

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Saad Dahlab BLIDA I



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

# Mémoire

De fin d'études en vue de l'obtention du *Master*  
*En Science de la Nature et de la Vie*  
*Filière Sciences Biologiques*

*Option : Génétique*

Thème du mémoire

*Etude Cytogénétique (Caryotype) du Plantago lanceolata L.*  
*de Kabylie,*

*Et ses Propriétés Cicatrisantes et Antibactériennes*

Présenté par :

M<sup>lle</sup> ABBOUTE Hadjira

&

M<sup>lle</sup> KHAOUS Anissa

Devant le jury composé de :

Nom	Prénom	Grade	Lieu	Qualité
ROUIBI	Abdelhak	Professeur	USDB	Président
CHERIF	Hamida S	MCA	USDB	Examinatrice
MOHAMED SAID	R	MCA	USDB	Promoteur
BENMANSOUR	Nabahat	MCB	USDB	Co-Promotrice

Promotion 2019/2020

## **Remerciements**

*Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.*

*Je voudrais dans un premier temps remercier, mon directeur de mémoire M.MOHAMED SAÏD, pour sa patience, son attention et surtout ses judicieux conseils, qui ont guidé ma réflexion.*

*Je tiens à exprimer ma reconnaissance envers Mme BENMANSOUR. Je la remercie pour les articles qui m'ont énormément aidé pour la rédaction. Merci à M. ROUIBI et à Mme CHERIF d'avoir pris l'attention d'évaluer ce modeste mémoire.*

*J'adresse mes sincères remerciements à tous les enseignants, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont éclairé mes zones d'ombre.*

*Une pensée très sincère à Mme KEBBAS, que j'estimais énormément « Que Dieu l'accueille dans son vaste Paradis »*

*Je remercie mes très chers parents, Ouardia et Med Larbi, qui ont toujours été là pour moi. Je remercie mes sœurs et mes frères, mes nièces et mes neveux, pour leurs encouragements.*

*Enfin, je remercie mon meilleur ami Hacène qui a toujours été là pour moi. Son soutien inconditionnel et son encouragement m'ont été d'une grande aide.*

*'À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude'*

*M<sup>lle</sup> ABBOUTE Hadjira*

## **Remerciements**

*Je tiens à remercier en premier lieu ALLAH, le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force, la volonté et le courage pour mener à terme ce travail.*

*Une grande gratitude à Monsieur «**MOHAMED SAID Ramdane**» et Madame «**BENMANSOUR Nabahat** » pour leur encadrement et leur soutien, tout au long de la réalisation de ce travail*

*Je remercie également les membres de jury, pour avoir accepté d'évaluer ce modeste travail.*

*Enfin, j'adresse mes sincères remerciements à mes chers parents, mes sœurs et mes amis qui m'ont toujours soutenus et encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire.*

*A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin, par un geste, une parole ou un conseil je leur dis merci*

*M<sup>lle</sup> KHAOUS Anissa*

## *Liste Des Abréviations*

<b>ANOVA:</b>	ANalysis Of VAriance
<b>ATP:</b>	Adénosine TriPhosphate
<b>Cas9 :</b>	CRISPR Associated Protein 9
<b>CD :</b>	Cluster de Différenciation
<b>CGE:</b>	Caffeic acid Glycoside Ester
<b>CI50:</b>	Concentration Inhibitrice (CI) d'une substance (50 %)
<b>CRISPR:</b>	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
<b>FDA:</b>	Food and Drug Administration
<b>GP:</b>	GlycoProtéine
<b>HE:</b>	Huile Essentielle
<b>HPLC:</b>	High Performance Liquid Chromatography
<b>HR:</b>	Hairy Root
<b>IL:</b>	InterLeukine
<b>LFA-1:</b>	Lymphocyte Function-associated Antigen-1
<b>MAC:</b>	Membrane Attack Complex
<b>MEC:</b>	Matrice Extra Cellulaire
<b>MS:</b>	Male Sterility
<b>MMP:</b>	Matrix MetalloPeptidase
<b>PAM:</b>	Protospacer Adjacent Motif
<b>PH:</b>	Potentiel Hydrogène
<b>TNF-<math>\alpha</math>:</b>	Tumor Necrosis Factor- alpha

## *Liste Des Figures*

<b>Figure1</b> : Structure de la peau .....	04
<b>Figure 2</b> : Principales phases du processus de cicatrisation cutanée.....	06
<b>Figure 3</b> : Aspect général de <i>Plantago lanceolata</i> .....	12
<b>Figure4</b> :Vue panoramique de l'inflorescence de <i>Plantago lanceolata</i> .....	12
<b>Figure5</b> :Types de fleurs et d'anthères chez <i>Plantago lanceolata</i> .....	13
<b>Figure 6</b> : Stades chromosomiques méiotiques du diploïde <i>Plantago lanceolata</i> .....	16
<b>Figure 7</b> : Complément chromosomique somatique du <i>Plantago lanceolata</i> .....	17
<b>Figure d'article 1</b> : Selective cytotoxic effect of <i>Plantago lanceolata</i> L. against breast cancer cells” Réalisé par Khulood M. Alsaraf en 2019 .....	23
<b>Figure d'article 2</b> : Antimony accumulation in <i>Achillea ageratum</i> , <i>Plantago lanceolata</i> and <i>Silene vulgaris</i> growing in an old Sb-mining area” Rédigé par Baroni et ces collaborateurs en 2000 .....	25
<b>Figure d'article 3</b> : Establishment and elicitation of transgenic root culture of <i>Plantago lanceolata</i> and evolution of its anti-bacterial and cytotoxicity activity” Redigé par Rahamooz-Haghighi et ces collègues en Aout 2020.....	27
<b>Figure d'article 4</b> : Plantain ( <i>Plantago lanceolata</i> ) - a potential pasture species” Réalisé par A.V Stewart en 1996.....	29
<b>Figure 8</b> : Etapes d'obtention du collagène humain à partir de plante transgéniques .....	31
<b>Figure 9</b> : Représentation du système CRISPR/cas9 .....	32.

# *Sommaire*

Introduction .....	01
--------------------	----

## *Partie Bibliographique*

### **Chapitre I : Généralités**

#### I.1. La cytogénétique végétale

I.1.1. Définition .....	03
-------------------------	----

I.1.2. Historique.....	03
------------------------	----

#### I.2. La peau et processus de Cicatrisation

I.2.1.la peau. ....	04
---------------------	----

I.2.2.Définition .....	04
------------------------	----

I.2.1.2.Structure de la peau .....	04
------------------------------------	----

I.2.2. La plaie cutanée .....	05
-------------------------------	----

I.2.3. La cicatrisation cutanée.....	05
--------------------------------------	----

I.2.3.1. Définition .....	05
---------------------------	----

I.2.3.2. Processus de cicatrisation des plaies.....	06
---	----

#### I.3. Les plantes médicinales et l'activité antibactérienne

I.3.1.L'effet antibactérien des plantes médicinales .....	08
---	----

I.3.1.1.Les huiles essentielles .....	08
---------------------------------------	----

### **Chapitre II : La Plante médicinale : *Plantago lanceolata L.***

II.1. Historique .....	10
------------------------	----

II.2. Etymologie du nom <i>Plantago lanceolata L.</i> .....	10
---	----

II.3. Classification botanique de <i>Plantago lanceolata</i> L. ....	11
II.4. Aspect botanique et Description Morphologique de <i>Plantago lanceolata</i> L. ....	11
II.5. Localisation géographique de <i>Plantago lanceolata</i> L. ....	13

**Chapitre III** : Composition chimique et effets thérapeutiques de *Plantago lanceolata* L.

III.1. Composition chimique .....	14
III.2. Effets thérapeutiques. ....	15
<b>Chapitre IV</b> : Génétique du <i>Plantago lanceolata</i> L.....	16

## *Partie Matériel et Méthodes*

<b>Introduction</b> .....	20
<b>Perspectives et Projets</b>	
<u>Projet 1</u> : <i>Plantago lanceolata</i> L., une nouvelle piste pour la lutte contre le cancer .....	22
<u>Projet 2</u> : PhytoStabilisation des sols pollués par l’antimoine (Sb) par <i>Plantago lanceolata</i> L. ....	24
<u>Projet 3</u> : Stimulateur de défense naturel conférant une activité anti bactérienne à <i>Plantago lanceolata</i> .....	26
<u>Projet 4</u> : Projet de création d’un pâturage de qualité .....	28
<u>Projet 5</u> : Edition, par CRISPR/Cas9, du génome de <i>Plantago lanceolata</i> L., .....	30
afin de lui conférer la capacité de produire du collagène humain de type I.....	26
Conclusion.....	30
Références Bibliographiques.....	35

## ***Abstract***

The Kabylia area in Algeria conceals a treasure of biodiversity, among them a plant whose scientific interest is growing more and more. *Plantago lanceolata* is one of the most widely used medicinal plants in the world. It is known for its astringent, healing properties and its antibacterial activity.

The different stages of meiotic chromosomes, namely; Prophase, metaphase and anaphase have been observed. The meiotic base number of P. Lancelot is 06.

Intraspecific polyploid cytotypes, showing chromosome number and morphological variations in plants, conclude that this species is in a vigorous evolutionary process.

Finally, the Plantain Lancelot opens up new perspectives in several fields, namely the fight against cancer, the stabilization of polluted soils, veterinary medicine, pharmaceutical production based on transgenic plants... and why not others?

**Key words:** *Plantago lanceolata*, wound healing, antibacterial effect, diploidy, active components.

## الملخص

تحفي منطقة القبائل في الجزائر كنزًا من التنوع البيولوجي من بينها نبات يتزايد اهتمامه العلمي أكثر فأكثر.

يعتبر لسان الحمل السهمي « *Plantago lanceolata* » أحد أكثر النباتات الطبية استخدامًا في العالم. وهو معروف بخصائصه الفعالة في إلتئام الجروح وتأثيره المضاد للبكتيريا.

تم رصد مختلف مراحل الكروموسومات أثناء الانقسام المنصف، وهي: الطور التمهيدي، الطور الاستوائي و طور الانفصال. كما أن رقم قاعدة الانقسام المنصف بالنسبة لسان الحمل السهمي « *Plantago lanceolata* » هو: 06 .

تستنتج الأنماط الخلوية متعددة الصيغ الصبغية غير المحددة، والتي تُظهر عدد الكروموسومات والتغيرات المورفولوجية في النباتات، أن هذا النوع في عملية تطورية قوية.

أخيرًا، يفتح نبات لسان الحمل السهمي « *Plantago lanceolata* » آفاقًا جديدة في عدة مجالات، وهي مكافحة السرطان، واستقرار التربة الملوثة، والطب البيطري، وإنتاج المستحضرات الصيدلانية القائمة على النباتات المعدلة وراثيًا... ولما لا أكثر من هذا؟.

**الكلمات المفتاحية:** لسان الحمل السهمي، إلتئام الجروح، التأثير المضاد للبكتيريا، مركبات فعالة

## *Résumé*

La région de la Kabylie en Algérie recèle un trésor de biodiversité parmi lequel se trouve une plante dont l'intérêt scientifique grandit de plus en plus.

*Plantago lanceolata* est l'une des plantes médicinales les plus employées dans le monde. Elle est connue pour ces vertus astringentes, cicatrisantes et son pouvoir antibactérien.

Les différents stades des chromosomes méiotiques, à savoir; La prophase, la métaphase et l'anaphase ont été observées. Le numéro de base méiotique de *P. lanceolata* est 06.

Les cytotypes polyploïdes intraspécifiques, présentant un nombre chromosomique et des variations morphologiques chez les plantes, concluent que cette espèce est dans un processus évolutif vigoureux.

Finalement, le Plantain lancéolé ouvre de nouvelles perspectives dans plusieurs domaines, à savoir la lutte contre le cancer, la stabilisation des sols pollués, la médecine vétérinaire et enfin la production pharmaceutique à base de plantes transgéniques.

**Mots clés:** *Plantago lanceolata*, la cicatrisation, effet antibactérien, composés actifs.

## *Introduction*

«On a plus vite fait de chercher du plantain que d'aller chez le médecin» d'après un ancien proverbe.

La Kabylie est connue par sa diversité floristique, elle est considérée parmi les régions d'Algérie qui renferment des plantes endémiques à usage essentiellement médical. L'efficacité des plantes médicinales est douée à cause de métabolites secondaires ou des principes actifs : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les huiles essentielles. (*Tchamdja .1995*)

Parmi ces plantes miraculeuses on a *Plantago lanceolata*, qui se trouve en abondance dans les montagnes d'Algérie à différentes altitudes ; en Kabylie essentiellement mais aussi dans les endroits sur-pâturés de Chréa à Blida. (*Mekidech, 2018*)

Dans le cadre de la recherche de molécule ou d'activité biologique, nous avons choisi pour cette étude la plante : *Plantago lanceolata* L connue sous le nom 'Plantain Lancéolé'.

Ce présent travail est une contribution à l'étude cytogénétique (caryotype) du *Plantago lanceolata* de Kabylie, et ses propriétés cicatrisantes et antibactériennes, il s'articule principalement sur un plan bibliographique.

Les parties abordées sont : généralités sur la cytogénétique, propriétés de cicatrisation et le pouvoir antibactérien des plantes médicinales.

Enfin, la partie génétique de la plante a fait l'objet de travaux intéressants menés sur *Plantago lanceolata*, ailleurs qu'en Algérie.

# *Partie Bibliographique*

## Chapitre I : Généralités

### I.1. La cytogénétique végétale

#### I.1.1. Définition

La cytogénétique fait le lien entre la cytologie et la génétique. Elle a pris une part active à la compréhension des mécanismes héréditaires et du monde vivant dans sa diversité (taxonomie, phylogénie).

Elle participe à :

- la connaissance du matériel végétal utilisé (nombre du chromosome, la polyploïdie...)
- L'établissement des cartes génétiques grâce à la production et l'étude d'aneuploïdie.
- l'exploitation de la variabilité interspécifique et intra-spécifique. (*Jahier,1992*)

#### I.1.2.Historique

Les premiers travaux chez les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié du 19<sup>e</sup> siècle mais c'est surtout à partir de 1920 que la cytogénétique s'est développée et son importance n'a cessé de croître par la suite. (*Jahier,1992*)

Par ailleurs, à partir des années 1930, c'est à cette époque qu'on a découvert les propriétés de la colchicine, agent permettant de doubler le stock chromosomique de cellules végétales. On a donc pu imaginer faire des « super-plantes, en augmentant le nombre de chromosomes (plantes polyploïdes). On a aussi pu imaginer d'exploiter plus systématiquement les hybrides entre espèces ; en effet, ceux-ci sont normalement stériles pour cause de non-appariement des chromosomes parentaux en méiose ; le doublement de leur nombre, rétablissant une situation disomique pour chacun d'eux, permet une méiose subnormale et restaure dans une certaine mesure la fertilité. (*BernardFrance. 1992*)

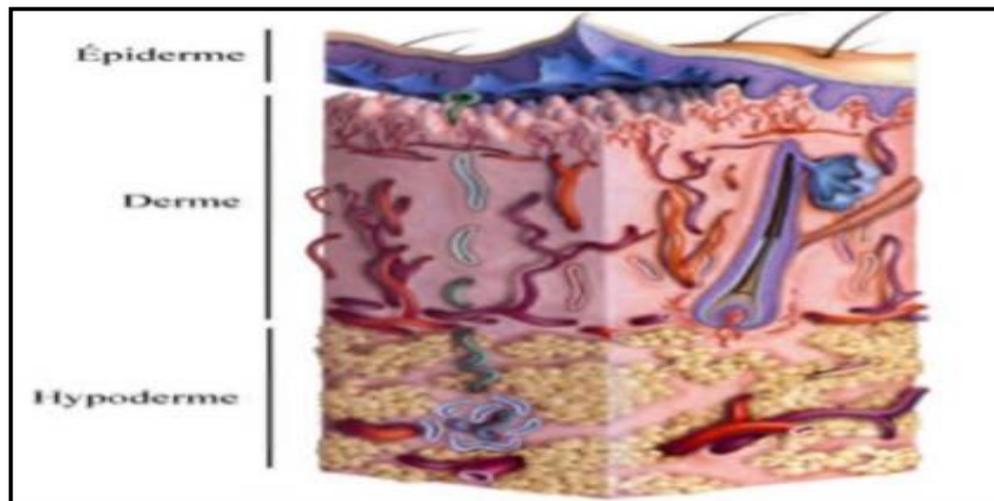
## I.2. La peau et processus de Cicatrisation

### I.2.1. La peau

**I.2.1.1.Définition :** La peau est définie comme étant l'organe de revêtement extérieur du corps de l'homme et des animaux. Elle est constituée de trois tissus superposés : l'épiderme, le derme et l'hypoderme (**Figure 1**).

La peau possède de nombreuses fonctions impliquées principalement dans le maintien de l'homéostasie de l'organisme, et notamment dans la thermorégulation, la défense contre les agressions extérieures et les agents exogènes. Elle joue également un rôle dans les fonctions sensorielles et métaboliques tel que la synthèse de vitamine D. (*Ferraq, 2007*)

#### I.2.1.2.Structure de la peau :



**Figure 1 :** Structure de la peau (*Geras, 1990*).

- **L'épiderme:** est un tissu épithélium pluristratifié, kératinisé, constitué de plusieurs assises cellulaires, dépourvu de vaisseaux sanguins et lymphatiques mais renfermant de nombreuses terminaisons nerveuses sensibles. (*Prost-Squarcioni et al., 2008*).
- **Le derme:** La couche sous-jacente à l'épiderme, est innervée et très vascularisée et renferme les glandes annexes (glande sudoripares, glandes sébacées et des follicules pileux). Cette couche est ainsi divisée en deux parties : le derme papillaire (ou superficiel) riche en cellules, et en profondeur le derme réticulaire (ou profond).

Le derme regroupe deux groupes de populations cellulaires :

- Le premier est composé de fibroblastes, ces cellules fusiformes dont le rôle principal est la synthèse des composantes de la matrice extracellulaire (MEC) tel que: le collagène, et l'élastine.
  - Le deuxième groupe est composé des cellules migratrices, impliquées dans les mécanismes de défense et de réponse immunitaire : leucocytes, mastocytes, macrophages.
- **L'hypoderme** : c'est le tissu graisseux sous-cutané. C'est la couche la plus profonde de la peau. Il est composé de tissus conjonctifs spongieux parsemés d'adipocytes qui emmagasinent l'énergie. Ces cellules graisseuses sont groupées en un gros amas en forme de coussins. (*Ferraq, 2007*)

### **I.2.2. La plaie cutanée :**

La peau peut subir des dommages lors de chirurgies, brûlures, radiations, et coupures. Le degré de gravité de la blessure varie selon certains facteurs, comme la profondeur, nature de l'agent causal et la souillure (présence de débris, d'un corps étranger...) (*Formation ambulancier*).

Plaie normale, elle est définie comme une interruption dans la continuité d'un tissu du corps. (*Smith, 1998*).

### **I.2.3. La cicatrisation cutanée :**

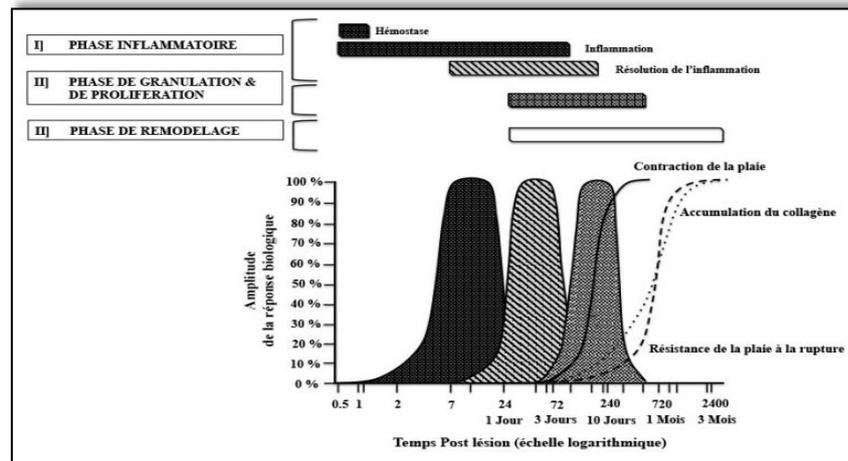
#### **I.2.3.1. Définition :**

La cicatrisation vient du mot cicatrice « du latin cicatrix, icis [cicatrice], marque laissée sur la peau après guérison d'une incision, d'une blessure ».

La cicatrisation cutanée fait intervenir une cascade de mécanismes biochimiques et cellulaires qui concourent à la restauration de la continuité de la peau et de la majorité de sa fonction (*Johnston, 1992*).

#### **I.2.3.2. Processus de cicatrisation des plaies :**

La cicatrisation cutanée est un phénomène complexe. Trois majeurs phases se chevauchant, sont décrites : la phase inflammatoire et d'hémostase, la phase proliférative, et la phase de remodelage matriciel (**Figure 2**). (*Singer et al., 1999*).



**Figure 2** : Principales phases du processus de cicatrisation cutanée. (Kloth, 2002).

### ➤ La phase inflammatoire et d'hémostase :

L'inflammation constitue la première étape du processus cicatriciel. C'est une étape d'urgence visant à limiter les perturbations physiologiques provoquées par la lésion ainsi qu'à empêcher la propagation des bactéries dans le reste de l'organisme. Les mécanismes de la coagulation induisent la formation rapide d'un caillot sanguin destiné à limiter les pertes de sang au niveau des lésions des vaisseaux sanguins. La détersion de la plaie s'effectue grâce à deux types cellulaires prépondérants : les neutrophiles et les macrophages, avec l'aide de protéases et de l'activation du complément. (Oummad, 2003).

Durant cette phase, de nombreux médiateurs cytokiniques mais aussi lipidiques sont sécrétés dans le milieu extracellulaire. Le Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), fortement produit durant cette phase, favorise l'expression de molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales et facilite la migration leucocytaire sur le site lésionnel via leurs récepteurs: des Clusters de Différenciation (CD11a/CD18, CD11b/CD18, CD11d/CD18, CD11c/CD18), Membrane Attack Complex (MAC-1), et (LFA-1), (gp150, 95). (Carman *et al.*, 2004; Kulidjian *et al.*, 1999).

Les cytokines de la famille de l'interleukine 1 (IL-1) (notamment IL-1 $\alpha$  et IL-1 $\beta$ ) induisent également l'expression de molécules d'adhésion et stimulent les cellules stromales. La libération des chimiokines qui en découle, favorise le recrutement de nouvelles cellules inflammatoires sur le site de la lésion. (Chang *et al.*, 2012; Dinarello, 1996).

La phase vasculaire (ou d'hémostase) précède la phase inflammatoire. Elle s'accompagne obligatoirement de rupture de vaisseaux, exposant ainsi le collagène endothélial aux plaquettes, il en résulte l'agrégation plaquettaire et l'activation de la cascade de la coagulation. (*Witte, 1997*).

➤ **La phase proliférative :**

Cette étape a pour but de reconstruire le tissu conjonctif et l'épithélium via deux principaux mécanismes :

- (1) la génération d'un tissu de granulation et son épithémisation qui correspond à la juxtaposition de 3 mécanismes : la réépithélialisation, la fibroplasie et l'angiogénèse ;
- (2) sa néo angiogénèse qui est une composante importante de la phase de prolifération cellulaire (*Delavary et al., 2011*). Elle soutient l'apport d'oxygène et de nutriments aux cellules en multiplication au niveau de la plaie en cours de réparation (*Whalen, 1992*). Cette phase est initiée par des facteurs de croissance et des cytokines libérés par les cellules immunitaires et les plaquettes.

➤ **Phase de remodelage :**

La phase de remodelage tissulaire est la dernière phase, la plus longue, du processus de guérison d'une plaie. Elle se poursuit pendant plusieurs semaines voire plusieurs mois (12 à 18 mois). Elle est cruciale pour l'obtention d'un tissu cicatriciel le plus proche possible des caractéristiques esthétiques, structurales et fonctionnelles du tissu initial.

Durant les phases précédentes, les fibres de collagène synthétisées ont été orientées de manière aléatoire et de façon totalement désordonnée. Le tissu cicatriciel qui en résulte est de faible résistance. Le collagène de type III présent dans la matrice est remplacé progressivement par du collagène de type I (*Page-McCaw et al., 2007; Ramasastry, 2005*). Cette nouvelle réorganisation médiée notamment par des MMPs (collagénases) et des sérines protéases permet de rendre plus compacte et plus stable le nouveau réseau de fibres ainsi constitué (*Armstrong et al., 2002; Reinke et al., 2012*). Au cours des phases tardives de cicatrisation, l'élastine est faiblement exprimée. La restauration d'un réseau de fibres

élastiques intactes et fonctionnelles est donc essentielle pour retrouver le fonctionnement complet de la peau après une blessure.

### **I.3. Les plantes médicinales et l'Activité antibactérienne :**

#### **I.3.1. L'effet antibactérien des plantes médicinales**

Les plantes médicinales sont connues pour leur propriété de produire certains composés chimiques naturellement toxiques pour les bactéries (*Basile et al., 1999; Rauha, 2001*). De nombreux chercheurs ont testé l'activité antibactérienne des extraits de plantes médicinales ainsi que des substances pures d'origine végétale sur de nombreuses souches bactériennes pathogènes pour l'Homme (*Basile et al., 1999; Cottiglia et al., 2001; Cushnie et al., 2006; Jimoh et al., 2010; Khattak et al., 2005; Kunle et al., 2003; Quílez et al., 2010*). La plupart des études effectuées pour la mise en évidence ou pour la confirmation de l'activité antibactérienne des extraits de plantes médicinales ont été suivies par des études de caractérisation des substances bioactives. On attribue, généralement, à l'activité antibactérienne de la plante plusieurs principes actifs tel que les huiles essentielles, les alcaloïdes et les composés phénoliques (*Cowan, 1999; Delaquis et al., 2002; de León et al., 2010; Navarro et al., 1996; Nenaah et Zhang, 2010; Nostro et al., 2000; Pennachio et Voravuthikunchai, 2005; Rauha, 2001; Tepe et al., 2006*).

#### **I.3.2. Les huiles essentielles**

Les huiles essentielles (HE) sont produites par des plantes comestibles, médicinales ; elles jouent un rôle important dans leur protection comme agents antibactériens, antiviraux, et antifongiques.

D'ailleurs, les HE font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative aux traitements des maladies infectieuses d'origine bactérienne et fongique (*Billerbeck, 2007; Lefevre et al., 2008*).

C'est par la synergie moléculaire des huiles essentielles véritables, c'est-à-dire non reconstituées synthétiquement, que la toxicité de ces molécules s'avère toute relative car les effets des uns compensent et équilibrent les effets des autres (*Hilan et al., 2009*). Étant donné que les HE comportent un grand nombre de composants, il est possible que leur activité antibactérienne ne soit pas due à un mode d'action spécifique mais implique plusieurs cibles dans la cellule bactérienne (*Burt, 2004; Carson et al. 2002; Fisher et Phillips, 2008*).

Généralement, les HE exercent leur effet antibactérien au niveau de la membrane cytoplasmique par altération de sa structure ainsi que sa fonction, interférant de ce fait avec la perméabilité membranaire en provoquant la fuite intracellulaire de potassium ( $K^+$ ) qui est souvent un signe précoce du dommage et le plus souvent suivi par la fuite des constituants cytoplasmiques (*Benchaar et al., 2008 ; Cowan, 1999*).

La perte de la perméabilité différentielle de la membrane cytoplasmique est fréquemment identifiée comme cause de la mort cellulaire. D'autres événements qui pourraient mener au dysfonctionnement membranaire, suivi de la rupture incluant la dissipation des deux composants de la force motrice de protons dans la cellule (le gradient de pH et le potentiel électrique) sont : soit des changements de transport ionique, ou dépolarisation par des changements des structures membranaires, qui interfèrent avec le système de la synthèse d'ATP par inhibition d'enzymes empêchant l'utilisation de substrat pour générer de l'énergie (*Holley et Patel, 2005*). Les HE ont une affinité élevée pour les lipides membranaires des cellules bactériennes qui est due à leur nature hydrophobe et leurs propriétés antibactériennes sont évidemment associées à leur caractère lipophile (*Benchaar et al., 2008 ; de León et al., 2010 ; Lee et al., 2004*). Burt (2004) a suggéré que les bactéries Gram+ semblent être plus susceptibles aux composés des HE des plantes que les bactéries Gram- . Ceci peut être dû à la présence d'une membrane externe chez les bactéries Gram qui entoure la paroi et agit en tant que barrière de perméabilité, limitant l'accès des composés hydrophobes (*Bamoniri et al., 2010 ; Benchaar et al., 2008; de León et al., 2010 ; Oroojalian et al. 2010 ; Tajkarimi et al. 2010*).

## Chapitre II : La plante médicinale : *Plantago lanceolata* L.

### II.1. Historique

Le Plantain est une herbe éternelle avec une distribution presque mondiale. Il existe environ 250 espèces du Genre *Plantago* à travers le monde et les deux espèces ayant la plus grande répartition géographique sont le Grand Plantain (*Plantago major* L.) et le Petit Plantain (*Plantago lanceolata* L.) d'où la connaissance de leurs propriétés médicinales approfondis depuis l'Antiquité Grecque. Leur usage thérapeutique est réponde aussi bien en Orient qu'en Occident.

Connu par les plus grands médecins de l'Antiquité, de Discoride et Pline jusqu'à Galien, le Plantain fut plus tard utilisé par l'Ecole Salermitaine comme astringent dans les métrorragies (*Bianchini et Corbetta, 1975*).

D'après le Leclerc (1994) les anciens attribuaient de nombreuses vertus au Plantain ce qui l'a d'ailleurs embarrassé pour les classer selon une action pharmacodynamique précise. Compte tenu de leur réelle activité en pathologie externe, finalement Leclerc a considéré le Plantain comme étant un Topique, plus précisément les feuilles fraîches lavées ou bouillies ou même macérées pendant quelques heures, peuvent hâter la cicatrisation. Ce remède a été utilisé dans le traitement des Ulcères Variqueux. (*Leclerc, 1994*)

### II.2. Etymologie du nom *Plantago lanceolata* L.

Dans diverses langues, les noms vernaculaires du Plantain font souvent allusion à ses vertus exceptionnelles.

Les anciens écossais l'appelaient « SLAN-LUS » = plante qui guérit.

Les indigènes d'Australie l'appellent « English Man's Foot » ou bien « White Man's Foot » car elle pousse là où l'Homme blanc pose le pied. D'ailleurs c'est un des rares cas où ces indigènes reconnaissent aux blancs non seulement un bienfait mais également un certain pouvoir.

Concernant *Plantago lanceolata* L : ou communément appelé plantain lancéolé, herbe à cinq côtes, herbe à cinq coutures, oreille de lièvre. (En Anglais: Ribwort plantain ; En kabyle : Tahchicht n Ahmed)

*Plantago* = Planta = Plante

*Lanceolata* = par rapport à la forme de la feuille qui est lancéolée et étirée (*Quezel et Santa, 1963*).

### II.3. Classification botanique de *Plantago lanceolata* L. (*Quezel et Santa, 1963*)

D'après la classification du Plantain est comme suit :

Règne :	Plantae
Sous-règne :	Tracheobiota
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Sous-classe :	Asterida
Ordre :	Plantaginales
Famille :	Plantaginaceae
Genre :	Plantago
Espèces :	<i>Plantago lanceolata</i> L.
Sous- espèce:	SSP eu-lanceolata

### II.4. Aspect botanique et Description Morphologique de *Plantago lanceolata* L.

*Plantago lanceolata* L. est une plante vivace à fleurs se reproduisant par des graines. (*Girre, 2001*). Le rhizome est court et comporte de nombreuses racines, petites, fines et pivotantes qui confèrent à la plante une certaine tolérance à la sécheresse (*Moore et al., 2006*).

La tige est simple, nue sans feuilles, florifère. Les feuilles sont vertes, opposées et disposées en rosettes à la base de la plante (**Figure 3**).



**Figure 3** : Aspect général de *Plantago lanceolata* L.

(Original, 2007)

Les fleurs sont de 10 à 20 cm de long, rassemblées en épis denses et cylindriques. Chaque fleur est à pétales libres, séparés les uns des autres jusqu'à la base et se détachant un par un.

Son épi est très serré de petites fleurs sans couronne de bractées ; 4 pétales verts ou bruns, scarieux, 4 étamines pendant hors de l'épi, à long filet (Ghedira et al., 2008).

L'inflorescence se présente sous forme d'épi simple terminale courte, ovoïde légèrement sphérique dense en petites fleurs hermaphrodites (**Figure 4**) (Boullard, 2001).

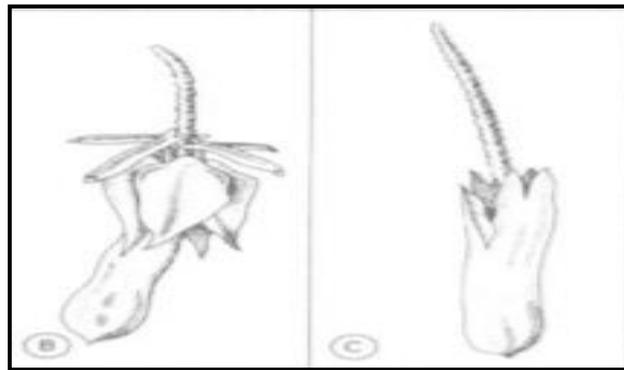


**Figure 4** : Vue panoramique de l'inflorescence de *Plantago lanceolata* L.

(Original, 2007)

*Van Damm* et ses collaborateurs ont présenté dans « Gynodioecy in plantago lanceolata I i. Polymorphism for plasmon type » des preuves de l'existence de deux types de plasmon chez *Plantago lanceolata*. Le polymorphisme de ce type semble être commun : il a été trouvé dans 22 des 27 populations. Ce résultat est entièrement basé sur la détermination cytoplasmique de la morphologie stérile mâle qui a ainsi servi de marqueur pour le type de plasmon.

Ces études du polymorphisme ont révélé deux séries distinctes de formes d'étamines, le premier type de stérilité mâle complète (MSI) montre un développement perturbé des étamines, qui sont fortement réduites en taille ; le deuxième type (MS2) a des étamines qui sont pétaloïdes. Dans ce dernier type, la corolle et parfois le pistil sont également affectés (**Figure 5**). (Van damm et al., 1982).



**Figure 5** : Types de fleurs et d'anthères chez *Plantago lanceolata* : B) fleur de plante MSI, (C) fleur de plante MS2. (Van damm et al., 1982).

### II.5. Localisation géographique de *Plantago lanceolata* L.

Sa principale aire de répartition est l'Eurasiatique, il est répandu dans pratiquement toute l'Europe à l'exception du nord de la Scandinavie (Cabaret, 1986). On le trouve aussi en Asie septentrionale et centrale ainsi qu'en Amérique du nord et dans toutes les régions tempérées du monde (Thurzova, 1985).

Le petit plantain se trouve dans tout le bassin méditerranéen (Espagne, Portugal, Italie...) ainsi que dans toute l'Afrique du nord principalement le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie) (Beauquesne et Bezanger, 1980).

Le petit plantain pousse généralement dans les endroits les plus élevés en altitude de 2 000m mais on peut le trouver également en bord de mer, sur des talus, les bords des chemins, dans les prés, dans les marées ainsi que dans les plaines (Fluck, 1977).

## Chapitre III : Composition chimique et effets thérapeutiques de *Plantago lanceolata* L.

### III.1. Composition chimique de *P. lanceolata* L.

Plusieurs études phytochimiques ont montré que *P. lanceolata* contient un amalgame de métabolites secondaires dans les diverses parties de la plante. Selon Fons et ses collaborateurs (1998), *P. lanceolata* renferme plusieurs groupes de molécules actifs comme les mucilages, les iridoïdes, les tannins, les coumarines et les flavonoïdes. Plus récemment, il a été apporté la richesse du genre *Plantago* en polysaccharides, lipides, dérivés d'acides caféiques, iridoïdes glucosylés, terpènes, alcaloïdes et acides organiques (Jamilah et al., 2012).

Les analyses chimiques de *Plantago lanceolata* ont conduit à l'isolement des iridoïdes, des avonoïdes, des coumarines, des composés volatils et des esters glycosidiques d'acide caféique (CGE). Les deux principaux CGE du plantain, à savoir le verbascoside (V) et le plantamoside (P), ont montré des antimicrobiens, des antioxydants, des anti-inflammatoires et les activités antitumorales.

Des parties aériennes et souterraines de plantains de nervure cultivées in vitro ont été étudiées pour les CGE par chromatographie sur couche mince (CCM) et chromatographie liquide à haute performance (HPLC); V et P étaient fortement concentrés dans les racines avec des niveaux de P le double de ceux de V. (Fons et al., 1999).

Les résultats d'une analyse comparative du profil phénolique, antioxydant, anti-inflammatoire et cytotoxique de deux espèces de plantain, à savoir *Plantago altissima* Terre *Plantago lanceolata* L. ont montré une teneur phénolique notable, ainsi qu'un antioxydant, anti-inflammatoire et cytotoxique.

Cependant, les résultats globaux indiquent que *P. lanceolata* démontre un bio-potentiel supérieur et son utilisation comme remède traditionnel et aliment fonctionnel est validé (Beara et al., 2012).

### III.2. Effets thérapeutiques de *P. lanceolata* L.

*Plantago lanceolata* est l'une des plantes médicinales les plus employées dans le monde (Kolak et al., 2011). Elle est connue pour ces vertus astringentes, cicatrisante et propriétés ophtalmiques. La tradition attribue à cette plante des propriétés anti-inflammatoires et antitussives. La plante fraîche est également appliquée sur les contusions et les piqûres d'insectes, de même, le suc de la plante fraîche est utilisé lors du saignement de nez. Des propriétés antiseptiques, émolliente et vulnéraires justifient son usage sur les plaies, les contusions et les ulcères cutanés (Kolak et al., 2011).

En infusion, cette plante est utilisée en cas d'entérite, diarrhée, toux, troubles des voies respiratoires, rhume, amygdalite. Les feuilles de *plantago* sont utilisées, en usage externe, dans l'irritation des paupières. *Plantago* est parfois utilisé pour soigner l'hypertension artérielle, les ulcères et les tumeurs, comme il est utilisé comme agent analgésique et antirhumatismal (Kolak et al., 2011).

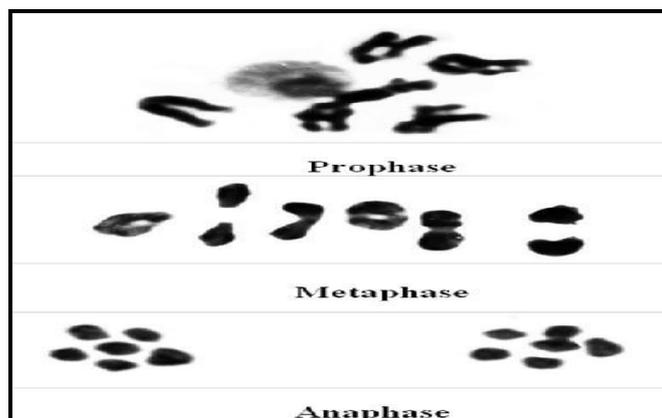
Les parties aériennes de *P. lanceolata* L. sont utilisées pour traiter le catarrhe bronchique et l'inflammation de la membrane muqueuse du pharynx. Pour cette indication, 3 à 6 g / jour sont généralement utilisés, ce qui peut être réduit en évaluant les constituants pertinents et en enrichissant les extraits. Une étude clinique a révélé l'activité broncholytique d'un extrait de *P. lanceolata* (Fleer et Ej Verspohl, 2007).

## Chapitre IV : Génétique du *P. lanceolata* L

Un grand nombre d'espèces du genre *Plantago* ont été élaborées cytologiquement par Heitz (1927); Turesson (1922a), (1922b), (1928); Hyde (1945, 1953); Basset (1965-1967) etc. Les informations sur *P. lanceolata* sont cependant rares, bien que Nakajima (1930); Mccullagh (1934); Booher (1943) et Basset (1967) se sont attaqués à cette espèce.

Dans les années cinquante, les différents stades des chromosomes méiotiques, à savoir ; La prophase, la métaphase et l'anaphase ont été observées (**figure 6**). Le numéro de base méiotique de *P. lanceolata* est 06 (*Darlington et Wylie, 1958*).

Des chromosomes au stade de la métaphase étaient présents sur la plaque équatoriale. Au cours de l'Anaphase-I, une ségrégation chromosomique régulière (06<>06) a été observée. Six bivalents sont formés qui montrent la ségrégation parfaite à la phase ana1.



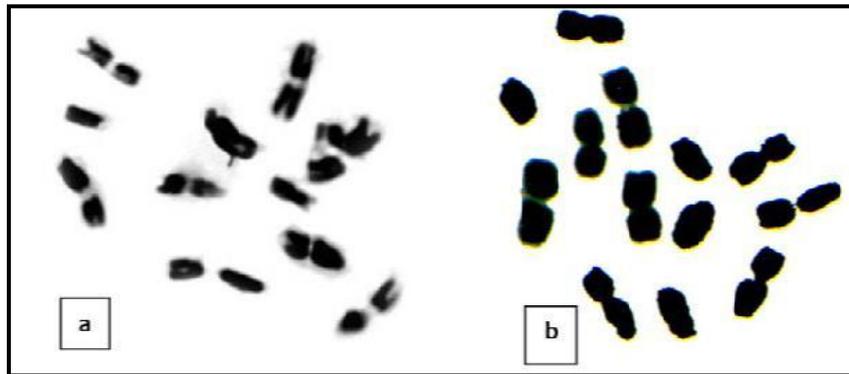
**Figure 6** : Stades chromosomiques méiotiques du diploïde *plantago lanceolata* (*Bradshaw, 1984; Prakash et coll., 2011*)

Le complément chromosomique diploïde de *Plantago lanceolata* comporte 12 chromosomes (**figure 7a**), qui peuvent être classés en deux groupes.

Le premier groupe comprend 8 chromosomes sous-médians et le deuxième groupe comprend 4 chromosomes sous-terminaux, chacun portant un satellite à l'extrémité distale du bras court.

Toutes les propagations métaphasiques du trisomique ont 13 chromosomes (**figure 7b**).

L'habitat, la géographie et les variations environnementales provoquent des changements génétiques qui ont une incidence importante sur la morphologie des plantes (*Bradshaw, 1984; Prakash et coll., 2011*).



**Figure 7** : Compléments chromosomiques somatiques  
(*Bradshaw, 1984; Prakash et coll., 2011*)

Les plantes diploïdes ont été évaluées pour différents caractères morphologiques.

Les plantes trisomiques sont larges et plus fortes par rapport aux diploïdes ; qui portent des feuilles plus épaisses et plus larges. La hauteur de la plante, la longueur du pétiole et la longueur du pédoncule augmentent légèrement. La modification la plus frappante est le nombre de feuilles et le nombre d'épi par plante. L'effet de la polyploïdie sur le phénotype des cellules individuelles a été estimé en comparant la taille, la fréquence et l'indice des stomates.

Les cytotypes polyploïdes intraspécifiques, présentant un nombre chromosomique et des variations morphologiques chez les plantes, concluent que cette espèce est dans un processus évolutif vigoureux. Donc, le besoin de l'heure est d'explorer cette espèce à partir de différentes niches géographiques et écologiques pour comprendre les processus évolutifs impliqués dans cette espèce qui peuvent être accomplis avec une application plus poussée de marqueurs morphologiques et moléculaires (*Pandita, 2015*).

Afin d'examiner la variation génétique de la chimie défensive, et la réponse de différents génotypes à l'herbivorie, 30 génotypes de *P. lanceolata* qui proviennent de deux populations différentes ont été utilisés.

Cette étude a détecté une variation génétique claire au sein et entre les populations naturelles dans la quantité, la composition et la répartition des produits chimiques défensifs chez *P. lanceolata*.

Les génotypes ont répondu différemment aux variations herbivores et temporelles, suggérant qu'il existe un potentiel non seulement pour l'évolution de la chimie défensive, mais aussi pour l'évolution de la réponse de la production chimique aux variations environnementales.

Une ANOVA bidirectionnelle a révélé des effets significatifs du génotype et du traitement de la plante sur la sévérité de l'infestation de pucerons.

La sévérité des pucerons était plus élevée chez les témoins finaux que dans le traitement herbivore, mais cela était probablement dû à différences de temps de récolte dans les deux traitements (*Adler et al., 1995*).

# *Partie Matériel et Méthodes*

## Matériel et Méthodes

---

En temps normal, cette partie aurait porté sur :

### **Le matériel :**

#### Biologique :

-Plante ; *Plantago lanceolata* collectée en région de Kabylie ;

- Des souris de laboratoire ;

- Des souches bactériennes Gram+ et Gram- .

Non Biologique : l'Extracteur, appareil HPLC, et tous les outils nécessaire a la manipulation, expliquant le mode d'emploi et l'intérêt de chacun

**Les méthodes** utilisées pour réaliser les expériences suivantes :

1. Extraction de l'huile essentielle du *Plantago lanceolata* (programmée au centre de recherche de l'université de BLIDA1)
2. Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) (programmée au centre de recherche de l'université de BLIDA1)
3. Séparation des composantes de la plante (programmée au niveau du laboratoire de l'INA El Harrach)
4. Réalisation du Caryotype (Bab-Ezzouar)
5. Etablissement des tests sur des souris et souches Bactériennes afin de confirmer les effets cicatrisant et antibactérien préalablement présentés dans la partie bibliographique.

Puis enfin présenter **Les Résultats**obtenus et les **Discuter**.

Mais vu les circonstances actuelles, nous avons été obligé de présenter cette partie sous forme d'idées de projets intéressants avec notre plante, inspirées d'articles et d'études publiées et reconnues.

# *Perspectives et Projets*

## ***Projet 1***

### **« Le *Plantago lanceolata* L., une nouvelle piste pour la lutte contre le cancer »**

Plusieurs espèces de *Plantago* ont été décrites comme des remèdes pour le traitement des tumeurs. L'activité de piégeage des radicaux libres des flavonoïdes dérivée de l'oxygène entraîne des effets anti-cancérigènes, un effet antiprolifératif et une cytotoxicité contre les cellules cancéreuses, Notre idée consiste à détecter dans l'extrait de feuilles du plantain, les flavonoïdes, et évaluer leurs effets sur les cellules cancéreuses « in vivo ».

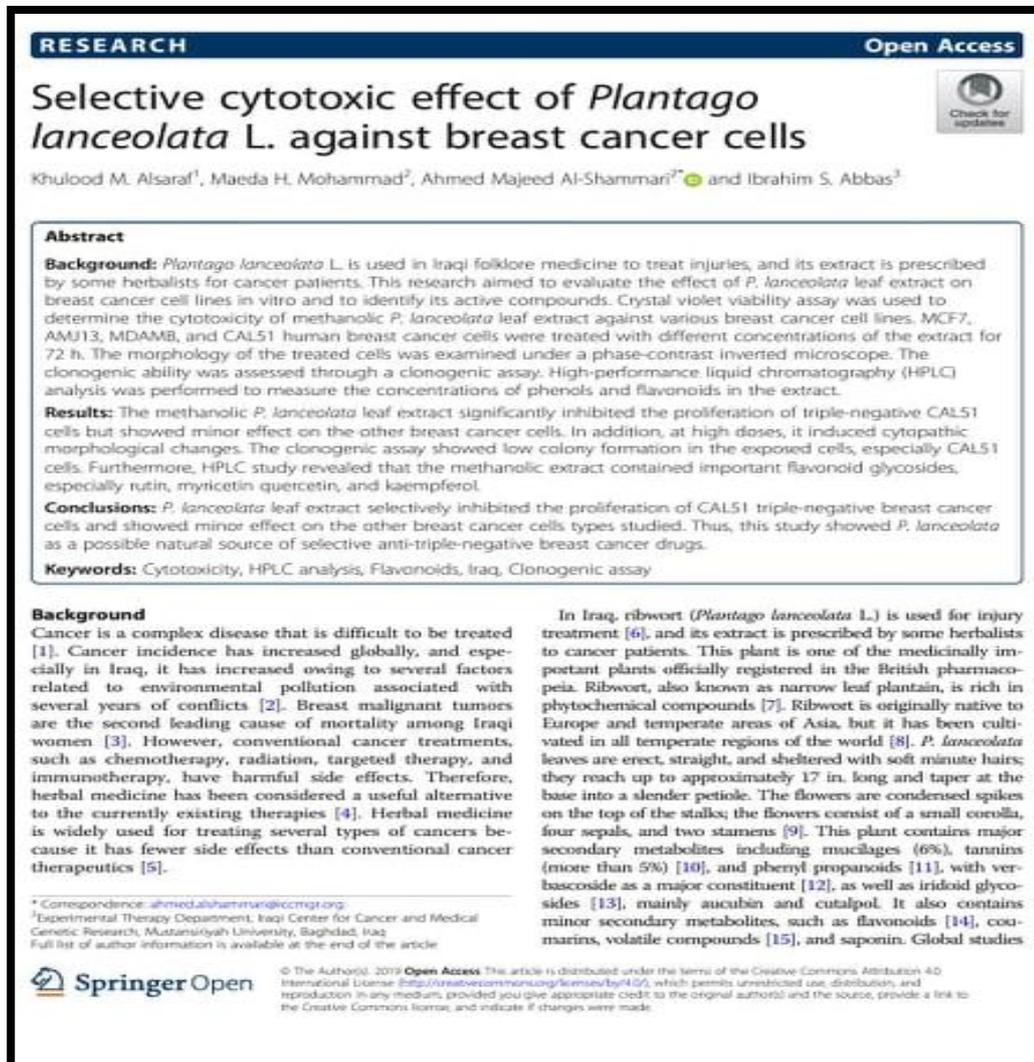
Les résultats d'une étude -visant à évaluer l'effet de *P. lanceolata* extrait de feuilles sur des lignées cellulaires de cancer du sein in vitro et pour identifier ses composés actifs.- ont montré clairement que cet extrait contenait d'importants glycosides flavonoïdes comme constituant majeur, en particulier la rutine, la myricétine, la quercétine et le kaempférol à des concentrations de 13,37  $\mu$  g, 15,27  $\mu$  g, 16,99  $\mu$  g et 15,37  $\mu$  g, respectivement. Pour l'entretien des cultures cellulaires ; des lignées cellulaires de cancer du sein humain ont été fourni (AMJ13, MCF7, MDAMB et CAL51) et ont été cultivées dans des milieux adéquats ; Ensuite, exposées à l'extrait de feuille de *P. lanceolata* à différentes concentrations. Les cellules ont ensuite été colorées avec du cristal violet et examinées au microscope inversé.

D'après le test de cytotoxicité l'extrait de feuille a montré des effets cytotoxiques des plus puissants contre la lignée cellulaire cancéreuse triple négative CAL51 avec une valeur IC50 de 23,7  $\mu$  g / ml.

Par contre, y'en a d'autres équipes qui ont trouvés que l'extrait de feuille est plus efficace contre la lignée cellulaire MCF7 avec une valeur IC50 de 142,78  $\mu$  g / ml. Pas comme l'AMJ13 qui était très résistant. (*Khulood M. Alsaraf et al., 2019*)

À cette fin, un plus grand nombre d'essais que dans la présente étude est nécessaire, dans le but d'explorer d'avantage ces pistes.

- ❖ L'idée est inspirée d'une étude faite en 2019 à Bagdad, dont laquelle ils ont montré un effet cytotoxique de l'extraits des feuilles du *Plantago lanceolata* sur des lignées cellulaires cancéreuses du cancer du sein appelées CAL51.



**Figure d'article 1 :** " Selective cytotoxic effect of *Plantago lanceolata* L. against breast cancer cells" Réalisé par Khulood M. Alsaraf en 2019

## ***Projet 2***

### **« PhytoStabilisation des sols pollués par l'antimoine (Sb) par *Plantago lanceolata* L. »**

L'antimoine est un oligo-élément avec une teneur assez faible dans la croûte terrestre. (*Kabata-Pendias et Pendias, 1984*).

Elle est considéré comme immobile géo chimiquement (*Ainsworth et al., 1990, 1991*) et, lorsqu'elle se présente sous des formes solubles, peut être facilement absorbée par les plantes.

L'antimoine n'est pas essentiel dans les plantes et, en concurrence avec les métabolites essentiels, peut même être phytotoxique (*Foy et al., 1978; Bowen, 1979*).

Les données préliminaires d'une étude biogéochimique concernant le transfert d'antimoine du sol aux plantes dans une zone d'extraction de Sb abandonnée sont présentées. *Plantago lanceolata* peut fortement accumuler dans les racines de l'antimoine lorsque sa fraction extractible dans le sol est élevée.

Cette caractéristique permettra de réduire la mobilité et la diffusion de l'antimoine contenu dans un sol dans l'environnement.

La phytostabilisation ne vise pas prioritairement la pollution, mais la fixation du polluant ; toutefois dans les cas où ce polluant est biodégradable, dégradable dans le temps ou s'il perd rapidement sa radioactivité dans le temps, un effet plus ou moins complet de dépollution peut être atteint. (*Baldock, J 2000*)

Pour cela, le *P. lanceolata* constitue le candidat idéal dans la bioindication et la phytostabilisation des sites pollués.

❖ l'idée de ce projet vient d'un article publié en 2000, réalisé par Baroni et ces collègues en Italie. D'après leurs résultats, *Plantago lanceolata* est aussi considéré comme un bioindicateur idéal grâce à sa capacité d'accumuler parfaitement l'antimoine. dans sa partie racinaire.



**Figure d'article 2:** “Antimony accumulation in *Achillea ageratum*, *Plantago lanceolata* and *Silene vulgaris* growing in an old Sb-mining area” Rédigé par Baroni et ces collaborateurs en 2000.

## *Projet 3*

### **« Stimulateur de défense naturel conférant une activité anti bactérienne à *Plantago lanceolata* »**

La réduction de la dépendance du secteur agricole envers les intrants chimiques est incontestablement l'un des plus importants défis auquel devront faire face les producteurs au cours des prochaines années.

Le but de notre projet est d'étudier l'impact d'un éliciteur abiotique (nitrate d'argent AgNO<sub>3</sub>) ajouté au sol, sur l'augmentation des métabolites secondaires indispensable dans la défense contre *Klebsiella pneumoniae* chez *Plantago lanceolata*.

Une étude récemment faite, qui a consisté à éliciter des cultures de racine transformées de *Plantago lanceolata* avec l'AgNO<sub>3</sub> dans le but d'évaluer son activité antibactérienne contre *Klebsiella pneumoniae*.

Une solution mère d'AgNO<sub>3</sub> a été préparée en étant dissoute dans de l'eau désionisée stérile et stérilisée par filtration par un filtre à membrane 0,22 µm. Le pH a été ajusté à 5,7-5,8 avant stérilisation par autoclavage à 121 °C. Les HR ont été exposés à différentes concentrations de AgNO<sub>3</sub> (5, 10 et 20 mg L<sup>-1</sup>).

Les résultats ont indiqué qu'après 24h d'élicitation par 20 mg / L AgNO<sub>3</sub>, le niveau le plus élevé de poids frais et sec (346,6 mg et 30 mg, respectivement) sont apparus. Le poids frais et sec des échantillons obtenus par 20 mg L<sup>-1</sup> AgNO<sub>3</sub>, 100 mg était plus élevé que le témoin après 24 h.

Après 48 h du traitement, Les teneurs en acide gallique des HR dans différentes parties de *P. lanceolata* ont été analysées par HPLC après avoir été traitées avec du nitrate de l'argent.

Les résultats ont démontré que la teneur en acide gallique dans la partie racine (augmentation de 1,68, 4,15 et 13,83 fois) et dans la partie aérienne (augmentation de 3,2, 6,16 et 21,14 fois) de *P. lanceolata* est supérieure à celles de HR non éliciés .

Le nitrate d'argent peut être considéré comme un éliciteur approprié en raison de l'augmentation du rendement en métabolites secondaires tels que l'acide gallique, qui est doué d'une activité antibactérienne contre *Klebsiella pneumoniae*. (Rahamooz-Haghighi, 2020)

D'après ces résultats, l'application des ressources naturelles abiotiques afin de réduire l'usage des composés chimiques, semble être la solution pour faire face aux agents pathogènes chez les plantes.

❖ Idée issue d'une étude récemment publiée en Aout, 2020 en Iran. En utilisant des cultures de racines transformées du *Plantago lanceolata*, élicitées avec du Nitrate d'argent, ils ont réussi à montrer l'impact de cet éliciteur à augmenter la production d'Acide gallique chez la plante. Qui est un élément doué d'une activité antibactérienne contre la bactérie *Klebsiella pneumoniae*.



**Figure d'article 3:** "Establishment and elicitation of transgenic root culture of *Plantago lanceolata* and evolution of its anti-bacterial and cytotoxicity activity" Redigé par Rahamooz-Haghighi et ces collègues en Aout 2020.

## ***Projet 4***

### **« Projet de création d'un pâturage de qualité »**

Un certain nombre d'études ont comparé le rendement annuel et saisonnier du plantain avec d'autres espèces fourragères. Les résultats montrent clairement que, dans certaines conditions, le plantain peut donner jusqu'à 20 000 kg / ha par an et est aussi productif que bon nombre de graminées ou trèfles communs

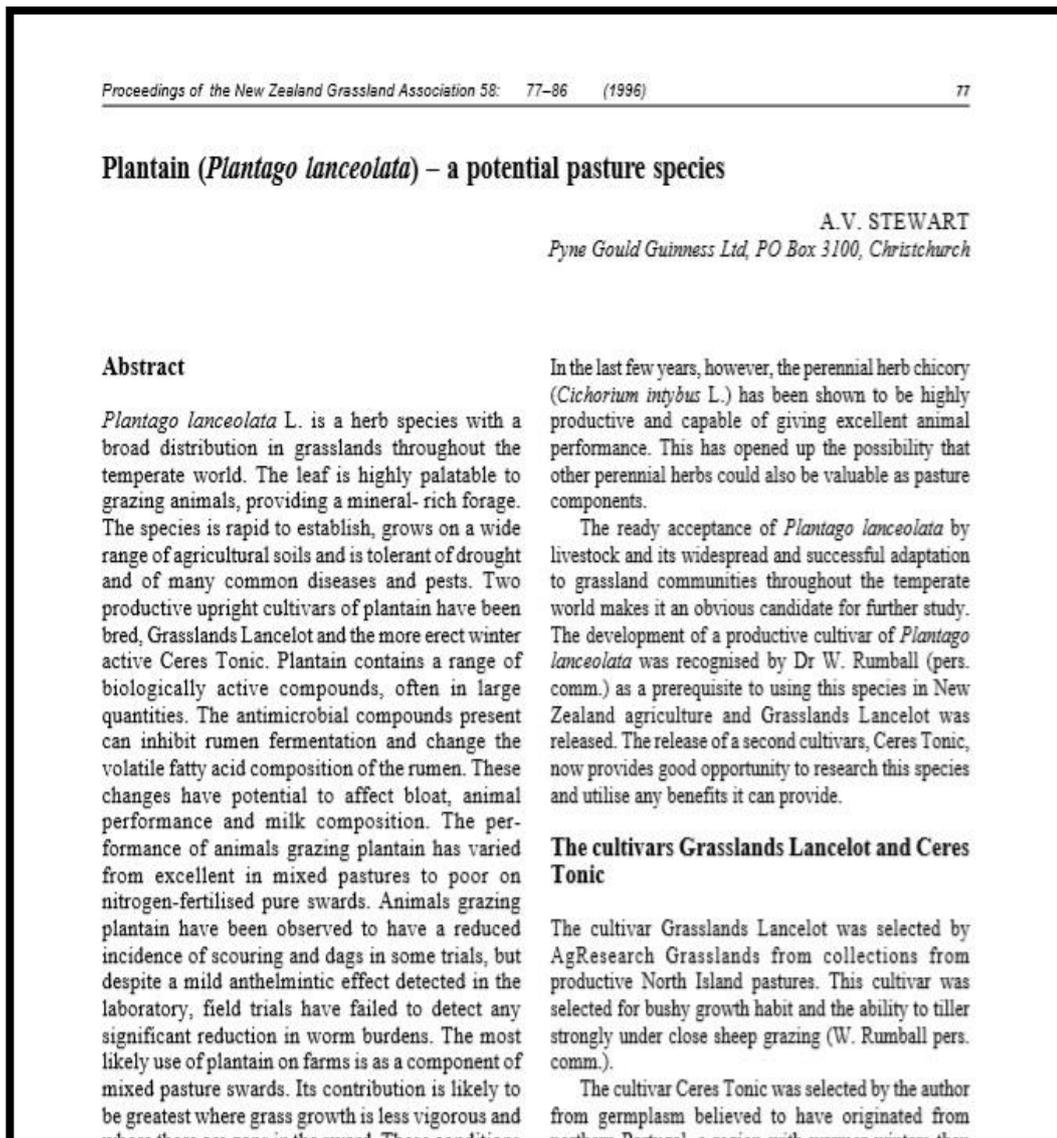
Dans les pâturages mixtes, le plantain est très appétissant pour les bovins, les moutons, les cerfs et les chevaux, et brouté sélectivement avant la plupart des légumineuses et des graminées. Les gains de poids vif des animaux ont été améliorés par l'inclusion du plantain dans les pâturages mixtes, dans les mélanges avec le trèfle rouge et blanc, le gain de poids vif des agneaux sur une pelouse plantain – trèfle était supérieur à celui sur une pelouse ray-trèfle.

La présence de composés antimicrobiens capables d'affecter le processus de fermentation du rumen est susceptible d'avoir des implications importantes pour la nutrition minérale des ruminants, les performances des animaux, la composition du lait, les ballonnements et la santé animale. (*Stewart ,A.V.1996*)

Afin d'améliorer la pousse, et stimuler les défenses du *Plantago lanceolata* contre les nuisibles, il est préférable d'utiliser les champignons mycorhiziniens symbiotiques, car ils peuvent fortement influencer le métabolisme de leur plante hôte. (*Anna Fontana et al 2009*)

Le développement d'un cultivar productif de *Plantago lanceolata* a été reconnu par le Dr W. Rumball suite à son acceptation immédiate par le bétail et la réussite de son adaptation généralisée. (*Stewart ,A.V.1996*)

- ❖ Idée issue d'un article rédigé par Stewart, où il a considéré *plantago lanceolata* comme une espèce de pâturage idéale. En citant quelques propriétés : Bon rendement, très appétissant et l'amélioration des gains du poids et de la nutrition minérale des ruminants.



**Figure d'article 4:** "Plantain (*Plantago lanceolata*) - a potential pasture species" Réalisé par A.V Stewart en 1996.

## *Projet 5*

**« Edition, par CRISPR/Cas9, du génome de *Plantago lanceolata* L., afin de lui conférer la capacité de produire du collagène humain de type I »**

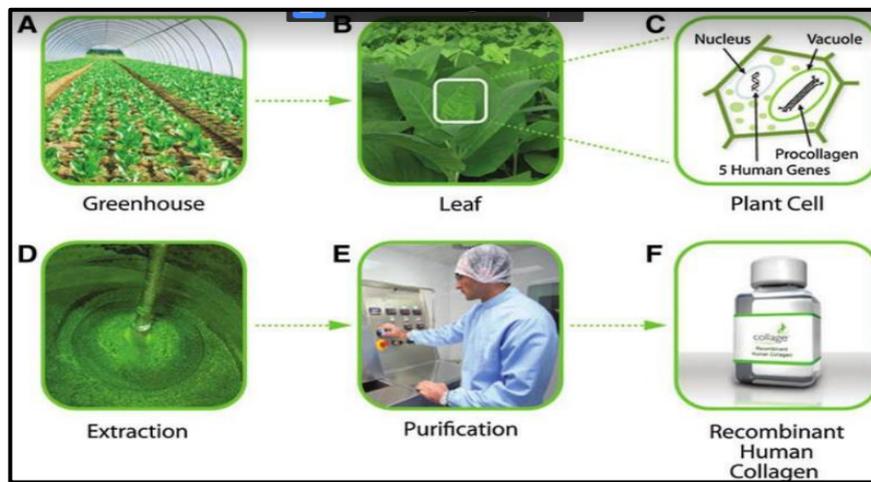
Le collagène, principale protéine du corps humain présente dans le derme, est largement utilisé dans les procédures cosmétiques, pour lisser l'aspect général de la peau ou en chirurgie reconstructive plus agressive. Il présente également de nombreuses applications : cicatrisant, peau artificielle, revêtement d'implants, pansement de blessures, traitement des cicatrices et des rides, réparation des tissus....

Des progrès dans la fabrication de cornées à base de collagène ont aussi été réalisés et peut éventuellement éviter le besoin de dons de cornée humaine. (*Griffith et al., 2009*)

Le collagène actuellement utilisé est d'origine bovine. La publication de la FDA appelant à l'interdiction de certains matériaux pour bovins dans la fabrication de produits biologiques et de dispositifs médicaux destinés aux humains, a encore accentué le besoin croissant d'alternatives de biomatériaux sûrs. Cette situation crée une demande en collagène humain produit à partir de plantes, afin d'éliminer les réactions immunitaires et la possibilité de transfert d'agents pathogènes d'origine animale.

Les voies de synthèse protéique hautement conservées entre les systèmes végétaux et eucaryotes, ainsi que l'absence d'agents pathogènes humains et animaux dans les plantes ajoutent à l'attractivité de ce système. Un autre avantage fondamental réside dans les feuilles et graines

facilement récoltables qui ont une durée de conservation prolongée et peuvent servir de moyen simple de stocker des protéines recombinantes avant l'extraction. L'expression des protéines recombinantes dans les plantes peut être encore améliorée via le tri et le ciblage de l'expression



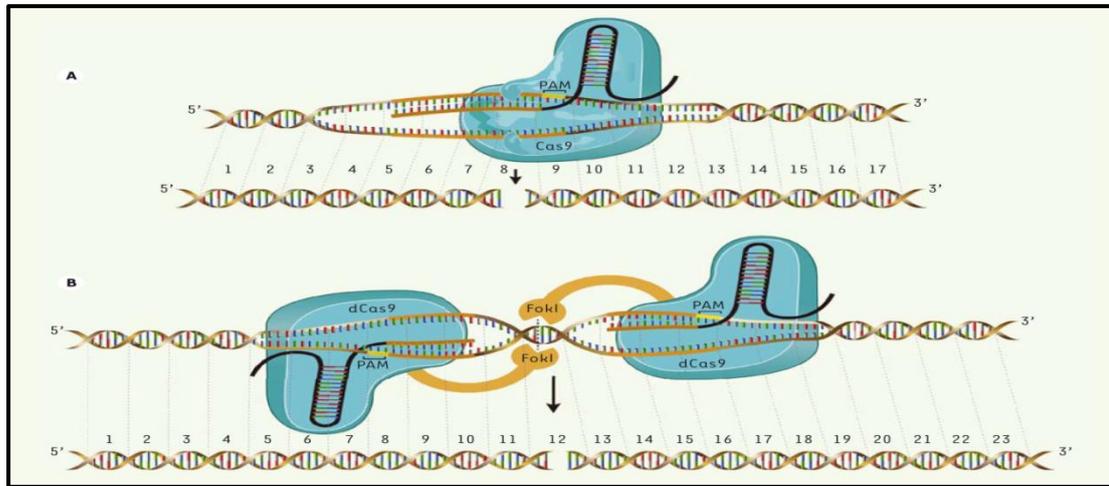
**Figure 8 :** Etapes d'obtention du collagène humain à partir de plante transgénique (*Oded Shoseyov et al.,2013*)

recombinante vers les compartiments subcellulaires, y compris le noyau, le cytosol, le chloroplaste, ou alors l'utilisation des ciseaux moléculaire, le fameux système CRISPR/cas9 (Clustered Regularly Interspaced ShortPalindromic Repeats) pour l'édition du génome de la plante cible.

La réussite de deux équipes de recherche française à produire du collagène humain avec du tabac transgénique (*OGM.org*), nous donne la perspective de tenter cette production avec *Plantago lanceolata L.*

Le principe de notre projet c'est d'introduire dans le matériel génétique non codant des cellules de *P. lanceolata* (pour ne pas endommager les gènes), un fragment d'ADNc synthétisé à partir des ARNm des gènes du collagène humain de type I COL1A1 et COL1A2, situés sur les chromosomes 17q21-22 et 7q21-22, respectivement avec la CRISPR cas9. (*Oded Shoseyov et al.,2013*)

Principe du système CRISPR/cas9



**Figure 9 :** Représentation du système CRISPR/cas9. (*Jacques P, 2015*)

A. Pour couper un gène avec la méthode CRISPR, il faut un ARN guide (ARNg) (noir et marron) complémentaire à une séquence de 17 à 20 nucléotides du gène ciblé. La seule restriction est que cette séquence doit être suivie par une séquence NGG ou NGA (appelée un PAM). L'ARNg forme un complexe avec l'ADN et la nucléase Cas9 (en bleu). La coupure par la nucléase se fait exactement trois nucléotides avant le PAM. Les lignes pointillées relient les séquences de nucléotides qui sont les mêmes avant et après la coupure. B. Pour éviter de couper des séquences d'ADN similaires à celle qui est ciblée, il est possible d'utiliser une nucléase Cas9 non-fonctionnelle (dCas9) qui est fusionnée avec la nucléase FokI. La nucléase FokI doit former un dimère pour couper l'ADN. Ce dimère ne peut être formé que si deux ARNg ciblent des séquences de nucléotides séparées de 13 à 17 nucléotides.

Ces ruptures peuvent conduire à l'inactivation du gène ou à l'introduction de gènes hétérologues à travers deux types de réparation : la jonction d'extrémités non-homologues et la recombinaison homologue. (*Jacques P, 2015*)

CRISPR/cas9 est un outil révolutionnaire qui permet de modifier le génome de n'importe quel organisme, cela donne une infinité de possibilités de créer des systèmes recombinant de plus en plus efficaces et optimisés à la molécule que l'on désire produire.

Notre projet d'allier les bienfaits naturels de *plantago lanceolata* et la production de collagène est un point de départ dans l'exploration de nouvelles possibilités.

# *Conclusion*

La recherche de nouvelles plantes à caractères thérapeutiques a surtout servi à montrer le bien-fondé de leurs utilisations. Elle a démontré aussi que notre pays recèle une biomasse végétale riche et variée. Celle-ci constitue une source incommensurable pour l'élaboration et la mise au point de nouvelles molécules actives à visée thérapeutique.

Notre travail a pour but de faire connaître le plantain lancéolé, d'étudier la composition de son huile essentielle et d'explorer sa génétique. Nous avons abordé quatre domaines où *Plantago lanceolata* peut servir, à savoir ;

La médecine, par la lutte contre le cancer ;

La protection des écosystèmes, par la phytostabilisation des sols pollués ;

L'élevage et la médecine vétérinaire ;

L'industrie pharmaceutique, à base de plantes génétiquement éditées.

Le *plantago lanceolata* représente donc une piste à ne pas négliger, afin de développer écologiquement et économiquement les régions propices à sa poussée, notamment la région de Kabylie où on la trouve abondamment.

Chaque domaine précédemment cité, représente le premier pas dans une longue course qu'il faudra mener afin d'exploiter au mieux cette ressource, et d'en tirer tous les bénéfices possibles.

# *Références Bibliographiques*

# Références

- Adler, L. Schmitt, J. Deane Bowers, M. « Genetic variation in defensive chemistry in *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae) and its effect on the specialist herbivore *Junonia coenia* (Nymphalidae) », Springer Verlag , (1995) 101:75-85.
- Ainsworth, N. Cooke, J. Johnson, M. « Distribution d'antimoine dans les prairies contaminées : 1. Végétation et sols. Pollution environnementale. » (1990) 65-65 -77.
- Ainsworth, N., Cooke, JA, Johnson, MS. « Signes biologiques de contamination de l'antimoine dans les prairies contaminées. Pollution de l'eau, de l'air et du sol », (1991) 57 -58, 193-199.
- Fontana, A. Reichelt, M. Hempel, S. Gershenzon, J et Unsicker, B. « Les effets des champignons mycorhiziens arbusculaires sur les métabolites de défense directe et indirecte de *Plantago lanceolata* L ». (2009) 35: 833 - 843
- Armstrong, D and Jude, E. « The role of matrix metalloproteinases in wound healing » (2002). 92, 12-18.
- Baldock, J. Sljemstad, J. « Role of the soil matrix and minerals in protecting natural organic materials against biological attack. *Organic Geochemistry* ». (2000) 31: 697-710.
- Bamoniri, A. Ebrahimabadi, A. Mazoochi, A. Behpour, M. Kashi, F et Batooli, H. « Antioxidant and antimicrobial activity evaluation and essential oil analysis of *Semenovia tragioides* Boiss » (2010) Article in press.
- Basile, A. Giordano, S. López-Sáez, J et Cobianchi, R. « Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. *Phytochemistry* » (1999). 52:1479-1482.
- Beara, N. Lesjak, M. Orcic, D. Simin, N. Cetojevic-Simin, D. Bozin, B. Mimica-Dukic, N. « Comparative analysis of phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of two closely-related Plantain species: *Plantago altissima* L and *Plantago Lanceolata* L » , *Food science and technology*, (2012) 47:64-70.
- Benchaar, C. Calsamiglia, S. Chaves, A. Fraser, G. Colombatto, D. McAllister, T et Beauchemin, K. « A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Journal of Animal Feed Science and Technology* » (2008). 145: 209-228.
- Bernard, M. Bernard, F. (1992) mis n ° 3, vol. 8, man 92
- Bezanger, L., Beanquesme, Pinkas, M, Torck, M et Trotin, F et Maloine, S. « *Plantes Médicinales des Régions Tempérées* » (1980); 347p.

- Bianchini et corbetta.(1975) « Atlas des plantes médicinales » Paris. 128-129p.
- Boullard, (2001). Dictionnaire « Plantes Médicinales du Monde »Paris. 416p.
- Bowen, H.(1979). «Chimie environnementale des éléments». Londres.
- Bradshaw A, « Ecological principles and landreclamation practice». Landscape Planning, 1984, 11,35–48.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.b.
- Cabaret.(1986). «167 Plantes pour soigner les Animaux », Edition du point Vétérinaire ; 40-147p.
- Carman, C and Springer, T. (2004). «A transmigratory cup in leukocyte diapedesis both through individual vascular endothelial cells and between them». 167, 377-388.
- Carson, C. Mee, B. et Riley, T. (2002). «Mechanism of Action of Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil on Staphylococcus aureus Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy». 46 (6):1914–1920.
- Cottiglia, F. Loy, G. Garau, D. Floris, C. Casu, M. Pompei, R et Bonsignore, L. (2001). «Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of Daphne gnidium L. Phytomedicine» 8 (4): 302-305.
- Cowan, M. (1999). «Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews». 12 (4): 564-582.
- Cushnie, T et Lamb, A. (2006).«Assessment of the antibacterial activity of galangin against 4-quinolone resistant strains of Staphylococcus aureus ». 13: 187–191.
- Dariington CD and Wylie, AP. (1958) «Chromosome atlas offlowering plants». London,.
- De Billerbeck, V. (2007). «Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques». 5: 249–253.
- De León, L. López, M et Moujir, L. (2010).«Antibacterial properties of zeylasterone, a triterpenoid isolated from Maytenus blepharodes, against Staphylococcus aureus»Microbiological Research, (Article in press).
- Pandita,D. Pandita,A and Pandita,S.(2015).«Cytogenetic Exploration Of Plantago Lanceolata Linn.: The Soldier's Herb, In Jammu & Kashmir(India)International Journal Of BioassaysIssn» 2278-778

- Delaquis, P. Stanich, K. Girard, B et Mazza, G. (2002). «Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of Dill cilandro, coriander and eucalyptus essential oils ».International Journal of Food Microbiology, 74: 101-109.
- Dinarello, C. (1996). « Biologic basis for interleukin-1 in disease Blood ». 87, 2095-2147.
- Dr leclerc, H. (1994) «Précis de la Phytothérapie ». Paris, 264-275-276-277p.
- Ferrag, Y.(2007).«Développement D'un Modèle De Cicatrisation Epidermique Après Une Désépidermisation Laser». Université de Toulouse.
- Fisher, K et Phillips, C. (2008). «Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? »Trends in Food Science and Technology, 19: 156-164.
- Flier.H et EJ Verspohl.(2007).«Activité antispasmodique d'un extrait de Plantago lanceolata L. et certains composés isolés».14 409–415.
- Fluck.(1977). « Herbes médicinales » Paris .10-18-19-147 p.
- Foy, C. Chaney, R. White, M. (1978). «La physiologie du métal, toxicité chez les plantes». 29 :511-566.
- Fons, F. Didier, T. Rapior, S. Gueiffier, A. Roussel, J. Gargadennec, A. Andary, C. (1999)«Laboratoire de biochimie et de physiologie moléculaire des plantes». 37 (4), 291-296.
- Geras, A. (1990) «Dermatology, a medical artist's interpretation».
- Girre, L. (2001). «Les plantes et les médicaments».
- Griffith, M. Jackson, WB. Lagali, N. Merrett, K. Li, F et Fagerholm, P. (2009). «Artificial corneas: a regenerative medicine approach»
- Grime, J.(1979). «Stratégies végétales et processus de végétation»
- Hilan, C. Bouaoun, D.Aoun, J. Sfeir, R et Garabeth, F. (2009). «Propriétés antimicrobiennes et toxicité par détermination de la DL50 de l'huile essentielle de Prangos asperula Boissier» 7: 8–14.
- Holley, R et Patel, D. (2005). «Improvement in shelf- life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials».International Journal Food .22: 273292.
- Jacques, P. (2015) «The CRISPR system can correct or modify the expression of genes responsible for hereditary diseases». 31:1014 – 1022
- Jamilah J, Sharifa A and Sharifah N. (2012). «Analysis of Various Extracts from Leaf of Plantago major Used as Traditional Medicine »17:67-70.
- Jimoh, F. Adedapo, A. et Afolayan, A. (2010). «Comparison of the nutritional value and

- biological activities of the acetone, methanol and water extracts of the leaves of *Solanum nigrum* and *Leonotis leonorus* »*Food and Chemical Toxicology*. 48: 964–971.
- Jahier, J. (1992). «Techniques de cytogénétique végétale»Edition INRA, Paris,
  - Johnston, D. (1992). «Cicatrisation des plaies cutanées». *Le Point Vétérinaire*. 24.p21-34.
  - Kabata-Pendias, A. Pendias, H. (1984). «Oligo-éléments dans les sols et Les plantes».
  - Kanitakis, J. (2002). «Anatomy,histology and immunohistochemistry of normal human skin»12(4) .pp390-401.
  - Khattak, S. Rehman, U. Shah, U. Ahmad, K et Ahmad, M. (2005). « Biological effects of indigenous medicinal plants *Curcuma longa* and *Alpinia galangal*».76: 254257.
  - Alsaraf ,M. Mohammad,H.Al-Shammari, A. Abbas,S.(2019) .« Selective cytotoxic effect of *Plantago lanceolata* L. against breast cancer cells ».Journal of the Egyptian National Cancer Institute.31:10
  - Kloth, L. McCulloch, J.M. (2002). «Wound Healing, Alternatives in Management»
  - Kolak ,U. BořGa ,M. Akalin, U. Ulubele ,A .(2011). «Constituents of *Plantago majorsubsp. intermedia* with antioxidant and anticholinesterase capacity». 35, 637- 645.
  - Kulidjian, A. Inman, R and Issekutz, T. (1999). «Rodent models of lymphocyte migration»*Seminars in immunology* 11, 85-93.
  - Kunle, O. Okogun, J. Egamana, E. Emojevwe, E et Shok, M. (2003). «Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract ».Journals of *Phytomedicine*, 10: 59-61.
  - Lee, K. Everts, H. et Beynen, A. (2004). «Essential Oils in Broiler Nutrition». *International Journal of Poultry Science*, 3 (12): 738-752.
  - Lefevre, C. Kammerer, M.Le Guenic, M. Roussel, P. Alby, C. Linclau, O. Cartaud, G. Tainturier, D. Larrat, M et Bareille, N. (2008). «Le traitement des mammites cliniques de la vache laitière par des huiles essentielles». *Innovations Agronomiques*, 4: 79-83.
  - Delavary, B. van der Veer, W. van Egmond, M. Niessen, F and Beelen, H. (2011). *Macrophages in skin injury and repair*.(216), 753-762.
  - Witte,B. Barbul,A .( 1997). « General principles of wound healing».Surgical clinics of North America.; 77,( 3),509-528.
  - Mekidech, S. Brakchi-Ouakour,L. Kadik,L. (2018). « Impact des perturbations anthropiques sur la diversité végétale de la subéraie de Chréa, au nord de l'Algérie » *Bois et Forêts des Tropiques*.337-3- p. 53-66.

- Moore, G. Sanford, P and Wiley. (2006). «Perennial pastures for Western Australia» Department of Agriculture and Food Western Australia. Perth.
- Navarro, V. Villarreal, M. Rojas, G et Lozoya, X. (1996). «Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases». *Journal of Ethnopharmacology*. 53: 143-147.
- Nenaah, G. (2010). «Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of *Peganum harmala* (L) seeds and their combination effects». *Fitoterapia*. (Article in press).
- Nostro, A. Germano, M. D'angelo, V. Marino, A et Cannatelli, M. (2000). «Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases». *Journal of Ethnopharmacology*, 53: 143-147.
- Shoseyov, O. Posen, Y et Grynspan, F. (2013). «Collagène humain recombinant de type I produit dans les plantes» Rehovot, Israël. Partie A 19-13 -14,
- Oroojalian, F. Kasra-Kermanshahi, R. Azizi, M et Bassami, M. (2010). «Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens». *Food Chemistry*, 120: 765–770.
- Oummad, A. (2003). «Cicatrisation et plaie cutanée chez l'enfant». [thèse de doctorat]. Souissi : Université Mohammed V. Rabat.
- Page-McCaw, A. Ewald, A and Werb, Z. (2007). «Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling». 8, 221-233.
- Pennachio, M. Kemp, A. Taylor, R. Wickens, K et Kienow L. (2005). «Interesting biological activities from plants traditionally used by Native Australians». *Journal of Ethnopharmacology*, 96: 597-601.
- Prakash. V, Bisht. H, Prasad. P, Altitudinal variation in morpho-physiological attributes in *Plantago major*: Selection of suitable cultivation site, *Res. J. Med. Plant*, 2011, 5, 302-311
- Quezel et Santa (1963). «Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales» 864p.
- Quílez, A. Berenguer, B. Gilardoni, G. Souccar, C. de Mendonça, S. Oliveira, L. Martín-Calero, M et Vidari, G. (2010). «Anti-secretory, anti-inflammatory and anti-*Helicobacter pylori* activities of several fractions isolated from *Piper carpubya* Ruiz & Pav. *Journal of Ethnopharmacology*, 128: 583–589.

- Rahamooz-Haghighi, S. Bagheri, K. Sharafi, A. Danafar, H. (2020) « Establishment and elicitation of transgenic root culture of *Plantago lanceolata* and evaluation of its anti-bacterial and cytotoxicity activity ».
- Ramasastry, S. (2005). «Acute wounds». 32, 195-208.
- Rauha, J. Remes, S. Heinonen, M. Hopia, A. Kähkönen, M. Kujala, T. Pihlaja, K. Vuorela, H. et Vuorela, P. (2000). «Antimicrobial effects of Finnish plant extract containing flavonoids and other phenolic compounds». *International Journal of Food Microbiology*. 56: 3–12
- Reinke, J and Sorg, H. (2012). «Wound repair and regeneration». 49, 35-43.
- Singer, A et Clark, R. (1999) «Cutaneous wound healing». 341(10):738-46.
- Smith, K et Dean, S. (1998). «Tissue repair of the epidermis and dermis». P95-104.
- Stewart, A. (1996). « Plantain (*Plantago lanceolata*) – a potential pasture species ». *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*. 58: 77–86
- Tajkarimi, M. Ibrahim, S et Cliver, D. (2010). «Antimicrobial herb and spice compounds in food». *Food Control*. (Article in press).
- Tchamdja K. (1995). «Etude de performance d'un extracteur artisanal pour la production d'essence de citronnelle». *Mémoire d'ingénieur des travaux biologiques*, p 95.
- Tepe, B. Akpulat, H. Sokmen, M. Daferera, D. Yumrutas, O. Aydin, E. Polissiou, M et Sokmen, A. (2006). «Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisatum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey». *Food Chemistry*, 97: 719-724.
- Thurzova, (1985). « Les plantes-Santé qui poussent autour de nous », édition Bordas Bruxelles : 64p.
- Ticli, 1999 ; Tutel et al. (2005) ; Hassawi et Kharma, 2006 ; Kolak et al. 2011.
- Van damm, J & van delden, W. «Gynodioecy in *Plantago lanceolata* L. i. Polymorphism for plasmon type » *Heredity*, (1982). 49(3), 303—318
- Voravuthikunchai, S. Sririrak, T. Limsuwan, S. Supawita, T. Lida, T et Hond, T. (2005). «Inhibitory effect of active compounds from *Punica granatum* on verocytotoxin production by Enterohemorrhagic *Escherichia coli* ». *Journal of Health Science*, 51 (5):590-596.
- Whalen, G. Zetter, B. Cohen, K. Diegelmann, R and Lindblad, W. (1992). «Angiogenesis» Philadelphia.

- Zhang, J. Shen, Q. Lu, J. Li, J. Liu, W. Yang, J. Li, J. et Xiao, K. (2010). «Phenolic compounds from the leaves of Cyclocarya paliurus (Batal) Ijinskaja and their inhibitory activity against PTP1B. Food Chemistry» 119: 1491-1496.

### **Sites internet**

- [OGM.org](http://www.ogm.org/OGM%20et.../OGM%20et%20santé/la-production-de-collagene-humain.html) <http://www.ogm.org/OGM%20et.../OGM%20et%20santé/la-production-de-collagene-humain.html>
- [Formationambulancier.fr](https://www.formationambulancier.fr/17-aux/17100-aux-module-1/17115-aux-plaie.htm) <https://www.formationambulancier.fr/17-aux/17100-aux-module-1/17115-aux-plaie.htm>