



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

N série:

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمادة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

Etudes des activités pharmacologiques de *Daucus carota L* sur la toxicité induite par le Métribuzine chez le rats wistar

Présentés Par:

CHEBROU Oussama & BELKHIR Ahmed Yacine

Devant le jury composé de :

Présidente : NADJI Nassima

M.A.A, Université d'El Oued

Examineur : BENALI Abdel Hai

M.C.B, Université d'El Oued

Promotrice : TOUMI Ikram

M.C.A, Université d'El Oued

Année universitaire 2020/2021



A mon cher grand-père

ALLAL ALI

Qui est toujours présent dans mon cœur

Oussama

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à:

A mes très chers parents qui ont toujours été là pour, qui m'ont tant soutenu tout au long de mes études.

Mon chère Mère **RADIA**

Mon cher père **ABDEL FATAH**

À ma sœur **CHAHINEZ**,

À mes frères : **AYMEN** et **MOHAMED ALI**

À ma chère tante **Allal Khadidja et son famille** malgré la distance, vous êtes toujours dans mon cœur

À mon oncle **Chebrou Belgacem** et son famille

À tous ceux que j'aurais oublié de citer

Mais qui existent au fond de mon cœur et de ma pensée.

Oussama 

Dédicace

A mes chers parents ma mère et mon père pour leurs sacrifices et leurs
tendances tout au long de mes études

Mon chère Mère *NORA Abdelaoui*

Mon cher père *ABDEL Hakim*

A mes belles sœur *Yasmine*

Et frères: *Sami, Riyad, Aymen*

A mes tous familles proches ou éloignés

A toute mes amies qui tenaient à côté de moi et m'ont soutenu m'a encouragé

Tout au long de l'année

Yacine



Remerciements

*Nous tenons à remercier en premier lieu **ALLAH**, le tout Puissant de nous avoir donné courage, santé et patience pour achever ce travail.*

Deuxièmement, après Dieu, nous exprimons notre gratitude à ceux qui ont été la raison de notre existence dans ce monde à nos parents, qui sont notre source constante de soutien, qui ont travaillé dur pour atteindre ce point de notre chemin de vie. Même les remerciements ne leur suffisent pas pour faire valoir leurs droits.

*À notre promotrice de mémoire, **Mme Toumi ikram**, maître de conférence A la faculté des sciences de la nature et de la vie -Université d'El Oued, pour qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette mémoire. Hommage respectueux.*

*Nous tenons à remercier le membre du jury : **NADJI Nassima** qui nous a fait l'honneur de présider ce jury et Monsieur **BENALI Abdel Hai** pour accepter d'examiner de ce travail.*

*Nos vifs remerciements vont également aux **DJAOUADI Anfel** et **LAIB Ibtissam** nous ont aidés dans le travail de laboratoire afin d'obtenir des bons résultats.*

*Nous tenons à remercier profondément **Fellah Khadidja** et **KHANOUDA Omar** et **LAOUID HOSSAM**. En particulier **Khadidja** et **Omar**, membres du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Echahid **HAMMA LAKHDAR**, El-Oued., pour l'attention et l'aide qu'elle a porté à ce travail, son support, votre gentillesse et ses encouragements. Nous vous adressons nos profondes reconnaissances pour vos remarques et conseils en vue d'améliorer ce manuscrit. Nos remerciements s'adressent aussi à tous les travailleurs du laboratoire.*

*Un grand merci mes amis **Maaloul Youcef** et **Oudini Abdelatif** et **Bouras Yacine MESBAHI AHMED AMINE** nous ont aidés dans le travail de laboratoire afin d'obtenir des bons résultats.*

Nous tenons à remercier profondément à tous ceux qui ont contribué avec nous et nous ont soutenus dans ce travail de loin ou de près.

*Enfin, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude, Université Echahid **HAMMA LAKHDAR**, El-Oued., qui nous contenait jusqu'à ce que nous atteignons ce point.*

Résumé

Le travail effectué consiste à l'étude des activités pharmacologiques du *Daucus carota L* sur la toxicité induite par le Métribuzine (phytosanitaire couramment utilisés) chez le rats wistar. Les graines de cette plante ont subis une extraction hydro-alcoolique et aqueuse. Le rendement d'extraction des deux extraits est de 13.22 % ; 11.99 % respectivement. Les résultats des tests phytochimiques des deux extrait du *Daucus carota L* ont montré la présence de plusieurs composés bioactifs : alcaloïdes, polyphénols, flavonoïdes, stérols, polyterpènes, et les tanins avec l'absence des saponines. L'analyse effectuée par spectrophotométrie a montré que l'extrait hydro-éthanolique présente un taux considérable en polyphénols $39,183 \pm 1,04 \mu\text{g EAG/mg ES}$, et en flavonoïdes $44,121 \pm 1,56 \mu\text{g EQ/mg ES}$. L'UV-Vis a montré une activité antioxydant puissante par le test du piégeage du radical libre DPPH (IC₅₀ de $68,033 \pm 5,87 \mu\text{g/ml de Ext}$) une valeur très importante par rapport à l'acide ascorbique $78,301 \pm 4,30 \mu\text{g/ml}$. Notre expérimentation a été réalisée chez 20 rats pesant entre 190-220g qui ont été divisés en quatre groupes de 5 animaux chacun ; le premier groupe constitue les rats témoins ont reçu l'eau de robinet durant toute l'expérience. Les trois autres groupes ont été contaminés à la métribuzine par une dose quotidienne de 85 mg/kg/j pendant un mois par voie orale. Le premier lot a été laissé comme témoin et nous avons traité les deux autres groupes contaminés par gavage de l'extrait hydro-alcoolique (300 mg/kg), et aqueux 400mg/kg respectivement. Les résultats des paramètres biochimiques, hématologiques, et de stress oxydatif ont montré des perturbations métaboliques causés par la métribuzine chez les rats contaminés par rapport au témoin. Ainsi les rats traités ont montré une amélioration significative des différents paramètres par rapport aux témoins contaminés. L'étude histopathologique a révélé des restaurations significatives aux niveaux des différents organes. Les deux extraits ont montré des activités pharmacologiques en particulier l'activité antioxydant, antimicrobienne et anti-inflammatoire.

Mots clé : *Daucus carota L*, Métribuzine, Tests phytochimiques, Activité antioxydant, activité antibactérienne, Stress oxydatif.

يتكون العمل المنجز من دراسة الأنشطة الدوائية لـ *Daucus carota L* على السمية التي يسببها Métribuzine (الصحة النباتية شائعة الاستخدام) في فئران ويستار. خضعت بذور هذا النبات لاستخراج مائي كحولي ومائي. عائد استخلاص المستخلصين 13.22%. 11.99% على التوالي. أظهرت نتائج الاختبارات الكيميائية النباتية لمستخلصي *Daucus carota L* وجود العديد من المركبات النشطة بيولوجيًا: قلويدات ، بوليفينول ، فلافونويد ، ستيرول ، بولي تربين ، وتانينات مع عدم وجود مادة صابونين. أظهر التحليل الذي أجراه القياس الطيفي أن المستخلص المائي الإيثانولي يحتوي على مستوى كبير من البوليفينول 1.04 ± 39.183 ميكروغرام EAG / mg ES ، والفلافونويد 1.56 ± 44.121 ميكروغرام EQ / mg ES. أظهر UV-Vis نشاطاً مضاداً للأكسدة قوياً بواسطة اختبار مسح الجذور الحرة DPPH (IC50 من 5.87 ± 68.033 ميكروغرام / مل من Ext) قيمة عالية جداً مقارنة بحمض الأسكوربيك 4.30 ± 78.301 ميكروغرام / مل. أجريت تجربتنا على 20 جرذاً تزن ما بين 190 و 220 جراماً تم تقسيمها إلى أربع مجموعات كل منها 5 حيوانات. تتكون المجموعة الأولى من الفئران الضابطة التي تلقت ماء الصنبور طوال التجربة. تلوثت المجموعات الثلاث الأخرى بالميتريبيوزين بجرعة يومية مقدارها 85 مجم / كجم / يوم لمدة شهر واحد عن طريق الفم. تركت الدفعة الأولى كعنصر تحكم وعالجنا المجموعتين الأخرين الملوّثتين عن طريق تزقيم المستخلصات المائية الكحولية (300 مجم / كجم) ، و 400 مجم / كجم على التوالي. أظهرت نتائج معاملات الإجهاد البيوكيميائية والدموية والتأكسدية اضطرابات التمثيل الغذائي التي يسببها الميتريبيوزين في الفئران المصابة مقارنة بالمجموعة الضابطة. وهكذا أظهرت الفئران المعالجة تحسناً ملحوظاً في المتغيرات المختلفة مقارنة بالضوابط الملوثة. كشفت الدراسة النسيجية المرضية عن ترميمات كبيرة في الأعضاء المختلفة. أظهر كلا المستخلصين أنشطة دوائية خاصة مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات ومضادة للالتهابات.

الكلمات المفتاحية: الجزر، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للبكتيريا، : الاختبارات الكيميائية النباتية، الاجهاد التأكسدي.

Abstract

The work carried out consists of the study of the pharmacological activities of *Daucus carota* L on the toxicity induced by Metribuzin (commonly used phytosanitary) in wistar rats. The seeds of this plant have undergone a hydro-alcoholic and aqueous extraction. The extraction yield of the two extracts is 13.22%; 11.99% respectively. The results of the phytochemical tests of the two extracts of *Daucus carota* L showed the presence of several bioactive compounds: alkaloids, polyphenols, flavonoids, sterols, polyterpenes, and tannins with the absence of saponins. The analysis carried out by spectrophotometry showed that the hydro-ethanolic extract has a considerable level of polyphenols $39.183 \pm 1.04 \mu\text{g EAG} / \text{mg ES}$, and flavonoids $44.121 \pm 1.56 \mu\text{g EQ} / \text{mg ES}$. UV-Vis showed powerful antioxidant activity by the DPPH free radical scavenging test (IC₅₀ of $68.033 \pm 5.87 \mu\text{g} / \text{ml}$ of Ext) a very high value compared to ascorbic acid $78.301 \pm 4.30 \mu\text{g} / \text{ml}$. Our experiment was carried out in 20 rats weighing between 190-220g which were divided into four groups of 5 animals each; the first group constitutes the control rats which received tap water throughout the experiment. The three other groups contaminated with metribuzin by a daily dose of 85 mg / kg / day for one month orally. The first batch was left as a control and we treated the other two contaminated groups by gavage of hydro-alcoholic extracts (300 mg / kg), and aqueous 400 mg / kg respectively. The results of biochemical, hematological and oxidative stress parameters showed metabolic disturbances caused by metribuzin in contaminated rats compared to the control. Thus, the treated rats showed a significant improvement in the various parameters compared with the contaminated controls. The histopathological study revealed significant restorations in the different organs. Both extracts showed pharmacological activities in particular antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activity.

Keywords: *Daucus carota* L, Métribuzin, Phytochemical tests, Antioxidant activity, Antibacterial activity, Oxidative stress.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: acide désoxyribonucléique

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

BHT : Butylhydroxtoluene

Cl: colure

cm : centimètre

DMSO : Dimethyl sulfoxide

DO : densité optique

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle

D.carota L.: Daucus carota L

EAg : Extrait aqueux

EAG: Equivalent en acide gallique

ERO: Espèces réactives de l'oxygène.

ET : Ecart type

EtOH : Extrait hydro-alcoolique

FeCl₃: Chlorure de fer

FNS : La formule et numération sanguine

FRAP: Ferric reducing antioxidant Power

FV: Flavonoids

GB: Globules blanches

GR: Globules rouges

GRAN : granulocytes

GSH : Glutathion réduit

H : Hydrogène

H₂O : eau

H₂SO₄: Acide sulfurique

H.E : Huile essentielle

HGB: Hémoglobine

IC₅₀: Concentration inhibitrice de 50% (Inhibitory Concentration of 50%)

IL: Interleukine

K: Potassium

LYMP: lymphocytes

M : molaire

min : minute

ml : millilitre

MeOH : Méthanol

Mg: Magnésium

Moy : Moyenne

Na: sodium

Na₂CO₃ : Bicarbonate de sodium

Nm : nanomètre

O₂ : Oxygène

OH : hydroxyle

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PH : potentiel Hydrogène

PP : Polyphénols

RL : Radical

RMN: résonance magnétique nucléaire

TGO : Transaminase glutamique oxaloacétique

TGP: Transaminase glutamique pyruvique

TNF: Tumor necrosis factor alpha

UV : Ultra-violet

VS : Vitesse de sédimentation

µl: microlitre

µg EAG/g MS : Microgramme d'équivalent d'acide gallique par
Gramme d'extrait sec

µg EQ/mg MS : Microgramme d'équivalent de quercétine par
Milligramme d'extrait sec

µg EAA/mg MS : Microgramme d'équivalent d'acide ascorbique par
Millilitre d'extrait

mg EAA/µg MS : Milligramme d'équivalent d'acide ascorbique par
Gramme d'extrait sec

Liste des figures

Figure 1: Devenir des pesticides dans l'environnement.....	08
Figure 2: Modes d'exposition de l'homme aux pesticides.....	10
Figure 3. Synthèse des études épidémiologiques sur les effets neurologiques Chroniques des pesticides	12
Figure 4: Structure de métribuzine	16
Figure 5: Répartition géographique mondiale des Apiaceae.....	18
Figure 6: Plant de carotte adulte	20
Figure 7: les graines de <i>Daucus carota</i>	21
Figure 8: l'ombelle florale de <i>Daucus carota</i>	21
Figure 9: Les graines de l'espèce <i>Daucus carota</i> L.....	26
Figure 10: Protocole de préparation de l'extrait aqueux, éthanol de graines <i>Daucus Carota</i>	29
Figure 11: Protocole de dosage des polyphénols totaux	32
Figure 12: Protocole de dosage des flavonoïdes	33
Figure 13: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH.....	34
Figure 14: Protocole de dosage de l'activité antioxydants par le test DPPH.....	35
Figure 15: Préparation de la gélose à L'autoclave	36
Figure 16: Protocole de détermination l'activité antibactérienne	38
Figure 17: Schéma récapitulatif de protocole expérimental.....	42
Figure 18: Une cassette (Photo originale).....	43
Figure 19: test phytochimiques l'extrait Hydro-alcoolique des graines <i>D.carota</i>	45
Figure 20: Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphenols... ..	47.
Figure 21: Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes... ..	48

Figure 22: IC50 de test DPPH d'extraits hydro-alcoolique des graines <i>Daucus carota</i> L	49
Figure 23: Courbe d'étalonnage pour le test de DPPH.....	49
Figure 24: Variation du poids relatifs des organes	52
Figure 25: Variation de nombre des globules blancs.....	53
Figure 26: Variation de nombre des globules rouges	54
Figure 27: Variation de nombre de plaquette.....	55
Figure 28: Variation de taux d'hémoglobine	55
Figure 29: Variation de nombre de lymphocytes	56
Figures 30: Les variations des paramètres biochimiques.....	59
Figure 31 : Concentrations tissulaire de glutathion (GSH).....	60
Figure 32 : concentration de peroxydation lipidique	62
Figures 33: Coupes histologiques des testicules.....	63
Figures 34: Coupes histologiques des foies... ..	64
Figures 35: Coupes histologiques des poumons.....	65

Liste des tableaux

Tableau01: Classification des pesticides.....	27
Tableau02: Pesticides et Cancer chez l'adulte.....	28
Tableau 03: Classification systématique <i>Daucus carota</i>	37
Tableau04: Rendement, couleur et aspect des extraits secs des graines <i>Daucus carota</i> L. .	62
Tableau 05: Résultats des tests phytochimiques extrait des graines.....	63
Tableau06: Teneurs en polyphénols dans l'extrait hydro-alcoolique <i>Daucus carota</i>	64
Tableau07: Teneurs en flavonoïdes dans l'extrait hydro-alcoolique <i>Daucus carota</i>	65
Tableau 08: IC50 de l'extrait brut et l'acide ascorbique dans l'extrait hydro-alcoolique des graines <i>Daucus carota</i> L.....	49
Tableau 09 : Etude de l'activité inhibitrice d'extraits de graine <i>Daucus carota</i> L.....	50
Tableau 10: Variation du poids corporel (g) et poids relatif (g/100g).....	51
Tableau 11: Variation des paramètres hématologiques.....	53
Tableau 12: Les variations des paramètres biochimiques	56
Tableau 13: Résultats des (HPLC) de le L'extrait aqueux éthanolique de fèves <i>Daucus carota</i> L.....	66

Sommaire

Dédicace

Remerciemen

tsRésume

Liste des

abréviationsListe

des figures Liste

des tableaux

Sommaire

Introduction générale..... 01

Première partie: Synthèse BibliographiqueChapitre I :

Généralités sur les pesticides

I.1. Définition..... 06

I.2. Classification des pesticides 06

I.3. Devenir des pesticides dans l'environnement 07

I.4. Modes d'exposition de l'homme aux pesticides 08

I.4.1. Exposition professionnelle..... 08

I.4.2. Exposition non professionnelle..... 09

I.4.3. Exposition des enfants..... 09

I.5. Effets des pesticides 09

I.5.1. Effets sur la santé humaine 09

I.5.2. Effets cancérigènes..... 10

I.5.3. Effets neurologiques..... 11

I.5.4. Effets sur le système endocrinien et la reproduction 12

I.6. Les Herbicides 14

I.6.1. Définition..... 14

I.6.2. Composition et formulation des herbicides	14
I.6.3. Classification	15
I.6.4. Mode d'action des herbicides	15
I.7. Métribuzine	15
I.7.1. Définition et Propriétés chimiques.....	15
I.7.2. Toxicité	16

Chapitre II : Généralités sur les Plante

II.1. La famille des Apiaceae	18
II.2. La plante <i>Daucus carota</i> L.....	18
II.2.1. Le définition.....	18
II.2.2. La classification du <i>Daucus carota</i>	19
II.2.3. La description morphologique et cycle de vie.....	20
II.2.4. Les composition chimique.....	21
II.2.5. L'utilisation traditionnelle de la plante.....	22

Deuxième partie: Etude expérimental

Chapitre I : Matériels et Méthodes

I.1. Matériels	26
I.1.1. Matériel animal	26
I.1.2. Matériel végétal.....	26
I.1.3. Matériels Biologique	27
I.3.1. Recherche de pesticide	27
I.3.2. Les microorganismes utilisés.....	27
I.2. Les méthodes	28
I.2.1. Les préparation des différents extraits à partir des graines de <i>D.carota</i> ...28	
I.2.1.1. Les déterminations du rendement d'extraction	28
I.2.2. Les tests phytochimiques.....	30
I.2.3. Les méthodes d'analyse quantitative de l'extrait.....	31

I.2.3.1. Les dosage de composition phénolique	31
I.2.4. L'évaluation de l'activité biologique	33
I.2.4.1. L'évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait.....	33
I.2.4.2. L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait	35
I.2.5. Dosage des paramètres du stress oxydant.....	38
I.2.5.1. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH) tissulaire.....	38
I.2.5.2. Dosage du malondialdéhyde (MDA)	39
I.2.6. Traitement des animaux	40
I.2.7. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes	40
I.2.8. Méthode de dosage des paramètres de métabolisme des carbohydrates et lipides	40
I.2.9. Préparation des échantillons des coupes histologiques	43
I.2.10. Les analyses statistiques	43

Résultats et discussion

II.1. Résultats.....	45
II.2. Discussion.....	67
Conclusion	77
Références	
bibliographiesAnnexes	



Introduction générale

Introduction générale

Au cours des siècles, les connaissances et les compétences nécessaires pour protéger les cultures contre les ravageurs et les maladies ont grandement évolué. Les personnes ont toujours utilisé des produits chimiques botaniques et inorganiques dans leurs efforts de réduire les dommages produits par les ravageurs et les maladies au niveau leurs cultures et de leurs animaux (**Jeroen B et al., 2004**).

Cependant, les pertes en rendement des productions agricoles dues aux maladies parasitaires très meurtrières, aux ravageurs et aux adventices ou mauvaises herbes pouvaient atteindre des proportions importantes (**Oerke et Dehne, 1997**).

Après la seconde guerre mondiale, les pesticides ont grandement contribué à l'amélioration de la santé publique, d'une part, d'éradiquer ou de limiter la propagation de maladies parasitaires et en garantissant, d'autre part, une production alimentaire de qualité et dans ce cas, ils ont constitué un progrès considérable dans la maîtrise des ressources alimentaires (**OPDCSET, 2009**). Les produits phytosanitaires de synthèse se sont révélés très efficaces et fiables dans un nombre important de cas, sur de grandes surfaces (**INRA-Crémage, 2005**).

Le terme pesticide englobe une large éventail de composés, y compris les insecticides, les fongicides, les herbicides, les rodenticides, les molluscicides, les nématicides, les régulateurs de croissance de synthèse des plantes et autres (**Aktar et al., 2009**).

Ce traitement par les pesticides est jusqu'à présent le moyen de protection prépondérant, et leur utilisation est devenue indispensable pour atteindre les niveaux de production maximaux et satisfaire une demande de plus en plus accrue des consommateurs en produits alimentaires.

Malgré leurs immenses bienfaits, les pesticides ne sont pas sans inconvénients. Nombre de ces produits chimiques sont toxiques à l'égard des organismes vivants (**Aubertot et al., 2005**), et pour son environnement en s'accumulant dans les écosystèmes ils sont en effet fréquemment mis en cause dans la dégradation de la qualité des eaux douces souterraines et des eaux côtières, de l'air et du sol (**Mirsal, 2008**). Afin de minimiser l'exposition humaine aux résidus de pesticides, les gouvernements européens ont établi plusieurs contrôles réglementaires concernant leur utilisation et le niveau de leurs résidus présent dans les denrées. Malheureusement, aucune analyse de ce genre n'a été faite jusqu'à présent en Algérie. L'usage alarmant des pesticides dans de nombreux domaines a fait de notre pays l'un des plus grands utilisateurs des pesticides et en grandes quantités. Ainsi environ 400 produits phytosanitaires sont homologués en Algérie dont la majorité est largement utilisée par les agriculteurs (**Bouziyani, 2007**).

Introduction générale

En Algérie en général et au Sahara en particulier, l'état de la flore spontanée dans cette zone ainsi que les relations entre l'homme et les espèces végétales méritent une attention particulière. Certaines espèces possèdent des propriétés pharmacologiques qui leur confèrent un intérêt médicinal. Les plantes médicinales sont extrêmement nombreuses. En effet, les estimations indiquent que plus de 13000 espèces de plantes médicinales sont utilisées comme remèdes traditionnels par diverses cultures dans le monde entier (**Chaouche et al., 2013**). Ces plantes ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés appelés métabolites secondaires et constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimique, possédant un large éventail d'activités biologiques (**Jean et Jiri, 1983**). C'est le cas par exemple des polyphénols végétaux dont le principale qui sont largement utilisés en thérapeutique comme antimicrobiens, antioxydants et antihémolytiques. Avec d'autres catégories : les flavonoïdes, les huiles essentielles, les terpénoïdes et les alcaloïdes (**Chaouche et al., 2015 et Yakhlef, 2010**). L'étude de la chimie des plantes reste d'actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement du fait que le règne végétal représente une source d'une immense variété de molécules bioactives possédant un très large éventail d'activités biologiques (**Ferrari, 2002**).

Au cours des dernières années, des études sur les activités antioxydants des plantes médicinales ont augmenté de façon remarquable grâce à leur potentiel d'être utilisées en tant que sources d'antioxydants riches et naturelles (**Chaouche et al., 2013, Hadduchi et al., 2014**).

A la lumière de ces données, l'objectif principal de notre travail était la validation de certaines propriétés de la plante *Daucus carota* L., via l'étude phytochimique, et l'investigation des activités antioxydant et antibactérienne des deux extraits aqueux, hydro-alcooliques de partie aérienne (les graines) de plante *Daucus carota* L.

Cette étude a été divisée en deux parties. Dans une première partie, nous résumerons une étude bibliographique sur les connaissances botaniques et phytochimiques de l'espèce étudiée *Daucus carota* L. Cette partie comprend aussi des généralités sur les activités antioxydants et antibactériennes. La seconde décrit la partie expérimentale, partie nous développons les méthodes utilisées dans l'étude de l'effet de toxicité pesticides sur la rats wistar en utilisant des marqueurs biochimiques, hématologiques, histologique et de stress oxydant. A cette fin, nous étudierons tout d'abord la métribuzine choisis comme modèle des pesticides.

Première Partie:
Etude Bibliographique

Chapitre I: Généralités sur les pesticides

I. Les pesticides

I.1. Définition des pesticides

Le terme "pesticides" est une appellation générique couvrant toutes les substances (molécules) ou produits (formulations) qui éliminent les organismes nuisibles (**INRA-Crémage, 2005**).

Le terme "pesticide" est utilisé pour désigner les produits chimiques agricoles utilisés des fins phytosanitaires. Un pesticide est une substance qui est sensée prévenir, détruire, repousser ou contrôler tout ravageur animal et toute maladie causée par des microorganismes ou encore des mauvaises herbes indésirables. Les pesticides peuvent agir sur les ravageurs et sur les micro-organismes par le contact direct, l'ingestion ou par d'autres sortes d'exposition effective pendant les phases de croissance (**Jeroen B, 2004**).

Le pesticide regroupe à la fois les produit phytopharmaceutiques destinés à un usage agricole et les biocides anciennement dénommés pesticides » à usage non agricole.» La réglementation européenne et mondiale ne reconnaît pas l'appellation pesticides mais elle définit précisément les notions de produits" phytopharmaceutiques" et de biocides". (**J. F. Copplestone 1977**).

I.2. Classification des pesticides

Selon Calvet et al., (2005), il existe trois critères de classification des pesticides : leurs caractéristiques chimiques, les organismes vivants visés et leurs usages. La classification la plus utilisée est celle basée sur le critère biologique (ou cible visée) qui classe les pesticides en principalement trois grandes familles de produits phytosanitaires selon la nature des cibles visées: les herbicides, les fongicides et les insecticides. À celles-ci s'ajoutent des produits divers tels que les acaricides (contre les acariens), les nématocides (contre les nématodes), les rodenticides (contre les rongeurs), les taupicides (contre les taupes), les molluscicides (contre les limaces et les escargots essentiellement), les corvicides et les corvifuges (contre les oiseaux ravageurs de culture et surtout les corbeaux) et enfin les répulsifs. Le Tableau 1 montre les principales familles des insecticides, herbicides et des fongicides (**El bakouri, 2006**).

Chapitre I: Généralités sur les pesticides

Critères de classification		
Classification chimique	Classification biologique (Selon les organismes visés)	Classification selon l'usage
Pesticides Inorganiques : Eléments chimiques ne se dégradent pas. Effets toxicologiques sur l'environnement par accumulation dans les sols.	Insecticides contre les insectes Fongicides contre les champignons Herbicides contre les mauvaises herbes Acaricides contre les acariens Nématicides contre les nématodes Rodenticides contre les rongeurs	- Les cultures. - Les bâtiments d'élevage. - Les locaux de stockage des produits végétaux. - Les zones non agricoles.
Pesticides organométalliques (Carbamates, Urée substituées...)	Molluscicides contre les mollusques (limaces et escargots) Corvicides et les corvifuges contre les corbeaux et tous les oiseaux ravageurs de cultures	- Les bâtiments d'habitation. - L'homme et les animaux.
Pesticides organiques (Triazines...)		

Tableau 1 : Classification des pesticides (Calvet et al., 2005 ; Boland et al., 2004)

I.3. Devenir des pesticides dans l'environnement

En plus de leurs effets toxiques sur la santé humaine, Les pesticides ont également des effets néfastes sur l'environnement (Burger et al., 2008 ; Mariyono, 2008). Leur utilisation inappropriée est source de contamination de l'eau et de l'air ainsi que de dommages aux cultures (par suite de pénétration des résidus d'herbicides dans le sol) (Eleftherohorinos, 2008). Trois grands processus de dispersion des pesticides dans l'environnement (Figure 01) sont communément admis : la volatilisation, le ruissellement et le lessivage des sols ou infiltration. Les pesticides peuvent rejoindre le compartiment atmosphérique soit directement lors de l'épandage (application par pulvérisation qui facilite la volatilisation), soit après application sous forme adsorbée (adsorption des pesticides sur les particules puis érosion éolienne du sol) ou bien sous forme dissoute (vaporisation directe ou via l'évaporation de l'eau depuis le sol vers l'atmosphère) (Fauvelle, 2012). Une fois arrivés dans l'atmosphère, les polluants peuvent être entraînés par les précipitations et redéposés au sol ou dans les eaux de surface. La dispersion des contaminants peut également se faire par infiltration à travers le sol. Les composés se dissolvent alors dans l'eau issue des précipitations puis percolent et/ou se diffusent verticalement dans le sol (Rouvalis et al., 2009). La persistance des contaminants dans l'environnement est donc corrélée à la sensibilité des substances à ces processus de dégradation. Il est à noter que les produits de dégradation ou métabolites font toutefois l'objet d'un intérêt croissant tant on les retrouve à la fois dans les eaux souterraines et dans les eaux de surface à des concentrations excédant parfois celles des molécules mères (Postle et al., 2004; Hladik et al., 2005).



Figure 01: Devenir des pesticides dans l'environnement (Lissalde, 2010).

I.4. Modes d'exposition de l'homme aux pesticides

Les crises sanitaires récentes obligent à mieux comprendre et articuler les liens entre agriculture, environnement et santé publique. Le risque des pesticides pour l'homme se situe à l'interface de ces trois domaines. Il s'agit d'un risque global intégratif, qui naît du cumul des expositions auxquelles est soumis un être vivant. La figure 06 résume les modes d'exposition possibles de l'environnement et de l'homme aux pesticides (CPP, 2002).

I.4.1. Exposition professionnelle

L'exposition professionnelle concerne les personnes manipulant les produits, au moment de la préparation, de l'application et du nettoyage des appareils de traitement. Les agriculteurs constituent une population particulièrement exposée qui forme un groupe sentinelle pour l'observation d'éventuels effets des pesticides (Zeljezic et al., 2006). L'absorption des pesticides par la peau est révélée comme la voie d'exposition la plus significative en milieu agricole (Jakubowski & Trzcinka-Ochocka, 2005). Par ailleurs, bien que les équipements de protection individuelle (gants, masques, combinaisons) constituent les principales mesures de prévention mises en œuvre afin de réduire l'exposition des professionnels, une étude menée en France (Baldi et al., 2006), a mis en évidence une insuffisance de l'efficacité de ces équipements.

I.4.2. Exposition non professionnelle

Peu d'études ont évalué l'exposition de la population non professionnelle aux pesticides. Pour le grand public, divers facteurs viennent contribuer à l'exposition générale aux pesticides : proximité d'une zone de traitement, usage domestique mal maîtrisé (traitements insecticides dans les maisons par exemple), mauvaises pratiques de jardinage (exposition lors du traitement et via l'autoconsommation) et l'ingestion de pesticides via l'alimentation. La principale source d'exposition pour les non professionnels est l'alimentation (CPP, 2002). D'après les évaluations, l'alimentation contribuerait à 80 % de l'exposition contre 10 % pour l'eau (OMS, 2004).

I.4.3. Exposition des enfants

Les enfants semblent être plus vulnérables aux pesticides que les adultes (Van Zelm et al., 2009). Leur comportement et leur système en développement font en sorte qu'ils sont plus exposés et plus sensibles aux effets potentiels des pesticides (Chen et al., 2003).

l'exposition de la mère (Saunders et al., 2004), mais également après la naissance, soit directement par exposition aux contaminations domestiques (pesticides utilisés dans la maison ou le jardin ou habiter dans une zone agricole) ou via le lait maternel et l'alimentation (CEC, 2002; Jurewicz et al., 2006), soit indirectement pour les enfants de parents professionnellement exposés (e.g, agriculteurs). Il est à noter que l'alimentation est une source d'exposition majeure des enfants aux pesticides organophosphorés (Lu et al., 2008). Quant aux pesticides organochlorés, ils seront essentiellement transmis via le lait maternel (Campoy et al., 2001). En effet, selon une étude réalisée en Allemagne, les concentrations de composés organochlorés (dont le DDT) sont très significativement supérieures ($p < 0,0001$) dans les sérums de nouveau-nés allaités par rapport à ceux recevant du lait commercial (Lackmann et al., 2004).

I.5. Effets des pesticides

I.5.1. Effets sur la santé humaine

La contamination de l'Homme par les pesticides peut se faire par différentes voies : alimentaire, respiratoire ou par contact (Tron et al., 2001 ; Periquet et al., 2004).

Les pesticides ont des propriétés toxiques avérées sur l'homme. Ils peuvent être à l'origine d'intoxications aiguës provoquant des maux de tête, des irritations cutanées, des troubles visuels, des nausées, des pathologies chroniques comme les maladies respiratoires, des cancers (système urogénital, thyroïde, cerveau, leucémie, pancréas), des troubles neurologiques (maladie de Parkinson) et neurocomportementaux, des troubles cardiaques, des perturbations endocriniennes altérant les fonctions reproductives, thyroïdienne et surrénalienne, des effets immunitaires et des effets sur la reproduction. Des manifestations

allergiques de types dermatologique ou respiratoire sont également constatées (Tron et al., 2001 ; Periquet et al., 2004). L'OMS et la FAO estiment que le nombre annuel d'intoxication par les pesticides varie entre 1 et 5 millions de personnes (Chubilleau et al., 2011). De nombreuses études scientifiques indiquent que l'exposition chronique aux pesticides est susceptible d'augmenter l'indice de dérèglement du système endocrinien (Gatignol & Etienne, 2010).

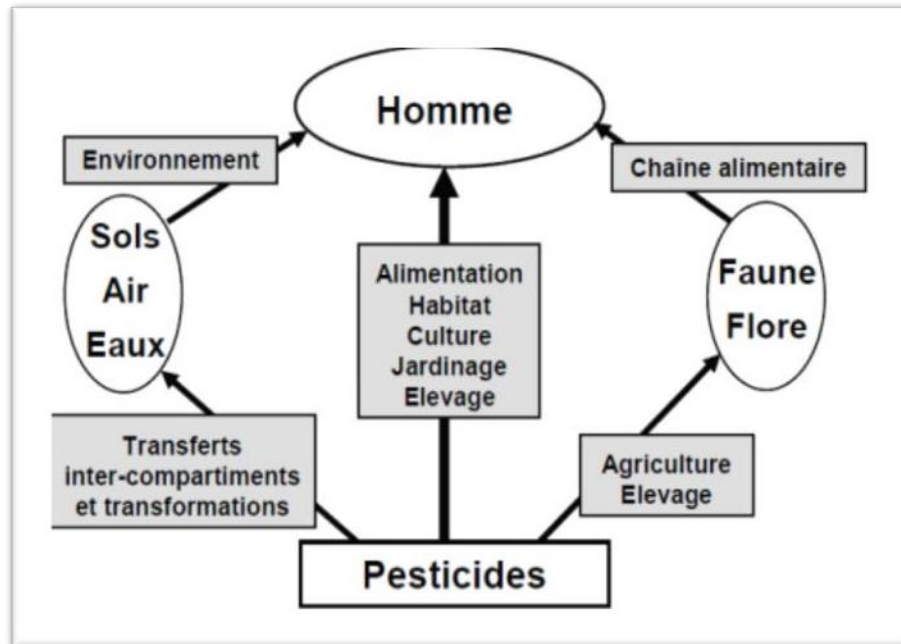


Figure 02: Modes d'exposition de l'homme aux pesticides (CPP, 2002).

I.5.2. Effets cancérigènes

Dans plusieurs études épidémiologiques, une association significative entre l'utilisation des pesticides et activités agricoles a été retrouvée pour certaines localisations tumorales telles que les cancers des lèvres, du cerveau, de l'estomac, de la prostate, des reins mais également la plupart des cancers du système hématopoïétique (leucémie, myélomes multiples et surtout les lymphomes non hodgkiniens) (Repetto et Baliga, 1996), Le mélanome cutané, les sarcomes des tissus mous et le cancer du poumon sont aussi fréquents (Freeman et al., 2005). Des études ont été menées auprès de personnes qui appliquent des pesticides en zone agricole et les résultats obtenus montrent que ces personnes pourraient s'exposer à un risque légèrement plus élevé que la moyenne de développer un lymphome non hodgkinien, une leucémie, un myélome multiple, un cancer de la prostate ou un cancer du cerveau (Lee et al., 2008).

Chapitre I: Généralités sur les pesticides

Type d'affection	Nature de l'affection
Lymphome Non Hodgkinien(LNE) (groupe de cancer qui prennent naissance dans les cellules du système lymphatique)	Corrélations entre des herbicides spécifiques (2,4-D) et l'apparition de LNH (Morison et al., 1992)
Myélome multiple (M.M) (prolifération tumorale monoclonale plasmocytaire localisée essentiellement au niveau de la moelle osseuse)	Jusqu'à 5 fois plus de risque de contracter un M.M chez les utilisateurs d'herbicides (Viel et Richardson, 1993).
Leucémie (Cancer du sang)	Corrélation entre l'utilisation des herbicides 2,4-D et atrazine et la leucémie chez les hommes d'origine hispanique (Mills, 1998).
Sarcome des tissus mous (STM)	Le développement de S T M est fréquemment lié dans la littérature scientifique à l'exposition aux herbicides phenoxy (Kogevinas et al., 1995).
Tumeurs du cerveau	La mortalité par cancer du cerveau et l'exposition aux pesticides utilisés dans les vignes sont statistiquement liées (Viel et al., 1998).
Cancers gastro-intestinaux	L'exposition aux pesticides organochlorés est liée à une variété de cancers gastro-intestinaux. Les professionnels exposés au DDT ont jusqu'à 7 fois plus de risque de développer un cancer du pancreas (Garabrant et al., 1992).
Cancer de l'appareil urinaire	Le fait d'être exposé aux pesticides agricoles a été corrélé avec un risque accru de cancer du rein (Forastriere et al., 1993).
Cancer des testicules	Les enfants dont les parents ont une activité agricole ont une plus forte proportion de cancers des testicules. Les affections peuvent apparaître chez l'enfant ou le jeune adulte (Kristensen et al., 1996).
Cancer de la prostate	Corrélation entre l'exposition aux pesticides et le cancer de la prostate (Van Der Gulden et Vogelzang, 1996).

Tableau 2 : Pesticides et Cancer chez l'adulte

I.5.3. Effets neurologiques

Les effets neurologiques d'intoxications aiguës survenant à doses importantes chez les utilisateurs (surtout les agriculteurs) par certains pesticides, Il est aujourd'hui démontré que l'exposition chronique aux pesticides peut induire une altération des performances cognitives et psychomotrices associée à une atteinte neuronale chez l'homme. De récentes

Chapitre I: Généralités sur les pesticides

études épidémiologiques suggèrent que les pesticides pourraient contribuer au développement de maladies neurodégénératives, comme les maladies de Parkinson et d'Alzheimer (Garry, 2004). Des études récentes ont indiqué que lorsque le taux d'un insecticide organophosphoré, le chlorpyrifos, est élevé chez la femme enceinte, le développement de fonctions cognitives de l'enfant est altéré et cela est associé à des altérations anatomiques observées par imagerie cérébrale (Barouki, 2013). Des pesticides de structure différente sont suspectés d'être impliqués dans la pathogénie de la maladie de Parkinson. En effet, nombre d'entre eux sont hydrophobes et peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique (Thany et al., 2013). Plusieurs symptômes cliniques peuvent se manifester après une exposition chronique au pesticide : des maux de tête, une sensation de brûlure dans les yeux/du visage. Ces symptômes pourraient probablement être la conséquence d'effets chroniques des pesticides sur le système nerveux central. La fréquence élevée des symptômes neurologiques peut être due à une hyperactivité parasymphatique résultant de l'inhibition de l'acétylcholinestérase (Rastogi, 2010), (carbamates et organophosphorés) et uniquement aux doses pouvant provoquer

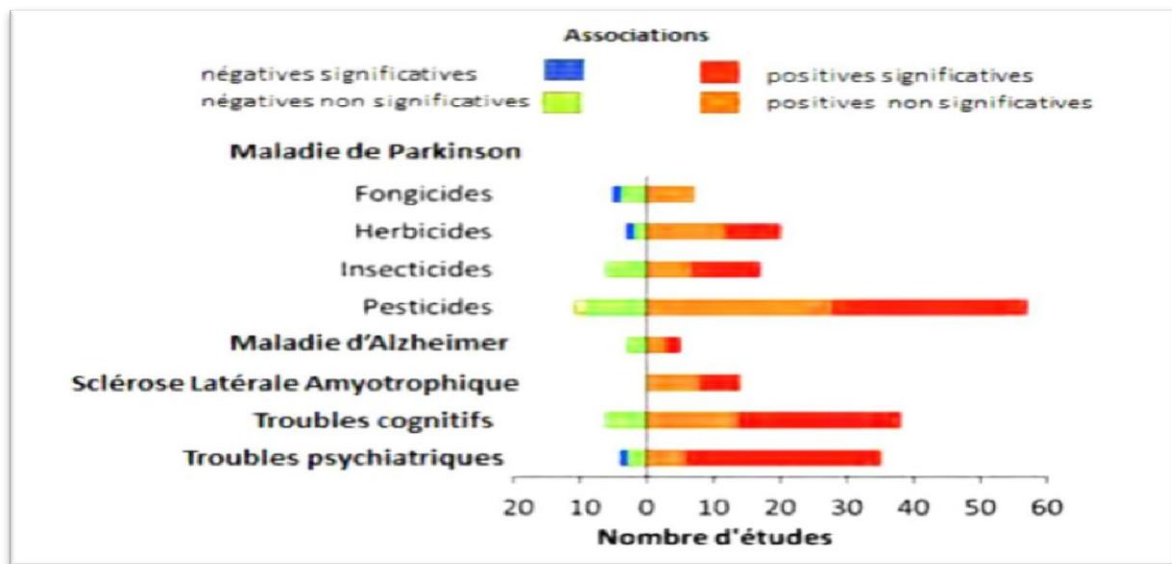


Figure 03. Synthèse des études épidémiologiques sur les effets neurologiques chroniques des pesticides (Blanc-Lapierre et al., 2012).

I.5.4. Effets sur le système endocrinien et la reproduction

Aujourd'hui, les chercheurs affirment l'hypothèse selon laquelle une exposition aux pesticides pourrait être à l'origine d'une grande variété d'effets délétères sur l'organisme tels des cancers (du sein, de la prostate et des testicules), des atteintes de la fonction reproductrice (problèmes de fertilité masculine, malformations de l'appareil génital masculin) ainsi que des effets sur le système immunitaire et sur la fonction thyroïdienne. Plusieurs pesticides, parmi lesquels des insecticides (DDT, Endosulfan, Dieldrine,

Chapitre I: Généralités sur les pesticides

Methoxychlore, Dicofol, Toxaphène), des nématicides (Aldicarbe), des herbicides (Alachlore, Atrazine, Nitrofène, 2,4D), des fongicides (Mancozèbe, Vinchlozoline) figurent sur la liste des perturbateurs endocriniens. Certaines de ces molécules sont aujourd'hui interdites mais peuvent néanmoins toujours être présentes dans notre environnement (**Cravedi et al., 2007**). Plusieurs études se sont intéressées aux effets des pesticides sur la reproduction, en particulier sur la fertilité masculine. Les pesticides peuvent agir comme des perturbateurs endocriniens au niveau de la spermatogénèse via des altérations des hormones, les facteurs de croissance ou les neurotransmetteurs (**Rogan, 2007; Hotchkiss, 2008; Medjdoub, 2013**). D'autres études associent les perturbations endocriniennes et les actions anti-androgénique chez l'enfant à des pesticides spécifiques, tels que Manèbe ou Zinèbe, ou Vinchlozoline (**Damstra, 2002; Landrigan et al., 2003**). Des études menées sur des animaux de laboratoire indiquent que certains pesticides pourraient être responsables d'effets sur la reproduction et sur le développement du fœtus. Certains effets liés à la reproduction dont l'avortement spontané, la prématurité, une diminution de la fertilité, une diminution de la production et de la mobilité des spermatozoïdes, sont parfois soupçonnés (**Weselak, 2007 ; Wigle, 2008**).

I.6. Les Herbicides

I.6.1. Définition

Les herbicides sont des substances ayant la capacité d'éliminer les plantes adventices (ou mauvaises herbes). Leur emploi ne se limite pas au domaine agricole, ils sont utilisés aussi bien pour la protection des cultures que pour le confort (jardinage, entretien des villes, des voies ferrées...). Ce large spectre d'usage donne à ces molécules un caractère ubiquitaire (Calvet et al., 2005), Les herbicides représentent 40% des pesticides utilisés en agriculture, ils sont appelés parfois les désherbants, notamment en horticulture. Ce sont des matières actives ou des produits formulés ayant la propriété de tuer les végétaux (Coulibaly, 2005).

I.6.2. Composition et formulation des herbicides

I.6.2.1. La Composition

Comme tous les autres pesticides, un produit herbicide correspond au nom Commercial du produit commercialisé par un distributeur ou un fabricant. Ce produit se compose de deux types de constituants :

- **les Matières actives** (confèrent son activité herbicide), responsable de la destruction des adventices.

- **les formulants** (complètent la formulation), sont soit des charges ou des solvants, qui n'ont qu'un rôle de dilution des matières actives, soit des produits qui améliorent la préparation, Peuvent être : des mouillants, des adhésifs, des émulsifs, des stabilisants, des colorants, etc (Amatrop, 2000).

I.6.2.2. La formulation

La formulation correspond à la forme physique sous laquelle le produit phytopharmaceutique est mis sur le marché, Le type de formulation a une grande importance dans la manipulation des produits : Fabrication, transport, stockage, préparation des bouillies, elles se présentent sous différentes formes: solide, liquide, auto-suspensibles, Les plus couramment répandues sont les suivantes :

- Pour les formulations solides : les granulés solubles (abréviations : SG), les poudres mouillables (WG).
- Les suspensions concentrées (SC), appelées (parfois flow de l'anglais flowable), Composées de particules solides dispersées dans le produit
- Pour les formulations liquides : ce sont les formulations les plus employées.

Chapitre I: Généralités sur les pesticides

1. Les concentrés solubles (SL), composés de produits solubles dans l'eau.
2. Les concentrés émulsionnables (EC), composés de produits liquides en émulsion Dans le produit, (**Amatrop, 2000**).

I.6.3. Classification

Il existe plusieurs classifications des herbicides et toutes sont acceptées ; elles se basent sur leur structure, leur cible, leur formulation (**Lachuer, 2011**). On distingue deux grands groupes d'herbicides : les herbicides sélectifs et les herbicides totaux (**Lachuer, 2011**).

I.6.3.1. Les Herbicides sélectifs : Ce sont des produits qui détruisent certaines plantes adventices en épargnant la plante cultivée (**Lachuer, 2011**).

I.6.3.2. Les herbicides totaux : Ce sont des produits qui détruisent la totalité des plantes, ils sont employés avec précaution dans les cours et les allées, ils sont utilisés avant le semis, tel que le Glyphosate (**Lachuer, 2011**).

I.6.4. Mode d'action des herbicides

Les herbicides se distinguent par leur voie de pénétration et leur mode d'action dans les végétaux :

- **Herbicides à pénétration racinaire** : appliqués sur le sol, ils pénètrent par les organes souterrains des végétaux (racines, graines, plantules). Ce sont les traitements herbicides de prélevée, effectués avant la levée de la plante considérée (culture ou mauvaise herbe).
- **Herbicides à pénétration foliaire** : appliqués sur le feuillage, ils pénètrent par les organes aériens des végétaux (feuilles, pétioles, tiges). Ce sont les traitements herbicides de post-levée, effectués après la levée de la plante considérée (culture ou mauvaise herbe).
- **Herbicides de contact** : herbicides qui agissent après pénétration plus ou moins profonde dans les tissus, sans aucune migration d'un organe à un autre de la plante traitée.
- **Herbicides systémiques** : herbicides capables d'agir après pénétration et migration d'un organe à un autre de la plante traitée. (**Amatrop, 2000**).

I.7. Métribuzine

I.7.1. Définition et Propriétés chimiques

Le métribuzine (4-amino-6(1,1-diméthyléthyl)-3-(méthylthio)-1,2,4-triazine-5(4H)one) (figure 4) est un herbicide, commercialisée sous le nom de Sencor® 70 WG à base de métribuzine, substance active appartenant à la famille des triazines, employé en prélevée et en post-levée pour lutter contre les mauvaises herbes qui parasitent diverses cultures agricoles tel que la pomme de terre, tomate, asperge, et artichaut (**Environnement**

Chapitre I: Généralités sur les pesticides

Canada/Agriculture Canada,1987). est un solide cristallin blanc avec une pression de vapeur de $1,2 \cdot 10^{-7}$ mm Hg à 20°C , une solubilité dans l'eau de 1100 mg/l (ppm) à 20°C , ce qui rend mobiles dans le sol, un sol demi-vie de 30 à 60 jour, et une DL50 orale (rat) de 1090 mg/kg. La métribuzine a une toxicité orale aiguë (mammifère) modérée (DL50 322 mg / kg de poids corporel) et une faible cutanée et la toxicité par inhalation (DL50 > 5000 mg / kg de poids corporel et CL50 > 2,0 mg / L, respectivement) (EFSA., 2006). La métribuzine est relativement stable et non soumise à photodécomposition UV (**MONACO et al., 2002**).

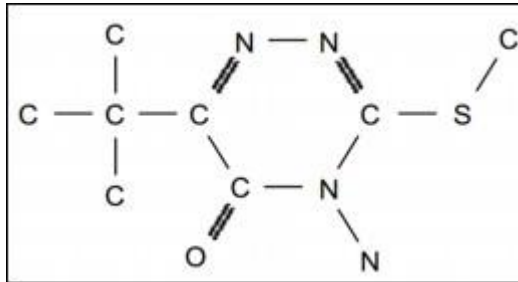


Figure 04: Structure de métribuzine (**MORGAN., 2001**).

I.7.2. Toxicité

La métribuzine expose des différents effets nocifs (**POHANISH., 2012**):

-L'exposition à court terme: la métribuzine peut vous affecter quand respiré et en passant par votre peau. L'intoxication aiguë peut causer la respiration et de la somnolence difficile. Expositions élevées peuvent provoquer des maux d'estomac, la fatigue et la dépression du système nerveux central, provoquant une mauvaise coordination, des tremblements et une faiblesse. Humaine Tox = 200,00000 ppb (très faible).

-L'exposition à long terme: forte exposition ou autre répétée peut provoquer des modifications des enzymes hépatiques, le goitre, et peut affecter la fonction thyroïdienne.

-Points d'attaque: système nerveux central, de la thyroïde, du foie.

CHAPITRE II: Généralités sur les Plante

CHAPITRE II: Généralités sur les Plante

II.1. La famille des Apiaceae

Cette vaste famille a été créée par Antoine Laurent de Jussieu en 1789 sous le nom d'Umbelliferae, puis nommée Apiacées par John Lindley en 1836.

Cette famille regroupe près de 3000 espèces, réparties en 420 genres qui sont surtout présentes dans les régions tempérées et plus particulièrement dans l'hémisphère Nord, Elle est très homogène, facilement reconnaissable par ses inflorescences en ombelles. Cependant, il est parfois difficile de distinguer les unes des autres (Sáenz Laín et al., 1981). Cette famille riche en métabolites secondaires présente des intérêts économiques et médicaux, comportant des coumarines, flavonoïdes, polyphénols, composés acétyléniques et des lactones sesquiterpéniques (Sáenz, 1981).

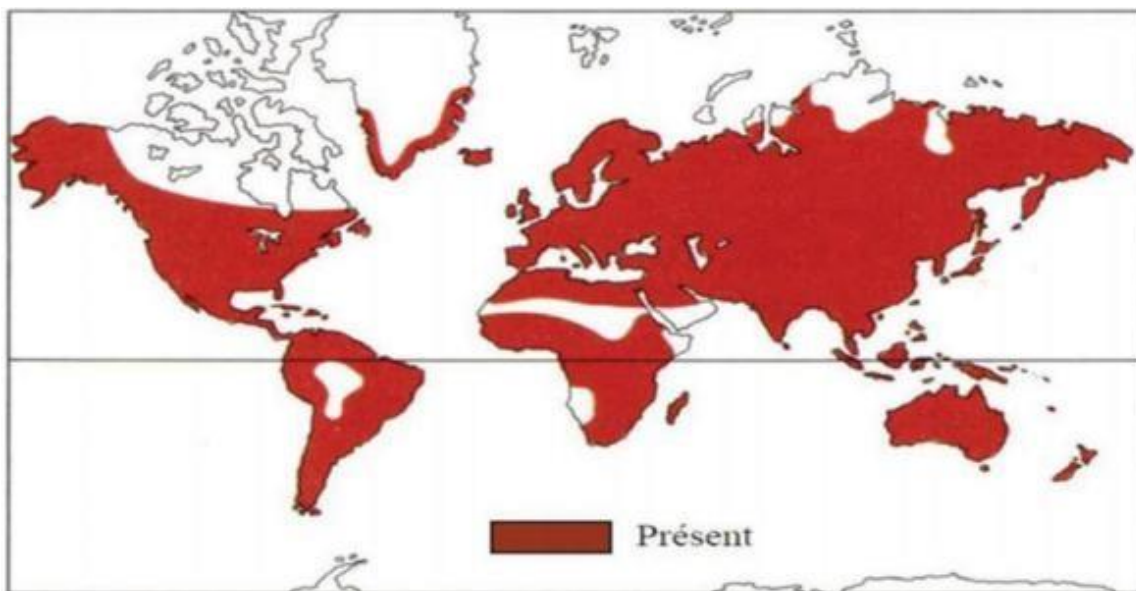


Figure 05: Répartition géographique mondiale des Apiaceae (Meng-lan et al., 2005).

La famille des Apiaceae occupe une place importante dans la flore Algérienne où elle est représentée par 56 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces (Pujadas Salvà et al., 2003).

II.2. Le plante *Daucus carota* L

II.2.1. Le définition

La carotte (*Daucus carota*) est une plante bisannuelle de la famille des opiacées (anciennement ombellifères), largement cultivée pour sa racine pivotante charnue, comestible, de couleur orangée, consommée comme légume. Le terme «carotte» désigne aussi ce légume. C'est un légume riche en carotène. L'apport énergétique de la carotte crue est de 31 kilocalories par 100 g (130 kJ par 100 g). Elle contient environ 92 % d'eau, 1 %

CHAPITRE II: Généralités sur les Plante

de protéines, 0,20 % de lipides et jusqu'à 4,50 % de sucre. Les carottes sont riches en Béta carotène (provitamine A). Avec 25 g on couvre plus de la moitié du besoin quotidien de vitamine A (204% pour 100g). La teneur moyenne en vitamine C est de 7 mg par 100 g. Elle contient aussi de la vitamine B1 et B2. Les minéraux apportés sont principalement du calcaire, calcium, magnésium, potassium et fer. La teneur en fibres est importante. Celles-ci sont composées en majorité de pectine et de cellulose (**Reduron, 2007**).

II.2.2. La classification du *Daucus carota* (Botineau, 2010).

Le plant *Daucus carota* est classé dans le tableau suivant :

Régne	Plantae
Sous-règne	Tracheophyta
Empire	Eukaryota
Embranchement	Tracheophyta
Sous-embranchement	Euphyllophytina
Infra-embranchement	Radiatopses
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Cornidae
Superordre	Aralianaes
Ordre	Araliales
Famille	Apiaceae
Sous famille	Apioideae
Tribu	Caucalideae
Genre	Daucus
Espèce	<u>Daucus carota L</u>

Tableau 03 : Classification systématique *Daucus carota*.

CHAPITRE II: Généralités sur les Plante

II.2.3. La description morphologique et cycle de vie

Plante: La carotte est une plante de taille moyenne (0,6 à 2 m au moment de la floraison). Nous la connaissons pour sa racine pivotante développée en organe de réserve, charnue, cassante, pigmentée (rarement blanche), agréable au goût et non ramifiée (en sol meuble, sans obstacle) (**Reduron, 2007**) (Figure 5).

Les feuilles : Les feuilles sont minces, souvent mates, avec un pourtour triangulaire. Elles sont très divisées-pennées, à divisions écartées très allongées, étroites, linéaires ou lancéolées-linéaires (**Reduron, 2007**) (Figure 5).

Les fleurs : Les inflorescences sont constituées de grandes ombelles composées de fleurs blanches jaunâtres, allogames et protandres¹, regroupées en ombellules. Chaque fleur est constituée de cinq sépales, cinq pétales, cinq étamines et deux carpelles (**Tirilly et Bourgeois, 1999**). La présence d'une fleur pourpre centrale est très variable chez la sous espèce sativus (Figure 5).

Fruit : Le fruit (communément appelé graine de façon abusive) est un diakène albuminé de forme elliptique (**Tirilly et Bourgeois, 1999**) (Figure 5).



Figure 06 : Plant de carotte adulte. Reproduction d'une peinture du botaniste suédois Carl Axel Magnus Lindman (1856-1928), extraite de son livre 'Bilder ur Nordens Flora' (1901-1905).

CHAPITRE II: Généralités sur les Plante

Les graines: Le fruit (communément appelé graine de façon abusive) est un diakène albuminé de forme elliptique (**Tirilly et Bourgeois, 1999**). Qui contiennent des flavonoïdes, les polyphénols et une huile essentielle dont l'asarone, de carotol, de pinènes, et de limonène, sesquiterpène, β -bisabolène. Les graines ont contribué à la réduction du stress oxydatif et ont montré une réduction significative du taux de cholestérol total, de triglycérides et de HDL, VLDL (**Singh et al., 2010**).



Figure 07: les graines de *Daucus carota*. (Photo original).

La floraison: est estivale ; la durée de cette floraison est de 7 à 10 jours pour une ombelle donnée, mais de 30 à 50 jours pour la plante entière (**Rubatzky et al., 1999**).



Figure 08 : l'ombelle florale (**Rubatzky et al., 1999**).

CHAPITRE II: Généralités sur les Plante

Récolte: Pour la carotte de primeur, la récolte intervient entre la mi-avril et le début mai. Pour la carotte de saison, qu'elle soit destinée au marché de frais ou à la transformation, la récolte se fait entre juin et mai de l'année suivante selon les régions. En région non exposée au gel, les racines sont arrachées au fur et à mesure des besoins (**Truffaut, 1978**).

Conservation: Les Carottes peuvent se conserver en terre, en recouvrant la planche de feuilles mortes à l'approche des grands froids. C'est même le meilleur procédé lorsque les Limaces et les Rongeurs ne sont pas trop à craindre. On peut encore arracher les Carottes en novembre, et les conserver en silo ou en cave, de préférence enfouies dans du sable. La pourriture due au Sclérotinia sera évitée par désinfection ou chaulage de la cave à légumes (**Truffaut, 1978**).

II.2.4. Les compositions chimique

La carotte (*Daucus carota*) est une plante bisannuelle de la famille des opiacées (anciennement ombellifères), largement cultivée pour sa racine pivotante charnue, comestible, de couleur orangée, consommée comme légume. Le terme «carotte» désigne aussi ce légume. C'est un légume riche en carotène. L'apport énergétique de la carotte crue est de 31 kilocalories par 100 g (130 kJ par 100 g). Elle contient environ 92 % d'eau, 1 % de protéines, 0,20 % de lipides et jusqu'à 4,50 % de sucre, des fibres alimentaires, des flavonoïdes, des anthocyanes, et l'asparagine. Les carottes sont riches en Béta carotène (provitamine A). Avec 25 g on couvre plus de la moitié du besoin quotidien de vitamine A (204% pour 100g). La teneur moyenne en vitamine C est de 7 mg par 100 g. Elle contient aussi de la vitamine B1 et B2. Les minéraux apportés sont principalement du calcaire, calcium, magnésium, potassium et fer. La teneur en fibres est importante. Celles-ci sont composées en majorité de pectine et de cellulose (**Fokone, Edoun et al, 2013. et Maiani et al., 2009**).

II.2.5. L'utilisation traditionnelle de la plante

Daucus carota est utilisée en médecine traditionnelle grâce à ses propriétés hypolipidémique, antinoceptive et anti-inflammatoire, antioxydants.

→ Plusieurs études épidémiologiques ont montré une corrélation négative entre la consommation de carotte et l'apparition de certains cancers, certaines maladies cardiovasculaires et les maladies liées au vieillissement comme la cataracte (**Cao et al., 1998 ; Koca et al., 2007**).

→ Renforce l'action du foie, la sécrétion d'urines. La vitamine A contenue améliore la vision. La racine est un traitement des oxyures chez l'enfant. Les feuilles sont un bon diurétique, sont utilisées contre les cystites, soignent les troubles digestifs et atténuent les flatulences. Les graines stimulent les règles, les flatulences et soignent les troubles digestifs (**Chevallier, 1996**).

CHAPITRE II: Généralités sur les Plante

→ Plusieurs composants impliqués dans la protection contre le maladie cardiovasculaires comme la vitamine C, les flavonoïdes (**Pool-Zobel et al., 1997; Van Den Berg et Van Vliet, 1998**) et les **caroténoïdes (Bub et al., 2000 ; Voutilainen et al., 2006)**.

→ De nombreux travaux scientifiques ont montré que les caroténoïdes contenus dans la plante de carotte participent dans la lutte contre le cancer des poumons, du sein et de la prostate, mais aussi des tumeurs de l'estomac, de l'intestin ou de l'oseophage (**De Groot, 1998**).

→ Deux études récentes ont montré que la consommation de la carotte augmentait la capacité antioxydante et le taux de la vitamine E dans le sang (**Nicolle et al., 2003**).

→ Du carotène et des oléorésines sont extraits de *Daucus carota* pour les industries pharmaceutiques et cosmétiques (**Doré et Varoquaux, 2006**).

Deuxième partie:
Etude expérimental



CHAPITRE I: Matériels et Méthodes

I.1. Matériels

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique de biochimie de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université Echahid Hamma Lakhdar d'El Oued.

I.1.1. Matériel animal

–Entretien des animaux

Notre étude a été réalisée sur (19) rats blancs (Albinos Wistar) males de la région locale, et pesant entre 190 et 210g au début de l'expérimentation, ces animaux sont mis à l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université Echahid Hamma Lakhdar El-Oued, à température ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) et à humidité (34.59 ± 1.14). Les rats ont été logés dans des cages spécial, Sur la base des cages est déposée une épaisse couche de copeaux de bois renouvelée chaque 3 jour. et ont été soumis à une période d'acclimatation de 20 jours environ afin de s'accoutumer aux conditions de l'animalerie, Les rats ont aussi un accès libre à l'eau et à la nourriture; cette dernière est fournie sous forme de croquettes (aliments secs), un composé de maïs et de soja.

I.1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est les graines de carotte (***Daucus carota* L.**), espèce appartenant à la famille des (*Apiaceae*), anciennement appelée famille des Ombellifères.



Figure 09 : Les graines de l'espèce *Daucus carota* L. (photo originale).

I.1.3. Matériels Biologiques

I.1.3.1. Recherche de pesticide

Nous avons utilisé un herbicide le métribuzine. Pour notre étude, nous avons privilégié dans un premier temps, une démarche à la fois claire pour arriver ainsi à déterminer les pesticides largement utilisés sur les fruits et légumes en Algérie et particulièrement dans la région d'Oued.

I.1.3.2. Les microorganismes utilisés

Les souches microbiennes utilisées dans cette recherche pour l'activité antimicrobienne des extraits sont des souches référencées:

A. Les bactéries à Gram –

– *Pseudomonas aeruginosa*

Ce sont des bacilles Gram négatif, de forme non sporulée, elles sont aérobies, mobiles grâce à la présence de 1 à 2 flagelles, ce type de bactérie synthétise deux types principaux de pigments pyocyanine : bleue phénazine, pyoverdine: jaune vert, il s'agit de bactéries résistantes pour plusieurs antibiotiques (**Percival, 2004**). *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de 16% des cas de pneumonie nosocomiale, 12% des infections urinaires, 8 % des infections suites aux blessures chirurgicales (**Van Delden et al., 1998**)

– *Salmonella enterica serovar Typhi* ATCC 14028

Ce sont des bacilles à Gram négatif, anaérobie facultatif, habituellement mobiles grâce à une ciliature périt riche, mais des mutants immobiles peuvent exister (**Bourgeois et Mesle, 1996**), responsables de la fièvre typhoïde humaine. Les Salmonelles sont en général considérées comme pathogènes bien que leur virulence et leur pouvoir pathogène varient énormément (**Rodier et al., 2009**).

B. Les bactéries à Gram +

– *Staphylococcus aureus*

Ce sont des cocci Gram positifs avec un diamètre de 0,5 à 1,5 μm , de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires, petites chaînes, elles sont habituellement non capsulées, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives. Le *Staphylococcus aureus* représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aigüe, intoxication alimentaire (**Dworkin et al., 2006**).

I.2. Les méthodes

I.2.1. Les préparations des différents extraits à partir des graines de *Daucus carota*.

A. L'extraction par macération à l'alcool

L'extrait hydro-alcoolique des parties aériennes de la plante sont les graines de carotte (*Daucus carota* L.) ont été préparés selon la méthode décrite par **Coulibaly et al., (2011)**. On a pris 50 g du matériel végétal broyé est mise à macérer dans 500 ml d'un mélange éthanol-eau distillée (80/20: V/V) sous agitation magnétique et à une température ambiante. Cette macération est répétée 3 fois successivement avec renouvellement du solvant chaque 24 heure. Les macérât hydro-alcoolique obtenus sont soumis à la double filtration sur papier filtre WhatmanN°1.

Les filtrats obtenus sont concentrés à l'évaporateur rotatif (Rotavapor BUCHI Haeting bath R-210) à la température de 45°C et 50°C respectivement. Après séchage à l'étuve (45 °C) pendant 24 h, les extraits brut a été stocké dans des flacons stériles étiquetées et nommés EtOH (M) puis conservées au congélateur à 4C° jusqu'à utilisés pour les tests phytochimiques et biologiques.

B. L'extraction par macération à l'eau

L'extrait aqueux des parties aériennes de la plante sont les graines de carotte (*Daucus carota* L.) ont été préparés selon la méthode décrite par Coulibaly et al., (2011). On a pris 50 g du matériel végétal broyé est mise à macérer dans 500 ml d'eau distillée sous agitation magnétique et à une température ambiante. Cette macération est répétée 3 fois successivement avec renouvellement du solvant chaque 24 heure. Les macérât aqueux obtenus sont soumis à la double filtration sur papier filtre Whatman N°1.

Les filtrats obtenus sont concentrés à l'évaporateur rotatif (Rotavapor BUCHI Haeting bath R-210) à la température de 45°C et 50°C respectivement. Après séchage à l'étuve (45 °C) pendant 24 h, les extraits brut a été stocké dans des flacons stériles étiquetées et nommés Aq(M) puis conservées au congélateur à 4C° jusqu'à utilisés pour les tests phytochimiques et biologiques.

I.2.1.1. Les déterminations du rendement d'extraction

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est calculé suivant la formule décrite par (**Falleh et al., 2008**). Il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction

$$R \% = (PEB/PMV) \times 100$$

R: est le rendement en %. **PEB**: Poids de l'Extrait Brut (g). **PMV**: Poids de matière végétale (g).

CHAPITRE I: Matériels et Méthodes

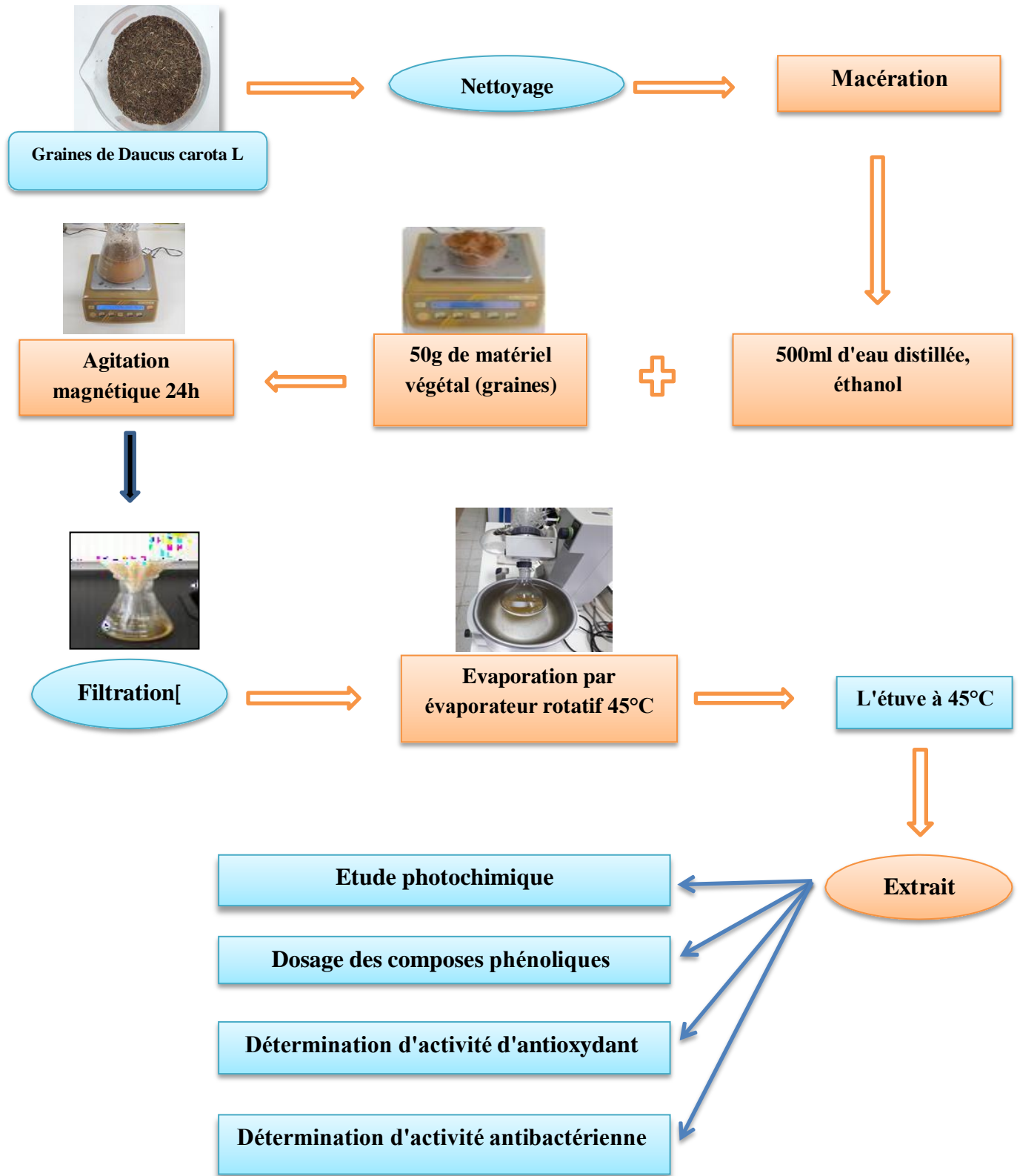


Figure 10: Protocole de préparation de l'extrait aqueux, éthanol de graines *Daucus carota*

I.2.2. Les tests phytochimiques

Les tests phytochimiques sont réalisés sur l'extrait aqueux, éthanol et éther de graines de *Daucus carota* L. Le but de mise en évidence l'existence de quelques métabolites secondaires.

- A. Des alcaloïdes:** 1ml d'extrait a analysé additionnée d'une goutte de HCl Concentré, la solution obtenue est ajoutée 2 gouttes de réactif de Dragendorf. L'apparition d'un précipité ou d'une coloration brune-rougeâtre indique la présence des alcaloïdes (**Bagre et al., 2007**).
- B. Des polyphénols:** 1 ml d'extrait végétal, on ajoute deux gouttes de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée signe la présence des composés polyphénoliques (**Bidie et al., 2011**).
- C. Des flavonoïdes:** Réaction dite à la cyanidine (réaction de Shibata) : dans un tube à essai, mettre 1ml d'extrait végétal, ensuite ajouter 1ml d'alcool chlorhydrique (4ml EtOH + 1ml HCl concentré), ajouter ensuite deux à trois copeaux de magnésium. La présence d'une coloration rose-oranger ou violacée signe la présence des flavonoïdes (**Békro et al., 2007**).
- D. Des tanins:** La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, 1ml de l'extrait aqueux même pour l'extrait de éthanol et éther, 1 ml d'eau distillé et à 2gouttes des solutions de FeCl₃ diluée. L'apparition d'une coloration vert foncée ou bleu-vert indique la présence des tanins (**Trease et Evans, 1987**).
- E. Des saponosides:** 1 ml d'extrait végétal sont mis dans un tube à essai. Après avoir le tube est agité pendant 15 secondes(s), puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides. (**Bidie et al., 2011**).
- F. Des polyterpènes et stérols:** Dans 1ml d'extrait végétal ajouter quelques gouttes d'anhydride acétique. Ensuite introduire 0,5 ml d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une couleur rouge intense indique la présence des terpènes et verte foncée indique la présence des stérols. (**Bagré et al., 2007**).

I.2.3. Méthodes d'analyse quantitative de l'extrait

I.1.3.1. Composition phénolique

A. Les dosages des polyphénols (PP)

– Principe

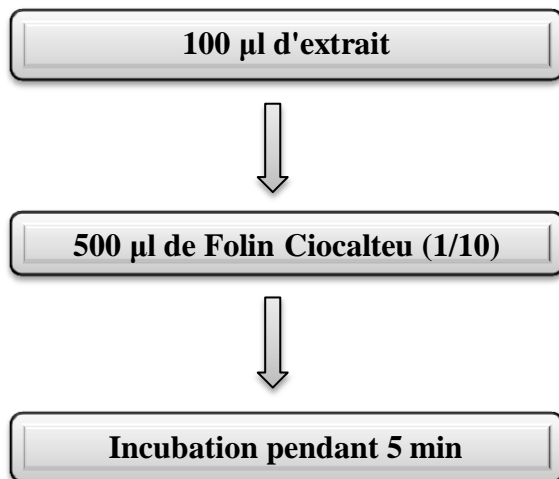
Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par **Singleton et Ross (1965)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif est formé d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Ce qui nous aide à doser les phénols dans le visible à une longueur d'onde de l'ordre 765 nm.

– Mode opératoire

Dans un tube à essai ont été introduits à l'aide d'une micropipette 100 μ l de chaque solution d'extrait, suivis de l'addition de 500 μ l de réactif de Folin Ciocalteu ((1/10) (10 fois dilué dans l'eau distillée)). Après 2 minutes, 2 ml d'une solution de bicarbonate de sodium (Na_2CO_3) à 20% ont été ajoutées. Puis les solutions ont été secouées immédiatement et sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance de chaque solution d'extrait a été déterminée à 765 nm avec un UV Vis spectrophotomètre.

La courbe d'étalonnage a été réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations (10 - 35 μ g/ml), dans les mêmes conditions de dosage.

Les résultats sont ainsi exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait sec (mg d'EAG/g ES). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.



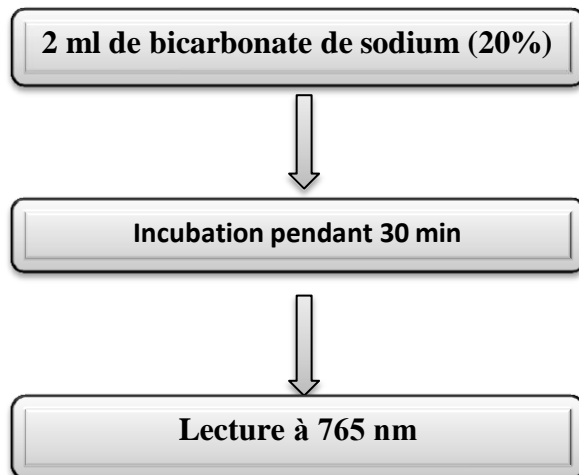


Figure 11 : Protocole de dosage des polyphénols totaux (Singleton et Ross 1965).

B. Dosages des flavonoïdes (FV)

– Principe

Les flavonoïdes des extraits ont été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun et al., 1996). Le principe est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par ce réactif ($AlCl_3$), ce qui entraîne la formation d'un complexe jauneorange qui absorbe à 420 nm. La coloration jaune-orange produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait testé (Chekroun, 2015).

– Mode opératoire

Mettre 1ml d'extrait dans un tube à essai de différente concentration (0.2-1mg/ml); Ajouter 1 ml d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium($AlCl_3$) à 2%; incuber les tubes à 60 min à température ambiante. Lire l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à 420 nm.

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (10-35 $\mu\text{g/ml}$) et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait), le test est répété 3 fois. (Kebieche, 2009; Talbi et al., 2014).

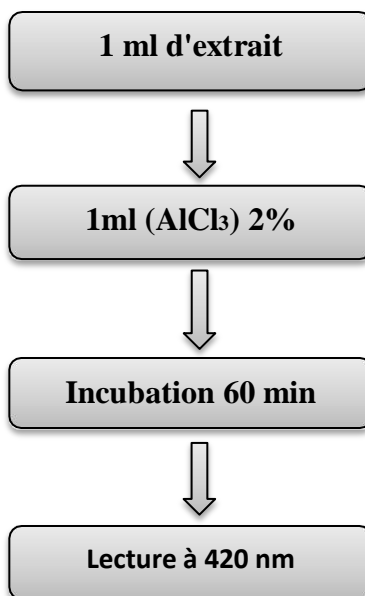


Figure 12 : Protocole de dosage des flavonoïdes (Bahorun et al., 1996).

I.2.4. Evaluation de l'activité biologique

I. 2.4.1. Evaluation de l'activité antioxydant de l'extraits

La capacité antioxydant de l'ensemble des extraits a été évaluée in vitro par deux méthodes spectrophotométriques. L'activité anti radicalaire, l'inhibition du DPPH, est mesurée selon la méthode de Brand-williams (1995). Le pouvoir réducteur est évalué selon la méthode d'Oyaizu et al., (1986) reprise par (Atmani et al. , 2009). Pour chaque extrait, les tests ont été répétés trois fois. Une lyophilisation a été effectuée afin de conserver nos échantillons et étudier l'effet de la concentration sur le pourcentage d'inhibition du radical DPPH.

A. Le test du piégeage du radical libre DPPH

– Principe du test

D'un point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant des groupes -SH, -NH et -OH. Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle possède un électron non apparié sur un d'azote. Ce radical ne forment pas des dimères, il restedonc sous sa forme monomère qui est relativement stable (Popovici et al., 2009).

La réduction du DPPH par un agent antioxydant en DPPH-H induit une perte de sa couleur violette foncée qui va sa transforme en jaune pale (Figure 21). (Molyneux, 2004).

CHAPITRE I: Matériels et Méthodes

Cette réaction qui s'effectue à température ambiante pour éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles (Popovici et al., 2009) peut être suivie spectrophotométriquement en mesurant la diminution de son absorbance entre 515-518 nm (Molyneux, 2004).

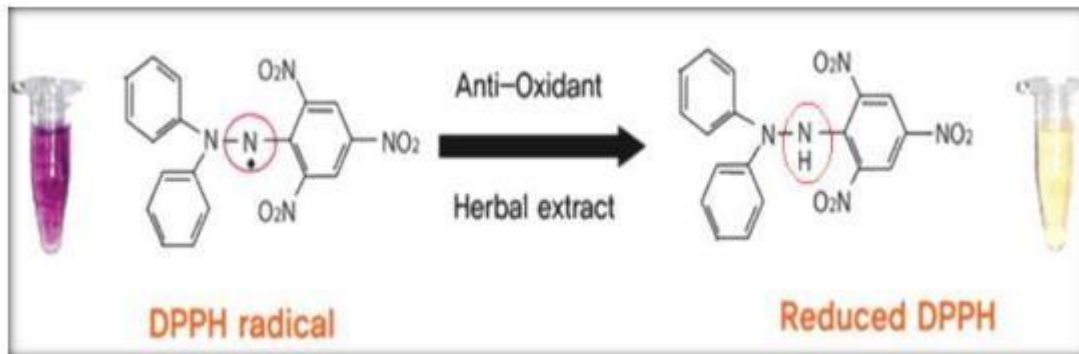


Figure 13 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire (DPPH•) et un antioxydant (AH) (Molyneux, 2004).

– Protocol de l'activité anti-radicalaire par le test DPPH

L'activité antioxydant des différents extraits est mesurée par la méthode décrite par **Brand-williams et al., (1995)**, Pour chaque extrait une différentes concentrations comprises entre 0.02-0.1 mg/ml et des antioxydants standards (acide ascorbique) avec différentes concentrations entre 0.001-0.08 mg/ml. Une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 2 mg de DPPH dans 50 ml de méthanol. 0.5ml de solution échantillons et témoin sont ajoutées à 1 ml de la solution de DPPH, après incubation de 30 min en obscurité à la température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant.

Les résultats exprimés en **IC₅₀** qui sont calculés à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition 1% en fonction de la concentration de chaque extrait. Il faut rappeler que plus la valeur de **IC₅₀** est petite, plus l'activité antioxydant des extraits est grande(**Popovici et al., 2009**).

Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % et déterminé en appliquant la formule

$$\% \text{ d'activation antioxydant} = [\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

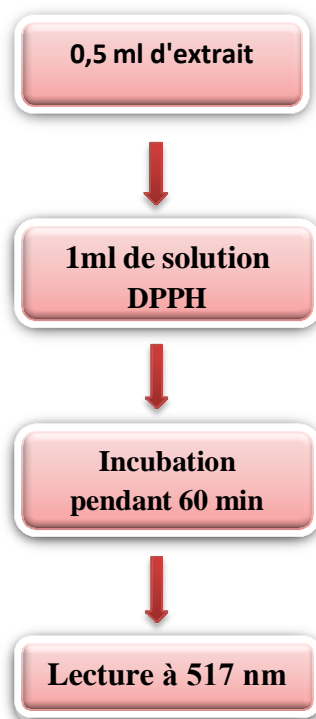


Figure 14 : Protocole de dosage de l'activité antioxydants par le test DPPH (Brandwilliamset al., 1995).

I.2.4.1. L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait

Évaluation l'activité antibactérienne de l'extraits ont été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé cité par (Treki et al., 2009) des différents concentrations (0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 1.5 mg/ml, 2 mg/ml) des deux extraits aqueux, éthanolique des graines **Daucus carota L.** Cette technique repose sur l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque contenant l'extrait de la plante (Bssaibis et al., 2009), dans le milieu de culture contre quatre souches bactériennes : *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

– Préparation des milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont la gélose nutritive pour l'isolement des souches bactériennes et la gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries pour les différents extraits de plantes préparée comme suit : Dissoudre 28 g de la gélose nutritive dans un litre d'eau distillée et de 38 g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution

CHAPITRE I: Matériels et Méthodes

Complète, puis la stérilisation à l'aide d'autoclave pendant 15 min à 121°C, finalement couler dans les boîtes de Pétri à 4 mm de hauteur et on laisse quelques minutes jusqu'à la solidification (**Harrar, 2012**).

– Conservation des souches

Les souches bactériennes conservées à 4°C dans des boîtes de pétrie contenant une solution nutritive

– Préparation des précultures

(Le repiquage) Les souches bactériennes à tester sont alors repiquées à partir de la culture dans une boîtes de pétrie contenant milieu de culture la gélose nutritive et incubé pendant 18 à 24 h à 37°C dans l'étuve afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées pour déterminé l'activité.

– Préparation des dilutions

des extraits (concentration) Différentes concentrations (0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 1.5 mg/ml, 2 mg/ml) des trois extrait aqueux, éthanolique et éthylique des graines de *Daucus carota* L. ont été préparé par la solution diméthyle sulfoxyde (DMSO) (**Meddour et al., 2013**).

– Préparation des disques

Nous avons préparé les disques à partir de papier wattman de 6mm de diamètre, puis elles sont mises dans un tube à essai bien fermer et stérilisés les disques à l'autoclave pendant 30 minutes à 120°C. Et conservées jusqu'à l'utilisation.



Figure 15 : Préparation de la gélose à L'autoclave(Photo originale).

– Préparation de l'inoculum (suspensions bactériennes)

A l'aide d'une pipette pasteur stérilisés nous avons prélevée quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques de chacune des souches bactériennes à tester préalablement cultivées dans la gélose nutritive 24h et sont été mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est bien homogénéisée (**Choi et al., 2006**). L'ensemencement doit se faire en moins en quelques min après la préparation de l'inoculum (**Djelloul-Daouadji, 2010**).

– Ensemencement

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri, trempé un écouvillon dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. Ensuite frotté l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée Mueller Hinton (GMH), de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (**Djelloul-Daouadji, 2010 ; Rahal, 2011**). L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.

– Application des disques (dépôt des disques)

A l'aide d'une pince stérile, 4 disques de 6 mm de diamètre préalablement préparé, imprégnés des quatre concentrations de chaque extrait aqueux, éthanolique et éthylique (0.5, 1, 1.5, 2 mg/ml).

Ensuite déposés les disques dans la boîte pétrie, une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé (**Rahal, 2011**).

=> Le témoin négatif était un disque de papier Wattman imprégnés de DMSO.

– Incubation et Lecture

Après l'incubation 18-24 heures à 37°C dans l'étuve l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (**Choi et al., 2006**).

– Test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de nos extraits testés. Les disques d'antibiotiques (témoin positif) sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

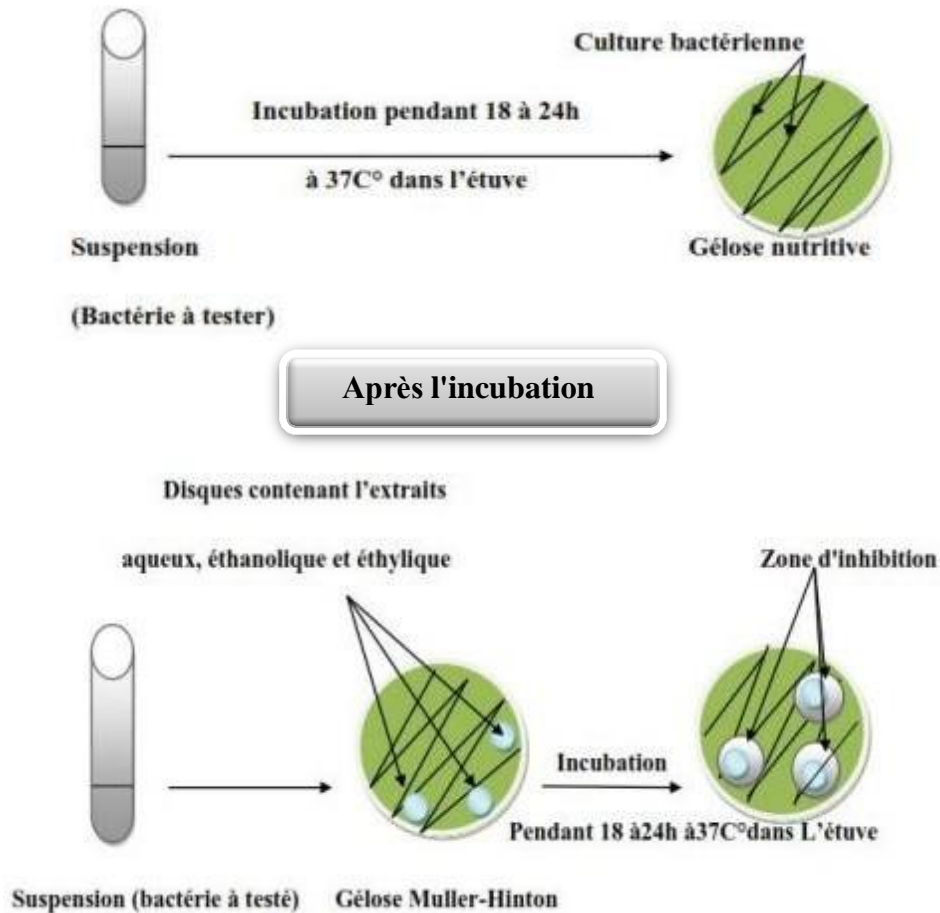


Figure 16: Protocole de détermination l'activité antibactérienne.

I.2.5. Dosage des paramètres du stress oxydant

I.2.5.1. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH) tissulaire

→ Principe

Le dosage de la concentration de glutathion est spectrophotométrie. La mesure de la densité optique résulte de la formation de l'acide 2-nitro-5mercapturique à partir de la réduction de l'acide dithio-bis2-nitrobenzoïque ce qu'on appelle réactif de d'Ellman avec les groupements SH existent dans le GSH (WECKBEKER., et CORY., 1988).



CHAPITRE I: Matériels et Méthodes

– Mode opératoire

- ❖ Prélever 0,8 ml de l'homogénat.
- ❖ Déprotéiniser en ajoutant 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique 0,25 %.
- ❖ Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- ❖ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min. ⚪ Prélever 0,5 ml du surnageant.
- ❖ Ajouter 1 ml du tampon Tris + EDTA (0.02 M d'EDTA), pH 9,6.
- ❖ Mélanger et ajouter 0,025 ml de DTNB à 0,01M (dissous dans le méthanol absolu).
- ❖ Laisser pendant 5 min à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément.
- ❖ Lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

– Méthode de calcul

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$(\text{GSH})(\text{Nm /mg de pro}) = (\text{D.O} \times 1 \times 1.525) / (13133 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg de tissus})$$

13133 : constante d'absorption des groupes SH à 412 nm. **0.5ml** : volume de solution surnageant.

DO : la lecture d'absorbance par le spectrophotomètre. **1** : volume de mélange de protéine.

1.525 ml : volume total de mélange. **(GSH)** : concentration de glutathion.

0.8ml : volume de solution homogène sans protéine existe dans 1ml.

Dosage du malondialdéhyde (MDA)

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 532nm (YAGI., 1976).

– Mode opératoire

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 100µl d'échantillon, 400µl de réactif TBA et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100°C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

– Méthode de calcul

La concentration de TBARS a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{mol/l}$.

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de protéine}) = (\text{Do échantillon} / 1,53 \times 10^5) \text{ mg de tissus.}$$

I.2.6. Traitement des animaux

L'ensemble des rats ont été divisé en quatre groupes de cinq rats chacun et gardés dans des mêmes conditions. Un groupe de témoin ne traite pas par la métribuzine (GT), Le deuxième groupe recevant de l'eau potable contaminée par 85 mg/kg de métribuzine (G Mét) n'a reçu aucun traitement à partir de l'extrait. Et le troisième groupe recevant une eau de boisson contaminé par 85 mg/kg de métribuzine (G3), et le quatrième groupe recevant une eau de boisson contaminé par 85 mg/kg de métribuzine (G4), avec gavage des Différent extraits hydro-alcoolique, aqueux 300 mg/kg, 400mg/kg d'extrait respectivement.

I.2.7. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes

Après 27 jours de traitement les rats de 4 lots sont mis à jeûne pendant 15 heures puis ont été sacrifiés (par décapitation), le sang est immédiatement recueilli dans deux tubes polyéthylène. L'un contient l'anticoagulant EDTA et l'autre étant sec, ce dernier est centrifugé à 3000 tours/min pendant 15 minutes pour le dosage des paramètres biochimiques (glycémie, l'urée, créatinine, TGO, TGP), le sang mis dans des tubes contenant l'EDTA est séparé en deux parties, une utilisé pour le dosage des paramètres hématologiques (GR, GB, HB, LYM, PLA), et l'autre pour la récupération de plasma afin de doser l'estradiol plasmatique.

Les animaux sacrifiés ont été pesés puis disséqués pour le prélèvement de certains organes: Les foies, les poumons, les reins et les testicules ont été pesés puis stockés au congélateur pour le dosage des paramètres du stress oxydant (protéines, glutathion, glutathion réduit et Malondialdéhyde).

I.2.8. Méthode de dosage des paramètres de métabolisme des carbohydrates et lipides

❖ Méthode de dosage hématologique

L'analyse hématologique (FNS) est effectuée par l'autoanalyseur de marque mythic 18Orphée.

❖ Méthode de dosage de la glycémie

L'analyse de la glycémie est effectuée par un glucomètre de marque On-Call Plus.

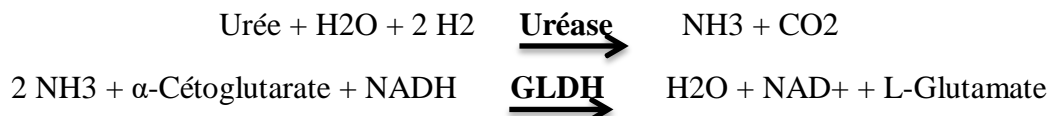
❖ Méthode de dosage de créatinine

La créatinine est dosée selon une méthode cinétique colorimétrique, elle forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de la créatinine (Murray et al., 1984).

❖ Méthode de dosage de l'urée sérique

• Principe

Dans notre étude, l'urée sérique a été déterminée suivant une méthode colorimétrique par un Autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de l'urée sérique (Kaplan, 1984). L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH₃) et en anhydride carbonique (CO₂). L'ammoniac formé est incorporé à l'α-cétoglutarate par l'action du glutamate déshydrogénase (GLDH) avec oxydation parallèle de la NADH à la NAD.



La diminution de la concentration de NAD⁺ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé. L'absorption est mesurée à 340 nm.

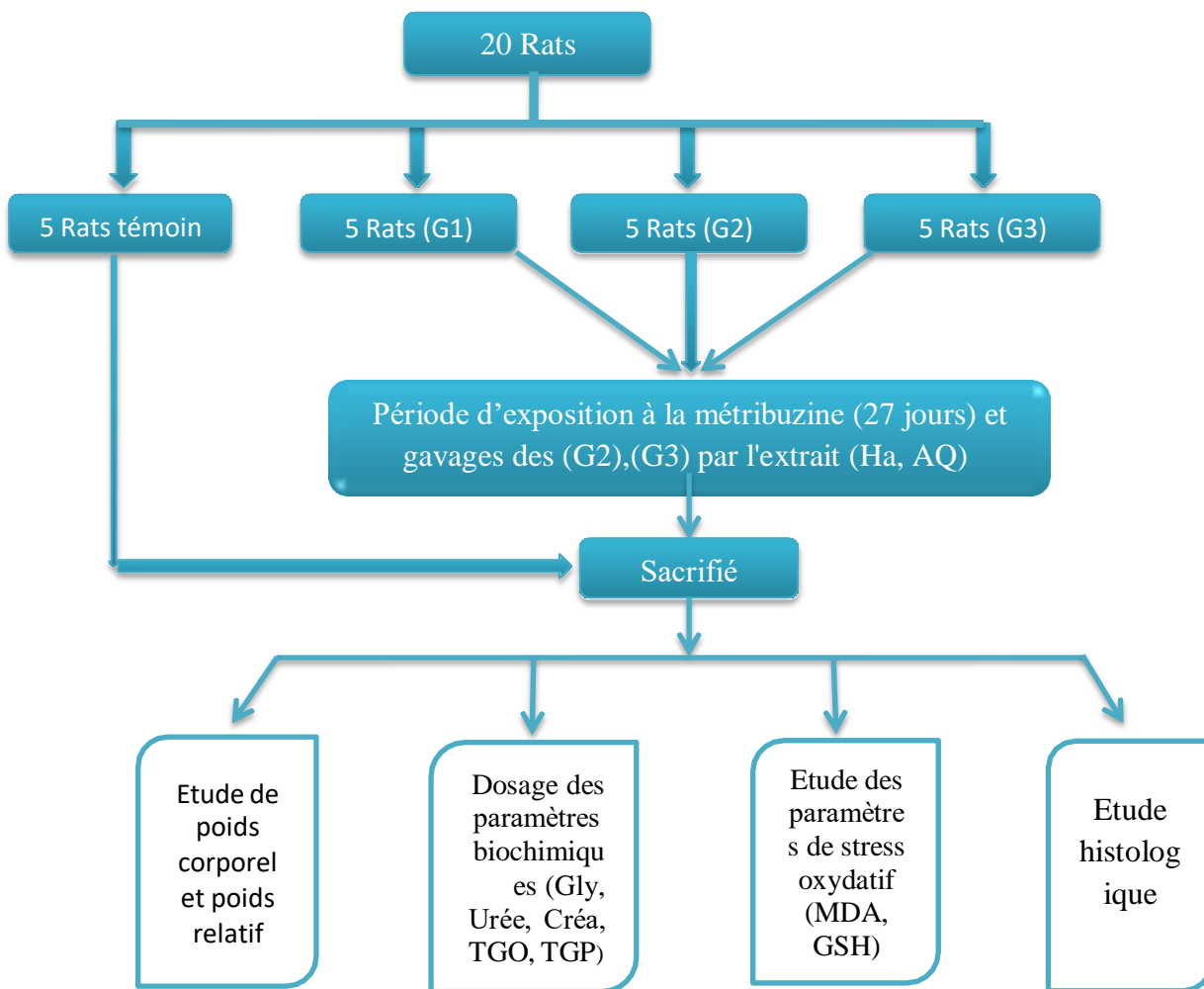


Figure 17: Schéma récapitulatif de protocole expérimental.

I.2.8.2. Préparation des échantillons des coupes histologiques

Les coupes histologiques du pancréas ont été réalisées suivant la technique classique du Houlot. Pour chaque ratte, on prélève un fragment du pancréas de 0,5 cm³, ces fragments sont mis directement dans du Bouin alcoolique, fixateur couramment utilisé (26 ml Formol, 7 ml acide acétique et 45 ml acide picrique de 95%). Puis ces morceaux sont retirés et coupés à l'aide du couteau tranchant à fin de réaliser des prélèvements pour l'étude histologique avec une surface de 1-2 cm² et une épaisseur proche de 1,5 mm Les pièces obtenues sont alors mis dans des cassettes spéciales parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

Déshydratation : Les échantillons sont ensuite déshydratés pendant 12 heures au minimum pour éliminer l'eau des tissus, cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 80%, 90% et 100%).

Inclusion : Les pièces anatomiques sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide, puis on procède à l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. La réalisation des coupes minces de quelques microns (5 µm en moyenne) sont possibles grâce d'un microtome. Ces coupes sériées sont reliées entre elle sous forme des rubans ; les quels sont par la suite étalés sur des lames porte-objets, dépliés et fixés sur les lames par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

Coloration : Selon la technique à l'hémalum-éosine, la coloration suivie les étapes suivantes:

- 1- Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau de robinet puis rincer à l'eau distillé.
- 2- Immerger dans un bain d'hématoxyline de Harris (15 min) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux).
- 3- Différencier les coupes dans l'alcool acide (100 ml éthanol à 70% + 50 ml HCl) puis les rincer à l'eau de robinet.
- 4- Bleuir dans un bain d'eau ammoniacale (100 ml d'eau distillé + 2 ml d'ammoniaque).
- 5- Immerger dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 min) qui colore les structures acidophiles (cytoplasme).

6- Déshydrater, éclaircir et monter les lames à Eukitt. Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau de robinet.

7- Enfin, passer à l'observation au microscope photonique, lequel est équipé d'un appareil photographique.



Figure 18: Une cassette (Photo originale).

I.2.9. Analyse de Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

L'extrait hydro-éthanoïque des grains de *Daucus carota* L ont été filtrés avant l'injection. Un système HPLC a été utilisé avec un détecteur à $\lambda = 268$ nm, la colonne utilisée est de longueur 25cm et diamètre 4.6 mm, la phase stationnaire (C:18) et la phase mobile acide acétonitrile/eau (60; 40; v/v).

Les grains de *Daucus carota* L sont évalués dans les conditions suivantes:

Débit 1 ml/min à 25°C; pression 8.5-8.6; avec temps d'acquisition 20 min.

I.2.10. Les analyses statistiques

Les résultats des tests sont exprimés en moyenne \pm écart type. L'évaluation statistique des résultats est effectuée par le test T student, qui est basé sur la comparaison entre deux moyennes. Pour cela, on a utilisé les logiciels de MINITAB (version 17) et EXCEL (version 2010),

La signification est déterminée par la valeur $\alpha=0.05$; Si :

$P < 0.05$: Différence significative.

$P < 0.01$: Différence hautement significative.

$P < 0.001$: Différence très hautement significative. $P >$

0.05 : Différence non significative.

Les valeurs d'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].



Résultats et discussions

Résultats et discussion

II.1. Résultats

II.1.1. Les rendements

Le rendement moyen en extraits (aqueux et Hydro-alcoolique) des graines de **Daucus carota L** a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Ces rendements sont présentés dans le tableau 04.

Tableau 04 : Rendement, couleur et aspect des extraits secs des graines *Daucus carota L*.

Extrait brut	Rendement(%)	Couleur	aspect
Hydro-alcoolique	11.99%	Marron foncée	pate
Aqueux	13.22%	Marron foncée	poudre

Selon les résultats obtenus, nous remarquons le rendement de l'extrait aqueux de valeur 13.22% plus élevée que l'autre extrait Hydro-alcoolique de valeur 11.99% respectivement. Elle est presque la même pour des trois extraits brut considérable avec une couleur marron foncée et un aspect poudre.

II.1.2. Les tests phytochimiques

Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur l'extrait éthanoïque des graines *Daucus carota L* sont regroupés dans le tableau 05. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitations ou de colorations par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé (Zirar, 2014).

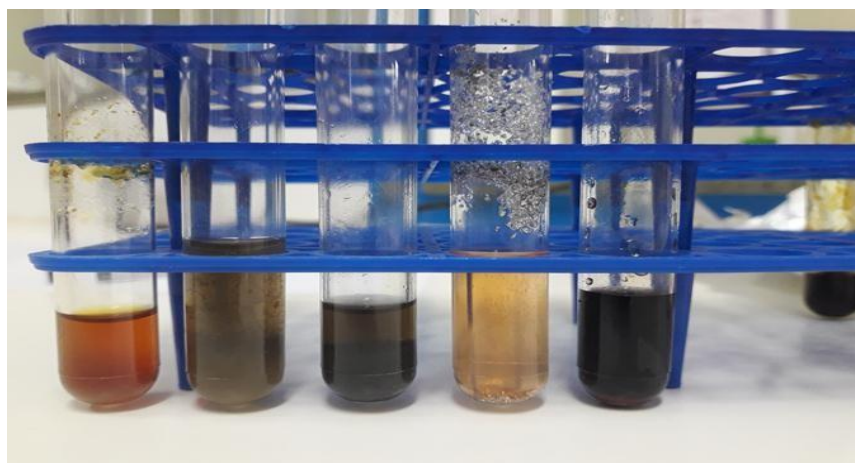


Figure 19: Exemple sur le test phytochimiques l'extrait Hydro-alcoolique des graines *D.carota.L* (Photo original).

Résultats et discussion

À travers cette étude, nous avons mis en évidence l'existence des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, les polyterpènes, les stérols et les polyphénols dans l'extrait, la présence des alcaloïdes et les flavonoïdes Avec les polyphénols qui sont plus élevées de moyen très important dans l'extrait Hydro-alcoolique. Pour la classe des Saponosides, le test s'est révélé négatif pour ce l'extrait. Ces résultats, confirment la richesse des graines *Daucus carota* L. par la majorité des métabolites secondaires.

Tableau 05: Résultats des tests phytochimiques extrait hydro-alcoolique des graines *D. carota*L.

Composés	Réactifs	Extrait Hydro-alcoolique
Polyphénols	FeCl ₃	+++
Alcaloïdes	Dragendorff	+++
Polyterpènes	D'acide sulfurique	+++
Flavonoïde	D'alcool chlorhydrique	+++
Stérols	D'acide sulfurique	+
Saponosides	Test de mousse	-
Tanins	FeCl ₃	+

(+) présence, (++) abondant, (+++) très abondant, (-) absence

D'après les résultats obtenus, nous avons noté que l'extrait hydro-alcoolique des graines *Daucus carota* L est très riche en Polyphénols, Alcaloïdes, Polyterpènes et Flavonoïde. Par contre, les Saponosides sont absentes, il renferme aussi des différentes proportions des Stérols et tanins.

II.1.3. Les déterminations des teneurs des composés phénoliques

A. Le dosage des polyphénols (PP)

L'étude quantitative d'extrait réalisé par le dosage spectrophotométrie par la méthode de Folin-Ciocalteu avait pour objectif la détermination de la teneur totale en polyphénol présent dans l'extrait de *Daucus carota* L. Cette teneur est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de courbe d'étalonnage de l'acide gallique, exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec ($\mu\text{g EAG/g ES}$): $y = 0.002x + 0.2273$ avec ($R^2 = 0.9796$).

Résultats et discussion

Tableau 06 : Teneurs en polyphénols (moyenne \pm écart-type) dans l'extrait hydro-alcoolique des graines *Daucus carota* L.

Daucus carota L.	Teneurs en polyphénols ($\mu\text{g EAG /mg ES}$)
Extrait hydro-alcoolique	39,183 \pm 1,04

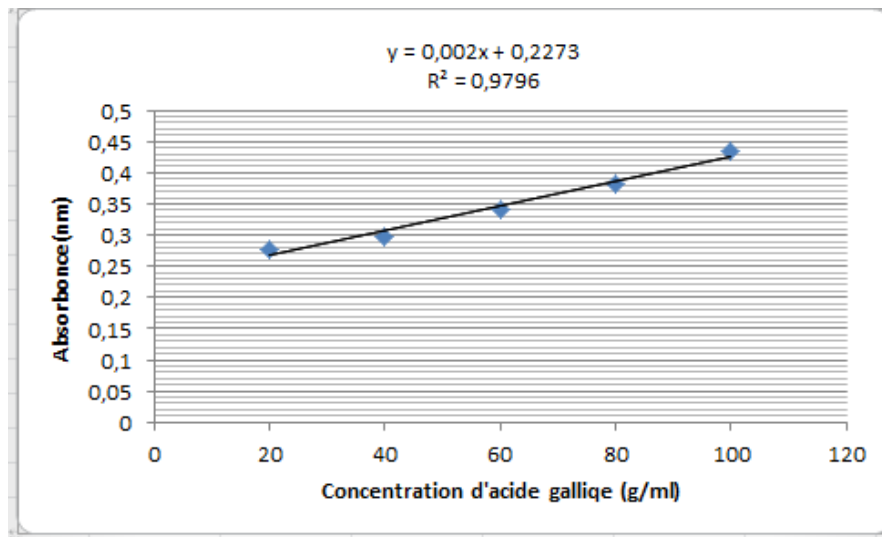


Figure 20: Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols.

B. Le dosage des flavonoïdes (FV)

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et l'étalon été la quercitine. La teneur en flavonoïde a été déterminée dans l'extrait des graines *Daucus carota* L. à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage est exprimée en microgramme d'équivalent de quercitine par milligramme d'extrait sec: $y = 0,0014x + 0,0701$ avec ($R^2 = 0,9936$).

Tableau 07: Teneurs en flavonoïdes (moyenne \pm écart-type) dans l'extrait hydro-alcoolique des graines *Daucus carota* L.

Daucus carota L.	Teneurs en flavonoïdes ($\mu\text{g EAG /mg ES}$)
Extrait hydro-alcoolique	44,121 \pm 1,56

Résultats et discussion

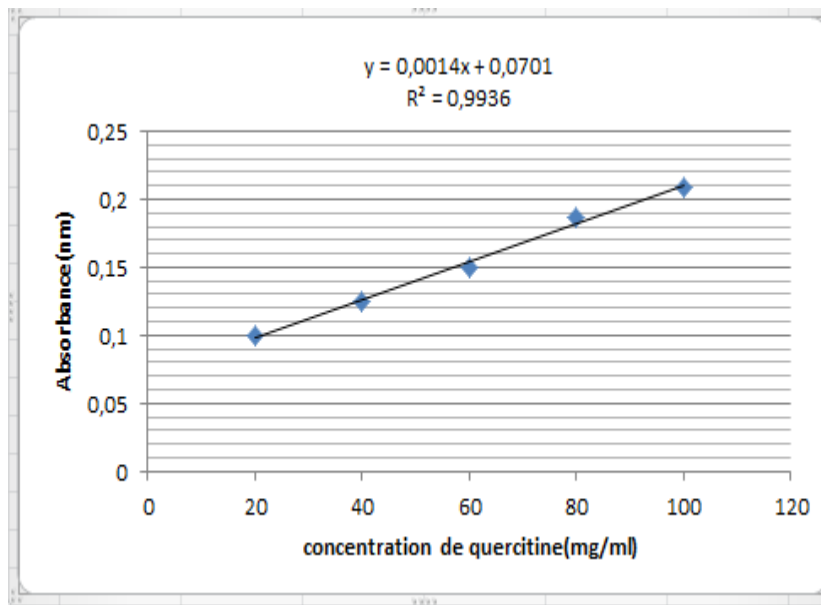


Figure 21: Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.

II.1.4. L'évaluation de l'activité biologique

II.1.4.1. L'évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait

— Le test de DPPH

La mise en évidence du pouvoir antioxydant d'extrait (Hydro-alcoolique) des graines *Daucus carota* L, été réalisée par un technique chimique (test de piégeage du radical libre). L'activité anti radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl1picrylhydrazyle (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. L'inhibition de la décoloration du radical DPPH est en fonction de la concentration de l'extrait utilisé (**Cuendet et al., 1997**). Le radical libre DPPH a permis l'estimation de l'activité antioxydant. C'est un radical synthétique de couleur violette qui vire vers le jaune quand il est capté par les extraits testés. L'intensité de la couleur jaune reflète la capacité anti radicalaire de l'extrait, et dépend de la nature, la concentration et la puissance de cet extrait.

L'activité antioxydant de l'extrait hydro-alcoolique des graines de *Daucus carota* L. est exprimée en IC50, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH. Dans ce test on a utilisé l'acide ascorbique comme standard.

Résultats et discussion

Tableau 08: IC50 de l'extrait brut et l'acide ascorbique (moyenne \pm écart-type) dans l'extrait hydro-alcoolique des graines *Daucus carota* L.

Daucus carota L.	IC50 ($\mu\text{g/ml}$ de E)
Extrait hydro-alcoolique	68,033 \pm 5,87***
Acide ascorbique	78,301 \pm 4,30

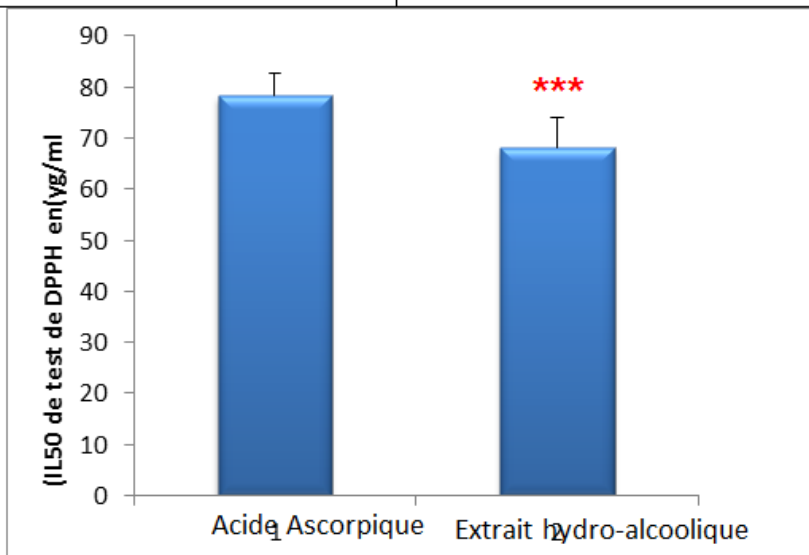


Figure 22 : IC50 de test DPPH d'extraits hydro-alcoolique des graines *Daucus carota* L.

Les résultats présentés dans la figure 22 montrent très hautement significative ($p < 0.001$) du extrait hydro-alcoolique du teneur de IC50 de test DPPH des l'extraits des graines *Daucus carota* L.

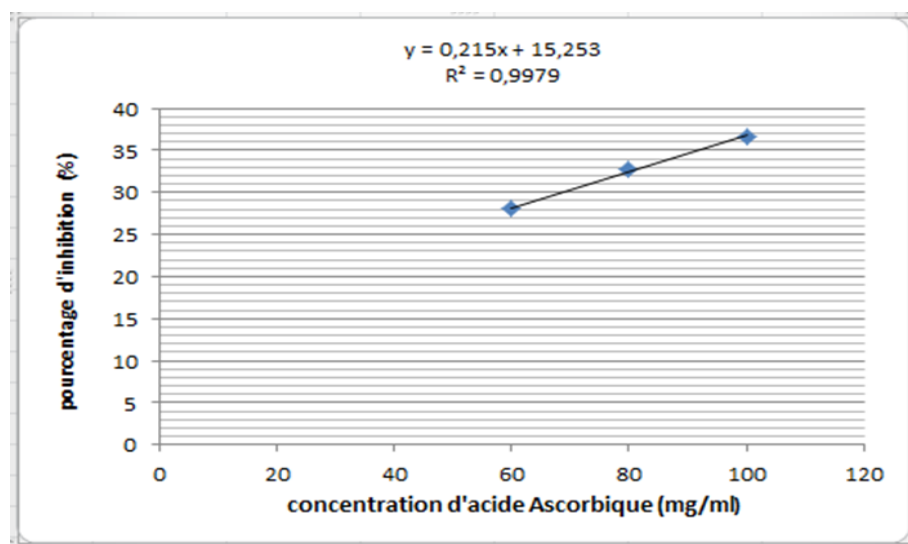


Figure 23: Courbe d'étalonnage pour le test de DPPH.

Résultats et discussion

II.1.4.2. L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antibactérien des trois extraits isolés des graines *Daucus carota* L. par la méthode de diffusion en milieu gélosés solides, Mueller-Hinton pour les souches bactériennes à tester. L'activité antibactérienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de trois (03) souches bactériennes. Tous les extraits n'ont pas réagi avec les souches bactériennes testées. On remarque aussi l'absence de pouvoir inhibitrice d'extrait contre la croissance bactérienne comparativement au témoin positif qui a réagi fortement. Le tableau 6 indique les résultats des tests d'activité antimicrobienne d'extrait issus de la plante *Daucus carota* L. sur les souches bactériennes utilisées.

Tableau 09 : Etude de l'activité inhibitrice d'extraits de graine *Daucus carota* L.

Concentration de plante pour les deux extraits (aqueux, Hydro-alcoolique) en (mg/ml)									
Souches	Diamètres d'inhibition (mm)	AX	STR	DMSO	0.5	1	1.5	2	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		(HA)	10	19	6	10	12	15	17
		(AQ)	10			10	14	17	20
<i>Staphylococcus aureus</i>		(HA)	10	20	6	20	15	12	10
	(AQ)				17	14	11	10	
<i>Bacillus cereus</i>	(HA)	7	19	6	7	8	9	10	
	(AQ)				8	9	10	13	

AX: amoxicilline STR: streptomycine

Résultats et discussion

II.1.5. Effet de la métribuzine

II.1.5.1. Effet de la métribuzine sur les poids corporels et poids relatifs des organes

Tableau 10: Variation du poids corporel (g) et poids relatif (g/100g) dans les organes (Foie, rein, cœur et poumons), chez les rats wistar témoins et traités par la métribuzine après 27 jours, avec traitement par les deux extraits hydro-alcooliques et aqueux.

Les paramètres		Les groupes			
		Groupe Témoin	Groupe Métribuzine	Groupe Extrait (HA)	Groupe Extrait (AQ)
		Moy ± ES	Moy ± ES	Moy ± ES	Moy ± ES
Poids initial		1044±42,78	1181±24,22	1252±39,18	1234±32,82
Poids final		1144±32,15	1294±20,51	1366±21,66	1331±23,24
Gain de poids		100±10,63	113±3,71	114±17,52	97±9,58
Poids relatif	Foie	7,246±1,17	7,258±0,64 ^{NS}	6,903±0,26*	7,875±0,78 ^{NS}
	Reins	1,622±0,23	1,436±0,16 ^{NS}	1,579±0,12 ^{NS}	1,505±0,13 ^{NS}
	poumons	2,130±0,50	1,630±0,34 ^{NS}	1,865±0,15 ^b	2,066±0,16 ^{NS,b}
	Testicules	3,239±0,23	2,464±0,54 ^{NS}	2,773±0,38 ^{NS}	2,765±0,35 ^{NS}

Les résultats obtenus à partir du tableau montrent qu'il n'y a pas de différence de poids entre les différents groupes pendant la période de traitement

– Foie

Les résultats obtenus, ne montrent aucune variation significative ($p > 0.05$) du poids relatif de foie chez les rats du lot (Met, AQ) par rapport au rats du lot (Tem), mais on remarque une diminution significative ($p < 0.05$) du poids relatifs de fois chez les rats de lot (HA) par rapport au groupe sain. D'autre part ne montrent aucune variation significative ($p > 0.05$) du poids relatif de foie chez le rats traité parle l'extrait (AQ) mais on remarque une variation diminution significative ($p < 0.05$) du poids relatifs de fois chez les rats de lot (HA) par rapport au groupe traité par le métribuzine.

– Reins

D'après les résultats, nous remarque qu'il n'existe aucune différence significative ($p > 0.05$) pour le poids relatif du rein entre les rats des lots (Met, AQ, HA) par rapport au lot (Tem). D'autre part ne montrent aucune variation significative ($p > 0.05$) du poids relatif de foie chez le rats traité parle l'extrait (AQ) et (HA) par rapport au groupe traité par le lot métribuzine.

Résultats et discussion

→ Poumons

Les résultats obtenus, ne montrent aucune variation significative ($p > 0.05$) du poids relatif de poumons chez les rats du lot (Met, AQ) par rapport au rats du lot (Tem), mais on remarque une diminution significative ($p < 0.05$) du poids relatifs de poumons chez les rats de lot (HA) par rapport au groupe sain. Aussi pour les groupes traité on a constaté une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) du poids relatif des poumons chez le lot desrats (AQ), et on remarque une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) pour le groupe (HA) par rapport au groupe traité par le lot métribiuzine.

→ Testicules

Les résultats obtenus, ne montrent aucune variation significative ($p > 0.05$) du poids relatif de Testicules chez les rats du lot (Met, AQ, HA) par rapport au rats du lot (Tem), D'autre part ne montrent aucune variation significative ($p > 0.05$) du poids relatif de foiechez le rats traité parle l'extrait (AQ) et (HA) par rapport au groupe traité par le lot métribiuzine.

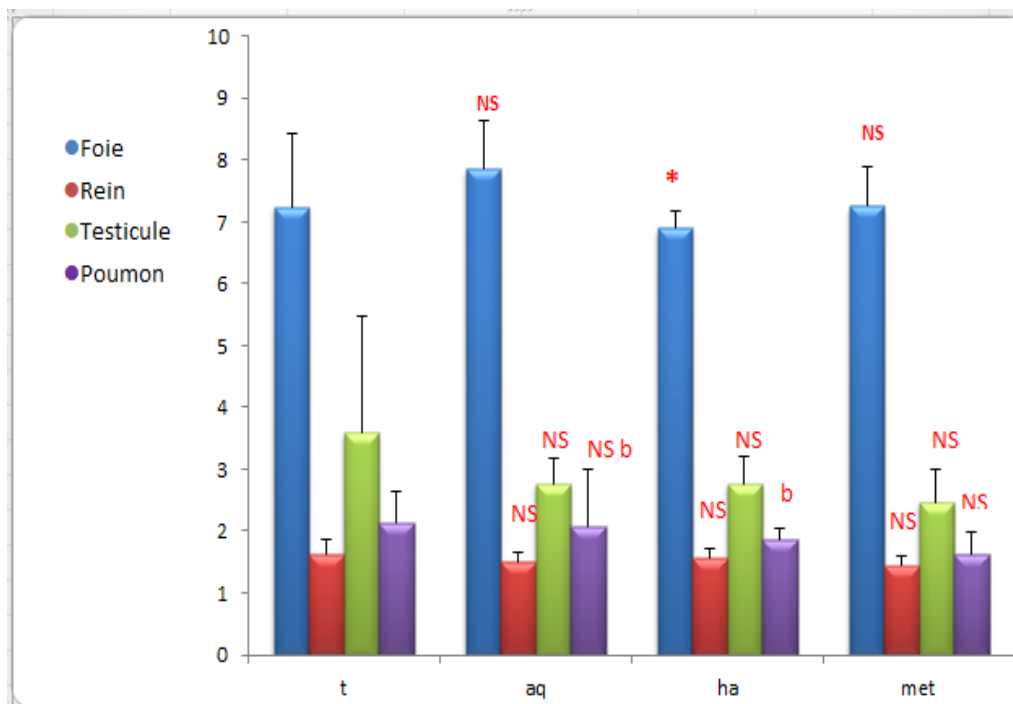


Figure 24: Variation du poids relatifs des organes (foie, rein, testicule, poumon) chez les différents groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, avec groupe témoin sain ^b $p < 0.01$.

Résultats et discussion

II.1.5.2.Effet de la métribuzine sur des paramètres hématologiques

Tableau 11: Variation des paramètres hématologiques chez les rats wistar témoins et traités par la métribuzine après 27 jours, avec traitement par les deux extraits hydro-alcooliques et aqueux.

Les paramètres	Les groups			
	Groupe (T)	Groupe (MET)	Groupe (HA)	Groupe (AQ)
	Moy ± ES	Moy ± ES	Moy ± ES	Moy ± ES
WBC (10 ⁹ /L)	6.28 ± 0.744	12.64 ± 0,084	8.35 ± 0.636	7.9 ± 0.1
RBC (10 ¹² /L)	5.826 ± 0.156	7.25 ± 0.367	5.595 ± 0.912	5.865 ± 0.219
PLT (10 ⁹ /L)	651.4 ± 23.4	1410.5 ± 102.53	674 ± 15.55	647 ± 12.72
HGB (g/DL)	11.78 ± 0.312	14.15 ± 0.636	11.75 ± 0.77	12.9 ± 0.848
LYM (10 ⁹ /L)	5.02 ± 1.008	11.93 ± 11.93	7.395 ± 1.166	6.38 ± 1.682

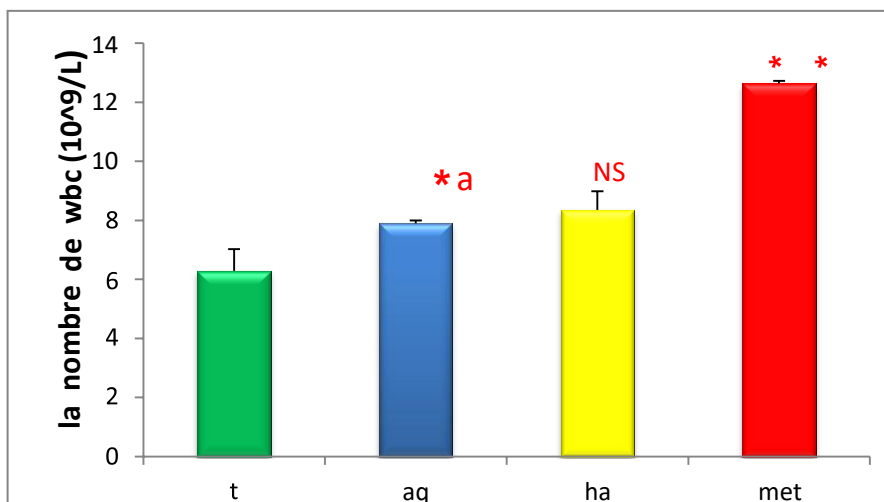


Figure 25: Variation de nombre des globules blancs chez les rats wistar témoins et traités par la métribuzine après 27 jours, avec traitement par les deux extraits hydro-alcooliques et aqueux. **: P<0.01; NS: P>0.05; ^a p < 0.05; * p < 0.05.

Résultats et discussion

Les résultats obtenus présentés dans la figure 20 montrent que le nombre des globules blanc est augmenté de façon hautement significative ($P < 0.01$) chez le lot contaminé par métribuzine, et une augmentation significative ($P < 0.05$) chez le groupe (AQ), montrent qu'il n'y a aucune différence significative ($P > 0.05$) au nombre des globules blanc chez les lots (HA), par rapport au lot témoin., D'autre part nous montrent un diminution de façon significative ($P < 0.05$) chez lot (AQ), mais on remarque aucune variation significative ($P > 0.05$) au nombre des globules blancs chez les lots (ha) par rapport au lot contaminé par métribuzine.

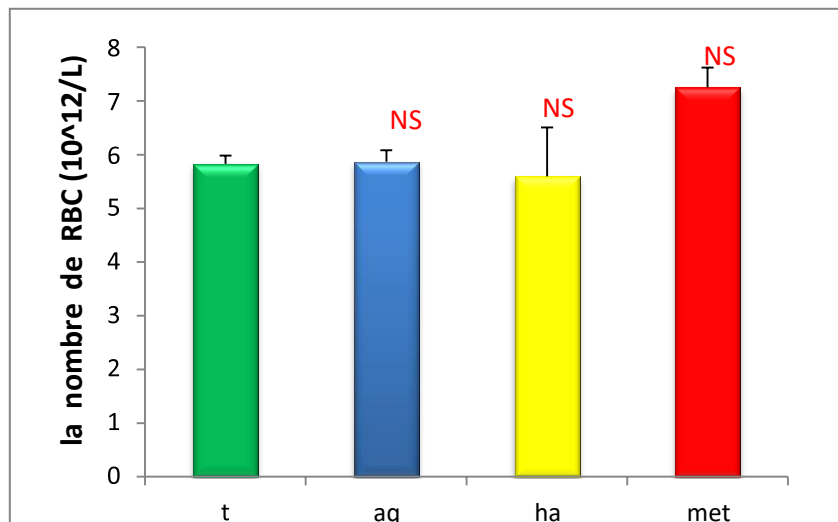


Figure 26: Variation de nombre des globules rouges chez les rats wistar témoins et traités par la métribuzine après 27 jours, avec traitement par les deux extraits hydro-alcooliques et aqueux. ^{NS}: $P > 0.05$.

Les résultats obtenus présentés dans la figure 26 montrent qu'il n'y a aucune différence significative ($P > 0.05$) au nombre des globules rouges chez les lots traités (HA, AQ, Met) par rapport au lot témoin sain. Aussi nous montrent qu'il n'y a aucune différence significative ($P > 0.05$) au nombre des globules rouges chez les lots traités (HA, AQ) par rapport au lot contaminé par métribuzine.

Résultats et discussion

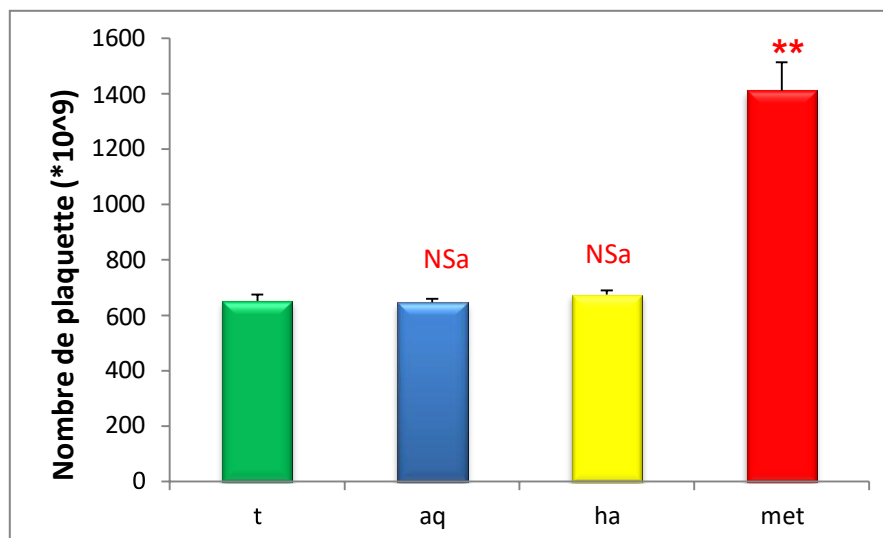


Figure 27: Variation de nombre de plaquette chez les rats wistar témoins et traités par la métribuzine après 27 jours, avec traitement par les deux extraits hydro-alcooliques et aqueux. **: $P < 0.01$, ^{NS}: $P > 0.05$.

Nous avons constaté dans la figure 27 montrant qu'il n'y a aucune différence significative ($P > 0.05$) au nombre de plaquette des chez les lots traités (HA, AQ), et une augmentation significative ($P < 0.05$) chez le groupe contaminé par la métribuzine par rapport au lot témoin. L'étude statistique montrée une diminution significative ($P < 0.05$) au nombre de plaquette chez le groupe (HA) et le groupe (AQ). Par rapport au lot contaminé par métribuzine.

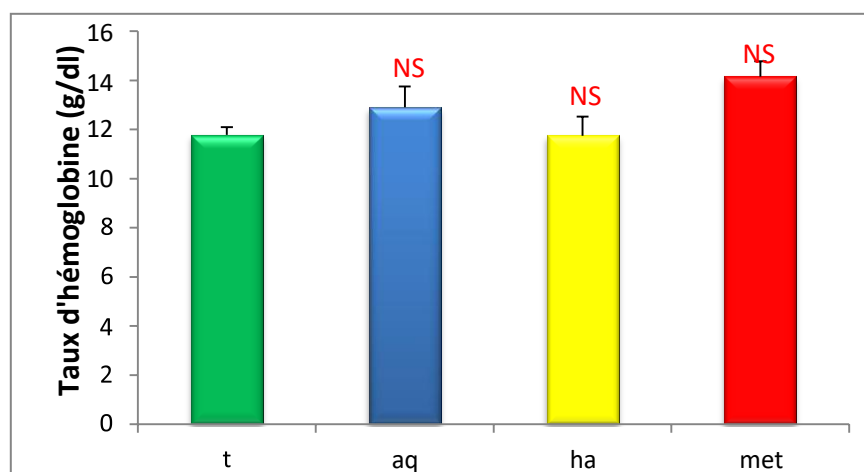


Figure 28: Variation de taux d'hémoglobine chez les rats wistar témoins et traités par la métribuzine après 27 jours, avec traitement par les deux extraits hydro-alcooliques et aqueux. ^{NS}: $P > 0.05$.

Résultats et discussion

Les résultats obtenus présentés dans la figure 28 montrent qu'il n'y a aucune différence significative ($P>0.05$) au taux d'hémoglobine chez le lot traité par le métribuzine et le lot (HA) et le groupe (AQ). En comparaison avec témoin. Aussi pour le groupe (HA) et le groupe (AQ) nous montrent qu'il n'y a aucune différence significative ($P>0.05$) au taux d'hémoglobine. Par rapport au lot contaminé par métribuzine.

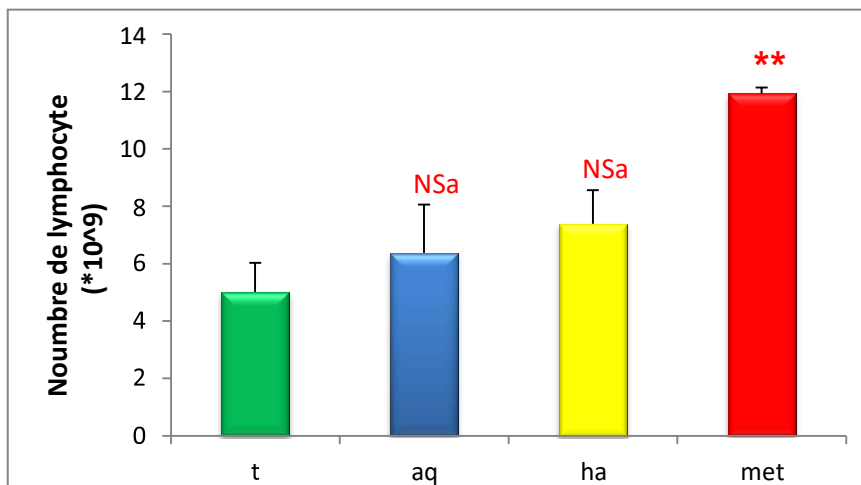


Figure 29: Variation de nombre de lymphocytes chez les rats wistar témoins et traités par la métribuzine après 27 jours, avec traitement par les deux extraits hydro-alcooliques et aqueux. **: $P<0.01$, ^{NS}: $P>0.05$.

Les résultats obtenus présentés dans la figure 29 montrent que le nombre de lymphocytes est augmenté de façon hautement significative ($P<0.01$) chez les lots traités par métribuzine, et montre qu'il n'y a aucune différence significative ($P>0.05$) au nombre de plaquette des chez les lots traités (HA, AQ), par rapport au lot témoin sain. Aussi nous montrent une diminution significative ($P<0.05$) au nombre de plaquette chez le groupe (HA) et le groupe (AQ). Par rapport au lot contaminé par métribuzine.

II.1.5.3. L'analyse des paramètres biochimiques

Tableau 12: Les variations des paramètres biochimiques chez les rats wistar témoins et traités par la métribuzine après 27 jours, avec traitement par les deux extraits hydro-alcooliques et aqueux.

Résultats et discussion

paramètres	Lots			
	Groupe Témoin	Groupe métribuzine	Groupe Extrait (HA)	Groupe Extrait (AQ)
	Moy ± ES	Moy ± ES	Moy ± ES	Moy ± ES
Urée (g/l)	0.2 ± 0.0356	0.30 ± 0.063 ^{NS}	0.33 ± 0.0216 ^{***N}	0.33 ± 0.0497 ^{NS}
Glycémie (g/l)	1.47±0,0356	1.562±0.0432 [*]	1.118±0.0726 ^{***c}	1.17±0.07 ^{**c}
Créatinine (g/l)	3.99 ± 0.0497	5.41 ± 0.0638 ^{***}	4.12 ± 0.0330 ^{**c}	4.24 ± 0.02 ^{***c}
Cholestérol (g/l)	0.67 ± 0.0852	1.15 ± 0.0432 ^{***}	0.59 ± 0.0787 ^{NSc}	0.48 ± 0.05 ^{**c}
Triglycéride (g/l)	0.90 ± 0.0852	1.19 ± 0.0432 ^{***}	1.02 ± 0.0787 ^{NSc}	1 ± 0.051 ^{**c}
TGO (UI/L)	170 ± 11.22	313 ± 18.71 ^{***}	239 ± 11.86 ^{***c}	182 ± 6.38 ^{*c}
TGP (UI/L)	42.75 ± 9,64	80 ± 4.97 ^{***}	56 ± 5.72 ^{*b}	51 ± 8.64 ^{NSb}

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =5).

Comparaison avec le lot témoin: *p < 0.05 ; **p < 0.01 ; ***p < 0.001

Comparaison avec le lot traités par la métribuzine : ^b p < 0.01; ^c p < 0.001

NS : Différence non significative P > 0.05

Nous avons constaté , une augmentation significative (p< 0.05) de la concentration sérique de l'urée chez les rats traités par la métribuzine et une augmentation très hautement significative (p<0.001) du la concentration sérique de l'urée chez le lot des rats (HA) et montré aussi un diminution de façon hautement significative (p<0.01) pour le lot des rats (AQ), par rapport aux rats témoins sains, D'autre part il n'existe aucune variation significative (p>0.05) en la concentration sérique de l'urée chez le groupe (HA, AQ) par rapport au groupe traités par la métribuzine.

Les résultats rassemblés dans le tableau (12) montrent une augmentation Significative (p<0.05) de la concentration sérique du glucose chez le lot des rats traités par la métribuzine et diminution très hautement significatives (p < 0.001) pour le lot (HA) et une diminution hautement significatives (p < 0.01) pour le lot (AQ), par rapport au lot des rattes témoins saines. En ce qui concerne le lot des rattes (HA) et(AQ), de même, on a observé une diminution très hautement significatives (p<0.001) de la glycémie par rapport aux rats traités par la métribuzine.

La variation de la créatinine augmenté de façon très hautement significative (p<0.001) pour le lot des rats (met), et a montré qu'il existe une augmentation hautement Significative (p<0.01) entre les rats traité par (HA, AQ), par rapport aux rats témoins sain. L'étude statistique montré une diminution très hautement significative (p<0.001) chez les rats (HA), (AQ). Par rapport aux des rats (met).

Nos résultats montrent que une variation du taux plasmatique de cholestérol présente une augmentation très hautement significative (p<0.001) chez les rats traités par la métribuzine et

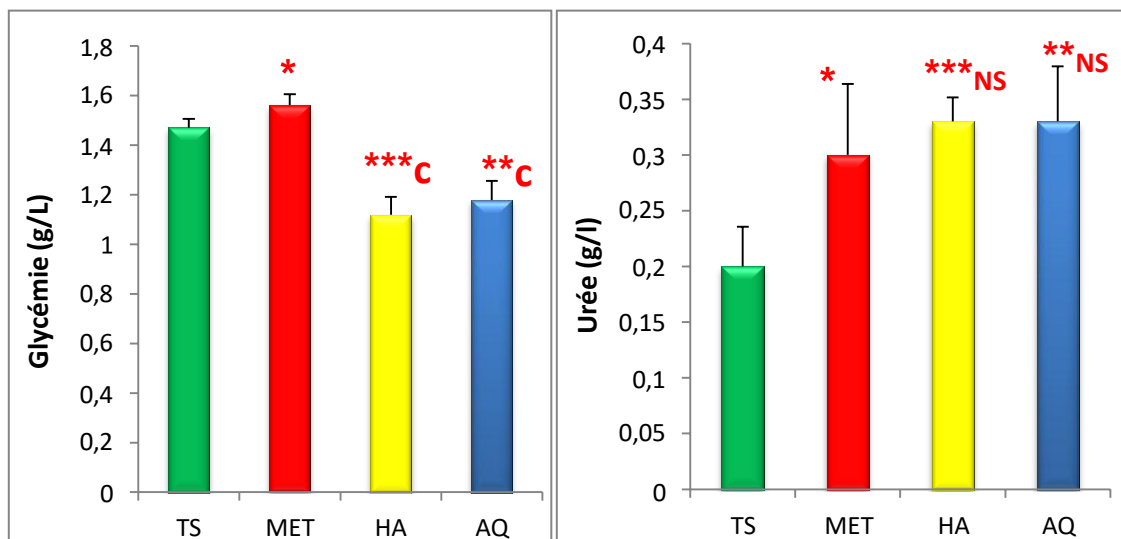
Résultats et discussion

on remarque diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du taux plasmatique de cholestérol chez le lot des (AQ), par rapport aux rattes du lot témoin sain (TS). Cependant, le cholestérol diminue de façon hautement significative ($p < 0.01$) pour le lot des rats (AQ) en comparant au lot des rats traités par la métribuzine et montre qu'il n'y a aucune différence significative ($P > 0.05$) au nombre de plaquette des chez les lots traités par (HA) en comparant au lot des rats témoins saines et des rats traités par la métribuzine.

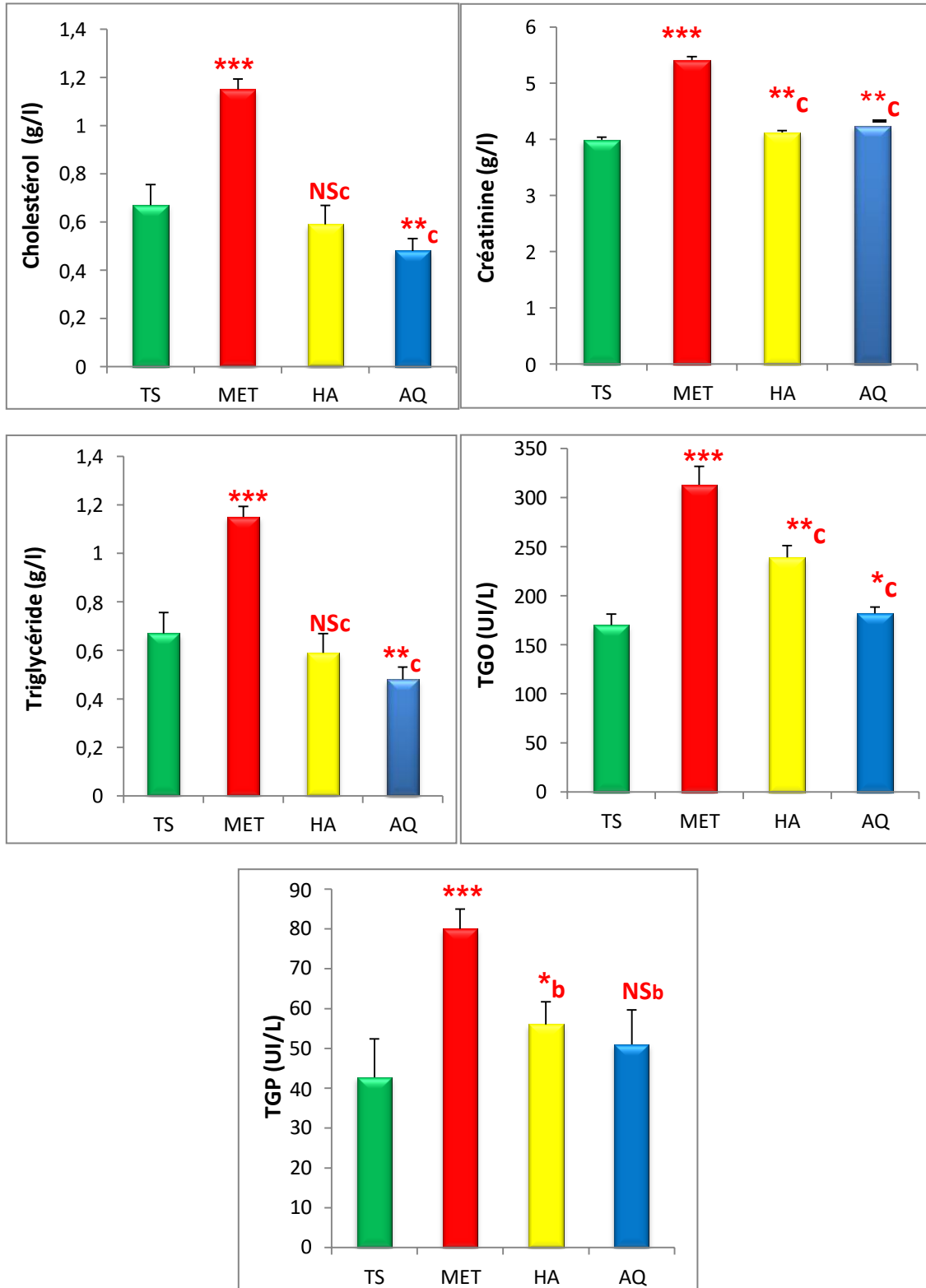
D'autre part, il existe une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) du taux Plasmatique de triglycéride chez le lot des rats traités par la (met) et on remarque aucune variation significative ($p > 0.05$) chez le groupe (HA). Concernant le lot (AQ) on a enregistré une diminution hautement significatives ($p < 0.01$) par rapport au lot des rats témoins saines. L'étude statistique montre diminution très hautement significative ($p < 0.001$) entre les rats des lots (HA, AQ) et le lot traités par la métribuzine respectivement.

Concernant l'activité sérique de TGO les résultats obtenus montrent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) chez les lots (MET) et hautement significative ($p < 0.01$) chez le lot (HA) et montré aussi une augmentation de façon significative ($p < 0.05$) l'activité sérique de TGO chez les rats (AQ), en comparant au lot des rats témoins saines. D'autre part l'étude statistique montre diminution très hautement significative ($p < 0.001$) entre les rats du lot (HA, AQ) et le lot traités par la métribuzine respectivement.

Par contre, La variation de l'activité sérique de TGP présente une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) chez les rats traités par la métribuzine et aussi on remarque augmentation hautement significative ($p < 0.01$) chez le lot des rats (HA) et montre qu'il n'y a aucune différence significative ($P > 0.05$) chez le lot (AQ), par rapport aux rats du lot témoin sain. Cependant, variation de l'activité sérique de TGP diminue de façon hautement significative ($p < 0.01$) pour le lot des rats (HA, AQ) en comparant au lot des rats traités par la (met).



Résultats et discussion



Figures 30: Les variations des concentrations des paramètres biochimiques chez les différents groupes expérimentaux.

Résultats et discussion

II.1.5.4. Effet de la métribuzine sur des paramètres de stress oxydatif tissulaires

- **Variation de concentration du Glutathion réduit (GSH)**

La concentration de Glutathion réduit (GSH) ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ protéine) dans les organes (Foie, reins, testicules et poumons) chez les rats témoins et traités par la métribuzine après 27 jours, avec traitement par les deux extraits hydro-alcooliques et aqueux.

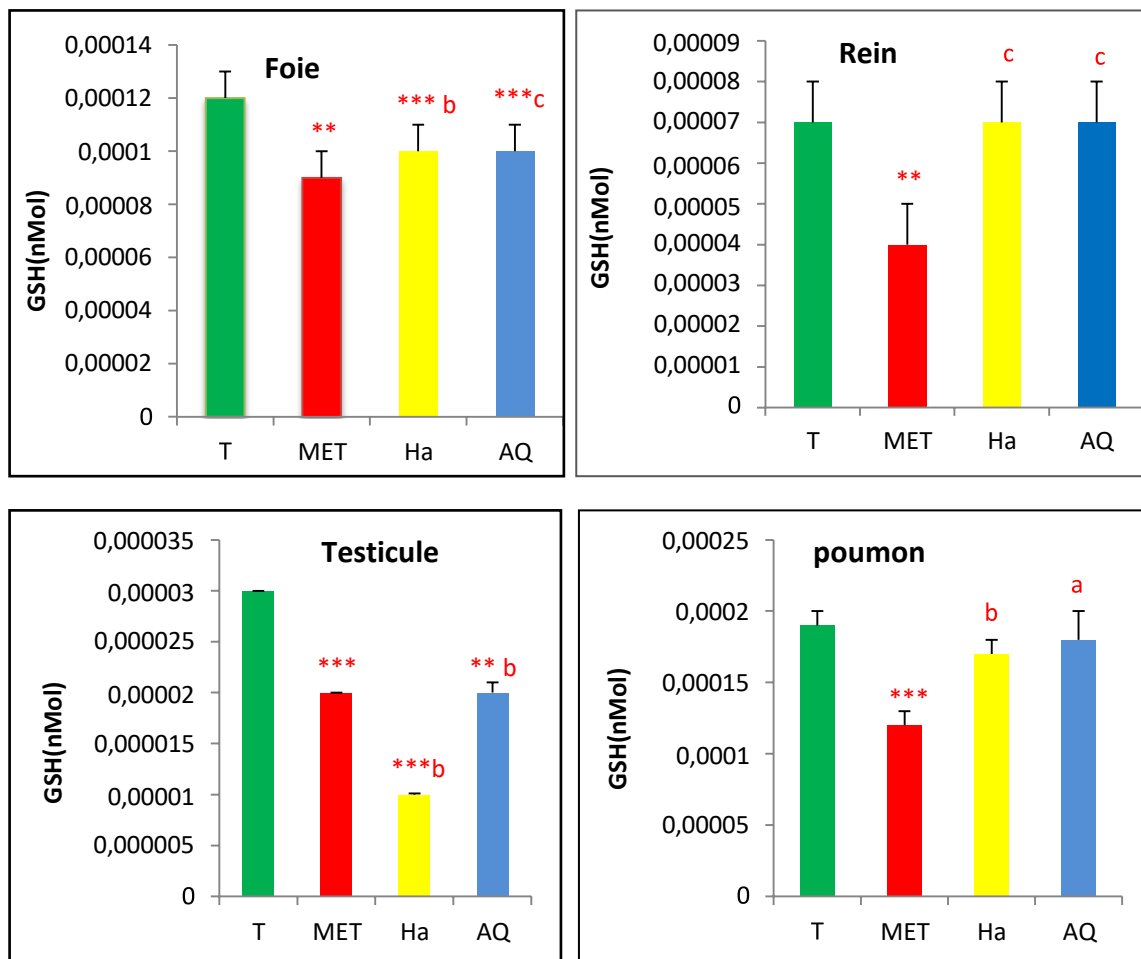


Figure 31 : Concentrations tissulaire de glutathion (GSH) chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin (T) : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, Comparaison avec groupe traités par métribuzine (Met) : ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, (n= 03rats)

Nos résultats montrent que la concentration de glutathion réduit tissulaires rénale et hépatique chez les rats des lots métribuzine est diminuée de façon hautement significative ($p < 0.01$) et très hautement significatif ($p < 0.001$) de la GSH testiculaire et pulmonaire par rapports aux rats témoins sain.

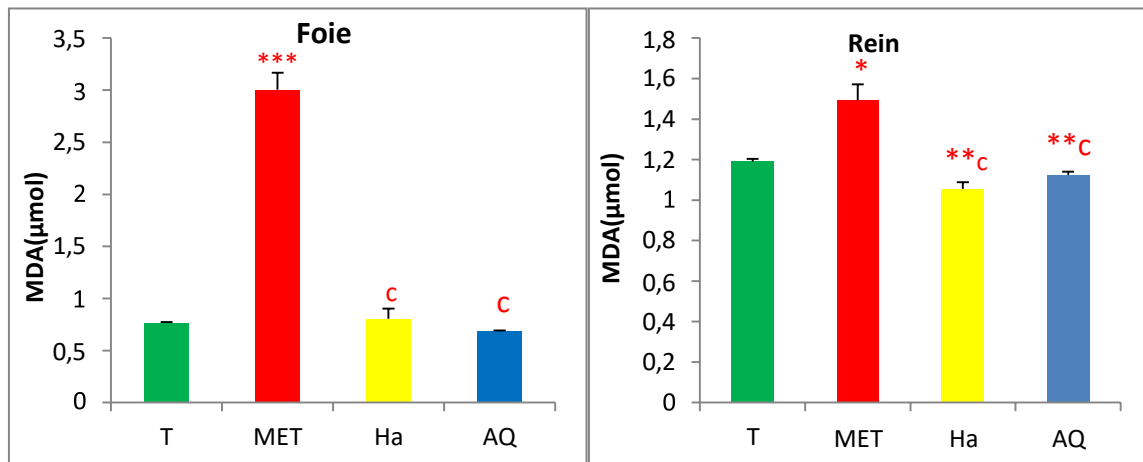
Résultats et discussion

Notre étude a montrée aussi, une diminuée très hautement significative ($p < 0.001$) dans le les rats des lots (ha, AQ), D'autre part, la GSH rénale montrent aucune différence significative ($p > 0.05$) dans même groupe (ha, AQ), par rapports aux rats témoins sain. D'autre part nous avons signalé augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la GSH rénale dans les rats des lots (ha, AQ), et la GSH hépatique de groupe (AQ), Et hautement significative ($p < 0.01$) de la GSH hépatique de groupe (ha) par rapport des lots (met).

Dans notre étude expérimentale, les résultats, la GSH pulmonaire montrent aucune différence significative ($p > 0.05$) dans le les rats des lots (ha, AQ) D'autre part très hautement significatif ($p < 0.001$) et hautement significative ($p < 0.01$) de la GSH tissulaires de même lots (ha, AQ) par rapports aux rats témoins sain. D'autre part nous avons signalé augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la GSH tissulaires de groupe (AQ) ($p < 0.01$) de la GSH pulmonaire de groupe (ha), et augmentation significatif ($p < 0.05$) et montrent une diminution hautement significative ($p < 0.01$) par rapport des lots (met).

● Variation des concentrations en molonydialdéhyde (MDA)

Les concentrations en MDA ont été déterminées sur des fractions cytosoliques des organes: foie, rein, testicules et poumons) chez les rats témoins et traités par la métribuzine après 27 jours, avec traitement par les deux extraits hydro-alcooliques et aqueux.



Résultats et discussion

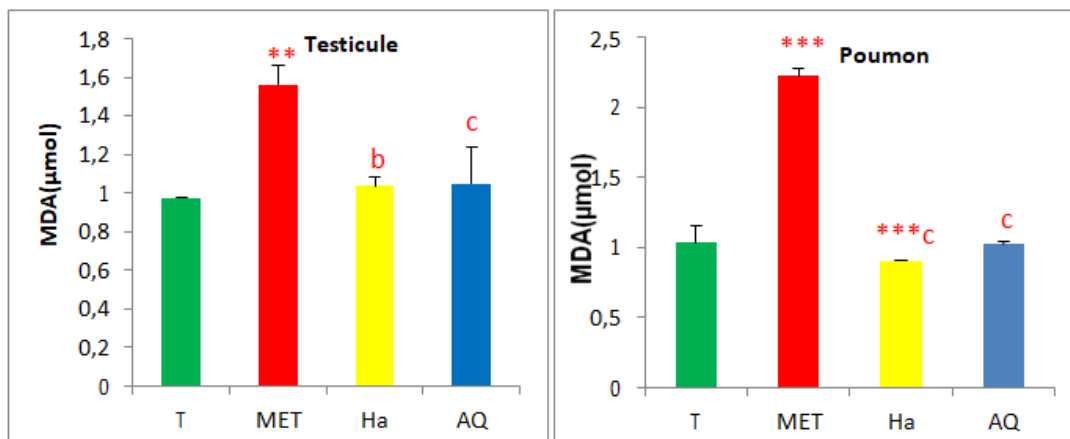


Figure 32 : concentration de peroxydation lipidique au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin (T) : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, Comparaison avec groupe traités par Métribuzine (Met) : ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, (n= 03 rattes).

Les résultats de la peroxydation lipidique des organes étudiés, présentent augmentation très hautement significatif ($p < 0.001$) des lots hépatique et pulmonaire et augmentation de façon hautement significative ($p < 0.01$) testiculaire et augmentation significative ($p < 0.05$) chez les rats des lots rénale chez les rats des lots métribuzine par rapport au lot témoin sain.

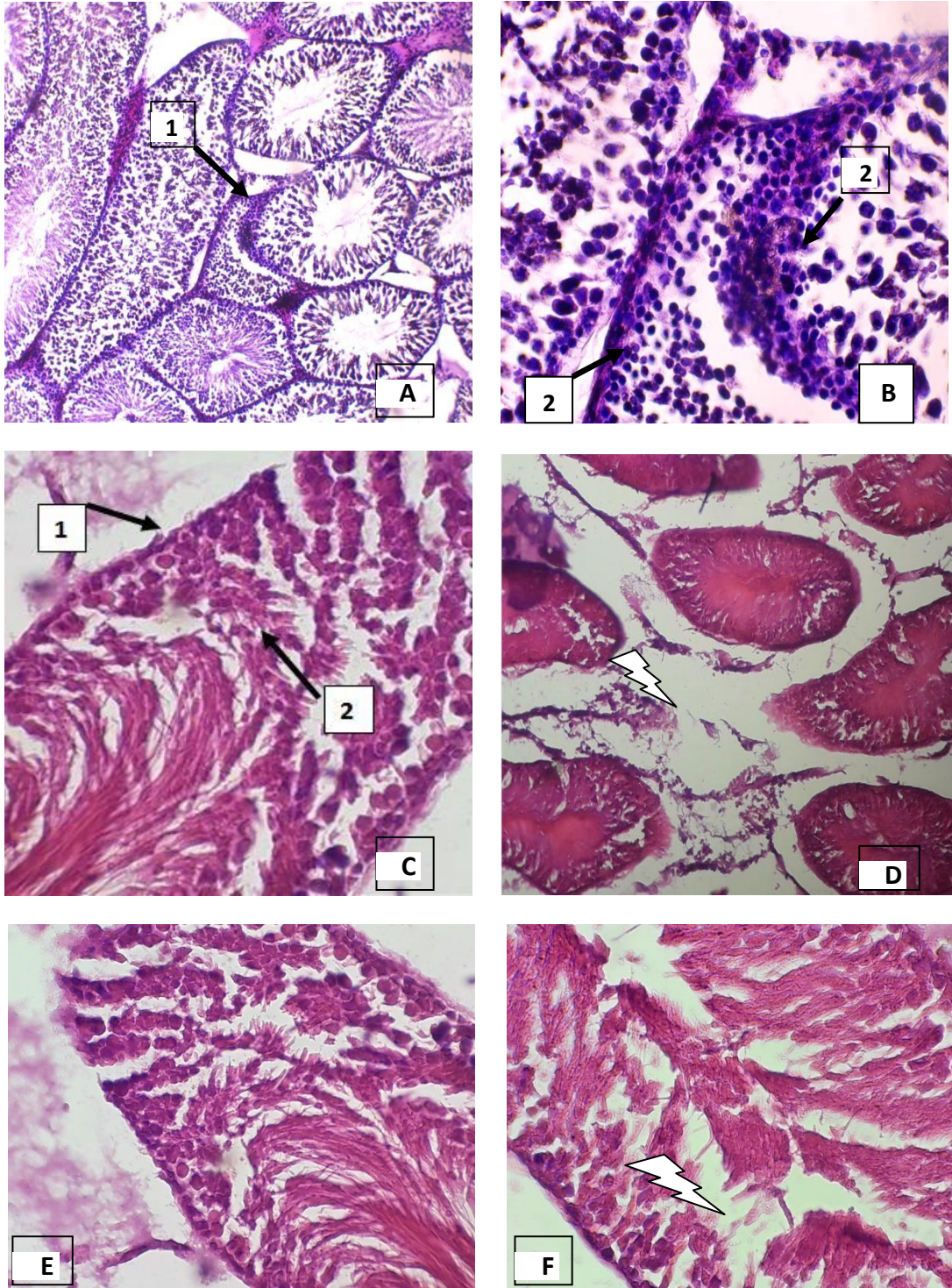
Nos résultats de la concentration de peroxydation lipidique montrent que aucune différence significative ($p > 0.05$) dans les lots hépatique et testiculaire chez les rats (ha, AQ), D'autre part pulmonaire de groupe (AQ) par rapports aux rats témoins sain. Chez les rats traités par (ha, AQ) on observe une diminution hautement significative ($p < 0.01$) des lots rénale, et groupe (ha) pulmonaire montrent augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) par rapports aux rats témoins sain.

Notre étude a montrée aussi, diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du taux MDA hépatique, pulmonaire et rénale chez les rats traités par (ha, AQ), par contre on observe une diminution hautement significative ($p < 0.01$) le MDA testiculaire de lot (ha) par rapport des lots (met).

II.1.6. Les coupes histologiques

L'observation microscopique au niveau du trois Organes chez les rats wistar témoins et traités par la métribuzine après 27 jours, avec traitement par les deux extraits hydro-alcooliques et aqueux. Alors que l'étude histologique présente une légère amélioration au niveau cellulaire.

❖ Coupes histologiques des testicules



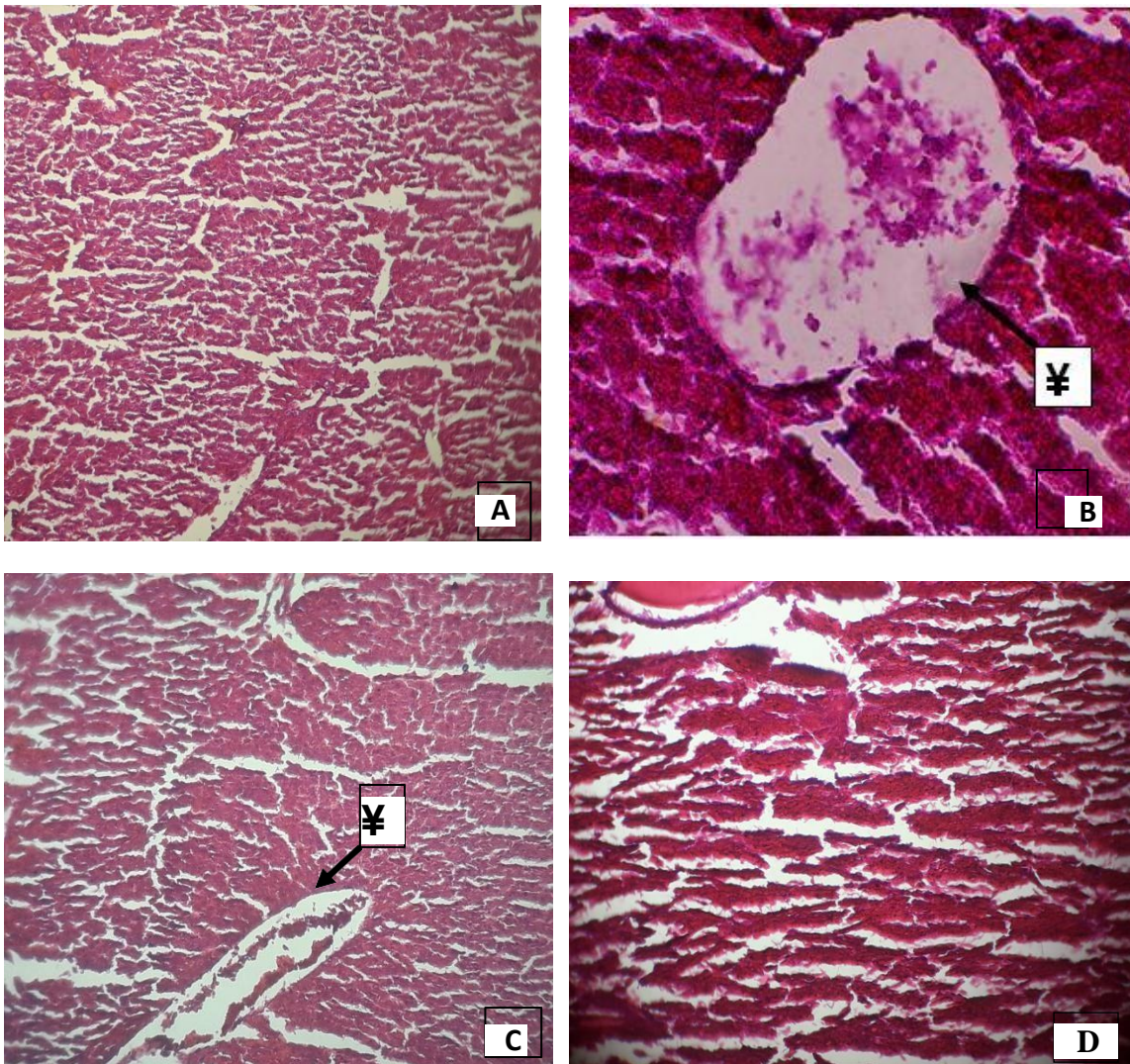
Figures 33: Coupes histologiques des testicules rats (A): rat témoin (Gr x10) montrant la structure histologique normale, maturité des tubes séminifères. (B): rat témoin (Gr x40) montrant une série spermatogénèse. (C): rat traité par le métribuzine avec gavage d'extrait

Résultats et discussion

hydro-alcoolique pendant 27 jours, montrant un fonctionnement normal maturité séminifères tubules (Gr **x40**), **(D)**: rat traité par le métribuzine tout période de traitement montrant un disfonctionnements des tubes séminifères, et arrêt de la spermatogénèse(Gr **x10**). **(E)**: rat traité par le métribuzine avec gavage d'extrait aqueux pendant 27 jours, montrant un fonctionnement normal maturité séminifères tubules (Gr **x40**), **(F)**: rat traité par le métribuzine montrant un arrêt de la spermatogénèse.

1: séminifères tubules. 2: spermatozoïdes disfonctionnements des tubes séminifères et arrêt de la spermatogénèse.

❖ Coupes histologiques des foies



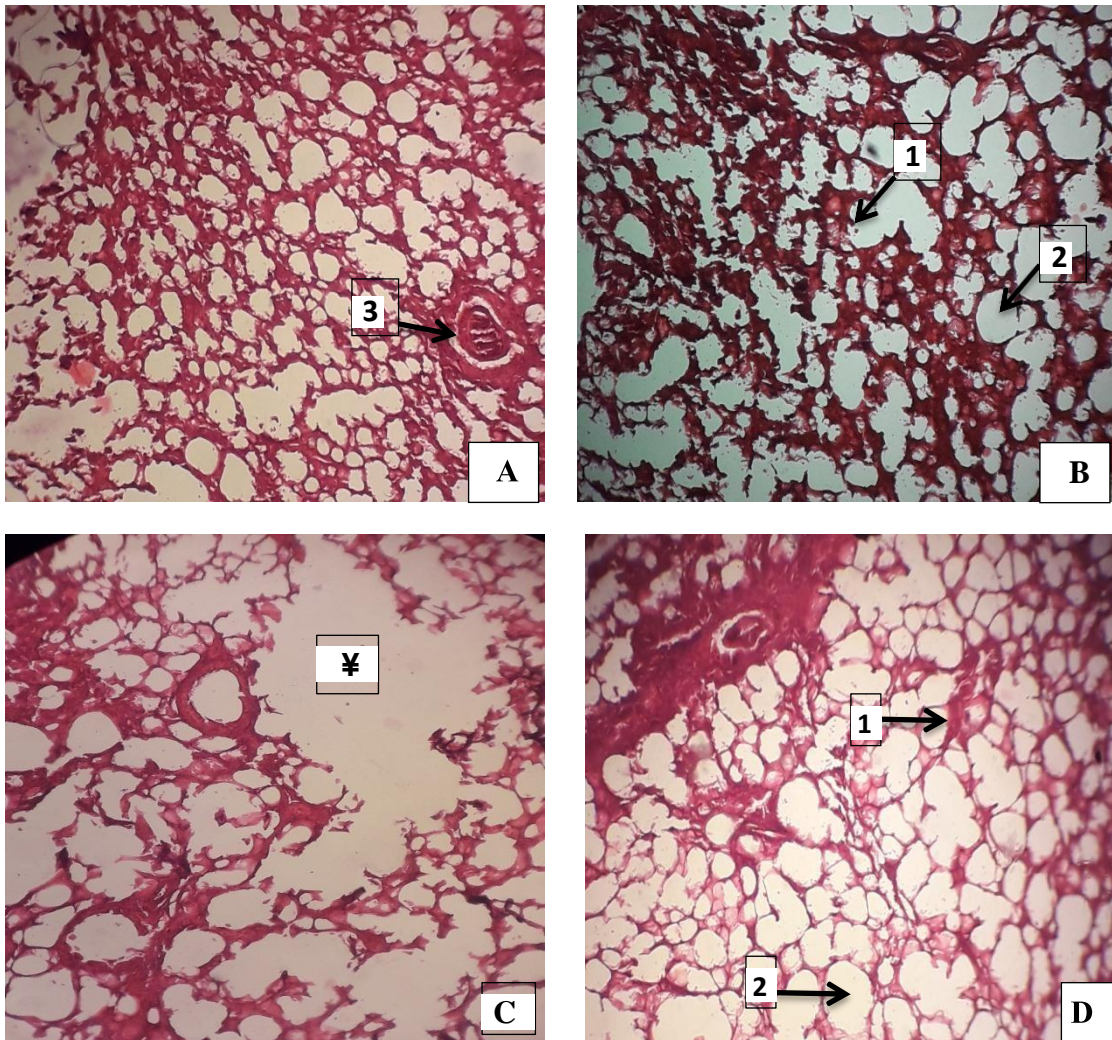
Figures 34: Coupes histologiques du tissu hépatique des rats **(A)**: rat témoin (Gr **x10**) montrant la structure histologique normale, **(B)**: rat traité par le métribuzine (Gr **x40**) certains hépatocytes sont lésés **(C)**: rat métribuzine (Gr **x10**) montrant une altération

Résultats et discussion

Cellulaire importante et foyers inflammatoires (**D**): rat traité par le métribuzine avec gavaged'extract hydro-alcoolique (Gr x10) montrant l'absence de foyer inflammatoires.

¥: foyers inflammatoires

❖ Coupes histologiques des poumons



Figures 35: Coupes histologiques des pulmonaire des rats (**A**): rat témoin (Gr x10) montrant la structure histologique normale, (**B**) (**D**): rat traité par le métribuzine avec gavage d'extract hydro-alcoolique et aqueu (Gr x10) montrant la structure histologique d'alvéole pulmonaire normale et leur paroi est normale, (**C**):rat traité par le métribuzine (Gr x10) présente une rupture au niveau de paroi (épithélium) de alvéole pulmonaire.

1: paroi d'alvéole **2:** alvéole pulmonaire (air) **3:** bronchiole **¥** alvéole pulmonaire sont lésés.

Résultats et discussion

II.1.7. Résultats sur un chromatographe liquide haute performance (HPLC)

L'extrait aqueux éthanolique de fèves *Daucus carota* L par certaines techniques HPLC révèle la présence de certains composés chimiques phénoliques et de flavonoïdes. Les résultats sont représentés dans le tableau suivant:

colonne1	Area	Chlorogenic Acid (µg/ml)	C1 Extract (mg/ml)	C2 (µg/g) Extrait
HL - aque	156877	7,241033926	5	1448,206785
colonne1	Area	Naringin (µg/ml)	C1 Extract (mg/ml)	C2 (µg/g) Extrait
HL - aque	75912	3,917229991	5	783,4459982

Tableau 13: Résultats des chromatographe liquide haute performance (HPLC) de le L'extrait aqueux éthanolique de fèves *Daucus carota* L

II.2. Discussion

Les recherches actuelles sur les pesticides, leurs effets et leurs modes d'utilisation est un enjeu majeur de Santé Publique. Le recours aux pesticides en Algérie pour usage agricole est devenu indispensable pour atteindre des niveaux de production maximaux et satisfaire une demande de plus en plus accrue des consommateurs en produits alimentaires. Malheureusement, les produits phytosanitaires utilisés en Algérie sont très mal connus. De plus, les niveaux d'exposition de la population générale sont difficiles à mesurer et l'impact sanitaire à long terme est mal connu. L'exposition chronique des populations, même à faible dose, serait la cause de l'augmentation de certains cancers, de troubles de la reproduction, de troubles du système nerveux, du comportement, et d'effets endocriniens. La gestion des risques liés aux pesticides passe en premier lieu par l'amélioration des connaissances des effets métaboliques de ces substances. Afin de contribuer à ce sujet d'actualité, nous avons utilisé modèle expérimentaux, culture de Cellules in vitro et rat wistar in vivo, pour approfondir les recherches sur les effets de un pesticide largement utilisés en Algérie, la Métribuzine, à faibles doses, pendant 27 jours des traitements.

Parmi la flore Algérienne, nous sommes intéressés à une espèce plus consommée, connu pour sa richesse floristique diversifiée. Il s'agit de *Daucus carota* L. plante médicinale appartenant à la famille des Apiacées, utilisée en phytothérapie pour ses propriétés sédatives, antioxydants (**Singh et al., 2010**), anti cancéreuse (**De Groot, 1998**) et la protection contre les maladies cardiovasculaires ect. (**Lecerf, 1999**). L'utilisation des plantes médicinales est aujourd'hui la forme de médecine de plus en plus utilisée à travers le monde. Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche des nouvelles substances à activités biologiques constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques (**Djedioui, 2010**).

Notre étude a porté dans un premier temps à l'identification des groupes phytochimiques, qui caractérisent les différents extraits aqueux, hydro-alcoolique des graines *Daucus carota* L. avec le dosage des composés phénoliques tel que le polyphénols et les flavonoïdes et la recherche d'activité biologique que peuvent avoir cet extrait in vitro à savoir les capacités antioxydants et antibactériennes.

Le rendement d'extraction des différents extraits: aqueux et hydro-alcoolique des graines *Daucus carota* L. donne un résultat de 13.22 % ; 11.99 % respectivement. Ces résultats sont on accorde avec une étude menée par **Almaïmoune Maïga, 2014**, pour les rendements des différents extraits des tubercules de *Daucus carota* (aqueux par macération, décoction et l'infusion), alors que pour l'extrait éthanolique, l'extrait éthérique et l'extrait chloroformique, possèdent des rendements très élève que notre étude.

Résultats et discussion

Ces rendements peuvent être considérés comme élève comparativement à celui obtenu à partir des fruits de *Daucus glaber* Forssk (**Mansour et al., 2004**) qui est de 4% et de celui obtenu par (**Ksouri et al., 2015**) à partir des graines et des feuilles de *Daucus carota* ssp. *carota* qui est entre (3% et 2.1%) respectivement. De même, (**Saad et al., 1995**) ont aussi trouvé un rendement de 2.63% à partir des fruits de *Daucus carota* ssp. *maximus*.

Ces différences sont dues à plusieurs facteurs : l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité), l'espèce végétal elle-même, l'organe végétal étudié, le stade de la croissance, la période de cueillette, la conservation du matériel végétal, le méthode de séchage de partie utilisée de plant pour l'étude et la méthode d'extraction (**Granger et al., 1973; Rosua et Granados, 1987; Fournier et al., 1989; Haeckel et Omar, 1993; khajeh et al., 2005; Viljoen et al., 2006; Sefidkon et al., 2007**).

Les rendements varient d'une méthode d'extraction à une autre et d'une partie de la plante à une autre. Cette différence est expliquée par la diffusion du solvant dans la poudre des plantes dans l'étape de macération et probablement à la nature et la polarité des solvants utilisés pour l'extraction (**Naczk et Shahidi, 2004 ; Barroso et al., 2014**). En général, les rendements les plus élevés sont obtenus avec les solvants polaires tels que l'eau, le méthanol, l'éthanol (**Markom et al., 2007; Iloki-Assanga et al., 2015**).

Les résultats de l'analyse phytochimique sur les différents extraits : aqueux et hydro-alcoolique effectuée sur les graines *Daucus carota* L. ont montré la présence de plusieurs composés bioactifs : alcaloïdes, polyphénols, flavonoïdes, stérols, polyterpènes et les tanins dans les deux extraits, alors que les saponines sont absentes avec une différence entre les extraits en quantité de présence de ces composants. Ces résultats sont en accord avec la littérature (**Almaïmoune Maiga, 2014**). Les composés polyphénoliques sont bien connus comme des agents antioxydants (**Lebham, 2005**). La présence de ces composés est responsable de plusieurs activités biologiques, tels que des flavonoïdes qui ont une activité anti-inflammatoires, anti-cancéreuses (**Halliwell et al., 2005**), et inhiber la croissance tumorale (antitumorales) (**Ferradji, 2010**). Les alcaloïdes port une effets pharmacologiques pour leurs effets analgésique et tranquillisants (**Hopkins, 2003**), avec une rôle détoxifiant et un antihypertenseur (**Awoyinka et al., 2007**). Les tanins sont responsables des propriétés hémostatiques (Asquith et Butler, 1986), avec un pouvoir, antiviral, anti-inflammatoire et une activité antimutagène (**Laamari et Mostefaoui, 2017**).

Selon **Bidie et al., (2011)**, les composés phénoliques sont largement distribués dans les tissus des plantes parmi lesquels se retrouvent de nombreuses molécules antiradicalaires et antioxydants qui, en général, peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres. Les composés phénoliques sont les éléments les plus abondants identifiés dans les parties aériennes de *Daucus carota* L. La présence de ces composés, tels que des phénols et des flavonoïdes dans l'extrait hydro-alcoolique de *Daucus*

Résultats et discussion

carota L. donner un pouvoir antioxydant à cette plante. Le résultat de dosage de polyphénols montrent que de l'extrait : des graines *Daucus carota* L. est très riche en polyphénols $39,183 \pm 1,04 \mu\text{g EAG/g}$ d'extrait sec. Ces résultats sont plus élevées par rapport à celles trouvés par (Noui, 2018), concernant d'autres espèces de mêmes famille Apiaceae et de même genre sur des extraits butanolique, Acetate d'ethyl, méthanolique et chloroformique de plant *Daucus muricatus* (164.42 ± 10.20 , 169.66 ± 11.50 , 119.16 ± 2.37 et $16.52 \pm 1.01 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait respectivement).

Ces résultats peuvent être considérés comme très élève comparativement à celui obtenu à partir des partie aériennes (tige, feuilles) de *Daucus crinitus* (Ayachi, 2014) (extrait méthanolique et extrait aqueux de valeur de 130.19 ± 5 et $89.80 \pm 3 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait sec respectivement).

Cette variabilité est due à plusieurs facteurs : le choix du système de solvant d'extraction est très important dans la détermination des teneurs en polyphénols totaux (Tirichine, 2010). La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. (Gmez-Caravaca et al., 2006; Vuorela, 2005). Le solvant d'extraction élu des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (Djeridane et al., 2007). Le dosage par ce réactif donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (Tawaha et al., 2007).

Les résultats quantitatifs des flavonoïdes, révèlent que sa teneur est plus importante dans notre extrait hydro-alcoolique $44,121 \pm 1,56 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait sec respectivement. Ces résultats sont plus élevées avec une étude rapportés par (Ayachi, 2014) de d'autres espèce de même genre des extraits méthanolique et aqueux de partie aérienne (tige, feuilles) de *Daucus crinitus* de valeur 86.72 ± 4 et $49.77 \pm 2 \mu\text{g/mg ES}$.

Ces résultats peuvent être considérés comme très élève comparativement à celui obtenu (Noui, 2018), de extrait butanolique, extrait Acetate d'ethyl, extrait méthanolique et de extrait chloroformique de plant *Daucus muricatus* 158.09 ± 9.76 , 89.34 ± 6.18 65.87 ± 0.83 , $04.87 \pm 2.16 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait respectivement. Cette différence dépend d'un certain nombre de facteurs: les conditions de séchage (Couto et al., 2012), l'organe de plant analysé (Tirichine, 2010), d'extraction en terme de méthode, temps et température d'extraction, granulométrie, solvant qui sont utilisés, nombre d'étapes d'extraction, l'expression des résultats, l'état et la provenance géographique (Luthria, 2008 ; Kahouli, 2010 ; Rodriguez et al., 2012).

Résultats et discussion

Dans le but d'évaluer l'activité antioxydants d'extrait hydro-alcoolique des graines *Daucus carota* L., nous avons utilisé un mécanisme antioxydants le piéger le radical DPPH par méthode UV-Vis.

Les graines de *Daucus carota* L. présente une capacité antioxydants évaluée par test DPPH très important pour nous extrait des IC_{50} $68,033 \pm 5,87 \mu\text{g EAA/ mg d'extrait sec}$ en comparaison avec du antioxydant standard (acide ascorbique) des IC_{50} $78,301 \pm 4,30\mu\text{g EAA/mg ES}$.

Ces résultats peuvent être considérés comme élève comparativement à celui obtenu à partir des parties aériennes (tige, feuilles) et les racines de d'autre espèce *Daucus crinitus* (**Ayachi, 2014**), qui est de extrait méthanolique et aqueux des IC_{50} de partie aérienne 0.492 et 0.710 mg EAA/ml extrait respectivement et des racines 0.068 et 0.644 mg EAA/ml d'extrait.

Les solvants de haute polarité utilisés sont des piègeurs de radicaux plus efficaces que ceux ayant une faible polarité, ce qui indique que des antioxydants ou composés actifs de polarité différente pourraient être présents dans l'extrait (**Turkmen et al., 2006**).

L'activité antioxydant des extraits des plantes aromatiques est en relation directe avec leur composition chimique. Pour cette raison, la présence d'une haute teneur en composés phénoliques dans les extraits donne une forte capacité antioxydante (**Sagdic et al., 2011; Yavaşer et al., 2015**). Selon notre littérature, il n'y a pas des études qui expliquent la capacité antioxydante totale des utilisant cette méthode, et en même temps il est difficile d'attribuer l'activité à un seul composé puisque un effet de synergie entre les différents composés que ce soit minoritaires ou majoritaires peut avoir lieu.

Concernant l'activité antibactérienne les résultats montrent quelles différents extraits des graines *Daucus carota* L. il y a un effet inhibiteur sur la croissance des souches bactériennes testées (*Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*).

Ces résultats sont en accord avec (**Ayachi, 2014**), l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du extrait des parties aériennes (tige, feuilles) *Daucus crinitus* présent un effet inhibiteur sur la croissance des souches microbiériennes la levure *Candida albicans* et la bactérie *Staphylococcus aureus* et montré inhibition pour les bactéries *Escherichia coli* et *Bacillus cereus*. Et pour le *Daucus carota* ssp. *Hispania*. Forte activité antimicrobienne contre la levure *Candida albicans*. Et la bactérie *Bacillus Subtilis*. Les autres souches bactériennes (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*) et montré inhibition la croissance des souches bactériennes. Ces résultats peuvent être expliqués par présence des principes actifs doués d'une activité antibactérienne. La membrane externe de l'enveloppe cellulaire des bactéries à GRAM négatif constituer une barrière efficace à haut niveau de résistance (**Kebili, 2016**).

Résultats et discussion

L'objectif de notre étude c'est l'activité pharmacologique de *Daucus carota* L. sur la toxicité induite par le Métribuzine chez le rats wistar.

Les études protectives faites sur des rats wistar, un lot témoin sain, lot témoin malade avec deux lots qui ont reçu du métribuzine par voie orale à une dose de 85 mg/kg pendant 4 semaines avec gavage des Différent extraits hydro-alcoolique, aqueux 300 mg/kg, 400mg/kg d'extrait respectivement. A montré une augmentation du poids corporel des rats utilisé dans l'expérience, cette augmentation pondérale est due à la croissance normale des rats.

Pour le poids relatif des organes nous avons remarqué une diminution significative ($p < 0.05$) du poids relatifs de reins, poumons et testicule des rats de lot traité par métribuzine par rapport l'autre lot (met; ha AQ) ce retour de toxicité induite par le Métribuzine. D'autre part montrent une augmentation significative ($p < 0.05$) du poids relatifs de foies marqué par l'augmentation de la concentration hépatique en TG et AG libres qui est due à leurs mobilisations des tissus adipeux vers le foie et à la diminution de leurs dégradations (**Mihaela et al., 2006**).

Concernant les paramètres hématologiques les résultats obtenus les globules rouges ont également été appelés les érythrocytes, possède le rôle de transporter l'oxygène des surfaces respiratoires vers les tissus (**GILLES., et ANCTIL., 2006**). Notre étude présente une absence d'une variation des globules rouges chez les groupes traités (MET) et le lot traités (HA), (AQ) par rapport au groupe témoins. L'érythropoïèse ou leurs productions est fait dans la moelle osseuse, L'érythropoïèse est principalement régulée par une hormone appelée érythropoïétine (ou EPO) qui est élaborée majoritairement par les reins (90%) et en moindre quantité par le foie (10%) (**MANUELLE., 2008**). On a aussi d'après les résultats d'urée et de créatinine présentée dans cette étude indiquent le bon fonctionnement des cellules rénales qui permet de produire l'EPO de façon régulière et systématique ce qui explique l'origine probable de l'absence d'une variation de GR, et que la métribuzine et l'extrait (HA) et (AQ) du *D.carota* n'exprime aucun effet sur la ligne érythrocytaire.

Aussi nos résultats obtenus montrent qu'il y a une augmentation de chacune de nombre des globules blancs, des lymphocytes et des plaquettes chez les groupes (MET) par rapport au groupe témoin. Notre résultats est en accord avec l'étude de **Medjdoub A., et al., 2011** qui est montré que la métribuzine conduit à l'activation et la stimulation de la prolifération des lymphocytes et la production de cytokines dans les cellules spléniques humaines et de rat (**MEDJDOUB et al., 2011**). Les pesticides sont des xénobiotiques considérés comme des substances chimiques étrangère pour l'organisme, le système immunitaire est un cible des xénobiotiques (**REVILLARD ., 2001**). Lorsqu'un corps étranger franchit les barrières naturelles de l'organisme. L'organisme fabrique des cellules spécialisées dans la défense immunitaire, les leucocytes ou globule blanc (**RAGOT., 2011**), ils contribuent à l'inflammation, indispensable, au succès de la réponse immunitaire, et sécrètent des

Résultats et discussion

protéines de signalisation qui activent et recrutent d'autres cellules pour contrer l'envahisseur (JANEWAY et al., 2009). Les plaquettes sont considérées comme des cellules inflammatoires, le potentiel inflammatoire des plaquettes se manifeste dans de nombreuses situations cliniques, l'augmentation de l'activité et de nombre des plaquettes est résulté de façon transitoire en réponse à la lésion tissulaire (ANONYME., 1998) probablement induit par la métribuzine. Parce que les neutrophiles phagocytaires, les cellules effectrices de la réponse inflammatoire aiguë, libèrent de grandes quantités de superoxyde extracellulaire et le superoxyde dismutase; une enzyme qui nettoie superoxyde, possède anti-activité inflammatoire, anion superoxyde et d'autres métabolites de l'oxygène pourrait être d'importants médiateurs du processus inflammatoire (SUDHIR et al., 2007). Et nous expliquons la Diminution de globules blancs En effet, l'effet de la métribuzine (en tant que corps étranger...) est inhibé par l'extrait (HA) et (AQ) du *Daucus carota* et Diminution la du nombre de lymphocytes dans les groupes (AQ) et (HA). Par rapport au lot contaminé par la métribuzine. En raison du bêta-carotène, la lutéine et le polyacétyle dérivés des carottes sont des composés bioactifs résultant de l'utilisation de l'extrait de carotte (HA) et du traitement (AQ) des lignées cellulaires lymphocytes. la diminution significative ($P < 0.01$) au nombre de plaquette chez le groupe (AQ) et (HA). Par rapport au lot contaminé par métribuzine. Cela est dû au fait que les extrait de carotte (HA) et (AQ) contiennent Les polyacétyles ont révélé des caractéristiques anti-agrégats plaquettaires. (Purup et al.) ont suggéré que le groupe hydroxyle (-OH) en C3 pourrait expliquer ces activités et aussi Les cellules souches lymphoïdes donnent naissance aux lymphocytes. Certains des facteurs de croissance hématopoïétiques qui stimulent l'hématopoïèse comprennent la thrombopoïétine qui augmente le nombre de précurseurs plaquettaires et ceci est basé sur l'étude de (Baranska M., et al., 2013)

D'autre part, on a signalé absence d'une variation des de la concentration d'hémoglobine sous l'effet de la métribuzine et les lots traités (HA), (AQ) par rapport au lot témoin. L'hémoglobine est une protéine ayant la propriété de fixer, transporter et délivrer l'oxygène. On a aussi d'après les résultats de globules rouges présentée dans cette étude indiquent le bon fonctionnement de moelle osseuse et l'absence d'anémie (Kubab et al., 2015). Ces résultats sont en désaccord avec l'étude de VELISEK J., et al., 2008, qui a été exposé le Sencor (70% de substance active de métribuzine), il montre qu'il y a une augmentation importante de l'hémoglobine érythrocytaire par rapport au groupe de contrôle (VELISEK et al., 2008)

Les résultats de notre étude présentent ainsi une augmentation de la glycémie chez les groupes traités par la métribuzine. Plusieurs études qui ont montré, quand un organisme est exposé à des substances toxiques, réactions émotionnelles dans le système limbique actif l'hypothalamus pour produire la corticolibérine (CRH). Ce dernier stimule l'hypophyse pour libérer l'ACTH (hormone adrénocorticotrope) qui est un activateur de glandes surrénales pour la production et la sécrétion de cortisol dans le sang

Résultats et discussion

(POURRAMZANZIDESARAEI et al., 2013). Le cortisol a de nombreuses actions dont certaines conduisent à l'élévation de la glycémie (JACOTOT., et CAMPILLO., 2003). Ce qui expliquer le plus probable les résultats de glycémie. et la diminution très hautement significatives ($p < 0.001$) de la glycémie chez le lot des rattes (HA) et (AQ) par rapport aux rattes traités par la métribuzine et La raison en est que carotte contient a la vitamine A et Vitamine B6, les études montré que la vitamine A et B6 peut réguler les voies métaboliques impliquées dans la diminution de taux de glycémie. Certains essais ont observé que la vitamine A sérique ou l'apport de caroténoïdes provitaminiques A, comme le β -carotène présent dans les carottes, protège contre l'insulinorésistance et le syndrome métabolique Notre résultats est en accord avec l'étude de **Mathilde L., 2019**.

Nos résultats montrent que les rats recevant la Métribuzine présentent une augmentation des teneurs sériques en créatinine et en urée comparés à leurs témoins respectifs. Ces résultats sont identiques à ceux obtenus par de nombreux auteurs (**Yousef et al., 2006; Domingues et al., 2011; Saafi-B et al., 2012**). Les perturbations des taux sériques en créatinine et en l'urée sont en relation avec un dysfonctionnement et une insuffisance rénale chronique qui peuvent se traduire par une néphrotoxicité (**Saafi-B, et Siddharth, 2012**). La néphrotoxicité liée aux pesticides peut se manifester par une insuffisance rénale chronique. Cependant, la toxicité rénale aux pesticides testés dans notre étude n'a pas été documentée précédemment. La créatinine et l'urée constituent d'excellents marqueurs de la fonction rénale, leur augmentation ou leur diminution reflète un dysfonctionnement rénal. La créatinine est le meilleur marqueur de la fonction rénale. Elle est formée dans l'organisme par déshydratation non enzymatique de la créatine synthétisée par le foie et stockée dans le muscle. Un taux sérique élevé en créatinine (associé à un taux élevé en urée) traduit une diminution de la filtration glomérulaire. L'urée, un autre marqueur reflétant la fonction rénale, provient de la destruction des protéines. Elle est entièrement filtrée par les glomérules. Son taux sanguin reflète le fonctionnement global des reins. Dans notre étude, la Métribuzine provoqué chez les rats une augmentation des taux sériques en créatinine et en urée comparés à leurs témoins respectifs. Nos résultats sont en accord avec plusieurs études. Domingues *et al.* (2011) ont testé par voie orale l'effet du diuron [3 - (3,4-dichlorophényl) -1,1-diméthylurée], un herbicide sur des rats mâles Wistar, ce qui a entraîné une hypercréatinémie et une augmentation du taux sériques en urée. Les mêmes résultats sont obtenus par **Saafi B et al., (2012), Yousef et al. (2006) et Cetin et al. (2010)**. Il ressort que la Métribuzine provoque chez les rats une toxicité de la fonction rénale. L'extrait de graine D. carota.L. Provoque une diminution de l'urémie et créatinémie chez le lot (HA) et (AQ) et stimule l'écoulement de l'urine et l'élimination des déchets par les reins : diurétique (Informations végétales tirées de Plants For A Future), ce qui protège ainsi les reins de la toxicité de Métribuzine.

Cependant, les Métribuzine, entraînent une hypercholestérolémie, une hypertriglycéridémie, et une hyperglycémie par rapport à leurs témoins. Ces résultats sont

Résultats et discussion

en accords avec les résultats de **Yousef et al. (2006)** concernant l'hypercholestérolémie, l'hypertriglycéridémie et l'hyperglycémie en utilisant un autre pesticide le deltaméthrine par voie orale sur des rats adultes. **Cetin et al. (2010)** ont aussi montré que le propetamphos induit une augmentation des TG et de la glycémie. Ces résultats sont en faveur d'une modification du métabolisme des glucides et des lipides par les pesticides. Les perturbations biochimiques induites par les pesticides concernent aussi les teneurs en cholestérol et en triglycérides dans les fractions lipoprotéiques. Les rats traités par Métribuzine induit une augmentation très hautement significative des teneurs en cholestérol comparés à leurs témoins respectifs. Ce résultat est en accord avec ceux de **Kalender (2005)** qui a testé l'effet du Diazinon (insecticides organophosphoré) par voie orale chez des rats mâles Wistar. Ce pesticide a provoqué une augmentation des teneurs en cholestérol. Les mêmes résultats sont obtenus par **Kozłowska et al. (1988)** sur des rats intoxiqués par le dichlorvos (DDVP). Le Métribuzine chez les rats entraînent une augmentation très hautement significative des teneurs en triglycérides comparés à leurs témoins respectifs. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Kozłowska (1988)**. le cholestérol et triglycérides diminue de façon hautement significative ($p < 0.01$) pour le lot des rats (HA) et (AQ) en comparant au lot des rats traités par la métribuzine Cela est dû au fait que les extrait de carotte (HA) et (AQ) contiennent La vitamine C (acide l'ascorbique) joue un rôle important la synthèse de la carnitine et des catécholamines, et est également impliquée dans le métabolisme du cholestérol en acides biliaires et contiennent aussi des composés phénoliques,; diminuer les taux de cholestérol et de lipides dans le sang . Ces composés diminuer le cholestérol et les triglycérides du foie et dans le sang, et ceci est basé sur le étude de **Duarte T et al., 2005**, et sur la base de ces information nous extraits possèdent une action hypolipidémique puisque le profil lipidique (lipides totaux, triglycérides et cholestérol) des rattes traités (HA) et (AQ) diminué en comparaison avec celui des rattes (met) non traités. Ces résultats ont été confirmés dans plusieurs études qui traitent l'action hypolipidémique de l' *Daucus carota* (**El Hilaly et Lyoussi;2002**).

Par ailleurs, nos résultats montrent aussi qu'il y a une augmentation de l'activité des transaminases (TGO, TGP) chez les lots traités (met) par rapport au lot témoin. Ces résultats sont en accord avec l'étude de **MERZOUK et al., 2013**, qui a été montré une augmentation de l'activité des transaminases plasmatiques (TGO et TGP) chez des rats exposées à la métribuzine. Ce qui explique l'accumulation des acides aminés comme l'alanine et le glutamate dans le sérum provenant de la dégradation des composés protéiques du corps. De ce fait, ces acides aminés peuvent se transformer sous l'action des transaminases sériques en composés carboxyliques tel que l' α céto glutarate et le pyruvate. Ce qui implique alors une forte activité enzymatique de TGO et TGP. Ceci peut être expliqué aussi par l'effet hépatotoxique chez l'extrait de *Daucus carota* (ha) et (AQ) (**Drotman et Lawhorn, 1978 ; Daisy et al., 2008**).

Résultats et discussion

Au cours de notre étude nous avons enregistré une augmentation des marqueurs de la peroxydation lipidique MDA dans les différents organes foie, rein, testicule et poumons chez les rats (met). L'augmentation de la concentration du MDA suggère une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (**Kakkar et al., 1998**), ainsi l'augmentation du taux de MDA est le résultat de l'augmentation des ERO qui attaquent les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire et provoque la peroxydation lipidique (**Battacharya et al., 1997**).

Le glutathion réduit (GSH) joue un rôle multifactoriel dans le mécanisme de défense antioxydant (**Sathishsekar MSc & Subramanian, 2005**). C'est un piègeur direct des radicaux libres, un cosubstrat nécessaire pour l'activité GPx (**Ravi et al., 2004**) et participe dans la régénération de la vitamine E oxydée (**Dominguez et al., 1998**). Dans le même sens, les résultats de notre travail montrent l'existence d'un stress oxydant intracellulaire qui se manifeste par une diminution une chute significative des teneurs en glutathion réduit (GSH) dans les organes exposées au Métribuzine.

Cette diminution des marqueurs du stress oxydatif suite au traitement par le Métribuzine est similaire à celle obtenue chez les rats traités par ce fongicide Mancozèbe (**Calviello et al., 2006; Sakr et al., 2007**). Plusieurs études ont suggéré que l'exposition des cellules aux espèces oxygénées (EOR) peut être la cause des dommages au niveau de l'ADN (**Bolognesi et al., 2003; Calviello et al., 2006**). La formation des micronoyaux (marqueurs des dommages cytogénétiques) au niveau des cellules exposées aux pesticides est prouvée par plusieurs chercheurs (**Bolognesi et al., 2003; Carfi et al., 2007**).

Ces résultats suggèrent que deux l'extrait (ha, AQ) peuvent soit augmenter la biosynthèse du glutathion soit réduire le stress oxydatif conduisant à une baisse de sa dégradation ou bien en influençant les deux mécanismes en même temps (**Sathishsekar MSc & Subramanian, 2005**). D'autre part, les composés polyphénoliques sont connus par leurs capacités de recycler la vitamine E et de piéger les radicaux libres cela peut donc participer directement dans la réduction de l'utilisation du GSH (**Babu et al., 2006**).

La deuxième partie de ce travail l'étude des coupes histologiques des organes (foie, testicules et poumons) Où la coupes histologiques du tissu hépatique des rats montrent qu'il y a une trace de la métribuzine dans les foies des rats traités, et montre que les cellules hépatiques sont des cibles de la métribuzine qui est l'agent pathogène responsable de la toxicité et de la lyse hépatique confirmée par l'élévation des transaminases sériques. Nos résultats est en accord avec l'étude de **Baychem (1972)**, qui montre que le foie est l'importante organe cibler par la métribuzine (**Morgan., 2001**).

L'étude des coupes histologiques de la pulmonaire des rats présente une rupture au niveau de paroi (épithélium) et d'alvéole pulmonaire de rat traité par le métribuzine, par contre les autres lots l'étude histologique présente la structure histologique normale de la

Résultats et discussion

paroi d'alvéole pulmonaire, et Le parenchyme pulmonaire normal, C'est pour effet de l'extrait de graine du *Daucus carota* L.

Les résultats de l'analyse histologiques réalisée sur les testicules indiquent un dysfonctionnement des tubes séminifères, et arrêt de la spermatogénèse de rat traité par le métribuzine, Cependant rat traité par le métribuzine avec gavage d'extrait aqueux et hydro-alcoolique pendant 27 jours montrant un fonctionnement normal maturité séminifères tubules et présence une série spermatogénèse. C'est pour effet de l'extrait de graine du *Daucus carota* L.

La technique de la chromatographie liquide (HPLC) révéler la présence des certains composés chimiques phénoliques et flavonoïdes notamment que: Acide chlorogénique, un cinnamate ester dérivée de l'acide caféique et l'acide quinique, joue un rôle d'un métabolite, alimentation et un composé chimique majeure dans la café qui réduit la risque de diabète de type 2. Et le deuxième composant Naringine: un disaccharide dérivée de (S)-naringénine et un membre de la famille des flavonoïdes, ayant plusieurs rôles comme un métabolite, agent antinéoplasique (anticancéreuse), anti-inflammatoire, antioxydant, cause un augmentation de poids corporelle et un diminution de la pression systolique sanguine. Naringine aussi est connu pour leur effet d'inhibition des certains enzyme du système p450 qui mène à une potentielle interaction médicamenteuse indésirable.



Conclusion

Conclusion

Cette étude est réalisée dans le cadre d'obtention d'un diplôme de fin d'étude de Master en Biochimie appliqué, Elle vise étudier l'activité pharmacologiques du *Daucus carota L* sur la toxicité causée par le Métribuzine chez le rats wistar.

Aujourd'hui, les pesticides sont soupçonnés de présenter un risque majeur pour la santé de l'homme et pour son environnement. Ils sont en effet fréquemment mis en cause dans la dégradation de la biodiversité. La métribuzine est un herbicide de la famille des triazines, employé en prélevée et en post levée pour lutter contre les mauvaises herbes qui parasitent diverses cultures agricoles. C'est l'herbicide le plus utilisé dans la culture de pomme de terre dans la région d'El-Oued.

La *Daucus carota L* est une plante bisannuelle de la famille des Apiaceae anciennement appelée famille des Ombellifères, L'objectif était d'apporter des éléments pour la validation de certaines propriétés de la plante étudiée.

Notre travail nous a permis de réaliser une étude phytochimique de l'extraits la partie aérienne (les graines) de la plante *Daucus carota L*. L'extrait a été préparé par macération de la partie arienne dans les deux solvants aqueux, hydro-alcoolique Cette étude a été l'occasion de mettre en œuvre les différentes facettes de l'analyse développée au cours de cette thèse telles que l'extraction, le dosage ainsi que les tests d'activité antioxydants et antibactérienne.

La détermination de rendement en extraits bruts a montré une rentabilité importante de 13.22% pour l'extrait aqueux, 11.99% pour l'extrait Hydro-alcoolique, Les principaux résultats de l'analyse phytochimique de la plante *Daucus carota L*. pour le l'extrait Hydro-alcoolique montrent une composition riche et variée ; la présence des polyphénols, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, les stérols et les polyterpènes due à leur rôle important dans la plante, Aussi on remarque l'absence des saponosides.

Les analyses spectrophotométriques effectuées ont montré que les différents extraits contiennent des polyphéols pour l'extrait $39,183 \pm 1,04 \mu\text{g EAG/mg ES}$, et des flavonoïdes $44,121 \pm 1,56 \mu\text{g EQ/mg ES}$ pour même l'extrait étudiée.

L'UV-Vis montre une activité antioxydants puissante par le Test du piégeage du radical libre DPPH, donne une Valeur IC50 de $68,033 \pm 5,87(\mu\text{g/ml de Ext})$ qui est un valeur très importants par rapport l'acide ascorbique $78,301 \pm 4,30\mu\text{g/ml}$.

L'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne montrent quelles différents extraits des graines *Daucus carota L*. il y a un effet inhibiteur sur la croissance des souches bactériennes testées (*Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*).

Conclusion

Les traitements des 27 jours, les rats de 4 lots de cinq rats, Le 1^{er} groupe de témoin ne traitée pas, Le groupe 2^{eme}, 3^{eme}, 4^{eme} recevant de l'eau potable contaminée par 85 mg/kg de métribuzine, avec gavage des Différent extraits hydro-alcoolique, aqueux 300 mg/kg, 400mg/kg d'extrait respectivement.

En effet, le mode d'action de la métribuzine au niveau physiologique montre que diminution significative du poids relatifs de reins, poumons et testicule, et augmentation significative du poids relatifs de foies marqué, Et concerne la fonction hématologique provoque une augmentation de l'activité des transaminases (TGO, TGP), présentent une augmentation des teneurs sériques en créatinine et en urée et entraînent une hypercholestérolémie, une hypertriglycéridémie, et une hyperglycémie par rapport à leurs témoins

D'autre part le dosage des biomarqueurs du stress oxydant (GSH, MDA) a permis une meilleure caractérisation de l'effet antioxydant que l'extrait de la plante provoque une nette amélioration du statut antioxydant a diminution de la concentration du MDA, accroisse les taux du glutathion réduit (GSH).

L'étude histologique réalisée sur des fragments de foie, de testicules et poumons de a montré des modifications histopathologies chez les groupes traités au métribuzine (d'une inflammation hépatique des altérations histologiques des testicules et de rupture d'alvéole pulmonaire).

Ces résultats laissent une grande idée sur l'effet indésirable de la métribuzine qui permet d'affirmer leur toxicité même aux faibles doses, n'est pas seulement suite à une exposition professionnelle, mais aussi pour la population générale par leur utilisation des produits agricoles traités par ces pesticides, ce qui poser un véritable problème de santé publique, D'autre part l'études pharmacologiques de *Daucus carota L* possède une activité antioxydant et hypolipidémique, antinoceptive et anti-inflammatoire, antioxydants. Renforce l'action du foie Plusieurs composants impliqués dans la protection contre la maladie cardiovasculaires comme la vitamine C, les flavonoïdes et les polyphénols.

Références bibliographique

Aktar Md W., Sengupta D. et Ashim Chowdhury., 2009 : Impact de l'utilisation des pesticides en agriculture : leurs avantages et leurs dangers. *Interdiscip Toxicol* : 2 (1). pp 1-12.

Atmani D., (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chemistry*. 112: 303-309.

Aubertot J N., Barbier J M., Carpentier A., Gril J J., Guichard L., Lucas P., Savary S., Savini I. et Voltz M., 2005 : Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Rapport d'Expertise scientifique collective, INRA et Cemagref .France. 64p

Bagré I., Bahi C., Gnahoué G., (2007). Composition phytochimique et évaluation in vitro de l'activité antifongique des feuilles de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-redh (*Rubiaceae*) sur *Aspergillus fumigatus* et *Candidant albicans*. *J Sci Pharm Biol* 8(1) : 15-23.

Baldi I, Lebailly P, Jean S, Rougetet L, Dulaurent S, Marquet P (2006) Pesticide contamination of workers in vineyards in France. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 16(2): 115-124.

Barouki R. Environnement et santé : les leçons des pesticides. *Médecin & Sciences*. 2013; 29:235-6.

Békro Y. A., Békro J. A. M., Boua B. B., TRA B. F. H. et ehilé E. E., (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et *Zarucchi* (*Caesalpinaceae*). *Rev. Sci. Nat.* Vol. 4 (2) : 217-225.

Bidie A.P., Banga B., Adou F. Yapo1., Jean David N'guessan1 et Allico Joseph Djaman1., (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne *Sciences & Nature* Vol. 8 N°1: 1-11.

Blanc-Lapierre A, Bouvier G, Garrigou A, Canal-Raffin M, Raheison C, Brochard P, Baldi I. Effets chroniques des pesticides sur le système nerveux central: état des connaissances épidémiologiques. *Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique*.2012; 60: 389–400.

Boland J., Koomen I., Van L J. et Oudejans J., 2004 : La pesticide composition, utilisation et risques. Ed : Agrodok.Wageningen. 124p.

Botineau M., (2010) : Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Tec et Doc, Paris, pp: 13-35.

Bourgeois, C.M., Mesclé, J.F., (1996). Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Edition Lavoisier ,pp:

Bouziani M (2007) L'usage immodéré des pesticides et graves conséquences sanitaires. *Santemaghreb le guide de la médecine et la santé*. 8p.

Brand-Williams W., Cuvelier ME., Berset C., (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology*. 28: 25-30.

Burger J, Mol F, Gerowitt B. The necessary extent of pesticide use Thoughts about a key term in German pesticide policy. *Crop Prot*. 2008; 27: 343-351.

Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benott P., CharnayH M-P et Coquet Y., (2005). Les pesticides dans le sol : Conséquences agronomiques et environnementales. Ed. France Agricole, Paris. 637 p

Campoy C, Jimenez M, Olea-Serrano MF, Moreno Frias M, Canabate F, Olea N, Bayés R, Molina-Font JA (2001) Analysis of organochlorine pesticides in human milk: preliminary results. *Early Hum dev*. 65: 183-190

Cao G., Sofic E. et Prior R. L., (1998). Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 44 : 3426-3431

CEC. Commission for Environmental Cooperation of North America (2002) Making the environment Healthier for Our Kids-An overview of environmental challenges to the health of North America's children. Rapport. 10p.

Chen J, Kumar M, Chan W, Berkowitz G, Wetmur JG. Increased influence of genetic variation on PON1 activity in neonates. *Environ Health Perspect*. 2003; 111(11): 1403-1409

Chekroun E., (2015). Contribution à l'étude phytochimique et recherche d'activités antioxydante et antidiabétique de deux cucurbitacées : *Bryonia dioica Jacq* et *Citrullus colocynthis* L. Schrad. Thèse de Doctorat en Biologie, Université Aboubekr Belkaïd, Aboubekr Belkaïd. Tlemcen, p: 26.

Chevallier A., (1996). The Engcyclopedia of medicinal plants; New Yourk. Dk. Pub, P: 336.

Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M. et Kim J.M., (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT- Food Science and Technology*. 39: 756-761.

Chubilleau C, Pubert M, Comte J, Giraud J. Etude écologique du lien entre territoires et mortalité en Poitou-Charentes entre 2003 et 2007. Pesticides et santé; 2011. Rapport n° 136

Coulibaly,H.,(2005). Le SCV (Semis direct sous Couverture Végétale), un élémentstratégique de gestion durable des terres agricoles : une expérience française comme base de réflexion pour le Mali. Mémoire (DEPA. France). Chapitre 2 (p13-20).

Coulibaly A , Assandé JM , Mohui P, Yao H , Djaman AJ & Dosso M. (2011). Activité antimycobactérienne in vitro des extraits de *Phyllanthus amarus* (Schum et Thonn) sur les

souches de *Mycobacterium ulcerans* en Côte d'Ivoire. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 80: 759-771.

CPP (Comité de la prévention et de la précaution) (2002) Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Ministère de l'écologie et du développement durable. Rapport. p 47.

Cravedi JP, Zalko D, Savouret JF, Menuet A, Jégou B. Le concept de perturbation endocrinienne et la santé humaine. *Medecine/Sciences*. 2007; 23: 198-204

Cuendet, M., Hostettmann, K. and Potterat, O. (1997). Iridoidglucosides with free radical scavenging properties from *Fagraeablumei*. *Helvetica Chimica Acta* 80, 1144-Oerke E, Dehne, H (1997) Global crop production and the efficacy of crop production current situation and futures trends. *European Journal of Plant Pathology*. 103: 203- 215.

Damstra T. Potential effects of certain persistent organic pollutants and endocrine disrupting chemicals on the health of children. *J Toxicol Clin Toxicol*.2002; 40(4): 457-465.

De Groot H., (1998). Comment les caroténoïdes protègent du cancer. *Tabula*. 3: 10-11.

Djelloul-Daouadji S., (2010). Détection de Biofilm a Staphylocoques sur Cathéters Veineux. Thèse de Magister en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen. Algérie. P: 77.

Doré C. et Varoquaux F., (2006) : Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. Éditions Quae, pp: 185.

Dworkin MM., Falkow S., (2006). *Proteobacteria : Gamma subclass*. Ed. Springer, New York, pp: 1248.

EL Bakouri H (2006) Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des substances organiques naturelles. These de doctorat. Université Abdelmalel Essaadi, faculté des sciences et techniques. Tanger. 203 p

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C., (2008) . Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities, *C. R.Biologies*.(331): 372-379.

Fauvelle V. Evaluation de la Contamination en Pesticides des Tributaires du Bassin D'arcachon et Développement d'un Echantillonneur Passif Spécifique des Herbicides Anioniques. [Thèse De Doctorat, Chimie Environnementale]. Bordeaux: Université de Bordeaux 1; 2012.

Fokone A. T., M. Edoun., Kuitche A., Kengne Ch., (2013). Modélisation de la Cinétique de Séchage de la Carotte (*Daucus carota*). Modeling of Drying Kinetics of Fresh Carrot *Daucus carota*.

Forastriere F, Quercia A, Iceli M, Settini L, Terezoni B, Rapiti E, Faustini A, Borgia P, Cavariani F, Perucci CA (1993) Cancer among farmers in Italy, Scan. Work Environ. Health. 19: 382-389.

Freeman LEB, Bonner MR, Blair A (2005) Cancer incidence among male pesticide applicators in the agricultural health study cohort exposed to diazinon. Am J Epidemiol. 162(11): 1070-1079.

Garabrant D, Held J, Langholtz B, Peters JM, Mack TM (1992) DDT and related compounds and risk of pancreatic cancer. J Natl Cancer. 84: 764-771.

Garry VF (2004) Pesticides and children. Toxicol Appl Pharmacol. 198(2): 152-163.

Gatignol MC, Étienne M JC. Pesticides et santé. Assemblée nationale sénat, constitution du 4 octobre 1958 .2010. Rapport n° 2463.

GILLES R., ANCTIL M., 2006- Physiologie animale. Ed. De Boeck Supérieur, Bruxelles. 675p.

Hotchkiss AK, Rider CV, Blystone CR, Wilson V S, Hartig PC, Ankley GT. Fifteen years after 'Wingspread'—Environmental endocrine disruptors and human and wildlife health: Where we are today and where we need to go. Toxicological Sciences. 2008;105: 235-259

INRA – Cemagref : Institut Nationale de la Recherche Agronomique- Centre national du Machinisme Agricole, du Génie Rural, des Eaux et des Forêts (2005) Pesticides, agriculture et environnement : réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Rapports INRA.

Jakubowski M, Trzcinka-Ochocka M (2005) Biological monitoring of exposure: trends and key developments. J Occup Health. 47(1): 22-48

J. F. Coplestone, A global view of pesticide safety In: Pesticide Management and Insecticide Resistance, Eds. D.L. Watson and A.W.A. Brown, Academic Press, New York (1977)

Kaplan, A.U., Kaplan, A et al.(1984).*Clin Chem*. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. 1257-1260 and 437 and 418. cite par fiche technique.

Kebieche M., (2009). Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante, *Ranunculus repens* L.: effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'épirubicine. Thèse de Doctorat en sciences. Université Mentouri .Constantine, p: 88.

Kogevinas M, Kauppinen T, Winkelmann R, Johnson ES, Bertazzi PA, Buneo De mesquite BH (1995) STM and NHL in workers exposed to phenoxy herbicides, chlorophenols and dioxins: two nested case-control studie Epidemiology. 6: 396-402.

Koca N, Burdurlu H. S , Karadeniz F., (2007). Kinetics of colour changes in dehydrated carrots. Journal of Food Engineering 78: 449-455.

Kristensen P, Andersen A, Irgens LM, Bye AS, Sundheim L (1996) Cancer in off spring of parents engaged in aricultural activities in Norway. Int J Cancer.65: 39-50.

Lackmann GM, Schaller KH, Angerer J (2004) Organochlorine compounds in breast-fed vs. bottle-fed infants: preliminary results at six weeks of age. Sci Total Environ. 329: 289-293.

Landrigan P, Garg A, Droller DB. Assessing the effects of endocrine disruptors in the National Children's Study. Environ Health Perspect. 2003; 111(13): 1678-1682.

Lu C, Barr DB, Pearson MA, Waller L A (2008) Dietary intake and it s contribution to longitudinal organophosphorus pesticide exposure in urban/suburban children. Environ Health Perspect. 116(4): 537-542

Lee WJ, Huang MS, Yang IC, Lai TC, Wang JL, Pang VF, Hsiao M, Kuo MY (2008 a) Essential roles of caspases and their upstream regulators in rotenone induced apoptosis. Biochem Biophys Res Commun. 371(1): 33-38. 121. *هدا وال بلي تحيو.*

Lee WJ, Son M, Chun BC , Park ES, Lee HK, Coble J, Dosemeci M (2008b) Cancer mortality and farming in South Korea: an ecologic study. Cancer Causes Control. 19(5): 505-513.

Meddour A., Yahia M., Benkiki N., Ayachi A., (2013). Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis Spinosa* L., Lebanese Science Journal. Vol. (14) : 49-60.

Medjdoub A. Evaluation des effets métaboliques d'un gavage par les pesticides (Mancozèbe, Métribuzine) chez le rat Wistar. [Thèse de Doctorat, Physiologie et Biochimie de la Nutrition].Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaid; 2013.

MEDJDOUB A., MERZOUK S.A., MERZOUK H., CHIALI F.Z., NARCE M., 2011- Effects of Mancozeb and Metribuzin on in vitro proliferative responses and oxidative stress of human and rat spleen lymphocytes stimulated by mitogens. Pesticide Biochemistry and Physiology. Vol. (101): 27-33.

Meng-lan S, Watson MF., (2005). *Daucus* in Flora of China. Science Press (Beijing) and Missouri Botanical Garden Press, 14: 204.

Mills PK (1998) Correlation analysis of pesticide use data and cancer incidence rate in California Counties. *Arch Env Health*.53: 410-413.

Misral I A., 2008: Soil pollution origin, Monitoring and remediation. 2ème Ed : Springer Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 312p.

MOLINIER A., 2008- Pathologie médicale et pratique infirmière: Hématologie, oncologie, neurologie, ORL, stomatologie, chirurgie maxillo-faciale, ophtalmologie, dermatologie, maladies infectieuses. Ed. Wolters Kluwer France, Paris. 601p.

Molyneux P., (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakaraj J. Sci. Technol*, 26: 211-219.

MONACO T. J., **WELLER S. C.**, **ASHTON F. M.**, 2002- Weed Science: Principles and Practices. Ed: 4. John Wiley & Sons, Canada. 688p.

Morison HI, Wilkins K, Semenciw R, Mao Y, Wigle D (1992) Herbicides and cancer. *J Natl Cancer Inst*. 84: 1866-1874.

Murray, R.L.(1984c).Creatinine In: Clinical Chemistry; Theory, Analysis and Correlation, Kaplan, L.A., Pesce A.J. (Ed) *CV Mosby Company St Louis*, 1247-1253.

Nicolle C., Cardinault N., Aprikian O., Busserolles J., Grolier P., Rock E., Demigné C., Mazur A., Scalbert A., Amouroux P. et Rémésy C., (2003). Effect of carrot intake on cholesterol metabolism and on antioxidant status in cholesterol-fed rat. *European Journal of Nutrition*. 42 (5): 254-261.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé (2004) Environmental health criteria. 38: Genève. 81 p.

OPDCSET (Office Parlementaire D'évaluation Des Choix Scientifiques et Technologiques) (2009) Les effets des pesticides sur la santé humaine .Bulletin d'une Audition publique. 18p.

Oyaizu M., (1986). Studies on product of browning reaction from glucose amine, 44: 307-315.

Percival SL., (2004). Microbiology of waterborne diseases. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, pp: 480.

POHANISH R. P., 2012- Sittig's Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens. Volume 1. Ed: 6. Elsevier, USA. 3040p.

Pool-Zobel B.L., Bub A, Müller H, I Wollowski I et Rechkemmer G., (1997). Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. *Carcinogenesis*. 18 (9): 1847-1850.

Popovici C., Saykova I. et Tylkowski B., (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénolique par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. 4: 25-39.

Postle JK, Rheineck BD, Allen PE, Baldock JO, Cook CJ, Zogbaum R, Vandebrook JP. Chloroacetanilide herbicide metabolites in Wisconsin groundwater: 2101 Survey results. *Environmental Science and Technology*. 2004; 38: 5339-5343

Pujadas Salvà A J., (2003). *Daucus L.* in *Flora Iberica, Araliaceae-Umbelliferae*. Real Jardín Botánico de Madrid, 10: 97-125.

Rahal K., (2011). Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle National Selon les recommandations de l'OMS ; Alger, Algérie. P : 116.

Rastogi S, Tripathi D, Ravishanker A. A study of neurologic symptoms on exposure to organophosphate pesticides in the children of agricultural workers. *JOEM*. 2010; 14(2): 54-57.

Reduron J. P., (2007) : *Ombellifères de France - tome 2 (Bulletin de la Société Botanique du Centre-Ouest, 27)*. Société Botanique du Centre-Ouest, pp : 564.

Repetto R, Baliga SS (1996) *Pesticides and the Immune System : The Public Health Risk*. World Ressources Institute, Washington DC. 5p

REVILLARD J.-P., 2001- *Immunologie*. Ed: 4. De Boeck Supérieur, Bruxelles. 600p.

Rodier J., Legube B., Merlet N., (2009). *L'analyse de l'eau*, 9ème édition, Ed. Dunod p: 1579.

Rogan WJ, Ragan NB. Some evidence of effects of environmental chemicals on the endocrine system in children. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2007; 210(5): 659-667.

Rouvalis A, Karadima C, Zioris IV, Sakkas VA, Albanis T, Iliopoulou-Georgudaki J. Determination of pesticides and toxic potency of rainwater samples in western Greece. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2009; 72: 828-833.

Rubatzky V. E., Quiros C. F. et Simon P. W., (1999): *Carrots and related vegetable Umbelliferae*. CABI, Wallingford, pp: 310.

Sáenz Laín C., (1981). Research on *Daucus L.* (Umbelliferae). *Actas III Congreso Óptima. Anales Del Jardín Botánico de Madrid*, 37: 481-534.

Saunders M, Fox D, Salisbury C, Strokes V, Palmer A, Preece A (2004) Placental transfer and foetal uptake of pesticides Toxicology and Applied Pharmacology. 197: 341

Singh K., Dhangade H., Singh N., Kashyap P., Sarkar SR., (2010). Hypolipidemic activity of ethanolic extract of *Daucus carota* seeds in normal rats, International Journal of Biomedical Advance Research (www.ijbar.ss-journals.com).

Singleton V.L., Rossi J.A., (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158.

Talbi H., Boumaza A., El-mostafa K., Talbi J et Hilali A., (2015). Evaluation de l'activité antioxydant et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). Mater. Environ. Sci, 6 (4): 1111-1117.

Thany SH, Reynier P, Lenaers G. Neurotoxicité des pesticides, Quel impact sur les maladies neurodégénératives ?. Médecine & Sciences. 2013; 29: 273-8

Tirilly Y, et Bourgeois C.M., (1999). Technologie des légumes. Éditions Tec & Doc, 558 p: 10.

Trease E; et Evans W.C., (1987). Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13 th Edition. P: 61.

Treki A.S., Merghem R., Dehimat L., (2009). Etude phytochimique et Évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée : *Thymus hirtus*. Sciences & Technologie. Vol. (29) : 25-29.

Tron I., Piquet O. et Cohuet S., 2001 : Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel des connaissances. Ed. Observatoire Régional de Santé de Bretagne. France.90p.

Truffaut G., (1978) : Comment en soin son jardine éd : BORDAS, Paris, pp : 112.

Van Delden C, Iglewski BH., (1998). Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas*

Van Der Gulden JWJ, Vogelzang PFJ (1996) Farmers at risk for prostate cancer. Br. J. Urology. 77: 6-10.

Van Zelm R, Huijbregts MAJ, Posthuma L, Wintersen A, Van de Meent D. Pesticide ecotoxicological effect factors and their uncertainties for freshwater ecosystems. International Journal Life of Cycle Assessment. 2009; 14: 43-51

Viel J F, Richardson ST (1993) Lymphoma, multiple myeloma and leukemia among French farmers in relation to pesticide exposure. Soc Sci Med. 37: 771-777.

Viel JF, Challier B ,Pitard A, Pobel D (1998) Brain cancer mortality among French farmers: the vineyard pesticide hypothesis. Arch Environ Health. 53(1): 65-70.

Voutilainen S., Nurmi T., Mursu J. et Rissanen T.H., (2006). Carotenoids and cardiovascular health. *American Journal of Clinical Nutrition*. 83: 1265-1271.

Weckbercker, G., Cory, J.G.(1988).Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters*,

Weselak M, Arbuckle TE, Wigle DT, Krewski D. In utero pesticide exposure and childhood morbidity. *Environmental Research*. 2007; 103: 79-86.

Wigle DT, Arbuckle TE, Turner MC, Brub A, Yang O, Liu S, Krewski D. Epidemiologic Evidence of Relationships Between Reproductive and Child Health Outcomes and Environmental Chemical Contaminants. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 2008; 11: 373-517.

Yagi, K.(1976). Simple fluorimetric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med*. Vol. 15: 212-216.

Zarrou, B.(2012). Etude phytochimique de quelques extraits obtenus de la plante *Matricaria pubescens* (Asteracées) et évaluation de leur activité antioxydant. Mémoire de master Académique. Université Kasdi Merbah Ouargla. p:66.

Zeljezic D, Garaj-Vrhovac V, Perkovic P (2006) Evaluation of DNA damage induced by atrazine and atrazine-based herbicide in human lymphocytes in vitro using a comet and DNA diffusion assay. *Toxicology In Vitro*. 20(6): 923-935.

Annexes

Annexes 01

A. Les matériels utilisés



Spectrophotomètre (Photo originale).



Vortex (Photo originale).



Centrifugeuse (Photo originale).



Balance analytique (Photo originale).



Evaporateur de type Rotavapor (P Org)



Bain marie (Photo originale).



Automate de type mythic 18 Orphée (p o)



Microtome de type Leica (photo originale).



Microscope optique de type OPTIKA lié à un appareil photo (photo originale).



HPLC de type SHIMADZU (photo originale)

B. Les produits et réactifs chimique

Eau distillée; éthanol; méthanol; solution méthanolique de chlorure d'aluminium a 2 % (AlCl_3); Folin Cioclateu (1/10); 2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH); acide ascorbique; acide gallique; quercetine; acide sulfurique (H_2SO_4); FeCl_3 diluée; sérum physiologique 0.9 %; méthanol; bicarbonate de sodium; HCl concentré; réactif de Mayer; réactive de Wagner; réactif de Drajendorf; solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%; copeaux de magnésium; alcool chlorhydrique (4ml EtOH + 1ml HCl concentré); acide trichloroacétique; tampon phosphate (0.2 M, PH 6,6); ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%); chlorure ferrique (0.1%), DMSO, gélose nutritif et de Muller-Hinton.

C .Les verreries et petits matériels

Erlenmeyer, Eprouvet, Béchers de 500 ml et 1000 ml, Tubes à essai, Tubes sec, Micropipette 10 ul; 50ul et 1000 ul, Flacons en verre, papier filtre Whatman N°1, Boite Bertie, Pipettes Pasteur, Lans de platine, Seringue de 10ml, Disques de papier wattman, Bec Benzène, Ecouvillon stérile.

Les kits de réactifs de l'urée et créatinine, le kit de réactif de protéine totale sérique et α -amylase, le kit de réactif de triglycéride, les kits de réactifs de cholestérol et triglycéride HDL-cholestérol, les kits des réactifs de TGO et TGP et PAL, sont achetés du SPINREACT (Espagne).



Figure: Sacrifice des rattes et prélèvement les organes (Originale,



Figure : Administration des extraits par gavage gastrique (Photo Originale)

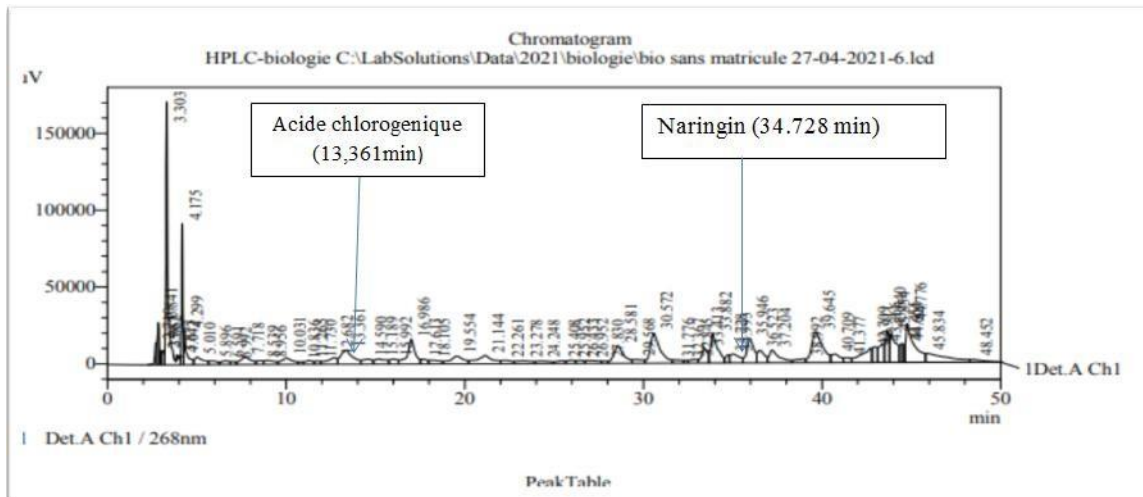


Figure: Résultats des chromatographe liquide haute performance (HPLC) de le L'extrait aqueux éthanolique de fèves *Daucus carota* L

