



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BOUAB Aida

BOUCHELIL Aziza

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 Thym (*Thymus
vulgaris* L.) sur le méristème radiculaire 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



Merci à dieu de nous avoir donné la foi et de nous avoir guidés dans la prospection, pour la réalisation de ce travail.

Nous tenons à exprimer toutes nos reconnaissances à notre directeur de mémoire M. Mekhaldi Abdelkader (Université de Mostaganem). Nous le remercions de nous avoir encadrés, orientés, aidés et conseillés.

Un grand merci pour la dame responsable de laboratoire de biochimie qui nous a accueilli et aussi pour les conditions techniques mises à notre disposition afin de réaliser la partie de l'extraction des huiles essentielles.

Nous remercions de même la dame responsable de laboratoire de biologie végétale qui nous a aidés à réaliser la partie de l'activité antimitotique.

Nos remerciement s'adresse au Mr. DJIBAOUI Rachid d'avoir accepté de présider le jury de ce travail.

Nos remercions Mr. CHIBANI Abdelwahab d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études. Enfin, nous tiens à remercier toutes les personnes qui nous ont conseillé et relu lors de la rédaction de ce mémoire: A nos famille, nos amies, nos collègues en classe génétique fondamentale et appliquée et à la promotion

2017-2018.



Dédicace

*Je dédie ce modeste travail de fin
d'étude*

*A mes très chers parents pour vous
patience et le sacrifice qu'ils consenti
à mon égard pendant tout la durée
de mes études*

A mes frères et mes sœurs

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

A toute ma famille et mes amis (es)

A ma binôme et tout sa famille

*A tous nos professeurs qui mon ont
enseigné*

*A tous ceux qui ont contribué de près
ou de loin à la réalisation de ce*

A toute ma promotion 2018

Aïda

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail de fin
d'étude*

*Mon père : Ton soutien m'a permis de
ne pas faillir. Ta rigueur, ton souci
du travail bien fait resterons un
repère pour tes enfants.*

*Ma mère : Ce travail est le fruit de
tes conseils, de tes sacrifices et de tes
prières en ma faveur. Profonde
affection.*

A mes frères :

A mes sœur :

A toute ma famille et mes amis (es)

A ma binôme et tout sa famille

*A tous nos professeurs qui mon ont
enseigné*

A toute ma promotion 2018

Aziza

Résumé

Dans le cadre d'une valorisation des ressources naturelles, il nous a paru intéressant d'étudier l'action antimittotique d'extrait des feuilles de thym (*Thymus vulgaris*) poussant à l'état spontané au nord-ouest de l'Algérie.

Ce travail consiste à extraire leurs métabolites afin de pouvoir tester l'activité antimittotique de ces derniers. Une extraction des métabolites actifs par méthode hydroalcoolique a été menée, en utilisant le méthanol. Notamment, l'effet antimittotique des extraits des feuilles a été évalué *in vitro* sur des cellules méristématiques d'*Allium cepa*.

Le calcul des indices mitotiques et des indices des phases a montré une efficacité comparable à celle de la colchicine utilisée comme témoin positif. Un effet mitodépresseur d'extrait de *Thymus vulgaris* a été constaté sur la division cellulaire à la concentration 0.12%. D'autre part, la colchicine a présenté d'importantes aberrations chromosomiques dues à des effets inhibiteurs sur les cellules méristématiques d'oignon.

Dans le but de comparer ces indices avec un témoin négatif des cellules non traitées a révélé une différence importante.

Nous avons conclu suite à ces résultats que l'extrait des feuilles *Thymus vulgaris* étudiées représente une source prometteuse dans la production des substances naturelles d'intérêt thérapeutique antimittotique.

Mots clés: *Thymus vulgaris* ; *Allium cepa* ; colchicine ; antimittotique ; aberrations chromosomiques

Abstract

In the framework of a valorization of the natural resources, it seemed interesting to us to study the antimittotic action of thyme extract (leaves), growing in the spontaneous state in the north-west of Algeria.

This work involves extracting their metabolites in order to test the antimittotic activity of the latter. An extraction of the active metabolites by hydroalcoholic method conducted using methanol. In particular, the antimittotic effect of leaf extracts was evaluated *in vitro* on meristematic cells of *Allium cepa*.

The calculation of mitotic indices and phase indices showed efficacy comparable to that of colchicine used as a positive control. A mitodepressive effect of *Thymus vulgaris* extract was found on cell division at 0.12% concentration. On the other hand, colchicine exhibited significant chromosomal aberrations due to inhibitory effects on meristematic onion cells.

In order to compare these clues with a negative control untreated cells revealed a significant difference.

We concluded from these results that the extract of the *Thymus vulgaris* leaves studied represents a promising source in the production of natural substances of antimetabolic therapeutic interest.

Keywords : *Thymus vulgaris* ; *Allium cepa* ; colchicine ; antimetabolic ; chromosomal aberration

ملخص:

إنه من المثير للاهتمام وفي إطار تثمين الموارد الطبيعية دراسة الفعل المضاد (المثبط) للإنقسام الخلوي وذلك لمستخلص أوراق نبات الزعتر (*Thymus vulgaris*) الذي ينمو تلقائياً في مناطق شمال غرب الجزائر.

ينطوي هذا العمل على استخلاص المواد الأيضية من هذا النبات لأجل اختبار نشاطها المثبط للإنقسام. تمّ استخدام الميتانول كمذيب عضوي لاستخلاص المواد العضوية النشطة. تم تقييم مدى تأثير المستخلص الأيضي لأوراق نبات الزعتر على النسيج الإنشائي للقمم النامية لجذور نبات البصل.

أظهرت حسابات مؤشر الإنقسام الخلوي و مؤشر أطوار الإنقسام فعالية مماثلة لتلك المستخدمة في حالة الكولشيسين عند اعتبار هذا الأخير كشاهد إيجابي. تم العثور على تأثير الإنقسام من المستخلصات الغدة الصعترية الشائع على انقسام الخلية بتركيز 0.12٪. كما بدى واضحاً من أن الكولشيسين قد ساهم في ظهور تشوهات كروموزومية واضحة ناتجة عن تثبيط انقسام الخلايا الإنشائية على مستوى قمم جذور البصل.

من أجل مقارنة هذه القرائن مع السيطرة السلبية كشفت الخلايا غير المعالجة فرقا كبيراً.

خلصنا من هذه النتائج إلى أن مستخلص أوراق نبات الزعتر يمثل مصدراً واعداً في إنتاج المواد الطبيعية ذات الأهمية العلاجية وذلك من حيث تثبيطها لانقسام الخلايا ذات التشوهات الغير مرغوب فيها.

الكلمات الدالة:

نبات الزعتر – نبات البصل – الكولشيسين – تثبيط الإنقسام الخلوي – التشوهات الكروموزومية

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification botanique de <i>Thymus vulgaris</i>	3
Tableau 2: Teneur en polyphénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du <i>Thymus vulgaris</i>	6
Tableau 3: Principaux constituants des microtubules.....	14
Tableau 4: Principales kinases cyclines-dépendantes (CdKs) et leur rôle dans la régulation du cycle cellulaire.....	20
Tableau 5 : Les rendements en huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i>	44
Tableau 6 : Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d' <i>A. cepa</i> L.....	47
Tableau 7: Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d' <i>A. cepa</i> L. traitées par la colchicine à 0.2% comparé au témoin (T).....	48
Tableau 8 : Index mitotique (IM%) et valeur limite de cytotoxicité (VLC %) des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par la solution aqueuse de colchicine comparés au témoin (T).....	49
Tableau 9 : Pourcentage des aberrations rencontrées chez les cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par la colchicine (0.2%) comparé au témoin (T).....	49
Tableau 10: Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d' <i>A. cepa</i> L. traitées par l'extrait aqueux de <i>Thymus vulgaris</i> L. (feuilles) à 0.12% comparé au témoin (T).....	51
Tableau 11 : Index mitotique (IM%) et valeur limite de cytotoxicité (VLC %) des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par l'extrait aqueux de <i>Thymus vulgaris</i> L. (feuilles) à concentration 0.12% comparé au témoin (T).....	52
Tableau 12 : Pourcentage des aberrations rencontrées chez les cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par de concentration 0.12% de l'extrait aqueux de <i>Thymus vulgaris</i> L. (feuilles) comparé au témoin (T).....	52
Tableau 13 : Pourcentage de vides nucléaires par rapport au nombre de prophases observées chez des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par l'extrait aqueux de <i>Thymus vulgaris</i> L. (feuilles) à concentration 0.12% comparé au témoin (T).....	53

Liste des figures

Figure 1: Aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris</i> L.....	4
Figure 2: Description de la structure d'un chromosome.....	9
Figure 3: Différents types de division cellulaire.....	10
Figure 4: Evènements observables durant les phases du cycle cellulaire.....	10
Figure 5: La phase G ₂ de l'interphase dans une cellule animale.....	12
Figure 6 a): Dynamique de la formation des microtubules.....	14
Figure 6 b): Les protéines motrices des microtubules.....	14
Figure 7: A) Représentation schématique d'une cellule en prophase. B) Structure d'un chromosome.....	15
Figure 8: Représentation schématique de la prométaphase.....	16
Figure 9: Représentation schématique du fuseau mitotique en métaphase.....	17
Figure 10: Représentation schématique d'une cellule en début et à la fin d'anaphase B.....	17
Figure 11: Représentation schématique d'une cellule en télophase.....	18
Figure 12: La cytokinèse dans la cellule animale et dans la cellule végétale. (a) Segmentation d'une cellule animale (zygote d'oursin) (MEB) ; (b) Formation de la plaque cellulaire dans une cellule végétale (MET).....	19
Figure 13: Contrôle du cycle cellulaire par les « cyclin-dependent kinases » ou Cdk. A) Succession des différentes phases du cycle cellulaire et leurs points de contrôle (en gras). B) Niveau des différents complexes Cdk-cycline au cours du cycle cellulaire.....	21
Figure.14: Mode d'action simplifié des Cycline / Cdk.....	21
Figure.15: Principaux sites d'action des antimitotiques.....	24
Figure 16: Agents alkylants.....	25
Figure 17 : Structure du 5-fluorouracile.....	26
Figure 18 : Structures des camptothécines.....	27
Figure 19: Structures des inhibiteurs de la topoisomérase II.....	28
Figure 20: Colchicum autumnale.....	29
Figure 21: Structure de la colchicine.....	29
Figure 22 : Photo-isomérisation de la colchicine.....	30
Figure 23: Schéma illustrant le mécanisme de doublement des chromosomes.....	32
Figure 24: Zonation de l'apex racinaire.....	33
Figure 25: La plante et les feuilles de <i>Thymus vulgaris</i> L.....	35
Figure 26 : Les feuilles broyées à l'aide d'un moulin électrique. a- Les feuilles séchées ; b- La poudrebroyée.....	36

Figure 27: Placés des bulbes d'oignon (<i>Allium cepa</i>) dans des récipients remplis d'eau de façon.....	36
Figure 28: A) Entraînement à la vapeur d'eau utilisé pour l'extraction des huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i> L. B) Séparation de la phase huileuse de la phase aqueuse dans l'ampoule de décantation. C) L'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> L.....	37
Figure 29: A- Schéma de dispositif de l'extraction sous reflux ; B- Dispositif de l'extraction sous reflux.....	38
Figure 30: A) L'extrait filtré sur papier filtre ; B) Rota vapeur utilisé pour le séchage des échantillons après l'extraction ; C) L'extrait végétal après séchage au Rota vapeur.....	38
Figure 31: Protocole de préparation d'extrait méthanoïque sous reflux.....	39
Figure 32: Schéma d'un protocole expérimental utilisant les apex racinaires d' <i>Allium cepa</i> L. comme modèle pour l'évaluation de l'activité antiméiotique.....	43
Figure 33: Taux d'humidité de l'espèce <i>Thymus vulgaris</i> L.....	44
Figure 34: a) Bulbes d'oignon après croissance des racines. b) Les méristèmes forme une petite tâche visible à l'œil nu.....	46
Figure 35: Cellules méristématiques racinaires d' <i>Allium cepa</i> en division régulière et normale : interphase, prophase, métaphase, anaphase, début de télophase, fin de télophase.....	47
Figure 36: Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par la colchicine (0.2%) comparé au témoin (T).....	48
Figure 37: Taux d'aberrations rencontrées chez des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par la colchicine à concentration 0.2%, comparé aux cellules du témoin (T).....	50
Figure 38: Types d'anomalies rencontrées chez des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par une solution aqueuse de colchicine à concentration 0.2%.....	50
Figure 39: Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par l'extrait aqueux de <i>Thymus vulgaris</i> L.(feuilles) à concentration 0.12% comparé au témoin (T).....	51
Figure 40: Taux d'aberrations rencontrées chez des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par l'extrait aqueux de <i>Thymus vulgaris</i> L. (feuilles) à concentration 0.12%, comparé aux cellules du témoin (T).....	53
Figure 41 : Pourcentage de vides nucléaires par rapport au nombre de prophases observées chez des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par l'extrait des feuilles de <i>Thymus vulgaris</i> L. à concentration 0.12% comparé au témoin (T).....	53

Figure 42: Types d'anomalies rencontrées chez des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par l'extrait aqueux de <i>Thymus vulgaris</i> L. (feuilles) à concentration 0.12%.....	54
Figure 43 : Les étapes nécessaires pour préparation de carmin acétique. a) Ébullition au bain-marie ; b) Agitateur ; c) Filtration ; d) Conserver dans des flacons.....	(Annexes)
Figure 44: Les tissus des cellules méristématiques racinaires d' <i>Allium cepa</i> en division régulière et normale.	(Annexes)
Figure 45: Les tissus des cellules méristématiques racinaires d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par la colchicine à concentration 0.2%.....	(Annexes)
Figure 46: Les tissus des cellules méristématiques racinaires d' <i>Allium cepa</i> L. traitées par l'extrait aqueux de <i>Thymus vulgaris</i> L. (feuilles) à concentration 0.12%.....	(Annexes)

Liste d'abréviations

% : Pourcentage

°C : Degrés Celcius

µg EAG/mg : Microgramme d'équivalen acide gallique par milligramme d'extrait

µM : Micromètre

A : Anaphase

A^{3*} : trébles stars

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADP: Adenosine Diphosphate

AMP : anaphases multipolaires

ARN : Acide Ribonucléique

ATP: Adénosine Triphosphate

C : Cassure chromosomique

Ca: Calcium

Cc : Chromosome à aspect collant

CDKs: Cyclin Dependent Kinases

Cell At :cellules atypiques

Cell bnl : cellule binucléée

Cm : Centimètre

C-mét :C-mitose

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

CQ : Centre Quiescent

Ct : Chromosome en retard

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DSB : double-strand break

Fig : Figure

Frgt : fragmentation

G : Gap

g : gramme

GTP: Guanosine Triphosphate

H: Heure

HCl : Chlorhydrique

HE : Huile Essentielle

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

IA : Index des aberrations

IM : Index Mitotique

IP: Index des phases

kDa : kilodalton

Kg : Kilogramme

M : métaphase

m/v : masse à volume

m: mètre

M: Mitose

MEB : Le microscope électronique à balayage

MET : Le microscope électronique à transmission

Mg : Magnésium

mg : milligramme

Min : Minute

ml: millilitre

mm: Millimètre

MNC : Micronoyaux

MTOC : Centre organisateur des microtubules (Micro Tubule Organizing Center)

N^{bre} : Nombre

NCI : National Cancer Institute (institut national du cancer).

Nd : Noyaux déformés

nm : nanomètre

P : pont chromosomique

P: prophase

p53 : Protéine 53

PCN : pycnose

PM : prométaphase

RHE : Rendement en huile essentielle

S : Synthèse

SM : Spectrométrie de Masse

SMC : maintenance structurelle des chromosomes (Structural Maintenance of Chromosomes)

Té : Télaphase

T : Témoin

UV : Ultra Violet

Vn : Vide nucléaire

V: Volume

VLC : Valeur limite de cytotoxicité

α : alpha

β : bêta

γ : Gamma

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie I : Partie théorique

Chapitre I : Rappel botanique

1. Rappel botanique.....	3
1.1. La plante <i>thymus vulgaris</i> L.....	3
1.1.1. Origine et distribution de la plante.....	3
1.1.2. Systématique.....	3
1.1.3. Noms vernaculaires.....	4
1.1.4. Description botanique.....	4
1.1.5. Propriétés du thym.....	4
1.1.6. Principes actifs du thym.....	5
1.1.7. Composition chimique.....	5
1.1.8. Utilisation des feuilles de <i>thymus vulgaris</i>	6

Chapitre II : Les différentes phases de la division cellulaire et Régulation

1. Rappel chromosomique.....	8
1.1. Découverte du chromosome.....	8
1.1.1. Constituants moléculaires.....	8
1.1.2. La structure chromosomique.....	9
2. Les différents types de division cellulaire.....	9
3. Un modèle de base du cycle de division cellulaire.....	10
3.1. La Phase G ₁	11
3.2. La phase S.....	11
3.3. La phase G ₂	12
3.4. La phase M ou mitotique.....	13
3.4.1. La prophase.....	15
3.4.2. La prométaphase.....	16
3.4.3. La métaphase.....	16
3.4.4. L'anaphase.....	17
1) L'anaphase A.....	17
2) L'anaphase B.....	17
3.4.5. La télophase.....	18
4. La régulation du cycle cellulaire.....	19

A – Contrôle de régulation du cycle cellulaire.....	20
B – Les points de contrôle.....	20

Chapitre III : Les antimitotiques

1. Les antimitotiques.....	23
2.1. Classification des antimitotiques et mécanisme d'action.....	24
2.1.1. Agents agissant directement sur l'ADN.....	25
2.1.1.1. Agents alkylants.....	25
2.1.1.2. Agents scindants.....	25
2.1.2. Action sur les enzymes.....	26
2.1.2.1. Antimétabolites.....	26
2.1.2.2. Inhibiteurs des topoisomérases.....	26
2.1.2.2.1. Inhibiteurs de la topoisomérase I.....	27
2.1.2.2.2. Inhibiteurs de la topoisomérase II.....	27
2.1.3. Action sur les microtubules : poisons du fuseau mitotique.....	28
2.1.3.1. Inhibiteurs d'assemblage de la tubuline en microtubules.....	28
2.1.3.1.1. La colchicine.....	28
a) La découverte de la colchicine.....	28
b) La botanique.....	29
c) La chimie de la colchicine.....	29
d) Caractéristiques organoleptiques et chimiques de la colchicine.....	30
2.1.3.1.1.1. Action de la colchicine sur la mitose.....	30

Chapitre IV : Structure du méristème

1. Etude de l'activité cytotatique.....	33
1.1. Rappel sur la structure et le fonctionnement du méristème racinaire.....	33

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre V : Matériel et Méthodes

1. Matériel et Méthodes.....	35
1.1. Matériel végétal.....	35
1.1.1. Préparation des échantillons pour l'extraction.....	35
1.2. Méthodes utilisées.....	36
1.2.1. Détermination de la teneur en eau.....	36
1.2.2. Extraction des huiles essentielles.....	37
1.2.2.1. Détermination du rendement.....	37

1.2.3. Extraction sous reflux.....	38
1.3. Étude de l'activité antimittotique.....	39
1.3.1. Prélèvement.....	39
1.4. Analyse cytogénétique.....	40
1.4.1. Fixation et conservation.....	40
1.4.2. Hydrolyse.....	40
1.4.3. Coloration.....	41
1.4.4. Préparation des lames.....	41
1.4.5. Analyse des données antimittotiques.....	41
1.4.5.1. Index mitotique (IM).....	41
1.4.5.2. Index des phases (IP).....	42
1.4.5.3. Index des aberrations (IA).....	42
1.4.5.4. Valeur limite de cytotoxicité.....	42

Chapitre VI : Résultats et discussions

1. Détermination de teneur en eau.....	44
2. Détermination du rendement en huiles essentielles.....	44
3. Activité antimittotique.....	45
3.1. Action de témoins.....	46
3.2. Action de colchicine.....	48
3.3. Action de l'extrait de <i>Thymus vulgaris</i> L.....	51
Conclusion.....	61

Introduction

La plante est un organisme vivant qui existe depuis l'antiquité. Elle constitue un maillon très important et fondamental dans le cycle biologique de vie des autres organismes vivants tel que les animaux aussi bien les êtres humains (**Madi**, 2010). Puisqu'elles s'en servent pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses traditions superstitieuses et religieuses. Les propriétés odorantes et thérapeutiques des plantes étaient, déjà, connues par l'ancienne Egypte et en Chine (**Fellah et al.**, 2006). Le recours aux plantes médicinales pour se guérir a pris naissance depuis bien longtemps en médecine traditionnelle grec, romaine, indienne, chinoise et arabo-musulmane. Au niveau national et d'après une enquête réalisée dans le cadre d'une étude sur l'utilisation des plantes en médecine traditionnelle, 71% des personnes interrogées utilisent les plantes médicinales et aromatiques pour se faire soigner. De nombreuses formes médicamenteuses à base de plantes ou de substances végétales ne cessent de croître à l'échelle mondiale (**Wicht et Anton**, 2003).

Le continent africain regorge des plantes médicinales très diversifiées (**Mangambu et al.**, 2010).

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 3 150 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.

Afin de contribuer à la valorisation des plantes médicinales locales réputées pour leurs vertus thérapeutiques, ce travail vise à étudier l'activité antimicrobienne de l'extrait des feuilles de Thym (*Thymus vulgaris* L.) sur le méristème racinaire de l'oignon (*Allium cépa* L.), Où le thym est appartenant à la famille des lamiacées qu'elle est parmi les familles de plantes les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante.

La sélection de cette plante s'est fondée sur les critères suivants : elle est parmi les plus populaires plantes aromatiques utilisées dans le monde entier, leur utilisation fréquente par nos populations dans le domaine culinaire et celui de la médecine traditionnelle, à côté du fait que leurs huiles essentielles sont utilisées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques, leurs efficacités dans le traitement symptomatique de troubles de l'appareil digestif supérieur reconnue traditionnellement, elles représentent récemment un sujet de recherche scientifique intéressant.

Notre travail est structuré en deux parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur quatre chapitres. Le premier chapitre correspond à la description botanique de plante étudiée, le deuxième est concerné un rappel sur les différentes phases de la division cellulaire et sa régulation, le troisième aborde les principales classes d'agents antiméiotiques, leurs modes d'action et leurs méthodes d'étude ainsi que la colchicine et le quatrième chapitre décrit la structure des méristèmes.

La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres, le premier (cinquième chapitre) présente le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail et le second (sixième chapitre) est réservé à la présentation et à la discussion de l'ensemble des résultats obtenus.

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale qui résumera l'ensemble de ces résultats.

Partie I : Partie théorique

Chapitre I : Rappel botanique

1. Rappel botanique :

1.1. La plante *Thymus vulgaris* L. :

Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen (**Morales**, 2002). Comme beaucoup de labiées elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est sans conteste *Thymus vulgaris* L. (**Amiot**, 2005).

Le nom "Thymus" dérive du mot grec «thymos» qui signifie parfumer à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (**Pariente**, 2001). L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connue surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (**Iserin**, 2001).

1.1.1. Origine et distribution de la plante :

Thymus vulgaris L. est indigène de l'Europe du sud, on le rencontre depuis la moitié orientale de la péninsule ibérique jusqu'au Sud-Est de l'Italie, en passant par la façade méditerranéenne française (**Özcan** et **Chalchat**, 2004 ; **Amiot**, 2005). Il est maintenant cultivé partout dans le monde comme thé, épice et plante médicinale (**Kitajima et al.**, 2004).

Le *Thymus vulgaris* se présente toujours dans un état sauvage en plaines et collines, comme la lavande, le romarin, la sauge et beaucoup d'autres plantes sauvages (**Kaloustian et al.**, 2003). Cette plante spontanée pousse abondamment dans les lieux arides, caillouteux et ensoleillés des bords de la mer à la montagne (**Poletti**, 1988).

1.1.2. Systématique :

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure (**Morales**, 2002) synthétisée dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Classification botanique de *Thymus vulgaris* L. (**Morales**, 2002)

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Labiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i> L.

1.1.3. Noms vernaculaires :

Arabe : zaatar (زعتر)

Anglais : Common thyme

Français : Thym vulgaire

1.1.4. Description botanique :

Thymus vulgaris L. est un arbuste aromatique à tiges ramifiées, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Il possède de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur vert foncés, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose. *Thymus vulgaris* est d'ailleurs caractérisé par un polymorphisme floral qui a été au moins aussi étudié que son polymorphisme chimique (**Bruneton, 1999 ; Morales, 2002**) (**fig. 1**).

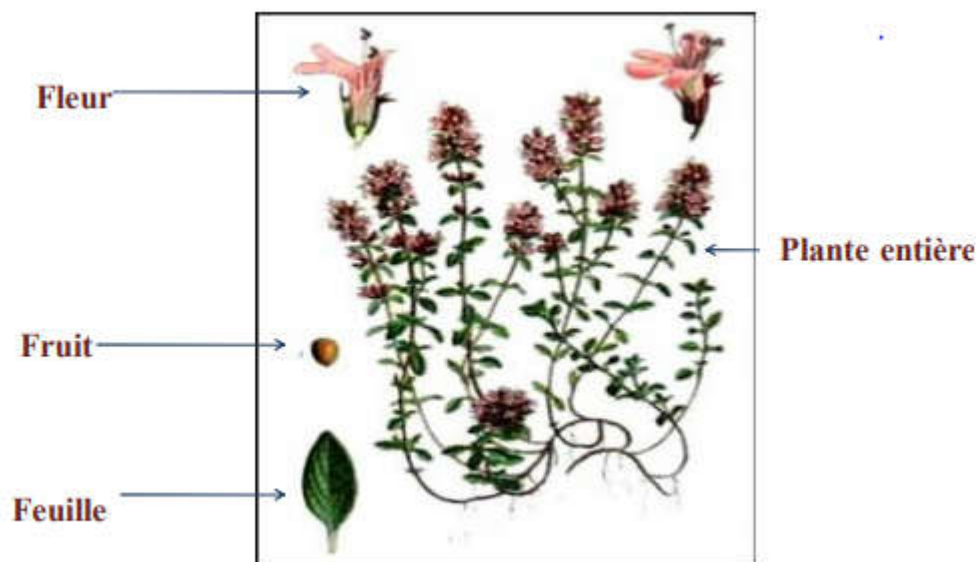


Figure 1 : Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L. (**Iserin, 2001**).

1.1.5. Propriétés du thym :

- ✓ Assaisonnement des aliments et des boissons ;
- ✓ Antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures ;
- ✓ Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermifuges et vermicides (**Bazylko et Strzelecka, 2007**) ;

- ✓ Propriétés antivirales, antifongiques, anti inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) (**Jiminez-Arellanes et al.**, 2006) ;
- ✓ Propriétés anthelminthiques (**Al-Bayati**, 2008) ;
- ✓ Propriétés antioxydantes (**Takeuchi et al.**, 2004 ; **Golmakani et Rezaei**, 2008) en raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons *Thunnus thymnus* durant leur stockage (**Selmi et Sadok**, 2008).
- ✓ Selon **Bonnafous**(2013), la commission européenne pour la Santé et les consommateurs approuvent l'usage de l'HE des feuilles de *Thymus vulgaris* en cosmétique comme agent antimicrobien, antioxydant et conservateur et celui de l'hydrolat pour l'entretien de la peau. Cependant, cette commission ne donne aucune information spécifique concernant le chémotype et/ou la composition chimique des HE mentionnées ;
- ✓ Le thymol et carvacrol contenus dans l'huile essentielle et dans l'hydrolat, sont responsables de l'activité antitussive et spasmolytique du thym.

1.1.6. Principes actifs du thym :

- ✓ **Les acides phénoliques** : acide caféique (**Cowan**, 1999), acide rosmarinique (**Takeuchi et al.**, 2004) ;
- ✓ **Les flavonoïdes** : hespéridine, eriotrécine, narirutine (**Takeuchi et al.**, 2004), lutéoline (**Bazylko et Strzelecka**, 2007)
- ✓ **Les polyphénols** : tanins (**Cowan**, 1999 ; **Özcan et Chalchat**, 2004).

1.1.7. Composition chimique :

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection). L'hybridation facile de l'espèce mène à une grande variabilité interspécifique, qui affecte l'homogénéité du rendement d'extrait et sa composition en produits chimique (**Balladin et Headley**, 1999 ; **Amiot**, 2005).

La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré (**Bruneton**, 1999) ; l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été analysée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à une spectrométrie de masse (SM), 30 composés ont été identifiés et caractérisés, les plus abondants sont respectivement : thymol (44,4 - 58,1 %), p-cymène (9,1 - 18,5 %), α -terpinène (6,9 - 18,0 %), carvacrol (2,4 - 4,2 %), linalol (4,0 - 6,2 %). La caractéristique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* était sa teneur élevée du thymol

(Guillén et Manzanos, 1998 ; Balladin et Headley, 1999 ; Hudaib et al., 2002 ; Bouhdid et al., 2006).

Le contenu phénolique total, flavonoïdes, catéchine, et anthocyanine dans l'infusion aqueuses préparée du *thymus vulgaris* a été déterminé par des méthodes spectrophotométriques (Kulišic et al., 2006). Le tableau 2, ci-dessous résume les résultats.

Tableau 2 : Teneur en polyphénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du *Thymus vulgaris* (Kulišic et al., 2006)

Plante	Polyphénols totaux	Flavonoïdes	Non-flavonoïdes	Catéchines	Anthocyanines
<i>Thymus vulgaris</i>	33.3	25.0	8.3	1.2	6.7

De nombreuses études ont confirmé que les espèces qui appartiennent à la famille des Lamiaceae sont une bonne source d'acide rosmarinique, l'identification des composés polyphénoliques dans l'infusion aqueuse de *Thymus vulgaris* par analyse HPLC a montré une présence dominante d'acide rosmarinique (17,45 mg/g = 1,7 % de la masse sèche de *Thymus vulgaris*) et un autre composé significatif est l'eriocitrin (1,96 mg/g) (Kulišic et al., 2006).

D'autres composants ont été détectés seulement en traces, l'acide caféique (0,02 mg/g) et l'acide p-hydroxybenzoïque. La composition en vitamines a été déterminée et révèle la présence de la vitamine E (α-tocophérol) (4,4 mg/Kg) (Guillén et Manzanos, 1998 ; Kulišic et al., 2006).

1.1.8. Utilisation des feuilles de *Thymus vulgaris* :

Thymus vulgaris est une des plus populaires plantes aromatiques utilisées dans le monde entier, ces applications sont très vastes et touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (Adwan et al., 2006). De plus son huile essentielle est utilisée dans les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Jordán et al., 2006).

L'épice *Thymus vulgaris* est intensivement cultivé en Europe et aux Etats-Unis pour l'usage culinaire dans l'assaisonnement des poissons, volailles, des potages et des légumes (**Özcan** et **Chalchat**, 2004).

Les feuilles et la sommité fleurie de *Thymus vulgaris* sont traditionnellement utilisées par voie orale dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructation, flatulence ainsi que dans le traitement symptomatique de la toux et de la bronchite (**Bruneton**, 1999).

Ces feuilles sont énumérées dans la pharmacopée de fines herbes allemande et britannique ont été employée en tant que branchospasmodique, expectorant et antibactérien. On dit que la tisane des feuille de *Thymus vulgaris* favorise le repos et le sommeil (**Kitajima et al.**, 2004).

En usage local, elles sont traditionnellement utilisées en cas de nez bouché, de rhume, pour le traitement des petites plaies après lavage abondant, pour soulager les piqûres d'insectes et les douleurs rhumatismales, en bain de bouche pour l'hygiène buccale (**Poletti**, 1988 ; **Brunton**, 1999) ainsi comme additif de bain préparé par décoction qui stimule l'écoulement de sang vers la surface du corps humain, soulageant de ce fait la dépression nerveuse (**Özcan** et **Chalchat**, 2004).

L'huile essentielle de cette plante entre dans les formulations de diverses spécialités : pommades antiseptiques et cicatrisantes, sirops pour traitement des affections des voies respiratoires, préparation pour inhalation (**Bruneton**, 1999).

Chapitre II : Les différentes phases de la division cellulaire

1. Rappel chromosomique :

1.1. Découverte du chromosome :

Le terme chromosome a été proposé dès 1888 par *Waldeyer et al.*(1888). Pour désigner les éléments colorés visibles au cours de la division cellulaire et leur dénombrement a longtemps été difficile, du fait de l'enchevêtrement des chromosomes visibles à la métaphase et quelque peu erratique variant entre 16 et 24 pour le nombre haploïde et 32 à 48 pour le nombre diploïde en fonction des matériels et des techniques utilisées (coupes de tissus, écrasement sur lame ou «squash») (*Turpin et Leujeune*,1965; *Sandberg*, 1990).

Un consensus s'était peu à peu établi pour le nombre de 48 à tel point que le fait d'observer 46 et non 48 chromosomes dans des cellules hépatiques embryonnaires humains fit abandonner leurs recherches (*Hansen et al.*, 1888). En fait le nombre exact de 46 chromosomes somatiques humains a été établi en 1956 par *Tjio* et *Levan* qui utilisèrent des cultures de fibroblastes de poumons embryonnaires. Ces auteurs avaient bloqués les mitoses au stade métaphase par la colchicine, et tiré parti de l'utilisation du choc hypotonique découvert par hasard dans le laboratoire de *Hsu et al.* (1952) quelques années plutôt, *Ford et Hamerton* (1956) apportèrent rapidement la confirmation de la découverte de *Tjio et Levan* (1956) à partir de biopsies testiculaires.

1.1.1. Constituants moléculaires :

Le chromosome est un édifice formé par un ensemble organisé de molécules, au sein duquel une espèce, l'ADN, représente un constituant permanent. Des protéines, les histones, intimement associées à l'ADN et jouant un rôle essentiellement architectural, ont également un caractère de composant quasi permanent. Par contre, d'autres catégories moléculaires sont intégrées de façon transitoire au complexe chromosomique. Les diverses classes d'ARN synthétisés dans le noyau, appartiennent à ce groupe; ces ARN transcrits à partir de l'ADN du chromosome font partie intégrante de son architecture durant leur genèse. De même, nombre de protéines intervenant dans la réplication, la transcription ou encore les processus de condensation et de décondensation des chromosomes, lors de la mitose, de la méiose ou de l'interphase, figurent parmi les molécules dont l'insertion dans l'édifice chromosomique est soit transitoire soit réversible. En d'autres termes, le chromosome n'est pas une entité biochimique mais une entité cellulaire en équilibre dynamique (*Berkaloff et al.*, 1981).

1.1.2. La structure chromosomique :

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 (**fig.2**).

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.

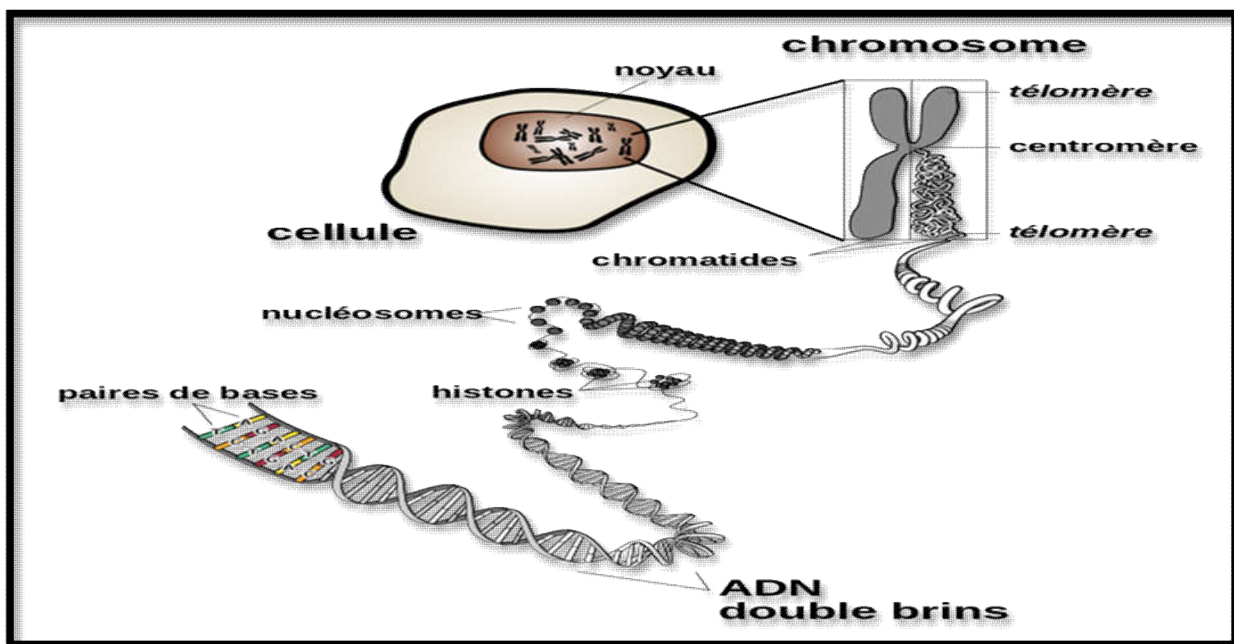


Figure 2 : Description de la structure d'un chromosome.
<https://fr.wikipedia.org/wiki/Chromosome> (Consulté le 25.04.2018).

2. Les différents types de division cellulaire:

La division cellulaire peut conduire à des résultats très différents selon l'espèce ou le stade de développement auquel elle a lieu (**fig.3**).

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.

La particularité de ces événements de division cellulaire, qui peuvent apparaître si différents, réside dans leur totale similitude. En effet, c'est à partir du même schéma moléculaire de division cellulaire que tous ces types de division cellulaire sont possibles. (*Galas et al.*, 2008).

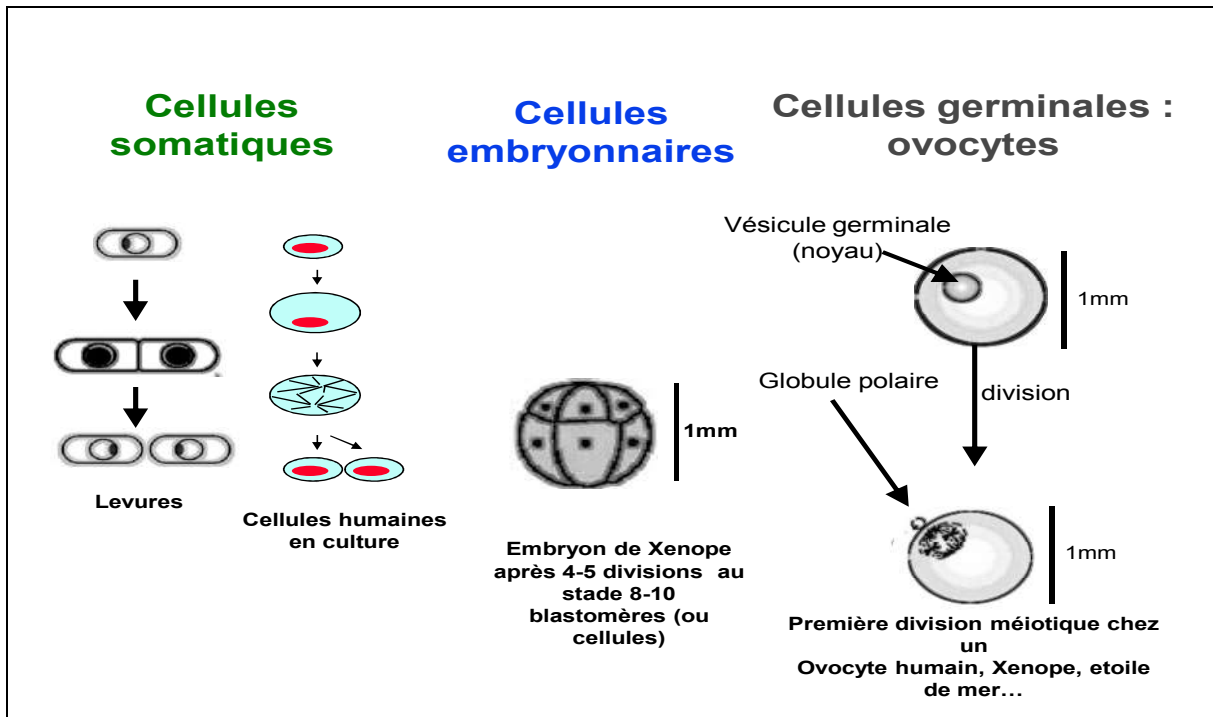


Figure 3

re 3 : Différents types de division cellulaire (Galas et al., 2008).

3. Un 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), de 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 sur la (fig.4) (Galas et al., 2008).

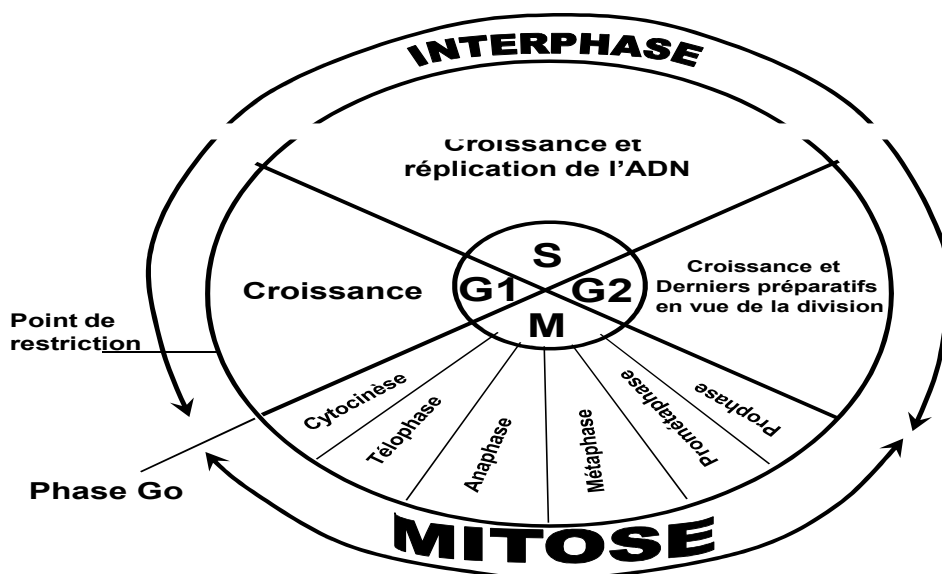


Figure 4 : Evènements observables durant les phases du cycle cellulaire. (Galas et al., 2008).

- L'interphase:

- ✓ L'interphase est la période comprise entre la fin d'une division et le début de la division suivante ;
- ✓ 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 ou (prémitotique) qui se succèdent dans ordre (**Maillet**, 2002).
- ✓ La durée de cette phase non proliférative varie en fonction de la nature et des conditions physiologiques de la cellule (**Maillet** et **Lemullois**, 2006).

3.1. La Phase G₁:

- ✓ Intervalle de temps qui s'écoule entre la fin de la mitose et le début de la phase suivante = phase de présynthèse ;
- ✓ Une phase de croissance cellulaire et la cellule prépare la duplication de l'ADN (synthèse d'enzyme de réplication) et accumulation des réserves pour la division cellulaire ;
- ✓ Durée variable (**Chevret**, 2015) ;
- ✓ Point de contrôle (Check point) en fin de phase G1, la protéine p53, vérifie l'intégrité du génome afin de permettre le passage en phase de synthèse (phase suivante) ;
- ✓ Les cellules ne se divisent plus, temporairement ou définitivement, in vivo ou in vitro, demeurent dans une phase précédant l'initiation de la synthèse d'ADN qui se déroule pendant la phase S. Ces cellules sont "bloquées" à une phase qualifiée de G0 afin de les différencier des cellules en phase G1 qui entrent en phase S (Une cellule qui ne se divise plus reste en phase G1 jusqu'à sa mort).
- ✓ C'est pendant cette période, que :
 - La cellule contrôle sa taille et son environnement
 - La cellule peut entrer dans l'état quiescent (quelques jours ou années)

3.2. La phase S :

- ✓ Phase de synthèse et de réplication de l'ADN et des histones (protéines basiques qui protègent l'ADN) ;
- ✓ La synthèse se fait dans le cytoplasme ;
- ✓ Les histones rentrent dans le noyau par les pores nucléaires et se combinent à l'ADN pour former les nucléosomes ;
- ✓ Elle aboutit à une duplication du stock ADN de la cellule, qui passe de n chromosomes (haploïde) à 2n chromosomes (diploïde) ;

- ✓ Cette duplication est la copie conforme de l'information génétique de base ;
- ✓ L'ADN polymérase, est une enzyme qui permet cette duplication ;
- ✓ Elle dure 6 à 8h, cette durée est constante pour un type de cellule donnée.

3.3. La phase G₂ :

- ✓ Phase de post-synthèse ;
- ✓ Les cellules s'assurent que la réplication de leur ADN est correcte ;
- ✓ Selon le résultat de la réplication, les « check point » permettent à la cellule soit d'entrer en mitose, soit d'entrer en apoptose (autodestruction cellulaire), soit de retarder l'entrée en mitose (blocage) ;
- ✓ Pour des cellules à croissance rapide, cette phase dure environ 4h, la cellule va finir sa croissance pour la division cellulaire ;
- ✓ Pendant cette période de « vérification », la cellule est tétraploïde de manière provisoire.
- ✓ Synthèse des facteurs de condensation de l'ADN : protéines SMC (*Chevret, 2015*).

Selon *Reece et al.*, (2012), ont donné un exemple. Cette dernière est représentée dans la (**fig. 5**) montre les détails de ce phase dans une cellule animale où :

- ☞ Le noyau est entouré de l'enveloppe nucléaire
- ☞ Le noyau contient un ou plusieurs nucléoles
- ☞ deux Centrosomes se forment à la suite de la réplication d'un centrosome unique. les centrosomes sont les zones des cellules animales qui organisent les microtubules du fuseau. Chaque centrosome contient une paire de centrioles.
- ☞ la réplication des chromosomes a déjà eu lieu durant la phase S, mais on ne peut pas les distinguer: ils ne se présentent pas encore sous la forme condensée.

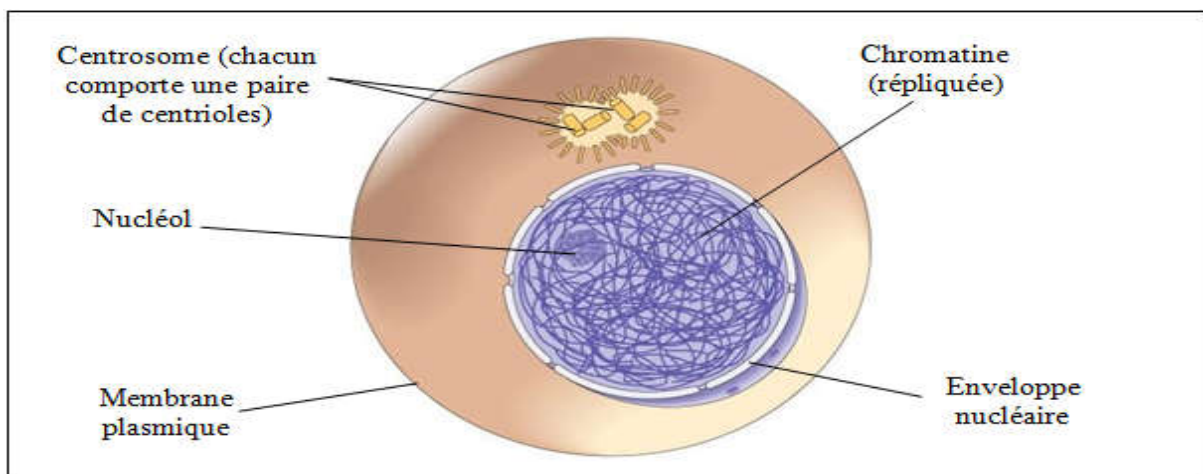


Figure 5 : La phase G₂ de l'interphase dans une cellule animale. (*Reece et al.*, 2012).

3.4. La phase M ou mitotique :

- ✓ La mitose est la division cellulaire ;
- ✓ Sa durée est inférieure à 1h ;
- ✓ Mise en place du fuseau mitotique ou le fuseau de division (Achromatique) (**Chevret, 2015**) ;
 - ☞ Responsable ségrégation des chromosomes ;
 - ☞ Mise en place à partir des centrosomes ou MTOC, centre organisateur des microtubules.
- ✓ Deux stocks de n chromosomes se séparent avec une distribution exacte entre les deux cellules filles formant ainsi leur génome (identique) ;
- ✓ Deux stocks de n chromosomes se séparent avec une distribution exacte entre les deux cellules filles formant ainsi leur génome (identique) ;
- ✓ la division cellulaire concerne aussi celle du noyau ou **caryocinèse**, du cytoplasme et le partage des organites cellulaires, c'est-à-dire la **cytodiérèse** ou **cytocinèse** et la division.

❖ La caryocinèse :

La caryocinèse comprend cinq phases : la Prophase, la Prométaphase, la métaphase, l'anaphase et télophase. Elle est produite grâce au fuseau mitotique constitué de microtubules (**Alberts et al., 1997**).

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'hétérodimères alpha/bêta tubuline (**fig.6**) (**Evans et al., 1985**). Ce cylindre comporte deux extrémités (**Amos et Baker, 1979 ; Nogales et al., 1999**):

- **Extrémité plus (+)** où la vitesse d'addition des monomères de tubuline est plus élevée.
- **Extrémité moins (-)** où la vitesse de dissociation des monomères de tubuline est plus élevée.

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); 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;
- Leur alignement en métaphase;
- La séparation des chromatides durant la mitose (*Verdier-Pinard et al.,2001*).

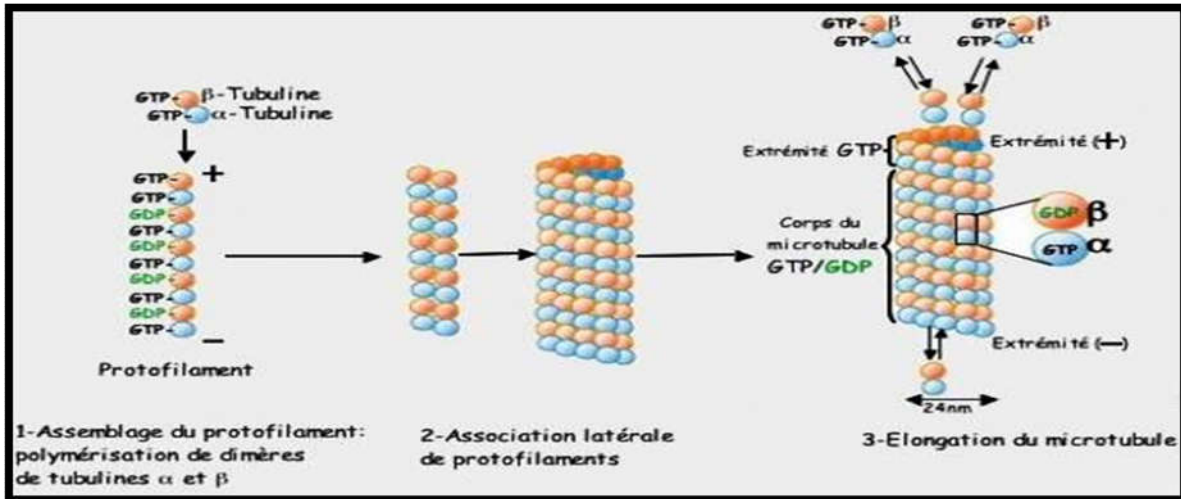


Figure 6a: Dynamique de la formation des microtubules (*Verdier-Pinard et al.,2001*).

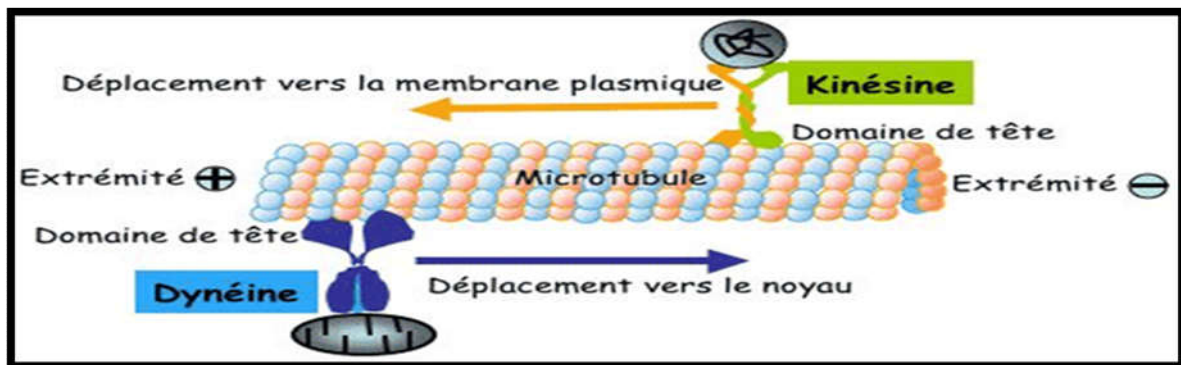


Figure 6 b: Les protéines motrices des microtubules (*Verdier-Pinard et al.,2001*).

Les principaux constituants des microtubules regroupés dans le tableau 3.

Tableau 3: Principaux constituants des microtubules (adapté d'après *Alberts 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 α	450	50 KDa	GTP	Indispensable
Tubuline β	445	50 KDa	Mg ⁺⁺	Activateur
			Ca ⁺⁺	Inhibiteur
2. Protéines motrices				
Kinésines		dynéine		Rôle
Sedéplacent vers l'extrémité (+) du microtubule.	vers (+)	sedéplacent vers l'extrémité (-) du microtubule.		Transport des organites et des vésicules vers différents compartiments de la cellule.

3.4.2. La prométaphase :

On peut considérer qu'elle fait partie de la prophase mais certains scientifiques préfèrent la distinguer.

- ✓ La membrane nucléaire a complètement disparu ;
- ✓ La formation du fuseau achromatique ;
- ✓ Le début d'alignement des chromosomes ;
- ✓ Fuseau mitotique entre en contact avec les chromosomes par l'intermédiaire des kinétochores (**fig.8**).

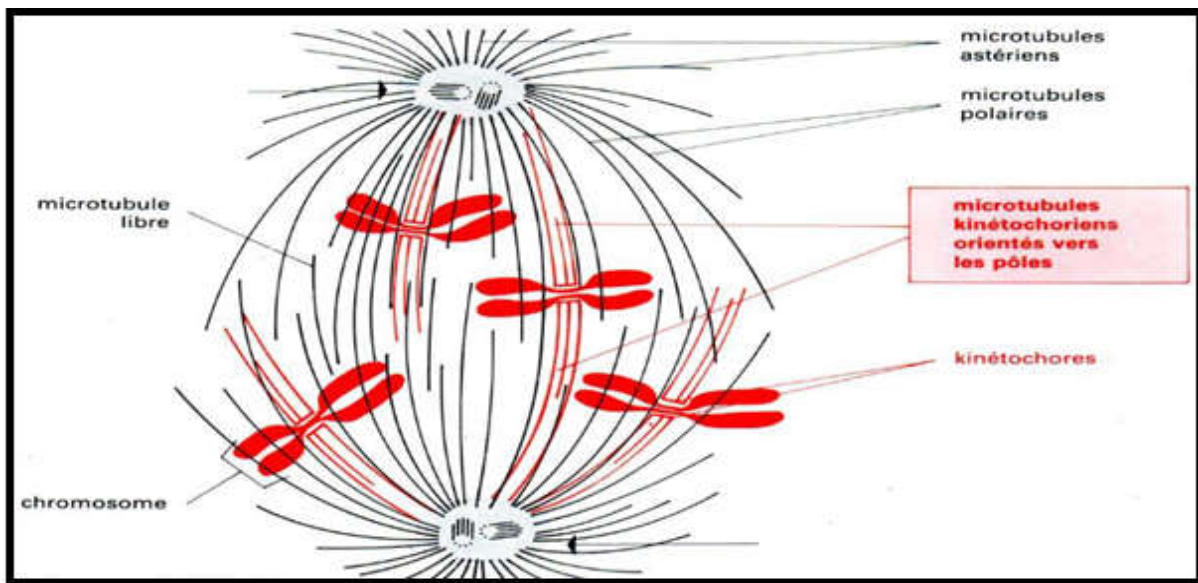


Figure 8: Représentation schématique de la prométaphase (*Berkaloff et al., 1981*).

2.4.3. La 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 (**Fig.9**):

- **Les microtubules de l'aster** : interviennent dans la mise en place du fuseau : ils rayonnent à partir de chaque centrosome et déterminent le plan de la cytodivision ;
- **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), qui attachent les chromosomes aux microtubules, les dirigent vers le plan équatorial de la cellule.

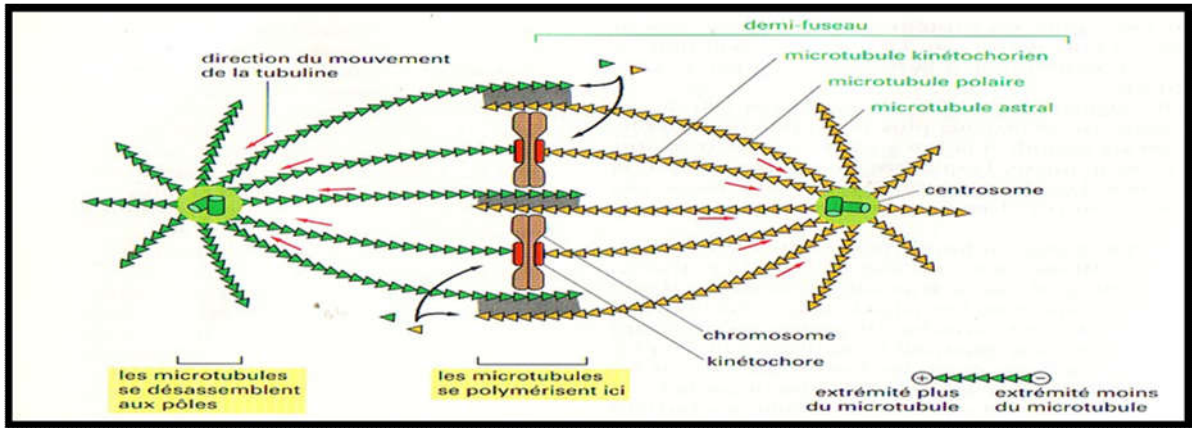


Figure 9: Représentation schématique du fuseau mitotique en métaphase (Alberts et al., 1997).

3.4.4. L'anaphase :

A l'anaphase se 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) :

1) L'anaphase A.

- ✓ La ségrégation des deux chromatides sœurs de chaque chromosome ;
- ✓ La migration des chromosomes vers les pôles mitotiques avec raccourcissement des Microtubules kinétochoriens ;

2) L'anaphase B.

- ✓ l'allongement de la forme générale du fuseau mitotique ;
- ✓ Elongation des microtubules polaires entraînant un allongement de la cellule (fig.10a), qui va par la suite se contracter à l'équateur grâce à la formation et la contraction d'un anneau d'Actomyosine (fig.10b).

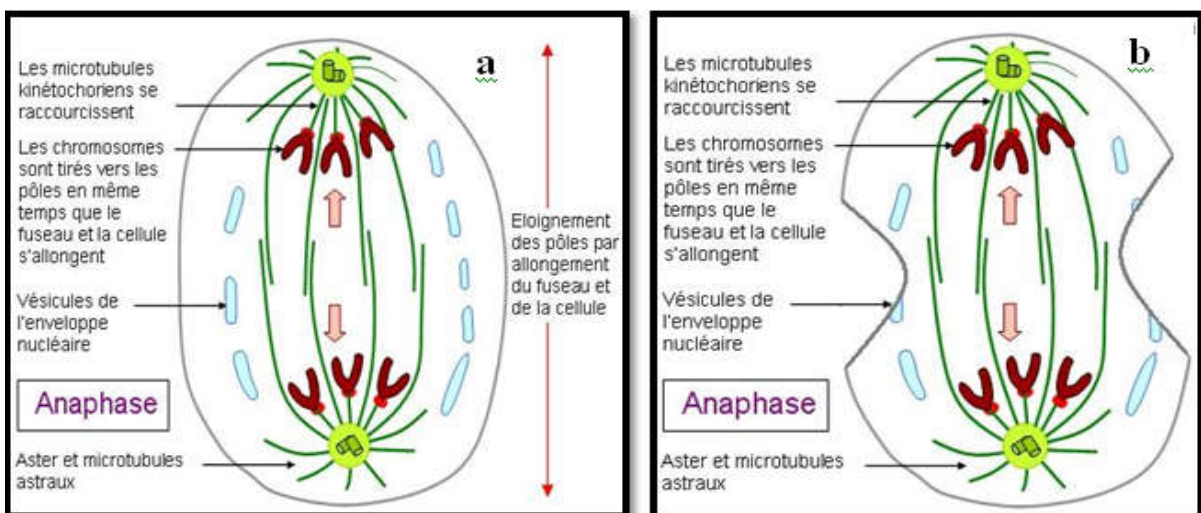


Figure 10: Représentation schématique d'une cellule en début et à la fin d'anaphase B (Dolisi, 2009).

La transition entre l'anaphase B et la télophase est difficile à définir de manière absolue. Dans l'équipe, les cellules sont considérées comme étant encore en anaphase B lorsque les chromatides sœurs regroupés aux deux pôles de la cellule présentent l'aspect d'une comète et que l'ingression du sillon de clivage n'est pas complète. Lorsque le marquage de l'ADN donne une forme sphérique et que les microtubules du fuseau central semblent associés, nous considérons que les cellules sont en télophase.

3.4.5. La télophase :

Le terme « télophase » dérive du grec «telos» signifiant « fin ».

Durant cette période (**fig.11**) :

- ✓ Elle débute par l'arrêt de la migration des chromosomes qui se regroupent en éventail aux pôles cellulaires ;
- ✓ Le fuseau mitotique va disparaître petit à petit ;
- ✓ Les deux lots de chromosomes se décondensent et reviennent à l'état de chromatine ;
- ✓ Les fragments de réticulum endoplasmique s'assemblent pour former une enveloppe nucléaire ;
- ✓ Les nucléoles se reforment au contact de segments déterminés des chromosomes appelés centres organisateurs de nucléoles ;
- ✓ Le début de la cytotédièrese.

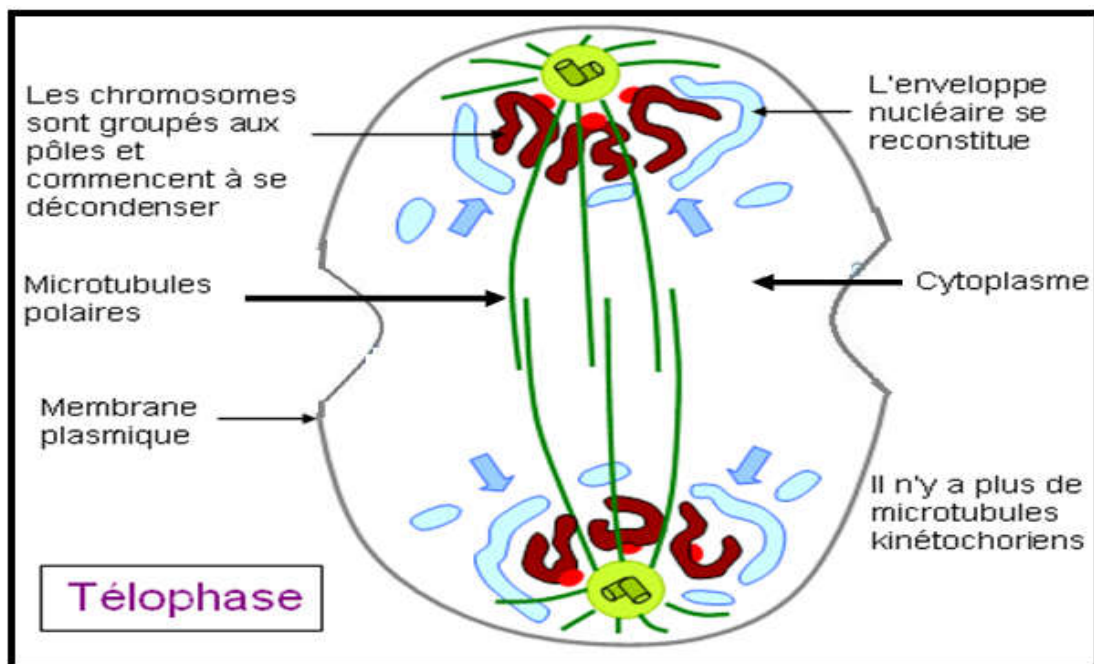


Figure 11: Représentation schématique d'une cellule en télophase (*Dolisi, 2009*).

❖ La cytotiérèse :

La cytotiérèse 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, 1986*). La cytotiérèse 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 (**fig.12**).

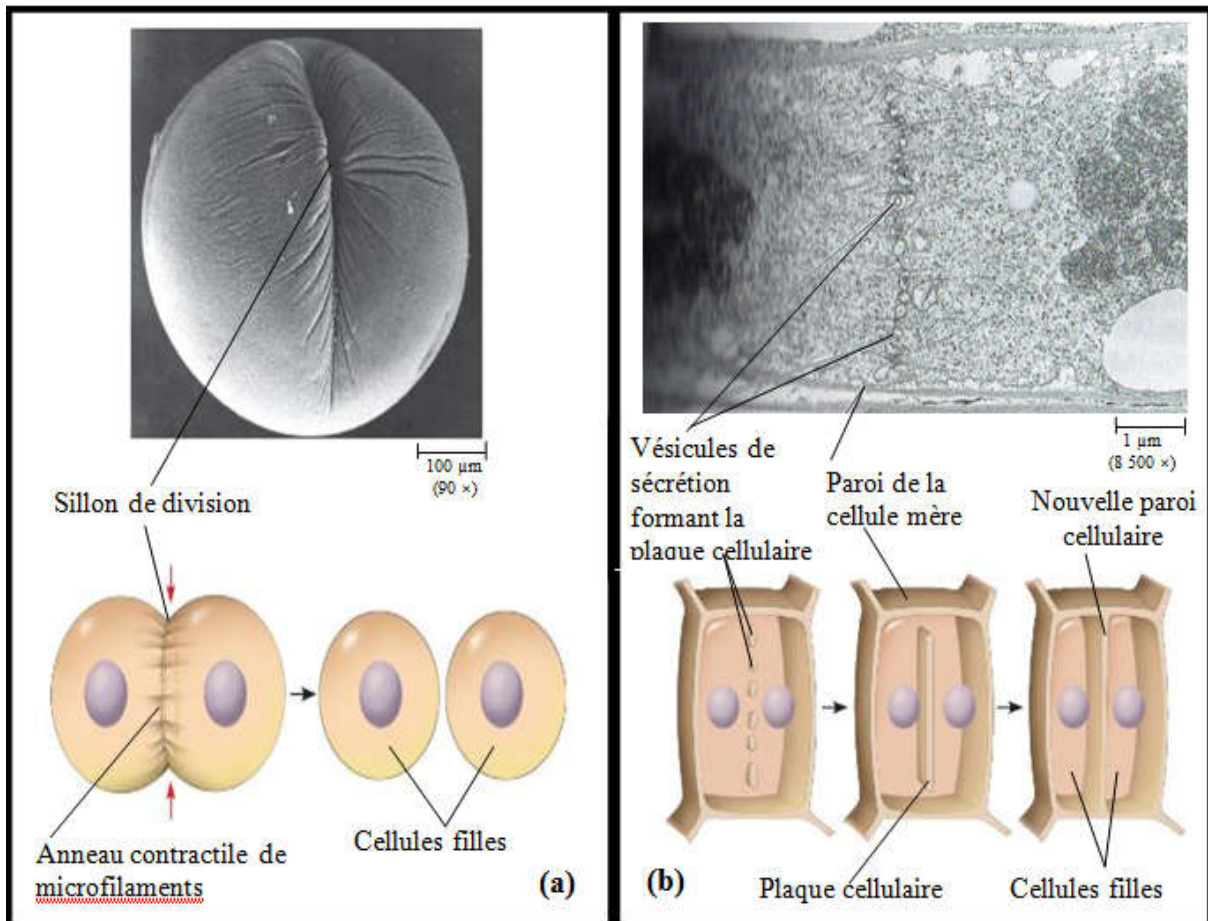


Figure 12: La cytotiérèse dans la cellule animale et dans la cellule végétale (*Reece et al., 2012*). (a) Segmentation d'une cellule animale (zygote d'oursin) (MEB). (b) Formation de la plaque cellulaire dans une cellule végétale (MET).

4. La régulation du cycle cellulaire:

La régulation du cycle cellulaire permet (*Chevret, 2015*):

- ✓ De maintenir l'ordre des phases du cycle ;
- ✓ De surveiller la qualité de l'ADN, l'exactitude de la réplication de l'ADN et la prolifération cellulaire, l'achèvement de la réplication, la position des chromosomes.

A – Contrôle de régulation du cycle cellulaire :

Un mécanisme de contrôle comprenant :

- ☞ Une « horloge » fixant la durée de chaque étape ;
- ☞ Un mécanisme pour déclencher les étapes dans le bon ordre ;
- ☞ Un mécanisme pour que chaque étape n'est lieu qu'une fois ;
- ☞ Chaque étape réalisée entièrement de façon irréversible ;
- ☞ Robustesse dans le mécanisme (même si la cellule est en difficulté) ;
- ☞ Adaptabilité à l'environnement.

B – Les points de contrôle :

Selon (*Karp*, 1998) le contrôle du cycle cellulaire se concentre principalement sur deux points (**fig.13**) :

- ☞ La transition entre la phase G1 et la phase S.
- ☞ La transition entre la phase G2 et l'entrée en mitose.

Le passage par ces points exige l'activation temporaire des kinases cyclines-dépendantes (CDKs)(*Meijer*, 2003). 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 (Tableau 4).

Tableau 4: 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	régulent 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	régule la transition G2/M et l'entrée en mitose

❖ Les Kinases Cyclines-dépendantes:

La famille des CDKs est composée de sérine-thréonine kinases de petite taille (environ 34 à 40 kDa) partageant un domaine catalytique commun, ainsi que, dans la plupart des cas, la phosphorylation d'un résidu thréonine (*Galas et al.*, 2008). Toutes les kinases ont dans leur extrémité NH2 terminale une séquence xGxPxxxxREx (où x représente n'importe quel acide aminé). Il s'agit d'une région conservée qui correspond au domaine de liaison aux cyclines (*Ducommun et al.*, 1991; *Endicott et al.*, 1994).

Une CDK a une structure bilobaire (*De Bondt et al.*, 1993; *Knighon et al.*, 1991a; *Knighon et al.*, 1991b) et lie son substrat et l'ATP dans une partie située entre les deux lobes.

Les CDK actives phosphorylent leurs substrats (= protéines cibles) spécifiques sur des résidus sérine ou thréonine inclus dans une séquence consensus accessible (**fig.14**). Ce sont ces cibles qui jouent un rôle direct dans la progression du cycle cellulaire après avoir vu leurs propriétés modifiées par la phosphorylation (*Galas et al.*, 2008).

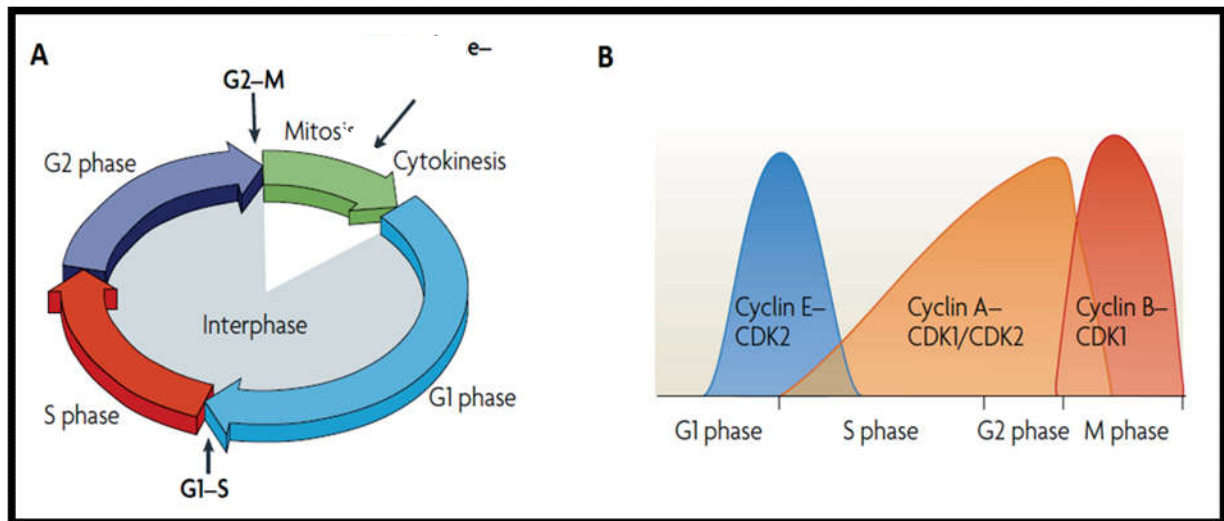


Figure 13: Contrôle du cycle cellulaire par les « cyclin-dépendent kinases » ou Cdk.

A) Succession des différentes phases du cycle cellulaire et leurs points de contrôle (en gras).

B) Niveau des différents complexes Cdk-cycline au cours du cycle cellulaire. Adapté de (*Hochegger et al.*, 2008).

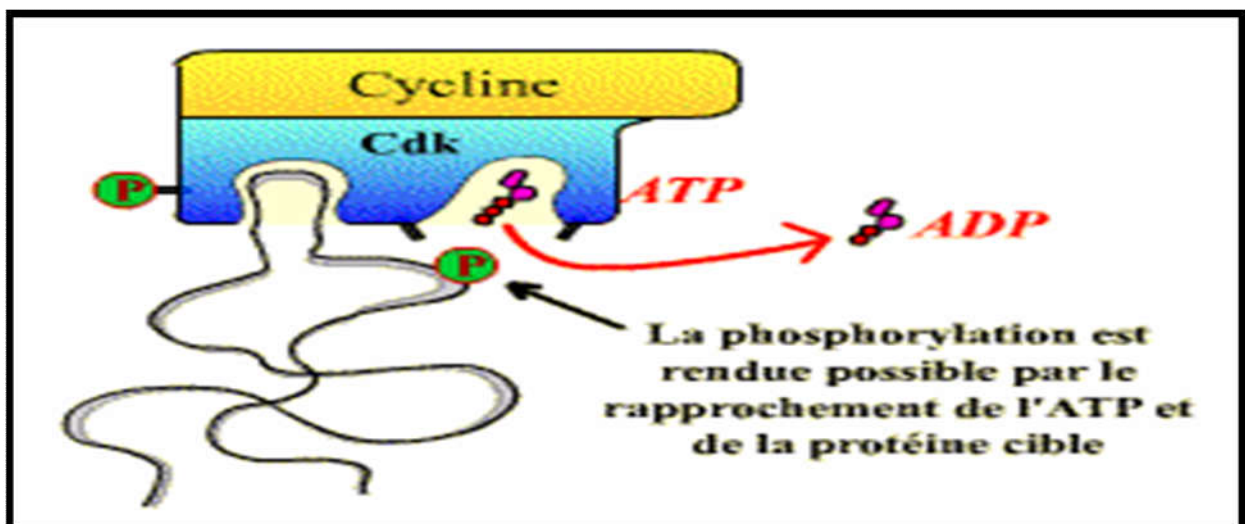


Figure 14: Mode d'action simplifié des Cycline / Cdk.

(<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/cyclecellBM/02CDK.htm>)(Consulté le 31.03.2018).

❖ Les cyclines :

Tim Hunt découvre au début des années 80 les premières molécules de cyclines. Les cyclines n'ont pas d'activité enzymatique, ce sont des protéines régulatrices nécessaires aux CDK pour qu'elles soient enzymatiquement actives. Les cyclines sont des protéines formées et dégradées au cours du cycle cellulaire. Elles ont été appelées « cyclines » car leur concentration varie périodiquement au cours du cycle cellulaire. La dégradation périodique des cyclines est un mécanisme important du contrôle du cycle cellulaire.

Les cyclines, comme les CDK, ont été conservées chez toutes les espèces au cours de l'évolution. On dénombre aujourd'hui 10 cyclines différentes chez l'homme. Les cyclines sont définies par une région commune d'environ 100 acides aminés appelée cycline box qui sert à lier et à activer les CDK (*Kobayashi et al.*, 1992; *Lees & Harlow*, 1993).

NB : Les plantes possèdent trois groupes de cyclines de types A et deux groupes de cyclines de types B (*Reaudin et al.*, 1998).

L'homologue fonctionnel de Cdk1 chez les animaux est CdkA chez les plantes (*Joubés et al.*, 2000).

Chapitre III : Les antimétabolites

1. Les antimitotiques :

Découverte il y a plus de 150 ans, la division cellulaire a fait l'objet de très nombreuses études en raison de son caractère fondamental pour toute vie (*Meijer, 2003*). Les chercheurs s'attachèrent à en modifier ce mécanisme complexe et délicat en faisant agir sur des cellules en croissance des agents chimiques ou physiques (*Dustin, 1956*).

En 1820, l'alcaloïde, la colchicine a été isolée par les chimistes français *Pierre Joseph Pelletier* et *Joseph Bienaimé Caventou*.

En 1971, l'équipe du professeur *Potier* a été mis au point test à la tubuline, lors de ses recherches.

En 1887, les Hartwig 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*).

En 1913, l'utilisation de colorants basiques (trypaflavine, bleu de méthylène...) sur la tête du spermatozoïde fut la première observation d'une action chromosomique.

Suite à ses travaux sur l'action comparée de colorants basiques et radiations ionisantes sur les mitoses épithéliales des urodèles, *Politzer*(1934) jetait les bases de la radiobiologie moderne et les fondements sur la pathologie de la mitose qui marqua une date importante dans l'évolution des recherches (*Dustin, 1956*).

Les travaux de Dustin et ses collaborateurs sur la colchicine en 1934 ont contribué à un développement considérable des recherches sur les poisons mitotiques.

Entre 1946 et 1954, d'innombrables travaux ont été accentués sur l'action des agents alkylants sur les groupements phosphates des acides nucléiques; et aussi sur l'action des antimétabolites, ainsi, la découverte de l'action antifolique et ses propriétés antileucémiques furent le point de départ de nombreuses études (*Dustin, 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 Douros, 1980*).

Aujourd'hui, la recherche de produits antimétoprotiques à des fins thérapeutiques s'appuie sur l'utilisation directe de régulateurs du cycle cellulaire comme cibles (*Pommier et Kohn, 2003*).

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

Les substances antimétoprotiques sont des substances qui, à faible ou 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) (*Chèvremont, 1979*).

2.1. Classification des antimétoprotiques et mécanisme d'action :

Des substances chimiques de structure et d'origine variées sont capables d'exercer une action antimétoprotique spécifique soit sur (*Chèvremont, 1979*) :

- ☞ **L'ADN** : par action des agents alkylants et des agents scindants ;
- ☞ **Les enzymes**: par action des antimétoprotites et des antitopoisomérase ;
- ☞ **Les microtubules** : par action des poisons du fuseau mitotique (**Fig.15**).

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

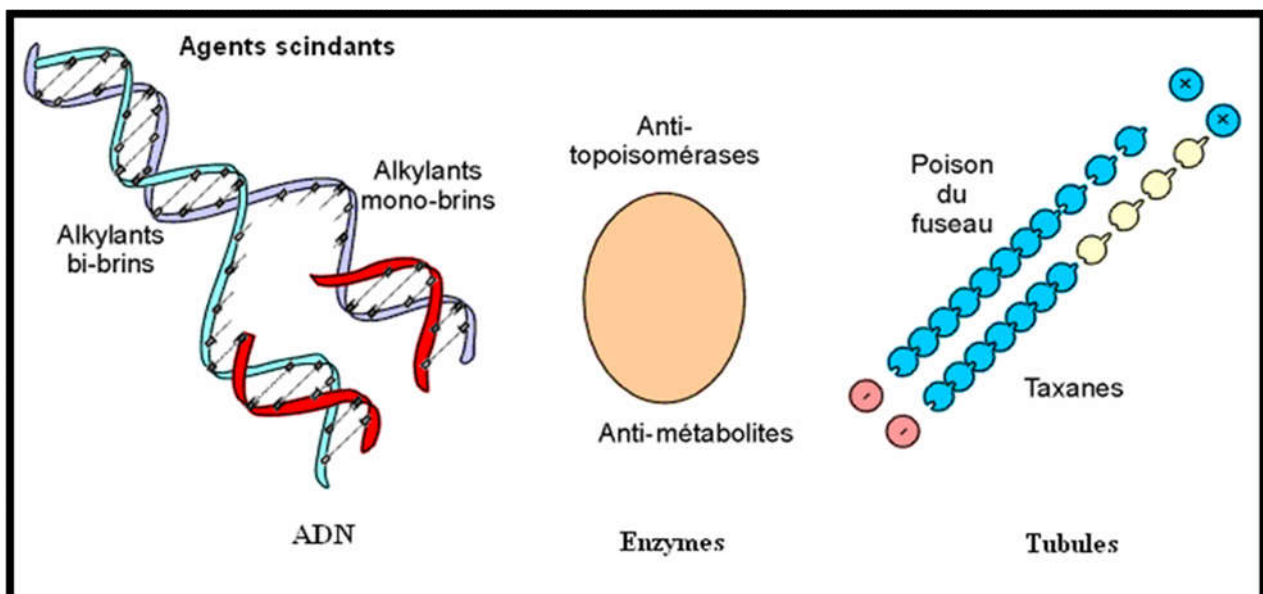


Figure 15: Principaux sites d'action des antimétoprotiques.

(<http://theses.univ-oran1.dz/document/TH2899.pdf>)(Consulté le 31.03.2018).

2.1.1. Agents agissant directement sur l'ADN :

2.1.1.1. Agents alkylants :

Les agents alkylants sont des molécules ayant la faculté de créer de fortes liaisons covalentes avec des groupements fonctionnels contenus dans les acides nucléiques. Une fois ces liaisons formées, la double hélice de l'ADN ne peut se dérouler, la transcription est stoppée au niveau de l'agent alkylant ce qui conduit à l'arrêt de la division cellulaire. Il existe deux types d'agents alkylants (*Wong et Giandomenico, 1999*).

Les agents monofonctionnels se lient à l'ADN à l'aide d'une seule liaison covalente, comme la chlorméthine 11 (**Fig.16**). Ils ne provoquent pas obligatoirement l'arrêt de la division cellulaire et peuvent au contraire engendrer la formation de brins d'ADN porteurs de mutations.

Les agents bifonctionnels permettent la formation de ponts entre différentes parties de l'ADN. On compte parmi ces molécules le cis-platine 12 (**Fig.16**). Son utilisation reste cependant limitée car ce complexe est toxique envers les reins.

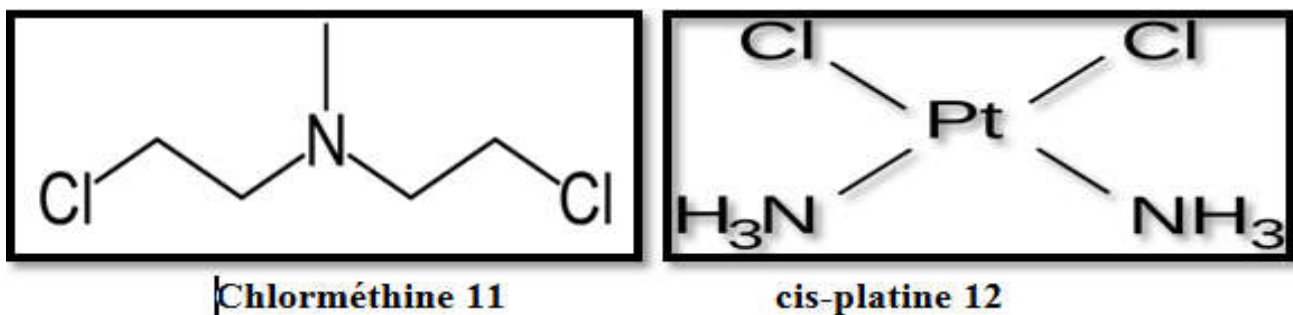


Figure 16: Agents alkylants (*Wong et Giandomenico, 1999*).

2.1.1.2. Agents scindants :

La bléomycine est le seul représentant de cette classe, isolée à partir de *Streptomyces verticillus* (*Follézou et Pouillart, 1980*). 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 cassures 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*).

2.1.2. Action sur les enzymes :

2.1.2.1. Antimétabolites :

Ce sont des analogues structuraux des bases nucléiques ou faux substrats qui vont soit s'incorporer dans l'ADN à la place des bases puriques (adénine, guanine) ou pyrimidiniques (thymine, cytosine, uracile), soit inhiber des voies métaboliques qui participent à la biosynthèse de ces bases (inhibition de la synthèse d'acide folique par les antifoliques). Ils agissent sur la phase S du cycle cellulaire (*Lechat et al.*, 1990 ; *Kitchell*, 2005 ; *Monassier*, 2012). On peut citer comme exemple le methotrexate qui est un antagoniste de l'acide folique et le 5-Fluoro Uracile (5-Fu) (**fig.17**) antagoniste de la thymine (*Simard et Bernhard*, 1966 ; *Viel*, 1982).

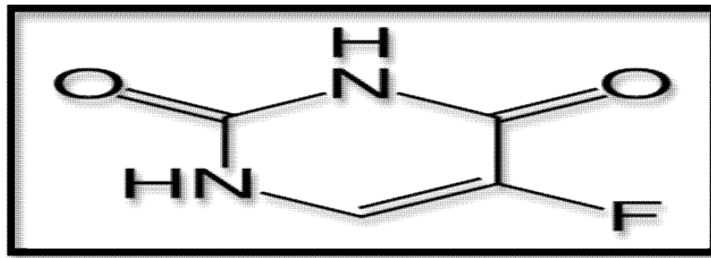


Figure 17: Structure du 5-fluorouracile (*Bleyer*, 1978).

2.1.2.2. Inhibiteurs des topoisomérases :

Les topoisomérases sont des enzymes ubiquitaires qui régulent la topologie de l'ADN et qui sont essentielles pour garantir l'intégrité de l'ADN pendant les processus de transcription, réplication et recombinaison (*Gatto et al.*, 1999).

Il existe deux types de topoisomérases. D'une part, les topoisomérases de type I, protéines monomériques, permettent la coupure d'un brin de la double hélice et effectuent la détorsion de l'ADN en passant le second brin d'ADN dans la brèche. Elles restaurent l'intégrité de l'ADN en fin de cycle catalytique. D'autre part, les topoisomérases de type II, enzymes dimériques, dépendantes de l'ATP, induisent une coupure transitoire d'un double brin d'ADN pour permettre le passage d'un autre segment d'ADN à travers la coupure (*Champoux*, 2001). La topoisomérase I joue un rôle important pendant tout le cycle cellulaire alors que l'activité de la topoisomérase II est variable. Par ailleurs, le taux intracellulaire de topoisomérases I et/ou II est plus élevé dans bon nombre de tumeurs que dans les tissus sains correspondants (*Kim et Lee*, 2002).

2.1.2.2.1. Inhibiteurs de la topoisomérase I :

Parmi les inhibiteurs de la topoisomérase I, on distingue ceux dérivés de la camptothécine (**fig.18**). La camptothécine est un alcaloïde naturel extrait d'un arbuste chinois le *Camptotheca acuminata*. La camptothécine est un agent cytotoxique particulièrement puissant dont l'activité clinique.

Ces composés forment un complexe ternaire ADN-enzyme-inhibiteur en bloquant la progression de la fourche de réplication. Ces agents sont phase dépendants (*Epsie et al.,1998 ; Kehrer et al.,2001*).

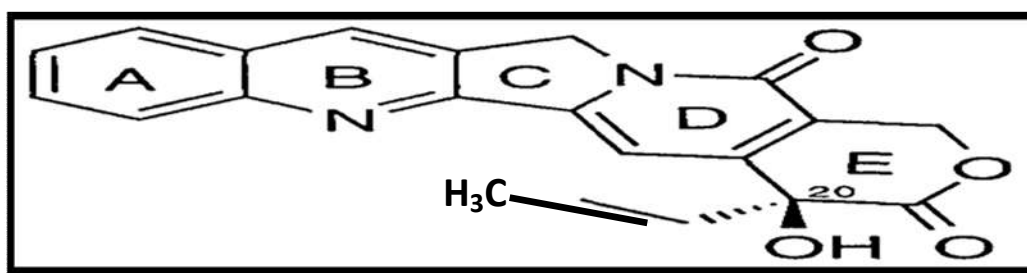


Figure 18: Structures des camptothécines (*Bhuyan et al.,1981*).

2.1.2.2.2. Inhibiteurs de la topoisomérase II :

Les inhibiteurs de la topoisomérase II peuvent être des agents intercalant ou non intercalant.

❖ **Agents intercalants:** Les agents intercalant sont caractérisés par plusieurs noyaux aromatiques, leur structure moléculaire plane leur permet de s'insérer entre deux brins d'ADN, ils inhibent ainsi la topoisomérase II et entraînent des cassures mono ou bi-caténares de l'ADN. Ces molécules induisent également la formation de radicaux libres qui vont altérer chimiquement l'ADN. En résumé, ils altèrent la réplication et la transcription de l'ADN (*Lechates et Loichot, 2006*).

Les principaux agents intercalants inhibiteurs de la topoisomérase II sont : les anthracyclines (**fig.19**), l'acridines, les mitoxantrones, l'actinomycines D (*Gorin et al.,1996*).

❖ **Agents non intercalants :** Parmi les agents non intercalants on distingue l'étoposide et le téniposide (**Fig.19**). Ce sont les dérivés synthétiques des podophyllotoxines responsables de cassures de l'ADN liées à la topoisomérase II dont ils seraient des inhibiteurs sélectifs (*Epsie et al.,1998*).

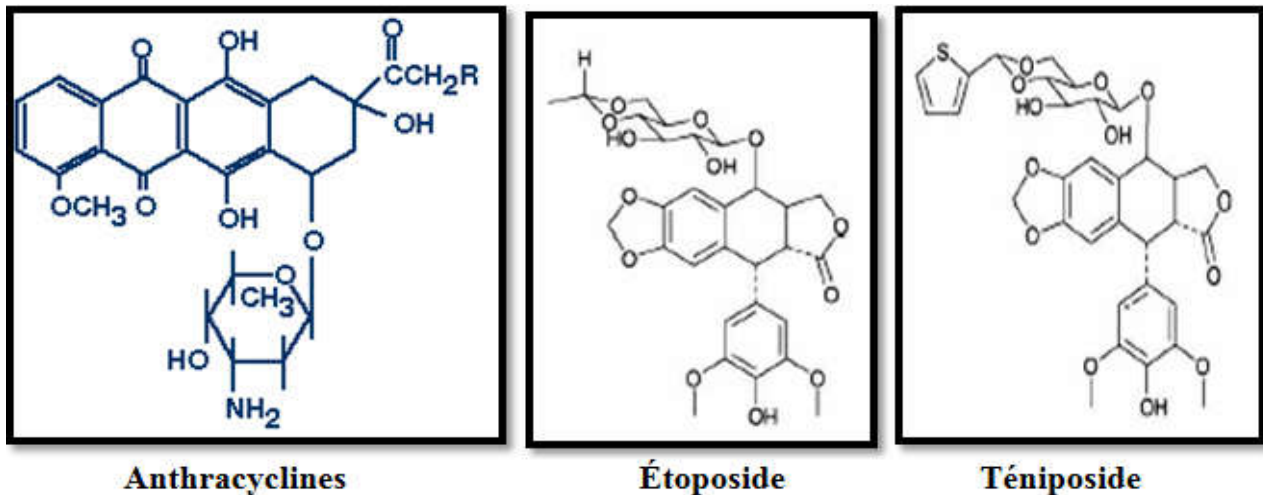


Figure 19 : Structures des inhibiteurs de la topoisomérase II (Allain, 2005).

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

Ils bloquent la mitose au stade de la métaphase en inhibant la formation de fuseaux. (Hubert-Habart et al., 1987; Benard, 1990).

Dans un 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 tels que la colchicine;
- Au moment de la dépolymérisation des microtubules en tubuline ce qui correspond à l'action des inhibiteurs de désassemblage des microtubules en tubuline.

En interagissant avec la tubuline et les microtubules, ces poisons bloquent les cellules en mitose, ce qui se traduit par (Verdier-Pinard et al., 2001) :

- Leur accumulation en phase G2/M du cycle ;
- L'augmentation du nombre de cellules à ADN chromosomique condensé ;
- L'accumulation de complexes cdk1/cycline B actifs.

2.1.3.1. Inhibiteurs d'assemblage de la tubuline en microtubules :

2.1.3.1.1. La colchicine :

a) La découverte de la colchicine :

En 1814, *John Want* identifie la plante mystérieuse de l'eau médicinale comme étant le colchique d'automne. En 1820, *Pelletier* et *Caventou* signalent la présence d'un alcaloïde dans le colchique, que *Laborde* et *Houde* isolent et cristallisent en 1884. La colchicine est découverte. Dewar dévoile sa formule en 1945, et sa biosynthèse est déterminée par *Woodward* en 1963.

La colchicine est utilisée pour la localisation des zones de croissance mitotique et l'étude du caryotype humain ceci est dû à son action antimitotique.

La colchicine a permis la découverte des microtubules, l'étude de leur structure et l'exploration de la physiologie cellulaire

Elle permet aujourd'hui la découverte et l'étude de substances aux effets similaires (vincristine, vinblastine...).

b) La botanique :

La colchicine est un alcaloïde extrait principalement de deux plantes de la famille des Liliacées : *Gloriosa Superba* et *Colchicum autumnale* (fig.20). Les concentrations de colchicine dans la plante sont d'environ 0,1-0,8% en poids.



Figure 20 : La plante *Colchicum autumnale* (Schlienger, 2014).

c) La chimie de la colchicine :

Sur le plan chimique la colchicine est caractérisée par une structure tricyclique benzocyclohéptanotropolonique (fig.21), sa formule brute est $C_{22}H_{25}NO_6$.

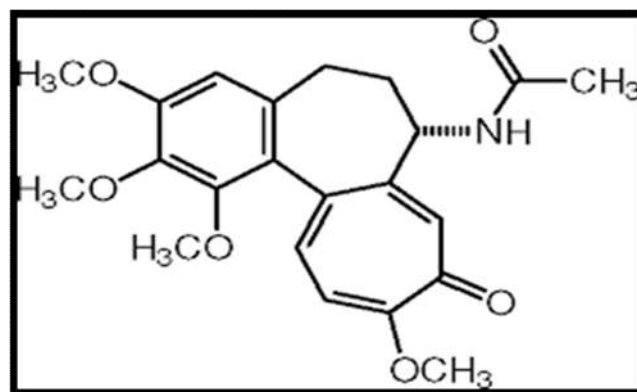


Figure 21 : Structure de la colchicine (Allain, 2005).

d) Caractéristiques organoleptiques et chimiques de la colchicine :

La colchicine se présente sous la forme d'une poudre solide cristalline inodore, de couleur blanche voire jaunâtre et de saveur très amère. Sa masse moléculaire est de 399,4 g/mol. Son point de fusion est de 150°C et son point d'ébullition de 126,03°C. Elle est soluble dans l'eau chaude (45 mg/mL), dans l'alcool (10 mg/mL), le chloroforme et le diméthylsulfoxyde (DMSO) mais insoluble dans l'éther. Au niveau de sa conservation, cette molécule est très fragile et ne doit pas être exposée directement à la lumière car elle se dégrade sous l'action des UV en produisant des composés inactifs appelés luminocolchicines. On parle de photo-isomérisation (**Fig.22**): la colchicine s'isomérisé en β - et γ - luminocolchicine (*Hannewald, 2009*). Sa conservation doit donc se faire à température ambiante, à l'abri de la lumière, dans un endroit sec et dans l'idéal dans des récipients colorés.

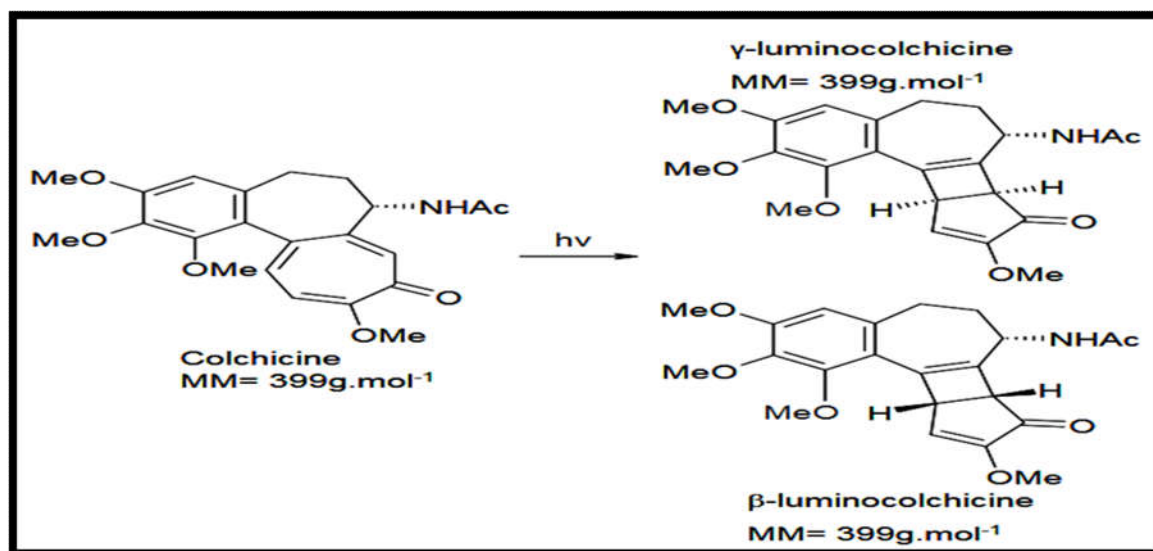


Figure 22: Photo-isomérisation de la colchicine (*Hannewald, 2009*).

2.1.3.1.1.1. Action de la colchicine sur la mitose :

De nombreux composés affectent les microtubules et interfèrent avec la division cellulaire souvent par liaison à la tubuline : c'est notamment le cas de la colchicine. La localisation du site de fixation n'a pas encore été clairement identifiée mais les différents résultats des études montrent qu'il se situe sur la sous-unité β de la tubuline. Contrairement aux autres molécules comme par exemple la vinblastine, la fixation de la colchicine sur la tubuline n'est pas réversible.

Une fois fixée sur la tubuline, la colchicine induit un changement de conformation au niveau de la terminaison carboxyle de la sous unité β au niveau des acides aminés Phe389 et Lys392. Ces acides aminés qui n'étaient pas accessibles à la protéolyse le deviennent. La sous-unité α n'est pas modifiée par la fixation de la colchicine, le complexe tubuline-colchicine peut donc se lier à l'extrémité d'un microtubule (**Tournoux**, 1994). Une fois ce complexe fixé, il va empêcher la fixation d'une autre molécule de tubuline car la présence de colchicine sur la β -tubuline engendre un encombrement spatial empêchant tout allongement ultérieur du microtubule (**Vigneron**, 1983). La polymérisation du microtubule est donc bloquée.

Lors de la mitose, cela va se traduire par un blocage de la mise en place du fuseau mitotique et les chromatides ne se sépareront pas. La mitose se retrouve bloquée au stade métaphase.

☞ **Stathmocinèse :**

Diverses substances dites mitoclasiques, inhibent le fonctionnement du fuseau achromatique et produisent avec une grande régularité, le doublement du stock chromosomique. On donne le nom de stathmocinèse à la mitose aberrante qu'elles provoquent.

Dans la stathmocinèse, le clivage des chromosomes s'opère, mais leur répartition en deux lots équivalents est rendue impossible par l'absence de fuseau : le noyau devient polyploïde (**Grasse**, 1966 ; **Delcourt**, 1970 ; **Levy**, 1970).

La substance mitoclasique, dont l'action a été le plus étudiée, est la colchicine, les dérivés de cette substance (**Levy**, 1970), le phényluréthane (**Chaouat**, 1984) et le chlorothal (**Agaev et al.**, 1987) produisent les mêmes effets.

☞ **Polyploïdie :**

Durant les années 1930, la colchicine est utilisée pour provoquer la polyploïdie.

○ **Apparition de la polyploïdie :** Une cellule tétraploïde (4 copies de chaque chromosome) apparaît suite à une mitose sans division cellulaire.

- Chacun des chromosomes est répliqué avant la prochaine mitose.
- Les cellules polyploïdies sont généralement plus volumineuses que les diploïdes.

Les plantes polyploïdies donnent généralement (mais pas toujours) des fruits plus gros que les plantes diploïdies.

○ **Doublement somatique du stock chromosomique :**

L'absence de division cellulaire lors de la mitose, après la réplication des chromosomes (**fig.23**), aboutit à la formation d'une cellule somatique polyploïde. En principe, elle ne conduit pas à la formation d'un individu polyploïde. Ce type de doublement peut être induit artificiellement par un traitement chimique comme la colchicine. Ce procédé est utilisé couramment en laboratoire pour produire des polyploïdes synthétiques, exemple le blé tendre et le triticales (**Charles, 2010**).

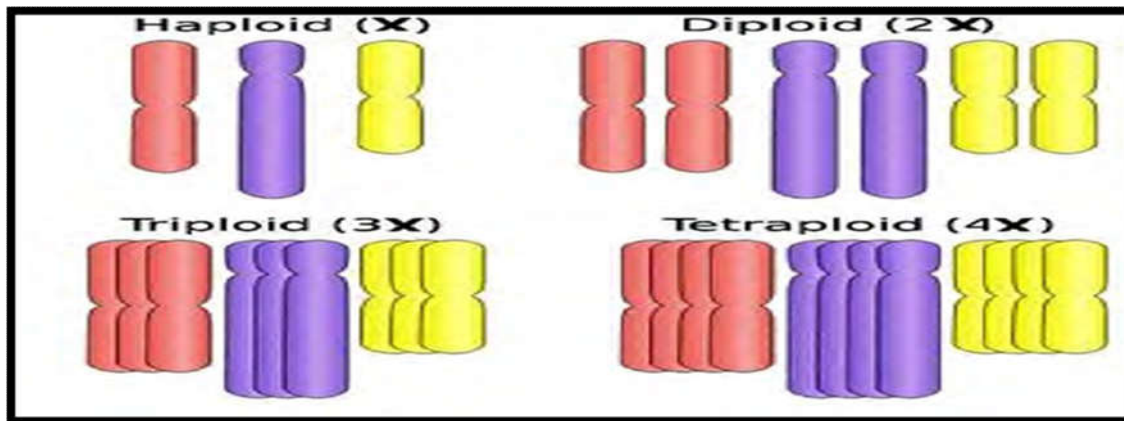


Figure 23 : Schéma illustrant le mécanisme de doublement des chromosomes.
(<https://bu.umc.edu.dz/theses/biologie/HAM6329.pdf>) (Consulté le 13.04.2018).

Chapitre IV : Structure du méristème

1. Etude de l'activité cytotatique :

Le méristème de la racine primaire de *Vicia fabaa* permis à **Howard** et **Pelc**, dès 1953, de proposer le modèle du cycle cellulaire devenu classique. Depuis cette date, le méristème racinaire des Angiospermes a été largement utilisé dans l'étude de la prolifération cellulaire, et a permis d'étudier les facteurs qui affectent le mécanisme de régulation du cycle cellulaire. En effet, il est facilement accessible à l'observation et à l'expérimentation et, est constitué par un nombre important de cellules proliférantes (**Clowes**, 1971; **Sans** et al.,1980 ; **Webster** et **Macleod**, 1980; **Brulfert**, 1985).

1.1. Rappel sur la structure et le fonctionnement du méristème racinaire :

Les travaux faits sur les apex racinaires associant la cytochimie structurale et ultrastructurale (**Lafontaine** et al.,1974; **Sans** et al.,1980), l'autoradiographie après incorporation de précurseurs d'ADN, d'ARN et de protéines (**Clowes**, 1971; **Sans** et al.,1980; **Cottignies**, 1981a et b; **Michaux-Ferriere**, 1981; **Brulfert**, 1985), ont permis l'analyse de l'activité des cellules en place. Ils ont révélé une zonation très caractéristique de l'apex racinaire résumé dans la (**Fig.24**).

Le centre quiescent (CQ), est la population cellulaire « souche » caractérisée par des cellules pauvres en activité de synthèse et se divisent très peu ou pas du tout, d'où leur nom. Le CQ donne naissance, vers la partie distale, aux initiales de la coiffe et vers la partie proximale aux initiales du méristème proprement dit (**Brulfert**, 1985; **Roland** et al.,1992).

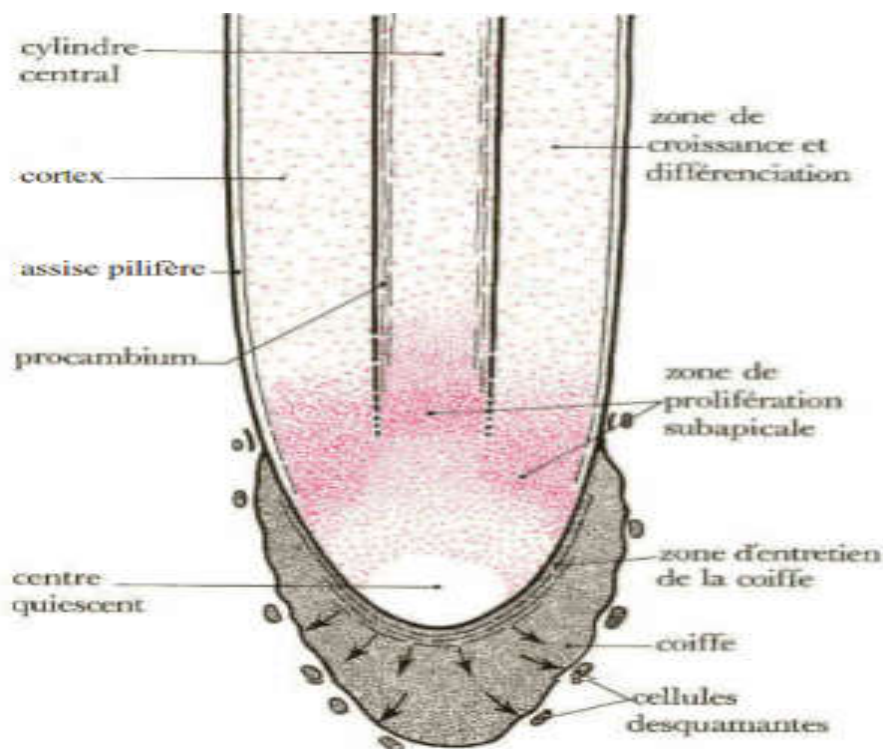


Figure 24 : Zonation de l'apex racinaire (**Roland**, 1995).

Le méristème est un système dit en état d'équilibre (« Steady-state ») : sa taille est constante, le nombre des cellules formées étant compensé par celui des cellules qui passent dans les zones d'élongation et de différenciation. Il est occupé par des cellules plus actives, leur cycle est plus rapide et constituent une zone de prolifération subapicale qui s'étend en arrière du centre quiescent sur 500 à 800 μm environ. Ces cellules présentent des caractéristiques cytologiques de cellules embryonnaires, aisément identifiables. Elles sont de petites dimensions, le noyau occupe tout le centre du cytoplasme et la structure fine témoigne d'une activité élaboratrice intense (**Nougarede**, 1977).

Les cellules quittent le cycle de reproduction du côté proximal du méristème, subissent des transformations et se différencient, formant aussi la zone de différenciation (**Barlow**, 1985 ; **Brulfert**, 1985; **Roland et al.**,1992).

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre V : Matériel et Méthodes

1. Matériel et Méthodes :

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 antimittotique de l'extrait des feuilles de Thym (*Thymus vulgaris* L.) sur le méristème radiculaire de l'oignon (*Allium cepa* L.).

1.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué de feuilles de Thym (*Thymus vulgaris* L.)(Fig.25). La plante utilisée dans cette étude est collectée de la wilaya de Mostaganem où a été récoltée le 12/03/2018 de la région de Chorfa.



Figure 25 : La plante et les feuilles de *Thymus vulgaris* L.

1.1.1. 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.26). 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 26: Les feuilles broyées à l'aide d'un moulin électrique.
a- Les feuilles séchées ; b- La poudre après broyage

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.27).



Figure 27: Placés des bulbes d'oignon (*Allium cepa*) dans des récipients remplis d'eau de façon.

1.2. Méthodes utilisées:

1.2.1. Détermination de la teneur en eau:

Elle est déterminée par la méthode gravimétrique qui consiste en la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve.

Dans un étuve de 70°C, posé un échantillon de feuilles fraîches (10g) de *Thymus vulgaris*, on laisse dessécher pendant 3 h et pesé après chaque 10 min de façon à obtenue une masse constante.

On calcule la teneur en eau selon la formule suivant:

$$\% \text{ Eau} = (\text{masse eau} / \text{masse drogue essai}) \times 100$$

$$\text{☞ Masse drogue essai} = \text{masse avant étuve} - \text{tare}$$

$$\text{☞ Masse eau} = \text{masse avant étuve} - \text{masse après étuve}$$

1.2.2. Extraction des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles des feuilles fraîches de plantes étudiée a été réalisée à l'aide d'un distillateur (**Fig.28 A**). 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 (**Fig.28 B**). 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.

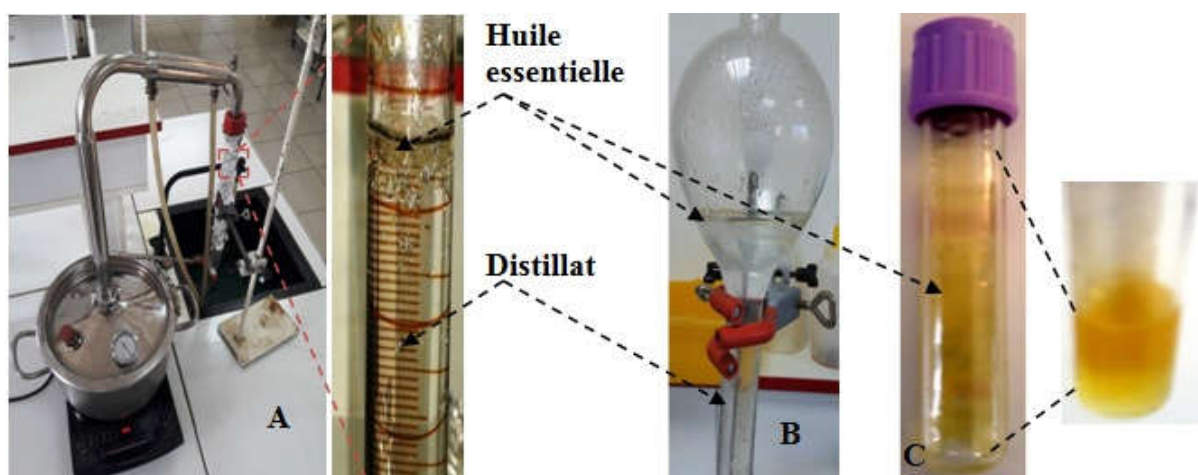


Figure 28: A-Entraînement à la vapeur d'eau utilisé pour l'extraction des huiles essentielles, B- Séparation de la phase huileuse de la phase aqueuse dans l'ampoule de décantation, C- L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L.

1.2.2.1. Détermination du rendement :

Selon la norme (*Afnor*, 1986), 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 :

$$\text{RHE} = \text{M}'/\text{M} \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en % ;

M' : Masse d'huile essentielle en gramme ;

M : Masse de la plante en gramme.

1.2.3. 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 (*Sahreem 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 (10g de poudre broyée) à ébullition sous reflux (**Fig.29**) en utilisant le méthanol 100 ml pendant 30 min en duplicata.

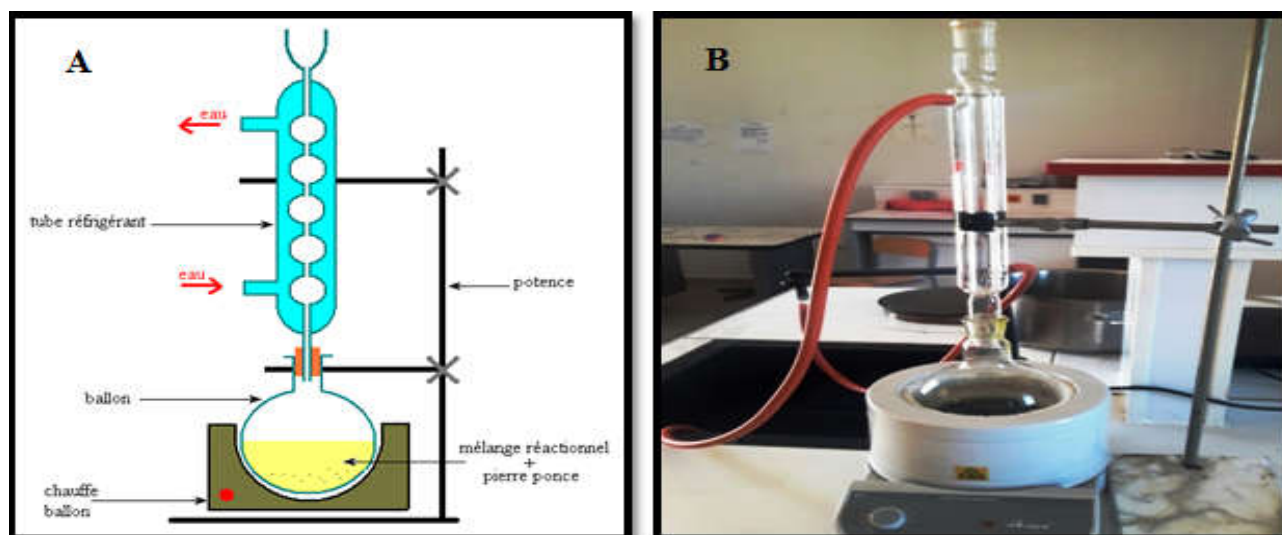


Figure 29: A- Schéma de dispositif de l'extraction sous reflux ; B- Dispositif de l'extraction sous reflux.

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, réunis, et posés l'extrait de chaque échantillon dans des fioles (**Fig.30 A**). Les extraits sont ensuite séchés à l'aide d'un Rota vapeur type Buchi R-200 (**Fig.30 B**), à une température de 46°C afin d'éliminer toute trace de méthanol, pour obtenir une poudre végétale sèche. L'extrait obtenu a été conservé à 4°C jusqu'à l'utilisation (*Rebaya et al., 2015*).



Figure 30 : A) L'extrait filtré sur papier filtre ; B) Rota vapeur utilisé pour le séchage des échantillons après l'extraction ; C) L'extrait végétal après séchage au Rota vapeur.

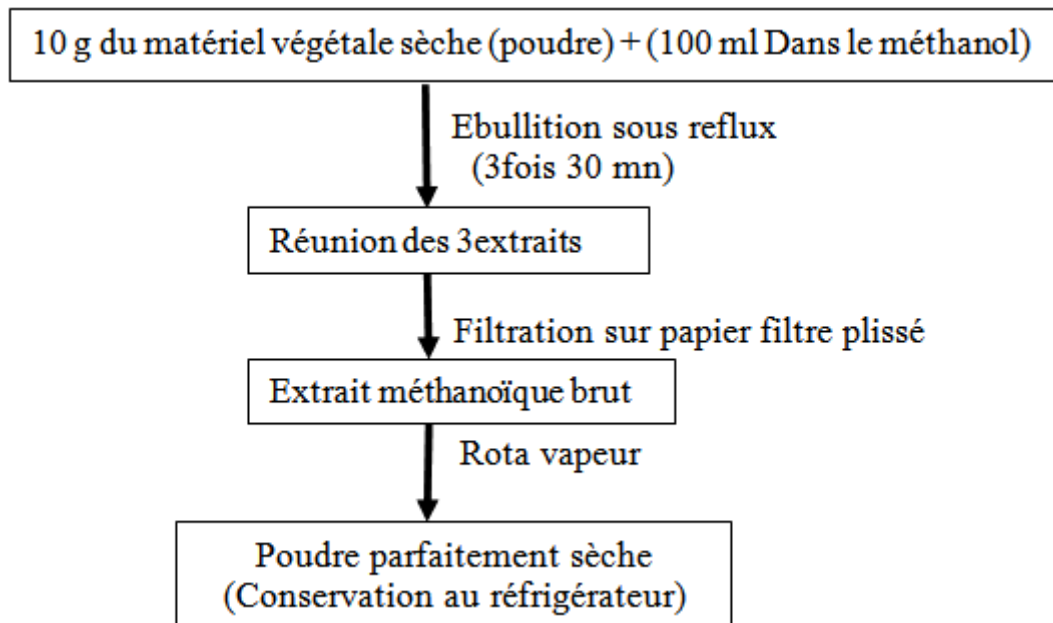


Figure 31: Protocole de préparation d'extrait méthanoïque sous reflux.

1.3. Étude de l'activité antimittotique :

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.

1.3.1. 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.

1.4. 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.

1.4.1. Fixation et conservation :

Des apex racinaires d'un centimètre (1 cm) de long sont fixés dans une mixture fraîchement préparée d'un volume d'acide acétique glacial et de trois volumes d'éthanol 95% (1 : 3 V/V) pendant 2 heures.

La fixation a pour but de bloquer toute évolution de divisions cellulaires et permet de conserver l'intégrité structurale de chromosomes (*Jahier, 1992*). Ce matériel peut être conservé dans l'éthanol 70% durant plusieurs mois au réfrigérateur à 4°C.

Le prélèvement, le prétraitement, la fixation et la conservation des méristèmes racinaires sont des étapes communes à toutes les techniques de cytogénétique qui seront décrites dans les paragraphes suivants.

1.4.2. Hydrolyse :

Après rinçage à l'eau distillée, les pointes racinaires sont hydrolysées dans une solution d'acide chlorhydrique (HCl 1N) à la température ambiante pendant un temps (5 à 15min). L'hydrolyse a pour but de ramollir les méristèmes et de libérer les groupements aldéhydes de l'ADN. Elle facilite, par ailleurs, l'écrasement et l'étalement des cellules.

1.4.3. Coloration :

L'utilisation du carmin d'acétique est spécifique à l'ADN, et est généralement utilisée pour l'obtention des chromosomes colorés en magenta et le cytoplasme qui est incolore.

La solution d'acide acétique est formée de deux constituants, l'acide acétique sert à fixer les cellules ; le carmin les colore.

On ne considère pas le carmin comme un colorant spécifique pour la chromatine, mais lorsqu'il se trouve dans une solution acide il se comporte comme un colorant basique, il se fixe sur les chromosomes donnant une couleur pourpre foncé. C'est la raison pour laquelle on emploie le carmin acétique au lieu de le carmin seule.

1.4.4. 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'examen des lames est réalisé 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).

1.4.5. 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 :

1.4.5.1. 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. & Melappa, 2014).

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

1.4.5.2. 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).

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

1.4.5.3. 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 (Cellbnl) ; fragmentation (Frgt) ; pycnose (PCN), etc. L'index des aberrations (IA%) est calculé à partir de l'équation (3) (*Răcuciu et Creangă*, 2007) :

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

1.4.5.4. 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) :

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

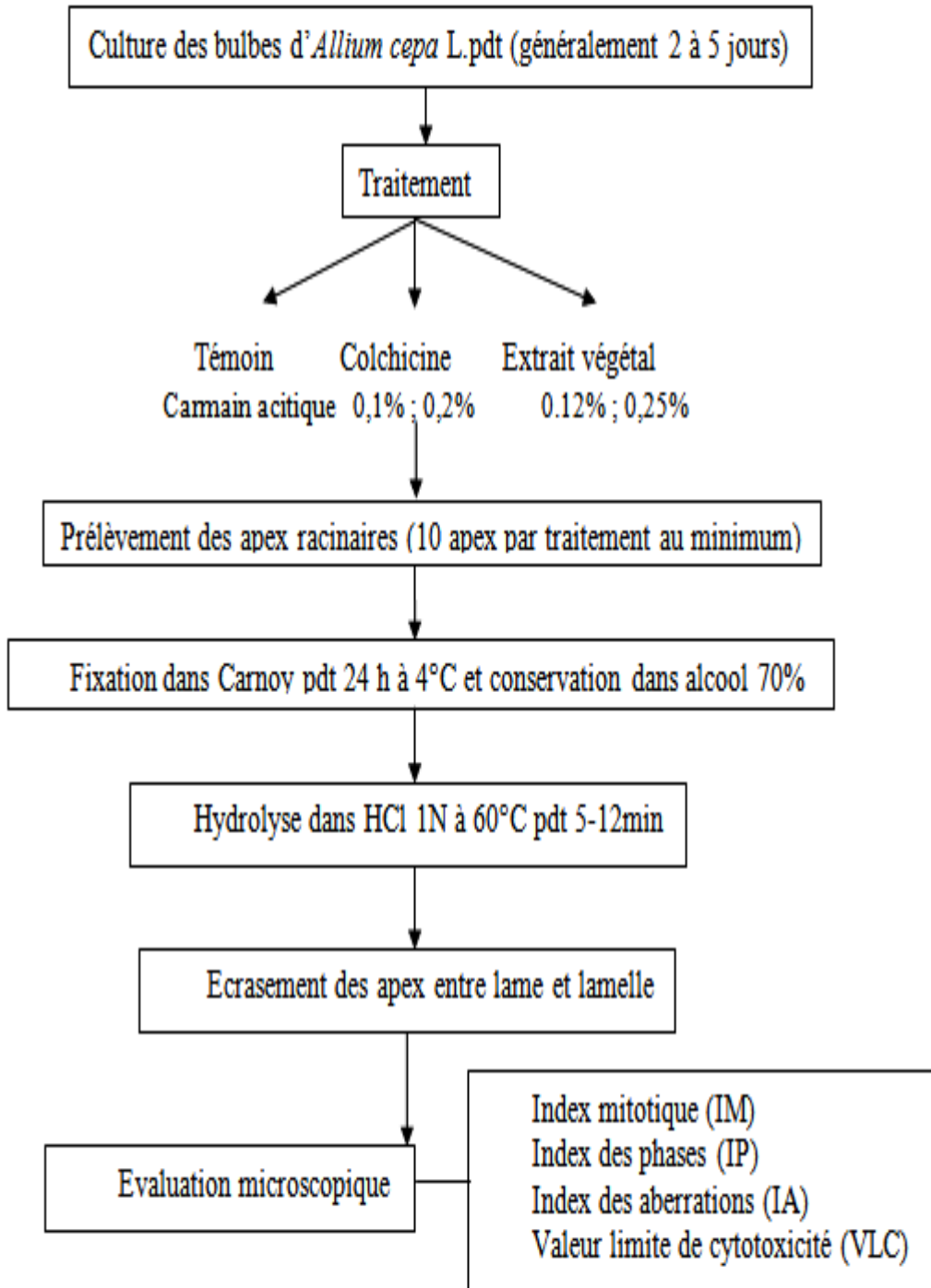


Figure 32 : Schéma d'un protocole expérimental utilisant les apex racinaires d'*Allium cepa* L. comme modèle pour l'évaluation de l'activité antimitotique.

Chapitre VI : Résultats et discussions

1. Détermination de teneur en eau :

Les résultats de la détermination de la teneur en eau des feuilles fraîches de l'espèce *Thymus vulgaris* L. a révélé un taux de 72.2% ce qui signifie que le taux de matière sèche ayant servi réellement à l'extraction des huiles essentielles est de 27.8% (**Fig.33**). En général, les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80 % d'eau.

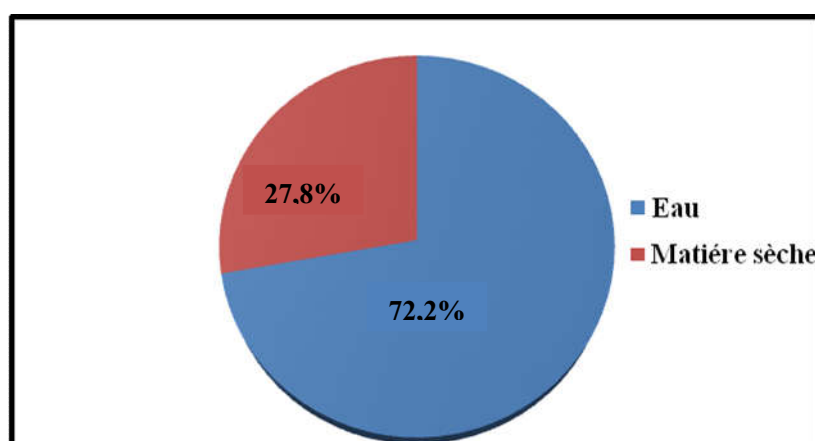


Figure.33 : Taux d'humidité de l'espèce *Thymus vulgaris* L.

Le thym a présenté un taux d'humidité nettement supérieur. Ce taux se trouve être proche de celui obtenu par (*Shabnum* et *Wagay*, 2011) de l'espèce en provenance du nord d'Italie (75.15%). Par ailleurs, les taux de nos deux plantes sont beaucoup plus importants comparé à celui obtenu par (*Yakhlef*, 2010) pour le thym originaire de Batna, à l'est de l'Algérie (9.40%).

Les variations rencontrées dans la teneur en eau de nos échantillons comparé aux travaux précités, peuvent être dues à des facteurs environnementaux tels que les conditions climatiques et la répartition géographique (*Besombes*, 2008).

2. Détermination du rendement en huiles essentielles :

Les rendements moyens en huiles essentielles des parties aériennes de *T. vulgaris* extraites par entraînement à la vapeur d'eau, ont été calculés en fonction de la masse du matériel végétal traité. De couleur jaune clair et d'une odeur aromatique. Le résultat obtenu sont résumés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Les rendements en huiles essentielles de *Thymus vulgaris*

Huile essentielle	Rendement (%)
<i>T. vulgaris</i>	2,2

Les résultats du tableau montrent que les feuilles sèches du thym de Mostaganem ont donné un rendement en huiles essentielles de 2.2%.

Une étude faite par (**Giordani et al.**, 2008) sur différentes espèces algériennes du genre *Thymus* dont *T. vulgaris* récoltée de Souk Ahras, à l'est du pays, a permis d'obtenir des rendements moyens en huiles essentielles allant de 2 à 3%. Ces résultats sont relativement proches du rendement du thym récolté de Mostaganem. Une autre étude réalisée par (**Brada et al.**, 2009) sur l'espèce provenant de Chlef située au nord-ouest de l'Algérie, a montré également un rendement très proche de celui du thym de Mostaganem et qui est de l'ordre de 2.6%. D'autre part, des résultats inférieurs aux nôtres ont été obtenus par *T. vulgaris* récoltée au nord du pays et plus exactement, à Blida et Boumerdès correspondant à des taux respectifs de 1.58% (**Bouguerra et al.**, 2017) et 1.1% (**Oulebsir-Mohandkaci et al.**, 2015).

En dehors de l'Algérie, une étude faite par (**Jordán et al.**, 2006) sur *T. vulgaris* d'Espagne a donné des résultats semblables aux nôtres de (2.17 %). Un rendement plus élevé en huile essentielle a été noté par (**Badi et al.**, 2004) pour le thym de Jordanie (5.40%). Tandis que des concentrations plus faibles ont été rapportées en Iran (1.87%) (**Kazemi et al.**, 2012), au Mexique (1.7%) (**Soto-Medivil et al.**, 2006), au Maroc (1.0%) (**Imelouane et al.**, 2009; **El-Akhal et al.**, 2015) et en Inde (0.3%) (**Syamasundar et al.**, 2008).

Les différences de quantités d'huile essentielle observées chez *Thymus vulgaris* peuvent être liées selon (**Kelen et Tepe**, 2008) au choix de la période de récolte car elle est primordiale en terme de rendement et de qualité de l'huile essentielle. D'autres facteurs peuvent également influencer tels que la zone géographique de collecte, le climat, la génétique de la plante, l'organe utilisé, le stade de développement, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode ainsi que le matériel d'extraction utilisés (**Sefidkon et al.**, 2001; **Vekiari et al.**, 2002).

3. Activité antimittotique :

La figure 34 montre les résultats obtenus la croissance des racines qui est de l'ordre de quelques mm par jour. Elle résulte des mitoses qui se produisent dans le méristème racinaire, le méristème forme une petite tâche visible à l'œil nu, proche de l'extrémité des racines, c'est la région qu'il convient de prélever pour réaliser la préparation.

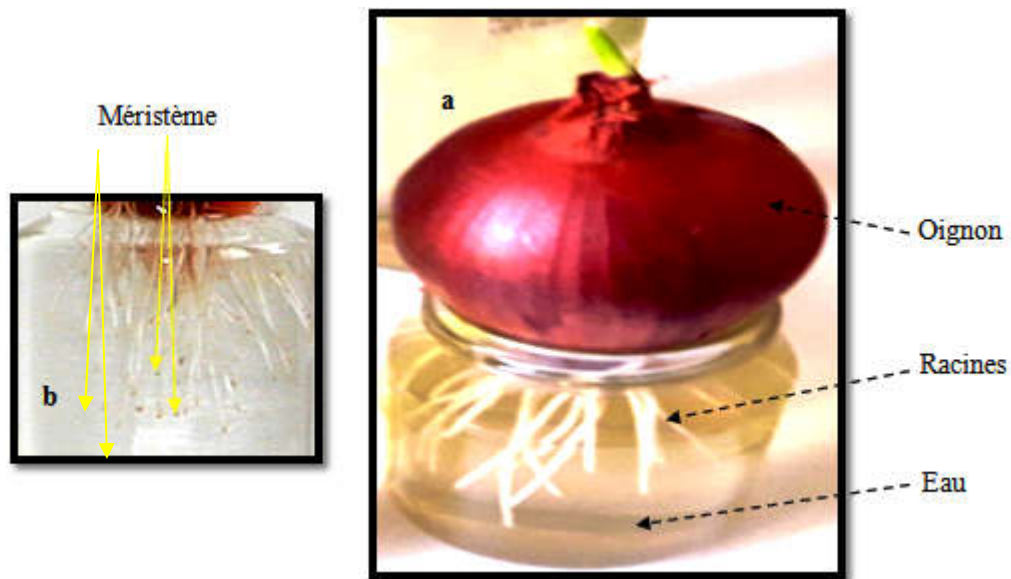


Figure 34 : a) Bulbes d'oignon après croissance des racines.

b) Les méristèmes forme une petite tâche visible à l'œil nu.

3.1. Action de témoins :

A partir de la figure 35 on remarque les différentes phases de division des cellules méristématiques 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 (**Fig.35**) 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.

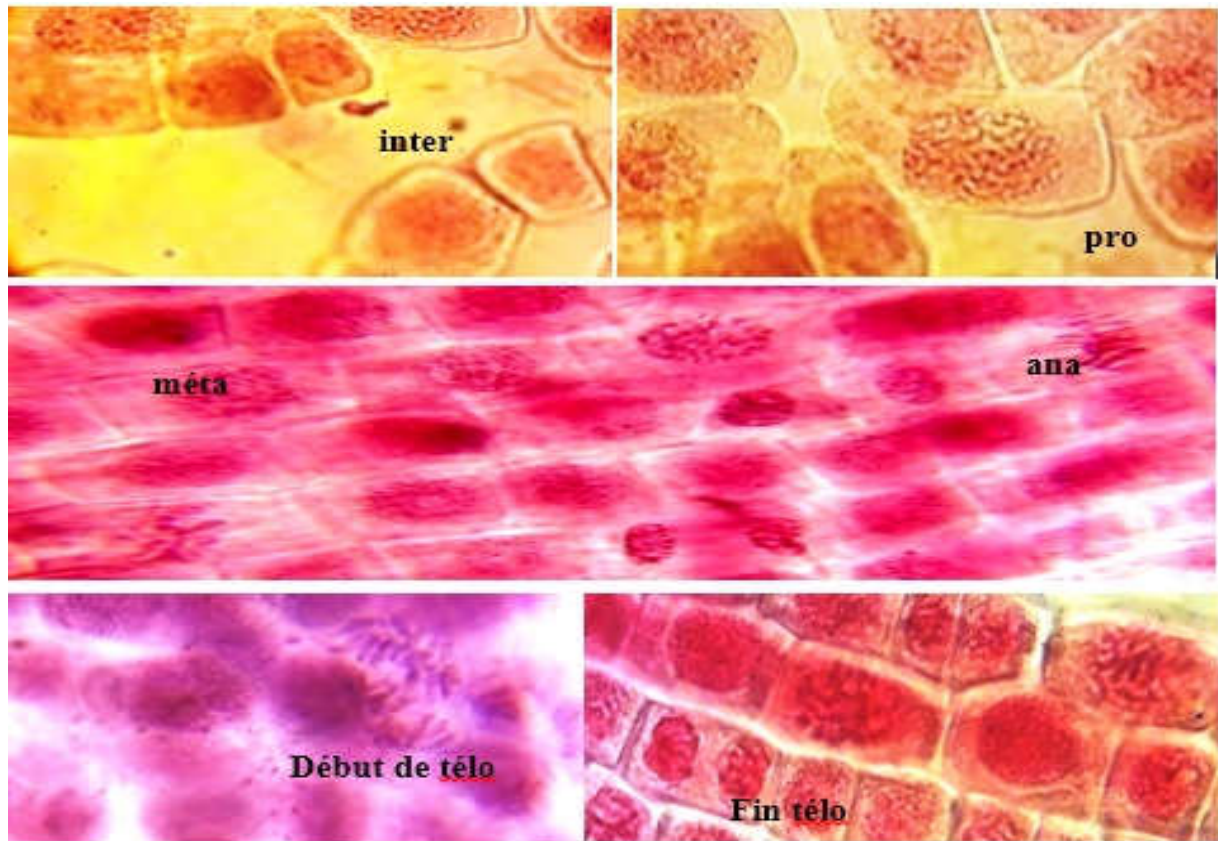


Figure 35 : Cellules méristématiques racinaires d’*Allium cepa* en division régulière et normale : interphase, prophase, métaphase, anaphase, début de télophase, fin de télophase.

∞ Index des phases et index mitotique

L’index des phases des cellules d’*Allium. cepa* L. est représenté majoritairement par des pré - prophases (annexe) (Tableau 6).

Tableau 6 : 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 observé à (G x100) (en annexe).

A partir du calcul, on remarque que l'index mitotique des cellules méristématiques témoin d'*Allium cepa* L. correspond à 27.66 %.

3.2. Action de colchicine :

☞ Index des phases et index mitotique :

Dans le tableau 7, on remarque que l'interphase le stade dominant, que ce soit chez les cellules témoins ou chez les cellules traitées (Fig.36), suivi de la prophase. Les autres stades ne représentent qu'une minorité.

Tableau 7: Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d'*A. cepa* L. 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
IP (%) Témoin (T)	72.66	22.5	1.33	0.66	0.83	2.33

- : non détectée

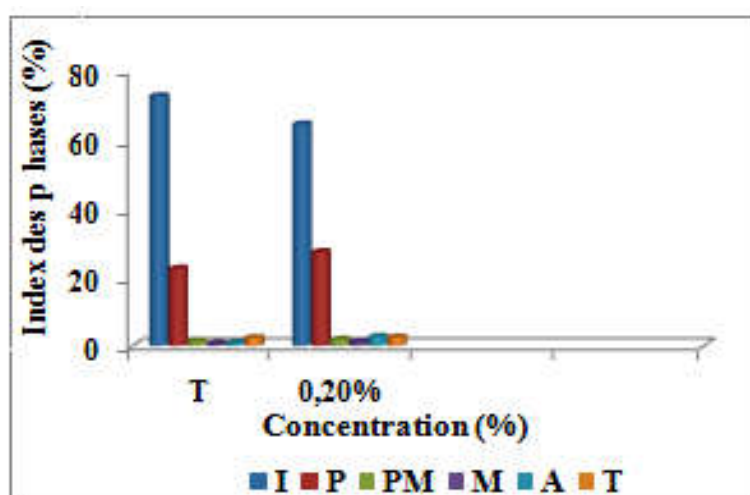


Figure 36 : Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par la colchicine (0.2%) comparé au témoin (T).

Selon le tableau 8, on remarque que l'index mitotique des cellules méristématiques correspond à 27.66 % pour le témoin. Il augmente considérablement chez des cellules traitées par la colchicine pour atteindre une valeur de 35.5% à la concentration 0.2%.

Tableau 8 : Index mitotique (IM%) et valeur limite de cytotoxicité (VLC %) des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par la solution aqueuse de colchicine comparés au témoin (T).

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

- : non détectée.

☞ Anomalies de la division cellulaire :

Les anomalies rencontrées chez les cellules méristématiques des apex racinaires d'*A. cepa* L. traitées par la colchicine sont regroupées dans le tableau 9 et sont de types : cassures chromosomiques (C) (**Fig.38g**) et chromosomes à aspects collants (Cc) (**Fig.38d**), regroupés généralement en prophase et en métaphase, dont le taux est de 0.34% et 0.01%, respectivement à la concentration 0.2 % (**Fig.37**). Les autres cas rencontrés sont représentés par les anaphases trébles stars (A^{3*}) (**Fig.38e**) à 0.01%, les anaphases multipolaires (AMP) (**Fig.38f**) à 0.03%, les Ponts chromosomiques (P) (**Fig.38c**) à 0.03%, cellules atypiques à 0.02% (**Fig.38a**) et les aberrations chromosomiques sont rarissimes et caractérisées par la présence de C-métaphases (C-mét) (**Fig.38b**) à 0.01%.

Tableau 9 : Pourcentage des aberrations rencontrées chez les cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par la colchicine (0.2%) comparé au témoin (T).

Aberrations	C (%)	CC (%)	P (%)	A3* (%)	AMP (%)	Cell At (%)	C-Mét (%)	Total (%)	IA (%)
0.2 %	0.34	0.01	0.03	0.01	0.03	0.02	0.01	0.45	0.075
T	0.02	0.02	–	–	–	–	–	0.04	0.0066

- : non détectée ; C : cassures ; Cc : chromosomes à aspect collant ; P : ponts chromosomiques ; A* : anaphases doubles stars ; C-mét : C-mitose ; CellAt : cellules atypiques ; AMP : anaphases multipolaires ; IA : Index des aberrations.

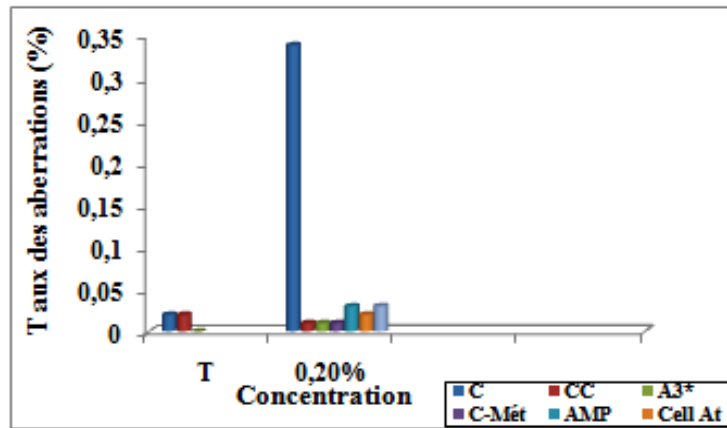


Figure 37 : Taux d'aberrations rencontrées chez des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par la colchicine à concentration 0.2%, comparé aux cellules du témoin (T).

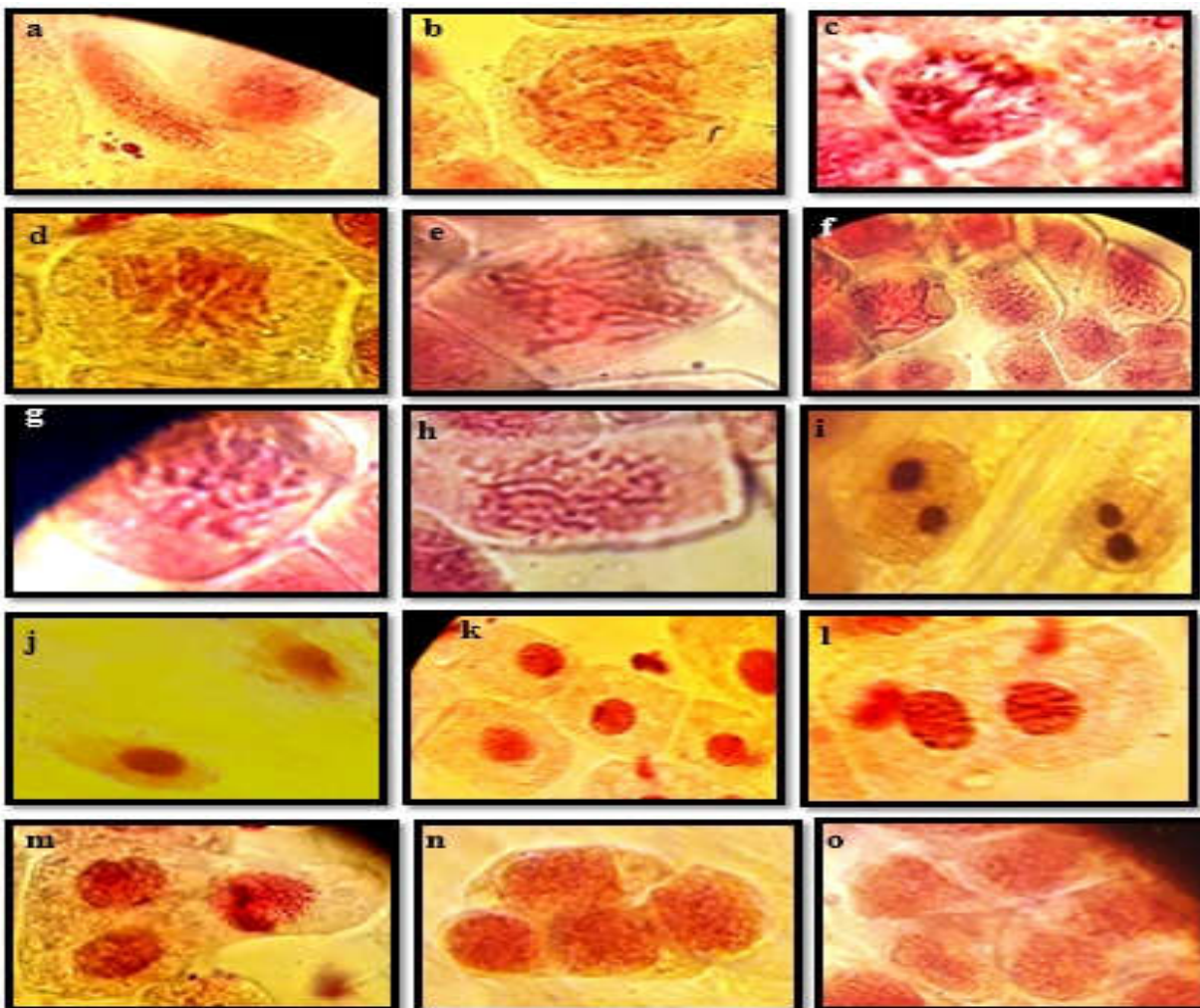


Figure 38 : Types d'anomalies rencontrées chez des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par une solution aqueuse de colchicine à concentration 0.2%.

a: cellule atypique, **b:** mitose, **c:** double ponts chromosomiques en anaphase, **d:** métaphase à aspect collant, **e:** anaphase trébles star, **f:** anaphase multipolaire, **g:** cassures en prophase, **h:** épaissement et coloration intense de la chromatine prophasique, **i** et **j:** noyau interphasique contenant 2 ou 1 nucléoles (colorés par nitrate d'argent), **k:** cellules préprophasiques, **l:** multiplication des noyaux (présence de deux noyaux résultant de l'inhibition de la cytotéière), **m:** multiplication des noyaux (présence de trois noyaux résultant de l'inhibition de la prophase), **n** et **o:** cellules à noyaux déformés.

3.3. Action de l'extrait de *Thymus vulgaris* L. :

☞ Index des phases et index mitotique :

A partir du tableau 10, on remarque que le stade interphase représente la majorité des cellules méristématiques d'*A. cepa* L., suivie de le stade prophase que ce soit chez les cellules témoins ou chez les cellules ayant subi un traitement par l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L. pendant 24 heures. Tandis que les autres stades représentent une minorité (**fig.39**).

Tableau 10: Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d'*A. cepa* L. traitées par l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L. (feuilles) à 0.12% comparé au témoin (T).

Phases Tissus	I	P	PM	M	A	T
1	67	22	1	2	3	5
2	70	23	1	1	1	4
3	68	25	1	3	–	3
4	76	18	2	1	1	2
5	75	20	1	2	1	1
6	74	22	1	2	–	1
Somme	430	130	7	11	6	16
IP (%)	71.66	21.66	1.16	1.83	1	2.66
IP (%) Témoin (T)	72.66	22.5	1.33	0.66	0.83	2.33

_ : non détectée.

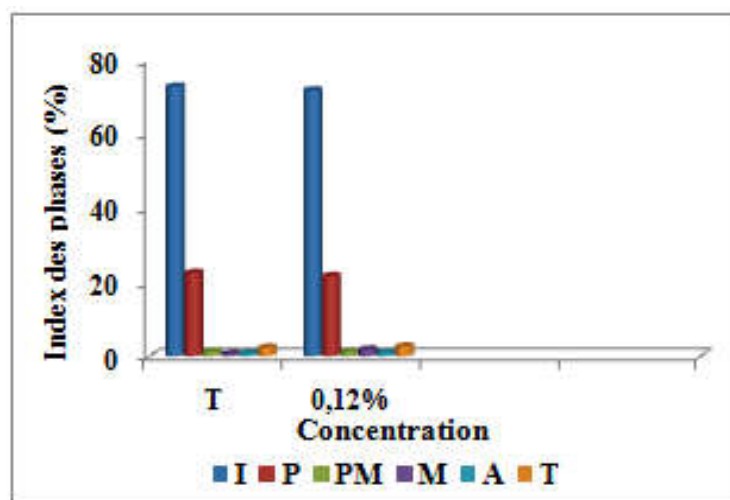


Figure 39 : Index des phases (IP %) des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L.(feuilles) à concentration 0.12% comparé au témoin (T).

Selon le tableau 11, on remarque que l'index mitotique des cellules méristématiques d'*A. cepa* L. traitées par l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L. (feuilles) au concentration 0.12 % correspond à 28.33%. Cette valeur diminue légèrement chez des cellules méristématiques témoin de *A. cepa* L. pour atteindre une valeur de 27.66%.

Tableau 11 : Index mitotique (IM%) et valeur limite de cytotoxicité (VLC %) des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L. (feuilles) à concentration 0.12% comparé au témoin (T).

	IM (%)	VLC (%)
T	27.66	–
0.12 %	28.33	102.42

- : non détectée

☞ Anomalies rencontrées :

Les anomalies rencontrées chez les cellules méristématiques des apex racinaires d'*A. cepa* L. traitées par l'extrait des feuilles de *Thymus vulgaris* L. sont regroupées dans le tableau 12 et sont de types : cassures chromosomiques (C) (**Fig.42b et c**) et chromosomes à aspects collants (Cc) (**Fig.42d**), regroupés généralement en métaphase et en télophase, dont le taux est de 0.14% et 0.02%, respectivement à la concentration 0.12% (**Fig.40**). Les autres cas rencontrés sont représentées par les cellules atypiques (Cell At) (**Fig.42e**) à 0.09%, les anaphases multipolaires (AMP) (**Fig.42f**) à 0.07%, les Ponts chromosomiques (P) (**Fig.42g**) à 0.01% et la présence de cellules à noyau déformé (Nd) (**Fig.42a**) à 0.02%.

Tableau 12 : Pourcentage des aberrations rencontrées chez les cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par de concentration 0.12% de l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L. (feuilles) comparé au témoin (T).

Aberrations	C (%)	CC (%)	P (%)	Cell At (%)	AMP (%)	Nd (%)	Total (%)	IA (%)
0.12 %	0.14	0.02	0.01	0.09	0.07	0.02	0.35	0.058
T	0.02	0.02	–	–	–	–	0.04	0.0066

- : non détectée ; C : cassures ; Cc : chromosomes à aspect collant ; P : ponts chromosomiques ; Cell At : cellules atypiques ; AMP : anaphases multipolaires ; Nd : Noyaux déformés ; IA : Index des aberrations.

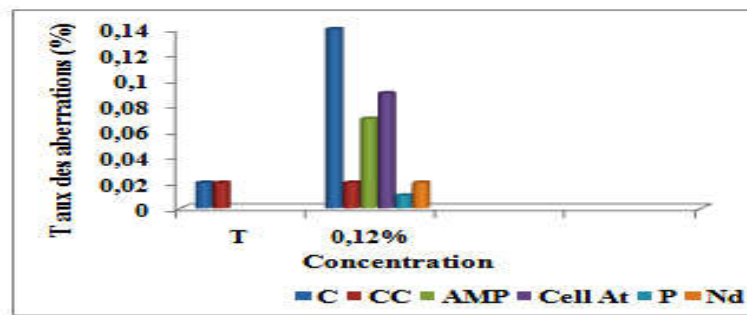


Figure 40: Taux d'aberrations rencontrées chez des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L. (feuilles) à concentration 0.12%, comparé aux cellules du témoin (T).

La présence de micronoyaux (MNC) et de cellules binucléées (Cell bnl) a été rarement signalée, par contre on distingue la présence de ce qu'on a appelé « vides nucléaires » chez des cellules au stade prophase allant de 1 à 2 vides par cellules (**Fig.42h et i**), et dont le taux est de 0.07% et 0.01%, respectivement à la concentration 0.12% en extrait des feuilles de *T. vulgaris* L. (Tableau 13, **Fig.41**).

Tableau 13 : Pourcentage de vides nucléaires par rapport au nombre de prophases observées chez des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L. (feuilles) à concentration 0.12% comparé au témoin (T).

	1V (%)	2V (%)	Total (%)
T	-	-	0
0.12%	0.07	0.01	0.08

- : non détectée ; V : vide nucléaire

D'autre part, on a remarqué un épaississement et une forte coloration de la chromatine prophasique (**Fig.42i**). Par ailleurs, les cellules à volume cytoplasmique important et un noyau de taille importante, télophase avec deux noyaux la quantité de matériel génétique n'est pas égale et début de la fragmentation cytoplasmique ont été observées à la concentration de l'extrait qui est 0,12% (**Fig.42k, l et m**) respectivement.

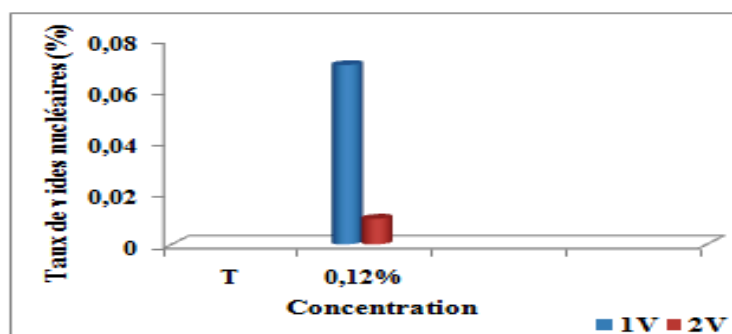


Figure 41 : Pourcentage de vides nucléaires par rapport au nombre de prophases observées chez des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par l'extrait des feuilles de *Thymus vulgaris* L. à concentration 0.12% comparé au témoin (T).

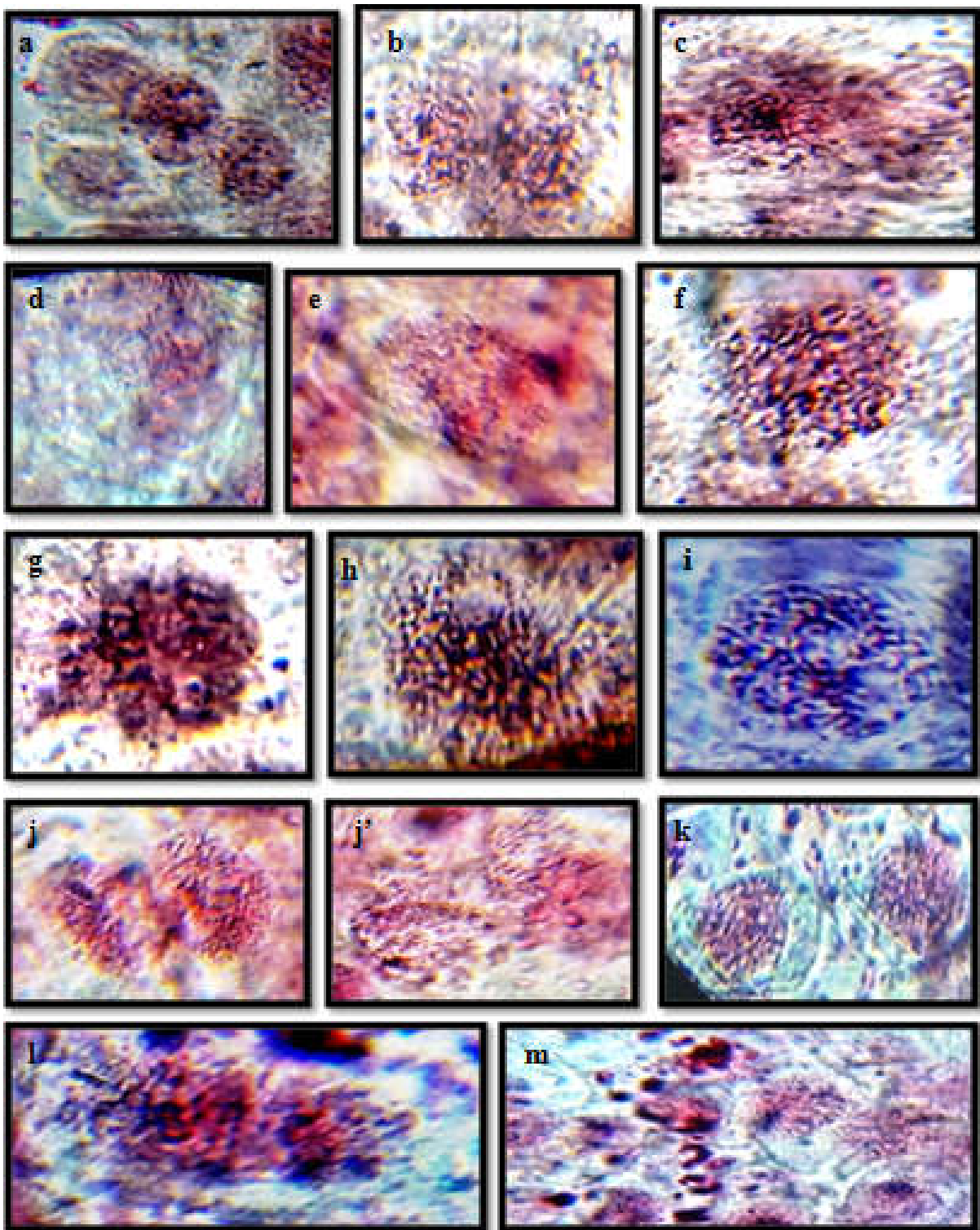


Figure 42: Types d'anomalies rencontrées chez des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L. (feuilles) à concentration 0.12%.

a- cellules à noyaux déformés ; **b-** cassures en télophase ; **c-** cassures en métaphase à aspect collant ; **d-** Métaphase à aspect collant ; **e-** Cellule atypique ; **F-** anaphase multipolaire ; **g-** ponts chromosomiques ; **h-** cellule atypique avec vide nucléaire ; **i-** épaissement et coloration intense avec 2 vide nucléaire ; **j** et **j'**- cassures en anatélophase de la chromatine prophasique avec vide nucléaire ; **k-** Cellules à volume cytoplasmique important et un noyau de taille importante ; **l-** télophase avec deux noyaux la quantité de matériel génétique n'est pas égale ; **m-** début de la fragmentation cytoplasmique.

L'index mitotique est considéré comme un paramètre permettant d'estimer la fréquence de la division cellulaire (**Marcano et al.**, 2004).

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

De pareils effets mitodépresseurs 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).

On pourrait suggérer que les extraits qu'on a testés ou bien leurs composants doivent interférer avec le développement normal de la mitose, en prévenant un nombre de cellules d'entrer en prophase et bloquant ainsi le cycle mitotique durant l'interphase (**El-Ghamery et al.**, 2000).

La réduction de l'activité mitotique pourrait être due à l'inhibition de la synthèse de l'ADN et des nucléoprotéines du système biologique (**Chauhan et al.**, 1998), ou à une prolongation de la durée des phases G2 et S (**Webster et Davidson**, 1969).

Les effets mitodépresseurs de certains extraits de plantes ont la capacité de bloquer la synthèse de l'ADN et des nucléoprotéines (**Mercyketly et Stephen**, 1980 ; **Schulze et Kirscher**, 1996).

Selon (**Siddiqui et al.**, 2007), la diminution de l'index mitotique est due probablement à une modification ou une altération dans l'expression de certains gènes.

L'augmentation du nombre de préprophases chez des cellules d'*A. cepa* traitées par la colchicine laisse suggérer selon **D'Amato** (1954), que cela est dû, soit à une durée de traitement trop longue, soit à l'utilisation de doses trop élevées, ce qui aboutit au ralentissement de l'entrée aux autres stades de la mitose, notamment, la métaphase, l'anaphase et la télophase.

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.

Au troisième degré, nous pouvons déduire la raison de l'apparence des vides nucléaires rencontrés chez les cellules d'*A. cepa* L. traitées par l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L. (feuilles).

De tels phénomènes ont été observés par **Wada** (1939) et **D'Amato** (1954), et sont particulièrement nets sous l'influence de l'antipyrine où l'effet se traduit par une disparition progressive des métaphases, anaphases et télophases avec une augmentation relative du nombre de prophases qui, finalement restent seules puis disparaissent peu à peu, par retour à l'état interphasique.

D'après **Arnaud-Lamardelle** (1955), il ne serait rigoureux de parler d'inhibiteur préprophasique car les inhibiteurs n'empêchent pas la préprophase mais seulement le passage de cette dernière à la prophase vraie.

Chez des cellules méristématiques de *Pisum sativum* L. traitées par le cadmium à une concentration de 250µM, un grand nombre de prophase a été observé comparé avec les cellules témoins après 18 heures de traitement aboutissant à l'augmentation de l'index mitotique (**Fusconi et al.**, 2006).

Le même effet a été constaté dans les cellules apicales des thalles de *Cladophora* sp. traitées par le cadmium à 100 µM (**Krajewska**, 1996), et un allongement du cycle cellulaire avec une extension de la phase G2 et du stade prophase chez les cellules méristématiques d'*A. cepa* après traitement par du cadmium à 30 µM (**Borboa et De la torre**, 1996).

L'augmentation du nombre de prophase doit probablement être reliée à une intense altération de microtubules en empêchant l'assemblage des chromosomes au stade métaphase (**Fusconi et al.**, 2006).

Suite à ses travaux sur les cellules méristématiques d'*A. cepa* dans le but d'évaluer la contamination des eaux, **Hoshina** (2004) explique que l'augmentation de l'index mitotique des cellules traitées par rapport au témoin est le résultat de l'accroissement de la division cellulaire caractérisant un effet nuisible aux cellules et conduisant à une prolifération cellulaire incontrôlable.

Selon cette définition, nous inférons un effet de la colchicine sur les cellules méristématiques d'*A. cepa*.

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'*A. cepa* traitées par l'extrait aqueux des écorces de *Uncaria tomentosa* Willd (Rubiaceae) (**Kuraś et al.**, 2006), et l'extrait aqueux des aiguilles de *Taxus baccata* L. (Taxaceae) (**Majewska et al.**, 2003).

La condensation de la chromatine peut être produite suite à des conditions de stress (**Fusconi et al.**, 2006).

Le taux de cassures chromosomiques (C) rencontrées chez les cellules méristématiques d'*A. cepa* traitées par la colchicine est un peu plus grande par rapport au extrait de *Thymus vulgaris* L. (feuilles).

Ces cassures chromosomiques sont dues probablement aux effets clastogènes de l'extrait et son action sur les chromosomes est généralement considérée comme étant due à une action sur l'ADN (**Grant**, 1978).

Les lésions les plus critiques au niveau de l'ADN sont les cassures doubles brin (double-strand break « DSB») qui sont induites, soit directement sur les bases nucléotidiques, soit durant la réplication, par altération du processus de la réparation des sites de l'ADN endommagé. Elles sont létales pour les cellules en prolifération une fois non réparées (**Schubert et al.**, 2004).

Chez les plantes, les cassures isochromatidiques sont les plus fréquentes, suivies par les translocations réciproques, les délétions intercalaires, duplication délétion et cassures chromatidiques ouvertes (**Schubert et al.**, 2004).

Fiskesjö (1993), suggère que les cassures chromosomiques sont associées à la formation de fragments chromosomiques et des cellules micro nucléées.

La présence de chromosomes à aspect collant (Cc) «sticky chromosomes» en prophase et en métaphase chez les cellules méristématiques d'*A. cepa* traitées par l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L. (feuilles) comparées à traitées par la colchicine sont similaires.

Cette diminution de viscosité serait due au fait que les chromosomes normaux soient constitués par des molécules dépliées formant un gel ; la pression transformerait les molécules allongées en molécules globulaires (**Pease**, 1946).

L'aspect collant des chromosomes pourrait être le résultat de la dégradation ou de la dépolymérisation de l'ADN (**Darlington et Mc-leish**, 1951) et une pareille dissolution des nucléoprotéines (**Kaufman**, 1958), ou bien d'une intense contraction et condensation des chromosomes (**Ahmed et Grant**, 1972).

Le phénomène dit de « stickiness » est probablement causé par une liaison subchromatidique entre les chromosomes (**Mc Gill et al.**, 1974), ou les chromosomes perdent leur capacité de mouvement et deviennent collants et ne peuvent aller à leur destination finale (**Ajay et Sarbhoy**, 1988). Ce phénomène pourrait être aussi expliqué par l'adhésion physique des protéines chromosomiques (**Patil et Bhat**, 1992).

Le changement de consistance des chromosomes qui deviennent collants s'explique probablement par l'action des composés phytochimiques pour chaque de l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L. et de la colchicine sur les protéines chromosomiques.

Par ailleurs, il a été démontré que l'aspect collant est le résultat de la condensation de l'ADN (**Österberg et al.**, 1984) et l'étranglement des fibres de la chromatine interchromosomiques, qui mènent aux connections subchromatidiques entre les chromosomes (**Patil et Bhat**, 1992).

L'aspect collant des chromosomes reflète un haut effet toxique, d'un type irréversible habituellement et mène probablement à la mort cellulaire (**El- Ghamery et al.**, 2003).

La présence de ponts chromosomiques (P) « bridges » chez les cellules méristématiques d'*A. cepa* traitées par l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L. (feuilles) et de la colchicine, doit être attribuée aux cassures chromosomiques, aspect collant des chromosomes, cassures et réunion des extrémités cassées (**Kabarity et al.**, 1974 ; **Badr et al.**, 1992).

Les ponts collants doivent être aussi le résultat d'un retard de la réplication des séquences de l'ADN et de l'hétérochromatine télomérique au moment où le noyau est prêt à se diviser (**Bennet**, 1997).

Les ponts chromosomiques en anaphase pourraient être provoqués durant la translocation d'échange chromatidique inégal ou dus à la présence de chromosomes dicentriques (**Konuk et al.**, 2007). Ces ponts causent des mutations chromosomiques structurales (**El-Ghamery et al.**, 2000).

Les quelques anaphases doubles star (A^{3*}) rencontrées chez les cellules méristématiques d'*A. cepa* traitées par la colchicine, proviendraient probablement d'une prolongation anormale de l'anaphase laissant aux chromosomes le temps de s'étaler sur les asters existants aux deux pôles (**Deysson**, 1956).

Les C-mitoses rencontrées chez les cellules méristématiques d'*A. cepa* traitées par la colchicine, sont probablement le résultats d'un blocage de la polymérisation des tubulines ou l'agrégation des microtubules et des tubulines sous formes cristallines (**Hsu et al.**, 1986).

En général, elles sont dues aux troubles dans la formation du fuseau mitotique (**Türkoğlu**, 2008).

L'aspect rétrécis et contracté des noyaux qu'on a nommé noyau déformé (Nd) rencontrés chez les cellules méristématiques d'*A. cepa* L traitées par l'extrait aqueux de *T. vulgaris* L. (feuilles) est du probablement au changement dans la structure ou la composition de la membrane nucléaire (**Gabara et al.**, 2006). De tels phénomènes ont été rencontrés chez des cellules méristématiques d'*A. cepa* traitées par l'extrait aqueux de *Uncaria tomentosa* (Rubiaceae) (**Kuras et al.**, 2006).

Les fragmentations (Fgmt) du cytoplasme des cellules méristématiques d'*A. cepa* traitées par l'extrait aqueux de *T. vulgaris* (feuilles) laisse suggérer qu'il s'agit de nécroses probables. La nécrose est une mort cellulaire dite « accidentelle » qui survient lors d'un dommage tissulaire et elle implique des groupes de cellules (**Moreau, 2006**).

Lors de la nécrose, la cellule devient enflée, puis la membrane cellulaire éclate déversant le contenu cellulaire dans le tissu environnant et provoquant l'inflammation. Les mitochondries et le noyau restent intacts tout au long de ce processus (**Moreau, 2006**).

L'ADN nucléaire va être dégradé de manière aléatoire (**Bicknell et Cohen, 1995**) par des endonucléases activées notamment par des sérines protéases (**Dong et al., 1997**). Les fragments ainsi générés sont dépourvus d'extrémité 3' sortante (**Moreau, 2006**).

En ce qui concerne les cellules comprenant des noyaux volumineux on pense qu'il s'agit d'une polyploïdie. Celle-ci peut être la conséquence d'un processus d'endoréduplication chez les cellules végétales. 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.

Les cellules où ce processus a lieu ont des ploïdies de plus en plus élevées puisque l'ADN est dupliqué en boucle. De plus, les tailles des noyaux étant augmentées, le volume des cellules suit cette tendance. Ce mécanisme pourrait jouer un rôle dans les voies d'adaptation des plantes aux stress abiotiques. Les ploïdies doivent être supérieures ou égales à 4 C pour relever de l'endoréduplication.

L'action antimitotique de l'extrait et de la colchicine testés pourraient être due probablement à la présence de polyphénols et de flavonoïdes.

Conclusion

Conclusion :

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Dans le présent travail, on s'est intéressé à l'effet antimittotique de l'extrait des feuilles de Thym (*Thymus vulgaris* L.), plante largement utilisée en médecine traditionnelle à travers le monde.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimittotique ont montré que le thym étudié a une réelle activité antimittotique *vis-à-vis* des cellules végétales (*Allium cepa* dans notre cas). L'étude de cette activité antimittotique sur les apex racinaires d'*Allium cepa* L. montre que l'extrait méthanolique testé agit selon un mode d'action caractérisé par l'accumulation des cellules au stade préprophase et la présence de chromosomes agglutinés ; les cellules à noyaux déformés; la fragmentation du cytoplasme cellulaire (*T. vulgaris*) et les anaphases trébles stars (colchicine).

Les aberrations au niveau des phases mitotiques seraient le résultat d'effets aneugènes des substances contenues dans les traitement, provoquant le dysfonctionnement du fuseau mitotique conduisant à des troubles chromosomiques durant le cycle cellulaire et d'effets clastogènes 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 d'effet nécessite des évaluations supplémentaires. Pour cela, il est serait judicieux d'examiner l'effet des traitements 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.

Avec les développements technologiques dans le domaine de la chimie analytique, il est devenu plus facile d'isoler et de caractériser les composants chimiques des extraits végétaux et on s'attend à ce que davantage d'informations à cet égard soient disponibles dans la future.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Adwan. G, Abu-Shanab. B, Adwan. K, Abu-Shanab. F, 2006. Antibacterial effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa* Turk. J. Biol. 30 : 239-242.
- Afnor (Association Française de Normalisation), 1986. Recueil des normes françaises “huiles essentielles”. AFNOR, Paris, 57p
- Agaev. R, Lecocq. F.M, Fer. A, Hallet. J.N, 1987. Etude de l’action d’un herbicide, le clorthal sur la prolifération cellulaire et la croissance de la tige du *Cuscuta lupuliformis*. Can. J. Bot. Vol.66.
- Ahmed. M et Grant. W.F, 1972. Cytological effects of the pesticides phosdrin and bladex in *Tradescantia* and *Vicia faba*. Can. J. Genet. Cytol., 14: 157–165
- Ajay. K.L et Sarbhoy. R.K, 1988. Cytogenetic studies on the effect of some chlorinated pesticides. *Cytologia*, 53: 427-436.
- Akinboro. A et Bakare. A.A, 2007. Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 470–475.
- Al-Bayati. F. A, 2008. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology.*, 166 (3) : 403-406.
- Alberts. B, Bray. D, Johnson. A, Lewis. J, Roberts. K et Wolter, 1997. L’essentiel de biologie cellulaire : Introduction à la biologie moléculaire de la cellule. Médecine-Science Flammarion, ed., p : 597.
- Allain. P, 2005. Les médicaments. In <http://www.pharmacorama.com/lelivre.php> (Consulté le 14/06/2007).
- Amiot. J, 2005. *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l’écologie évolutive des composés secondaire. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d’Agronomie de Montpellier.
- Amos L.A. et Baker T.S., 1979. The three dimensional structure of tubulin protofilaments. *Nature*, 279: 607-612.
- Antonsie-wicz. D, 1990. Analysis of the cell cycle in the root meristem of *Allium cepa* under the influence of the Ledakrin. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 28: 79-96.
- Arnaud-Lamardelle P., 1955. Recherches sur quelques problèmes relatifs à l’action des substances cinéto classiques et mitostatiques et à leur utilisation. Thèse de Doctorat ès Sciences inédite, Poitiers, p. 211. dactylographiées. In Deysson G., 1956.
- Badi N.H., Yazdani D., Mohammad Ali S., Nazari F, 2004, Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris*. *Ind. Crops. Prod*, 19, 231-236p
- Badr A., Ghareeb A. et El-Din H.M., 1992. Cytotoxicity of some pesticides in mitotic cells of *Vicia faba* roots. *Egyptian Journal of Applied Sciences*, 7 : 457-468.

- Balladin. D.A et Headley. O, 1999. Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linné) herlos. *Renewable Energy*. 17: 523-531.
- Barlow P.W, 1985. Nuclear chromatin structure in relation to cell differentiation and cell activation in the cap and quiescent centre of *Zea mays* L. *Journal of Experimental Botany*, Vol.36 (0170), 1492-1503.
- Barros L, Heleno S A, Carvalho A M and Ferreira I C F R .,2010. Lamiaceae often used Portuguese folk medicine as a source of powerful antioxidants: vitamins and phenolics. *LWT*, 43, 544-550.
- Bazytko. A et Strzelecka. H, 2007. A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitotherapia.*, 78 : 391-395.
- Benamar H.; Rached W.; Derdour A.; Marouf A.,2010. Screening of Algerian Medicinal Plants for Acetylcholinesterase Inhibitory Activity. *Journal of Biological Sciences*, 10 (1): 1-9
- Benard. J,1990. Cancers : peut-on prévoir les échecs de la chimiothérapie?. *La recherche*, 21 (219) p.357-358.
- Bennet M.D., 1997. Heterochromatin, aberrant endosperm nuclei and grain shriveling in wheat-rye genotypes. *Heredity*, 39: 411-419.
- Berkaloff. A, Bourguet. J, Favard. P et N et Lacroix. J-C, 1981. *Biologie et physiologie cellulaire III Division cellulaire*. Hermann, Collection Méthodes. Pais.
- Besombes C, 2008, Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, France, 289p
- Bhuyan. BK, Blowers. CL, Crampton. SL, Shugars. KD,1981. Cell kill kinetics of several nogalamycin analogs and adriamycin for chinese hamster ovary,L1210 leukemia, and melanoma cells in culture. *Cancer Res* 41: 18-24
- Bicknell G.R. et Cohen G.M., 1995. Cleavage of DNA to large kilobase pair fragments occurs in some forms of necrosis as well as apoptosis. *Biochemical and Biophysical research Communications*, 207: 40-47.
- Bleyer. WA, 1978.The clinical pharmacology of methotrexate. *Cancer* 41:36-51.
- Bonnafous. C, 2013. *Traité Scientifique Aromathérapie Aromatologie et Aromachologie*. Éditions Dangles. 522 pp.
- Borboa L. et De la Torre C., 1996. Adaptation to Cd (II) and Zn (II), and the caffeinepotentiated override of the G2 block induced by the checkpoint activated by DNA damage. *Plant Biosyst.*, 134: 3-9.
- Bouguerra N., Djebbar F.T., Soltani N, 2017, Algerian *Thymus vulgaris* essential oil: Chemical composition and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. *International Journal of Mosquito Research*, 4(1), 37-42p

- Bouhdid. S, Idaomar. M, Zhiri. A, Bouhdid. D, Skali. N. S et Abrini, J, 2006. Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimies, Agadir. 324-327.
- Bouzid W, Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane M C et Ayachi A .,2011. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'*Aubepine Monogyne*. *Lebanese Science Journal*, 12 (1), 59-69.
- Brada M., Achour D., Wathelet J.-P., Lognay G, 2009, Study of essential oils of some plants from Algeria (*Salvia officinalis*, *Thymus vulgaris* and *Ruta chalepensis*). In: 8ème congrès de la Société Algérienne de Chimie, Béjaia, Algérie, May 26-28, 2009
- Brulfert. A, 1985. Le méristème racinaire, modèle pour l'étude du cycle cellulaire et de ses contrôles. Bull. Soc. Fr. 132, Actual.Bot., (1), pp-35-47.
- Bruneton. J, 1999. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3 ème Ed Tec&Doc. Paris.
- Camparoto. M.L, Teixeira. R.O, Mantovani. M.S et Vicentini. V.E.P, 2002. Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion root-tip and rat bone-marrow cells. *Genet. Mol. Biol.*, 25:85-89.
- Cassady J.M. et Douros J.D., 1980. Anticancer Agents Based on Natural Product Models. Academic Press, ed., New York. p. 465-487.
- Champoux. JJ, 2001. DNA topoisomerase: structure, function and mechanism. *Annu. Rev. Biochem.*, 70, 369-413.
- Channabasava. & Melappa. G, 2014. First Report Of Anticancer Agent, Lapacholproducingendophyte, *Aspergillus Niger* Of *Tabebuiaargentea* And Itsin *Vitro*cytotoxicityassays, *Bangladesh J Pharmacol*, 9 : 129-139.
- Chaouat. L, 1984. Sur l'apparition de troubles mitoclasiques, chez l'*Allium sativum* L., sous l'influence du phényl uréthane. *Rev. Cytol. Biol. Végét. Bot.*, 7, 153-160.
- Chauhan. L.K.S, Saxena. P.N et Gupta. S. K, 1998. Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Environmental and Experimental Botany*, 42:181-189.
- Chèvremont. M, 1979. Cytologie et histologie. Maloine, ed., Paris. I : 686.
- Chevret. E, 2015. Notions de Biologie Cellulaire, Biologie Moléculaire et Génétique. Université de Boreaux. 5-25 p.
- Clowes. F. A. L, 1971. The proportion of calls that divide in root meristems of *Zea nays* L. *Ann. Bot.* 35, pp.249-261.
- Cottignies. A, 1981a. Influence de la fixation dans l'étude densitométrique de l'ADN nucléaire. *Z.Pflanzenphysiol. Bd.* 103, S. 379-391.

- Cottignies. A, 1981b. Arrêt saisonnier de la pré-synthèse de l'ADN en un point de restriction (G0, R). *Bull.Soc.Bot.Fr*, 128, Actual.Bot., (2), 53-60.
- Cowan. M. M, 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews.*, 12 (4) : 564-570.
- D'Amato. F, 1954. Action des facteurs physiques et chimiques sur la mitose. *Int. Botanique*, 9 : 1-9. In Deysson G., 1956
- Darlington. C.D, Mc-Leish. L, 1951. Action of maleic hydrazide on the cell. *Nature*, 167 : 407-408. In In Türkoğlu S., 2008.
- De Bondt, H.L, Rosenblatt., J, Jancarik. J, Jones. H.D, Morgan. D.O. et Kim. S.H, 1993. Crystal structure of cyclin-dependent kinase 2. *Nature*, 363, 595-602.
- Delcourt. A, 1970. Inhibition fusoriale : rapport entre l'effet mitoclasique de la colchicine et la réaction d'oxydoréduction thiol-disulfure. *Soc. Bot. Fr. Mémoires*, pp.11-124.
- Deysson. G, 1956. Les facteurs de la mito-inhibition végétale. VI. p. 241-274. *In André Thomas J.*, 1956.
- Dolisi. G, 2009. La mitose. Georges Dolisi, (chapitre 3). P : 15-26.
- Dong Z., Saikumar P., Weinberg J.M. et Venkatachalam M.A., 1997. Internucleosomal DNA cleavage triggered by plasma membrane damage during ecrotic cell death. Involvement of serine but not cysteine proteases. *American Journal of Pathology*, 151: 1205-1213.
- Ducommun. B, Brambilla. P, Felix. M.A, Franza. Jr, B.R., Karsenti, E et Draetta, G, 1991. Cdc2 phosphorylation is required for its interaction with cyclin. *EMBO Journal*, 10, 3311-3319.
- Dustin. P, 1956. Les facteurs de la mito-inhibition des cellules animales. Leur rôle dans la croissance mitotique chez les mammifères. V. p. 190-240 *In André Thomas*, 1956.
- El-Akhal F., Greche H., Ouazzani Chahdi F., Guemmouh R., El Ouali Lalami A, 2015, Composition chimique et activité larvicide sur *Culex pipiens* d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc. *J. Mater. Environ. Sci*, 6(1), 214-219p.
- El-Ghamery A.A., El- Kholy M.A. et Yousser A., 2003. Evaluation of cytological effect of Zn²⁺ in relation to germination and root growth of *nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L. *Mutation Research*, 537 (1): 29-41.
- El-Ghamery. A.A, El-Nahas. A.I et Mansour. M.M, 2000. The action of atrazine herbicide as an indicator of cell division on chromosomes and nucleic acid content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytologia*, 65 (3): 277-287.
- Endicott. J.A, Nurse. P et Johnson. L.N, 1994. Mutational analysis supports a structural model for the cell cycle protein kinase p34. *Protein Engineering*, 7, 243-253.
- Epsie. M, Extra. J.M, Cottu. P.H, Cuvier. C et Marty.M, 1998. Médicaments anticancéreux.69 : 917-945. In Schorderet M., 1998.
- Evans, L., M. T, and K. M. 1985. Influence of the centrosome on the structure of nucleated microtubules. *J. Cell Biol.* 100:1185-1191.

- 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.
- Fellah. S, Romdhane. M et Abderraba. M, 2006. Extraction Et Etude Des Huiles Essentielles De La *Salvia Officinalis*. L Cueillie Dans Deux Regions Differentes De La Tunisie, Journal de la Société Algérienne de Chimie, 16 :2 , 193-202.
- Fiskesjö. G, 1993. The *Allium cepa* in wastewater monitoring. Environ. Toxicol. Water., 8: 291–298.
- Follézou. J.Y et Pouillart. P, 1980. Précis de chimiothérapie anticancéreuse. doin eds., Paris, p. 44-83.
- Fusconi, A., Repetto, O., Bona, E., Massa, N., Gallo, C., Dumas-Gaudot, E. et Berta, G., 2006. Effects of cadmium on meristem activity and nucleus ploidy in roots of *Pisum sativum* L. cv. Frisson seedlings. Environmental and Experimental Botany, 58: 253–260.
- Gabara B., Kalwinek J., Koziró A., Żakowska Z. et Brycki B., 2006. Influence of N, N-Bis (3-Aminopropyl) Dodecylamine on the ultrastructure of nuclei in *Aspergillus niger* mycellium and on cell proliferation and mitotic disturbances in *Allium cepa* L. root meristem. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 48 (1): 45-52.
- Galas. S, Descamps. S, Martinez. A-M, 2008. Le cycle cellulaire. Ed : De Boeck, paris. P: 115.
- Gatto. B, Capranico. G, Palumbo. M, 1999. Drugs acting on DNA topoisomerases: recent advances and future perspectives. Curr. Pharm. Des., 5, 195-215.
- Giordani R., Hadeff Y., Kaloustian J, 2008, Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. Fitoterapia, 79(3), 199-203p
- Glinska. S, Bartezak. M, Oleksiak.S, Wolska. A, Gabara. B, Posmyk. M & Janas. K, 2007. Effects of anthocyanin-rich extract from red cabbage leaves on meristematic cells of *Allium cepa*. Root treated with heavy metals. *Ecotoxicology and environmental safety*. 68 : 343-350.
- Golmakani. M. T et Rezaei. K, 2008. Comparaison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. Food chemistry., 109 : 925-930.
- Gorin N.C., Philip T. et Symann M., 1996. Manuel pratique d'hémato-cancérologie et de chimiothérapie. Frison – Roche, eds., Paris, p. 13-20.
- Grant. W.F, 1978. Chromosome aberrations in plant as monitoring system. Environ. Health Perspect., 27: 37–43.
- Grasse. P, 1966. Biologie générale. Edition Masson, p146-150.
- Guillén. M. D et Manzanos. M. J, 1998. Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus Vulgaris* L. plqnt. Food chemistry. 63 (3) : 373-383.
- Hannewald. P, Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie - Substances naturelles se fixant sur la tubuline - Mise en oeuvre d'un criblage par spectrométrie de masse. [cité 15 mai 2018];
 Disponible sur:
http://docnum.univlorraine.fr/public/SCDPHA_T_2009_HANNEWALD_PAUL.pdf

- Hochegger H., Takeda S. & Hunt T. (2008). Cyclin-dependent kinases and cell-cycle transitions : does one fit all ? *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9.
- Hoshina. M.M, 2004. Evaluation of a Possible Contamination of the Waters of the Claro River – Municipality of Rio Claro, Part of the Corumbataí River Basin, with the Mutagenicity Tests Using *Allium Cepa*. 52f. Monograph (Bachelor's and Teaching degrees) – State University of São Paulo, Rio Claro, SP (in Portuguese).
- Hsu. T.C, Liang. J.C et Sataya-Prakash. K.L, 1986. Cytogenetic assays for mitotic poisons using somatic animal cells. In Serres F.J., 1986.
- Hubert-Habart. M, Kokel. B, Menechi. G, 1987. Réflexions sur la chimiothérapie des cancers. *L'actualité chimique* p.105-113.
- Hudaib. M, Speroni. E, Pietra. A. M. D et Carvin. V. 2002. GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during vegetative cycle. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 29: 691-700.
- Ikeda. K, Pant. B, Mishiro. A, Ozawa. K, Masujina. T & Sugiyana. M, 2000. A convenient method for the evaluation of anti-tumor agents affecting the cell cycle. *Jornal of bioscience and bioengineering*. 90 (5) : 574-576.
- Imelouane B., Amhamdi H., Wathelet J.P., Ankit M., Khedid K., El Bachiri A, 2009, Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *International Journal of Agriculture & Biology*, 11(2), 205-208p.
- Iserin. P, 2001. *Encyclopédie des plantes médicinales*. 2 ème Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225-226. Jassim S.A., Naji M.A. (2003) Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective. *Appl. Microbiol.* 95 (3) : 412-27.
- Jahier J., 1992. *Techniques de cytogénétique végétale*. INRA, ed., Paris. p. 181.
- Jiménez-Arellanes. A, Martinez. R, Garcia. R, León-Díaz. R, Aluna-Herrera. J, Molina –Salinas. G et Said-Fernández. S, 2006. *Thymus vulgaris* as a potential source of antituberculosis compounds. *Pharmacologyonline.*, 3 : 569-574.
- Jordán. M.J, Martínez. R.M, Goodner. K.L, Baldwin. E.A, Sotomayor. J.A, 2006, Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial Crops and Products*, 24(3), 253-263p
- Joubés J., Chevalier C., Dudits D., Heberle-Bors E., Inzé D., Umeda M. et Renaudin J.P., 2000. CDK-related protein kinases in plants. *Plant Mol. Biol.*, 43: 607-620.
- Kabarity A., El-Bayoumi A.S. et Habib A.A., 1974. Effects of morphine sulphate on mitosis of *Allium cepa* root tips. *Biologia Plantarum*, 16 : 275-282.
- Kaloustian. J, El-Moselhy. T. F, Portugal. H, 2003. Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (*Thymus vulgaris*). *Therm. Ochimica. Acta.* 401 : 7786.
- Karp. G, 1998. *Biologie cellulaire et moléculaire: Concepts et expériences*. De Boeck université, ed., Bruxelles. p. 665.
- Kazemi M., Mousavi E., Bandrez N, 2012, Chemical compositions and antibacterial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* and *Tanacetum parthenium*. *Research Journal of Soil Biology*, 4(2), 21-31p

- Kehrer. DFS, Soepenber. O, Loos. WJ et al, 2001. Modulation of camptothecin analogs in the treatment of cancer a review. *Anti-Cancer Drugs* 12:89-105
- Kelen M., Tepe B, 2008, Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*, 99(10), 4096-4104p
- Kim. DK et Lee. N, 2002. Recent advances in topoisomerase I-targeting agents, camptothecin analogues. *Mini Rev. Med. Chem.*, 2, 611-619.
- Kitajima. J, Ishikawa. T, Urabe. A, Satoh. M, 2004. Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme. *Phytochemistry*. 65 : 3279-3287.
- Kitchell. BA, 2005. Practical Chemotherapy - An overview. In : Proceedings of 30th world congress of the world small animal veterinary association. Mexico City, Mexico, 11-14 May 2005.
- Knighton, D.R., Zheng, J., Ten Eyck, L.F., Ashford, V.A., Xuong, N., Taylor, S.S. & Sowadski, J.M. (1991a). Crystal structure of the catalytic subunit of cyclic adenosine monophosphate-dependent protein kinase. *Science*, 253, 407-414.
- Knighton, D.R., Zheng, J., Ten Eyck, L.F., Xuong, N., Taylor, S.S. & Sowadski, J.M. (1991b). Structure of a peptide inhibitor bound to the catalytic subunit of cyclic adenosine monophosphate-dependent protein kinase. *Science*, 253, 414-420.
- Knoll. M, Da Silva. A.C.F, Canto-Dorow T.S et Tedesco. S.B, 2006. Effects of *Pterocaulon polystachyum* DC. (Asteraceae) on onion (*Allium cepa*) root-tip cells. *Genet. Mol. Biol.*, 29 (3).
- Kobayashi. H, Stewart. E, Poon. R, Adamczewski. J.P, Gannon. J & Hunt. T, 1992. Identification of the domains in cyclin A required for binding to, and activation of, p34(cdc2) and p32(cdk2) protein kinase subunits. *Molecular Biology of the Cell*, 3, 1279-1294.
- Konuk. M, Liman. R et Ciğerci. H, 2007. Determination of genotoxic effect of boron on *Allium cepa* root meristematic cells. *Pak. J. Bot.*, 39(1): 73-79.
- Krajewska M., 1996. Number of nuclei, mitotic activity and cell length in *Cladophora* sp. thallus treated with cadmium and chromium. *Acta. Soc. Bot. Pol.*, 65: 249–256.
- Kulšić. T, Dragovic-Uzelac. V et Miloš M, 2006. Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (4) : 485-492.
- Kuraś. M, Nowakowska J., Sliwiska 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.
- Lechat P et Loichot. A , 2006. Pharmacologie. dcm1.Université Paris-VI Pierre et Marie Curie. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière.p. 652.
- Lechat. P, CALVO. F, de CREMOUX. P, 1990. Médicaments anticancéreux. In : Pharmacologie médicale. 5ème ed. Issy Les Moulineaux : Masson, 243-265.
- Lees. E.M. & Harlow. E, 1993. Sequences within the conserved cyclin box of human cyclin A are sufficient for binding to and activation of cdc2 kinase. *Molecular and Cellular Biology*, 13, 1194-1201.

- Levy. F, 1970. Etude des effets de l'hydroxyméthyl colchicine et de la désacétylaminocolchicine comparés à ceux de la colchicine. Soc. Bot. Fr., Mémoires, 145-154.
- Mabuchi. I, 1986. Biochemical Aspects of Cytokinesis. Int. Rev. Cytol., 101:175-213.
- Madi. Aicha, 2010. Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques, Mémoire de Magister, Option : Biotechnologie végétale, Université Mentouri Constantine, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Département de biologie et écologie.
- Maillet. M et Lemullois. M, 2006. Biologie cellulaire. Masson, ed., paris. P : 618.
- Maillet. M, 2002. Biologie cellulaire. Masson, ed., paris. P. 257-274.
- Majewska, A., Furmanowa, M., Sliwińska, E., Głowniak, K., Guzewska, J., Kuraś M. et Zobel, A., 2003. Influence of extracts from shoots of *Taxus baccata* var. *elegantissima* on mitotic activity of meristematic cells of *Allium cepa* L. roots. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 63: 185–192.
- Mangambu. M, NoihaNoumi. V, Zapfack. L et Sonké. B, 2010. Etude phytosociologique du groupement à piper capensis (R.D. Congo). International journal of environmental studies, 67(3) : 417-430.
- Marcano. L, Carruyo. I, Fernández. Y, Montiel. X et Torrealba. Z, 2004. 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> (Consulté le 15/05/2018)
- Mc Gill M., Pathak S., et Hsu T. C., 1974. Effects of ethidium bromide on mitosis and chromosomes: A possible material basis for chromosome stickiness. Chromosoma, 47: 157.
- Meijer. L, 2003. Le cycle de la division cellulaire et sa régulation. Oncologie, 5: 311-326.
- Mercyketly V.C et Stephen J., 1980. Adriamycin induced genetic toxicity as demonstrated by *Allium cepa* test. Cytologia, 45: 769–777.
- Michaux-Ferriere. N, 1981. Le méristème caulinaire de l'*Isoetes setacea* Lam. Au cours de son cycle annuel. Bull. Soc. Bot. Fr., 128, Actual. Bot. (2), 73-81.
- Mokkaem. A, 1999. Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. Vie et Nature, 7, pp. 24–26.
- Monassier. L, 2012. Chimiothérapie anticancéreuse, Pharmacologie, DCEM3. Strasbourg.
- Morales. R, 2002. The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In : Thyme : the genus *Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43.
- Moreau D., 2006. Étude de nouvelles cibles moléculaires de cancer bronchopulmonaire non à petites cellules pharmacomodulées par des substances originales naturelles et synthétiques. Thèse Doc. Université de Nantes. France. p. 321.
- Nogales. E, M. Whittaker, R.A. Milligan, and K.H. Downing. 1999. High-resolution model of the microtubule. Cell. 96:79-88.

- Nougarede .A, 1977. Infrastructure des axillaires cotylédonaire du *Pisum sativum* L. (Var.nain hâtif d'Anomay) durant le blocage en phase G1 (état inhibé) et après la reprise de l'activité. C.R. Acad. Sc. Paris, p.284.
- Österberg R., Persson D. et Bjursell G., 1985. The condensation of DNA by chromium (III) ions. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2 : 285-290.
- Oulebsir-Mohandkaci H., Ait Kaki S, 2015, Essential oil of two Algerian aromatic plants *Thymus vulgaris* and *Eucalyptus globulus* as bio-insecticides against aphid *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). Wulfenia Journal, 22(2), 185-197p
- Özcan. M et Chalchat. J.-C 2004. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in Turkey. Bulg. J. Plant Physiol. 30 (4) : 68-73.
- Panda. B.B et Sahu. U.K, 1985. Induction of abnormal spindle function and cytokinesis inhibition in mitotic cells of *Allium cepa* by the organophosphorus insecticide fensulfoton. Cytobios, 42: 147-155.
- Pariente. L, 2001. Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2 ème Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris 1643 p.
- Patil B.C. et Bhat G.I., 1992. A comparative study of MH and EMS in the induction of chromosomal aberrations on lateral root meristem in *Clitoria ternata* L. Cytologia, 57: 259- 264.
- Pease. D.C, 1946. Hydrostatic pressure effects upon the spindle figure and the chromosome movement. II. Experiments on the meiotic division of *Tradescantia* pollen mother cells. Biol. Bull., 91: 145-169. In Gavaudan P., 1956.
- Petit G.R., 1994. Marine animal and terrestrial plant anticancer constituents. Pure & Appl. Chem., 66 (10): 2271-2281.
- Poletti. A, 1988. Fleurs et plantes médicinales. 2 ème Ed. Delachaux & Niestlé S. A. Suisse. Pp : 103 et 131.
- Pommier Y et Kohn Kw., 2003. Cycle cellulaire et points de contrôle en oncologie: nouvelles cibles thérapeutiques. Médecine Sciences ,19: 173-186.
- Răuciu. M et Creangă. D, 2007. Cytogenetic changes induced by aqueous ferrofluids in agricultural plants. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 311 : 288-290.
- Rebaya A., Igued Belghith S., Baghdikian B., Mahiou Leddet V., Mabrouki F., Olivier E., Cherif J.K., Trabelsi Ayadi M., 2015- Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). Journal of Applied Pharmaceutical Science. Vol. 5 (01): 052-057.
- Reece. J-B, Urry. L-A, Cain. M, Wasserman. S-A, Minorsky. P-V, Campbell.N et Jackson. R-B, 2012. Campbell Biologie. PEARSON, 4e éd. ERPI, mai 2012.
- Renaudin J.P., Savoure A., Philippe H., Van Montagu M., Inzé D. et Rouzé P., 1998. Characterization and classification of plant cyclin sequences related to A- and B-type cyclins. Plant Cell Division, 10: 67-98.
- Roland J.C. et F, 1995. “ Atlas de Biologie Végétale – 2. Organisation des plantes à fleurs ”. Masson, éd.

- Sahreen. S, Khan. M. R and Khan. R.A., 2010. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. *Food Chemistry*, 122, 1205-1211.
- Sahreen. S, Khan. M.R and Khan. R.a, 2010. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. *Food Chemistry*, 122, 1205-1211.
- Sans. J, Gimenez-Martin. G et Delattore. C, 1980. On set of cell proliferation in dormant roots of *Allium cepa* L. Bulbs kinetic analysis. *Biol.cellular*, 38, 95-104.
- Schlienger. J.L, 2014. L'histoire des tourments de la podagre. Médecine des maladies métaboliques. Ed. Masson Elsevier. Avril 2014, N°2, Volume 8.
- Schubert I., Pecinka A., Meister A., Schubert V., Klatte M. et Jovtchev G., 2004. DNA damage processing and aberration formation in plants. *Cytogenet Genome Res.*, 104: 104- 108.
- Schulze E. et Kirscher S., 1996. Microtubule dynamics in interphase. *Cellular Journal of Cell Biology*, 102 : 1020-1031.
- Sefidkon F., Jalili A., Mirhaji T, 2001, Essential oil composition of three *Artemisia* spp. from Iran. *Flavour Fragr. J*, 17(2), 150-152p
- Selmi. S et Sadok. S, 2008. The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus) on flesh quality of tuna (*Thunnus* Linnaeus) during chilled storage. *Pan-American Journal of aquatic sciences.*, 3 (1) : 36-45
- Shabnum. S et Wagay. G.M, 2011. Micropropagation of different species of *Thymus*. *J. Res. Dev*, 11, 71-80p.
- Sharma. C.B, 1983. Plant meristems as monitors of genetic toxicity of environmental chemicals. *Curr. Sci.*, 52: 1000–1002.
- Shweta. S, Khadabadi. S & Ganesh. T.G, 2012. *In vitro* antimitotic, antiproliferative, DNA fragmentation and anticancer activity of chloroform and ethanolextract of *Reviahypocrateriformis*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. S503-S506.
- Siddiqui S., Meghvansi M.K. et Hasan Z., 2007. Cytogenetic changes induced by sodium azide (NaN₃) on *Trigonella foenum-graecum* L. seeds. *South African Journal of Botany*, 73 : 632–635.
- Simard. R et Bernhard. W, 1966. Le phénomène de la ségrégation nucléolaire : Spécificité d'action de certains antimétabolites. *Int. J. Cancer*. (1), p.463-479.
- Soto-Medivil E.A., Moreno-Rodríguez J.F., Estarrón-Espinosa M., García-Fajardo J.A., Obledo-Vázquez E.N, 2006, Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*. *e-Gnosis [online]*, 4(16), 1-7p
- Stryer. L, 1997. *Biochemia*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, p.1032–1069. In Kuraś et al., 2006.
- Subhadradevi.V, Khairunissa. K, Asokkumar. K, Umamaheswari. M, Sivashanmugam. A & Jagannath. P, 2011. Induction Of Apoptosis And Cytotoxic activities Of *Apiumgraveolens* Linn. Using *Vitromodels*. *Middle-East J Scires*. 9 : 90-94.
- Syamasundar K.V., Srinivasulu B., Stephen A., Ramesh S., Rao R.R, 2008, Chemical composition of volatile oil of *Thymus vulgaris* L. from Western Ghats of India. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 17(3), 255-258p
- Takeuchi. H, Lu. Z. G et Fujita. T, 2004. New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (*Thymus vulgaris* L). *Bioscience, biotechnology and biochemistry.*, 68 (5) : 1113- 1134.

- Türkoğlu S., 2008. Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa* L. *Food and Chemical Toxicology*, xxx (2008) xxx–xxx (Online Science Direct).
- Vekiari S.A., Protopapadakis E.F., Papadopoulou P., Papanicolaou D., Panou C., Vamvakias M, 2002, Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a lemon variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5(1), 147-153p
- Verdier-Pinard P., Lansiaux A. et Bailly C., 2001. Combretastatin A4 phosphate. *Bulletin du Cancer*, 88 (3): 235-239.
- Viel. C, 1982. Introduction aux mécanismes des antitumoraux. *Les actualités pharmaceutiques*, 190, p.18-27.
- Wada. B, 1939. Experimentelle Untersuchungen lebender Zelle in der Teilung. HHH. Die Einwirkung des chlorophorm und Atherdampfes auf die Mitose bei den Tradescantia Haarzellen. *Cytologia*, 9 : 460-479. In Deysson G., 1956.
- Webster P.L. et Davidson D., 1969. Changes in the duration of the mitotic cycle induced by colchicine and indol3ylacetic acid in *Vicia faba* roots. *Journal of Experimental Botany*, 20: 671-685.
- Webster. P.L. et Macleod. R.D, 1980 . Characteristics of root apical meristem cell population kinetics: review of analysis and concepts. *Environmental and Experimental Botary*, 20, pp.335-358.
- Wicht. M et Anton. R, 2003. *Plantes thérapeutique*. EMI / Tec et Doc, Paris, p 216-9.
- Wong.E et Giandomenico.C, 1999. Current Status of Platinum-Based Antitumor Drugs. *Chem. Rev.* 99, 2451-2466.
- Xia E Q, Deng G F, Guo Y J and Li H B .,2010. Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 622-646.
- Yakhlef. G, 2010. Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L.. Mémoire de Magister, Université de Batna, Algérie, 110p

Les sites d'internet:

- <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/cyclecellBM/02CDK.htm>
- <http://theses.univ-oran1.dz/document/TH2899.pdf>
- http://scolarite.fmp-usmba.ac.ma/cdim/mediatheque/e_theses/173-16.pdf
- <http://datasheets.scbt.com/sds/eghs/fr/sc-203005.pdf>
- <https://bu.umc.edu.dz/theses/biologie/HAM6329.pdf>
- https://www.researchgate.net/publication/280896359_Le_cycle_cellulaire_et_sa_regulation
- <http://docplayer.fr/14608647-Ue-2-1-s1-competence-4-biologie-fondamentale.html>
- https://www.conatex.com/media/manuals/BAFR/BAFR_1037491.pdf
- <http://studylibfr.com/doc/8763331/cours-de-biologie-cellulaire-1-ann-%C3%A9>
- <http://planet-vie.ens.fr/article/1511/mitose-vegetaux>
- <http://docplayer.fr/14608647-Ue-2-1-s1-competence-4-biologie-fondamentale.html>
- <https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Cisplatine#/media/Fichier%3ACisplatin.svg>
- <https://fr.wikipedia.org/wiki/Chromosome>
- <http://users.rcn.com/j.kimball.ma.ultranet/BiologiePages/P/Polyloidy.html>

Annexes

Préparation de Carmin acétique :

- ☞ Mélangeant 55 ml d'eau distillée et 45 ml d'acide éthanoïque pur (CH_3COOH) = acide acétique dans un ballon ;
- ☞ Porter à ébullition au bain-marie, ajouter du carmin (poudre) à saturation c'est à dire environ 2g/100 ml du mélange ED-acide, remuer avec un agitateur pendant 15 min environ ;
- ☞ Laisser refroidir 24h ;
- ☞ La solution obtenue est filtrée avant emploi sur du papier filtre et la conserver dans des flacons hermétiques.



Figure 43 : Les étapes nécessaires pour préparation de carmin acétique.

a) Ébullition au bain-marie ; b) Agitateur ; c) Filtration ; d) Conserver dans des flacons

Les tissus des différentes phases de division des cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. qui utilisé pour calcul l'index mitotique et l'index phasique.

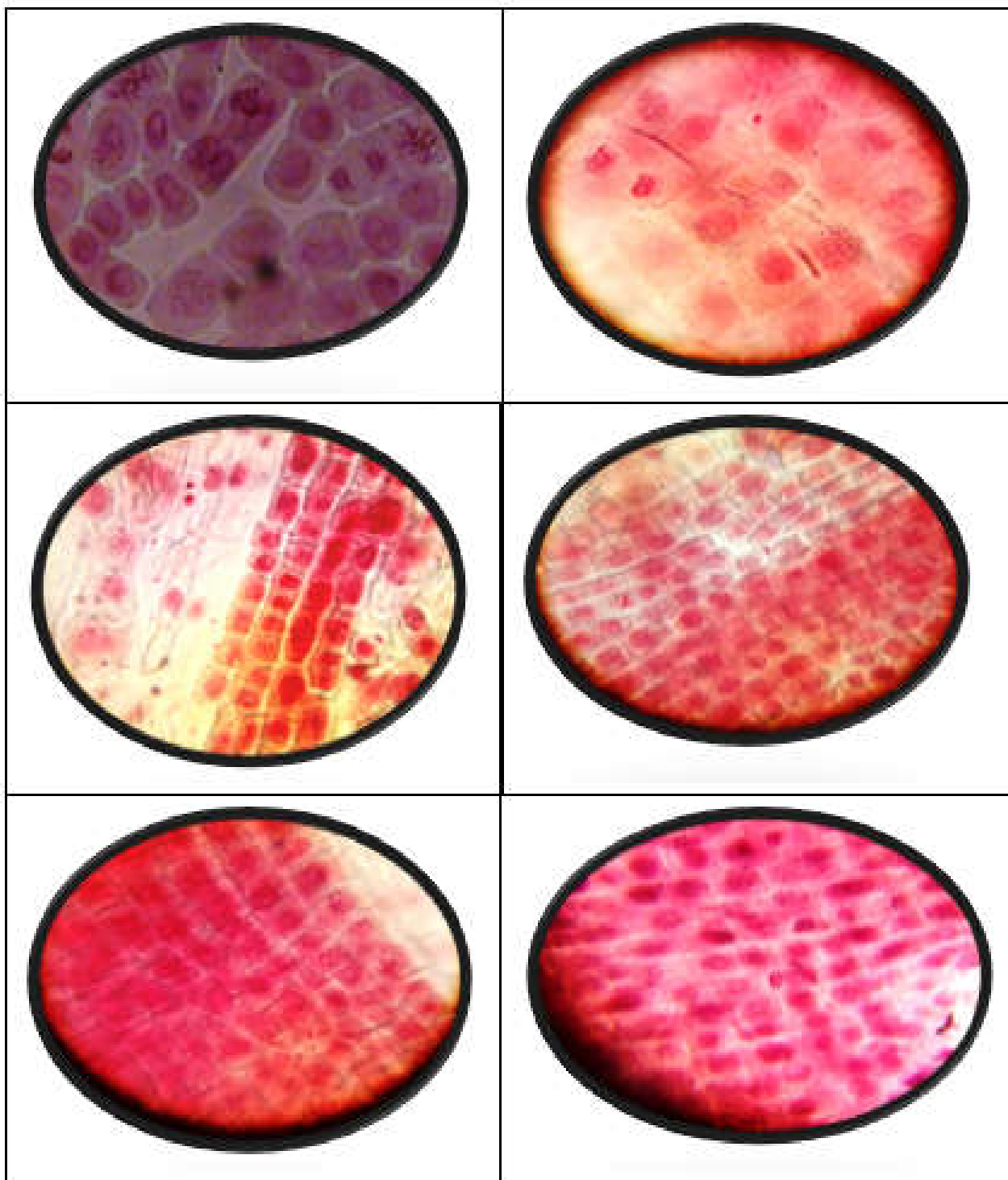


Figure 44 : Les tissus des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* L. en division régulière et normale.

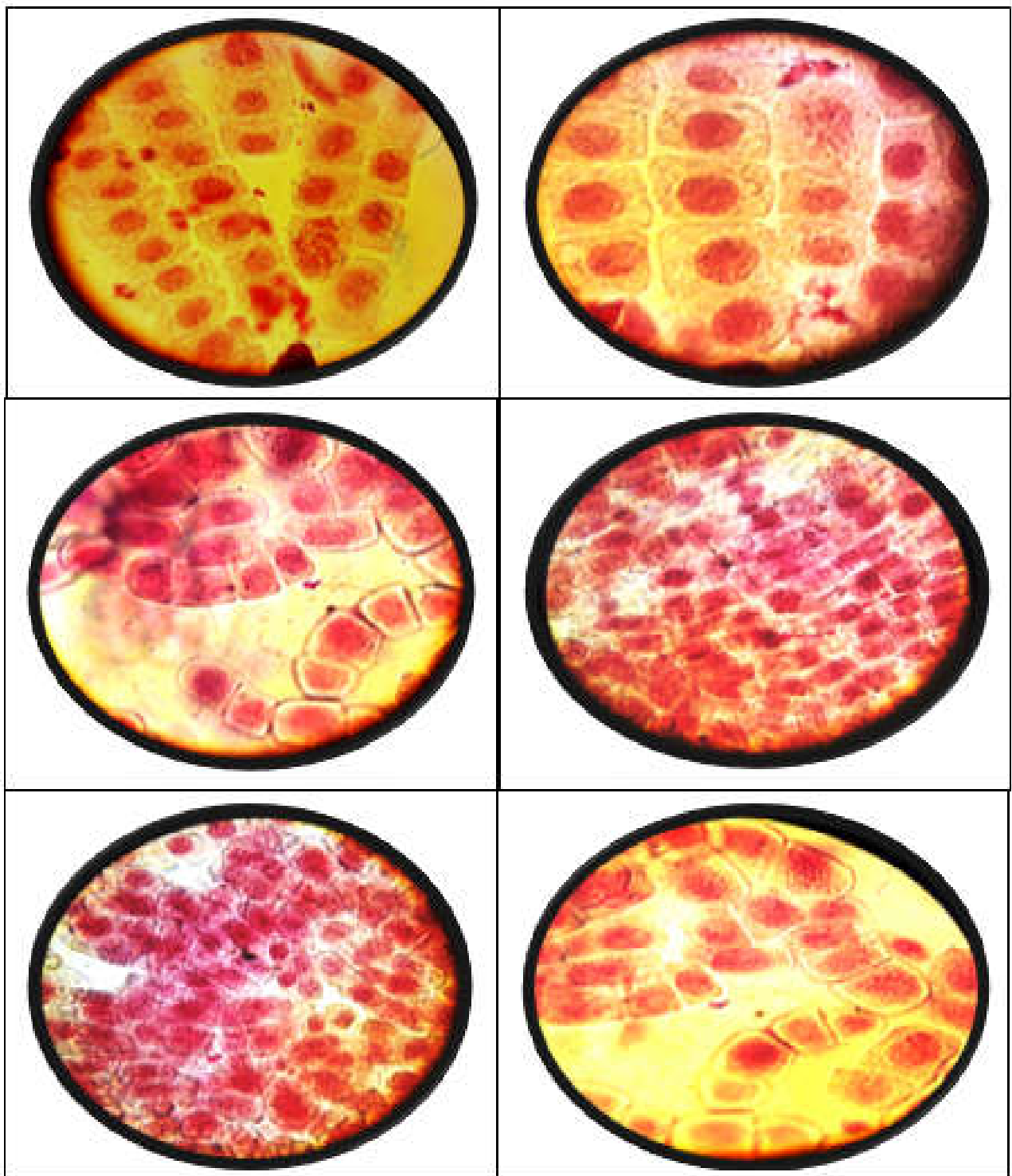


Figure 45 : Les tissus des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa L.* traitées par la colchicine à concentration 0.2%.

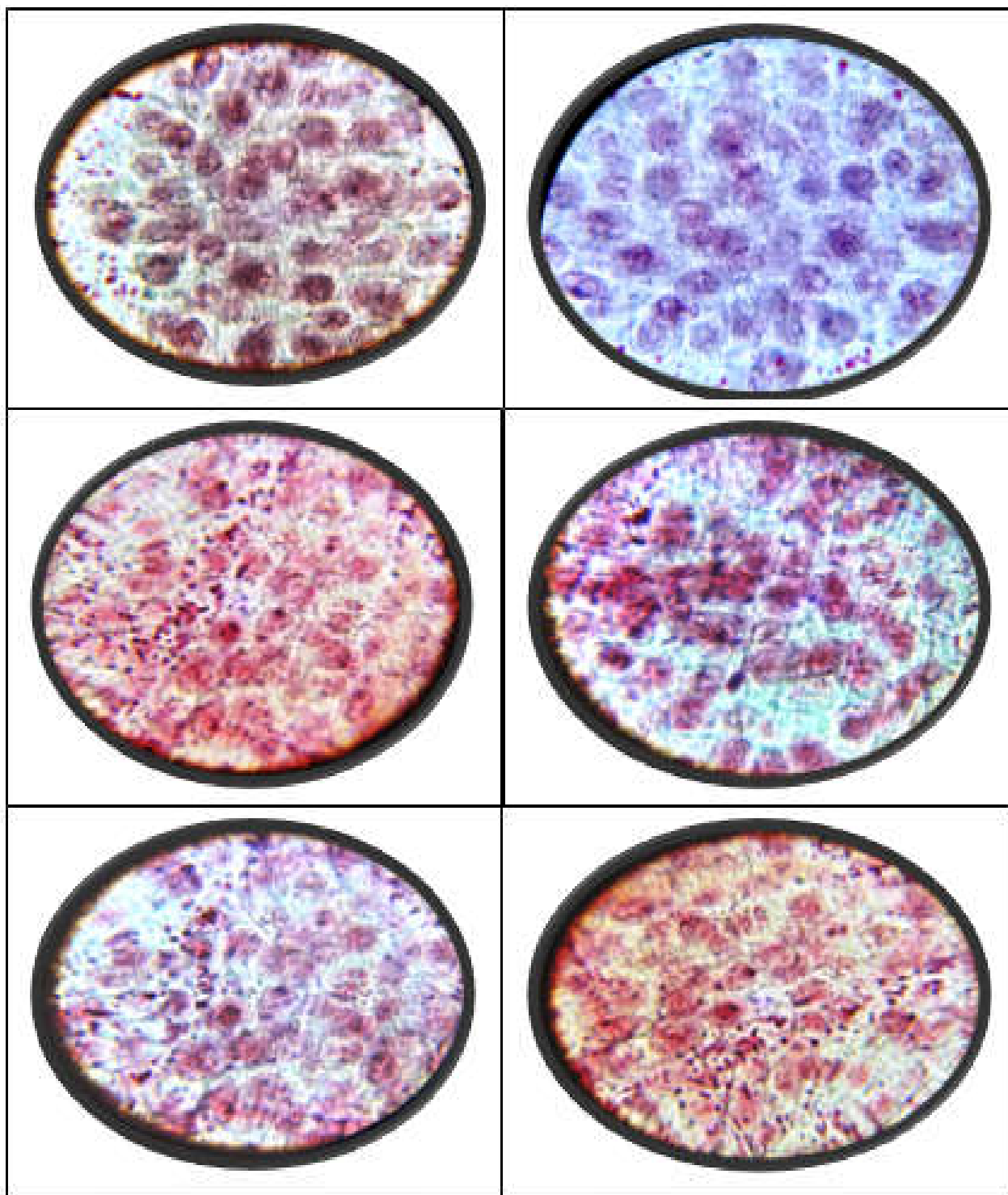


Figure 46 : Les tissus des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* L. traitées par l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L. (feuilles) à concentration 0.12%.