

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

RAHMANI Ilham

REKHIS Naima

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Génétique Fondamentale et Appliquée

THÈME

**Etude de l'activité antimitotique de
l'extrait des feuilles de la sauge (*Salvia
officinalis* L.) sur le méristème radicaire
de l'oignon (*Allium cepa* L.)**

Soutenu publiquement le/...../2018

DEVANT LE JURY

Président :	Mr DJIBAOUI Rachid	Professeur	U. Mostaganem
Encadreur :	Mr MEKHALDI Abdelkader	Professeur	U. Mostaganem
Examineur :	Mr CHIBANI Abdelwahab	Professeur	U. Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire de Biochimie & Biologie Végétale

Remerciement :

*Avant tout, nous tenons à remercier «Allah» le tous
puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.*

*Un grand remerciement au d'avoir accepté
d'encadrer cette mémoire, son précieux conseil et son
MIKHALDI abdelkadere, aide durant toute la
période du travail.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres
du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre
recherche en acceptant d'examiner notre travail et de
l'enrichir par leurs propositions.*

*Nous tenons également à remercier toutes les
personnes qui ont participé de près ou de loin à la
réalisation de ce travail.*

*Nos remerciements vont pareillement à toute l'équipe
du Laboratoire de laboratoire de biochimie et biologie
végétale.*

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail aux deux bougies qui ont
éclairé ma vie.*

*À la plus tendre et la plus caressante mère dans le monde,
à maman.*

À celui qui m'a toujours encouragé à mon père

Je dédie ainsi ce travail à :

*Mes chères sœurs : AMEL -Khadidja -HOURIA -
ET KHALIDA.*

Mes chères FRÈRES : FETHI -SADIK

À toute ma famille :rekhise et boukandile

*À tous mes amis (es) de la promotion sciences de la
Nature et de la Vie*

A toutes la population OULED-BOUGALEM

REKHIS NAÏMA



Dédicace Dédicace

Je dédie ce modeste travail aux deux bougies qui ont éclairé ma vie.

*À la plus tendre et la plus caressante mère dans le monde, à
maman.*

À celui qui m'a toujours encouragé à mon père

Je dédie ainsi ce travail à :

Mes chères sœurs : Fatima et Fatíha

Mes chères FRERES : Mohamed

Mes amis (es) : Hamid, Alia, Djamila, Rachida

*À tous mes amis (es) de la promotion sciences de la Nature et de
la Vie*



Rahmani Ilham

Lise de figure

Figure 1 : La touffe de la sauge (<i>Salvia officinalis</i> L.)	03
Figure 2 : Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> dans le monde	04
Figure 3 : Les durées des différentes phases du cycle cellulaire	07
Figure 4 : Les différentes phases de la division cellulaire	10
Figure 5 : La métaphase	11
Figure 6 : L'anaphase	12
Figure 7 : dynamique de la formation des microtubules.....	13
Figure 8 :représentation schématique du fuseau mitotique en métaphase.....	15
Figure 9 : principaux sites de kinases cyclines-dépendantes (CDKs)	16
Figure 10 : contrôle du cycle cellulaire par les kinases cyclines-dépendantes (CDKs).....	16
Figure 11 : La structure générale du chromosome	20
Figure 12 : Structure de la colchicine	20
Figure 13 : principaux sites d'action des antimitotiques.....	21
Figure 14 : Principaux sites d'action des agents alkylants	22
Figure 15 : organisation en couches d'un méristème apical	24
Figure 16 : Feuilles de la sauge (<i>Salvia officinalis</i> L.)	25
Figure 17 : Feuilles sèches de la sauge+ poudre après broyage	26
Figure 18 : Racines d'un bulbe d'oignon dans un récipient (<i>Allium cepa</i>)	26
Figure 19 : Dispositif d'hydrodistillation des huiles essentielles	27
Figure 20 : Dispositif de l'extraction sous reflux	28
Figure 21 : Protocole de préparation d'extrait méthanolique sous reflux	28
Figure 22 : Dispositif de Rota vapeur	28

Figure 23 : Les différentes étapes de fixation des extrémités de racine d'oignon	30
Figure 24 : Schéma d'un protocole expérimental utilisant les apex racinaires d' <i>Allium cepa</i> L. (oignon) comme modèle pour l'évaluation de l'activité antimitotique d'un extrait végétal.	31
Figure 25: le pourcentage de l'eau dans <i>Salvia officinalis</i> L.....	33
Figure 26: Cellules méristématiques racinaires d' <i>Allium cepa</i> en division régulière et normale.....	35
Figure 27: Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par la colchicine à concentration 0.2% comparé au témoin (T)	38
Figure 28: Index mitotique (IM %) des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par la solution aqueuse de colchicine à concentration 0.2% comparé au témoin (T)	38
Figure 29: Types d'anomalies rencontrées chez des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par la colchicine à concentration 0.2%	39
Figure 30: Types d'anomalies rencontrées chez des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par à concentration de l'extrait aqueux de <i>Salvia officinalis</i> 0.12 %	40

Liste de tableaux

Tableaux 01 : principales kinases cyclines – dépendantes (CDKs) et leur rôle dans la régulation du cycle cellulaire (adapté d'après)	15
Tableau 2: Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d' <i>A. cepa</i> L.....	36
Tableau 3: Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d' <i>A. cepa</i> L traitées par la solution aqueuse de colchicine à 0.2% comparé au témoin (T)	37
Tableau 4: Index mitotique (IM%) et valeur limite de cytotoxicité (VLC %) des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par la colchicine comparés au témoin (T).....	38

Liste des Abréviations

2n : Nombre de chromosome diploïde

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ARN : Acide Ribonucléique.

ARNm : Acide Ribonucléique messenger.

ARNr : Acide Ribonucléique Ribosomique ;

ARNt : Acide Ribonucléique transfert

D : Désoxyribose.

G : Guanine.

G1, G2 : "GAP" = intervalle.

HE : Huile Essentielle.

CDKs : Kinases Cyclines Dépendantes.

M : Mitose.

Pb : Paires de Base.

S : Synthés.

SNC : Système Nerveux Central.

Kb : kilo base.

GTP : Guanosine triphosphate.

R : Rendement .

PHE : Poids d'huile essentielle.

PP : Poids de plante.

h : heure.

Ag NO₃ : Nitrate d'Argent.

Kg : kilo gramme.

mm : millimètre.

IM : Index Mitotique.

IP : Index phasique.

IA : Index Aberration.

VLC : valeur limite de cytotoxic

UNEP : Programme de l'Environnement des Nations Unies.

IPCS : Programme International de la Sécurité Chimique.

Table de matière

Remerciement	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
المخلص	
Abstract	
Sommaire	
Introduction	1

Partie théorique

Chapitre I : Description botanique

I. Rappel botanique.....	03
1. La sauge (<i>Salvia officinalis</i>).....	03
1.1 Description morphologique	03
1.2 Classification taxonomique.....	04
1.3 Habitat.....	04
1.4 Principaux usages traditionnelle de la sauge.....	05
1.4.1 Usages pharmaceutiques.....	05
1.4.2 Usages cosmétologiques.....	05
1.4.3 Usages alimentaires.....	05
1.5 La toxicologie.....	05

Chapitre II: rappel sur le cycle cellulaire

I. Le cycle cellulaire.....	07
1. Différentes phases du cycle cellulaire.....	08
1.1 L'interphase.....	08
1.2 Phase G1.....	08
1.3 Phase S.....	09
1.4 Phase G2.....	09
1.5 La phase M.....	10
1.5.1 Caryocinèse.....	10
1.5.1.1 Prophase.....	10
1.5.1.2 La prométaphase.....	11
1.5.1.3 La métaphase.....	11
1.5.1.4 L'anaphase.....	11
1.5.1.5 La télophase.....	12
1.5.2 La cytotédiérese.....	12
II. Les microtubules.....	13
- Les microtubules de l'aster.....	14
- Les microtubules polaires.....	14
- Les microtubules kinétochoriens.....	14
III. Régulation du cycle cellulaire.....	15
1. Les CDKs.....	16
2. Les cyclines.....	16
IV. Les chromosomes.....	17
1. Les caractéristiques majeures des chromosomes.....	17
1.1 Le nombre.....	17
1.2 La structure.....	17
- Les centromères.....	18
- Les origines de réplication.....	18

- Les télomères.....	19
2. Du chromosome au nucléosome.....	19
-Le nucléosome.....	19
V. Colchicine.....	20
VI. Les antimitotiques.....	21
1. Classification et mécanisme d'action.....	22
2. Action sur l'ADN.....	22
2.1 Agents alkylants.....	22
2.2 Agents scindants.....	22
3. Action sur les microtubules : Poisons du fuseau mitotique.....	23
VII. Méristèmes des végétaux.....	23
1. Méristèmes primaires ou apicaux.....	24
2. Structure du méristème.....	24

Partie pratique

I. Matériel	25
1. Matériel végétal.....	25
1.1 Préparation des échantillons pour l'extraction.....	25
II. Méthodes.....	26
1. Extraction des huiles essentielles.....	26
1.1 Détermination de rendement.....	28
2. Extraction sous reflux.....	28
3. Étude de l'activité antimitotique.....	29
- Prélèvement.....	29
4. Analyse cytogénétique.....	29
- Fixation.....	30
- Préparation des lames.....	30
5. Analyse des données antimitotiques.....	32

5.1 Index mitotique (IM)	32
5.2 Index des phases (IP)	32
5.3 Index des aberrations (IA)	32
5.4 Valeur limite de cytotoxicité.....	32
1. Détermination de la teneur en l'eau.....	33
2. Rendement des huiles essentielles (HE).....	33
2.1 Activités antimitotique.....	33
2.1.1 Action de témoins.....	34
- Index des phases et index mitotique.....	35
2.1.2 Action de colchicine	37
- Index des phases et index mitotique.....	37
3. Colchicine à 0.2%	39
3.1 Les Anomalies de la division cellulaire.....	39
3.2 Action de l'extrait aqueux de <i>Salvia officinalis</i>	39
Conclusion	42

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Actuellement, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire.

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives (**Ferrari**, 2002).

L'Algérie, compte parmi les pays du bassin méditerranéen les plus riches en ressources phytogénétiques à intérêt aromatique et médicinal, vu la diversité de ses étages bioclimatiques. On dénombre à plus de 300 espèces à usage thérapeutique ou aromatique existant parmi les 3150 espèces végétales que compte notre pays (**Mokkadem**, 1999).

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Où les plantes et les extraits de plantes sont utilisés, étant donné leurs propriétés biologiques, elles sont les sources primaires de médicaments employés pour le traitement de différentes pathologies. La sauge (*Salvia officinalis* L.) occupe un endroit proéminent, est une plante annuelle et biannuelle d'origine méditerranéenne de la famille des labiées. Il existe environ 900 espèces identifiées autour du monde (**Maksinovic et al.**, 2007).

Vu les propriétés importantes de cette plante; elle est considérée comme un stimulant pour les gens anémiques, aussi pour les personnes stressées et déprimées. Pour usage externe, elle est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche, les abcès, et aussi pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies (**Djerroumi et Nacef**, 2004).

Afin de contribuer à la valorisation des plantes médicinales locales réputées pour leurs vertus thérapeutiques, le présent travail s'intéresse à l'étude de l'activité antimitotique des feuilles de *Salvia officinalis* ; extraire ces métabolites ; tester in vitro, l'effet antimitotique des extraits méthaniques en comparaison avec un témoin positif (la colchicine).

Dans la première partie, nous aborderons dans un premier chapitre, les différentes connaissances bibliographiques sur l'espèce étudiée (*Salvia officinalis* L.), son utilisation en médecine traditionnelle accompagnée de quelques travaux antérieurs réalisés sur le plan phytochimique.

Dans la partie expérimentale, nous développerons dans le premier chapitre le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction, le second concerne un rappel sur le cycle cellulaire, sa régulation et les principales classes d'agents antimitotiques, leurs modes d'action. Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude. A la lumière des résultats obtenus, différentes perspectives de recherche seront évoquées.

I. Rappel botanique :

1. La sauge (*Salvia officinalis*) :

En 1551, un herboriste anglais observait que la sauge « restaure la chaleur naturelles améliore la mémoire et stimule les sens ».La sauge demeure l'une des plantes médicinales les plus renommées, aux multiples vertus, dont celle de stimuler l'ensemble de l'organisme (Chevallier, 2007).

Salvia est une plante annuelle et biennale d'origine méditerranéenne de la famille des labiées (Labiacées) (Djerroumi et Nacef, 2013). Il existe environ 900 espèces identifiées dans le monde. En Algérie les espèces qui ont été déterminées sont dans l'ordre d'une trentaine (Maksimovic *et al.*, 2007).

1.1 Description morphologique :

Cette plante vivace à tige ligneuse à la base, formant un buisson dépassant parfois 80cm, rameaux vert-blanchâtre, feuilles assez grandes, épaisses, vert-blanchâtres, et opposées ; fleurs bleu-violacé clair en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés. Calice campanulé à 5 dents longues et corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée; fruits en forme de tétra akènes (Fig. 1) (Madi, 2010).



Figure 1 : la sauge (*Salvia officinalis* L.)

1.2 Classification taxonomique :

La sauge suit la classification suivante (Madi, 2010).

Règne : Plantae
Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Ordre : Lamiales
Famille : Lamiaceae
Genre : *Salvia*
Espèce : *Salvia officinalis* L.

1.3 Habitat :

- La sauge officinale est originaire du pourtour du bassin méditerranéen.
- Elle pousse dans les zones tempérées ; son habitat type se situe dans les pelouses basophiles méso-méditerranéennes, méso-xérophiles.
- Aire de répartition : introduite d'Asie occidentale (Alloun, 2013).

Les espèces *Salvia* représentent un groupe d'espèces cosmopolites, qui montrent une gamme remarquable de variation (Pistelli, 2006). Ce genre est distribué dans trois régions principales dans le monde: 530 espèces à l'Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (fig. 2) (Walker *et al.*, 2004).

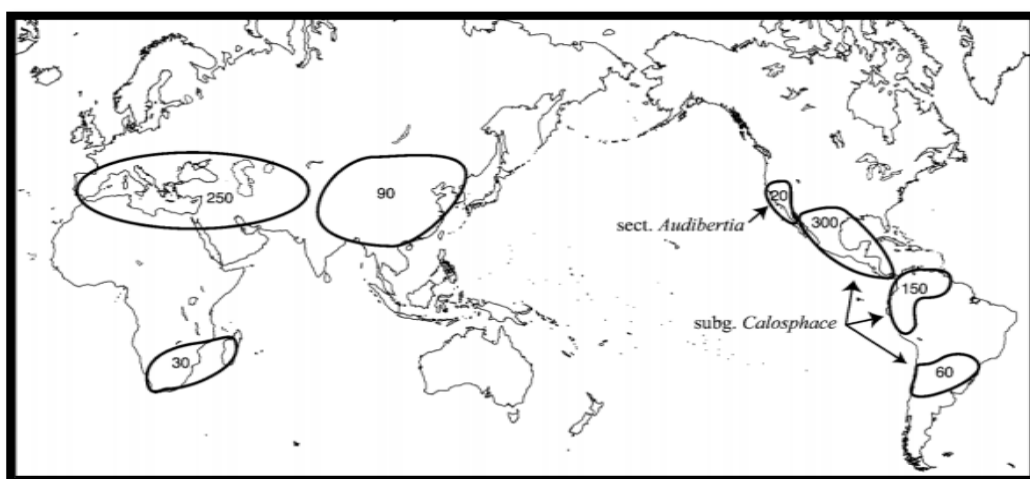


Figure 2 : Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde (Walker *et al.*, 2004).

1.4 Principaux usages traditionnelle de la sauge :

1.4.1 Usages pharmaceutiques :

Les sauges ont été employées comme des plantes à propriétés médicinales salutaires pendant des milléniums (**Radulescu et al.**, 2004).

La sauge était un composant fréquent des mélanges de tisanes, recommandés pour les patients tuberculeux (**Duling et al.**, 2007).

L'huile essentielle de la sauge est encore utilisée en condiments d'assaisonnement, viandes traitées et liqueurs. Outre ces utilisations, les feuilles de la sauge (*S. officinalis*), montrent une gamme des activités biologiques; antibactérienne, antifongique, antivirale et astringente (**Djerroumi et Nacef**, 2013).

1.4.2 Usages cosmétologiques :

Les espèces *Salvia* ont un grand intérêt en cosmétologie, dont les extraits de *S. officinalis* et *S. lavandula efolia* sont largement introduits dans les produits de beauté et les parfums. La sauge est peut être utilisée comme compresse ou infusion ou même dans les préparations des masques de visage et leurs crèmes sont souvent appliquées sur des blessures froides près de bouches (**Radulescu et al.**, 2004).

1.4.3 Usages alimentaires :

Au Mexique et en Amérique latine, les graines de quelques espèces de sauge sont intensivement employées par les Américains indigènes comme source de nourriture et aussi pour préparer ses boissons. La découverte des antioxydants a augmenté l'usage des extraits de sauge officinale connue par son activité antioxydant élevée. La Sauge officinale est riche en huiles essentielles que l'on extrait par distillation, vu ses propriétés importantes, elle est l'une des plantes les plus utilisées (**Radulescu et al.**, 2004).

1.5 La toxicologie :

Généralement, il n'y a pas de rapports sur les effets secondaires négatifs associés à *Salvia officinalis* L. Malgré leur utilisation pendant de nombreux siècles. L'utilisation normale de la sauge est très sûre ; cependant, il pourrait y avoir un effet négatif sur l'utilisation de *S.officinalis* en quantité excessive, ce qui peut être causé par le contenu élevé de la thuyone (**Hamidpour et Shahlari**, 2014).

L'huile essentielle (HE) de *Salvia officinalis* peut contenir jusqu'à 50% de thuyone qui peut se révéler épiléptisante et neurotoxique. Néanmoins, aucune toxicité aiguë ou chronique n'a été signalée après emploi aux doses usuelles des feuilles de sauge et de son huile essentielle (jusqu'à 15 gouttes par jour).

Cependant, la thuyone provoque non seulement un effet local irritant, mais également des effets centraux psycho mimétiques, après sa résorption. Une consommation chronique de thuyone peut ainsi conduire à des troubles irréversibles du système nerveux central, à des perturbations des fonctions hépatiques, rénal et cardiaques.

Dans la mesure où la quantité de drogue employée à des fins culinaires reste faible, pour les consommateurs. Une toxicité aiguë après administration d'une forte dose d'HE (2 g et plus).

Ainsi, la consommation régulière de sauge, même sous forme de tisane ne paraît pas recommandée (**Teuscher** *et al.*, 2005).

I. Le cycle cellulaire:

Le cycle cellulaire est l'ensemble des étapes qui constituent et délimitent la vie d'une cellule (Vincent, 2007). Avant la division cellulaire, une cellule doit dupliquer son contenu, notamment son ADN, ces phénomènes se produisent au cours de l'interphase. L'alternance de la mitose et de l'interphase est qualifiée de cycle cellulaire (Jorde *et al.*, 2004).

Chez les eucaryotes, la pluparts de ces divisions vont maintenir le même nombre de chromosomes dans les cellules filles que dans la cellule mère. Ce type de division est appelé division cellulaire mitotique. Le cycle cellulaire mitotique se divise en quatre phases : G1, S, G2 et M (Fig. 3)

Les différentes étapes du cycle cellulaire sont régulées par des interactions complexes entre des signaux positifs et négatifs. Les régulateurs clés de la division cellulaire sont des kinases cycline-dépendants (Swynghdau, 2008).

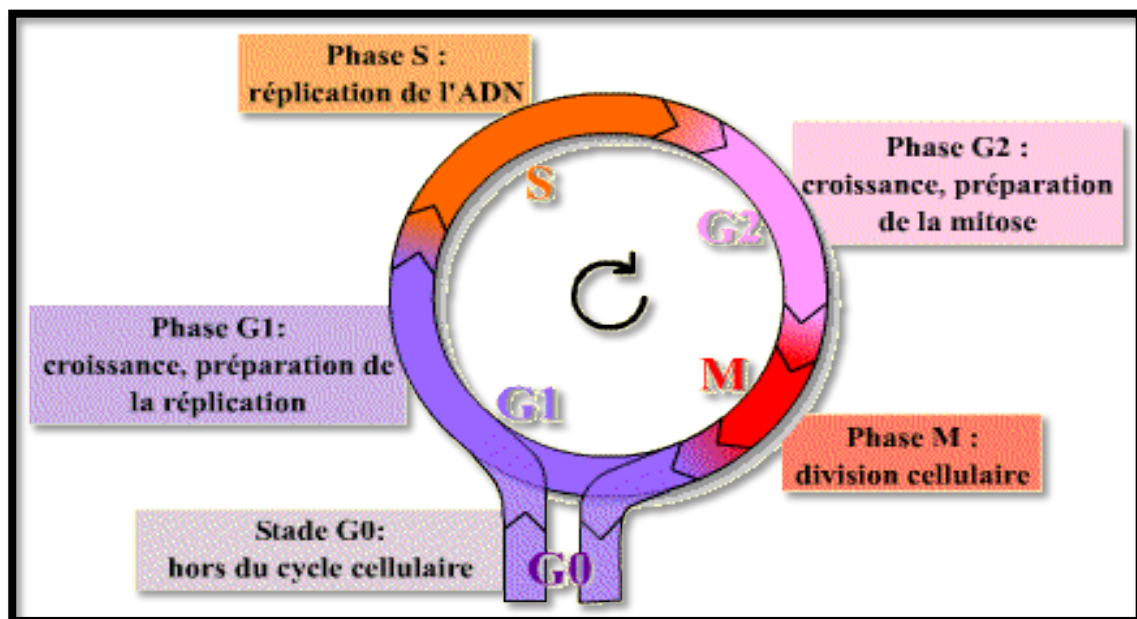


Figure 3 : Les durées des différentes phases du cycle cellulaire (Swynghdau, 2008).

1. Différentes phases du cycle cellulaire :

1.1 L'interphase :

L'interphase est la période comprise entre la fin d'une division et le début de la division suivante : elle correspond, en général, à la plus grande partie du cycle (**Maillet**, 2006). L'interphase se décompose en 3 phases : G1, S, G2.

1.2 Phase G1 :

G : vient d'un mot anglais "GAP" (intervalle) correspond à l'intervalle qui sépare la fin de mitose et de début de la synthèse de l'ADN. Au cours de cette étape, la cellule synthétise des molécules des d'ARN (**Maillet**, 2006).

Phase de croissance et de reconstitution des réserves pendant laquelle la cellule synthétise de l'ARN (transcription) et des protéines (traduction) (**Swynghdau**, 2008).

La phase G1 n'existe pas lors des premières divisions qui suivent la fécondation .Elle apparait relativement tôt au cours du développement embryonnaire.

D'une manière générale, la phase G1 est la phase dont la durée est la plus variable : elle dépend de la nature de cellule (en général de 1heure chez l'embryon à 6 mois, approximativement 1 an dans le foie chez les mammifères) .sa durée diminue sensiblement pour les cellules cancéreuses (**Maillet**, 2006).

La cellule en phase G1 contient la quantité d'ADN caractéristique de l'espèce, correspondant dans les cellules somatiques à $2n$ chromosomes (par exemple 23×2 , soit 46 dans l'espèce) ; cette quantité reste constante pendant tous la phase G1 (**Ghorbal**, 2011).

Les mécanismes, qui contrôlent la croissance et la différenciation chez les êtres multicellulaires, sont liés à la machinerie de la phase G1 (**Somouelian et al.**, 2009).

La phase G1 joue un rôle essentiel dans la régulation du cycle cellulaire : La cellule contrôle son environnement et sa propre taille qui double avant la phase S. Le passage de la phase G1 à la phase S est décisif, car il engage, de façon irréversible, la cellule dans le processus qui conduit à la division (normale ou pathologique) (**Maillet**, 2006).

Avant lui, le facteur de croissance est nécessaire pour que la cellule progresse dans le cycle ; après lui les cellules prolifèrent indépendamment des incitations mitogéniques (**Swynghdau**, 2008).

La phase G1 est une phase de synthèse, au cours de laquelle la réplication de l'ADN ne produit pas. Les cellules viennent de se diviser : leur volume cytoplasmique est faible (**Maillet**, 2006).

La cellule synthétise donc des molécules d'ARN (ARNm, ARNr, ARNt) et assure la production des protéines nécessaires à l'accroissement de la cellule. Durant cette phase, chaque chromosome est formé d'une molécule d'ADN associée aux histones (**Albarts et al.**, 2004).

Les réparations de l'ADN se déroulent au cours de cette phase : il convient de noter que l'ADN est également réparé au cours des phases G2 et au cours de la prophase (les corrections sur épreuves ont lieu pendant la phase S) (**Maillet**, 2006).

1.3 Phase S :

Pendant les quatre heures que dure cette phase, l'ADN va être entièrement répliqué, grâce à l'ADN polymérase. On y voit la transcription de beaucoup d'ARNm codant pour les protéines d'histones qui seront utilisées pour compacter la molécule d'ADN (**Ghorbal**, 2011).

Au début de la phase le chromosome est fait d'une chromatide et en fin de phase le chromosome sera composé de deux chromatides (**Somouelian et al.**, 2009).

Ces deux chromatides sont assemblées au centromère. Dans le cytoplasme de la cellule animale, le complexe centriolaire (le centrosome) se réplique durant la phase S. Chaque centriole père donne naissance à un centriole fils, chaque centriole père et fils s'assemblent et les centrioles fils s'entourent de microtubules rayonnants et deviennent des centrioles pères à leur tour. Cette répllication des centrioles est dite semi-conservative. Les deux centrosomes formés vont s'écarter pour former les deux pôles (**Ghorbal**, 2011).

1.4 Phase G2 :

Qui précède la mitose, la cellule poursuit une activité transcriptionnelle pour la synthèse des substrats nécessaires à la mitose (**Vincent**, 2007). Une fois la réplication de l'ADN terminée, la phase G2 commence. Ici, la croissance de la cellule est terminée, mais elle continuera à remplir ses fonctions. Pendant cette phase, les centrosomes se répliquent, ils permettront le bon déroulement de la mitose. Cette phase se termine en passant le point de contrôle G2, où la mitose commence. La phase G2 est une phase courte de 4 à 5 heures qui débute dès que la réplication de l'ADN est achevée (**Jorde et al.**, 2004).

1.5 La phase M (mitose):

Le processus de division cellulaire comprend, une division nucléaire (caryocinèse) ; une division cytoplasmique (cytodiérèse) (**Karp**, 1998).

1.5.1 Caryocinèse :

Caryocinèse comprend cinq phases : la prophase, la prométaphase, la métaphase, l'anaphase et la télophase. Elle est produite grâce au fuseau mitotique constitué de microtubules (**Fig. 4**) (**Alberts et al**, 2004).

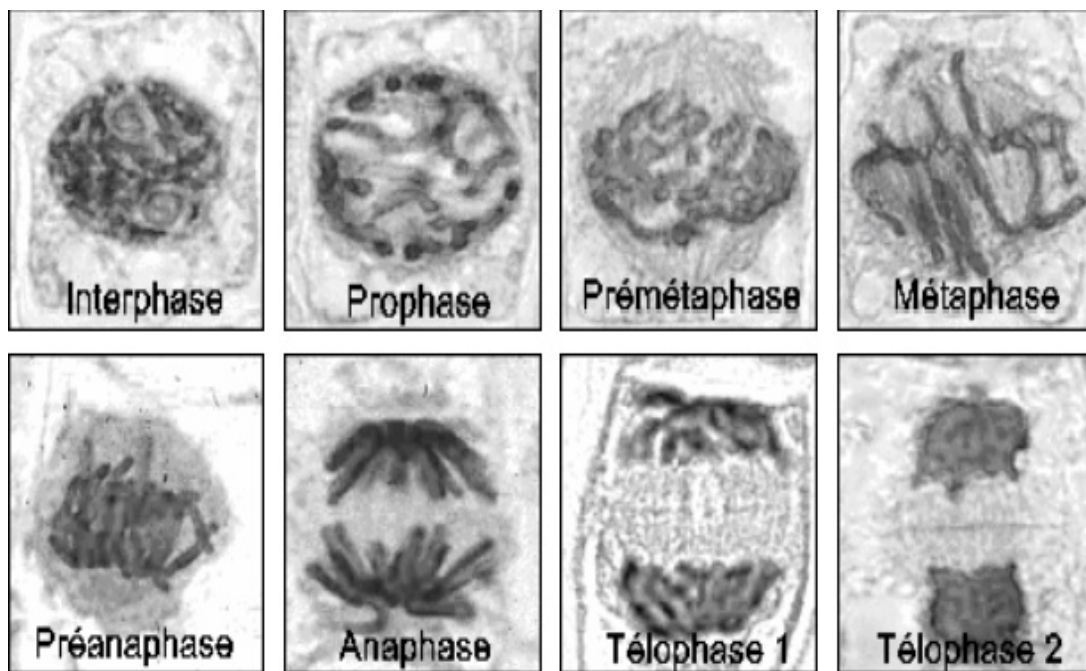


Figure 4: Les différentes phases de la division cellulaire (**Somouelian et al.**, 2009).

1.5.1.1 Prophase :

La prophase est la première phase de la mitose : elle est caractérisée par une condensation des chromosomes dans le noyau dont l'enveloppe existe en cours. Les chromosomes sont constitués par l'association de deux chromatides (**Swynghdau**, 2008).

Les microtubules s'organisant en fuseau tendu entre les deux centrosomes qui migrent vers chacun des pôles nucléaire. La prophase prépare la réplication des chromosomes (durées 15 à 30 min) (**Maillet**, 2008).

1.5.1.2 La prométaphase :

Est observée la rupture de l'enveloppe nucléaire, ainsi que la pénétration des microtubules kinétochoriens et polaires dans la « zone nucléaire » (il est plus simple de ne pas considérer cette phase) (Swynghdau, 2008).

1.5.1.3 La métaphase :

Regroupement des centromères dans le plan équatorial du fuseau de division (l'ensemble des chromosomes clivés, ainsi rangés, forme une figure appelée plaque équatoriale) (Fig.5) (Maillet, 2008)

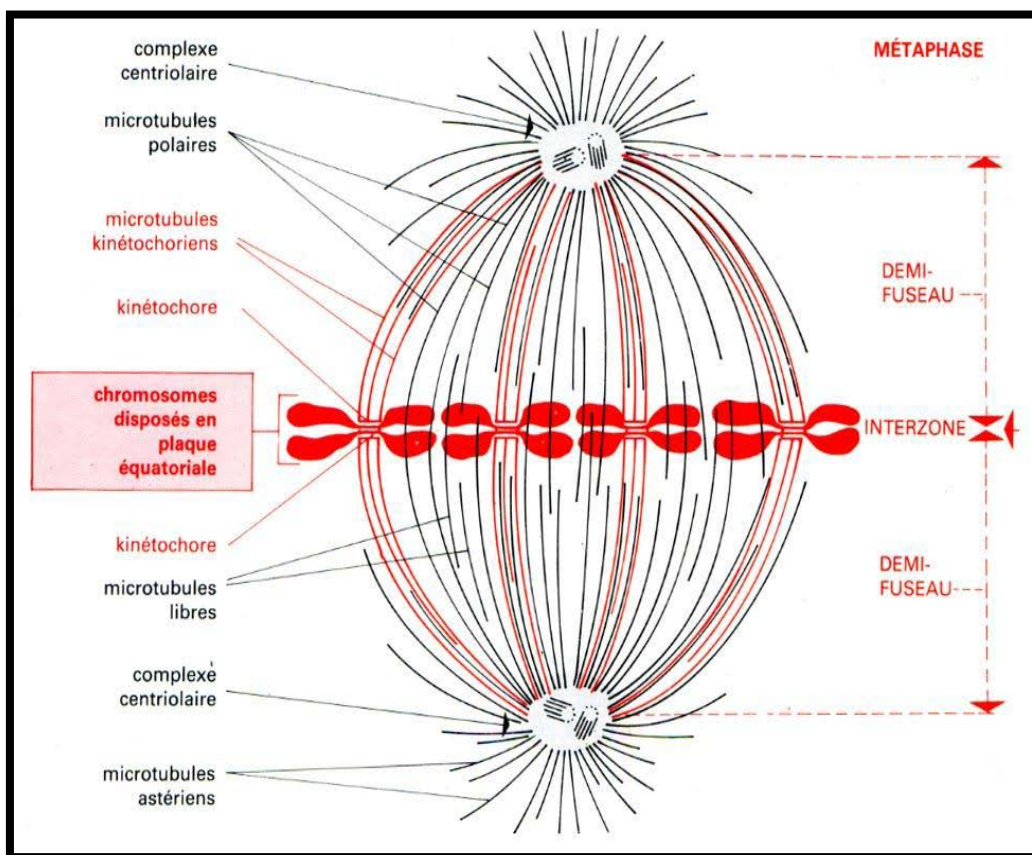


Figure 5 : La métaphase (Swynghdau, 2008).

1.5.1.4 L'anaphase :

Correspond au partage des chromosomes en deux lots identique, elle est caractérisée par :

- L'allongement des microtubules polaires.
- Le raccourcissement des microtubules kinétochoriens.

- La migration des chromosomes vers les pôles mitotiques (**Fig.6**) (**Ghorbal, 2011**).

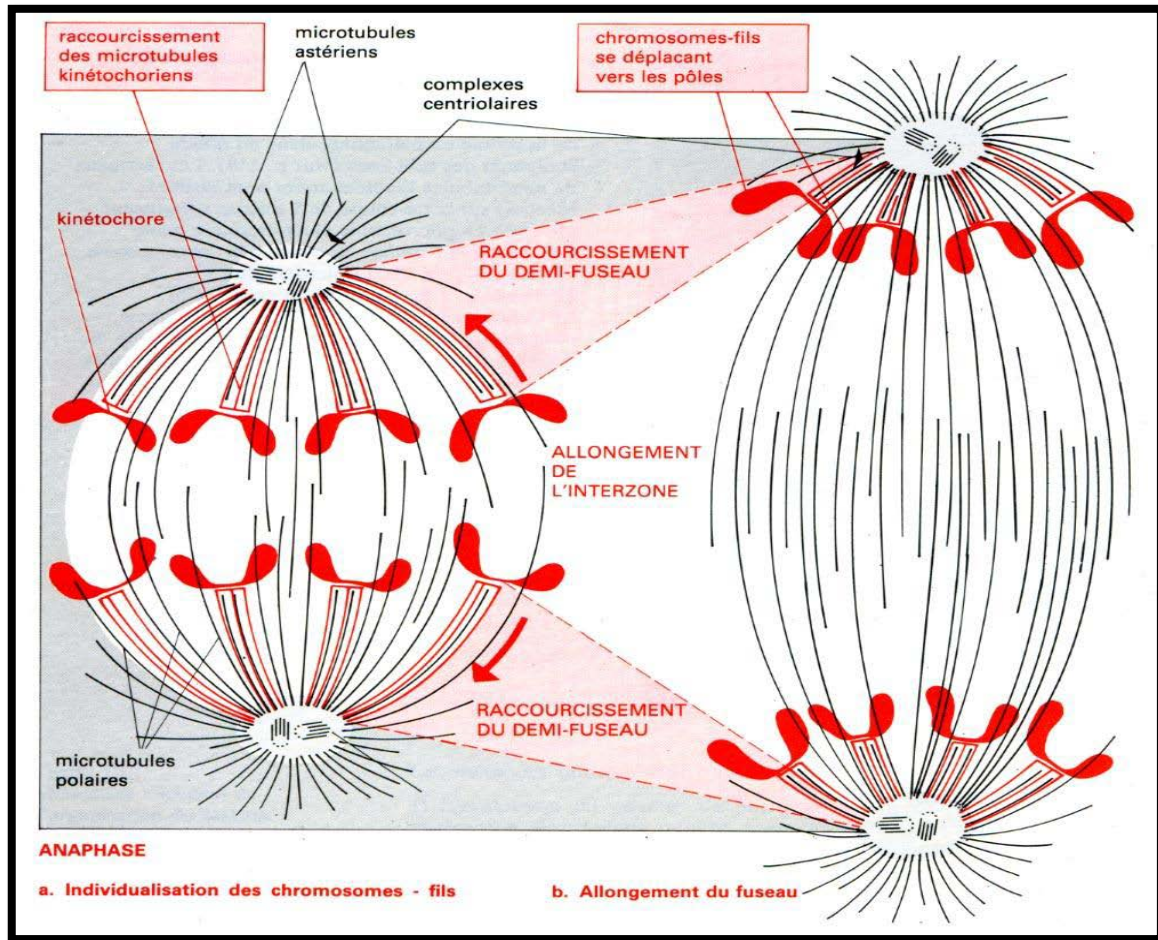


Figure 6 : L'anaphase (**Swynghdau, 2008**).

1.5.1.5 La télophase :

Est une période caractérisée par :

-L'arrêt migration des chromosomes vers les poèles.

- La disparition du fuseau.

-Lors de télophase : les chromosomes sont condensent et les deux noyaux –fils (chacun avec $2n$) du noyau initial vont se former. La cytokine finale va donne deux cellules filles (**Swynghedau, 2008**).

1.5.2 La cytotédiérese :

La cytotédiérese commence après la télophase ou un peu avant sa fin. Chez la cellule végétons, la cytotédiérese est très différent de par la présence d'une paroi rigide (divisée en une

paroi primaire, cellulosique et paroi primitive, l'ensemble forment une paroi pecto-cellulosique) (Mabuchi, 1986).

Elle se réalise par la construction d'une nouvelle paroi, phragmoplaste appelle plus simplement corps intermédiaire entre les deux cellules filles (des vésicules golgiennes s'accumulent au centre de cellule (Somouelian *et al.*, 2009).

II. Les microtubules :

Les microtubules sont des polymères dynamiques capables de former des réseaux tridimensionnels hautement structurés. Est un cylindre creux de 25 nm de diamètre dont la paroi est constituée de 13 protofilament, chacune d'eux est une succession d' hétérodimères Alpha /Bêta tubuline Ce cylindre comporte deux extrémités deux extrémités (Amos et Baker, 1979).

-« Extrémité plus (+) » ou la vitesse d'addition des monomère de tubuline est plus élevée.

-« Extrémité moins (-) » ou la vitesse de dissociation monomères de tubuline est plus élevée (Fig.7) (Starachan et Read, 2012).

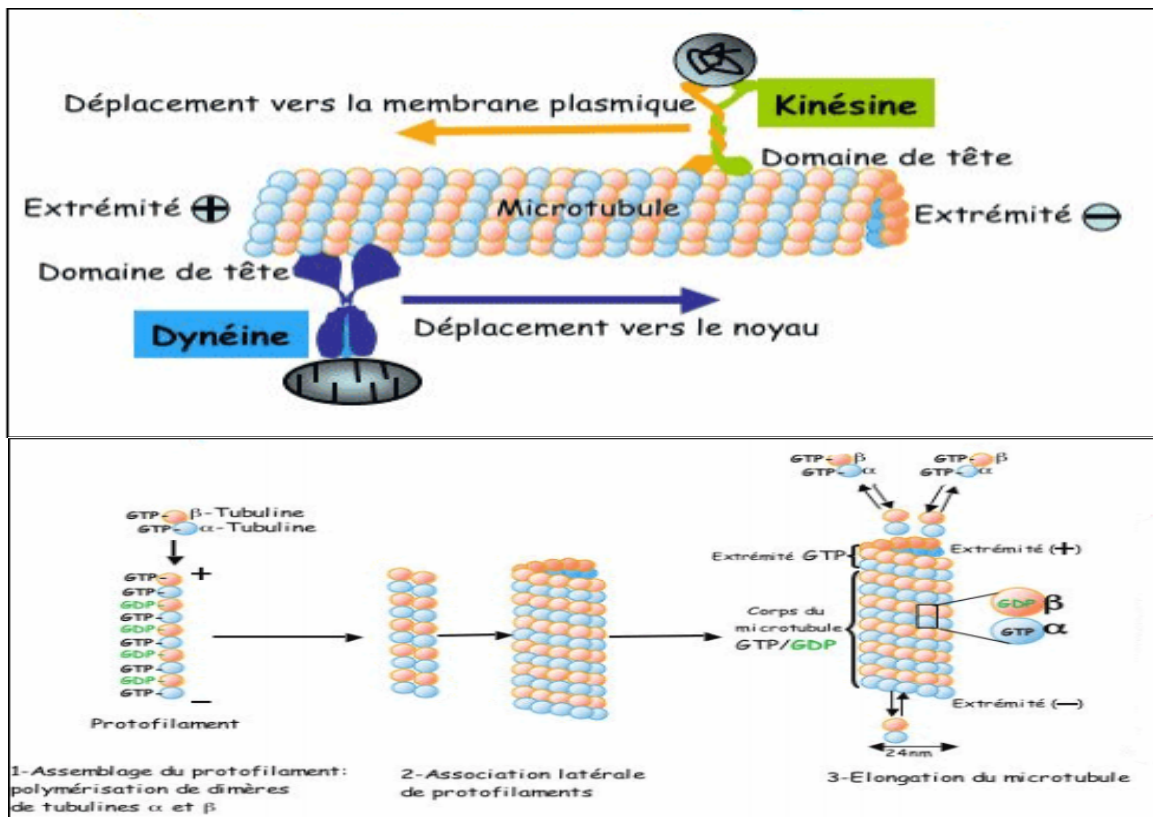


Figure 7 : a) dynamique de la formation des microtubules, b) les protéines motrices des microtubules (Starachan et Read, 2012).

Le microtubule est par nature instable. Ainsi, en présence de protéine kinase, sa taille s'accroît (polymérisation GTP dépendant); en présence de phosphate, elle décroît (dépolymérisation par phosphorylation). Le passage de polymérisation à dépolymérisation les ou les inverses correspond à ce qu'on appelle « instabilité dynamique ».

Cette instabilité est essentielle a (**Verdier et al.**, 2001) :

- L'attachement des chromosomes au fuseau mitotique ;
- Leurs alignements en métaphase (**Fig.8**).
- La séparation des chromatines durant la mitose.

Les microtubules interviennent dans nombreux processus cellulaire (**Albert et al.**, 2004)

- Mouvements (cils et flagelles) ;
- Transport intracellulaire d'organelles ;
- Organisation du fuseau mitotique (centrosomes du fuseau et du kinétochore)

- **Les microtubules de l'aster :**

Interviennent dans la mise en place du fuseau : ils rayonnent à partir de chaque centrosome et détermine le plan de la cytodivision (**Swynghedau**, 2008).

- **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 (**Verdier et al.**, 2001).

- **Les microtubules kinétochoriens :**

caractérisés par la présence des kinétochores (complexes multiprotéiques assurant la polymérisation et la dépolymérisation des microtubules), qui attachent les chromosomes aux microtubules, les dirigent vers le plan équatorial de la cellule (**Alberts et al.**, 2004).

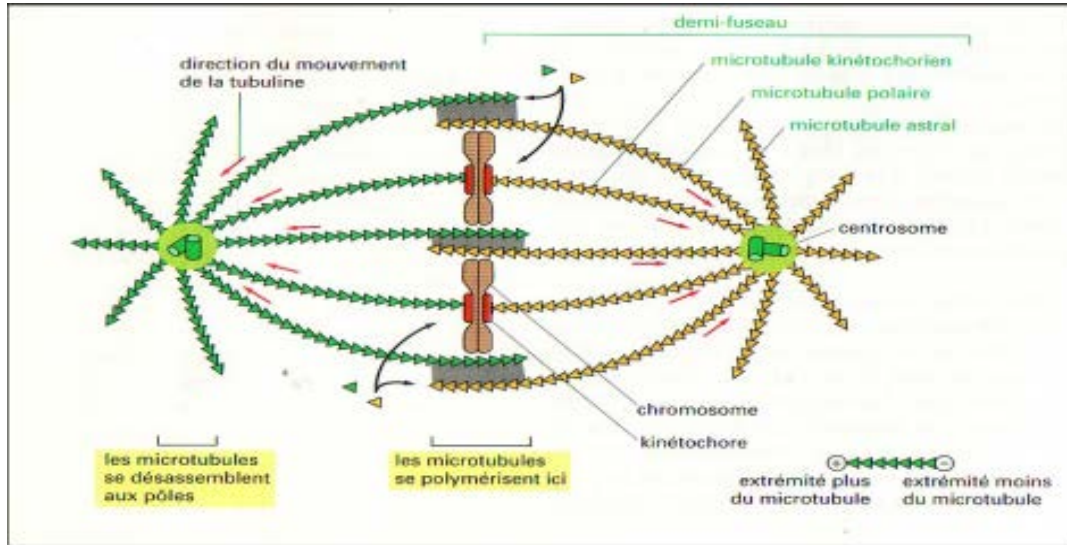


Figure 8 : Représentation schématique du fuseau mitotique en métaphase
(Alberts *et al.*, 2004).

III. Régulation du cycle cellulaire :

Le contrôle du cycle cellulaire se concentre principalement sur deux points :

- la transition entre la phase G1 et la phase S.
- la transition entre la phase G2 et l'entrée en mitose (**karp**, 1998).

Le passage par ces points exige l'activation temporaire des kinases cyclines dépendantes (CDKs). Ces dernières sont actives uniquement sous forme d'un complexe entre une sous-unité catalytique (protéine kinase) responsable de l'activité enzymatique et une sous-unité régulatrice (cycline) capable de contrôler cette activité (**Tab. 1**) (**Meijer**, 2003).

Tableau 1 : principales kinases cyclines – dépendantes (CDKs) et leur rôle dans la régulation du cycle cellulaire (adapté d'après) (**Meijer**, 2003).

Protéines kinases CDK	Cycline	Rôle
CDK4 et CDK6	Cycline D	la régulation le déroulement de la phase G1.
CDK2	Cycline E	Assurer la transition G1/S
CDK2	Cycline A	Assure le contrôle de la phase S
CDK1	Cycline A	Intervient en G2
CDK1	Cycline B	la régule la transition G2/M et l'entrée en mitose.

1. Les CDKs :

Sont des sérine- thréonine kinases, enzymes qui catalysent la phosphorylation de protéines cibles (=substrats) jouant un rôle dans les événements du cycle cellulaire (Fragmentation de l'enveloppe nucléaire, compaction des chromosomes, réplication de l'ADN...), ou dans l'avancement du cycle (**Fig. 9**).

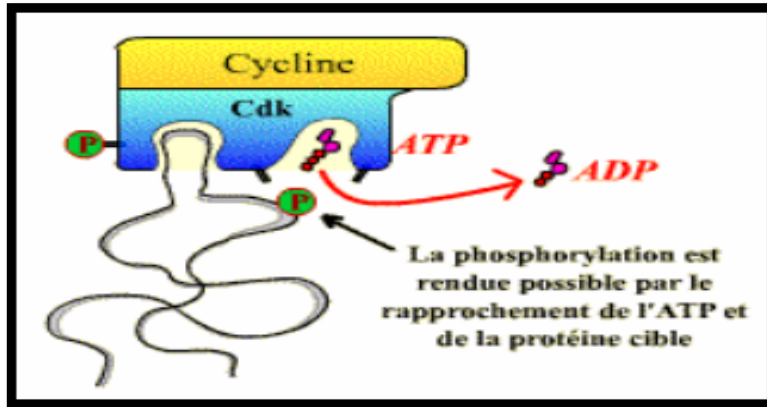


Figure 9: Principaux sites de kinases cyclines-dépendantes (CDKs).

2. Les cyclines :

Sont des protéines présentes à des taux variables dans le cytoplasme des cellules selon les étapes du cycle cellulaire (d'où leur nom). Elles constituent la partie régulatrice du couple cycline-CDK. Elles sont synthétisées à des moments différents du cycle cellulaire, se lient à des kinases spécifiques et permettent ainsi la progression du cycle cellulaire (**Fig.10**) (**Griffiths, et al., 2001**). Les plantes possèdent trois groupes de cyclines de types A et deux groupes de cyclines de type B (**Renaudin et al., 1998**).

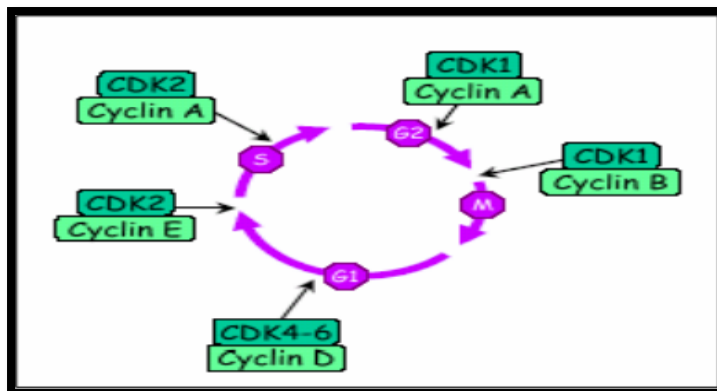


Figure 10 : Contrôle du cycle cellulaire par les kinases cyclines-dépendantes (CDKs)

(**Meijer, 2003**).

IV. Les chromosomes :

Le chromosome des cellules eucaryotes est le support morphologique de l'information génétique. Il est formé par une fibre nucléosomique non circulaire (elle possède donc des extrémités) dont le compactage varie au cours du cycle cellulaire (**Maillet**, 2006).

Elle est une structure chromatiniennne visible dans un noyau interphasique après une coloration au DAPI (**Somouelian et al.**, 2009).

1. Les caractéristiques majeures des chromosomes :

Chez la plupart des végétaux, chaque cellule somatique, c'est-à-dire une cellule non germinale, contient un lot de chromosomes paternels et un lot chromosomes maternels qui sont homologues : les cellules sont dites diploïdes, caractérisée par des paires de chromosomes homologues (**Swynghedau**, 2008).

A contrario, les cellules germinales (gamètes ou cellules sexuelles) sont dites haploïdes, car elles ne contiennent qu'un seul lot de chromosomes (n) (**Vincent**, 2007).

1.1 Le nombre :

Le nombre de chromosomes au sein d'une cellule eucaryote somatique est identique pour tous les individus d'une même espèce : par exemple, chez l'homme, le nombre de chromosomes est 23 paires : 22 autosomes et 2 chromosomes sexuels (gonosomes), le chromosome X et le chromosome Y (**Maillet**, 2006).

Chez la drosophile ($2n = 8$). Il n'existe aucune corrélation entre le nombre cellulaire de chromosome et de la position de l'espèce dans la classification phylogénétique (**Vincent**, 2007).

Le caryotype (type nucléaire) permet de distinguer et de regrouper les paires de chromosomes homologues en microscope, établissant ainsi la carte chromosomique propre à chaque espèce. Le caryotype est défini par le nombre de chromosome et pas d'autres caractéristiques visible (**Griffiths et al.**, 2001).

1.2 La structure :

Les chromosomes porteurs de l'information génétique sont facilement observables lors de la mitose, du fait de leur grande compaction lors cette phase du cycle cellulaire (**Somouelian et al.**, 2009).

La structure des chromosomes, telle est généralement illustrée dans les manuels, représente l'état dans lequel ils se trouvent au cours de la métaphase, quand les cellules se préparent à subir les dernières étapes de division cellulaire (**Vincent**, 2007).

Les chromosomes ont structure très différente pendant la plus grande partie du cycle cellulaire (**Strachan** et **Read**, 2012).

Les chromosomes sont des structures visibles à certains moments du cycle cellulaire. Pendant l'interphase, la plupart des régions chromosomiques sont plutôt très étirées ; ce qui permet aux gènes de s'exprimer (**Swynghedau**, 2008).

Pour qu'un chromosome soit copié et transmis fidèlement aux cellules filles, trois types d'éléments structuraux seulement sont nécessaires :

- **Les centromères :**

Sont nécessaires pour la ségrégation correcte des chromosomes après la réplication de l'ADN. La réplication génère deux copies du chromosome qui sont appelées les chromatides sœurs.

Ces deux copies vont se séparer l'une de l'autre au cours de la division cellulaire pour intégrer une cellule fille. Le centromère d'où partent quatre bases deux long, q, deux courts, p. Comme pour les origines de réplication, les centromères vont guider la formation d'un complexe protéique très élaboré appelé le kinétochore (**Albarts et al.**, 2004).

Ce dernier interagit non seulement avec l'ADN du centromère mais aussi avec des filaments de protéines nommés microtubules, qui vont mécaniquement permettre la séparation des deux copies et leur répartition dans les cellules filles (**Swynghedau**, 2008).

Elle qui apparaît le mieux à la métaphase, là où il se représente comme la partie la plus étroite du chromosome et la région où s'attachent les fibres fuseau (**Strachan** et **Read**, 2012).

- **Les origines de réplication :**

Séquences particulières d'ADN le long de chacun des chromosomes à partir desquelles la réplication de l'ADN peut être initiée (**Strachan** et **Read**, 2012). Elle se retrouve généralement tous les 30 à 40 kb le long de chaque chromosome eucaryote. Les chromosomes procaryotes ont également besoin d'une origine de réplication, mais ils n'ont généralement qu'un seul site d'initiation. La plupart du temps, les origines de réplication sont retrouvées dans les régions non-codantes (**Swynghedau**, 2008).

- **Les télomères :**

Sont situés aux deux extrémités d'un chromosome linéaire, possédant une structure particulière qui empêche la dégradation par les nucléases de l'ADN interne (**Swynghedauw**, 2008). Comme pour les centromères et les origines de réplication, les télomères sont des sites de recrutement pour un grand nombre de protéine. Mais dans ce cas, les complexes protéiques vont assurer deux fonctions importantes (**Swynghedau**, 2008). Premièrement, les protéines vont reconnaître l'extrémité naturelle du chromosome et la distinguer des sites potentiels de cassure de l'ADN (**Albarts et al.**, 2004).

Classiquement, les extrémités libres d'ADN forment les sites de recombinaison et la dégradation de l'ADN. Mais les protéines qui se fixent aux télomères forment une structure qui est résistante à ces deux processus. Deuxièmement, les télomères sont des origines de réplication spécialisées pour permettre à la cellule de répliquer les extrémités de ces chromosomes (**Swynghedau**, 2008).

2. Du chromosome au nucléosome :

- **Le nucléosome :**

C'est l'unité fondamentale d'empaquetage de l'ADN : une portion de 147pb de double hélice d'ADN est enroulée en peu moins de deux tours autour d'un noyau central (**Strachan et Read**, 2012). (**Fig.11**) (**Somouelian et al.**, 2009).

L'organisation structurale des nucléosomes a été déterminée après leur isolement de chromatine déroulée par digestion grâce à des enzymes particulières (les nucléases) qui ont décomposé l'ADN en le coupant entre les nucléosomes. Après une digestion sur une courte période, l'ADN exposé entre les cœurs de nucléosome, ou ADN de liaison, est dégradé. Chaque cœurs de nucléosome est constitué d'un complexe de huit protéines d'histone –deux molécules H2A, H2B, H3 et H4- et d'un double brin d'ADN qui mesure 146 paire de nucléotide (**Albarts et al.**, 2004).

La chromatine permet de structurer, d'organiser et compacter l'information génétique dans un volume nucléaire. Au-delà de cette fonction structurale, elle est impliquée dans un grand nombre de régulation et dans le métabolisme de l'ADN d'une façon générale (**Somouelian et al.**, 2009).

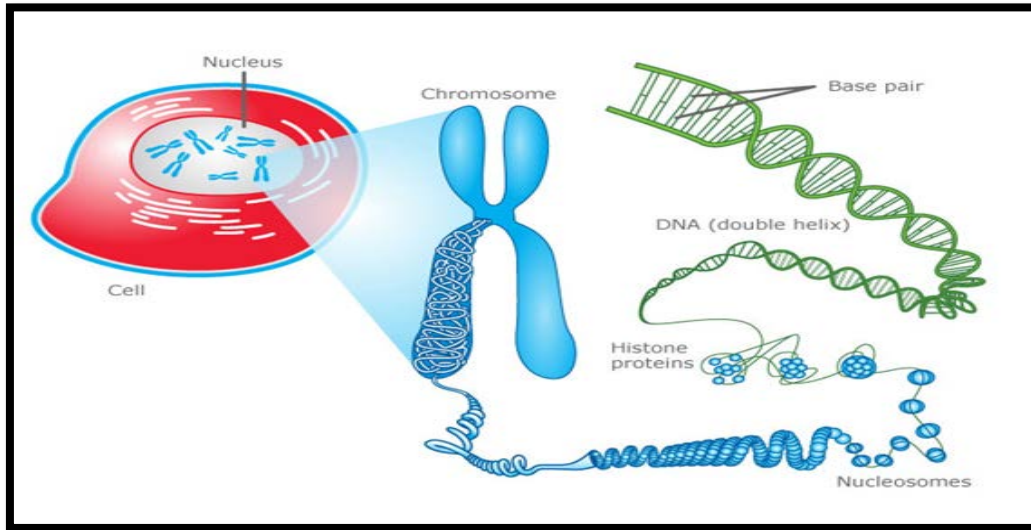


Figure 11 : La structure générale du chromosome (Griffiths *et al.*, 2001).

V. Colchicine :

La colchicine est un alcaloïde extrait des tiges souterraines charnues du colchique *colchicum autumnale* L. (Liliaceae), qui en fixant sur une molécule de la tubuline empêche sa polymérisation en microtubules (Fig.12) (Allain, 2005).

L'absence ou l'insuffisance des microtubules entraîne le blocage de la division cellulaire au stade métaphase ; l'inhibition de la motilité cellulaire et le transport intracellulaire des vésicules et des organites. Toutes les parties de la plante contiennent l'alcaloïde toxique. La colchicine utilise en thérapeutique essentiellement pour son action anti-inflammatoire (Manuelle, 2008).

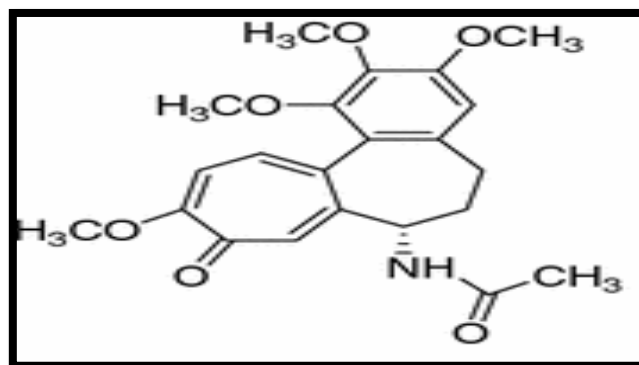


Figure 12: Structure de la colchicine (Allain, 2005).

VI. Les antimitotiques :

Les agents antimitotiques sont des substances, soit des radiations capables d'inhiber ou de modifier le déroulement de la mitose (**Maillet**, 2002).

Les substances antimitotiques sont des substances qui, à faible à la relativement faible concentration, sont capables d'inhiber la mitose, de la perturber ou de l'arrêter, ou même de perturber et d'inhiber un ou plusieurs phénomènes de la préparation à la mitose, et ainsi d'empêcher la cellule d'entrer en cinèse (division) (**Caron**, 2011).

1. Classification et mécanisme d'action :

Des substances structure et d'origine variées sont capables d'exercer une action antimitotique spécifique soit sur (**Caron**, 2011).

L'ADN : par action des agents alkylants et des agents scindants ;

- ✓ **Les enzymes** : par action des antimétabolites et des antitopoisomirases ;
- ✓ **Les microtubules** : par action des poisons du fuseau mitotique (**Fig. 13**).

La plupart de ces substances exercent leur action durant le cycle cellulaire soit à une phase spécifique du cycle, elles sont dites « agent phases dépendants » ; soit tout au long du cycle, elles sont dites « agents cycle dépendants » (**Gorin et al.**, 1996).

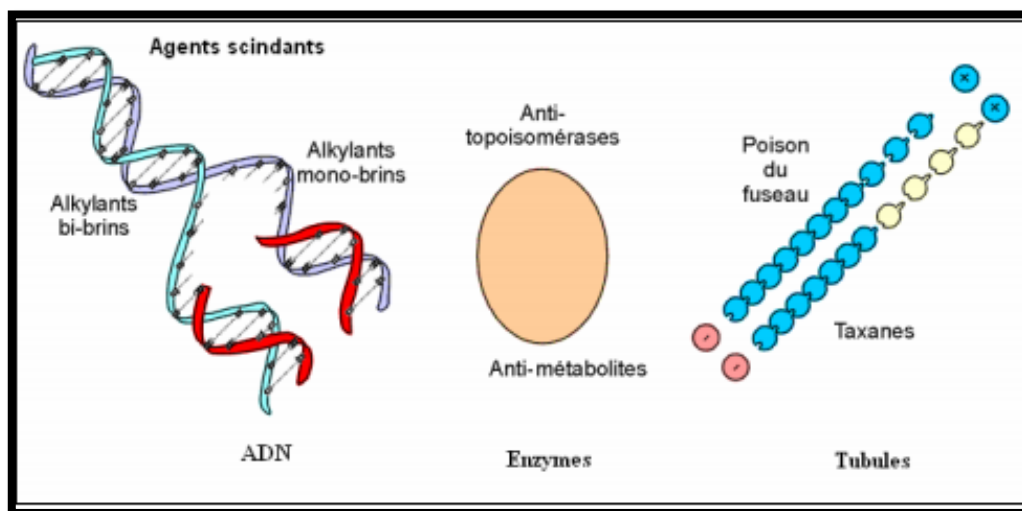


Figure 13 : principaux sites d'action des antimitotiques.

2. Action sur l'ADN :

2.1 Agents alkylants :

Les agents alkylants sont cycle-dépendants, agissant sur toutes les cellules en cycle, préférentiellement sur les cellules à division rapide (qui n'ont pas le temps de réparer les erreurs avant la phase S) ; les cellules s'accumulent et meurent alors en phase G2 (**Gorin et al.**, 1996). Ces agents sont mutagènes à faible concentration et antiméiotique à forte concentration (**Berthet**, 2006).

Ces molécules possèdent un ou plusieurs sites électrophiles qui leur permettent d'interagir directement avec les chaînes d'ADN au niveau des bases nucléiques en formant des liaisons covalentes entre celles-ci. Ceci empêche la réplication de l'ADN et par conséquent la prolifération des cellules cancéreuses (**Caron**, 2011). L'alkylation des bases nucléiques porte principalement sur la guanine en O6 ou N7 (**Fig. 14**), ainsi on distingue:

- Les alkylants monofonctionnels : provoquent surtout des mutations : GC \longrightarrow AT
Parce que la guanine en O6 s'apparie à la thymine plutôt que la cytosine (**Berthet**, 2006) ;
- Les alkylants bifonctionnels : forment des ponts entre résidus, guanines voisines, bloquant ainsi la réplication de l'ADN.

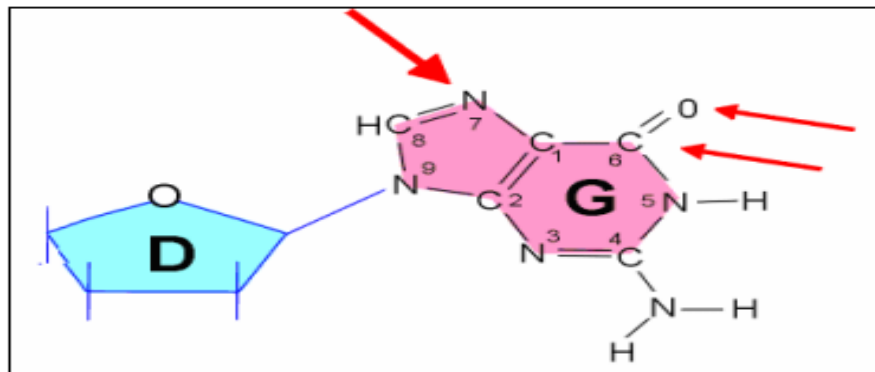


Figure 14: Principaux sites d'action des agents alkylants (**Berthet**, 2006).

D : désoxyribose ; **G** : guanine.

2.2 Agents scindants :

La bléomycine est le seul représentant de cette classe, isolée à partir de *Streptomyces verticillus*. Par l'intermédiaire de son composant protéique, la bléomycine se fixe sur l'ADN et forme des ions superoxydes responsables de cassures simples et double brin de l'ADN à

l'origine de cassure et délétions chromosomiques. La bléomycine est un cycle-dépendant, agissant préférentiellement en phase G2, en mitose mais atteint aussi les cellules en phase G1 (**Gorin et al.**, 1996).

3. Action sur les microtubules : poisons du fuseau mitotique :

Cycle mitotique il y a deux moments favorables à l'action des poisons du fuseau (**Maussang**, 2005).

- Au cours de la polymérisation des tubulines en microtubules ce qui correspond à l'action des inhibiteurs d'assemblage de la tubuline en microtubules (alcaloïdes de vinca ; colchicine ; podophyllotoxines) ;

-Au moment de la dépolymérisation des microtubules en tubuline ce qui correspond à l'action des inhibiteurs de désassemblage des microtubules en tubuline (taxol) ; En interagissant avec la tubuline et les microtubules, ces poisons bloquent les cellules en mitose, ce qui se traduit par (**Verdier et al.**, 2001) :

-Leur accumulation en phase G2/M du cycle ;

-l'augmentation du nombre de cellules à ADN chromosomique condensé ;

- l'augmentation de complexes cdk /cycline B actifs.

VII. Méristèmes des végétaux :

Chez les plantes terrestres, un méristème est un tissu cellulaire spécialisé dans la croissance. Les cellules méristématiques indifférenciées se divisent (mitoses) puis se différencient en acquérant une structure et une fonction. On distingue habituellement les méristèmes primaires qui assurent la croissance de la plante en longueur au niveau de la tige, des feuilles et des racines, et les méristèmes secondaires, responsables de la croissance en épaisseur de certains organes (dits à croissance secondaire) chez certaines plantes (le tronc des arbres par exemple). Chez les végétaux, les méristèmes permettent une croissance infinie.

Un méristème est un groupe de cellules végétales indifférenciées qui ont la capacité de se diviser par mitose un nombre indéfini de fois. Les cellules du méristème sont aussi appelées "initiales» (**Somouelian et al.**, 2009).

1. Méristèmes primaires ou apicaux :

Les méristèmes primaires sont les premiers à se mettre en place ; ils sont à l'origine des tissus primaires de la plante et permettent la croissance en longueur. Ils sont situés à l'apex des racines et de la tige et des rameaux (dans les bourgeons lorsqu'il y en a- ils sont alors quiescents). On les trouve aussi dans les bourgeons axillaires, à l'aisselle des feuilles (*Somouelian et al.*, 2009).

2. Structure du méristème :

Le méristème apical primaire peut être divisé en couches ou en domaines :

-l'organisation en couches prend en compte les différentes lignées cellulaires qui constituent chacune une couche.

La couche de cellules la plus externe (couche L1) constitue l'épiderme et la couche sous-jacente est la couche L2. La couche la plus interne, formée de plusieurs couches de cellules, constitue la couche L3, qui engendrera le parenchyme médullaire. Les couches L1 et L2 subissent toutes deux des divisions anticlines et forment la tunica du méristème, tandis que la couche L3 qui présente des divisions à la fois anticlines et périclines constitue le corpus du méristème (**Fig.15**) (*Somouelian et al.*, 2009).

La plante se construit grâce à l'activité des méristèmes. Ces tissus indifférenciés et spécifique sont à l'origine de tous les organes de la plante et fonctionnent tout au long de sa vie (*Somouelian et al.*, 2009).

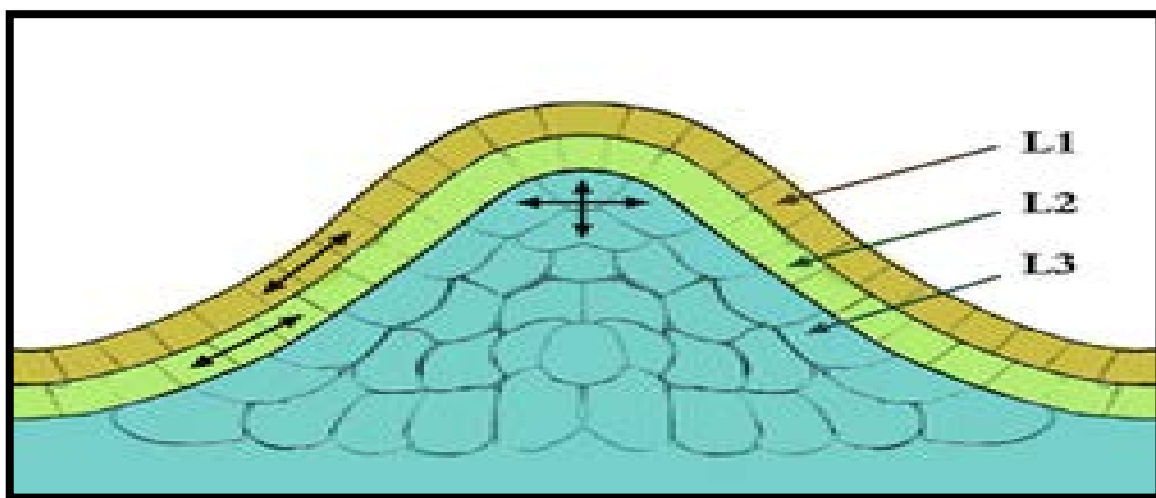


Figure 15 : Organisation en couches d'un méristème apical (*Somouelian et al.*, 2009).

I. Matériel :

Notre travail a été réalisé au laboratoire de biochimie et biologie végétale de l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie. Il a porté sur l'étude de l'activité antimétabolique de l'extrait des feuilles de la sauge (*Salvia officinalis* L.) Sur le méristème radicaire de l'oignon (*Allium cepa* L.).

1. Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué de feuilles de la sauge (*Salvia officinalis* L.) (**fig.16**). La plante utilisée dans cette étude est collectée du jardin du site I (Ex : ITA), Université de Benbadis / Mostaganem.



Figure 16: Feuilles de la sauge (*Salvia officinalis* L.).

1.1 Préparation des échantillons pour l'extraction :

Tous les essais qui suivent ont porté sur du matériel séché à l'air libre, à l'abri de la lumière. Le matériel végétal a été ensuite finement broyé à l'aide d'un moulin électrique. Les poudres des échantillons préparés sont ensuite, conservées dans des flacons à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation (**Fig.17**). La conservation se fait dans des flacons hermétiques au réfrigérateur. Toutes ces opérations permettent de pallier à la dégradation de certains constituants et contribuent à l'inhibition de toutes activités enzymatiques de leur dénaturation (**Benamar, 2008**).

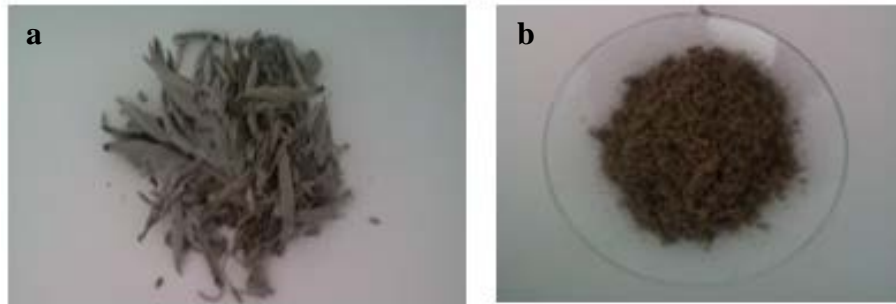


Figure 17 : Feuilles sèches de la sauge + poudre après broyage.

a : les feuilles avant la broyage, b : les feuilles après la broyage, b :

Dans cette partie, des cellules méristématiques des apex racinaires d'*Allium cepa* L. sont utilisées comme modèle expérimental. En effet, des bulbes d'oignon (*Allium cepa*) ont été placés dans des récipients remplis d'eau de façon à ce que les bases des bulbes baignent dans l'eau pendant 3 jours (**Fig.18**).



Figure 18 : Racines d'un bulbe d'oignon (*Allium cepa*) dans un récipient.

II. Méthodes :

1. Extraction des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles des feuilles fraîches de plantes étudiée a été réalisée à l'aide d'un distillateur. Pour ce faire, 1 Kg de matériel végétal est placé sur une grille qui surmonte l'eau en ébullition. Les vapeurs formées dans l'extracteur traversent la plante, libèrent l'huile du tissu végétal et l'entraînent avec elles. Après condensation dans le réfrigérant, celles-ci chutent et sont récupérées dans une ampoule de décantation, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. L'huile obtenue est conservée à une température

de 4°C dans des tubes en verre opaques, fermés hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière jusqu'à son usage. L'opération de distillation dure deux heures, à la température de 100°C et une pression de 1,2 bar (**Fig.19**).



Figure 19 : Dispositif d'hydrodistillation des huiles essentielles.

1.1 Détermination de rendement :

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R = (PHE / PP) \times 100$$

R : Rendement d'huile essentielle en pourcentage

PHE : Poids d'huile essentielle en g.

PP : Poids de plante en g (**Afnor**, 1986).

2. Extraction sous reflux :

Le solvant d'extraction utilisé est le Méthanol. Plusieurs études montrent que le méthanol et l'eau ainsi que leur mélange à différents ratios sont les solvants les plus utilisés pour une haute récupération de composés phénoliques (**Sahreen et al., 2010; Xia et al., 2010; Bouzid et al., 2011**) et l'obtention d'une meilleure activité antioxydante (**Barros et al., 2010**).

La méthode d'extraction consiste à porter l'échantillon (10% de poudre broyée) à ébullition sous reflux (**Fig.20**) en utilisant le méthanol pendant 30 min avec trois extractions successives. Cette technique permet d'extraire les composés chimiques les plus polaires présents dans la plante étudiée. Les trois extraits obtenus sont filtrés à l'aide du filtre de papier plissé, et posés l'extrait de chaque échantillon dans des fioles (**Fig.21**).

Les extraits sont ensuite concentrés et séchés à l'aide d'un Rota vapeur (**Fig. 22**) afin d'éliminer toute trace de méthanol, pour obtenir une poudre végétale sèche.



Figure 20 : Dispositif de l'extraction sous reflux.

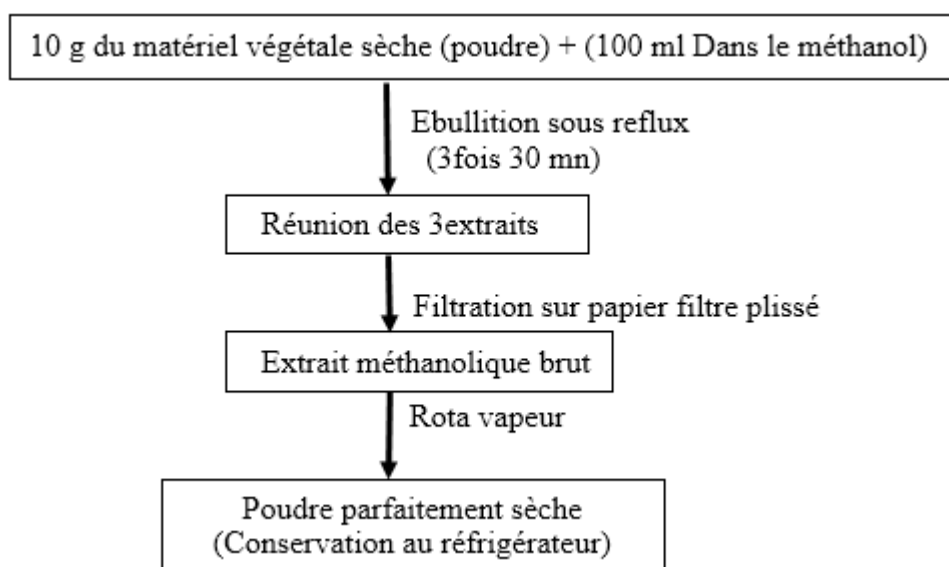


Figure21: Protocole de préparation d'extrait méthanolique sous reflux.



Figure 22 : Dispositif de Rota vapeur.

3. Étude de l'activité antimitotique :

L'activité cytogénétique des extraits végétaux a été réalisée *in vitro* par le test d'*Allium cepa* adopté par **Shweta et al.** (2012).

En effet, des bulbes d'oignon (*Allium cepa*) obtenus du marché local de même calibre sont d'abord épluchés, soigneusement débarrassés de la partie brunâtre, proprement lavés par l'eau distillée et ont été placés dans des récipients remplis d'eau de façon à ce que les bases des bulbes baignent dans l'eau pendant 3 jours. Pour maintenir un niveau d'eau suffisant en dépit de l'évaporation, il suffit de rajouter chaque jour un peu d'eau dans les flacons.

Les apex racinaires dans lesquels les mitoses sont nombreuses ont été coupés et trempés 24h dans des cupules, contenant l'extrait végétal à deux concentrations différentes (0,12% ; 0,25%), la colchicine (témoin positif) et l'eau (témoin négatif). Ces apex sont ensuite fixés à l'alcool acétique pendant 3h et colorés au carmin acétique, afin d'observer au microscope optique les différents stades de la mitose.

- **Prélèvement :**

Prélever avec des ciseaux une jeune racine en croissance sur un bulbe. Couper le segment terminal à 5 mm de l'extrémité et le déposer sur une lame porte-objet. On doit observer près de l'extrémité le méristème qui forme une petite tache ; Plus le fragment prélevé est petite, dans l'idéal limite au méristème, plus le rapport du nombre de cellules en mitose par rapport au nombre total de cellules est élevé.

4. Analyse cytogénétique :

- Extrémités méristématiques en croissance active sont prélevées et plongées dans une solution aqueuse de colchicine à 0,1% et 0,2% pendant 2 h à températures ambiante, on rince à l'eau distillée pour éliminer les traces de colchicine ;
- Fixer dans une solution d'acide acétique à 45% pendant 3 à 4 heures à la température ambiante. Les extrémités sont écrasées avec le pouce entre lame et lamelle.
- Placer la lame dans un boîte de pétri sur papier filtre mouillé à l'eau distillée.
- Décoller la lamelle d'un coup de lame de lame de rasoir, et verser sur la lame quelques gouttes suffisantes de solution de nitrate d'argent (Ag NO_3) à 50% (cette solution doit conserver un à l'abri de la lumière).
- Recouvrir la lamelle et incuber à 40 °C ou 45 °C pendant 24 h à l'abri de la lumière.

- Rincer la lame à l'eau distillée.
- Observer, sans coloration, au microscope optique.

- **Fixation :**

-Prélever avec des ciseaux une jeune racine en croissance sur un bulbe. Couper le segment terminal à 5 mm de l'extrémité et le déposer sur une lame porte-objet. On doit observer près de l'extrémité le méristème qui forme une petite tache (**Fig. 23 a**);

-Place apex racinaires dans la solution carnoy (carnoy fluid) pendant 2 heures pour fixés les cellules (**Fig 23 b**);

-Lavage des échantillons avec l'alcool 70% ;

-Recouvrir les échantillons dans l'éthanol 95% + acide chlorhydrique dilué à 1 mol. L⁻¹. Laisser agir 5 min pendant lesquelles l'acide hydrolyse le ciment pectique qui relie les parois cellulaires. Ceci facilitera ensuite la dissociation des cellules ;

-Enlever l'acide avec un essuie tout utilisé comme papier buvard en faisant attention de ne pas coller l'échantillon sur le papier ;

-Recouvrir l'échantillon d'une solution de carmin acétique et laisser agir pendant 20min et ébouillie pendant 2 à 3 min (**Fig. 23 c**);

-Placer délicatement une racine sans la rincer entre lame et lamelle et écraser doucement pour étaler les cellules (**Fig. 23 d**).

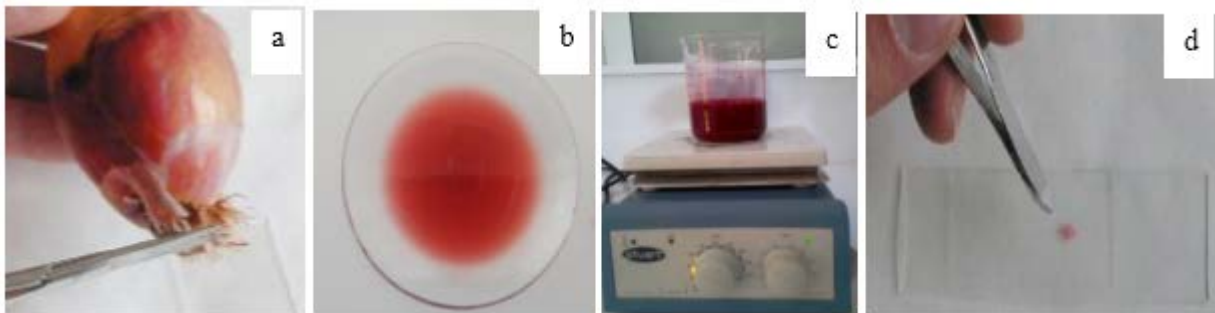


Figure 23 : Les différentes étapes de fixation des extrémités de racine d'oignon.

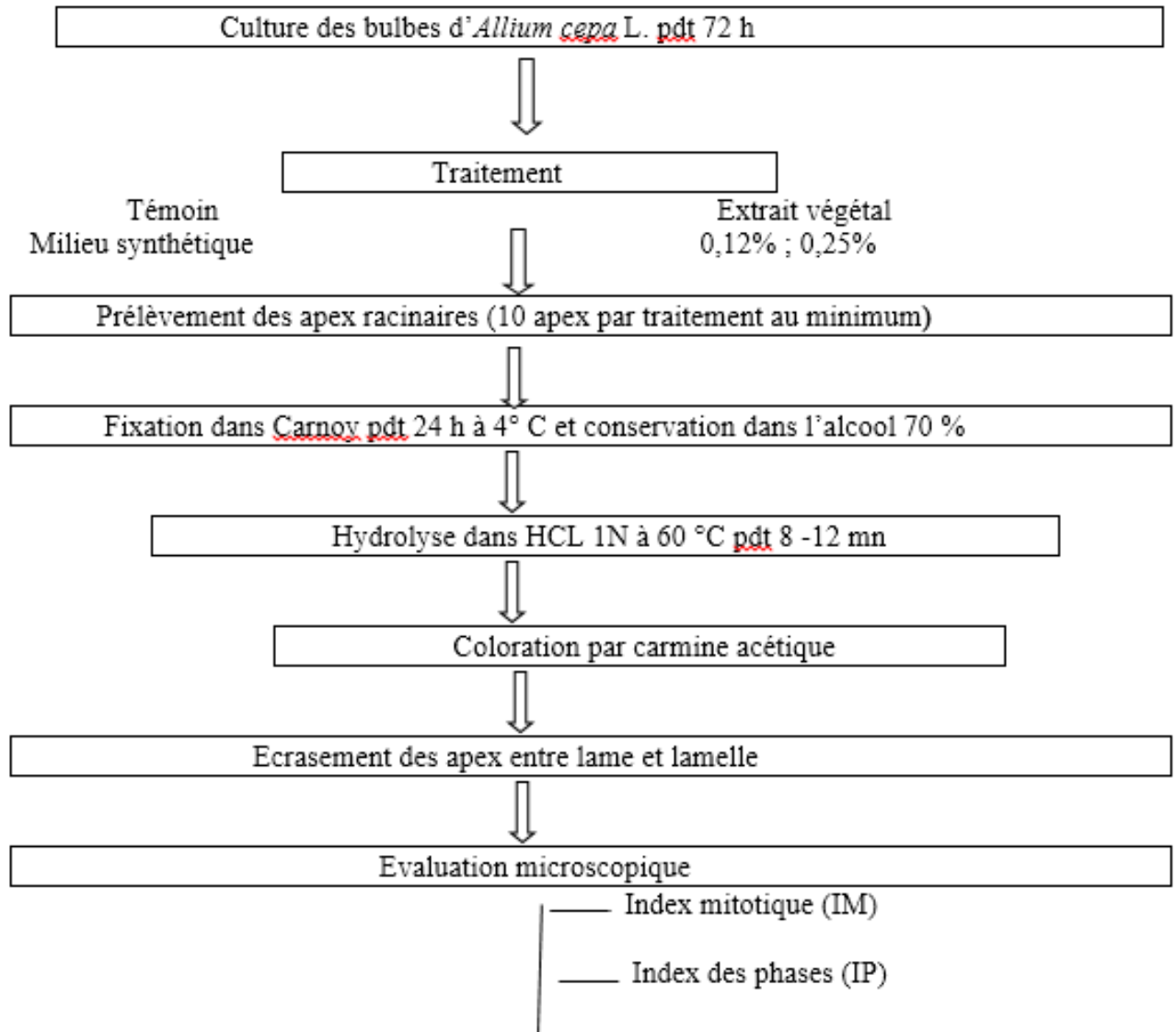


Figure 24 : Schéma d'un protocole expérimental utilisant les apex racinaires d'*Allium cepa* L. (oignon) comme modèle pour l'évaluation de l'activité antimitotique d'un extrait végétal.

- **Préparation des lames :**

La partie méristématique hydrolysée et colorée est isolée à l'aide d'un scalpel, déposée sur une lame dans une goutte de carmin acétique à 45% et écrasée entre lame et lamelle en tapotant doucement avec le bout d'une allumette, afin d'obtenir un bon étalement des cellules. L'étalement peut être accentué par un léger chauffage sur plaque chauffante.

L'examinations des lames est réalisée à l'aide d'un microscope optique «Zeiss» grossissement (10X), et en utilisant l'huile d'immersion au grossissement supérieur (100X).

Le comptage des cellules normales ou aberrantes est réalisé sur 1000 cellules du méristème racinaire, en prenant en compte toutes les phases de la division cellulaire : prophase (P), prométaphase (PM), métaphase (M), anaphase (A) et télophase (T).

5. Analyse des données antimitotiques :

Pour chaque extrait, 5 apex ont été traités et 1000 cellules ont été observées. L'analyse cytogénétique a été mise au point par l'évaluation des 4 paramètres suivants :

5.1. Index mitotique (IM):

Cet indice consiste à comptabiliser le pourcentage des cellules arrêtées en mitose sur le total des cellules examinées (**Ikeda et al.**, 2000 ; **Subhadradevi et al.**, 2011 ; **Shweta et al.**, 2012 ; **Channabasava et Melappa**, 2014).

$$\text{IM (\%)} = \frac{\text{Nombre de cellules en division}}{\text{Nombre de cellules examinées}} \times 100 \quad (1)$$

5.2 Index des phases (IP) :

Cet indice est calculé afin de déterminer le pourcentage des cellules dans chaque phase de la mitose (Pro, Méta, Ana, Telo) (**Glinska et al.**, 2007 ; **Fasla**, 2009).

$$\text{IP (\%)} = \frac{\text{N}^{\text{bre}} \text{ de cellules en } \neq \text{ phases (Pro., Meta., Ana., Telo.)}}{\text{N}^{\text{bre}} \text{ total de cellules examinées}} \times 100 \quad (2)$$

5.3 Index des aberrations (IA) :

Les aberrations chromosomiques rencontrées sont de différents types : micronoyaux (MNC) ; pont chromosomique (P) ; cassure chromosomique (C) ; chromosome en retard (Ct) ; chromosome à aspect collant (Cc) ; cellule binucléée (Cell bnl) ; fragmentation (Frgt) ; pycnose (PCN), etc. L'index des aberrations (IA%) est calculé à partir de l'équation (3) (**Răuciu et Creangă**, 2007) :

$$\text{IA (\%)} = \frac{\text{Total des aberrations chromosomiques}}{\text{Total des cellules analysées}} \times 100 \quad (3)$$

5.4 Valeur limite de cytotoxicité :

La Valeur limite de cytotoxicité : La valeur limite de cytotoxicité (VLC %) est calculée selon (**Sharma**, 1983 ; **Panda et Sahu**, 1985 et **Antonsie-Wiez**, 1990) à partir de la formule (4) :

$$\text{VLC (\%)} = \frac{\text{IM des cellules traitées}}{\text{IM des cellules témoin}} \times 100 \quad (4)$$

1. Détermination de la teneur en eau :

Les résultats de la détermination de la teneur en eau des feuilles fraîches de *Salvia officinalis* L. indique que cette plante est très riche en eau (68%) (**fig. 25**). En général, les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80 % d'eau.

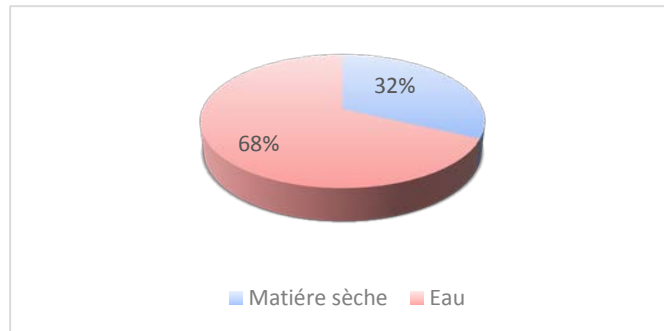


Figure 25 : le pourcentage de l'eau dans *Salvia officinalis* L.

2. Rendement des huiles essentielles (HE):

Le rendement moyen en huiles essentielles de la partie aérienne de *Salvia officinalis* L. extraite par entraînement à la vapeur d'eau, a été calculé en fonction de la masse du matériel végétal traité est de l'ordre de 0.93%, de couleur jaune clair et d'une odeur aromatique. Ce rendement est comparable à ceux obtenus dans d'autres études (**Chalchat et Michet**, 1998).

Ont montré que le rendement d'extraction des H.E. de *Salvia officinalis* obtenue par distillation pendant quatre heures dans un appareil « *Clevenger* » en fonction de l'origine de la plante : France (2,05%), Hongrie (2,50%), Portugal (2,90%), Roumanie (2,30%). Par contre, notre rendement a obtenu de 0,93% par hydro distillation. Cette variation dans le rendement peut être attribuée non seulement à l'origine de la plante et à la technique d'extraction mais également à la période de prélèvement du matériel végétal. Ceci a été confirmé par (**Fellah**, 2001) qui a montré l'influence de la technique d'extraction d'une part, et l'influence du cycle végétatif d'autre part sur le rendement et la qualité des huiles essentielles.

2.1 Activités antimittotique :

Le modèle expérimentale d'*Allium cepa* est l'un des meilleurs systèmes d'évaluation de l'activité antimittotique *in vitro*. Ce test est validé par le Programme de l'Environnement des Nations Unies (UNEP) et le Programme International de la Sécurité Chimique (IPCS), il est utile pour toute étude préliminaire des substances anticancéreuses (**Kuras et al.**, 2006). En outre, les cellules végétales étant généralement plus grosses que les cellules animales et donc

plus faciles à observer au microscope, ne soulevant pas de problèmes éthiques, facile à obtenir et peu coûteux. Ce bioessai date de 1938 avec les premiers travaux réalisés sur les cellules racinaires d'*Allium cepa* en étudiant l'effet antimitotique de la colchicine (Levan, 1938).

La colchicine est un alcaloïde extrait des tiges souterraines du colchique ; *Colchicum autumnale* (Fasla, 2009). Elle est utilisée couramment dans le traitement de différentes tumeurs tissulaires. Son action se résume par blocage de la formation du fuseau mitotique. En se fixant sur une molécule de la tubuline, elle empêche sa polymérisation en microtubules. L'absence ou l'insuffisance de ces dernières entraîne un blocage de la mitose au stade de métaphase. Cette approche confirme le résultat de l'indice des phases de la colchicine obtenu dans cette étude (Verdier *et al.*, 2001).

2.1.1 Action de témoins :

A partir de la figure 1, on remarque les phases de division cellulaire des cellules méristématiques témoin d'*Allium cepa* L.

L'identification des figures de mitose nécessite d'explorer soigneusement l'ensemble de la préparation car les cellules sont dissociées à la suite des traitements subis et le nombre de cellules en division par rapport au nombre total de cellules est faible.

Les clichés ci-dessous ont été réalisés avec un grossissement du microscope x 100. Ils présentent dans l'ordre chronologique du déroulement les phases caractéristiques de la mitose, prophase, métaphase, anaphase, télophase. La plupart des clichés montrent aussi des cellules en interphase (fig. 26).

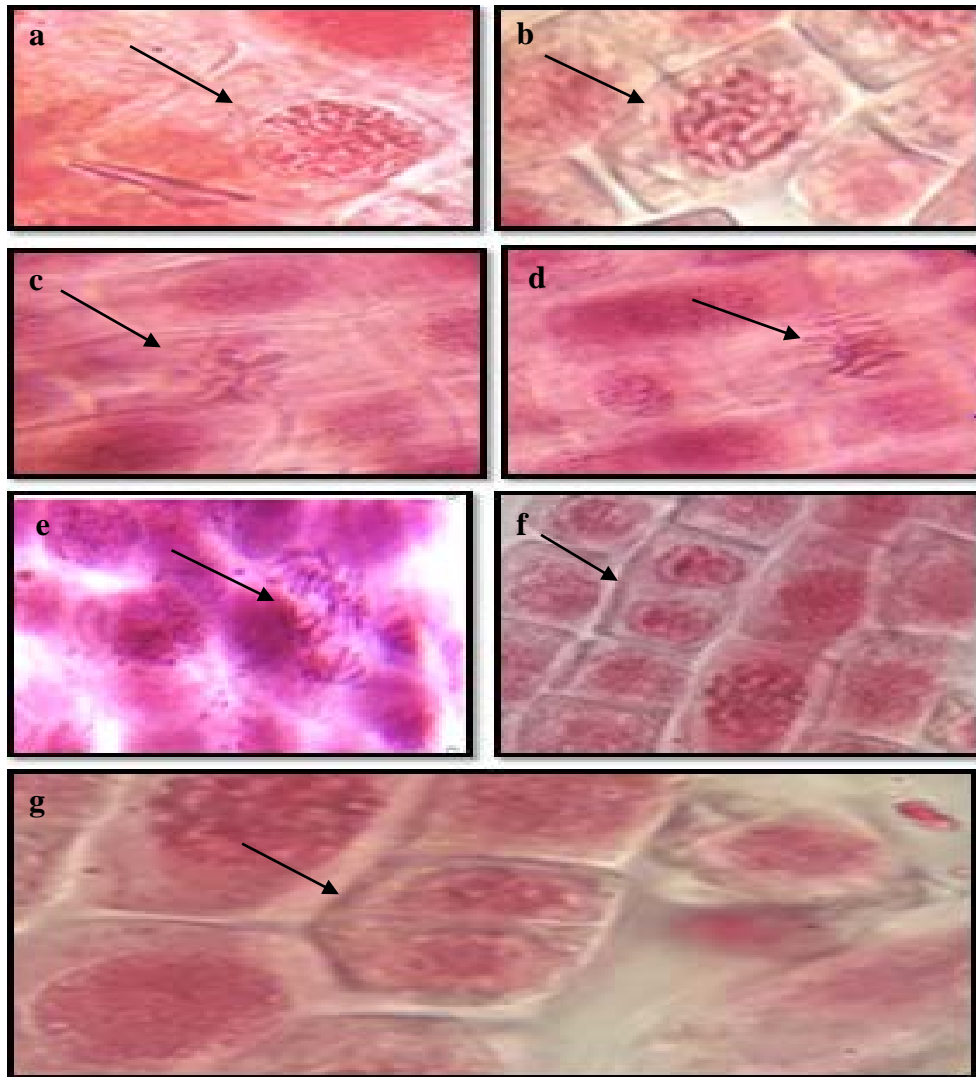


Figure 26 : Cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* en division régulière et normale : (a) interphase, (b) prophase, (c) prémétaphase, (d) métaphase, (e) anaphase, (f) début de télophase, (g) fini de télophase $\times 100$.

❖ **Index des phases et index mitotique :**

L'index des phases des cellules d'*A. cepa* L. est représenté majoritairement par des préprophases .

Tableau 2: Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d'*A. cepa* L.

Phases Tissus	I	P	PM	M	A	T
1	89	05	01	01	01	03
2	88	11	–	–	–	01
3	69	27	01	01	–	02
4	64	30	01	01	02	02
5	63	27	04	–	02	04
6	63	35	01	01	–	02
Somme	436	135	08	04	05	14
IP (%)	72.66	22.5	1.33	0.66	0.83	2.33

- : non détectée

NB : Chaque tissu contient 100 cellules observées à (G x100) (annexe).

❖ **Exemple sur calcul :**

436

$$\text{IP (\%)} = \frac{436}{600} \times 100 = 72.66 \%$$

A partir du calcul, on remarque que l'index mitotique des cellules méristématiques témoin d'*Allium cepa* L. Correspond à 27.66 %. Le pourcentage élevé des indices des phases au niveau de la prophase chez l'ensemble des extraits de la plante testés indique la présence d'un empêchement de passage aux autres stades de la division cellulaire à ce niveau.

Cette même action est enregistrée par l'extrait aqueux de *Solanum torvum*, plante de la famille des Solanacées (Thenmozhi et Mahadeva, 2011). Il semble que les composés présents dans ces extraits de *A. niger* et *A. nidulans* : endophyte foliaire de *Limonia strumfeei*, bloquent la division cellulaire avant la métaphase, ce qui diffère du mécanisme de blocage de la colchicine. La diminution constatée au niveau des différents indices mitotiques chez les cellules racinaires d'*Allium cepa* indique un effet mitodépressif de tous les extraits des plantes testés.

L'indice mitotique reste le meilleur paramètre d'estimation du taux de cellules en division (Marcano *et al.*, 2006).

Cette élévation au niveau de la prophase est indépendante de la concentration d'extrait fongique utilisée. Les indices des phases des cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées par les deux concentrations de colchicine sont élevés pour la métaphase. Tandis que les autres phases sont moins observées. Les pourcentages des 4 phases chez le témoin négatif sont relativement élevés par rapport à ceux d'extrait végétal et de la colchicine. Ces indices ne sont dominés par aucune phase de la mitose à la différence des cellules traitées (fig. 27).

1.2.2 Action de colchicine :

❖ Index des phases et index mitotique :

Dans le tableau, on remarque que l'interphase le stade dominant, que ce soit chez les cellules témoins ou chez les cellules traitées, suivi de la prophase. Les autres stades ne représentent qu'une minorité.

Tableau 3: Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées par la colchicine à 0.2% comparé au témoin (T).

Phases Tissus	I	P	PM	M	A	T
1	75	24	1	-	-	-
2	84	14	-	1	-	1
3	73	22	1	1	2	1
4	40	44	3	3	7	3
5	40	40	5	2	5	8
6	75	20	1	-	2	2
Somme	387	164	11	7	16	15
IP (%)	64.5	27.33	1.83	1.16	2.66	2.5
IM (%)	27.66	22.5	1.33	0.66	0.83	2.33
Témoin (T)						

-: non détectée

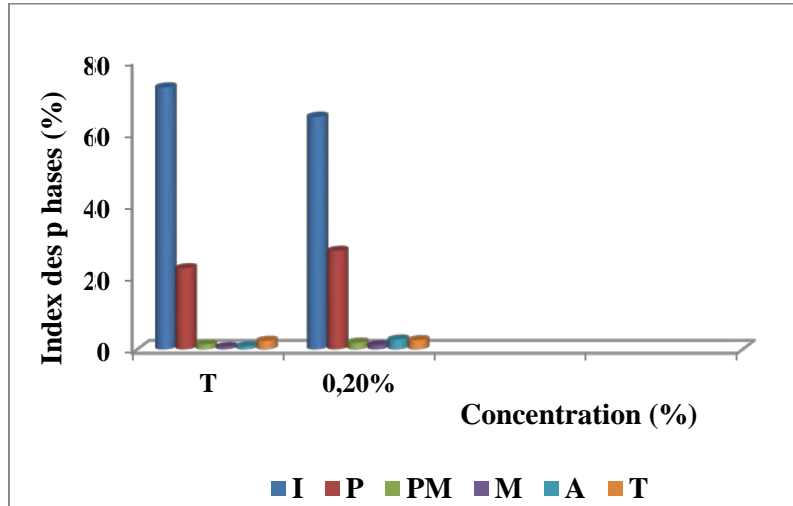


Figure 27: Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d'Allium cepa L. traitées par la colchicine à concentration 0.2% comparé au témoin (T).

Tableau 4: Index mitotique (IM%) et valeur limite de cytotoxicité (VLC %) des cellules méristématiques d'Allium cepa L. traitées par la colchicine comparés au témoin (T).

	IM (%)	VLC (%)
T	27.66	-
0.2 %	35.5	128.34

- : non détectée.

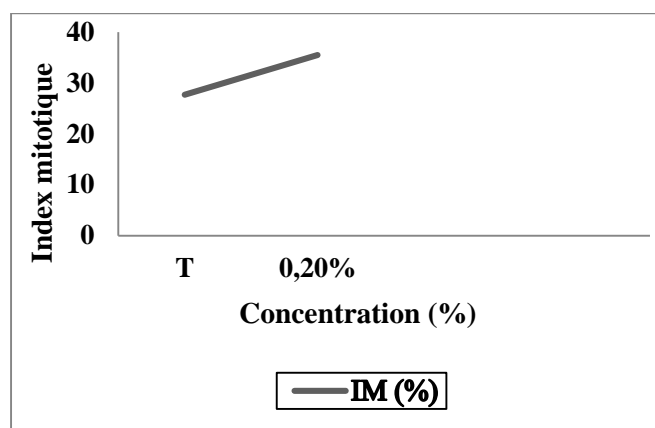


Figure 28: Index mitotique (IM %) des cellules méristématiques d'Allium cepa L. traitées par la solution aqueuse de colchicine à concentration 0.2% comparé au témoin (T).

3. Colchicine à 0.2% :

3.1 Les Anomalies de la division cellulaire :

Les anomalies rencontrées chez les cellules méristématiques des apex racinaires d'*Allium cepa* traitées par la colchicine à 0.2% pendant 2 à 3 heures à la température sont illustrées à la (fig.29) :

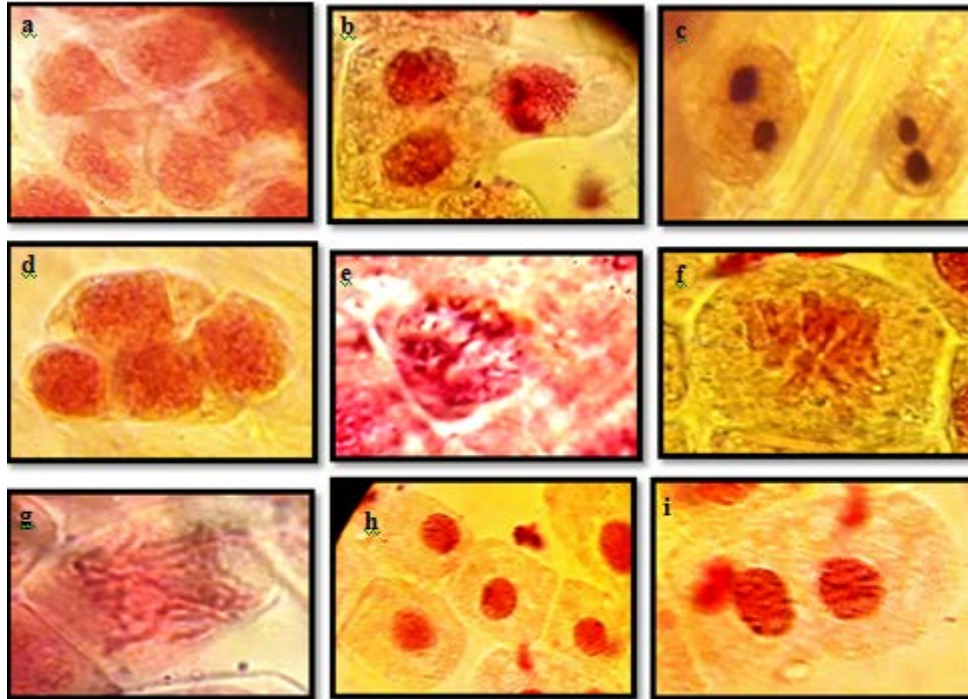


Figure 29 : Types d'anomalies rencontrées chez des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par la colchicine à concentration 0.2%.

a - cellule à noyaux déformés ; **b**- Représentent un nombre de 3 nucléoles (colorés par nitrate d'argent) un noyau interphasique chez *A. cepa* L ; **c**- Représente un nombre de 2 nucléoles (colorés par nitrate d'argent) dans un noyau interphasique chez *Allium cepa* L ; **d** - Représentent un nombre de 4 nucléoles (colorés par nitrate d'argent) un noyau interphasique chez *A. cepa* L ; **e** - double ponts chromosomiques en anaphase ; **f**- métaphase à aspect collant ; **g**- cassure en anaphase ; **h** - cellules préprophasiques; **I** - multiplication des noyaux (Présence de deux noyaux résultant de l'inhibition de la cytokinèse) .

3.2 Action de l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* :

Les observations microscopiques des cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées ou non par l'extrait de la plante étudiée ont permis de visualiser les différents stades du développement mitotique (fig.30). En outre, quelques aberrations et anomalies

chromosomiques de nature clastogénique touchant la structure des chromosomes ont aussi été révélées.

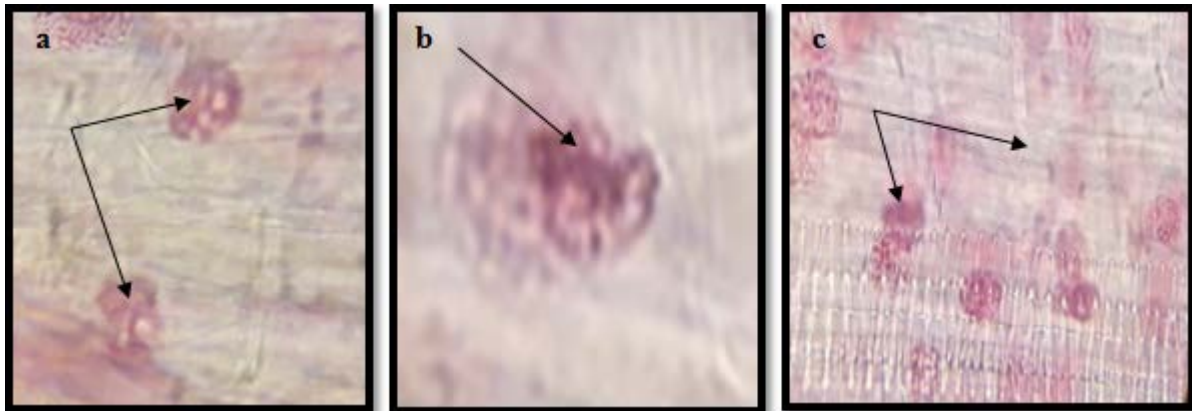


Figure 30 : Types d'anomalies rencontrées chez des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par à concentration de l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* à 0.12 % : **a-** Vide nucléaire ; **b-** Epaissement et coloration intense de la chromatine prophasique ; **c-** Cellules présentant une partie épaissie la chromatine et l'autre tend à disparaître.

L'index mitotique est considéré comme un paramètre permettant d'estimer la fréquence de la division cellulaire (Marcano *et al.*, 2006).

La diminution de l'activité mitotique chez les cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* L. indique un effet mitodépressif de colchicine pour la concentration 0.2%, ainsi que l'extrait de *Thymus vulgaris* L. (feuilles) pour la concentration 0.12%.

De pareils effets mitodépressifs ont été observés chez des cellules méristématiques d'*A. cepa* traitées par des extraits aqueux de cinq plantes médicinales utilisées en pharmacopée Nigérienne : *Azadirachta indica* A. JUSS ; *Morinda ludica* Benth ; *Cymbopogon citratus* DC. Stapf, *Mangifera indica* L. et *Carica papaya* L. Aux concentrations suivantes : 1 ; 2.5 ; 10 ; 20% (m/v) (Akinboro et Bakare, 2007).

Une diminution de l'index mitotique a été aussi observée chez des cellules d'apex racinaires d'*A. cepa* traitées par une infusion des feuilles de *Pterocaulon polystachum* DC. (Astéracées) (Knoll *et al.*, 2006). Des résultats similaires ont été obtenus pour des infusions de *Maytenus ilicifolia* Mart. et de *Bauhinia candicans* Benth (Camparoto *et al.*, 2002).

Les extraits d'acétate d'éthyle comme les extraits méthanoliques ayant donné des pourcentages similaires et élevés des cellules arrêtées en mitose. Cette excellente activité antimitotique est comparable à celle de la colchicine. De ce fait, nous avons compris que les

métabolites extraits par les deux solvants utilisés ont la même efficacité envers l'activité antimittotique (**Medjeber et al.**, 2018)

D'après **Deysson** (1956), les phénomènes de l'inhibition préprophasique ou prophasique sont classés par ordre de brutalité croissante :

- Le premier degré est caractérisé par une action qui se manifeste uniquement avant la prophase
- Le second degré est défini par une diminution progressive de l'index mitotique en même temps que l'augmentation des proportions des prophases et des télophases, par le fait que la durée de ces deux stades soit allongée ;
- Le troisième degré est déterminé par une inhibition de l'entrée en prophase et un blocage des prophases commencées qui, peu à peu, subissent la catachromase et reviennent à l'état interphasique. Ceci expliquerait probablement l'apparition des vides nucléaires rencontrés chez les cellules d'*A. cepa* L.

L'étrange aspect des chromosomes courts et épaissis observés en prophase indique l'effet de l'extrait aqueux de *T. vulgaris* (feuilles) et de la colchicine sur l'organisation de la chromatine, qui peut être en relation avec des troubles dans la quantité des histones, ou autres protéines responsables du contrôle de la structure de la chromatine nucléaire (**Stryer**, 1997). Des changements similaires dans la structure de la chromatine ont été observés chez des cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées par l'extrait aqueux des écorces de *Uncariatomentosa* Willd (Rubiaceae) (**Kuraś et al.**, 2006), et l'extrait aqueux des aiguilles de *Taxusbaccata* L. (Taxaceae) (**Majewska et al.**, 2003).

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs qualifiées de métabolites secondaires, leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, dont l'accumulation de ces composés dans les différents organes des plantes joue un rôle essentiel pour sa durabilités naturelles.

L'étude de l'activité antimittotique réalisée sur les apex racinaires d'*Allium cepa* L. montre que l'extrait testé agit selon un mode d'action caractérisé par l'accumulation des cellules au stade préprophase et la présence de cellules à noyaux déformés; la suppression anormale du noyau.

Un effet mitodépressif sur les cellules méritématiques racinaires d'*Allium cepa* L. a été observé avec l'extrait des feuilles de *Salvia officinalis* L. pour les concentrations testées (0.12 et 0.25%).

Les meilleures plaques sont obtenues avec la colchicine à 0.2% pendant 2 heures et par un l'extrait des feuilles de la sauge (*Salvia officinalis* L.) à concertation 0,25%.

Les aberrations au niveau des phases mitotiques seraient le résultat d'effets des substances contenues dans l'extrait des feuilles de la plante, provoquant le dysfonctionnement du fuseau mitotique conduisant à des troubles chromosomiques durant le cycle cellulaire et d'effet sclastogènes responsables d'effets cytotoxiques variables directs tels que les cassures, ou indirects, tels que l'inhibition de la synthèse des enzymes ou des protéines régulatrices de la division cellulaire.

Cependant, le mécanisme de chaque effet nécessite des évaluations supplémentaires. Pour cela, il est serait judicieux d'examiner l'effet des extraits aqueux sur d'autres systèmes eucaryotiques et par d'autres approches expérimentales, afin d'obtenir des informations additionnelles sur l'activité biologique de ces extraits, et qui devraient contribuer à l'élucidation de leurs mécanismes d'action.

- Afnor. 1986.** "Les huiles essentielles": 3ème Recueil des normes françaises.
- Alberts B., Bray D., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. et Wolter., 2004 -**
L'essentiel de biologie cellulaire : Introduction à la cellule. Médecine –Science
Flammarion, ed p.597.
- Allain p., 2005 -** Les médicaments. in [http://www.pharmacorama.com.](http://www.pharmacorama.com/) / le livre. php
Cosulté le 14/06/2007.
- Alloun K.2013-** Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des
huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens* L.), de la sauge (*Salvia officinalis* L.)
et de la rue des montagnes (*Ruta montana* L.)Thèse de doctorat.
- Amos L.A et Baker T.S.,1979 -** The three dimensional structure of tubulin protofilaments
.Nature , 279 : 607-612.
- Benamar H.;Rached W.; Derdour A.; Marouf A.,2010.** Screening of Algerian Medicinal
Plants for Acetylcholinesterase Inhibitory Activity. *Journal of Biological Sciences*,
Volume: 10 Issue: 1
- Berthet J., 2006-** Dictionnaire de biologie .De Boeck université, ed., p.1046.
- Caron .J, 2011-** Conception de nouveaux bioconjugués « squalénisés » anticancéreux dotés
de propriétés d'auto-assemblage : synthèse, caractérisation des nanoparticules et
évaluation biologique, Université Paris-Sud, P 257.
- Chevrlhier A, 2007,** Le spécialiste, Les plantes médicinales, Avant propos du Dr ANN
WALKER, Éditions Gründ pour l'édition française « GRUND » REMEDES .posologie
.préparations .proprietes therapeutiques. Soins.
- Djerroumi A. et Nacef M., 2004 -** 100 plantes médicinales d'Algérie. ed Palais du livre. p
135 -131.
- Djerroumi A., Nacef, M. 2013 -** 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed. Houma.
- Duling E.N., Owen J.C., John B.G., Rosmary F.W., Kevin A.M., Yeap L.F., & Nigel
B.P.2007 -** Extraction of phenolic and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using

ethanol- water mixture. Food chemistry. Vol.101, app. 1417- 1424.

Fasla B. 2009 - Evaluation du potentiel antimittotique et génotoxique de plantes médicinales et analyse phytochimique. Thèse Magister, Université d'Oran Es-sénia. Algérie, 172 p.

Ferrari, J., 2002- Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de : *Gnidia volucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse de doctorat. Lausanne.

Ghorbal M, 2011 - biologie cellulaire histologie et embryologie, Edition, Ellipses, Paris, P188.

Glinska S., Bartzak M., Oleksiak S. , Wolska A., Gabara B., Posmyk M .et Janas K., 2007
- Effects of anthocyanin-rich extract from red cabbage leaves on meristematic cells of *Allium cepa* L. roots treated with heavy metals .Ecotoxicology and Environmental safety, 68 : 343-350.

Gorin N.C., Philip T .Et Symann M., 1996 - manuel pratique d'hémato-cancérologie et de chimiothérapie. Frison –Roche, eds ; paris, P 13-20.

Griffiths. A, W.Gelbart, J.Miller, R.Lewontin , 2001 - Analyse génétique moderne, 1^{er} édition, américaine, 1^{er} édition, Université De Boeck Université, P 606.

Hamidpour, M. R. S., Shahlari, M. 2014 - Chemistry, Pharmacology, and Medicinal Property of Sage (*Salvia*) to Prevent and Cure Illnesses such as Obesity, Diabetes, Depression, Dementia, Lupus, Autism, Heart Disease, and Cancer. Vol.4, N°, pp.82– 88.

Ikeda K, Pant B ,Mishiro A , Ozawa K ,Masujima T.et Sugiyama M., 2000 -convenient method for the evaluation of anti-tumor agents affecting the cell cycle .Journal of Bioscience and Bioengineering ,90 (5) : 574-576.

Jorde. L, Cary. J, Bomshad. M, Wite. R, 2004 - Génétique médicale, Edition, Elsevier, Française, P395.

Karp G.,1998 - Biologie cellulaire et moléculaire : Concepts et expériences . De Boeck université ,ed .,Bruxelles .p. 665.

Kuraś M. Nowakowska J., Sliwinska E., Pilarski R., Ilasz R., Tykarska T., Zobel A. Et

Gulewicz K., 2006. Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear

DNA content from cells of *Allium* Test induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. *Journal of Ethnopharmacology*,107: 211–221.

Levan A, 1938. The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*. *Hereditas*. 24 : 471- 486.

Mabuchi I .,1986 -Biochemical Aspects of Cytokinesis . Int. Rev . Cytol .,101 : 175-213 .

Madi A. 2010 - Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes

médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques.

Research Master, Mentouri Constantine University, Constantine.

Maillet M.,2008 -Abrégé de de cytologie .Masson ,ed . , Paris . P. 12-14 .

Maillet M ., 2002 - Biologie cellulaire .Masson , ed .,Paris .P. 257-274.

Maillet. M, 2006 - Biologie cellulaire, 10^{ème} édition, Elsevier Massons, P618.

Maksimovic M.; Danijela V.; Mladen M.; Marija E.S.; Sabaheta A.; Sonja S.Y., 2007 –

Effet of the environmental condition on essential oil profile in two dinaric *salviasp*: *salviabrachydon* and *salvia officinalis* L. *Biochemical Systematics and Ecology*. 35: 473- 478.

Manuelle. C, 2008 - Les 5 fonctions vitales du courps humain, Edition, Lamare, France, P313.

Marcano L., Carruyo I., Fernández Y., Montiel X. et Torrealba Z., 2006 - Determination of vanadium accumulation in onion root cells (*Allium cepa* L.) and its correlation with toxicity. *Biocell.*, 30: 259–267.

Maussang G., 2005- Rapport ENS. [http : //WWW .eleves .ens .fr /home /maussang/index.html](http://WWW.eleves.ens.fr/home/maussang/index.html) (consulté le 15/06/2007).

- Meijer L., 2003-** Le cycle de la division cellulaire et sa régulation .Oncologie ,5 :311-326.
- Mokkadem, A. 1999** -Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. Vie et Nature, 7, pp. 24–26.
- Pistelli L. 2006** - Photochemicals from lamiaceae: from nutraceuticals to Hallucinogens. International symposium The Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilization, Sanremo, Italy: 22-25 February 2006.
- Radulescu V., Silvia C & Eliza O. 2004** - Capillary gas chromatography-mass Spectrometry of volatile and semi volatile compound of *Salvia officinalis*. Journal of Chromatography A. Vol.1027, pp.121-126.
- Sahreen S, Khan. M. R and khanR , 2010.** Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. Food Chemistry, 122, 1205-1211.
- Samouelian F, Gaudin V, Boccara M, 2009-** Génétique moléculaire des plantes, 6^{ème} édition, Quae, Paris, P198.
- Shweta S., KhadabadiS. &GaneshT.G.2012** - *In vitro* antimitotic, antiproliferative, DNA fragmentation and anticancer activity of chloroform and ethanol extract of *Revia hypocrateriformis*. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. S503-S506.
- Strachan T, Read. A, 2012-** Génétique moléculaire humaine, 4^{ème} édition, Lavosier, Paris, P716.
- Swynghedau w, 2008** - Biologie et génétique moléculaires, 3^{ème} édition, Dunod, Paris, P157.
- Teuscher E., Anton R & Lobstein A. 2005** - Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc.
- Thenmozhi A. &Mahadeva Rao U.S. (2011).** Evaluation of antimitotic activity of *Solanumtorvum* using *Allium Cepa* root meristematic Cells and anticancer activity using MCF-7- Human Mammary Gland Breast Adenocarcinoma Cell Lines. *Drug Invention Today*. 3 (12): 290-296.

Tom STRACHAN et Andrew READ, 1998- Génétique moléculaire humaine, 4^e édition,
c2012, Lavoisier SAS paris P 29-42 576-19 .3 .

Verdier P.,Lansiaux A . et Bailly C .,2001-Combretastatin A4 phosphate .Bulletin DU
Cancer ,88(3) : 235-239.

Vincent R, 2007, Génétique moléculaire, 2007- Edition, De Boeck université, des Minimes
39, Pris.

Walker, J. B., Kenneth, J., Treutlein, J., & Wink, M. 2004 - *Salvia* (lamiaceae) is not
monophyletic: Implications for the systmatics, radiation, and ecological pecializations
of *Salvia* and tribe Mentheae. American Journal of Botany , 91 (7), pp. 1115–1125.