme de réplication) et accumulation des réserves pour la division cellulaire (MAILLET et LEMULLOIS *et al.*, 2006). (Figure 1)

## 1.3.3. Phase S

Le cytoplasme est l'endroit où se fait la synthèse et la réplication de l'ADN et des histones (protéines basiques qui protègent l'ADN). L'ADN polymérase est l'enzyme qui permet la duplication de l'ADN (MAILLET *et al.*, 2002), en formant un ARN<sub>m</sub> qui est responsable de transmettre le message génétique du noyau jusqu'au cytoplasme, où se fait la synthèse des polypeptides ou protéines, qui sont utilisés dans le quotidien de la cellule. Ces polypeptides sont aussi utilisés pour garantir une division cellulaire afin qu'une cellule mère aboutisse à deux cellules filles (MAILLET *et al.*, 2002). (Figure 1)

## 1.3.4. phase G2

C'est la phase de vérification, qui permettra par la suite à la cellule soit d'entrer en mitose, soit d'entrer en apoptose (autodestruction cellulaire), ou de retarder l'entrée en mitose (blocage). Pendant cette période de « vérification », la cellule est tétraploïde de manière provisoire et contient un noyau avec plusieurs nucléoles entourés d'une enveloppe nucléaire et une paire de centrosomes qui organisent les microtubules du fuseau mitotique (MAILLET et LEMULLOIS *et al.*, 2006). (Figure 01)

## 1.4. Différentes phases de la mitose

### 1.4.1. Prophase

Durant la prophase, la cellule va abandonner ses fonctions et se consacrer pleinement à la division. La prophase prépare la répartition des chromosomes en une durée de 15 à 30 mn (MAILLET et LEMULLOIS *et al.*, 2006). Pendant cette phase, les chromosomes sont parfaitement individualisés et le centrosome est dupliqué pendant que la chromatine commence à se condenser sous forme de filaments plus ou moins épais, compacts, facilement visibles en microscopie photonique. Puis, il y a formation du fuseau reliant les centrosomes s'éloignant au pôle de cytoplasme et aussi fragmentation de la membrane du noyau et la disparition des nucléoles sont observés (Figure 2).

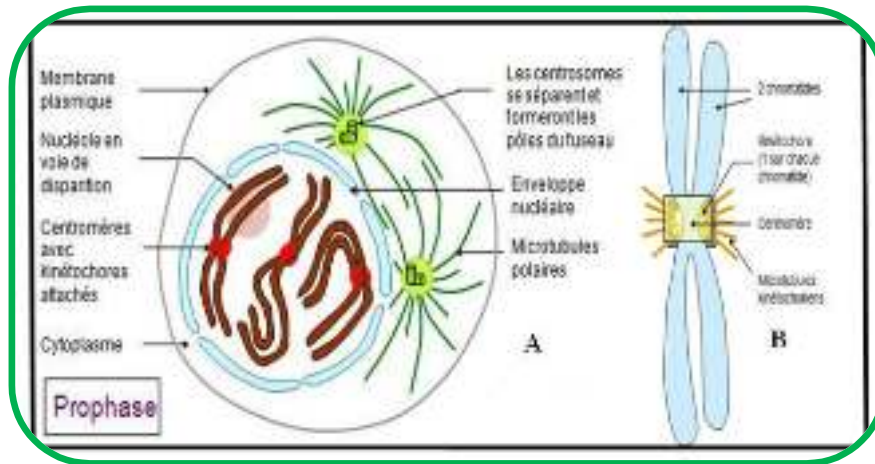


Figure 2 : (A) Représentation schématique d'une cellule en prophase. (B) structure du chromosome (DOLISI, 2009).

## 1.4.2. Prométaphase

On peut considérer qu'elle fait partie de la prophase, mais certains scientifiques préfèrent la distinguer. Durant cette partie, la membrane nucléaire va complètement disparaître tandis que le fuseau achromatique est complètement formé et entre en contact avec les chromosomes par intermédiaire des kinétochores, induisant l'alignement des chromosomes (Figure 5).

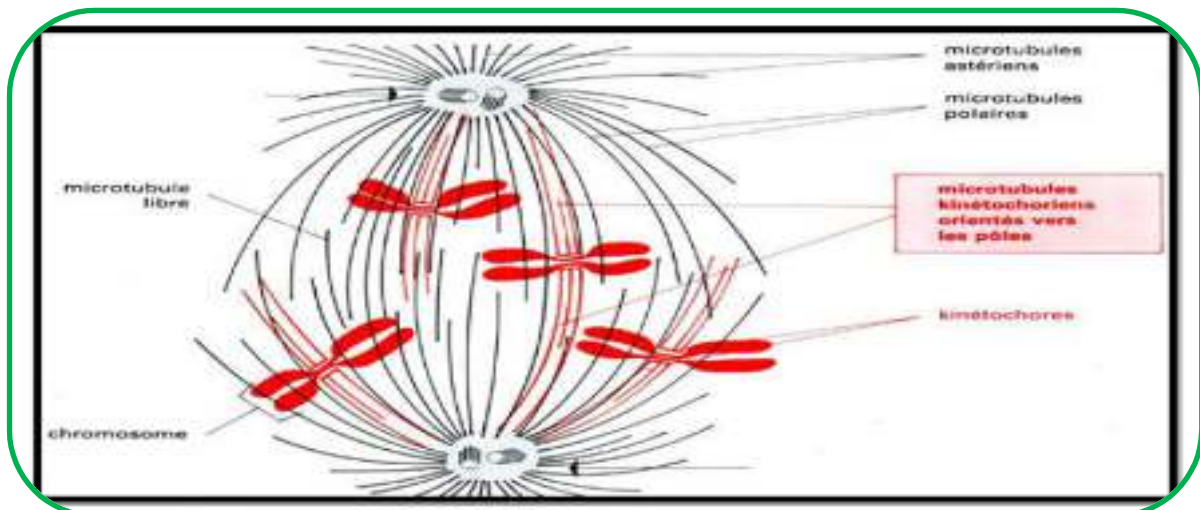


Figure 3 : représentation schématique de la prométaphase (BERKALOFF *et al.*, 1981).

## 1.4.3. Métaphase

La métaphase est caractérisée par le rassemblement de tous les chromosomes sur la plaque équatoriale. Le fuseau est alors constitué par un ensemble de microtubules (Figure 6).

Les microtubules interviennent dans la mise en place du fuseau, en rayonnant à partir de chaque centrosome déterminant ainsi le plan de la cytotérière. Les microtubules polaires partent d'un centrosome et dépassent les chromosomes. Ils maintiennent l'intégrité du fuseau. Ils n'atteignent pas l'autre pôle de la cellule, mais ils s'intercalent avec ceux qui viennent du pôle opposé. Leurs extrémités, qui se chevauchent, sont unies par des protéines motrices (KARP, 1998). Les microtubules kinétochoriens : caractérisés par la présence des kinétochores (complexes multiprotéiques assurant la polymérisation et la dépolymérisation des microtubules), attachent les chromosomes aux microtubules, les dirigent vers le plan équatorial de la cellule.

### 1.4.3.1 Microtubules

Un microtubule est un cylindre creux de 25 nm de diamètre dont la paroi est constituée de 13 protofilaments, chacun d'eux est une succession d'hétéromères alpha/bêta tubuline (EVANS *et al.*, 1985). Ce cylindre comporte deux extrémités (BAKER *et al.*, 1979 ; NOGLAES *et al.*, 1999) : extrémité plus (+) et extrémité moins (-), où selon l'ordre la vitesse d'addition et dissociation des monomères de tubuline est plus élevée (Figure 2).

Les microtubules se forment généralement à partir du MTOC (Micro Tubule Organizing Center), auquel ils restent attachés par l'extrémité dite «moins». Le microtubule est par nature instable. Ainsi, en présence de protéine kinase, sa taille s'accroît (polymérisation GTP dépendante), alors qu'en présence de phosphatase, elle décroît (dépolymérisation par phosphorylation). Le passage de la polymérisation à la dépolymérisation ou l'inverse correspond à ce qu'on appelle « instabilité dynamique ». Cette instabilité est essentielle à l'attachement des chromosomes au fuseau mitotique et leur alignement en métaphase et permet la séparation des chromatides durant la mitose (VERDIER-PINARD *et al.*, 2001). Les microtubules interviennent dans de nombreux processus cellulaires (ALBERTS *et al.*, 1997), dont les mouvements (cils et flagelles), et le transport intracellulaire d'organelles (MAILLET et LEMULLOIS *et al.*, 2006) (Figures 2 et 3).

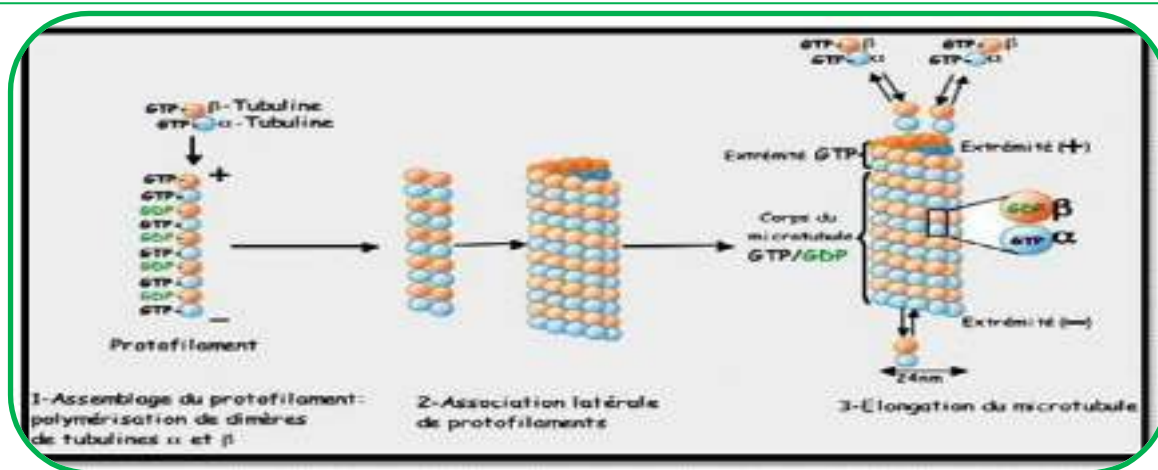


Figure 4: Dynamique de la formation des microtubules (VERDIER-PINARD *et al.*, 2001).

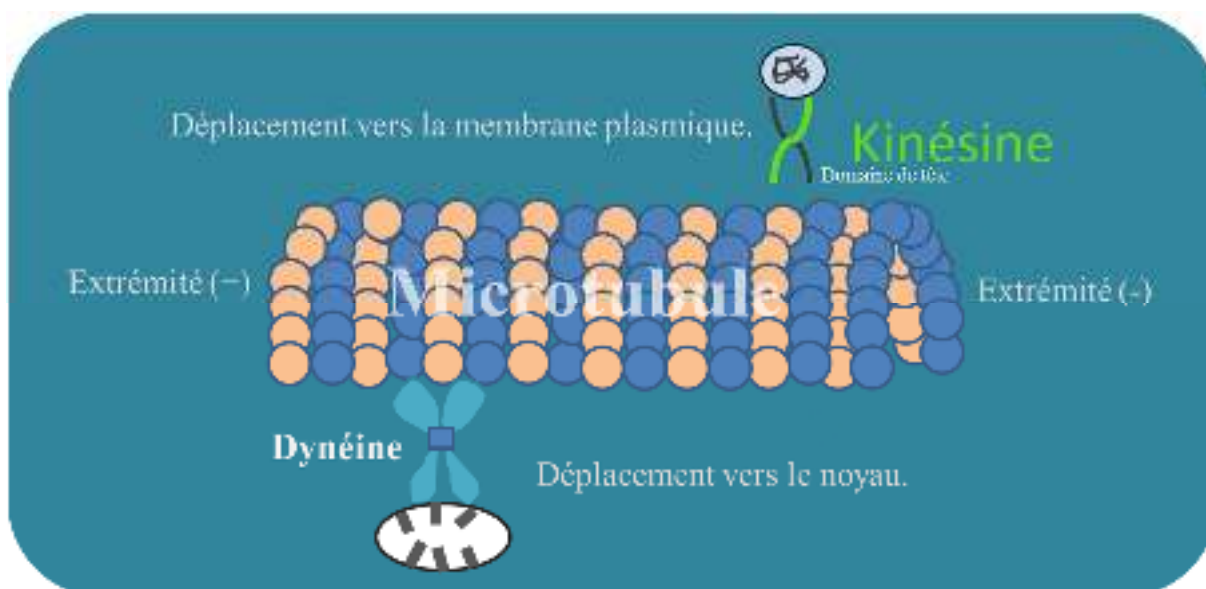
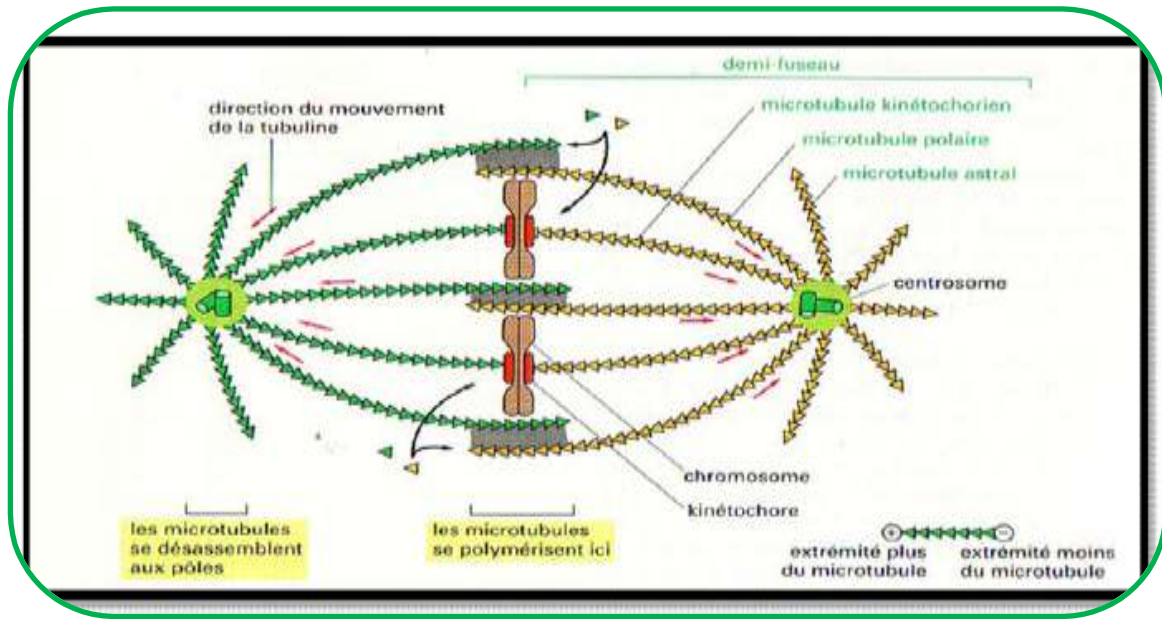


Figure 5 : les protéines motrices des microtubules (VERDIER-PINARD *et al.*, 2001).

Tableau I : Principaux constituants des microtubules (ALBERT *et al.*, 1997)

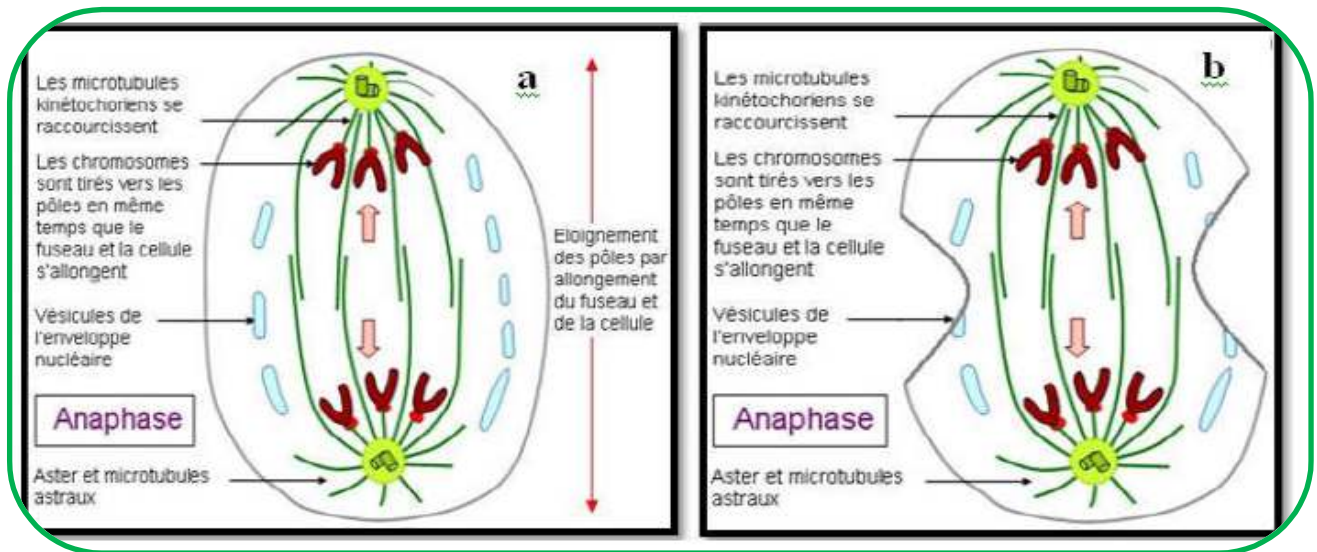
1. Protéines constructrices et contrôle de l'assemblage				
Protéines constructrices			Contrôle de l'assemblage	
Type de tubuline	Nombre d'acides aminés	Masse molaire (KDa)	Molécule	Rôle
Tubuline $\alpha$	450	50 KDa	GTP	Indispensable
Tubuline $\beta$	445	50 KDa	Mg <sup>++</sup>	Activateur
			Ca <sup>++</sup>	Inhibiteur
2. Protéines motrices				
Kinésines		dynéine		Rôle
Sedéplacent vers l'extrémité (+) dumicrotubule.		sedéplacent vers l'extrémité (-) du microtubule.		Transport des organites et des vésicules vers différents compartiments de la cellule.



**Figure 6:** Représentation schématique du fuseau mitotique en métaphase (ALBERTS *et al.*, 1997).

### 1.4.4. Anaphase

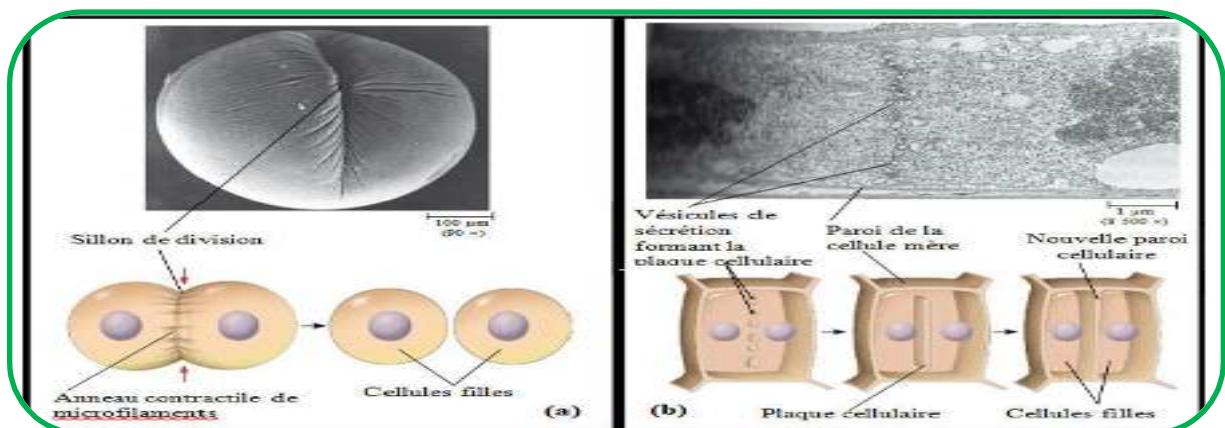
L'anaphase produit le partage des chromosomes en deux lots identiques. Ce stade est caractérisé dans la plupart des cellules par deux événements distincts (BERKALOFF *et al.*, 1981). La ségrégation des deux chromatides sœurs de chaque chromosome et la migration des chromosomes vers les pôles mitotiques, avec raccourcissement des microtubules kinétochoriens. C'est l'**anaphase A**. L'allongement de la forme générale du fuseau mitotique ainsi que l'élongation des microtubules polaires entraînant un allongement de la cellule qui va par la suite se contracter à l'équateur, grâce à la formation et la contraction d'un anneau d'actomyosine résume l'**anaphase B** (Figure 7) (DOLISI *et al.*, 2009).



**Figure 7 :** Représentation schématique d'une cellule en anaphase  
(DOLISI *et al.*, 2009).

## 1.4.5. Télophase

Le terme « télophase » dérive du grec « telos » signifiant « fin » (Figure 8). Elle débute par l'arrêt de la migration des chromosomes qui se regroupent en éventail aux pôles cellulaires, ainsi que la formation du sillon de clivage. Durant cette phase, le fuseau mitotique disparaît petit à petit puis les lots de chromosomes se décondensent et reviennent à l'état de chromatine suivie par la formation des nucléoles et des enveloppes nucléaires et enfin le début de la cytotidérèse (DOLISI *et al.*, 2009).



**Figure 8:** Cytodirèse cellulaire animale et végétale ; (a) zygote d'un oursin ; (b) formation de la plaque cellulaire (DOLISI *et al.*, 2009).

## 1.4.6. Cytodièrese

La cytotidérèse commence après la télophase ou un peu avant sa fin. La cellule se contracte entre les deux jeunes noyaux jusqu'à couper le cytoplasme et à séparer les deux cellules filles (MABUCHI *et al.*, 1986). La cytotidérèse est produite grâce à un anneau

contractile constitué de filaments d'actine chez la cellule animale, ou grâce à la plaque cellulaire (phragmoplaste) chez la cellule végétale.

## 2. Antimitotiques

### 2.1 Historique

En 1820, la colchicine a été isolée par les chimistes français PIERRE JOSEPH PELLETIER ET JOSEPH BIENAIME CAVENTOU et depuis l'intérêt porté aux molécules poisons du fuseau mitotique été vraiment remarquable. En 1887, les HARTWING montrent l'influence des narcotiques (éther, chloroforme, phényluréthane) sur la division des œufs d'invertébrés, par apparition d'anomalies de la fonction fusoriale (DUSTIN, 1956). En 1905, KORNICKE fut le premier à étudier l'action exercée par les rayons X et le radium sur l'activité mitotique des méristèmes radiculaires de *Vicia faba* et de *Pisum sativum* (DEYSSON, 1956). Entre 1957 et 1986, l'institut national américain du cancer (NCI) et de la recherche programmée s'est dirigé vers la découverte de nouvelles drogues anticancéreuses d'origine végétales (PETIT *et al.*, 1994). Cette recherche a contribué à la découverte et le développement des poisons du fuseau mitotique (CASSADY et DOUROUS *et al.*, 1980). Aujourd'hui, la recherche de produits antimitotiques à des fins thérapeutiques s'appuie sur l'utilisation directe de régulateurs du cycle cellulaire comme cibles (POMMIER et KOHN *et al.*, 2003). Les agents antimitotiques sont soit des substances, soit des radiations capables d'inhiber ou de Modifier le déroulement de la mitose (MAILLET *et al.*, 2002). Les substances antimitotiques sont des substances qui, à faible concentration, sont capables d'inhiber la mitose, de la perturber ou de l'arrêter et ainsi empêcher la cellule d'entrer en division (CHEVERMONT *et al.*, 1979).

### 2.2. Antimitotiques et mécanisme d'action

Selon CHEVERMONT *et al.* (1979), des substances chimiques de structure et d'origine variées sont capables d'exercer une action antimitotique spécifique soit sur:

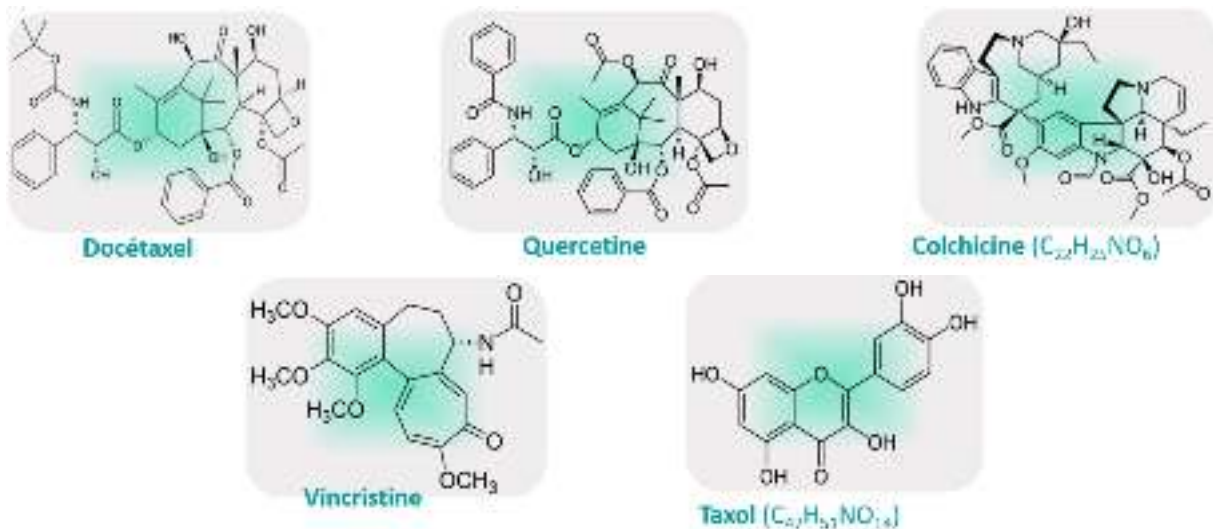
- l'ADN : les agents alkylants (moutarde azotées), chlorméthine, cis platine (WONG et GANDMENICO *et al.*, 1999), la béomycine (FOLLEZOU et POUILLART *et al.*, 1980) ;
- les Enzymes : tel le méthotrexate (SIMARD et BERNHARD *et al.*, 1966 ; VIEL *et al.*, 1982) ; la comptothecine extraite d'un arbuste chinois *Comtotheca acuminata* ; les anthracyclines, l'acridines, les mitoxantrones .

## Partie Bibliographie

- les microtubules : colchicine est l'exemple phare, extraite de plante (*Cloriosa superba* et *Colchicum autumnale*).

### 2.3. Molécules antimittotiques issues du végétal

Parmi les molécules incontournables dans le Domain des études antimittotique, nous pouvons citer certaines (Figure 9) :



**Figure 9** : Structures chimiques des molécules antimittotiques (AY et al., 2007 et NOTHLINGS et al., 2007).

- **La colchicine** (C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>6</sub>): c'est est un alcaloïde tricyclique (figure 10), extrait au départ des colchiques, principalement la colchique d'automne. Cette molécule est souvent utilisée pour établir un caryotype, car en inhibant la polymérisation des microtubules la colchicine bloque la mitose en métaphase.
- **La vincristine** : c'est est un alcaloïde de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*), utilisé comme traitement de chimiothérapie dans la lutte contre les cancers. Cette substance inhibe la polymérisation des microtubules lors de la mitose.

- **La quercétine** : ou quercétol est un flavonoïde de type flavonol présent chez les plantes comme métabolite secondaire. Le quercitron est parmi les plus actifs des flavonoïdes et plusieurs plantes médicinales doivent leur efficacité et vertu à leur taux fort en quercétol.
- **Le taxol** ( $C_{47}H_{51}NO_{14}$ ): Le taxol ou autrement dit le paclitaxel est une molécule produite par des champignons endophytes que l'on trouve également dans les extraits de certains ifs, à qui elle confère une forte toxicité. C'est l'une des molécules utilisée en chimiothérapie anticancéreuse. Le paclitaxel est un inhibiteur du fuseau mitotique, il inhibe la polymérisation des microtubules bloquant ainsi le mécanisme de la mitose.
- **Le docétaxel** : c'est une substance active aux propriétés anticancéreuses. C'est un alcaloïde obtenu par héli-synthèse à partir d'une molécule extraite des feuilles de l'if (*Taxus baccata*).

## II. *Peganum Harmala* L.

### 2.1. Description de *Peganum harmala* L.

El harmel est une plante vivace, à racine pivotante. Ces tiges sont peu rameuses de 30 à 90 cm de haut, à entre nœuds assez courts, qui présentent une densité importante de feuilles de couleur vert claires disposé d'une manière alterne sur la tige, allongés et irrégulièrement divisés en étroites lanières (MANSOUR *et al.*, ; SONDABE *et al.*, 2012). Cette plante présente des fleurs solitaires et blanches avec 5 sépales inégaux persistants, qui dépassent la corolle, 5 pétales libres crème lavés de rose orangé à nervures jaunes, dotées de 10 étamines, son gynécée est généralement de 8 mm de longueur environ, ovaire supère et globuleux, composé de 3 loges et de stigmates (Figure 10). Le fruit est une capsule

globuleuse renfermant des graines brunâtres (MASSAOUDI, 2005).



**Figure 10 :** **A.** Photo de *Pegalum harmala* L **B.** Photo de la fleur de *Pegalum harmala* L **C.** Fruit de *Pegalum harmala* L **D.** Fruits et graines de *Pegalum harmala* L. Dayate Aiat (Laghouat, Algérie).

## 2.2. Systématique et taxonomie de *Pegalum harmala* L.

*Pegalum harmala* L appartient à la famille des Zygophyllacées (MOGHADAM *et al.*, 2010 ; TANWEER *et al.*, 2012). Sa systématique est la suivante (GUINOCHET *et al.*, ; VILMORIN *et al.*, 1973-1984; FOURNIER *et al.*, 1934-1940 ; TISON & DE FOUCAULT *et al.*, 2014) :

**Règne** .....Plantae  
**Embranchement**.....Spermaphytes  
**Sous embranchement**.....Angiospermes  
**Classe** .....Eudicots  
**Sous classe** .....Magnoliidae  
**Ordre**..... Sapindales  
**Famille** .....Zygophyllacées  
**Genre** .....*Pegalum* L.  
**Espèce** .....*Pegalum harmala* L.

### **2.3. Aire de répartition et distribution de *Peganum harmala* L.**

*Peganum harmala* L. est une espèce cosmopolite largement distribuée dans le monde et très commune sur les sols sableux, originaire des zones arides et semi arides. Cette plante est présente et originaire du Moyen Orient et d’Afrique du Nord, Turquie, Inde, ensuite elle a été exporté vers le continent américain et en Australie (CHEVALLIER *et al.*, 1996 ; DARABPOUR *et al.*, 2011).

En Algérie, cette espèce est commune dans les Hauts Plateaux, au Sahara septentrional et aux montagnes du Sahara central. Cette plante aime les terrains sableux. Par ailleurs, en Europe, elle est très commune dans les zones sèches en Espagne, steppes de la Russie méridionale, Hongrie. En Asie, elle est répandue dans les steppes de l’Iran, du Pakistan, du Turkestan jusqu’au Tibet et en Sibérie (CHOPRA *et al.*, 1960 ; PARIS & DIMANT *et al.*, 1960 ; QUZEL et SANTA *et al.*, 1963 ; OZENDA *et al.*, 1977).

### **2.4. Ethnobotanique et utilisation thérapeutiques de *Peganum harmala* L.**

*Peganum harmala* L est une plante utilisée en médecine traditionnelle. Son histoire ethnobotanique au Moyen Orient et en Afrique du Nord dit être utilisée comme emménagogue abortif ou à des fins rituelles magiques, prophylactiques et surtout thérapeutiques. En ethnobotanique, le harmel est réputé pour traiter la plupart des troubles (HAMMICHE *et al.*, 2013), tels que l’hypertension, l’asthme, la toux, la jaunisse, le lombago, la colique, l’hypoglycémie et encore plusieurs autres maladies (DARABPOUR *et al.*, 2011 ; LAMCHOURI *et al.*, 2014 ; AKBARY *et al.*, 2014). Cette dernière a été classée comme plante toxique, riche en molécules bioactives, notamment les alcaloïdes présents dans ses différentes parties. Ses graines et ses feuilles sont connues pour avoir des propriétés hallucinogènes et hypothermiques. En effet, des expérimentations faites sur *Peganum harmala* L ont révélé des activités biologiques générées par cette dernière, tel l’effet antibactérien, antifongique, antiviral, antitumoral, cytotoxique, antispasmodique, antihistaminique, anti-inflammatoire, immunomodulateur. (AKABARY *et* GUL KANAWAL

*et al.*, 2016 ; JAVADIAN *et al.*, 2016). L'intoxication au harmel n'est pas rare, elle représente généralement un pourcentage important de l'ensemble des intoxications par plantes reçues dans les centres Antipoison en général.

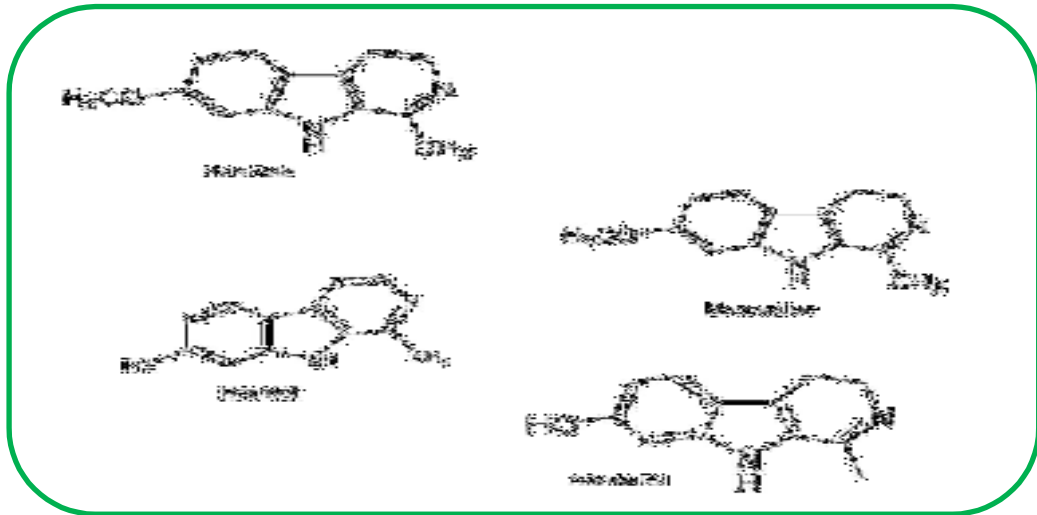
### 2.5. Etude phytochimique de *Peganum harmala* L.

*Peganum harmala* L. est constitué d'alcaloïdes qui ont un noyau indole (harmane, harmine, harmaline, harmalol (harmol), qui représentent les principales toxines. (BUKHARI *et al.*, 2008), de flavonoïdes qui sont représentés par les coumarines, les bases volatiles et les tanins, ainsi que différents pigments, à l'exemple des téguments externes de la graine qui renferme un pigment rouge dit « Turkey Red » qui est un composé fluorescent.

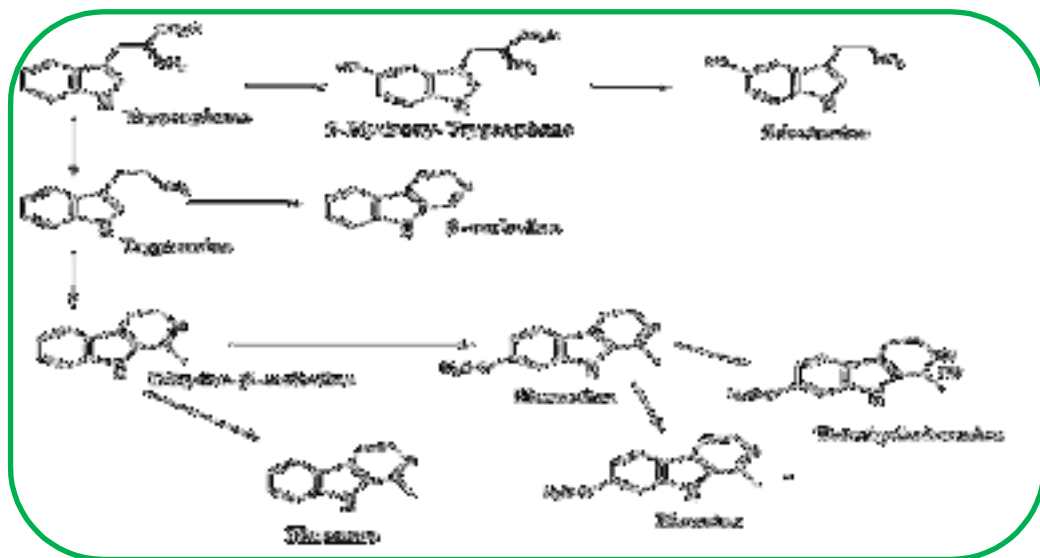
*Peganum harmala* L est caractérisé par sa teneur en alcaloïdes qui peut aller jusqu'à 5% représenté par l'harmane (C<sub>12</sub> H<sub>10</sub> N<sub>2</sub>), l'harmaline (C<sub>13</sub> H<sub>14</sub> N<sub>2</sub>O), l'harmine (C<sub>13</sub> H<sub>12</sub> N<sub>2</sub>O) et l'harmalol (C<sub>12</sub> H<sub>12</sub> N<sub>2</sub>O) (Figure 11 et 12). Ces alcaloïdes présentent une quantité importante dans les graines et les racines (3 à 4 %), suivi des feuilles (0,52 %) puis des tiges (0,36 %) et. Ils sont complètement absents dans les fleurs (HARRAIZ *et al.*, 2010).

L'étude phytochimique de *Peganum harmala* L. a défini que la concentration des alcaloïdes et leur présence varie selon le stade de développement de la plante. La synthèse des alcaloïdes est maximal pendant les trois premières semaines, se stabilise lors du début de la croissance végétative, et diminue directement lors du début de la floraison. *Peganum harmala* L. reste l'une des importantes sources d'alcaloïdes avec une concentration maximale enregistrée de 26,96 mg/g d'extrait, dont l'harmine est la molécule la plus abondante. Les anthraquinones, péganine, isopéganine, désoypéganine ont été également identifiés chez *Peganum harmala* L. par KHASHIMOV *et al.* (1970), confirmé 30 ans après par FATHIZAD *et al.* (2007).

La graine de *Peganum harmala* L. est la partie la plus concentré en alcaloïdes. On dit que les graines mûres sont plus concentrées en alcaloïdes que les jeunes graines. En pharmacologie il a été définie que les molécules bioactives de *Peganum harmala* L. sont précisément les alcaloïdes  $\beta$  carbolines (l'harmine, l'harmaline, harmalol, harmane) (Figure 11), ainsi que les dérivés de quinazoline tel que la vasicine, la vasicinone et la désoxyvascinone (Figure 12) (KARTAL *et al.*, 2003).



**Figure 11 :** principaux alcaloïdes de *Peaganum harmala L* : harmine, harmaline, harmol, harmalol (MAYAD *et al.*, 2013).



**Figure 12:** Synthèse des β-carbolines de *Peaganum harmala L*. et de la sérotonine à partir du tryptophane (ANISZEWSKI, 2007).

### 2.6. Activités biologique de *Peganum harmala* L.

L'effet hallucinogène et hypothermique, les problèmes visuels, la perte de contrôle, la paralysie corporelle sont causés par *Peganum harmala* L., certainement à cause des alcaloïdes que cette dernière contient (LAMCHOURI *et al.*, 2002). Ces alcaloïdes présentent plusieurs activités biologiques, tels que les effets anti-tumoraux (JAHINIANI *et al.*, (2005), analgésiques (FAROUK *et al.*, 2008), activités vaso-relaxante (ASTULLA *et al.*, 2008), activité antimicrobienne (ARSHAD *et al.*, 2008), activité acétylcholinestérase (ZHENG *et al.*, 2009) ; activité insecticide (GOEL *et al.*, 2009) ; anti-leishmania (MIRZANE *et al.*, 2007 et KHOSHZABAN *et al.*, 2014) ; antispasmodique et antihistaminique (ASGHARI *et al.*, 2002 ; LOCKWOOD *et al.*, 2002) ; antioxydant , immuno-modulatrice (ZAKER *et al.*, 2007). El Harmel a aussi un effet hypoglycémique (SINGH *et al.*, 2008) ; hépato protecteur (KHALED *et al.*, 2008) ; anti fongique (DARABPOUR *et al.*, 2011) En outre, SCHWARZ *et al.*, (2003) a définie sur une études des alcaloïdes de *Peganum harmala* L. une possibilité d'inhibition réversible de la monoamine oxydase grâce à ces alcaloïdes. LAMCHOURI *et al.*, (2010) définie les  $\beta$  carbolines et l'harmine comme des molécules a un effet cytotoxique hautement significatif. Plus encore HAMSA et KUTTAN *et al.*, (2011) entreprennent les travaux de LAMCHOURI concluent que l'harmine inhibe significativement la formation de nodules dans le tissu pulmonaire et diminue divers paramètres biochimiques associées à la métastase pulmonaire.

# Matériels et méthodes

## I. Partie Expérimentale

### 1. Matériels et méthodes

#### 1.1. Lieu d'étude et expérimentation

Le travail fait dans notre étude rentre dans les problématiques du laboratoire des Ressources Naturelles de l'université de MOULOUD MAMMERI de TIZI OUZOU. Son objectif consiste à mettre en évidence l'effet antimittotique de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L.

#### 1.2. Matériel biologique

Les feuilles de dix sujets sains de *Peganum harmala* L. ont été récoltées au mois d'avril 2015 de manière aléatoire. L'échantillonnage a été effectué à dayate Aiat, région de Timzerth, wilaya de Laghouat (Algérie) (Figure 13). Cette région est caractérisé par des sol plus au moins sablonneux et une végétation peut dense adapté au climat et au lieu. Ces échantillons ont été placés dans des enveloppes et conservés au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation au laboratoire, où on a suivis un protocole pour obtenir une poudre de feuilles séchées de *Peganum harmala* L, aussi des Racines jeunes d'*Allium cepa* ont été suivies comme modèle expérimentale à l'étude respective des activités antimittotiques figure 14.



**Figure 13** : Région de l'échantillonnage des feuilles de *Peganum harmala* L.

ResarchGate Article Houali K. (2019).



**Figure 14 :** Utilisation des racines d'*Allium cepa* comme témoins à suivre pour définir les différentes phases de la division mitotique.

Les racines jeunes d'*Allium cepa* L. (oignon). ont servi comme un modèle testeur. Les oignons utilisés dans cette étude sont issue du marché local.

### 1.3. Matériel de laboratoire

#### 1.3.1 Solvant et réactifs utilisés

Le solvant et les réactifs utilisés dans cette étude ainsi que leurs concentrations sont illustrés dans les deux tableaux ci-dessous.

**Tableau II :** Solvants et réactifs utilisés.

Solutions	Concentrations	Formule chimiques	Rôles
Solution d'acétate d'éthyle	16mg/ml 10mg/ml 4mg/ml 1mg/ml	$C_4H_8O_2$	Extraction de métabolites secondaire des feuilles de <i>P.harmala L</i>
Acide acétique	99%	$CH_3COOH$	Fixations
Solution de colchicine	1mg/ml	$C_{22}H_{25}NO_6$	Réalisation de témoin positif 2
Solution de quercetine	1mg/ml	$C_{15}H_{10}O_7$	Réalisation de témoin positif 1
Carmin acétique	inconnue	inconnue	Coloration des racines

#### 1.4 Méthodes utilisées :

Les feuilles de *Peganum harmala* L. ont été nettoyées de toutes traces de terre, ensuite séchées à l'ombre à température ambiante. Ensuite, elles ont été broyées pour aboutir à une poudre fine, utilisée pour la préparation des extraits (Figure 15).



**Figure 15 :** protocole de transformation des feuilles de *Peganum harmala* L. en poudre.

Les bulbes d'*Allium cepa* ont été mis à germer dans de l'eau pendant 3 à 4 jours afin d'obtenir des racines contenant des cellules méristématiques en division, la croissance des racines est rapide de l'ordre de quelque millimètres par jour, elle résulte des mitoses qui se produisent dans le méristème racinaire, situé dans la zone subapicale de la racine (Figure 16).



**Figure 16 :** photo et schéma illustratif de la mise en croissance des racines d'*Allium cepa*.

## 1.5. Déroulement des différentes parties de l'expérimentation

Le protocole utilisé pour l'évaluation *in vitro* de l'effet antimittotique (test *Allium cepa*) des extraits d'acétate d'éthyle de la poudre de feuilles de *Peganum harmala* L. est celui adopté par SHWETA *et al.*, (2012), modifié par nos soins. Les différentes étapes de ce protocole sont illustrées dans la figure 18.

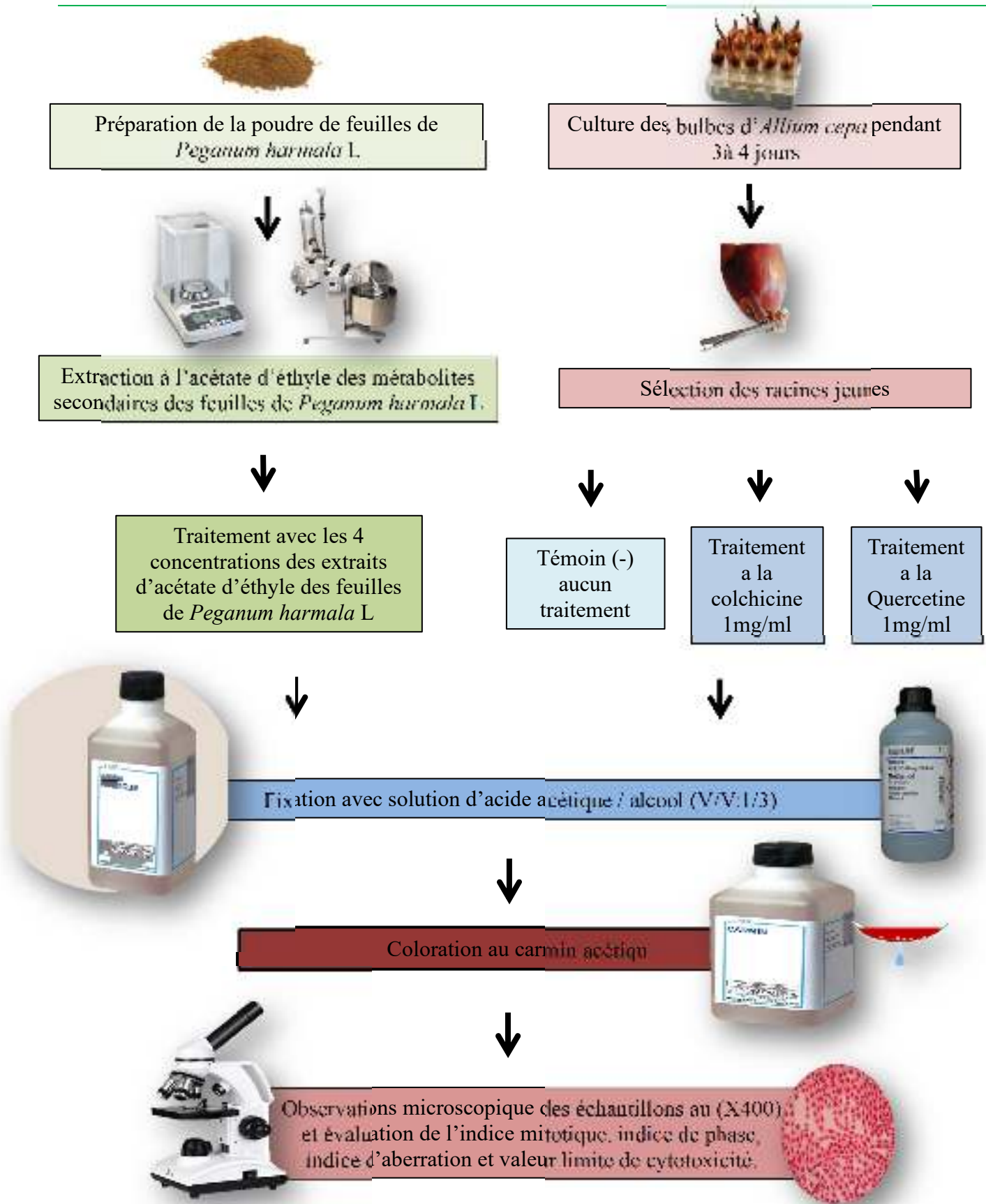
Pour la préparation des extraits d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L. 50ml d'acétate d'éthyle ont été ajoutés à 5g de poudre de feuilles de *Peganum harmala* L. Ce mélange est homogénéisé pendant 48h par un agitateur magnétique. Après 48h, le mélange est mis dans un tube à essai fermé, dans lequel il doit subir une centrifugation de 2500 T/min, pendant 10 min. Une fois que la solution homogène est obtenue on fait évaporer le solvant à l'aide du rotavapeur.

Le contenu séché obtenu est tout de suite pesé grâce à une balance d'analyse ultra précise et donc un poids de (0,04 g) d'extrait brut d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L est obtenu. Le produit obtenu est ensuite reparti en quatre échantillons d'un poids homogène et subit ensuite un processus de dissolutions et des dilutions pour obtenir 4 solutions à des concentrations voulus.

Quatre concentration de solutions ont été obtenus : 16mg/ml, 10mg/ml, 4mg/ml, 1mg/ml.



**Figure 17** : préparation et dilutions de différents extraits.



**Figure 18:** schéma récapitulatif du protocole expérimental de l'extraction par l'acétate d'éthyle et de l'activité antimitotique (SHWETA *et al.*, 2012).

La préparation des solutions de colchicine et de quercitrine afin de définir nos deux témoins positifs est faite d'une manière ordonnée ou on a effectué séparément des dissolutions et des dilutions de la Colchicine et de la Quercitrine à l'état solide pour obtenir des concentrations voulus de 1mg/ml pour chaque un, ensuite un lot d'extrémités meristematiques racinaires d'*Allium cepa* a été trempé dans des verres de montre contenant les deux solutions au laboratoire pendant 48h, résultant ainsi au tissus meristematiques racinaires traités par les solutions de colchicine et de quercitrine à 1mg/ml observées est considérés comme témoins positifs

## 1.6. Evaluation *in vitro* de l'activité antimittotique des extraits aqueux d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L.

L'évaluation *in vitro* de l'activité antimittotique des extraits aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. a été réalisé donc en suivant le test *Allium cepa* L. (SHWETA *et al.*, 2012), ou des concentrations d'extrait d'acétate d'éthyles des feuilles de *Peganum harmala* L. ont été testé à savoir : 16mg/ml, 10mg/ml, 4 mg/ml, et 1mg/ml, ainsi que les deux standards considérés que sont la colchicine (1mg/ml) et la quercetine (1mg/ml).

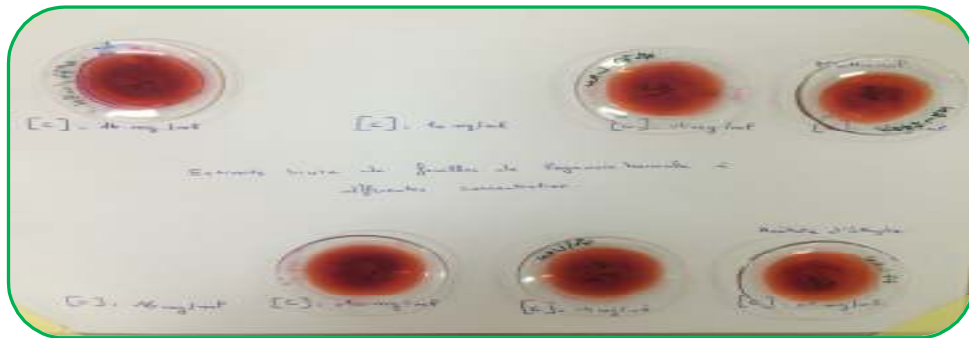
La croissance des racines résulte des mitoses, qui se produisent dans les méristèmes racinaires situés dans les zones subapicales des racines d'*Allium cepa*. Ces zones méristématiques ont été sélectionnées pour former les échantillons, deux ont été considérés comme des témoins positifs, un a été traité par la colchicine (1mg/ml) et l'autre par la quercetine (1mg/ml). Ces deux composés ont un effet antimittotique connu ; Les quatre échantillons ont été traités par les extraits préparés : 16mg/ml , 10mg/ml , 4mg/ml et 1mg/ml. 5 lames ont été examinées pour chaque concentration (échantillon), ainsi que les deux standards.

Tous les échantillons ont ensuite été soumis à une analyse cytologique qui comprend les étapes suivantes :

- **la fixation** : les apex racinaires d'un centimètre environ de longueur (1cm), ont été enrobés dans la solution de fixation, préparée d'un volume d'acide acétique et de trois volumes d'éthanol (1:3v/v) pendant 24 heures, la fixation a pour but de bloquer toute

évolution de division cellulaire et permet de conserver l'intégrité structurale de chromosomes (DAHIER, 1992) ;

- **la coloration** : elle été effectuée en utilisant le carmin acétique qui est généralement préférée pour l'obtention d'un bon contraste entre les chromosomes et le cytoplasme incolore (JAHIER ,1992) (Figure 19) ;



**Figure 19** : coloration au carmin acétique.

- **préparation des lames** : la partie meristématique sélectionnée et colorée a été déposée sur une lame à l'aide d'une pince, dans une goutte de carmin acétique et écrasée entre lame et lamelle, en tapotant doucement avec le bout des doigts, afin d'obtenir un bon étalement des cellules.

**1.7. Evaluation microscopique** l'observation et l'examination des lames a été réalisée en utilisant un microscope optique et un appareil photo, ce qui a permis d'effectuer le comptage et la détermination des :

- ✓ indices mitotiques (IM%).
- ✓ indices de phases (IP %).
- ✓ indices des aberrations (IA%).
- ✓ valeurs limites de cytotoxicité (VLC%).

## 1.7.1. Indice mitotique (IM%)

Il est défini par le ratio de cellules en division normal sur le total des cellules comptées (350cellules) (IKEDA *et al.*, 2000) selon l'équation suivante:

$$IM\% = \frac{\text{Nombre de cellules en division} \times 100}{\text{Nombre total de cellules comptées}(350)}$$

## 1.7.2. Indice des phases (IP%)

Il est déterminé par le nombre de cellules en prophase (P), en métaphase (M), en anaphase (A) et en télophase(T) sur le nombre de cellules examinées (350) multiplié par 100 (GLINSKA *et al.*, 2007), selon la formule suivante :

$$IP\% = \frac{\text{Nombre de cellules en (P, M, A, T)} \times 100}{\text{Nombre de cellules examinées (350)}}$$

## 1.7.3. Valeur limite de cytotoxicité (VLC)

Elle est calculée selon ANTONSIE-WIEZ (1990) à partir de la formule suivante :

$$VLC\% = \frac{IM \text{ des cellules traitées} \times 100}{IM \text{ des cellules témoins}}$$

## 1.7.4. Indices des aberrations (IA%)

L'indice des aberrations est calculé à partir de l'équation suivante (RACUCIU *et al.*, 2007 ;CREANGA *et al.*, 2007).

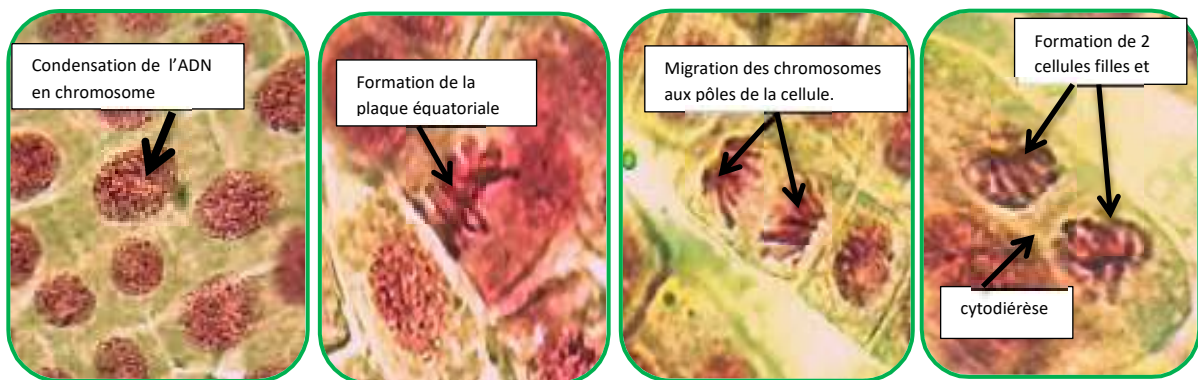
$$IA\% = \frac{\text{Total des aberrations chromosomique} \times 100}{\text{Total des cellules examinées (350)}}$$

# Résultats et discussions

## II. Résultats et discussions

### 2.1. Différentes phases de la mitose observées chez le témoin négatif

L'analyse cytologique des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. n'ayant subi aucun traitement (témoin négatif) avaient une moyenne d'indice mitotique de  $87.74 \pm 1.37\%$ , avec une présence de toutes les phases de la mitose qui ont été nettement observées à savoir : la prophase, la métaphase, l'anaphase, et la télophase comme montré ci dessous (Figure 20).



**P** : Prophase ; **M** : Métaphase ; **A** : Anaphase ; **T** : Télophase

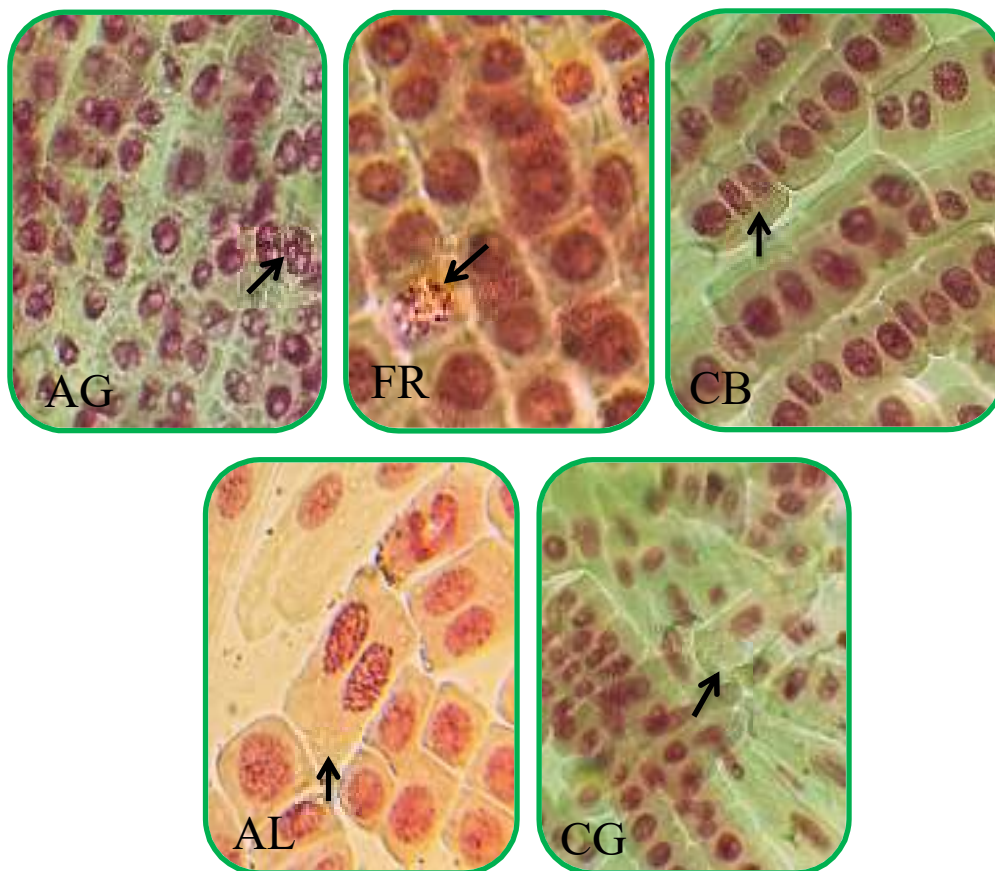
**Figure 20** : Observations des différentes phases de la mitose chez les cellules méristématiques d'*Allium cepa* (x400) (Témoin négatif)

La mitose est le processus de la division cellulaire, durant laquelle on observe la division du noyau appelée caryocinèse, et la division du cytoplasme nommée la cytotodièrese. La caryocinèse comprend différentes étapes : tout d'abord, la prophase qui correspond à la condensation des chromosomes et la rupture de l'enveloppe nucléaire, puis intervient la métaphase, période de la formation du fuseau et l'alignement des chromosomes sur la plaque équatoriale, puis suivra l'anaphase qui est caractérisée par la disjonction de ces derniers et enfin la télophase: disparition du fuseau et les chromosomes se décondensent et se dirigent vers les pôles, puis la cytotodièrese durant laquelle la cellule se sépare en deux cellules filles. (A.BERKALOFF, J.BOURGUET, FAVARD, J-C LACROIX. Livre Biologie et physiologie cellulaire.)

## 2.2. Aberrations observées et enregistrées

### 2.2.1. Aberrations observées et enregistrées sous l'effet de la colchicine

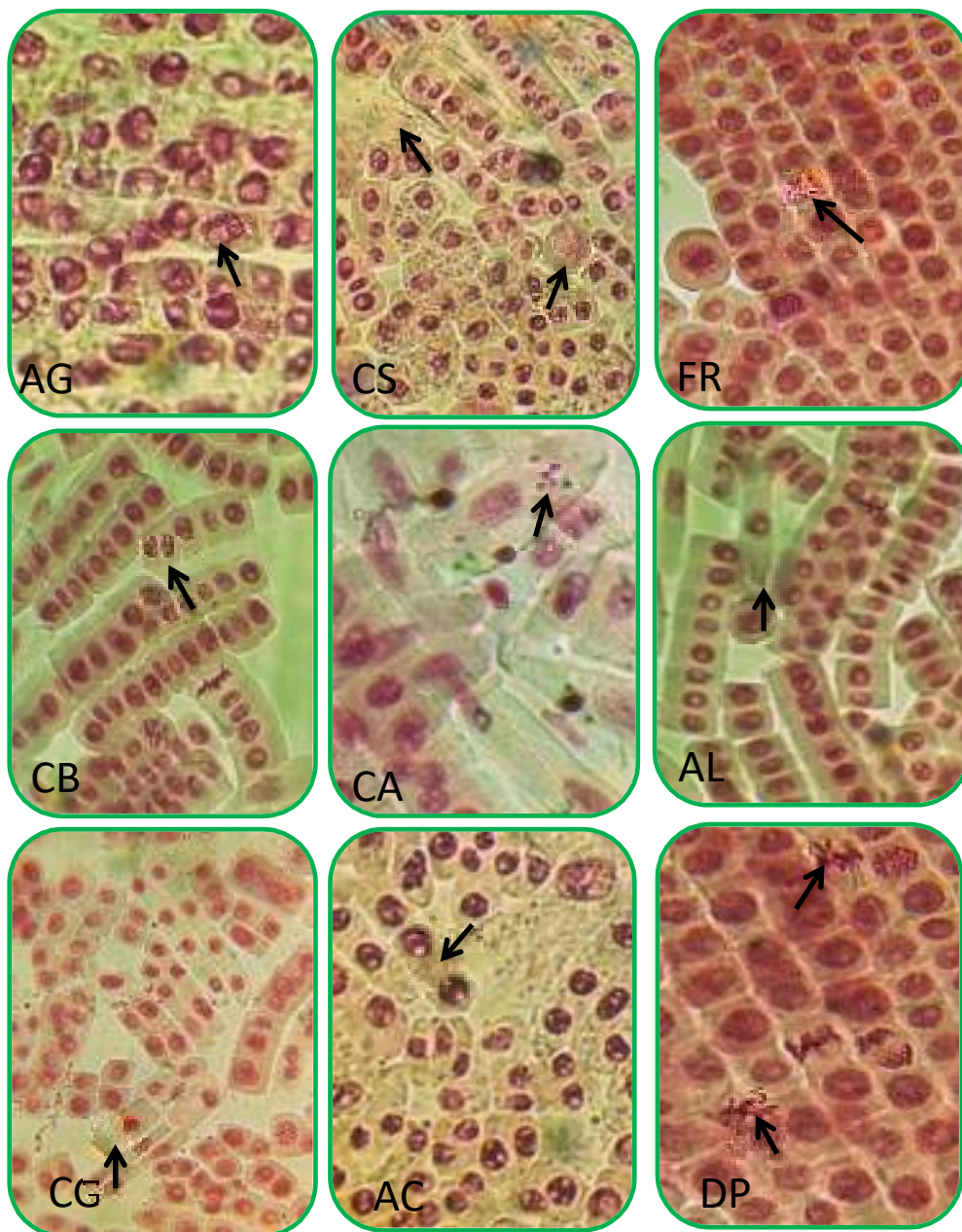
L'analyse cytologique des échantillons traités par la colchicine (1mg/ml) et quercetine (1mg/ml), (témoins positifs 1 et 2) a montré l'apparition de plusieurs aberrations et n'a pas montré la présence de toutes les phases de la mitose. Les résultats obtenues sous microscope sont montrés dans les figures ci-dessous.



AG : Agglutination chromosomique; FR : Fragmentation des chromosomes; CG : cellule gigantesque;  
AL : Allongement des cellules ; CB : cellule binucléé

**Figure 21** : Aberrations causés par la Colchicine [1mg/ml] sur les cellules méristématiques des extrémités racinaires d'*Allium cepa* Observé au microscope Optique (X400) (Témoin Positif 01)

2.2.1. Aberrations observées et enregistrées sous l'effet de la quercétine



AG : Agglutination chromosomique ; FR : Fragmentation des chromosomes; DP : désorganisation de la plaque équatorial ; CG : cellule gigantesque; CS : cellule sans noyau AL : Allongement des cellules; CA : corps apoptotique CB : cellule binucléé; AC: absence de cytotdièrèse.

**Figure 22:** Aberrations causés par la Quercétine[1mg/ml] sur les cellules méristématiques des extrémités racinaires d'*Allium cepa* Observé au microscope Optique (X400). (Temoin positif 02)

### 2.3.Indices mitotiques (IM)% et valeurs limites de cytotoxicité (VLC)%

L'analyse des cellules traitées par la colchicine (1mg/ml) et par la quercétine (1mg/ml) a révélé une diminution remarquable de la moyenne de l'indice mitotique (Tableau III) dont le taux a atteint  $(33,88 \pm 1,37)\%$  pour la colchicine, et de  $(43,80 \pm 0,46)\%$  pour la quercétine, ce qui correspond à la moitié de celui calculé pour le témoin négatif justifiant l'effet antimitotique de ces agents. La colchicine est un alcaloïde végétal qui bloque la formation du fuseau mitotique, elle se fixe sur la tubuline et empêche sa polymérisation en microtubules, l'absence ou l'insuffisance de ces dernières entraîne le blocage de la mitose au stade métaphase. Quand à la quercétine, qui est un flavonoïde de type flavonol, elle agit directement par inhibition de la protéine kinase et inhibe la lipogénèse, bloquant ainsi la mitose (LALAOUI *et al.*, 2004).

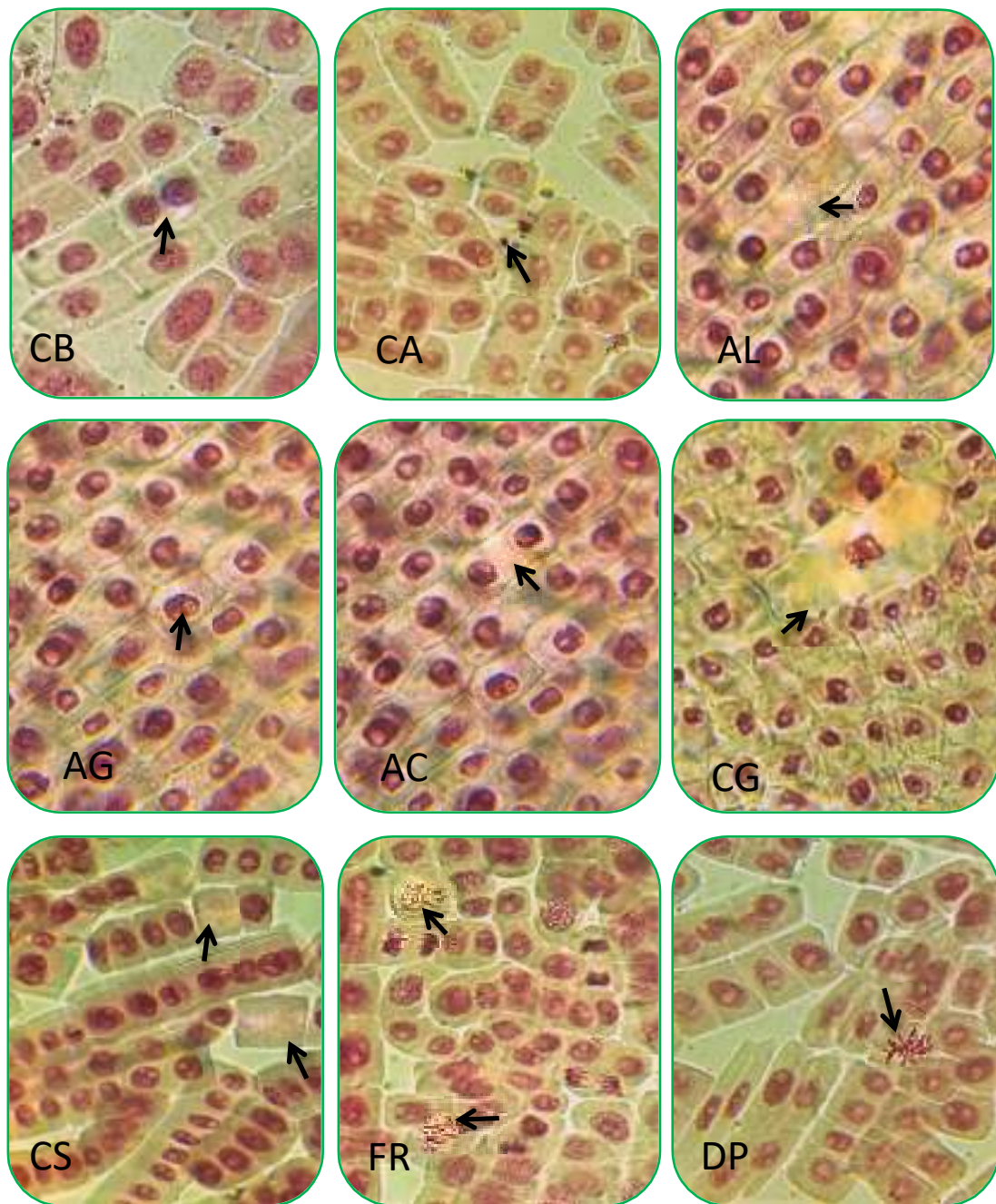
**Tableau III:** les indices mitotiques (IM) et les valeurs limites de Cytotoxicité (VLC) des deux témoins positifs utilisés dans notre étude.

Extraits	IM $\pm$ ES (%)	VLC $\pm$ ES (%)
Colchicine (1mg/ml)	$33,88 \pm 1,37$	$38,61 \pm 1,94$
Quercétine (1mg/ml)	$43,80 \pm 0,46$	$49,92 \pm 0,52$

**IM :** Indice mitotique; **VLC :** valeur limite de cytotoxicité; **ES :** Erreur standard ;

L'analyse cytologique des échantillons traités par les extraits d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L à différentes concentrations (16 ; 10 ; 04 ; 01 mg/ml) préparés pour notre étude a révélé l'observation de plusieurs aberrations, mais aussi la non présence de toute les phases de la mitose (Figure 23). :

2.2.3. Aberrations observées et enregistrées sous l'effet l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L. à différentes concentration



AG : Agglutination chromosomique ; FR : Fragmentation des chromosomes; DP : désorganisation de la plaque équatorial ; CG : cellule gigantesque; CS : cellule sans noyau AL : Allongement des cellules; CA : corps apoptotique CB : cellule binucléé; AC: absence de cytotdièrese.

**Figure 23** : aberrations causées par l'extrait brut d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum Harmala* L sur les cellules méristématiques des extrémités racinaires d'*Allium cepa* observé au microscope optique (X400)

Le tableau IV montre que les indices sont de  $1,02 \pm 0,10$  pour la concentration 16mg/ml ;  $10,91 \pm 0,46\%$ ;  $23,71 \pm 0,44\%$  et de  $29,13 \pm 0,55 \%$ , respectivement pour les concentrations 10 mg/ml ; 4 mg/ml et 1mg/ml .

**Tableau IV:** comparatif des indices mitotiques (IM) et les valeurs limites de cytotoxicité (VLC) obtenus dans notre étude.

Extraits	IM $\pm$ ES (%)	VLC $\pm$ ES (%)
Colchicine (1mg/ml)	$33,88 \pm 1,37$	$38,61 \pm 1,94$
Quercetine (1mg/ml)	$43,80 \pm 0,46$	$49,92 \pm 0,52$
Extrait acétate d'éthyle (16mg/ml)	$1,02 \pm 0,10$	$1,16 \pm 0,20$
Extrait acétate d'éthyle (10mg/ml)	$10,91 \pm 0,46$	$12,43 \pm 0,12$
Extrait acétate d'éthyle (4mg/ml)	$23,71 \pm 0,44$	$27,02 \pm 0,07$
Extrait. acétate d'éthyle (1mg/ml)	$29,13 \pm 0,55$	$33,20 \pm 0,07$

**IM** : Indice mitotique; **VLC** : valeur limite de cytotoxicité; **ES** : Erreur standard ;

Des tests statistiques ont été exécutés sur les différents résultats de notre étude en commençant par une étude statistique type ANOVA, qui a révélé une différence hautement significative entre les indices mitotiques des extraits d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L et le témoin négatif. Nos résultats ont été similaires aux résultats des deux témoins positifs (colchicine et quercétine) ( $P= 0,00$ ). Cela justifie et prouve un effet antimitotique de nos extraits à différentes concentrations (1mg/ml ; 4mg/ml ; 10mg/ml et 16 mg/ml).

Nous avons exécuté un test de comparaison multiples des moyennes (Test Newman Keuls), Cela a révélé la formation de 6 groupes montrant que la moyenne de l' indice

mitotique de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L. (1mg/ml), qui est de  $29,13 \pm 0,55$  est classée en dessous de la moyenne de l'IM de la colchicine (33,88%) et celle de la quercétine (43,88%). L'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L (1mg/ml) possède un effet anti mitotique semblable à celui de la colchicine (1mg/ml) et supérieur à celui la quercétine (1mg/ml), ceci suggère que ce dernier contient dans sa composition des composés bioactifs avec le même effet que les témoins positifs (Tableau V).

**Tableau V** : comparaison multiple des moyennes des indices mitotiques des différents extraits.

Extraits (Mg/ml)	Groupe	Moyenne
Extrait acétate d'éthyle 16 mg/ml	A	1,02
Extrait acétate d'éthyle 10 mg/ml	B	10,91
Extrait acétate d'éthyle 4 mg/ml	C	23,71
Extrait acétate d'éthyle 1mg/ml	D	29,14
Colchicine 1mg/ml	D	33,88
Quercétine 1mg/ml	E	43,88
Témoin négatif		87,74

La diminution de l'activité antimitotique indique une action de l'extrait d'acétate d'éthyle de feuilles de *Peganum harmala* L. bloquant la division mitotique. Plusieurs études ont été réalisées, en utilisant pour l'extraction de différents extracteurs à l'exemple du méthanol qui a permis d'avoir un extrait avec des résultats comparables à ceux qu'avec l'acétate d'éthyle. Ces résultats ont été similaires à ceux obtenue en utilisant des extraits à base de méthanol des feuilles de la même plante effectué au même temps que notre étude au même laboratoire (ZEGHANANE,2019). Autre exemple connu aussi le résultat de la diminution de l'indice mitotique observée chez les cellules méristématiques d'*Allium capa* L traitées par une infusion des feuilles *Maytenus ilicifolia* et de *Banchiniq candicans* (CAMPAROTO *et al.* 2002).

*Peganum harmala* L est connu par sa richesse en alcaloïdes (harmines, harmalines...etc), phénols, terpènes et saponosides dont l'activité cytotoxique a été largement étudiée (FASLA 2009). Selon EL-CHAMERY *et al.*, (2000), les composants contenus dans un extrait doivent interférer avec le développement normal de la mitose, en favorisant l'entrée en prophase pour

nombre de cellules , bloquent ainsi le cycle mitotique durant l'interphase. La réduction de l'activité mitotique pouvait être due à l'inhibition de la synthèse de l'ADN et des nucléoprotéines de la synthèse biologique, ou à une prolongation de la durée des phases G2 et S (WEBSTER et DAVIDSON, 1969).

Selon SIDDIQUI *et al.* (2007), la diminution de l'indice mitotique est due probablement à une modification ou une altération dans l'expression de certains gènes, chaque action survenant séparément dans le noyau interphasique par l'influence ultime de la structure. Cet indice permet d'évaluer les effets antimitotiques et génotoxiques des divers extraits naturels (MARCANO *et al.*, 2006). Quand il diminue en dessous de 22% du témoin négatif, il provoque un effet létal sur les organismes testés et la diminution de ce dernier de 50% par rapport au témoin a habituellement un effet sublétal. Cette limite est nommée valeur limite de cytotoxicité (SHARMA, 1983).

Selon les définitions précédentes, nous pouvons dire que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L est considéré comme létal pour les cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par les concentrations 16 mg/ml et 10 mg/ml, et nous avons obtenus une valeur limite de cytotoxicité de  $1,16 \pm 0,20\%$  et  $12,43 \pm 0,12\%$  respectivement. Pour les extraits à 4mg/ml et 1mg/ml, et les deux standards sont considérés comme sub-létal.

La lecture du tableau IV montre qu'à la même concentration (1mg/ml), la valeur limite de cytotoxicité des standards est de  $38,61 \pm 1,94\%$  pour la colchicine et de  $49,92 \pm 0,52\%$  pour la quercétine. La quercétine est moins toxique que la colchicine, qui a un effet comparable de celui de l'extrait des feuilles de *Peganum harmala* L. à 1mg/ml ( $33,20 \pm 0,07$ ). Nous remarquons aussi que l'augmentation de la concentration des extraits est automatiquement suivie par une diminution des valeurs limites de cytotoxicité.

L'étude statistique type ANOVA a révélé une différence hautement significative entre les valeurs limites de cytotoxicité des extraits d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L., le témoin négatif et les deux standards (colchicine et quercétine) ( $P= 0,00$ ). Ce qui démontre un effet cytotoxique de nos extraits à différentes concentrations (1, 4, 10 et 16 mg/ml), ainsi que la colchicine et la quercétine (1 mg/ml).

Les comparaisons multiples des moyennes (Test Newman Keuls) ont révélé la formation de 5 groupes (Tableau VI). La moyenne de la valeur limite de cytotoxicité de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L. à la concentration 1mg/ml ( $33,20 \pm 0,07$  %) est classée en dessous de la valeur limite de cytotoxicité moyenne de la colchicine (38,62%) et celle de la quercétine ( $49,92 \pm 0,52$ %) . De ce fait, l'extrait d'acétate d'éthyle à la concentration 1mg/ml, possède un effet plus toxique supérieur à celui de la quercétine (1 mg/ml) et la colchicine(1mg/ml).

### 2.3.3.Moyennes des valeurs limites de cytotoxicité

**Tableau VI** : comparaison multiple des moyennes des valeurs limites de cytotoxicité des différents extraits.

Extraits (Mg/ml)	Groupe	Moyenne
Extrait acétate d'éthyle 16 mg/ml	A	1,16
Extrait acétate d'éthyle 10 mg/ml	B	12,43
Extrait acétate d'éthyle 4 mg/ml	C	27,02
Extrait acétate d'éthyle 1mg/ml	D	34,16
Colchicine 1mg/ml	D	38,62
Quercétine 1mg/ml		50,00

Les pourcentages des différentes phases de la mitose calculées sur l'ensemble des cellules examinées sont rapportés dans le tableau VII, nous avons calculé à la concentration 16mg/ml l'indice de prophase de  $0,68 \pm 0,17$  et un indice de télophase de  $0,34 \pm 0,20$ . Il est à noter que l'indice de prophase est relativement le plus élevé et diminue en augmentant les concentrations des extraits d'acétate d'éthyle préparés, suivie par celui de la télophase. Par rapport à la métaphase et l'anaphase, elles sont minoritairement présentes, et dans la plupart des cas leur présence est nulle.

## 2.3.4. Indices de phases

Tableau VII : Les moyennes des indices de phases comparées au témoin.

Indices Extraits	IM ± ES (%)	IP ± ES (%)	IM' ± ES (%)	IA ± ES (%)	IT ± ES (%)
Témoin (-)	87,74 ± 1,37	59,60 ± 3,38	1,42 ± 0,39	2,05 ± 0,56	24,57 ± 4,83
Colchicine (1mg/ml)	33,88 ± 1,70	32,05 ± 1,58	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,82 ± 0,40
Quercetine (1mg/ml)	43,88 ± 0,46	40,57 ± 0,90	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	3,26 ± 1,07
Extrait. Acétate d'Éthyle (16mg/ml)	1,02 ± 0,10	0,68 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,34 ± 0,20
Extrait. Acétate d'Éthyle (10mg/ml)	10,91 ± 0,46	07,19 ± 0,79	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,07	3,53 ± 0,90
Extrait. Acétate d'Éthyle (4mg/ml)	23,71 ± 0,44	18,11 ± 0,73	0,00 ± 0,00	0,11 ± 0,09	5,02 ± 0,56
Extrait. Acétate d'Éthyle (1mg/ml)	29,13 ± 0,55	22,28 ± 0,51	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,85 ± 0,55

IM : indices mitotique ; IP : indice de prophase ; IM' : indice de métaphase ;

IA : indice anaphase ; IT : indice télophase ; ES : erreur standard

L'étude statistique type ANOVA a révélé une différence hautement significative entre les valeurs des indices de phases des extraits d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala L.* et le témoin négatif ( $P= 0,00$ ). Ce qui démontre un effet cytotoxique de nos extraits à différentes concentrations. Les comparaisons multiple des moyennes (Test Newwman Keuls) ont révélé la formation de 5 groupes (Tableau VII). La moyenne de l'indice mitotique de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala L.* à la concentration 1mg/ml ( $29,13 \pm 0,55$ ) est classée en dessous de la moyenne de l'IM de la colchicine ( $33,88 \pm 1,70$ ) et de celui de la quercetine ( $43,88 \pm 0,46$ ). De ce fait, nous pouvons dire que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala L.* à la concentration 1mg/ml, possède un effet plus toxique et un impact supérieur et plus important que celui de la colchicine et la quercetine (1 mg/ml).

**Tableaux VIII** : résultats de comparaison de moyennes pour les indices de prophase.

Extraits (Mg/ml)	Groupe	Moyenne
Extrait acétate d'éthyle 16 mg/ml	A	0,68
Extrait acétate d'éthyle 10 mg/ml	A	7,19
Extrait acétate d'éthyle 4 mg/ml	B	18,11
Extrait acétate d'éthyle 1mg/ml	B	22,28
Colchicine 1mg/ml	C	32,05
Quercétine 1mg/ml	D	40,57
Témoin négatif		59,60

**Tableaux IX** : résultats de comparaison de moyennes pour les indices de métaphase.

Extraits (Mg/ml)	Groupe	Moyenne
Extrait acétate d'éthyle 1 mg/ml	A	0,00
Colchicine 1mg/ml	A	0,00
Extrait acétate d'éthyle 10 mg/ml	A	0,00
Extrait acétate d'éthyle 16mg/ml	A	0,00
Quercétine 1mg/ml	A	0,00
Extrait acétate d'éthyle 4 mg/ml	A	0,00
Témoin négatif		1,43

**Tableaux X** : résultats de comparaison de moyennes pour les indices d'anaphase.

Extraits (Mg/ml)	Groupe	Moyenne
Extrait acétate d'éthyle 1mg/ml	A	0,00
Colchicine 1mg/ml	A	0,00
Extrait acétate d'éthyle 16 mg/ml	A	0,00
Quercétine 1mg/ml	A	0,00
Extrait acétate d'éthyle 10mg/ml	A	0,06
Extrait acétate d'éthyle 4mg/ml	A	0,11
Témoin négatif		2,06

**Tableaux XI** : résultats de comparaison de moyennes pour les indices de télophase.

Extraits (Mg/ml)	Groupe	Moyenne
Extrait acétate d'éthyle 16 mg/ml	A	1,02
Colchicine 1mg/ml	A	1,83
Quercétine 1mg/ml	A	3,26
Extrait acétate d'éthyle 10mg/ml	A	3,54
Extrait acétate d'éthyle 4mg/ml	A	5,02
Extrait acétate d'éthyle 1mg/ml	A	6,85
Témoin négatif		24,57

Ce phénomène est probablement lié à une intense altération de microtubules en empêchant l'assemblage des chromosomes au stade métaphase (FUSCONI *et al.*, 2006). Certains composés naturels comme certains saponines et flavonoïdes pourraient entraîner une disparition progressive des métaphases, des anaphases et des télophases avec une augmentation relative du nombre de prophases qui disparaissent ensuite peu à peu par retour à l'état interphasique (ABUDUNIA *et al.*, 2017). Selon ROGER (2007), l'extrait végétal pourraient provoquer soit un ralentissement des cellules d'entrer en d'autres stades de mitose notamment en métaphase, soit une altération des microtubules en empêchant l'assemblage des chromosomes au stade condensation structurale final au niveau plaque équatoriale, ou bien même un blocage des cellules en prophase.

## 2.5. Indice d'aberrations

Les aberrations chromosomiques observées dans cette étude sont évidemment causés par les constituants chimiques présents dans les extraits d'acétate d'éthyle de feuilles de *Peganum harmala* L puisque aucune aberration n'a été observée chez le témoin négatif.

La plupart de ces anomalies sont définie par la présence des agglutinations chromosomiques (AG), dont la moyenne est de  $47,82 \pm 3,02$  % à la concentration 16mg/ml en extrait d'acétate d'éthyle (Figure 24), elles présentent un taux relativement élevé, par rapport aux autres anomalies dans tous les extraits (annexe). Selon BASS et *al.*(2000), cette tendance à l'agglutination pourrait être le résultat d'une diminution de la viscosité transformant les molécules allongées en molécules globulaires, elle est probablement causée par une liaison sub-chromatidique entre les chromosomes qui perdent la capacité de mouvement et deviennent incapable de parvenir à leur destination finale. Elles pourraient aussi résulter de la dépolymérisation de l'ADN et de la dissolution des nucléoprotéines suite à un stress, cela reflète un état toxique, de type habituellement irréversible et qui mène probablement à une mort cellulaire.

En plus des agglutinations chromosomiques, nous avons observé la présence d'autre anomalies, (Figures 22 et 23) : les cellules binucléés(CB) ; fragmentation des chromosomes (FR) ; allongement des cellules (AL) ; cellules gigantesques(CG) ; cellules sans noyau (CS) ; désorganisation de la plaque équatoriale(DP), des corps apoptotiques (CA) et l'absence de cytodierèse (AC).

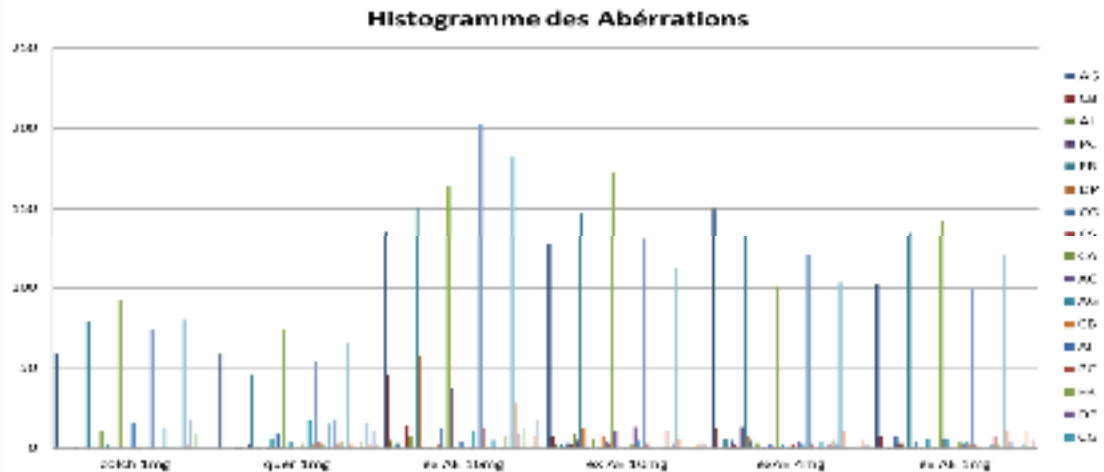


Figure 24 : histogramme des aberrations observées

Tableau XII : Moyennes des aberrations rencontrées lors de nos observations.

Aberrations Extractions	AG ± ES (%)	CB ± ES (%)	AL ± ES (%)	PC ± ES (%)	FR ± ES (%)	DP ± ES (%)	CG ± ES (%)	CS ± ES (%)	CA ± ES (%)	AC ± ES (%)	Total (%)
Colchicine (1mg/ml)	26,45 ± 2,56	0,11 ± 0,09	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	3,59 ± 0,32	0,00 ± 0,00	0,17 ± 0,09	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	30,30
Quercétine (1mg/ml)	17,08 ± 1,22	0,51 ± 0,20	0,39 ± 0,20	0,00 ± 0,00	1,14 ± 0,65	0,22 ± 0,09	2,51 ± 0,39	0,34 ± 0,17	2,85 ± 0,93	0,45 ± 0,12	25,40
Extrait. Acetate d'Ethyle (16mg/ml)	47,82 ± 3,02	10,28 ± 1,96	1,08 ± 0,38	0,00 ± 0,00	1,42 ± 0,33	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,65 ± 0,59	3,14 ± 0,44	0,00 ± 0,00	65,39
Extrait. Acetate d'Ethyle (10mg/ml)	39,42 ± 2,64	2,22 ± 0,42	0,22 ± 0,09	0,00 ± 0,00	0,57 ± 0,33	0,05 ± 0,04	0,45 ± 0,09	1,94 ± 0,55	1,25 ± 0,33	0,8 ± 0,22	46,92
Extrait. Acetate d'Ethyle (4mg/ml)	34,74 ± 4,59	1,88 ± 0,52	0,45 ± 0,31	0,00 ± 0,00	0,85 ± 0,23	0,17 ± 0,06	0,45 ± 0,23	0,80 ± 0,21	0,74 ± 0,16	1,18 ± 0,58	41,26
Extrait. Acetate d'Ethyle (1mg/ml)	6,39 ± 2,31	0,91 ± 0,49	0,85 ± 0,27	0,00 ± 0,00	0,17 ± 0,12	0,00 ± 0,00	0,85 ± 0,26	1,14 ± 0,51	0,62 ± 0,26	0,45 ± 0,16	38,30

ES : Erreur standard ; AG : Agglutination chromosomique; CB cellule binucléé; AL : Allongement des cellules; PC : Pont chromosomique; FR : Fragmentation des chromosomes; DP: désorganisation de la plaque équatoriale; CG : cellule gigantesque; CS : Cellule sans noyau ; CA : corps apoptotique; AC : Absence de cytotidièrese.

En ce qui concerne les cellules binucléées ( $0,91\pm 0,49\%$ ) chez les cellules traitées par l'extrait d'acétate d'éthyle ( $1\text{mg/ml}$ ), leur présence laisse suggérer qu'elles sont dues probablement à l'éruption du processus de la cytokinèse à n'importe quel point de contrôle du cycle cellulaire, en agissant sur la formation du phragmoplaste, et empêchant la formation des cellules filles, conduisant à l'apparition de cellules polyploïdes (GRANT, 1976).

La présence des cellules binucléées est détectée dans toutes les concentrations testées (Tableau XIII), elle est d'une moyenne de  $1,88\pm 0,52\%$  chez les cellules traitées par l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L à concentration de  $4\text{mg/ml}$ .

De même, les fragmentations des chromosomes sont enregistrées présentes est majoritaire chez les cellules traitées par la colchicine, avec une moyenne de  $3,59\pm 0,32\%$ . Selon MOREAU (2006), ces dernières sont probablement dues à la nécrose. La nécrose est une mort cellulaire dite « accidentelle » qui survient lors d'un dommage tissulaire et elle implique des groupes de cellules.

Les cellules dépourvues de noyaux sont également présentes, avec un taux de  $1,94\pm 0,55\%$  à la concentration  $10\text{mg/ml}$  tandis que leur moyenne en concentration  $1\text{mg/ml}$  est de  $1,14\pm 0,51\%$ , suite à un traitement à l'extrait d'acétate d'éthyle de *Peganum harmala* L. Selon ROGER (2007), elles sont le résultat d'une caryolyse. Celle-ci est définie comme une dissolution du noyau avec perte de ses affinités tinctoriales, elle s'accompagne de modifications des nucléo-protéines, avec dépolymérisation de l'ADN et hydrolyse sous l'effet d'enzymes cellulaires.

Les corps apoptotiques sont également présents ou leurs taux moyen à attiens  $1,25\pm 0,33\%$  à la concentration  $10\text{mg/ml}$  et  $0,74\pm 0,16\%$  à la concentration  $4\text{mg/ml}$  de l'extrait d'acétate d'éthyle de feuilles de *Peganum harmala* L tandis que pour la concentration  $1\text{mg/ml}$  de ce dernier ces corps atteignent un taux moyen de  $0,62\pm 0,26\%$ . D'après WYLLIE *et al.*, (1984) la présence de ces corps est due au clivage de la chromatine en fragments irréguliers ou bien au bourgeonnement de la membrane plasmique, les corps apoptotiques renferment une partie du cytoplasme de la cellule.

En ce qui concerne les cellules gigantesques, elles sont considérées comme une sorte d'adaptation aux stress abiotique, celle-ci peut être la conséquence d'endo-réduplication, alors une polyploïdie. Il s'agit d'une alternative du cycle cellulaire classique où l'ADN est dupliqué sans division de la cellule, la mitose n'a pas lieu et le cycle cellulaire est réinitialisé (FASLA, 2009).

Les désorganisations de la plaque équatoriale quant à elles, leurs présence est avec un taux de  $0,17 \pm 0,06$ ;  $0,05 \pm 0,04\%$  respectivement pour les concentrations; 4mg/ml et 10mg/ml en extrait d'acétate d'éthyles de feuilles de *Peganum harmala* L. et sont absent à la concentration de 01mg/ml ; 16mg/ml.

D'après ROGER (2007), les microtubules pourraient être la cible de certains flavonoïdes et tri-terpènes, leur action empêcherait la formation de la plaque cellulaire. Ce phénomène a été observé en utilisant l'extrait de fleurs de *Peganum harmala* L et des feuilles *Lantana camara* L (TURKUGLO, 2008).

D'autre aberrations sont connues lors des études faite précédemment a l'image du pont chromosomique (CP), qu'on n'a pas enregistré lors de notre présente tel apparait ça valeur nul sur le tableau XIII.

En résultat final nous pouvons dire que les travaux accomplie dans notre étude son l complémentaire aux travaux effectuer auparavant sur les mycoendophytes foliaires de *Peganum Harmala* L. Où on a obtenues des résultats statistique similaire à notre présente études (Tableau afin d'illustrer un effet antimitotique antiprolifératif et antioxydant des mycondophytes foliaires de *Peganum harmala* L. (OUZID *et al.*,2018).

**Tableau XIII** : Les résultats des comparaisons des moyennes des indices d'aberrations.

Extraits (Mg/ml)	Groupe	Moyenne
Extrait acétate d'éthyle 1mg/ml	A	1,14
Quercétine 1mg/ml	A	2,55
Colchicine 1mg/ml	A	3,03
Extrait acétate d'éthyle 4 mg/ml	A	4,13
Extrait acétate d'éthyle 10 mg/ml	A	4,89
Extrait acétate d'éthyle 16 mg/ml	A	6,54

L'expérimentation faite dans notre présente étude a révélé que les extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L influencent le déroulement du cycle de la mitose et ont un effet antimitotique sur les cellules d'*Allium cepa* L.

Ceci s'explique par une diminution des indices mitotique et des indices de phases des échantillons traités par nos extraits d'acétate d'éthyle de *Peganum harmala* L a différentes concentration (16 ;10 ;4 ; 1mg/ml) par rapport au témoin négatif qu'on a mis en évidence. Ces propos sont appuyés par les résultats obtenus des valeurs limites de cytotoxicité et leur rapport avec la concentration de nos extraits.

Notre étude nous a permis ainsi lors de l'observation microscopique de définir les différents types d'aberration provoqué par l'extrait d'acétates d'éthyles de *Peganum harmala* L. Ces dernières ont été clairement comparable résultats obtenus pour les témoins positifs (colchicine, quercétine.) utilisés déjà connus pour leurs effets antimitotiques, Ainsi cette ressemblance confirme l'effet antimitotique de nos extraits d'acétate d'éthyle.

Le résultat obtenu de l'indices mitotique et de valeurs limites de cytotoxicité de notre extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L (1mg/ml) qui sont par ordre de  $(29,13 \pm 0,55) \%$  et  $(33,20 \pm 0,07) \%$ , sont nettement inférieur à ceux obtenus pour les témoins positifs (colchicine, quercétine). L'extrait d'acétate d'éthyle ont un effet antimitotique meilleur que ces derniers.

Pour une meilleure valorisation de ces ressources naturelles de nombreuses perspectives peuvent être envisagées à savoir :

- Réalisation des extractions avec d'autres solvants ;
- Identification les différentes classes de molécules bioactives responsables de nombreuses activités biologiques par des techniques analytiques de hautes performances (HPLC, RMN, SM ...)
- Evaluation l'activité anti mitotique sur d'autre systèmes biologiques (culture cellulaire) ;
- Evaluation d'autres activités biologiques éventuelles.

# Conclusion et perspectives

# Références bibliographiques

**AKHMANOVA A. STEINMETZ M.O. (2008).** Tracking the ends a dynamic protien network contols the fate of mirotubule tips.nature review molecular well biology'(9) 309-332.

**AKINBOROA. Et BAKARA A. (2007).** Cytotoxic ans genotoxic of aquous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa*. Journal of Ethnopharmacoly 112(3) 470-477.

**ALIPIEVA I. ORHAN I. TATLI I. KOSTADINOV P.E et MILEN I. (2004).** Treasure from garden: chemical profiling, pharmacologu and biotechnology of mulliens thytochem reveiew, (13), 417-444.

**ALLAIN P. (2000).** Les medicaments 3<sup>eme</sup> Ed,CDM Editions, Angers.

**AMOS L.A. (2004).** Microtubule structure and its stabilization. Organic and biomolecular chemistry, 15(2),2153-2160.

**ANTONSIE – WICZ .(1990).** Analysis of the cell cycle in the root meristem of *Allium cepa* under the influence ok the ledakrin. Folia Histochemica and Cytobiologica, (28),79-96.

**ASKIN CELIK T. et ASLANTURK O.S. (2010).** Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Inula viscosa* leaf extracts with *Allium* test. Journal of biomedicine and biotechnology 1-8.

**ATTEKB. ABUL FERAH M., NIAMAT ALI M. et AHMED W. (2002).** Clastogenicity of pentachlorophenol.2.4-D and butchlor evaluated by *Allium* root tip. Mutation research (514), 105-113.

**BABA AISSA F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles: flore d'Algerie et du Maghreb. Librairie Moderne , Alger .

**BADIAGA M. (2011).** Etudes ethnobotanique phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia smith* une plante medecinale africaine recoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako, Bamako, Mali.

**Abbassy, M., Samir, A.M., Abdelgaleil, A.H. Belal, M.A., Abdel Rasoul, A.,(2007).**Insecticidal, antifeedant and antifungal activities of two glucosides isolated from the seeds of *Simmondsia chinensis*. *Industrial Crops and Products*, 26, 345–350.

**Ahmes, T.B., Shahma, M., Madi, A., (2007).** Comparative analysis of aberration induced by diethyl sulphate (DES) and Sodium Azide (SA) in *Vicia Faba* L. (Fabaceae). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (5), 783-787.

**Akinboro, A.B., Bakare, A.A., (2007).** Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 112, 470–475

**Alka, M.Y.K., Ansari, T.M.B., Choudhary, S., Rumana, A., (2012).** Genotoxic effect of Ethylmethane Sulphonate and Sodium Azide in *Linum Usitatissimum* L. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 9 (3), 1-9.

**Ambreen, A.M., Ansari, A., Hisamuddin, F., (2012).** Cytological effect of Ethylmethane Sulphonate and Sodium Azide in *Linum Usitatissimum* L. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 2 (1), 70-75.

**Angel, S., Gladys F., Jorge, L.F., Renata, C., Enrico, C., Mario, F., Ruggero, R., Paolo, P., Francesca, D., Rosella, D., (2008).** Assessment of the genotoxic risk of *Punica granatum* (Punicaceae) whole fruit extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 115, 416–422

**Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H.,**

**Debbache, N., Atmani, D., (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112(2), 303–309. Augustin, S., Barry, H., James, A., Joseph, B., (2003). Les polyphénols des fruits et légumes : un atout pour vieillir en bonne santé. Laboratoire des Maladies Métaboliques et Micronutriments INRA Saint-Genes-Champagnelle – France. 5-7. (poly important)

**Babatunde, B.B., Bakare, A.A., (2006).** Dépistage de la génotoxicité des eaux usées à partir de Agbara Industrial Estate Nigeria évaluée selon le test *Allium*. *Pollution Research*, 25, 227-234.

**Bagatini, P.B., Roberta, P.P., Manoela, T.R., Cynthia, H.C., Sharbel, W.M., (2008)** Induction and removal of DNA damage in blood leukocytes of patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis. *Mutation Research*, 657, 111–115.

**Bakare, A.A., Wale-Adeyemo, A.R., (2004).** Le potentiel mutagène et cytotoxique effet des lixiviats de domestic wastes et Aba-Eku décharge Nigeria sur *Allium cepa*. *Journal de la nature de la technologie de la pollution de l'environnement*, 3, 455-462.

- Beloued, A. 2001.** *Plantes médicinales d'Algérie*. Office de publication universitaire, 150-162.
- Beloued, A. 2008.** *Plantes médicinales d'Algérie*. Office de publication universitaire, 173-180.
- Benkiki, N., (2006).** Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *rutamontana*, *matricaria pubescens* et *hypericum*. Thèse de doctorat de l'Université de Batna. 117-124.
- Bernard, W., (2011).** Ressources végétales riches en polyphénols. *Pharmacognosie et Molécules Naturelles Bioactives*, Faculté de Pharmacie - Université de Strasbourg. 22- 27
- Bhat, R., Hadi, S.M., (1994).** DNA breakage by tannic acid and Cu (II): sequence specificity of the reaction and involvement of active oxygen species. *Mutation Research*, 313(1), 39–48.
- Birosová, L., Mikulášová, M., Vaverková, S., (2005).** Antimutagenic effect of phenolic acids. *Food and Chemical Technology*, 149(2), 489-491.
- Birt D. F., Hendrich S., and Wang W. (2001),** Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol. Ther.* 90, 157-177.
- Bos, M.A., Vennat, B., Meunier, M.T., Pouget, M.P., Pourrat, A., Fialip, J., (1996).** Antioxydant properties towards lipoperoxidation and anti-elastase activity. *Biology and Pharmacology Bulletin*, 19, 146-148.
- Breu, W., (1996).** *Allium cepa L.* (Onion) Part 1: Chemistry and analysis. *Phytomedicine*, 3(3), 293-306.
- Brindzova, L., Mikulašova, M., Takacsova, M., Mošovska, S., Opattova, A., (2009).** Evaluation of the mutagenicity and antimutagenicity of extracts from oat, buckwheat and wheat bran in the *Salmonella* microsome assay. *Journal of Food Composition*, 22, 87–90.
- Bruneton, J., (2009).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Paris, Lavoisier Tec & Doc, 253-270.
- Bu-Abbas, A., Nunez, X., Clifford, M., Walker, R., Ioannides, C., (1996).** A comparison of the antimutagenic potential of green, black and decaffeinated teas: contribution of flavanols to the antimutagenic effect. *Mutagenesis*, 11, 597-603.
- Carla, C.M., Pollyanna, F.O., Ildercílio, M.S., Lima, P.S., Martins, L., Carvalho, J., Jairo, C., Denise, C., (2012).** Évaluation du potentiel cytotoxique et génotoxique

et antigénotoxique de *Solanum lycocarpum* fruits glicoalkaloïde extraire dans les cellules. *Food Chemistry*, 79, 43-44

**Chang, Y.C., Chien, C.T., Teng, K.Y., Chou, S.T., (2005).** Antioxydative and mutagenic properties of *Zanthoxylum armatum*. *Food chemistry*, 418-425.

**Chavan, U.D., Shahidi, F., Naczk, M., (2001).** Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L) as affected by different solvents. *Food Chemistry*, 75, 509-512.

**Chiang, H.C., Lo, Y., Lu, F. J., (1994).** Xanthine oxydase inhibitor from the leaves of *Alisma* sp. *Journal of enzyme inhibition*, 8, 61-71.

**Colic, M., Pavelic K., (2000).** Molecular mechanisms of anticancer activity of natural dietetic products. *Journal of Molecular Medicine*, 78 (6):333 – 336.

**Cowan, M. M., (1999).** Plant product as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 9, 564-582.

**Daniela, M.L, Aparecida, M.M., (2009).** *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research*, 682, 71–81.

**Dar, M.S., Ikram, M., Fakouhi, T., (1976).** Pharmacology of *Quercus infectoria*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65(12), 1791–1794.

**Deniz, Y., UNAL, F0, Cengiz, S., (2009)** Genotoxic effects of herbicide Illoxan (Diclofop-Methyl) on *Allium cepa* L. *Turk Journal Biological*, 33, 283-290.

**Edenharder, R., Grünhage, D., (2003).** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by *tert*-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutation Research*, 540, 1–18.

**Ennis, D.G., (2001).** Mutagenesis. *Encyclopedia of Life Sciences*. 2-5.

**Erin, E., Mulvihill, B., Murray, W., Huff, P., (2010).** Antiatherogenic properties of flavonoids: Implications for cardiovascular health. *Can Journal Cardiol*, 261, 7-21. Etine, J., Clauser, E., (2001). *Biochimie génétique, biologie moléculaire*. 7eme édition, masson. 271-272.

**Fekadu, K., Wolfram, P., Stephen, M., Johnson, I., Günther, L.C., Sontag, G., Siegfried, K., (1996).** Genotoxic effects of crude juices from *Brassica* vegetables and juices

and extracts from phytopharmaceutical preparations and spices of cruciferous plants origin in bacterial and mammalian cells. *Chemico-Biological Interactions*, 102- 116.

**Feretti, D., Zerbini, I., Zani, C., Ceretti, E., Moretti, M., Monarca, S. (2007):** *Allium cepa* chromosome abberation and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. *Food Addition and Contamination*, 24(6), 561-572.

**Ferreira, F.G., Regasini, L.O., Oliveira, A.M., Campos, J.A., Silva, D.H., Cavalheiro, A.J., Santos, R.A., Bassi, C.L., Bolzani, V.S., Soares, C.P., (2009).** Avaliação de mutagenicidade e antimutagenicidade de diferentes frações de *Pterogyne nitens* (Leguminosae), utilizando ensaio de micronúcleoem *Tradescantia pallida*. *Reviues Bras Farmacogn*, 19, 61-67.

**Fiskesjo G, (1985).** *The Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102, 99–112.

**Fiskesjö, G., (1997).** *Allium* essai pour les produits chimiques de dépistage, l'évaluation des cytologiques paramètres. Dans: Wang, W., Gorsuch, J.W., Hughes, J.S. (Dir.), *Plantes à Études environnementales*. *CRC Lewis Publishers, Boca Raton, New York*, 9, 308-333.

**Fractianni, F., Di, L., Coppola, R., Nazzaro, F., (2006).** Mutagénic end antimutagenic properties of aqueous and ethanolic extract from. Fresh and irradiated tuber aestivum black truffle; apreliminary study. *Food chemistry*, 471-474.

**Giri, A.K., Mukhopadhyay, A., Sun, J., Hsie, A.W., Ray, S., (1999).** Antimutagenic effet of centchroman contraceptive end a candidate drug for breast cancer in multiple mutational assays. *Mutagenesis*, 613-619.

**Goetz, P., (2011).** phytothérapie de l'inflammation (partie I). *phytothérapie*, 9, 310- 317  
Goetz, P., (2011b). phytothérapie de l'inflammation (partie II). *phytothérapie*, 9, 362- 368.

**Goli, A.H., Barzegar, M., Sahari, M.A., (2004).** Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*pistachiavera*) hull extract. *Food chemistry*, 92, 521-525.

**Gorinstein, S., Vargas, M., Nicolas, O., Jaramillo, I.A.S., Martinez, A.L., Arancibia, P.A., Toledo, F., Katrich, E., Trakhtenberg, S., (2007).** The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. *Eur Food Research and Technology*, 225, 321–328.

**Gracieli, D.N., Tamara, P., Haywood, D.L., Thais, S.D., Solange, B.T., (2010)** Antiproliferative and genotoxic effects of *Mikania glomerata* (Asteraceae). *Biocellular*, 34(3), 95-101.

**Gundermann, K., Müller, J., (2007).** Phytodolor effects and efficacy of a herbal medicine. *Wien Medicine Wochenschr*, 157(13), 343-347.

**Haliem, A.S., (1990).** Cytological effects of the herbicide sencor on mitosis of *Allium cepa*. *Egypt Journal Botanic*, 33, 93-104.

**Halliwell, B., Gutteridge J.M.C., 1985.** The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. *Mol Aspects Med* 8, 89-193.

**Haywood, D.L., Daniel, P.M., Estela, S.A., Rieger, V.D.F., Marli, F.F., Solange, B.T., (2012).** Biomonitoring genotoxicity and cytotoxicity of *Microcystis aeruginosa* (Chroococcales, Cyanobacteria) using the *Allium cepa* test. *Science of the Total Environment*, 432, 180–188.

**Hopkins, W.G., (2003).** physiologie végétale. De Boeck. 514.

**Horn, R., Vargas, V.M.F., (2008).** Mutagenicity and antimutagenicity of teas used in popular medicine in the salmonella/microsome assay. *Toxicology. In Vitro*, 22, 1143–1149.

**Hurabielle.M., (1981).** Abrège de matière médicale (pharmacognosie) tom 1 edition masson. 250-260.

**Iris, C.Z., Milena, V., Massimo, M., Luca, D., Mar, B., Isla, A., (2008).** Evaluation of genotoxic and antigenotoxic effects of hydroalcoholic extracts of *Zuccagnia punctata* . *Journal of Ethnopharmacology*, 115, 330–335.

**Kaur, S.J., Grover, I.S., Kumar S., (2000).** Modulatory effects of tannin fraction isolated from *Terminalia arjuna* on the genotoxicity of mutagens in *Salmonella typhimurium*. *Food and chemical toxicology*, 38(12), 1113-1119.

**Kirsch-Volders , M., Elhajouji, A., Cundari, E., Hummelen, P., (1997).** The in vitro micronucleus test: a multi-endpoint assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosomal breakage, chromosome loss and non disjunction. *Mutatio Research*, 392, 19-30.

- Knezevic, J.V., Vucovic, G.B., Stevia, T., Stanajevic, J., Nicolic, B., Simie, D.,(2005).** Antimutagenic effect of essential oil of sage (*salvia officinalis L*) and its fractions against UV. Induced mutations in bacterial and yeast cells. *Arch biology*,57(3), 163-172.
- Kwan, Y.P., Darah, I., Umikalsom, Y., Chen, Y., Sreenivasan, S., (2012)** Genotoxicity of *Euphorbia hirta*: An *Allium cepa* Assay. *Molecules*, 17, 7782-7791.
- Lah, B., Zinko, B., Tisler, T., Marinsekand, L.R., (2005).** genotoxicity detection in drinking water by Ames test, zimmermann test and comet assay. *Acta chim. Slov*, 341- 348.
- Liua, W.C., Giorgia, M., LamidibElias, R., Ollivier, E., (2011).** Genotoxic and clastogenic activity of saponins extracted from Nauclea bark as assessed by the micronucleus and the comet assays in Chinese Hamster Ovary cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 137, 176–183.
- Macêdo, M., Sisenando, H., Queiroz, J., Argolo, A., Saturnino, A., Coelho, L.,Batistuzzo-de-Medeiros, S., (2008).** Determining the genotoxicity of an aqueous infusion of Bauhinia monandra leaves. *Revis Bras Farmacogenetic*, 18, 509- 516.
- Mamta, K.S., Sudheer, K., Sunandan, P., Amitava, M., Natarajan, C., (2011).** Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of *Allium cepa*. *Journal of Hazardous Materials*, 190, 613–621.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Remesy, C., (2005).** Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. *American Journal Clinical and Nutriment*, 81, 23-42.
- Marfak,A., (2003).** Radiolyse gamma des flavonoides et études de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat de l'Université de Limoges, 23-42.
- Maron, D., Ames B., (1983).** Methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Revised Mutation Research*, 113, 173-215.
- Massimo, D., Carmela, F., Roberta, D.B., Raffaella, G., Claudio, G., Roberta M., (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Journal of science*, 43(4), 348-361.
- Matés, J. M.; Gomez-Pérez, C. and Nunez DE Castro, I. (1999).** Antioxydant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32(8):595-603.

- Mckelvey-Martin, V.J., Green, M.H.L., Schmezer, P., Pool-Zobel, B.L., Méo, M.P., Collins, A., (1993).** The single cell gel electrophoresis assay (comet assay). A European review, *Mutation Research*, 288, 47-63.
- Michael, F., (2000).** The in vitro micronucleus technique Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. *Mutation Research*, 81–95.
- Michel, E., (2011).** Essences et huiles essentielles : précaution d'emplois et conseils d'utilisations. *Centre de formation en armothérapie*, 1-3.
- Mošovska, S., Mikulašova, M., Brindzova, L., Valik, L., Mikušova, L., (2010).** Genotoxic and antimutagenic activities of extracts from pseudocereals in the *Salmonella* mutagenicity assay. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1483–1487.
- Mouria M, Gukovskaya AS, Jung Y et al (2002).** Food-derived polyphenols inhibit pancreatic cancer growth through mitochondrial cytochrome C release and apoptosis. *Int J Cancer*; 98: 761–9.
- Muhsin, K., Recep, L., Hakki, C., (2007).** Determination of genotoxic effect of boron on *Allium cepa* root meristematic cells. *Pakistan Journal of Botanic*, 39(1), 73-79.
- Nakai, V.K., Oliveira R.L., Gonçalez, E., Fonseca, H., Ortega, E.M.M., Corrêa, B.,(2008).** Distribution of fungi and aflatoxin in a stored peanut variety. *Food Chemistry*, 106, 285–290.
- Paramjit, G., Singh, P.V., Prabhakar, U., Reddy A., Balasubramanyam A., Mahboob, M.F., Rahman, S.M., (2009).** In vivo assessment of genotoxic effects of *Annonasquamosa* seed extract in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1964–1971.
- Pedrazzani, R., Ceretti, E., Zerbini, I., Casale, R., Bertanza, E.G.G, Gelatti, U., Donato, F., Feretti, D., (2012).** Biodegradability, toxicity and mutagenicity of detergents: Integrated experimental evaluations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 84, 274–281.
- Ragunathan, I., Panneerselvam, N., (2007).** Antimutagenic potential of curcumin on chromosomal aberrations in *Allium cepa*. *Journal of Zhejiang University Science B*, 8(7), 470-475.
- Rank, J., (2003).** The method of *Allium* anaphase-telophase chromosome aberration assay, *Ekologija*, 22, 38–42.

- Rank, J., (2003).** The method of allium anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Ekologika*, (7), 38-42.
- Rank, J., Nielsen, M.H. (1997).** *Allium* anaphase-telophase genotoxicity assay. Department of Environment, Technology and Social Studies, Roskilde University, Denmark
- Rank, J., Nielsen, M.H., (1993).** A modified *Allium* test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. *Hereditas*, 18, 49–53.
- Ribera, G., (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Edition. Dunot.Paris.. P 173-201.
- Rong, T., (2010).** Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, 2, 1231-1246.
- Sadia, K.B., Vahidy, A.A., (1994).** Cytotoxic effect of herbicide ronstar on meristamic cells of *Allium cepa*. *Pakistan Journal of Botanic*, 26, 69-74.
- Saxena, P.N., Gupta, S.K., Murthy, R.C., (2010).** Carbofuran induced cytogenetic effects in root meristem cells of *Allium cepa* and *Allium sativum*: A spectroscopic approach for chromosome damage. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 96, 93–100.
- Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S., Nacro, M., (2010).** Anatomy and tannins concentration in tannins producing species of burkina faso. *Journal of science*, 10(2), 24 – 32.
- Sheikh, S.A., Wani, M.R., Lone, M.A., Tak, M.A., Malla, N.A., (2012).** Sodium Azide induced biological damage and variability for quantitative traits and protein content in wheat (*Triticum Aestivum* L). *Journal of Plant Genomics*, 2 (1), 34-38.
- Shuzhong, Z., Xinning, Y., Robert, A., Coburn b., Marilyn, E., Morris, a., (2005).** Structure activity relationships and quantitative structure activity relationships for the flavonoid mediated inhibition of breast cancer resistance protein. *Biochemical Pharmacology*, 70, 627–639.
- Siluél, S., Fondio, L., Coulibaly, M.Y., Magein, H., (2003).** Onion- Varietal adaptation- Ivory Coast. Sélection de variétés d'oignon (*Allium cepa* L.) adaptées au nord de la Côte d'Ivoire. *Tropicultura*, 21(3), 129-134.

**Silva, C.R., Monteiro, M.R., Rocha, H.M., Ribeiro, A.F., Caldeira, A., (2008).** Assessment of antimutagenic and genotoxic potential of senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) aqueous extract using in vitro assays. *Toxicology in Vitro*, 22, 212–218.

**Simon, B., 2007** Lésion et correction de l'ADN. In : biologie moléculaire. Ediscience. Paris : Dunod., 113-117.

**Solange, B.T., Haywood, D.L., (2012).** Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. *Environmental Contamination*, (8), 138-154.

**Stephane, M., (2008).** Produits chimiques cancérigènes, mutagènes, toxiques pour la reproduction : substances mutagènes [en ligne]. Institut national de recherche et de sécurité. Paris : Béatrice-Anne Fournier, 68-80. [http:// www.inrs.fr](http://www.inrs.fr).

**Sudhakar, R., Ninge Gowda, K.N., Venu, G., (2001).** Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cell of *Allium cepa*. *Cytologia*, 66, 235-239.

**Teixeira, R.O., Camparoto, M.L., Mantovani, M.S., Vicentini, V.E., (2003).** Assessment of two medicinal plants, *Psidium gua- java* L. And *Achillea millefolium* L. in vivo assays. *Genetic Molecular Biology*, 26, 551-555.

**Vargas, V.M.F., Migliavacca, S.B., de Melo, A.C., Horn, R.C., Guidobono, R.R., Ferreira, I.C.F.S., Pestana, M.H.D., (2001).** Genotoxicity assessment in aquatic environments under the influence of heavy metals and organic contaminants. *Mutation Research*, 490, 141–158.

**Verschaeve, L., Gilles, J., (1995).** The single cell gel electrophoresis assay in the earthworm for the detection of genotoxic compounds in soils. *Bulletin of Environment and Toxicology*, 112-119.

**Vogel, W.E., Nivard, M.J.M., (1993).** Performance of 181 chemicals in drosophila assay predominantly monitoring interchromosomal mitotic recombination. *Mutagenesis*, 57-81.

# Annexe

# Annexes

**Annexe 1** : Tableau d'indices mitotiques des cellules méristématiques *d'Allium Cepa* pris comme témoins négatif :

Phases Lames	P	M	A	T	IM (%)
Lame 01	230	10	16	42	85.14
Lame 02	236	7	5	66	89.71
Lame 03	210	4	5	74	83.75
Lame 04	161	2	6	154	92.28
Lame 04	206	2	4	94	87.81

**P** : Prophase    **M** : Métaphase    **A** : Anaphase    **T** : Télaphase    **IM (%)** : Indice mitotique en pourcentage

**FR** : Fragmentation des chromosomes    **AG** : agglutination de chromosomes    **CG** : cellules gigantesques  
**CB** : cellules binucléés    **AL** : allongement des cellules    **AC** : absence de cytotdièrèse    **PC** : pont chromosomique  
**CS** : cellules sans noyau    **CA** : corps apoptotique    **DP** : désorganisation de la plaque équatoriale en métaphase

# Annexes

**Annexe 2** : Indice mitotique des cellules meristematiques d'*Allium cepa* traité à la colchicine (1mg/ml)

Phases Lames	P	M	A	T	IM (%)	Nombres d'anomalies rencontrées
Lame 01	131	0	0	3	38,28	FR : 25    AG : 36 CG : 01    CB : 00 AL : 00    AC : 00 PC : 00    CS : 00 CA : 00    DP : 00
Lame 02	103	0	0	4	30,57	FR : 11    AG : 81 CG : 02    CB : 00 AL : 00    AC : 00 PC : 00    CS : 00 CA : 00    DP : 00
Lame 03	114	0	0	7	36	FR : 66    AG : 32 CG : 02    CB : 00 AL : 00    AC : 00 PC : 00    CS : 00 CA : 00    DP : 00
Lame 04	118	0	0	4	35,71	FR : 32    AG : 24 CG : 02    CB : 00 AL : 00    AC : 00 PC : 00    CS : 00 CA : 00    DP : 00
Lame 05	95	0	0	28,28	28,28	FR : 22    AG : 40 AL : 18    CB : 02 CG : 02    AC : 00 PC : 00    CS : 00 CA : 00    DP : 00

**P** : Prophase **M** : Métaphase **A** : Anaphase **T** : Télaphase **IM (%)** : Indice mitotique en pourcentage

**FR** : Fragmentation des chromosomes    **AG** : agglutination de chromosomes    **CG** : cellules gigantesques  
**CB** : cellules binucléés    **AL** : allongement des cellules    **AC** : absence de cytotdiérèse    **PC** : pont chromosomique  
**CS** : cellules sans noyau    **CA** : corps apoptotique    **DP** : désorganisation de la plaque équatoriale en métaphase

**Annexe 3 : Indice mitotique des cellules *d'Allium Cepa* traité à la colchicine (1mg/ml)**

<b>Phases</b> <b>Lames</b>	<b>P</b>	<b>M</b>	<b>A</b>	<b>T</b>	<b>IM (%)</b>	<b>Nombres d'anomalies rencontrées</b>
<b>Lame 01</b>	<b>140</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>9</b>	<b>42.57</b>	<b>FR : 00    AG : 29</b> <b>CG : 01    CB : 00</b> <b>AL : 00    AC : 02</b> <b>PC: 00    CS : 00</b> <b>CA: 00    DP: 01</b>
<b>Lame 02</b>	<b>153</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>44.28</b>	<b>FR : 01    AG : 86</b> <b>CG : 06    CB : 00</b> <b>AL : 01    AC : 01</b> <b>PC: 00    CS : 01</b> <b>CA: 09    DP: 01</b>
<b>Lame 03</b>	<b>147</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>42.58</b>	<b>FR : 00    AG : 94</b> <b>CG : 04    CB : 02</b> <b>AL : 04    AC : 03</b> <b>PC: 00    CS : 00</b> <b>CA: 17    DP: 02</b>
<b>Lame 04</b>	<b>134</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>18</b>	<b>43.42</b>	<b>FR : 15    AG : 74</b> <b>CG : 18    CB : 04</b> <b>AL : 02    AC : 00</b> <b>PC: 00    CS : 03</b> <b>CA: 04    DP: 00</b>
<b>Lame 05</b>	<b>136</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>24</b>	<b>45.71</b>	<b>FR : 04    AG : 66</b> <b>CG : 16    CB : 03</b> <b>AL : 00    AC : 02</b> <b>PC: 00    CS : 02</b> <b>CA: 10    DP: 00</b>

**P : Prophase    M : Métaphase    A :Anaphase    T : Télaphase    IM (%) : Indice mitotique en pourcentage**

**FR : Fragmentation des chromosomes    AG : agglutination de chromosomes    CG : cellules gigantesques**  
**CB : cellules binucléés    AL : allongement des cellules    AC : absence de cytotière    PC: pont chromosomique**  
**CS : cellules sans noyau    CA: corps apoptotique    DP: désorganisation de la plaque équatoriale en métaphase**

# Annexes

**Annexe 4** : Résultats obtenues de l'analyse de l'indice mitotique, d'indice de phases, d'indice d'aberrations et de valeurs limites de cytotoxicité par une comparaison multiple des moyenne ANOVA.

## Indice mitotique.

	ddl	SC	CM	F	Proba
Essai	6,00	23634,92	3939,15	759,43	0,00
Var.résiduelle	28,00	145,24	5,19		
Total	34,00	23780,15			

## Indice d'aberration

	ddl	SC	CM	F	Proba
Essai	5,00	179,96	35,99	0,37	0,87
Var.résiduelle	54,00	5251,41	97,25		
Total	59,00	5431,37			

## Valeur limite de cytotoxicité

	ddl	SC	CM	F	Proba
Essai	5,00	7376,21	1475,24	239,43	0,00
Var.résiduelle	24,00	154,54	6,41		
Total	29,00	8120,75			

## Indices de phases

### Indice prophase

	ddl	SC	CM	F	Proba
Essai	6,00	8,74	1,46	10,37	0,00
Var.résiduelle	28,00	3,93	0,14		
Total	34,00	12,67			

### Indice métaphase

	ddl	SC	CM	F	Proba
Essai	6,00	12242,31	2040,39	141,26	0,00
Var.résiduelle	28,00	404,43	14,44		
Total	34,00	12646,74			

### Indice anaphase

	ddl	SC	CM	F	Proba
Essai	6,00	17,68	2,95	10,04	0,00
Var.résiduelle	28,00	8,22	0,29		
Total	34,00	25,90			

### Indice télophase

Tableau d'analyse de variance					
	ddl	SC	CM	F	Proba
Essai	6,00	1999,96	333,33	14,23	0,00
Var.résiduelle	28,00	655,87	23,42		
Total	34,00	2655,84			

## Résumé

Les plantes médicinales sont une source inépuisable de molécules bioactives à l'origine de plusieurs activités biologiques. C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés à l'évaluation *in vitro* de l'activité antimittotique (Test *Allium cepa*) des extraits d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L., une plante spontanée des zones arides d'Algérie (Laghouat). Différentes concentrations (16 ; 10 ; 4 ; 1 mg/ml), ainsi que les deux standards à la concentration 1 mg/ml : la colchicine et la quercétine ont été testés. Des indices mitotiques (IM%); des valeurs limites de cytotoxicité (VLC%) et des indices de phases (IP%) ont été calculés, et différentes aberrations ont été recensées chez les cellules méristématiques d'*Allium cepa* L., traitées par les différentes concentrations ainsi que les deux standards. Nos résultats révèlent que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L. inhibe la mitose, avec un effet comparable à celui des deux standards. L'augmentation des concentrations en extrait s'accompagne par une diminution des différents indices calculés. Des moyennes d'IM (%) de  $43,80 \pm 0,46\%$  et de  $29,13 \pm 0,55\%$ , ainsi que des VLC de  $1,16 \pm 0,20\%$  et  $33,20 \pm 0,07\%$  ont été obtenues pour les concentrations 16 et 1 mg/ml respectivement. Nos extraits bloquent la mitose en prophase qui est majoritairement présente, et causent une augmentation d'indices d'anomalies (IA%), représenté par des taux dominants d'agglutinations, de fragmentations chromosomiques et des cellules binucléées. L'analyse statistique type ANOVA et le test de Newman Keuls appuie l'effet antimittotique des extraits d'acétate d'éthyle des feuilles de *Peganum harmala* L. à différentes concentrations, similaire aux deux standards (colchicine et quercétine).

**Mots clés :** *Peganum harmala* L; activité antimittotique; extrait d'acétate d'éthyle, molécules bioactives, colchicine, quercétine, Laghouat.

## Abstract

Medicinal plants are an inexhaustible source of bioactive molecules at the origin of several biological activities. It is with this in mind that we are interested in the *in vitro* evaluation of the antimittotic activity (*Allium cepa* test) of the ethyl acetate extracts of the leaves of *Peganum harmala* L., a spontaneous plant in the arid zones. Algeria (Laghouat). Different concentrations (16, 10, 4, 1 mg / ml) as well as the two standards at 1 mg / ml concentration: colchicine and quercetin were tested. Mitotic indices (IM%); cytotoxicity limit values (VLC%) and phase indices (IP%) were calculated, and different aberrations were recorded in the meristematic cells of *Allium Cepa* L. treated with the different concentrations as well as the two standards. Our results reveal that the ethyl acetate extract of the leaves of *Peganum harmala* L. inhibits mitosis, with an effect similar to that of both standards. The increase in extract concentrations is accompanied by a decrease in the various indices calculated. MI (%) averages of  $43.80 \pm 0.46$  of  $29.13 \pm 0.55$ , as well as VLC (%) of  $1.16 \pm 0.20$  and  $33.20 \pm 0.07$  (%) were obtained for the concentrations 16 and 1 mg / ml respectively. Our extracts block the predominantly present prophase mitosis, and cause an increase in abnormality indices (IA%), represented by dominant rates of agglutination, chromosome fragmentation and bi-nucleate cells. The ANOVA statistical analysis and the Newman Keuls test support the antimittotic effect of the ethyl acetate extracts of *Peganum harmala* L. leaves at different concentrations, similar to both standards (colchicine and quercetin).

**Keywords:** *Peganum harmala* L, antimittotic activity, ethyl acetate extract, bioactive molecules, colchicine, quercetin, Laghouat.