

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA – Béjaia



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie
Spécialité : Biotechnologie et santé

Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème :

**Évaluation de l'effet protecteur des extraits d'une
plante médicinale sur la cytotoxicité liée aux xénobiotiques**

Présenté par : Salhi Manel

Soutenu le : 07/07/2025

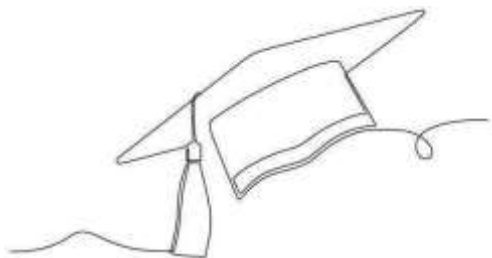
Devant le jury composé de :

Mme REMILA .S
Mme MEHENNI .C
Mme MEZIANI .S

MCB
MCB
MCA

Présidente
Encadrante
Examinatrice

Année Universitaire : 2024 / 2025



Remerciements

Louange à Allah, source de force et de sagesse, qui nous a permis d'achever ce travail avec patience et détermination, malgré les difficultés rencontrées.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon encadrante, **Mme MEHENNI. C**, pour son accompagnement constant, sa disponibilité, ainsi que pour ses conseils pertinents qui ont grandement contribué à la réalisation de ce mémoire.

Je remercie également **Mr IGUEROUADA. M**, pour m'avoir ouvert les portes de son laboratoire et permis d'y effectuer mes travaux pratiques dans des conditions favorables.

Mes remerciements s'adressent aussi à **Mme REMILA. S** et **Mme MEZIANI. S**, membres du jury, pour l'honneur qu'elles me font en acceptant d'évaluer ce mémoire, ainsi que pour leurs observations et suggestions précieuses.

Je n'oublie pas **Mme BOUDJOU** et **Mme ABDELOUHAB**, **Mme AIT ALI** ainsi que l'ensemble des enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, qui ont su transmettre leur savoir avec passion et bienveillance tout au long de mon cursus.

À ma famille, je dédie une pensée pleine de gratitude pour leur soutien indéfectible, leurs encouragements et leur amour, sans lesquels cette étape n'aurait pu être franchie.

Enfin, merci à toutes les personnes, proches ou lointaines, qui m'ont soutenue, orientée ou motivée, même par un simple mot, dans la concrétisation de ce projet de fin d'études.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à ma famille, qui a été mon pilier tout au long de ce parcours.

À mon père, pour sa sagesse, son amour constant et ses conseils éclairés. Ta présence et ton soutien inébranlable m'ont permis d'avancer et de surmonter les obstacles avec confiance.

Merci pour tout ce que tu fais pour moi, chaque jour.

À ma mère, pour son amour infini et son dévouement sans limite. Tu es ma source de force, et je te suis éternellement reconnaissante pour ton soutien sans faille. Tu as toujours cru en moi, même dans les moments où je doutais.

À mon frère et ma sœur, pour leur soutien précieux et leurs encouragements. Vous avez toujours été là pour me motiver et me rappeler que je ne suis jamais seule dans cette aventure.

À mes amis, à mes copines de promotion, pour leur amitié et leurs rires partagés durant ces années d'études. Vous avez égayé mon quotidien et rendu ce parcours plus agréable. Ce mémoire est aussi le fruit de nos moments passés ensemble.

Merci à chacun de vous pour votre amour, votre soutien et votre présence.



Manel

Sommaire :

Sommaire	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	1

Chapitre I : Présentation de *Tamarix gallica*

I.1. Classification taxonomique de <i>Tamarix gallica</i>	3
I.2. Description botanique de <i>Tamarix gallica</i>	4
I.3. Importance en pharmacopée traditionnelle.....	5
I.4. Composition phytochimique de <i>Tamarix gallica</i>	6
I.5. Propriétés biologiques de <i>Tamarix gallica</i>	6

Chapitre II : Impact des pesticides sur la fertilité masculine

II.1. Définition des xénobiotiques.....	8
II.2. Classification des pesticides	8
II.3. Modes d'exposition et accumulation dans l'organisme	9
II.4. Les pesticides organophosphorés et pyréthri-noïdes.....	10
II.5. Mécanismes d'action	11
II.6. Impact de la deltaméthrine et de pirimiphos-méthyl.....	12

Chapitre III : Biologie et mobilité des spermatozoïdes

III.1. Structure du spermatozoïde.....	14
III.2. Classification des spermatozoïdes	14
III.3. Importance du flagelle et des protéines associées à la mobilité.....	15
III.4. Facteurs influençant la mobilité spermatozoïdaire	16
III.5. Effets des pesticides sur les protéines du flagelle et sur les mitochondries	17
III.6. Conséquences sur la fertilité et la reproduction	19

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV.1. Matériel végétal.....	21
IV.1.1. Récolte des feuilles.....	21
IV.1.2. Broyage et tamisage	21
IV.2. Préparation des extraits bruts	21
IV.3. Dosage des composés phénoliques des extraits de <i>Tamarix gallica</i>	22
IV.3.1. Dosage des phénols totaux (TPC).....	22
IV.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC).....	23
IV.3.3. Dosage des tanins condensés	23

IV.3.4. Dosage des tanins hydrolysables.....	24
IV.4. Mesure du pouvoir antioxydant.....	25
IV.4.1. Pouvoir scavenger contre le radical hydroxyle (OH).....	25
IV.4.2. Activité anti-radicalaire contre le radical DPPH.....	26
IV.4.3. Activité anti-radicalaire selon le test ABTS ⁺	27
IV.5. Évaluation de la toxicité des deux pesticides sur la motilité des spermatozoïdes	28
IV.6. Évaluation de la toxicité de l'extrait de <i>Tamarix gallica</i>	29
IV.7. Évaluation de l'effet protecteur de l'extrait contre la toxicité des pesticides sur les spermatozoïdes.....	30
IV.8. Test de peroxydation lipidique.....	31
IV.9. Etude statistique.....	32

Chapitre V : Résultats et Discussion

V.1. Taux d'extraction.....	33
V.2. Teneurs en composés phénoliques.....	33
V.2.1. Polyphénols totaux.....	33
V.2.2. Flavonoïdes.....	34
V.2.3. Tanins hydrolysables.....	34
V.2.4. Tanins condensés.....	34
V.3. Évaluation du pouvoir antioxydant.....	35
V.3.1. Activité scavenger contre le radical DPPH.....	35
V.3.2. Activité scavenger contre le radical ABTS.....	35
V.3.3. Pouvoir scavenger contre radical hydroxyle (OH).....	36
V.4. Évaluation de la toxicité sur la mobilité des spermatozoïdes.....	37
V.4.1. Toxicité des pesticides sur la mobilité des spermatozoïdes.....	38
V.4.2. Toxicité de l'extrait brut des feuilles de <i>T. gallica</i> sur les spermatozoïdes	39
V.5. Effet protecteur de l'extrait des feuilles de <i>Tamarix gallica</i> contre les pesticides	41
V.5.1. Protection contre le Pirimiphos-méthyl.....	42
V.5.2. Protection contre la Deltaméthrine.....	43
V.6. Effet protecteur de l'extrait de <i>T. gallica</i> sur la peroxydation lipidique induite par les pesticides.....	45
V.6.1. MDA – Pirimiphos-méthyl.....	45
V.6.2. MDA – Deltaméthrine.....	47
V.7. Analyse des pourcentages de mobilité des spermatozoïdes (rapides, PR, PM)	48
Conclusion.....	51
Références bibliographiques.....	52
Annexes.....	
Résumé.....	

Liste des Abréviations

<i>Abréviation</i>	<i>Signification</i>
8-OHdG	8-oxo-2'-déoxyguanosine
ABTS	2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique acid)
AChE	Acétylcholinestérase
ADN	Acide désoxyribonucléique
AKAPs	A-Kinase Anchoring Proteins
AlCl₃ / AlCl₃	Chlorure d'aluminium
AMPc	Adénosine Monophosphate Cyclique
AT	Acide tannique
ATP	Adénosine triphosphate
CAT	Catéchine
CASA	Computer Assisted Sperm Analysis
Ca²⁺	Ion calcium
CH₃CO₂Na	Acétate de sodium
DDE	Dichlorodiphényldichloroéthylène
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DLM / DM	Deltaméthrine
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EAG / EAG / GAE	Equivalent acide gallique / Gallic Acid Equivalent
EAT / AT	Equivalent acide tannique / Acide tannique
ECAT	Equivalent catéchine
EFSA	European Food Safety Authority
EQ / EQ / QE	Equivalent quercétine / Quercetin Equivalent
ET	Equivalent tannique
EV	Equivalent vanilline
FeSO₄	Sulfate ferreux
FIV	Fécondation <i>in vitro</i>
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
KIO₃	Iodate de potassium
MDA	Malondialdéhyde
MMP	Potentiel de Membrane Mitochondriale
mtDNA	ADN mitochondrial
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
NaCl	Chlorure de sodium
NCBI	National Center for Biotechnology Information
OH	Radical hydroxyle
OMS / WHO	Organisation mondiale de la santé / World Health Organization
PMM / PM	Pirimiphos-méthyl
PR	Progressifs rapides
QS	Quercetin Equivalent (non accentué)
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
ROS	Espèces Réactives de l'Oxygène
SPZ	Spermatozoïdes
SYN	Synergie (Extrait + Vitamine E)
TBA	Acide thiobarbiturique
TCA	Acide trichloroacétique
TFC	Flavonoïdes totaux
TPC	Phénols totaux
VAP	Vitesse moyenne le long de la trajectoire
VCL	Vitesse curviligne
VIT E	Vitamine E
VSL	Vitesse en ligne droite

Liste des Tableaux

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
<i>I</i>	Classification taxonomique du <i>T.gallica</i>	<i>3</i>
<i>II</i>	Groupes expérimentaux pour l'évaluation de l'effet protecteur des extraits bruts de <i>T.gallica</i>	<i>32</i>

Liste des Figures

<i>N° de Figure</i>	<i>Titres</i>	<i>Page</i>
1	Photosoriginales du <i>Tamarix gallica</i> .	4
2	Carte du monde montrant la densité du genre <i>Tamarix</i> .	5
3	Classification des pesticides.	8
4	Les différents modes d'exposition aux pesticides.	9
5	Structures chimiques générales des insecticides organophosphorés et pyréthrinoïdes .	10
6	Représentation schématique du mode d'action des principaux insecticides.	11
7	Mode d'action des Pyréthrinoïdes sur les neurones.	12
8	Représentation schématique d'un spermatozoïde de Mammifère.	14
9	Observation en microscopie électronique à transmission d'une coupe transversale d'axonème (A) et d'une coupe transversale de flagelle au niveau de la pièce intermédiaire (B).	16
10	Rôle de la vitamine E et C dans la terminaison de la peroxydation lipidique.	17
11	Schéma montrant les effets des pesticides organophosphorés et organochlorés sur la fonction mitochondriale des spermatozoïdes.	19
12	Schéma illustrant le rôle des mitochondries dans la production d'énergie et de ROS chez les spermatozoïdes.	21
13	Protocole expérimental de l'extraction des composés actifs des feuilles de <i>T. gallica</i> .	22
14	Réaction de formation du complexe entre les composés phénoliques et le réactif de Folin-Ciocalteu.	23
15	Mécanisme de formation du complexe flavonoïde-AlCl ₃ .	24
16	Réaction de condensation des tanins avec le réactif de vanilline.	25
17	Principe du dosage des tanins hydrolysables par complexation avec l'acide ferrique .	26
18	Mécanisme d'inhibition du radical hydroxyle (OH) par les antioxydants extraits.	27
19	Réduction du radical DPPH· en présence d'antioxydants, traduite par un changement de couleur.	28

20	Mécanisme de neutralisation du radical ABTS $\cdot+$ par les antioxydants.	29
21	Taux de phénols totaux (mg EAG/g), flavonoïdes (mg EQ/g), tannins hydrolysables (mg AT/g) et tannins condensés (mg CAT/g) dans les extraits de feuilles de <i>T. gallica</i> .	36
22	Evaluation du pouvoir anti-radicalaire au DPPH de l'extrait brut des feuilles <i>T.gallica</i> , comparé à la catéchine.	37
23	Evaluation du pouvoir anti-radicalaire à l'ABTS de l'extraits brut des feuilles de <i>T.gallica</i> comparé à la quercétine.	38
24	Effet scavenger de l'extrait brut des feuilles de <i>Tamarix gallica</i> comparé à celui de la quercétine sur le radical hydroxyle (OH).	39
25	Paramètres cinématiques des spermatozoïdes de caprin co-incubés avec le Deltaméthrine et le Pirimiphos-méthyl .	40
26	Paramètres cinématiques des spermatozoïdes de caprin co-incubés avec l'extrait brute des feuilles de <i>T.gallica</i> .	43
27	Paramètres cinématiques des spermatozoïdes caprins co-incubés avec l'extrait brut de <i>Tamarix gallica</i> et/ou la vitamine E, suivie d'une exposition <i>in vitro</i> au PPM	44
28	Paramètres cinématiques des spermatozoïdes caprins co-incubés avec l'extrait brut de <i>Tamarix gallica</i> et/ou la vitamine E, suivie d'une exposition <i>in vitro</i> à la DLM	46
29	Taux de malondialdéhyde (MDA) mesurés dans le culot cellulaire après co-incubation avec l'extrait brut de <i>Tamarix gallica</i> et/ou la vitamine E, suivie d'une exposition <i>in vitro</i> des spermatozoïdes caprins au PPM.	48
30	Taux de malondialdéhyde (MDA) mesurés dans le culot cellulaire après co-incubation avec l'extrait brut de <i>Tamarix gallica</i> et/ou la vitamine E, suivie d'une exposition <i>in vitro</i> des spermatozoïdes caprins à la DLM.	49
31	Pourcentages de spermatozoïdes rapides (R), progressifs rapides (PR) et progressifs moyens (PM) après exposition <i>in vitro</i> des spermatozoïdes caprins au pirimiphos-méthyl et à la deltaméthrine, suivie d'une co-incubation avec l'extrait brut de <i>Tamarix gallica</i> et/ou la vitamine E.	50

Introduction

Introduction

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales sont reconnues pour leurs vertus thérapeutiques, en particulier grâce à leur richesse en composés bioactifs tels que les polyphénols. Ces substances naturelles, connues pour leurs propriétés antioxydantes, jouent un rôle fondamental dans la protection des cellules contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS), responsables du stress oxydatif (Chevallier, 1996 ; Bhooshan *et al.*, 2009). Ce dernier est impliqué dans de nombreuses pathologies chroniques, incluant les troubles de la reproduction et l'infertilité masculine (Martin and Andriantsitohaina 2002 ; Dubois-Deruy *et al.*, 2020).

Dans ce contexte, une problématique préoccupante a attiré notre attention : l'augmentation inquiétante des cas de malformations fœtales et de baisse du taux de grossesse chez les agriculteurs exposés quotidiennement aux pesticides (Mostafalou & Abdollahi, 2017 ; García *et al.*, 2018). En effet, dans certaines régions agricoles, des observations sur le terrain ont révélé une fréquence anormale de troubles de la fertilité, particulièrement chez les fermiers manipulant régulièrement des produits phytosanitaires (Bretveld *et al.*, 2008 ; Lerro *et al.*, 2015). Cette situation nous a poussés à interroger les mécanismes responsables de ces altérations et à rechercher des solutions naturelles capables d'en atténuer les effets délétères.

Parmi les toxines environnementales les plus incriminées figurent des pesticides comme la deltaméthrine (un pyréthrianoïde) et le pirimiphos-méthyl (un organophosphoré), utilisés massivement dans le secteur agricole. Ces composés, bien que performants sur le plan agronomique, sont reconnus pour leurs effets nocifs sur la santé humaine, notamment sur la fonction reproductrice masculine. Ils induisent un stress oxydatif important, altèrent les mitochondries et réduisent la motilité des spermatozoïdes, paramètre clé dans l'évaluation de la fertilité (Savitz *et al.*, 2001 ; Haleng *et al.*, 2007 ; Sharma *et al.*, 2013 ; Tudi *et al.*, 2021).

Dans le but de proposer une alternative naturelle, notre attention s'est portée sur le *Tamarix gallica*, une plante de la famille des *Tamaricaceae*, riche en flavonoïdes, tanins et autres composés antioxydants (KalamUr *et al.*, 2016 ; Said *et al.*, 2018 ; Alshehri *et al.*, 2022). Traditionnellement utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes (Chebaibi *et al.*, 2020).

Tamarix gallica présente un fort potentiel en tant qu'agent protecteur contre les agressions chimiques, bien que ses effets sur la fertilité masculine n'aient encore jamais été explorés dans notre contexte. Son abondance locale, facilitée par les conditions agro-climatiques favorables de notre pays, en fait une ressource thérapeutique accessible, durable et prometteuse.

Face à cette problématique, l'évaluation des effets protecteurs des extraits de *Tamarix gallica* sur la toxicité reproductive induite par la deltaméthrine et le pirimiphos-méthyl constitue un enjeu majeur. Cette étude vise à explorer l'effet antioxydant de cette plante sur la cytotoxicité exercée sur les spermatozoïdes, en mettant l'accent sur la préservation de la motilité spermatique, et donc de la fertilité. Le travail comprend l'extraction des composés phénoliques, la caractérisation de leur activité antioxydante, ainsi que l'évaluation de leurs effets protecteurs contre les perturbations induites par les pesticides.

À travers cette recherche, nous espérons démontrer le potentiel de *Tamarix gallica* en tant qu'agent naturel de protection contre les effets délétères des xénobiotiques sur la fertilité masculine, et contribuer à la valorisation des ressources végétales dans une approche thérapeutique innovante et respectueuse de la santé humaine dans une approche d'investigation encore peu documentée, ce qui lui confère une originalité scientifique particulière.

Chapitre I :
Présentation de
Tamarix Gallica

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'Antiquité pour prévenir et traiter une multitude de maladies et de troubles de santé. Aujourd'hui encore, de nombreux médicaments modernes tirent parti de leurs propriétés thérapeutiques. Bien que certaines pratiques traditionnelles reposent sur des croyances, d'autres ont jeté les bases de la médecine actuelle en contribuant à l'amélioration de la santé humaine (Chevallier, 1996).

Les Tamaricacées, un genre originaire d'Afrique et d'Eurasie, se développe principalement dans les zones semi-arides et les milieux humides des régions tempérées à tropicales. Il comprend plus de 60 espèces d'arbres et d'arbustes pouvant atteindre jusqu'à cinq mètres de hauteur (Said *et al.*, 2018).

En Algérie, *Tamarix* est largement répandu du littoral jusqu'au Sahara, bien que peu étudié. Son identification est complexe en raison de sa courte période de floraison et de la forte ressemblance entre ses espèces (Battandier, 1907). Selon Quézel et Santa (1962), dix espèces de *Tamarix* sont recensées dans le pays, parmi lesquelles *T. gallica*, *T. aphylla* et *T. africana*. Présent principalement sur les côtes méditerranéennes, *Tamarix gallica* est reconnu pour sa capacité à s'adapter à des conditions climatiques extrêmes (Bencherif *et al.*, 2019). En Algérie, il est la seule espèce de son groupe dont la présence est confirmée dans la flore locale (Battandier, 1907).

II. Classification Taxonomique du *Tamarix gallica*

La classification taxonomique de *Tamarix gallica* est présentée ci-dessous (**Tableau I**).

(Gaskin & Schall, 2003) (Younous *et al.*, 2005).

Tableau I : Classification taxonomique du *T. gallica*

Rang Taxonomique	Classification	Noms vernaculaires
Règne	Plantae	En Algérie : Tarfa ou Tarfaïa ou Amemmay (Younous <i>et al.</i> , 2005),
Division	Magnoliophyta	
Classe	Magnoliopsida	

Sous-classe	Dilleniidae (ou Caryophyllidae)	<p>En Inde : Jhau ou Jhuva (Srivastava & Choudhary, 2014),</p> <p>En anglais: Tamarisk ou Saltcedar (Baum, 1978).</p>
Ordre	Caryophyllales	
Famille	Tamaricaceae	
Genre	<i>Tamarix</i>	
Espèce	<i>Tamarix gallica</i>	



Figure 1 : Photos originales du *Tamarix gallica*.

12 Description botanique de *Tamarix gallica* :

Tamarix gallica est un arbuste (**figure 1**) atteignant 8 m, au port variable (Drabu *et al.*, 2012). Son écorce passe de lisse et rougeâtre à fissurée et brun-violet avec l'âge (Burnie, 2001). La floraison, entre juin et août, produit des fleurs hermaphrodites en épis, pollinisées par les abeilles (Baum, 1978). Il fleurit de mars à septembre, avec un pic en mai et parfois en août. Ses fleurs libèrent des graines légères dispersées par le vent et l'eau, nécessitant un sol humide pour germer (Khan *et al.*, 2006). Présent (**figure 2**) autour du bassin méditerranéen, en Afrique du Nord et en Asie du Sud, *Tamarix gallica* pousse en zones côtières, berges et milieux salins (Lavaine *et al.*, 2011).

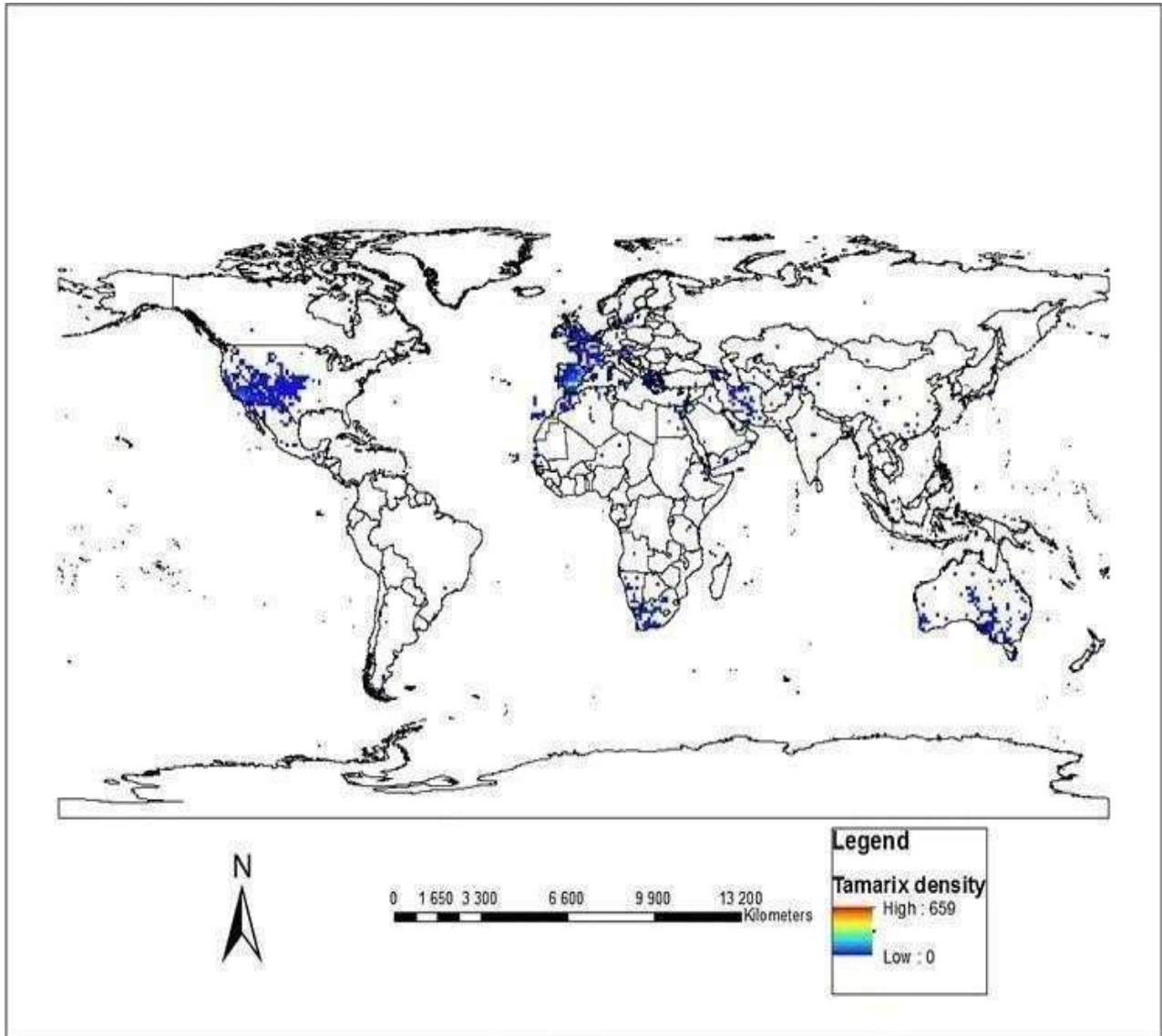


Figure 2 : Carte du monde montrant la densité du genre *Tamarix* (Mayonde *et al.*, 2015). Les données ont été dérivées des coordonnées ponctuelles des registres d'herbier (GBIF 2016) et enquêtes de terrain .

I3. Importance en pharmacopée traditionnelle

Depuis des siècles, *Tamarix gallica* est employée en médecine traditionnelle pour traiter diverses affections, notamment le paludisme, les rhumatismes, les gingivites et les hémorroïdes (Sultanova *et al.*, 2004 ; Tagarelli *et al.*, 2010). Ses galls, utilisées en décoction ou en pommade, soulagent les ulcères et les infections buccales, tandis que ses feuilles et son écorce possèdent des propriétés expectorantes, diurétiques et laxatives (Chopra *et al.*, 2000). Grâce à son action astringente, cette plante est bénéfique contre les hémorragies digestives et les ulcères (Panwar & Abro, 2007).

Elle est également reconnue pour ses effets anti- inflammatoires, hépatoprotecteurs et vermifuges (Sehrawat & Sultana, 2006 ; Bensatal & Ouahrani, 2008). Par ailleurs, son miel, aux vertus antimicrobiennes et cicatrisantes, est intégré dans des préparations thérapeutiques, telles que des sirops et infusions, pour traiter les troubles digestifs et hépatiques (Ferreira *et al.*, 2009 ; Boussaid *et al.*, 2018).

1A Composition phytochimique de *Tamarix gallica*

Tamarix gallica est une plante médicinale riche en composés bioactifs, expliquant ses nombreuses applications pharmacologiques. Parmi ses constituants majeurs, on retrouve une forte teneur en tanins (50 %), principalement sous forme de gallotannins et d'ellagitanins, ainsi que des flavonoïdes tels que la quercétine, le kaempférol et des dérivés rares comme la tamarixétine (Kirtikar & Basu, 1996 ; Orabi *et al.*, 2015).

Les polyphénols, notamment les acides ellagique, gallique et caféique, confèrent à la plante des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (Rasouli *et al.*, 2017). Elle contient également des coumarines (4-méthylcoumarine) et des saponines, renforçant son potentiel thérapeutique (Rasouli *et al.*, 2017).

Des analyses ont mis en évidence la présence de triterpènes (β -sitostérol, acide ursolique), de sesquiterpènes (β -caryophyllène, α -bisabolol) et d'huiles essentielles (rendement de 0,07 à 0,57 %) (Bughio *et al.*, 2018). En outre, la plante renferme divers phytostérols (stigmastérol, avenastérol) et hydrocarbures aliphatiques (Andhiwal *et al.*, 1982).

La teneur en composés phénoliques varie selon les conditions climatiques. Par exemple, les extraits méthanoliques de *Tamarix gallica* en Algérie ont révélé 334,19 mg GAE/g de phénols et 395,62 mg QE/g de flavonoïdes, tandis que des études en Inde ont montré des concentrations plus faibles (Chaturvedi *et al.*, 2012 ; Tabet *et al.*, 2018).

15. Propriétés biologiques de *Tamarix gallica*

Tamarix gallica se distingue par ses effets antioxydants, anti-inflammatoires et antimicrobiens, en particulier face au stress oxydatif, facteur impliqué dans de nombreuses pathologies. Sa composition riche en flavonoïdes et acides phénoliques lui permet de combattre les radicaux libres et d'atténuer les dommages liés au stress oxydatif (Ksouri *et al.*, 2009 ; Rahman *et al.*, 2011).

Elle présente également des effets anti-inflammatoires et analgésiques proches de ceux du diclofénac (Tabet & Boukhari, 2014 ; Kalamurfi *et al.*, 2016) et exerce une activité antimicrobienne contre des pathogènes comme *Staphylococcus saprophyticus* et *Salmonella typhi* (Boulaaba *et al.*, 2015).

Ses propriétés anticancéreuses ont été démontrées dans la prévention des cancers du côlon et du foie (Boulaaba *et al.*, 2013 ; Fellah *et al.*, 2018), tandis que son action neuroprotectrice pourrait jouer un rôle dans le traitement de la maladie d'Alzheimer, en inhibant l'agrégation du peptide β -amyloïde et en soutenant les fonctions cognitives (Ben Hmidene *et al.*, 2017a, 2017b ; Salissou *et al.*, 2018).

De plus, *Tamarix gallica* possède des effets bénéfiques sur le métabolisme, notamment anti-hyperlipidémiant, anti-hyperglycémiant et hépatoprotecteur, renforçant ainsi son potentiel thérapeutique (Sehrawat & Sultana, 2006a, 2006b ; Naveed *et al.*, 2015 ; Mahfoudhi *et al.*, 2016).

Un autre domaine d'intérêt concerne la fertilité masculine. Ses composés bioactifs semblent influencer l'expression de protéines mitochondriales essentielles à la mobilité des spermatozoïdes, offrant ainsi une voie naturelle pour traiter les troubles liés au stress oxydatif (Ben Hmidene *et al.*, 2017b). Cependant, la capacité de la plante à protéger contre la toxicité spermatique induite par des xénobiotiques comme le pyrimiphos-méthyl et la deltaméthrine reste à explorer, ce qui ouvre des perspectives de recherche intéressantes.

Chapitre II :
Impact des pesticides
sur la fertilité
masculine

II.1. Définition des xénobiotiques

Les xénobiotiques désignent des substances étrangères à l'organisme, incluant les médicaments, les additifs alimentaires, les polluants environnementaux et les pesticides (Smith *et al.*, 2005). Ces composés peuvent interagir avec les systèmes biologiques et perturber diverses fonctions physiologiques. En conséquence, ils peuvent entraîner des effets toxiques à court ou long terme, comme des altérations métaboliques, des perturbations hormonales ou des dommages cellulaires (Jones & Taylor, 2010)

II.2. Classification des pesticides

Les pesticides sont classés selon plusieurs critères (*figure 3*) permettant de comprendre leur usage et leurs effets. Ils sont d'abord différenciés selon leur cible biologique, comme les insecticides, herbicides, fongicides et rodenticides, ce qui indique le type d'organismes qu'ils contrôlent (Smith *et al.*, 2005). Sur le plan chimique, ils sont regroupés en familles telles que les organochlorés, organophosphorés, carbamates et pyréthrinoïdes, ce qui détermine en partie leur activité et leur toxicité (Jones & Taylor, 2010).

Selon leur mode d'action, ils peuvent être neurotoxiques ou perturbateurs endocriniens, ce qui influence leurs effets biologiques. La persistance environnementale est un autre critère majeur, car elle détermine leur durée d'action et les risques de contamination, en distinguant les pesticides persistants des non persistants (Williams et Brown, 2012). Enfin, leur formulation et leur mode d'application, comme les poudres ou les pulvérisations, permettent d'adapter leur usage aux pratiques agricoles.

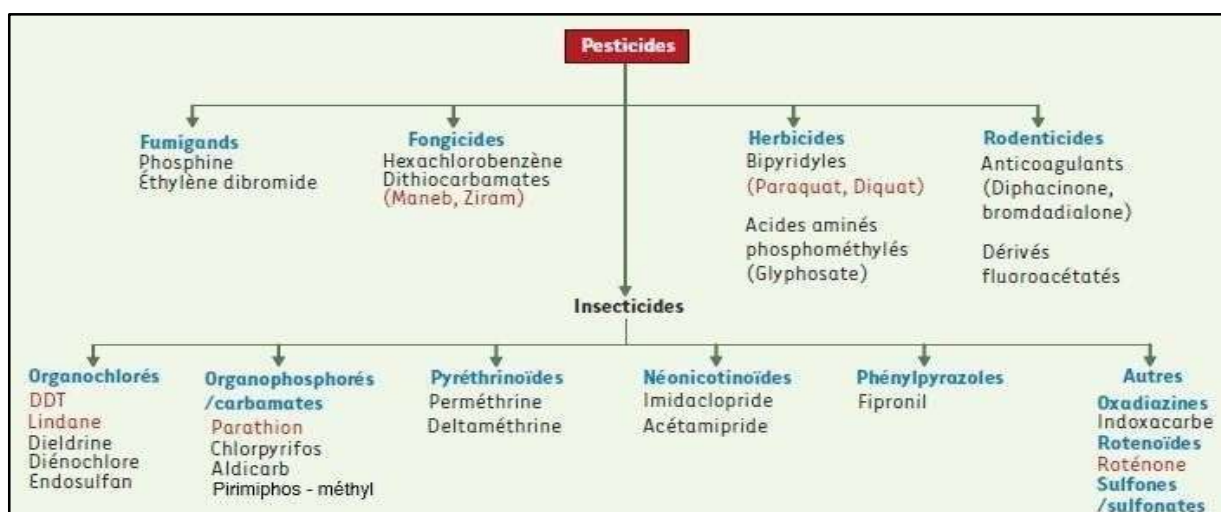


Figure 3: Classification des pesticides (Thany *et al.*, 2013).

II.3. Modes d'exposition et accumulation dans l'organisme

Les pesticides peuvent pénétrer dans l'organisme par différentes voies d'exposition (*figure 4*), notamment par ingestion, inhalation et contact cutané. L'ingestion représente la principale source d'exposition, souvent liée à la consommation d'aliments et d'eau contaminés.

L'inhalation, quant à elle, survient principalement lors de l'épandage agricole ou en milieu professionnel, tandis que le contact cutané résulte du maniement direct de produits phytosanitaires sans protection adéquate (Aktar *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2017). Après pénétration, les pesticides se distribuent dans l'organisme via la circulation sanguine. Leur accumulation dépend en grande partie de leurs propriétés physico-chimiques. Les pesticides lipophiles, par exemple, ont tendance à s'accumuler dans les tissus riches en graisses, tandis que d'autres se concentrent dans le foie ou les reins.

Cette bioaccumulation prolonge leur présence dans l'organisme et complique leur élimination (Köck-Schulmeyer *et al.*, 2013; Mostafalou & Abdollahi, 2013). Avec le temps, cette accumulation peut entraîner des effets toxiques, affectant notamment le système nerveux, endocrinien et reproducteur. De plus, elle favorise l'apparition de stress oxydatif, un mécanisme impliqué dans diverses pathologies chroniques. (Mostafalou & Abdollahi, 2013 ; Kim *et al.*, 2017).

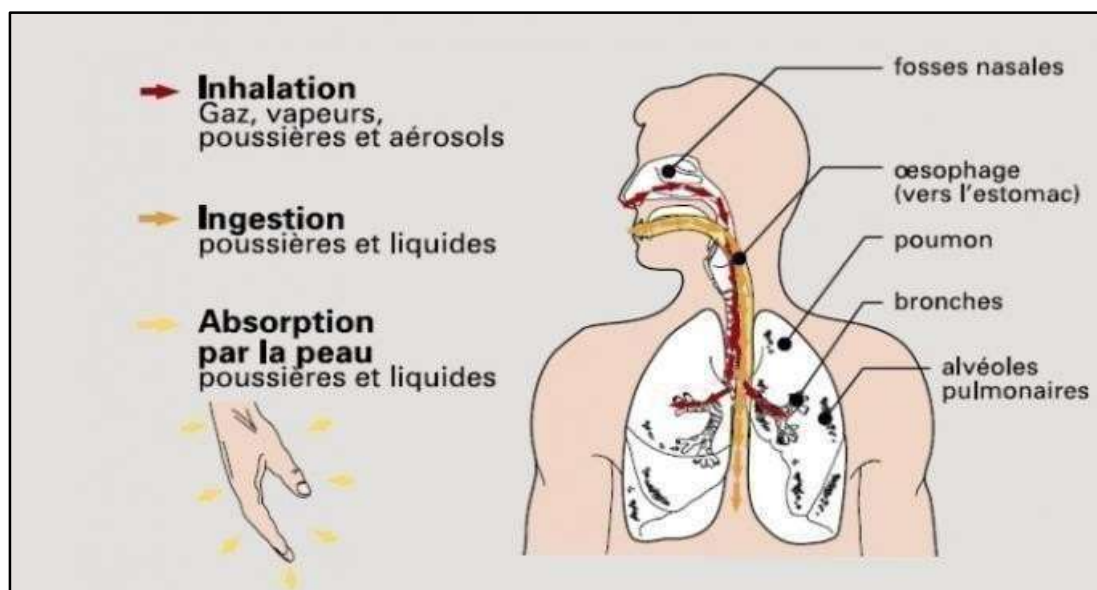


Figure 4 : les différents modes d'exposition aux pesticides (Kim *et al.*, 2017).

II.4. Les pesticides organophosphorés et pyréthriinoïdes

Les pesticides organophosphorés et pyréthriinoïdes comptent parmi les principales classes d'insecticides utilisés à l'échelle mondiale, aussi bien en agriculture qu'en santé publique (*figure 5*).

Développés dans les années 1950, les organophosphorés sont réputés pour leur efficacité à large spectre. Le périmiphos-méthyl (PMM), par exemple, est couramment utilisé pour le traitement des céréales stockées, ainsi que pour la désinsectisation des silos, entrepôts et bâtiments agricoles. Il est également employé dans les programmes de santé publique pour lutter contre les vecteurs de maladies tels que les moustiques et les mouches domestiques (FAO, 2000 ; WHO, 2006). Son efficacité et sa stabilité sur les surfaces traitées expliquent sa large utilisation (Hughes *et al.*, 2010).

Les pyréthriinoïdes, quant à eux, sont des dérivés synthétiques des pyrèthes naturels extraits de fleurs du genre *Chrysanthemum*. Appréciés pour leur action rapide et leur faible persistance dans l'environnement, ils sont utilisés à la fois pour protéger les cultures, les denrées stockées et dans des produits ménagers.

La deltaméthrine (DLM), en particulier, est employée contre divers insectes ravageurs comme les pucerons, chenilles et coléoptères. En santé publique, elle est largement utilisée pour l'imprégnation des moustiquaires et le traitement des murs dans le cadre de la lutte antivectorielle, notamment contre le paludisme (WHO, 2010 ; Anadón *et al.*, 2013). Sa faible toxicité pour les mammifères et sa rapidité d'action en font un insecticide de choix dans de nombreux contextes (Davies *et al.*, 2007).

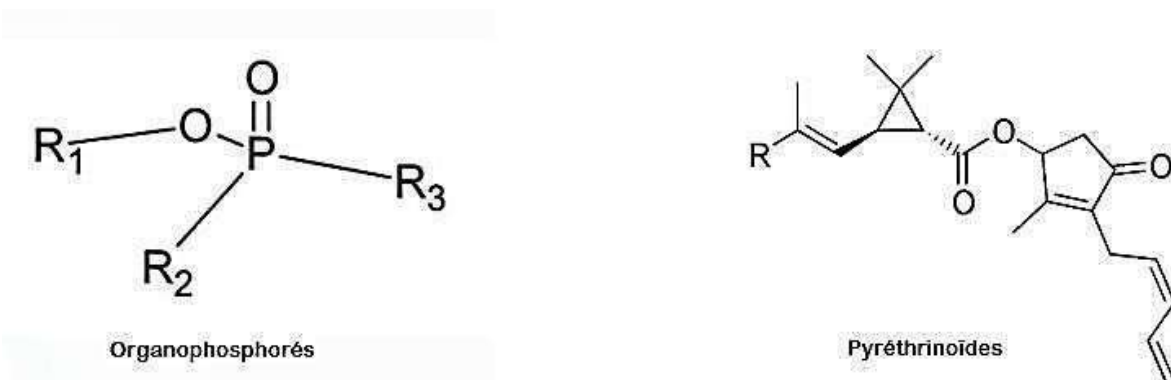


Figure 5 : Structures chimiques générales des insecticides organophosphorés et pyréthriinoïdes (Cuquel *et al.*, 2015).

II.5. Mécanisme d'action

Les organophosphorés, comme le PMM, agissent principalement en inhibant l'acétylcholinestérase (AChE) (*figure 6*), une enzyme clé dans la dégradation de l'acétylcholine dans les synapses neuronales. Ce qui entraîne une accumulation d'acétylcholine, provoquant une hyperstimulation des neurones, des dysfonctionnements neuromusculaires, et des tremblements, convulsions, et pertes de mémoire, et même une altération cognitive permanente (Fulton & Key, 2001; Syngenta, 2004). Bien que ce mécanisme soit particulièrement efficace contre les insectes, il peut également nuire à d'autres organismes, y compris les mammifères et les espèces aquatiques (Gupta *et al.*, 2019). L'exposition à des concentrations sub-létales de PMM peut affecter la motilité des insectes, en particulier chez les mâles, suggérant des impacts neurotoxiques (Wilkins *et al.*, 2020 ; Morrison *et al.*, 2021).

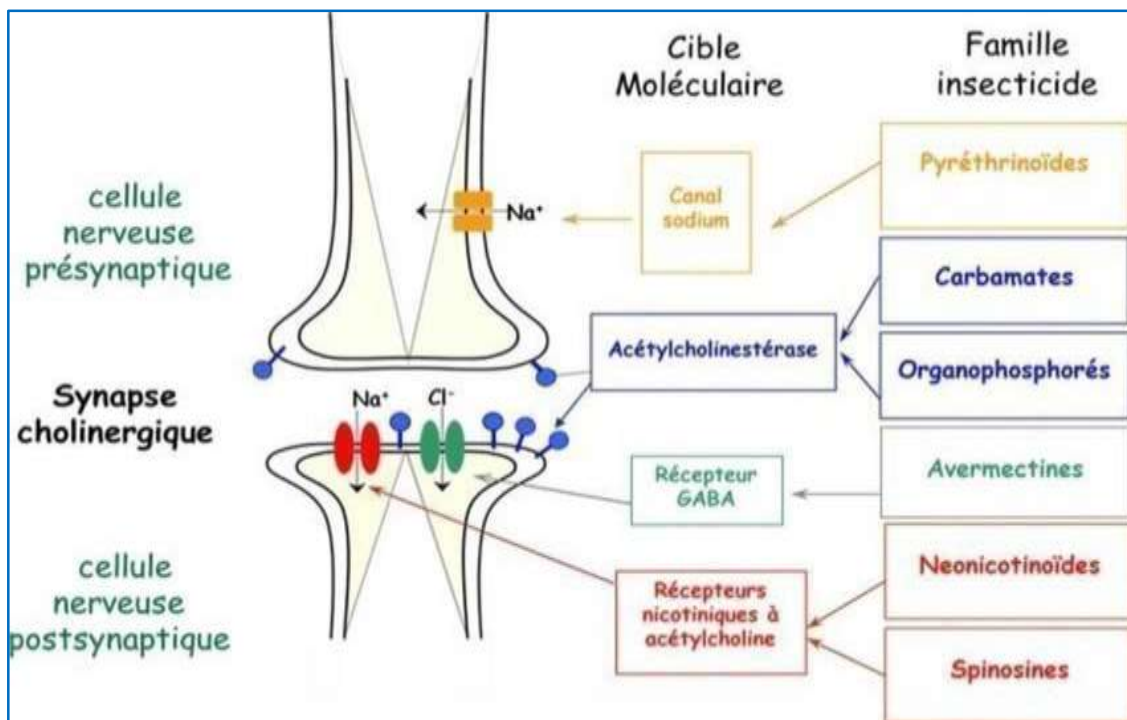


Figure 6 : Représentation schématique du mode d'action des principaux insecticides (Siegwart 2017 ; Klai, 2022).

Les pyréthriinoïdes, tels que la DLM, exercent leurs effets en perturbant les canaux sodiques voltage-dépendants sur les membranes neuronales (*figure 7*). Cette altération prolongée de l'ouverture des canaux entraîne une excitation nerveuse excessive, perturbant la transmission nerveuse et induisant la paralysie et la mort de l'insecte (Zhang *et al.*, 2008). Bien que la DLM soit généralement moins toxique pour les mammifères, elle peut également

provoquer des effets neurotoxiques, notamment en induisant un stress oxydatif. Ce stress est lié à la production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), entraînant des dommages cellulaires, notamment aux membranes, mitochondries et ADN des spermatozoïdes, affectant ainsi leur qualité et réduisant la fertilité (Albrecht *et al.*, 2006; Galal *et al.*, 2014).

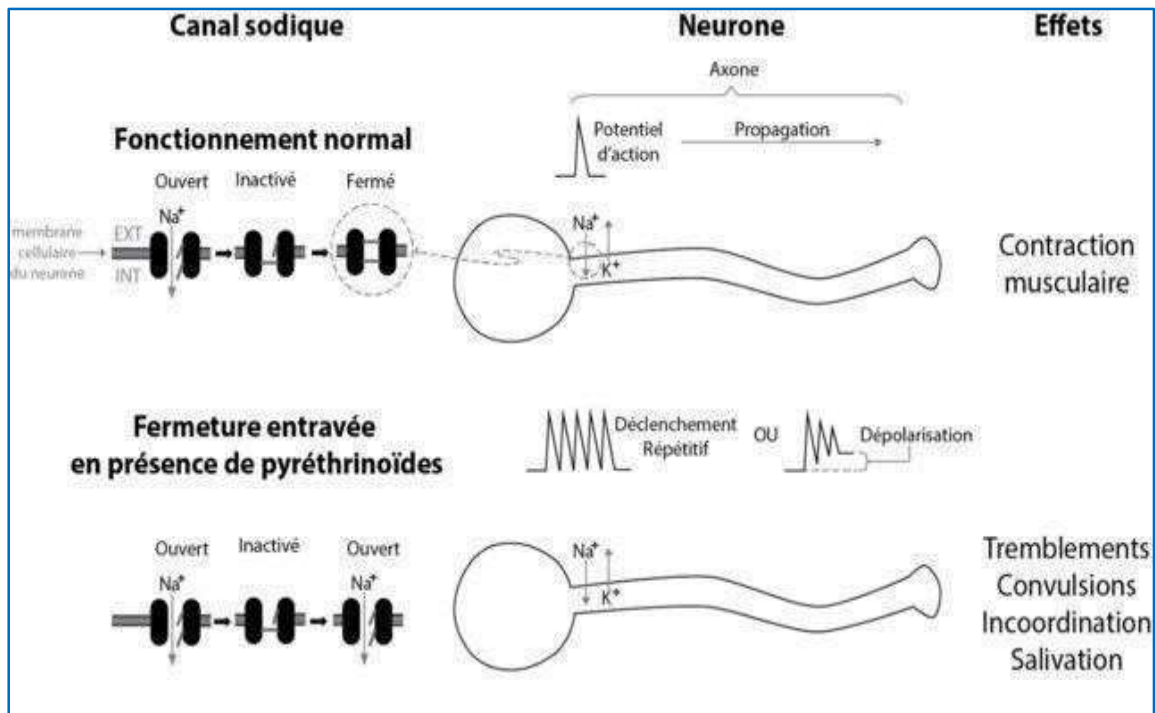


Figure 7 : Mode d'action des Pyréthrinoides sur les neurones. (Hénault-Éthier, 2016).

II.6. Impact de la deltaméthrine et pirimiphos methyl sur la santé animale et humaine

Le PMM, un insecticide organophosphoré, est bien documenté pour ses effets neurotoxiques, hépatiques et endocriniens. Une exposition prolongée entraîne des symptômes tels que tremblements, troubles cognitifs (Gupta *et al.*, 2019), dysfonctionnements hépatiques (EFSA, 2005), perturbations hormonales, altération de la reproduction et du développement fœtal, ainsi qu'une réduction de la fertilité masculine par diminution de la motilité spermatique (Hamid *et al.*, 2012; Pérez *et al.*, 2015). L'OMS estime que l'exposition via l'eau potable représente un risque faible, mais recommande une surveillance continue des résidus alimentaires (WHO, 2006b).

La DLM, quant à elle, induit un stress oxydatif qui endommage les neurones et affecte les fonctions hépatiques, rénales et reproductrices (Rehman *et al.*, 2006 ; Ince *et al.*, 2010). Elle perturbe la spermatogenèse en provoquant des lésions testiculaires et en altérant la production

de testostérone (Creasy & Foster, 2002; Bagherpour *et al.*, 2019), compromettant ainsi la fertilité masculine (Narayana *et al.*, 2006). Ces pesticides s'accumulent aussi dans les tissus gras, augmentant leur persistance dans l'organisme.

Chez les animaux, le PMM a été associé à des troubles neurologiques, hépatiques et reproducteurs chez les poissons, les oiseaux et les mammifères de ferme (Gupta *et al.*, 2019). La DLM, quant à elle, provoque des mortalités chez les poissons et crustacés, des altérations comportementales chez les abeilles, et des perturbations immunitaires chez les oiseaux (NCBI, 2014 ; SciDirect, 2015).

Les mécanismes par lesquels le PMM et la DLM affectent la spermatogenèse et les hormones restent encore mal connus. Le stress oxydatif et les désordres hormonaux sont des pistes clés à étudier pour comprendre leurs effets sur la fertilité (Narayana *et al.*, 2006). Bien qu'efficaces contre les nuisibles, ces pesticides posent des risques importants pour la santé, ce qui justifie une réglementation stricte et des mesures préventives pour limiter les effets d'une exposition prolongée (Creasy & Foster, 2002 ; EFSA, 2005).

Chapitre III :
Biologie et mobilité
des spermatozoïdes

III.1 Structure du spermatozoïde

Le spermatozoïde est une cellule hautement spécialisée, composée de trois parties principales : la tête, la pièce intermédiaire et la queue. La tête contient le noyau, renfermant l'ADN paternel, ainsi que l'acrosome, une vésicule riche en enzymes nécessaires à la pénétration de l'ovocyte (*figure 8*) (Toshimori et Oura, 1993). Le collet, parfois distingué comme zone de jonction, relie la tête à la pièce intermédiaire. La pièce intermédiaire, riche en mitochondries, assure la production d'adénosine triphosphate (ATP), indispensable à la motilité ; les mitochondries sont arrangées autour de l'axonème, une structure microtubulaire essentielle pour le mouvement (Ankel-Simons & Cummins, 1996 ; Lindemann & Lesich, 2016). Enfin, la queue permet la propulsion du spermatozoïde grâce à l'action coordonnée des microtubules et de protéines motrices comme la dynéine (Yanagimachi, 1994 ; du Plessis *et al.*, 2015).

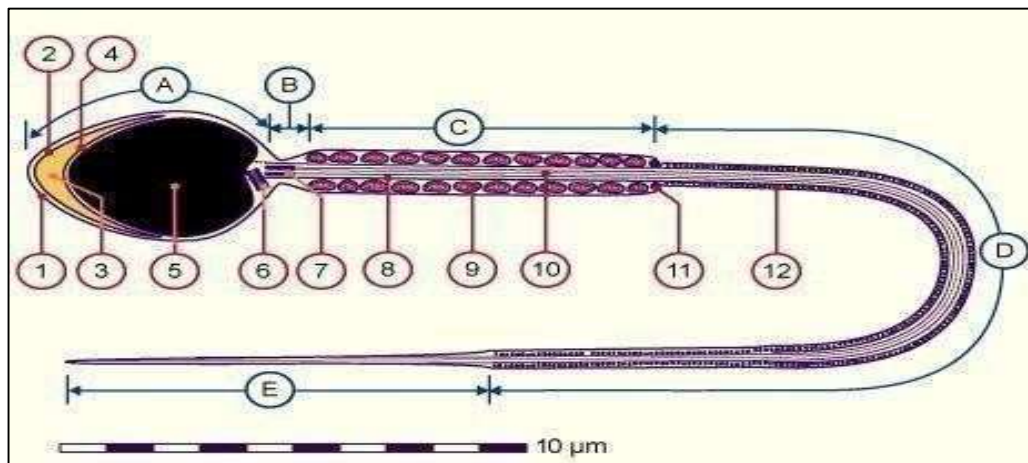


Figure 8 : Représentation schématique d'un spermatozoïde de Mammifère.

1 : Membrane plasmique, **2 :** Membrane acrosomiale externe, **3 :** Acrosome, **4 :** Membrane acrosomiale interne, **5 :** Noyau, **6 :** Centriole proximal, **7 :** Restes du centriole distal, **8 :** Faisceaux longitudinaux extérieurs denses, **9 :** Mitochondries, **10 :** Axonème, **11 :** Annulus, **12 :** Fibres denses externes. **A :** Tête, **B :** Collet, **C :** Pièce intermédiaire, **D :** Pièce principale, **E :** Pièce terminale (AbiNahed, 2015).

III. 2 Classification des spermatozoïdes

Les spermatozoïdes peuvent être classés selon divers critères en lien avec leurs caractéristiques et fonctions. La classification morphologique évalue la taille et la forme des différentes parties (tête, pièce intermédiaire, queue) afin de détecter d'éventuelles anomalies (Björndahl *et al.*, 2010). La classification biochimique examine la composition membranaire,

L'intégrité de l'ADN et l'activité enzymatique, tandis que la classification fonctionnelle s'intéresse à des paramètres clés comme la réaction acrosomiale, la liaison à la zone pellucide ou l'hyperactivation (Aitken & Clarkson, 1987 ; Yanagimachi, 1994). Parmi ces critères, la mobilité occupe une place centrale en raison de son rôle essentiel dans le transport, la rencontre avec l'ovocyte et la fécondation.

En fonction de leur mobilité, les spermatozoïdes sont classés en quatre types : les rapides et progressifs, capables d'atteindre efficacement l'ovocyte ; les moins rapides, avec une trajectoire moins linéaire et progressant difficilement ; les non progressifs, se déplaçant sans réel avancement ; et les immobiles, incapables de participer à la fécondation (Suarez *et al.*, 1987). L'intégrité des structures (tête, pièce intermédiaire, queue) est indispensable pour assurer une motilité optimale et maximiser les chances de succès reproductif (Lehti & Sironen, 2017 ; Bragina & Bocharova, 2017).

III.3 Importance du flagelle et des protéines associées à la mobilité :

La mobilité des spermatozoïdes repose essentiellement sur la structure et le fonctionnement du flagelle, dont le rôle est central dans le processus de fécondation. Le flagelle, grâce à son axonème, une structure microtubulaire associée aux dynéines, des protéines motrices, convertit l'ATP en force mécanique pour générer les mouvements ondulatoires nécessaires à la propulsion (Paschal *et al.*, 1987 ; Vale & Toyoshima, 1988). La coordination fine entre dynéines et protéines de l'axonème garantit une motilité efficace (Smith & Sale, 1992 ; Duquesnoy *et al.*, 2009).

Les AKAPs (A-kinase anchoring proteins) régulent l'AMPc et le calcium, modulant ainsi l'activité flagellaire (Sunahara & Taussig, 2002 ; Dey *et al.*, 2014). Les mitochondries fournissent l'énergie indispensable au maintien de cette dynamique (Yanagimachi, 1994). Ces différents acteurs interagissent de manière coordonnée pour assurer une motilité optimale. Toute anomalie structurelle ou fonctionnelle du flagelle, d'origine génétique ou environnementale, peut altérer la fertilité masculine, (Yagi *et al.*, 2005 ; Patel-King & King, 2009). La **(figure 9)** illustre de manière claire et détaillée les structures clés décrites ci-dessus.

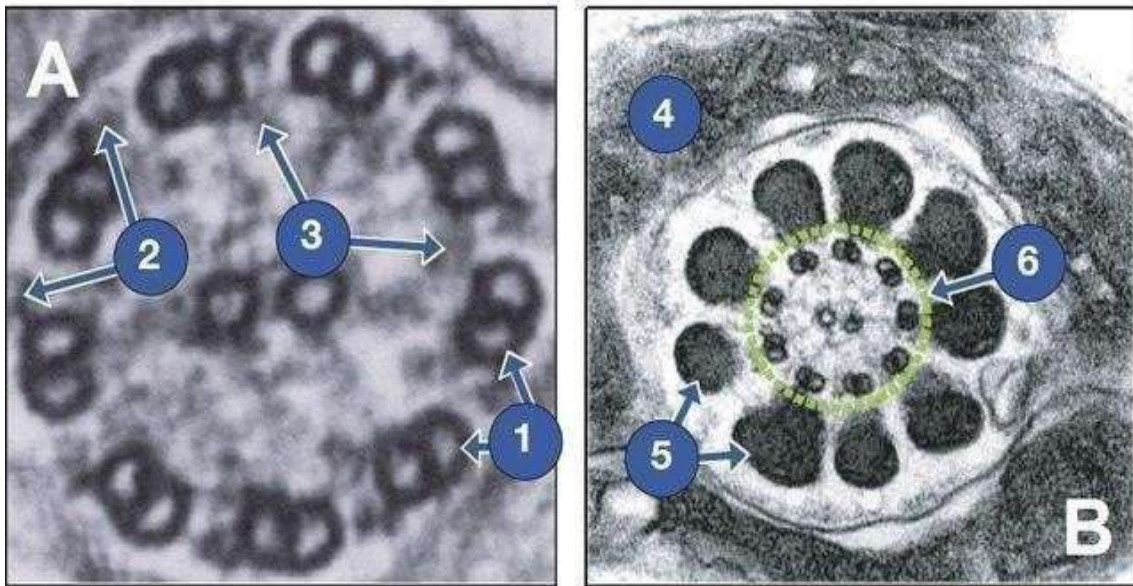


Figure 9 : Observation en microscopie électronique à transmission d'une coupe transversale d'axonème (A) et d'une coupe transversale de flagelle au niveau de la pièce intermédiaire (B). On distingue : (1) les paires de microtubules, (2) les bras externes de dynéine, (3) les bras internes de dynéine, (4) les mitochondries, (5) les fibres denses et (6) l'axonème. (Adapté du Cahier d'infertilité masculine, (Abi Nahed, 2015).

II. 4 Facteurs influençant la mobilité spermatozoïdaire

La motilité des spermatozoïdes dépend principalement de la production d'ATP, assurée par la phosphorylation oxydative mitochondriale et la glycolyse (Troiano *et al.*, 1998 ; Amaral & Ramalho-Santos, 2008). Les mitochondries, en tant que sources d'énergie, sont cruciales dans ce processus, et leur dysfonctionnement, souvent causé par le stress oxydatif, peut altérer la motilité et la fertilité (Meinhardt & Hedger, 2011).

Le calcium (Ca^{2+}) est également essentiel à l'hyperactivation des spermatozoïdes, en activant le canal CatSper, tandis que le phosphate de créatine facilite le transfert d'énergie entre les mitochondries et l'axonème, optimisant ainsi leur motilité (Breitbart *et al.*, 1985 ; Kirichok *et al.*, 2006). Le pH intracellulaire influence directement cette motilité : un pH alcalin favorise l'activité et la viabilité des spermatozoïdes, tandis qu'un pH acide les réduit (Boussouar *et al.*, 2003 ; Oliveira *et al.*, 2012), (*Annexe7*).

De plus, le stress oxydatif, amplifié par des facteurs environnementaux comme la pollution, l'exposition aux pesticides et la température excessive, peut nuire à la motilité. L'obésité et les mutations génétiques peuvent également perturber la fonction mitochondriale, altérant la motilité des spermatozoïdes (Chung *et al.*, 2011).

En outre, des antioxydants tels que la vitamine C, la vitamine E (*figure 10*) et la coenzyme Q10 (*Annexe6*) jouent un rôle protecteur en réduisant les effets du stress oxydatif, (Kobori *et al.*, 2014 ; Su *et al.*, 2021).

La vitamine C, hydrosoluble, neutralise les radicaux libres, réduit le stress oxydatif et protège les membranes cellulaires en régénérant l' α -tocophérol, empêchant ainsi l'oxydation lipidique (Traber et Stevens, 2011 ; Zhou *et al.*, 2015). Elle joue aussi un rôle clé dans la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène et la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau (Schin *et al.*, 1998). La vitamine E, liposoluble, protège les membranes cellulaires en piégeant les radicaux libres et en limitant la peroxydation des acides gras polyinsaturés (Sahnoun *et al.*, 1997 ; Favier, 2003). Toutefois, elle nécessite une régénération par la vitamine C, le glutathion et l'ubiquinone pour maintenir son activité antioxydante, (*figure 10*) (Cuvelier *et al.*, 2003).

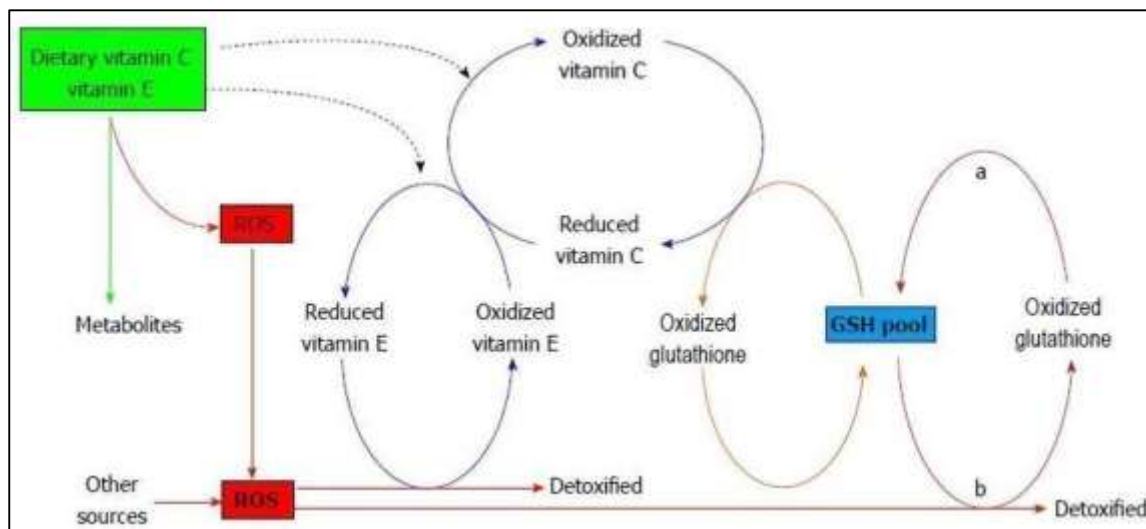


Figure 10 : Rôle de la vitamine E et C dans la terminaison de la peroxydation lipidique (Zhou *et al.*, 2015).

Enfin, la coenzyme Q10 soutient la production d'ATP et la fonction mitochondriale, essentielle à la motilité cellulaire, tout en participant à la régénération de la vitamine E, renforçant ainsi la protection contre le stress oxydatif (Agarwal *et al.*, 2005 ; Ros, 2010).

III. 5. Effets des pesticides sur les protéines du flagelle et sur les mitochondries

Les pesticides organophosphorés et organochlorés affectent la motilité des spermatozoïdes en perturbant les protéines du flagelle et des mitochondries. Ils inhibent l'activité des dynéines, ce qui perturbe le glissement des microtubules et diminue la fréquence

des battements flagellaires (Kamiya et Okamoto, 1985 ; Vested *et al.*, 2013), tandis que l'exposition au DDT et au DDE altère les interactions protéiques du flagelle, réduisant ainsi la motilité (Yagi *et al.*, 2005).

Ces pesticides induisent également un stress oxydatif, augmentant les espèces réactives de l'oxygène (ROS), ce qui altère la chaîne respiratoire mitochondriale et réduit la production d'ATP nécessaire au mouvement (Zama *et al.*, 2007; Schlingmann *et al.*, 2007). De plus, la diminution du potentiel de membrane mitochondrial (MMP) aggrave ces effets (Troiano *et al.*, 1998 ; Wang *et al.*, 2003). Le stress oxydatif provoque aussi une peroxydation lipidique des membranes spermatiques, réduisant la fluidité et la flexibilité du flagelle (Sabeti *et al.*, 2016). Certains pesticides, tels que le pirimiphos-méthyl, engendrent des modifications mitochondriales qui exacerbent cette situation (Ni *et al.*, 2016).

Enfin, l'inhibition de l'ATP synthase et la perturbation des canaux ioniques mitochondriaux compromettent encore davantage la production d'ATP (Reyes *et al.*, 1987; Perry *et al.*, 2011). L'exposition chronique à ces pesticides réduit la vitesse des spermatozoïdes en inhibant la dynéine et en induisant des dommages mitochondriaux dus au stress oxydatif (*Annexe 5*), soulignant l'importance de limiter l'exposition pour préserver la fertilité masculine, (*figure 11*) (Agarwal *et al.*, 2005; Valko *et al.*, 2007 ; Mandal *et al.*, 2010).

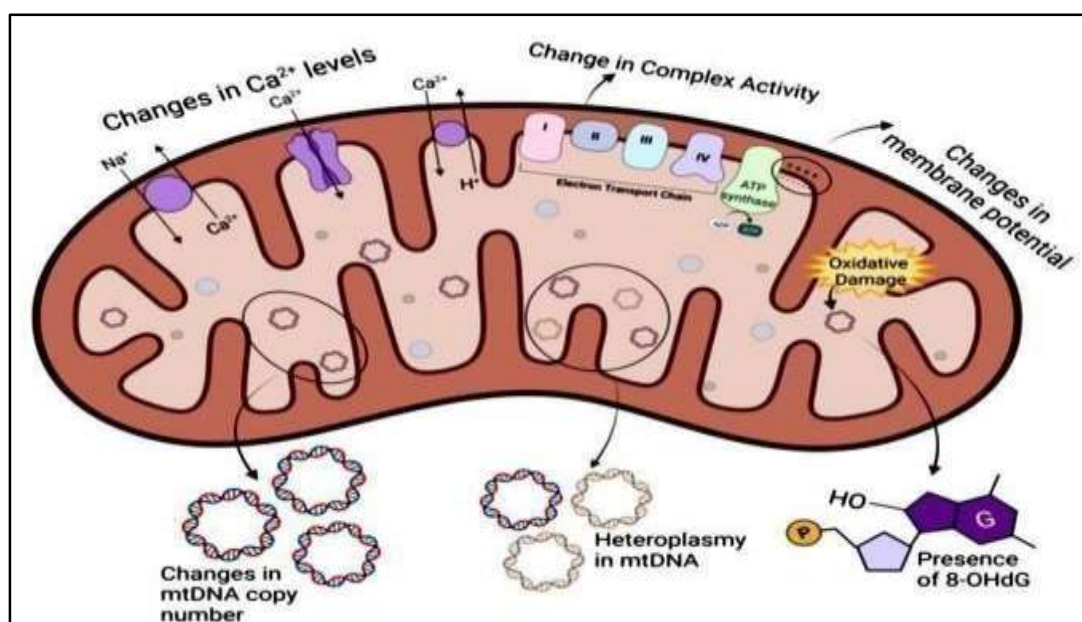


Figure 11: Schéma montrant les effets des pesticides organophosphorés et organochlorés sur la fonction mitochondriale des spermatozoïdes (Reddam *et al.*, 2023).

mt DNA : ADN mitochondrial, **Ca²⁺ :** ions calcium, **8-OHdG :** 8-oxo-2'-désoxyguanosine.

Ces pesticides induisent un stress oxydatif, perturbant la chaîne respiratoire mitochondriale, réduisant la production d'ATP et altérant le potentiel de membrane mitochondrial (MMP). Ils entraînent également une peroxydation lipidique, affectant la motilité des spermatozoïdes et compromettant leur fertilité (Zama *et al.*, 2007 ; Vested *et al.*, 2013; Ni *et al.*, 2016).

III. 6. Conséquences sur la fertilité et la reproduction

Les anomalies des dynéines axonémales affectent la motilité des spermatozoïdes, réduisant leur capacité à féconder l'ovule et contribuant ainsi à l'infertilité masculine (Kamiya & Okamoto, 1985; Mitchell & Rosenbaum, 1985). Ces effets sont amplifiés par l'exposition aux pesticides, qui génèrent un stress oxydatif, (*figure 12*) endommagent les cellules testiculaires et perturbent la production hormonale, altérant la qualité du sperme (Ledda *et al.*, 2021 ; Janoš *et al.*, 2023).

Ces substances affectent également la spermatogenèse chez l'homme et le cycle ovarien chez la femme, augmentant le risque de fausses couches et de troubles hormonaux (Katz *et al.*, 2015; Ranjan *et al.*, 2018). De plus, elles induisent un dysfonctionnement mitochondrial, réduisant la vitalité et la motilité des spermatozoïdes, ce qui favorise l'asthénozoospermie (Koppers *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2016).

Les pesticides compromettent également l'intégrité de l'ADN spermatozoïdal, favorisant sa fragmentation, ce qui augmente les risques d'infertilité et de transmission de maladies génétiques (Alahmar, 2017; Bisht *et al.*, 2017). Ces effets nuisent aussi à l'efficacité des techniques de procréation assistée, telles que la FIV, en réduisant la motilité des spermatozoïdes et la qualité embryonnaire (Pisarska *et al.*, 2019; Lv *et al.*, 2020).

Bien que l'utilisation d'antioxydants puisse améliorer la motilité et la capacitation des spermatozoïdes, contribuant ainsi à une meilleure fertilité (Poljsak *et al.*, 2013 ; Martin-Hidalgo *et al.*, 2019), l'exposition aux pesticides perturbe la synthèse de testostérone, aggrave les déséquilibres hormonaux et compromet la fertilité masculine à long terme (Mostafalou & Abdollahi, 2017 ; Zhou *et al.*, 2019).

Par ailleurs, l'accumulation de ROS induite par ces substances endommage l'ADN des spermatozoïdes, réduisant les taux de fécondation et augmentant les risques de fausses couches et de malformations embryonnaires (Ozmen *et al.*, 2007 ; Agarwal & Bui, 2017). Ces effets soulignent l'importance d'une régulation stricte de l'exposition aux pesticides pour préserver la fertilité et la santé reproductive.

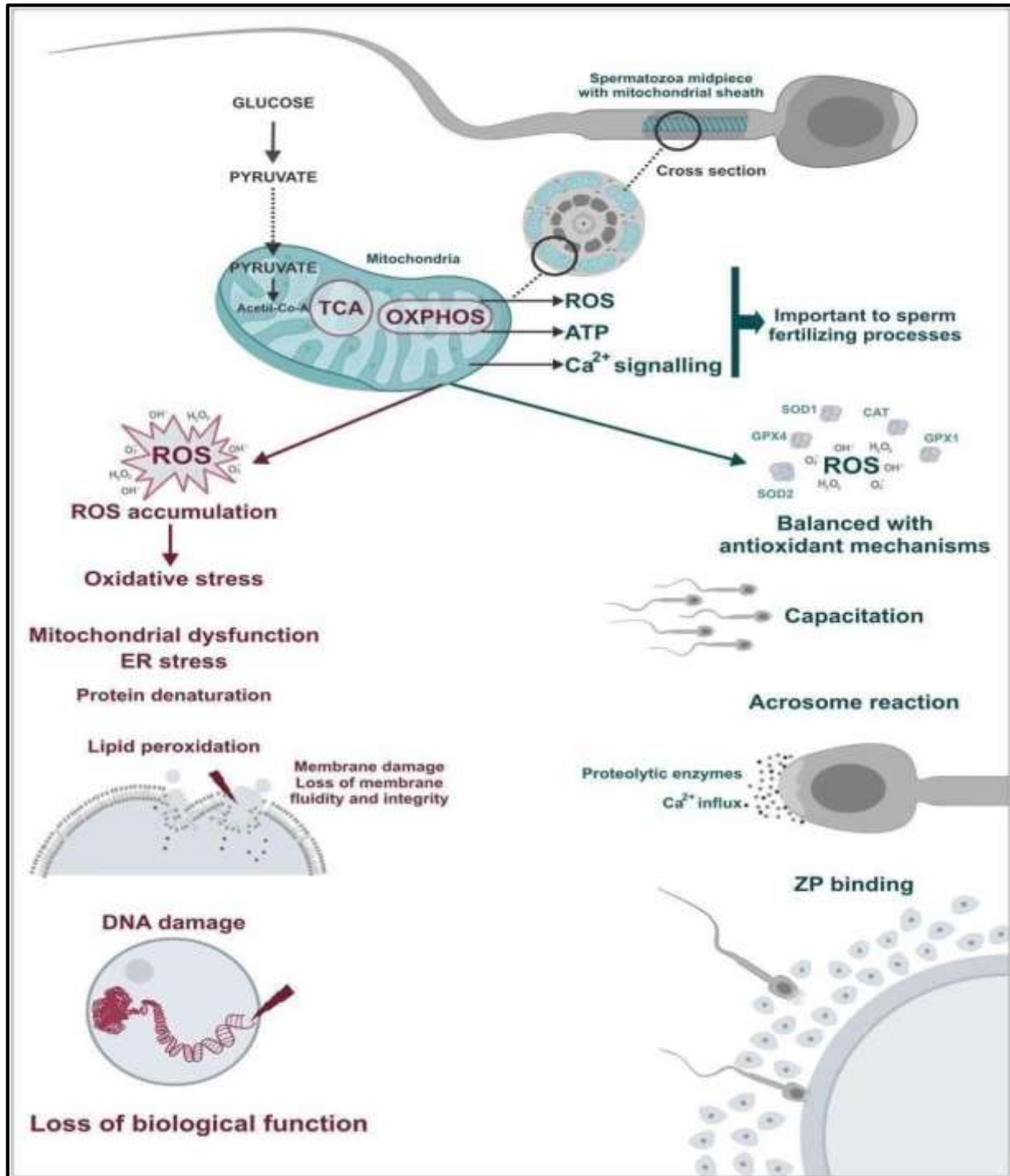


Figure 12 : Schéma illustrant le rôle des mitochondries dans la production d'énergie et de ROS chez les spermatozoïdes (Losano *et al.*, 2018).

Un bon équilibre des ROS est essentiel à la fertilité (capacitation, réaction acrosomique), tandis qu'un excès provoque un stress oxydatif, endommageant les membranes, protéines et ADN, ce qui mène à une perte de fonction du spermatozoïde (Losano *et al.*, 2018).

Chapitre IV :
Matériel et méthodes

IV.1. Matériel végétal

IV.1.1. Récolte des feuilles

Les feuilles de *Tamarix gallica* ont été récoltées en septembre 2024 dans la commune d'Amizour à l'est de Bejaia.

IV.1.2. Broyage et tamisag

Après leur identification, les feuilles ont été soigneusement nettoyées, puis séchées à l'ombre dans un endroit aéré afin de préserver les composés sensibles à la chaleur et à la lumière. Une fois sèches, elles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique (GRINDER), puis tamisées pour obtenir une poudre fine de granulométrie inférieure à 63 µm. Cette poudre constituera la matière sèche utilisée pour l'extraction des composés phénoliques de la plante.

IV.2. Préparation des extraits bruts

L'extraction des composés phénoliques (*figure 13*) a été réalisée selon la méthode d'Atmani *et al.* (2009). La poudre obtenue a été macérée dans de l'éthanol à 70 %, avec un rapport de (4 mL de solvant pour 1 g de poudre) sous agitation pendant 24 heures. La suspension obtenue a ensuite subi une décantation pendant 24 heures avant d'être mise à sécher jusqu'à évaporation totale du solvant. L'extrait sec obtenu a été récupéré, pesé, puis conservé dans des flacons ambrés à l'abri de l'air et de la lumière afin de préserver ses propriétés bioactives.

- Le taux d'extraction a été évalué comme suit :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = [(P1 - P0) / E] \times 100$$

P0 : poids vide du cristalliseur ou boîte de pétri.

P1 : poids après évaporation.

E : poids de l'échantillon initial (poudre ou extrait sec de la phase précédente) (g)



Figure 13 : Protocole expérimental de l'extraction des composés actifs des feuilles de *T. gallica*.

IV.3. Dosage des composés phénoliques des extraits de *Tamarix gallica*

IV.3.1. Dosage des phénols totaux (TPC)

Principe :

La méthode de Folin-Ciocalteu repose sur la quantification des groupements hydroxyles totaux présents dans l'extrait polyphénolique (*figure 14*). L'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu entraîne la formation d'un complexe bleu, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en polyphénols (Atropurpurea, 2018).

Mode opératoire :

Le protocole suivi s'inspire de celui décrit par (Djeridane *et al.* 2006), avec quelques ajustements. En résumé, 200 μL de chaque extrait ont été introduits dans des tubes à hémolyse en verre, puis mélangés à 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué et 800 μL de carbonate de sodium (Na_2CO_3 , 7,5 %). Après agitation, les échantillons ont été laissés au repos pendant 30 min, puis leur absorbance a été mesurée à 760 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations, dans les mêmes conditions expérimentales. Un blanc spécifique à chaque extrait a été préparé en remplaçant l'extrait par de l'éthanol. Les résultats, exprimés en mg d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait, ont été déterminés en fonction de la courbe d'étalonnage. (*Annexe 1*) Toutes les mesures ont été effectuées en triplicata pour garantir la fiabilité des données.

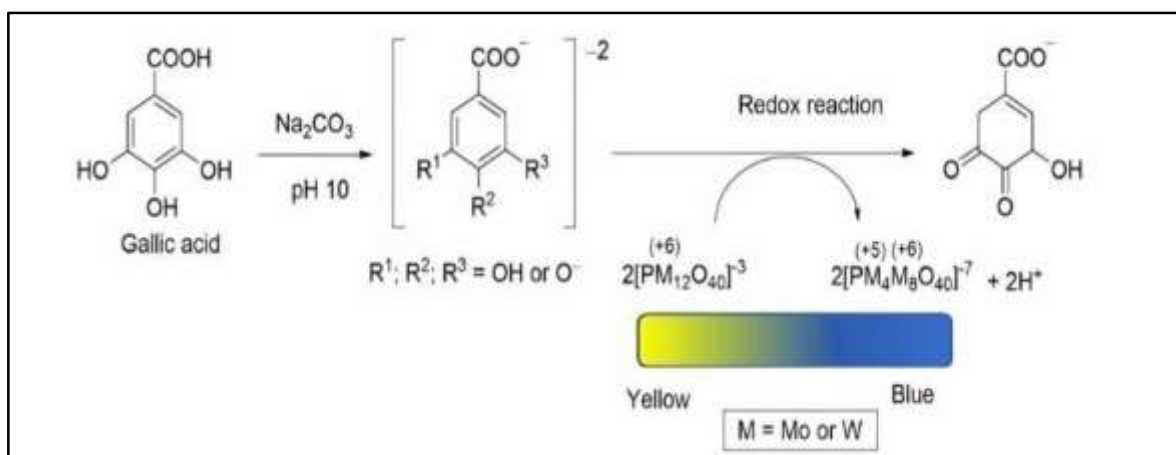


Figure 14 : Réaction de formation du complexe entre les composés phénoliques de *T. gallica* et le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965).

IV32 Dosage des flavonoïdes totaux (TFC)

Principe :

La quantification des flavonoïdes dans les extraits de *Tamarix gallica* a été réalisée selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3 , chlorure d'aluminium) décrite par (Maksimović *et al.* 2005). Cette technique repose sur la chélation des ions métalliques par les flavonoïdes (*figure 15*), formant un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium (Ozsoy *et al.*, 2008).

Mode opératoire :

Une solution de réactif a été préparée en dissolvant 133 mg de chlorure d'aluminium (AlCl_3) et 400 mg d'acétate de sodium ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$) dans 100 mL d'eau distillée. Ensuite, 1 mL d'extrait (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) a été mélangé avec 500 μL de cette solution, puis l'absorbance a été mesurée à 430 nm. Les concentrations en flavonoïdes ont été déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage et exprimées en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait (*Annexe 2*).

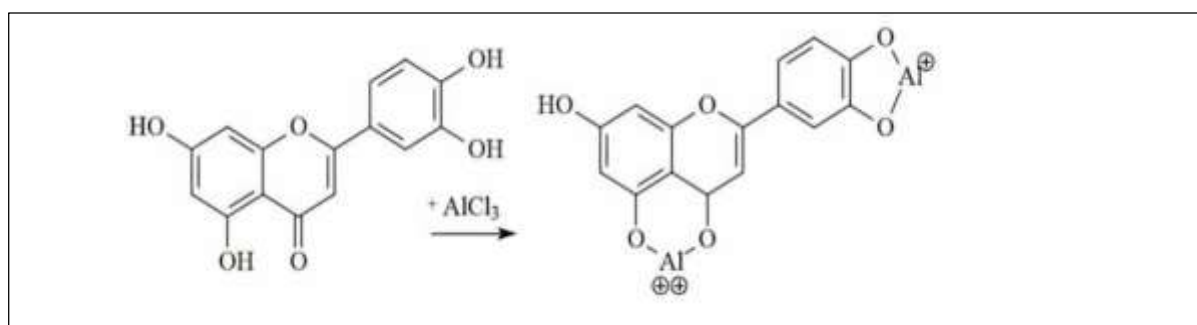


Figure 15 : Mécanisme de formation du complexe flavonoïde- AlCl_3 (Chang *et al.*, 2002).

IV33 Dosage des tanins condensés

Principe :

Le dosage des tanins condensés repose sur leur capacité à réagir avec la vanilline en milieu acide pour former un complexe coloré. Cette réaction donne naissance à une coloration mesurable, proportionnelle à la concentration en tanins présents dans l'échantillon. L'intensité de la couleur obtenue est évaluée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 500 nm.

Mode opératoire :

Une aliquote de 250 μL d'extrait à 1 mg/mL est mélangée à 1,5 mL de vanilline à 1 % (diluée dans le méthanol), puis à 750 μL d'acide chlorhydrique concentré. Après agitation, le mélange est incubé à température ambiante pendant 15 minutes à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 500 nm avec un spectrophotomètre en utilisant le méthanol comme blanc (**figure 16**). Une courbe standard est construite avec des concentrations croissantes de catéchine (0 à 100 $\mu\text{g/mL}$), et les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg ECAT/g extrait), (**Annexe 4**).

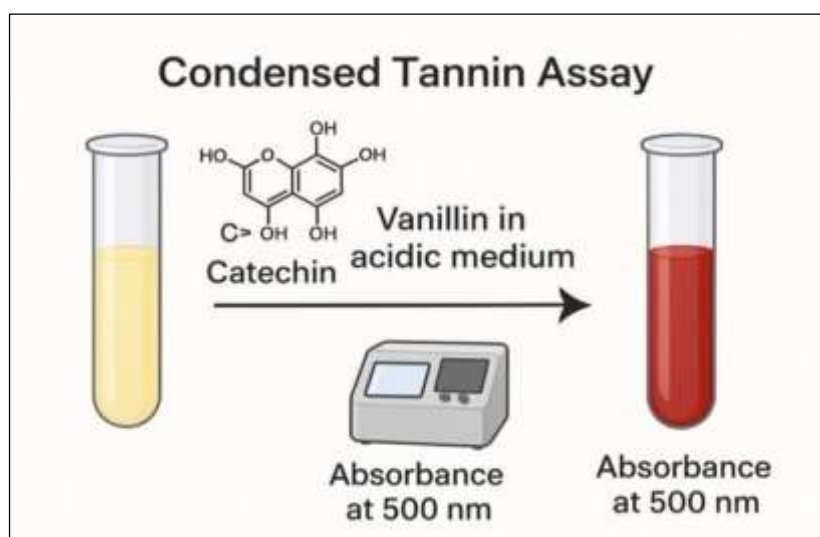


Figure 16 : Réaction de condensation des tanins avec le réactif de vanilline (ou butanol-HCl) (Broadhurst & Jones, 1978).

IV.34 Dosage des tanins hydrolysables**Principe :**

Ce test est basé sur l'oxydation des tanins hydrolysables par l'iodate de potassium (KIO_3), entraînant la formation d'un complexe coloré. L'intensité de cette coloration, proportionnelle à la teneur en tanins hydrolysables, est évaluée par une mesure d'absorbance à 550 nm.

Mode opératoire :

Pour ce dosage, 250 μL de l'extrait (1 mg/mL) sont additionnés à 1,25 mL de solution aqueuse de KIO_3 à 2,5 %. Après homogénéisation, le mélange est incubé à 30 °C pendant 6 minutes. L'absorbance est ensuite relevée à 550 nm contre un blanc au méthanol, à l'aide d'un spectrophotomètre (**figure 17**). Une courbe d'étalonnage est réalisée avec l'acide tannique (0 à 50 $\mu\text{g/mL}$) comme standard (**Annexe 3**). Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/g extrait).



Figure 17 : Principe du dosage des tanins hydrolysables par complexation avec l'acide ferrique (Makkar *et al.*, 1995).

IV.4. Mesure du pouvoir antioxydant

Dans le but d'analyser l'activité anti-radicalaire des différents extraits de *Tamarix gallica*, trois tests ont été réalisés. Il s'agit du test du pouvoir scavenger du radical hydroxyle (OH) et celui du DPPH et ABTS. Les tests DPPH, ABTS et radical hydroxyle utilisés reposent sur des mécanismes différents : DPPH et ABTS évaluent le piégeage de radicaux stables tandis que le test au radical hydroxyle mesure la neutralisation de radicaux très réactifs ce qui permet une évaluation plus fine et complète du pouvoir antioxydant de l'extrait.

IV.4.1. Pouvoir scavenger contre le radical hydroxyle (OH)

Principe :

Ce test permet d'évaluer la capacité des extraits de *Tamarix gallica* à neutraliser les radicaux hydroxyles (OH), connus pour leur forte réactivité et leur rôle dans le stress oxydatif. La méthode repose sur la réaction entre le radical OH et le salicylate de sodium, produisant un composé coloré mesurable par spectrophotométrie. En présence d'un antioxydant, cette réaction est inhibée, ce qui permet de quantifier l'effet protecteur de l'extrait (**figure 18**).

Mode opératoire :

Selon la méthode décrite par Rajamanikandan *et al.* (2011), 0,5 mL de FeSO₄ (1,5 mM), 0,35 mL de H₂O₂ (6 mM) et 0,15 mL de salicylate de sodium (20 mM) sont ajoutés à 0,5 mL de l'extrait végétal (1 mg/mL). Le mélange est homogénéisé puis incubé pendant 1 heure à 37 °C dans un bain-marie. L'absorbance est ensuite mesurée à 562 nm. La Quercétine a été utilisée comme standard pour la comparaison des résultats. Le pourcentage d'inhibition de l'oxydation est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{Inhibition} = [(A_0 - A_t) / A_0] \times 100 \text{ où}$$

A_0 : l'absorbance du contrôle (sans extrait)

A_t : l'absorbance de l'échantillon contenant l'extrait.

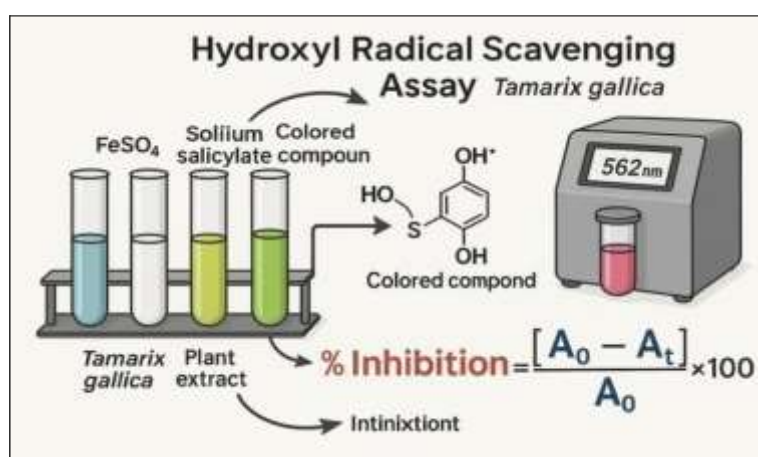


Figure 18 : Mécanisme d'inhibition du radical hydroxyle (OH) par les antioxydants extraits (Halliwell et Gutteridge, 1981).

IV.42. Activité anti-radicalaire contre le radical DPPH

Principe :

L'activité antioxydante des extraits de *Tamarix gallica* a été évaluée par le test du radical DPPH· (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), selon la méthode de (Hansraj *et al.* 2006). Le DPPH· est un radical libre stable qui présente une coloration violette intense. Lorsqu'il capte un électron ou un atome d'hydrogène d'un antioxydant, il se réduit et perd sa coloration. Cette décoloration, mesurée par une diminution d'absorbance à 517 nm (**figure 19**), reflète la capacité des extraits à neutraliser les radicaux libres, indépendamment de toute activité enzymatique (Molyneux, 2004 ; Popovici *et al.*, 2010).

Mode opératoire :

Un volume de 0,1 mL de chaque extrait (ou de la Catéchine comme référence) à différentes concentrations est ajouté à 3,9 mL de solution de DPPH. Le mélange est incubé pendant 30 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière. L'absorbance est ensuite mesurée à 517 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_0 - A_t) / A_0] \times 100 \quad \text{où}$$

A_0 : est l'absorbance du témoin (sans extrait)

A_t : l'absorbance de l'échantillon testé.

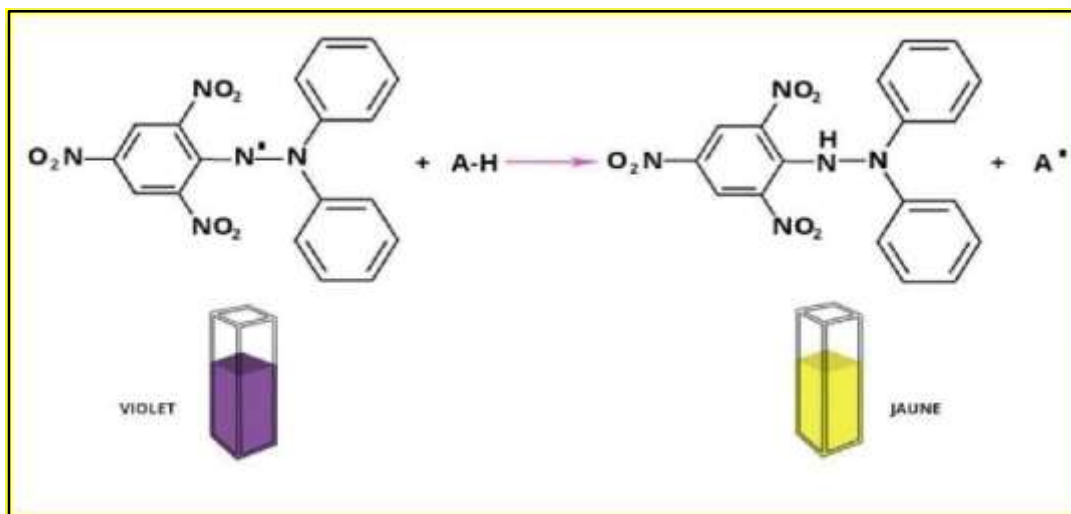


Figure 19 : Réduction du radical DPPH· en présence d'antioxydants, traduite par un changement de couleur (Brand-Williams *et al.*, 1995).

IV.43. Activité anti-radicalaire selon le test ABTS⁺**Principe :**

Le test ABTS repose sur la capacité des composés antioxydants à neutraliser le radical cationique ABTS⁺ (2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique acid)). Ce radical, de couleur vert-bleu intense, devient incolore lorsqu'il est réduit par un antioxydant. Ce changement de couleur est suivi par une diminution d'absorbance, mesurée à 734 nm (*figure 20*). Plus l'absorbance diminue, plus le pouvoir antioxydant de l'échantillon est élevé (Bougatef *et al.*, 2009 ; Khan *et al.*, 2012).

Mode opératoire :

Le test est réalisé selon la méthode de (Bougatef *et al.*, 2009). Deux solutions sont d'abord préparées : une solution d'ABTS à 7 mM et une solution de persulfate de potassium à 2,4 mM. Les deux solutions sont mélangées à volumes égaux pour générer le radical ABTS^{•+}. Le mélange est incubé pendant 12 heures à température ambiante, à l'abri de la lumière.

Ensuite, 1 mL de ce mélange est dilué dans 60 mL de méthanol pour obtenir une solution dont l'absorbance est ajustée à environ 0,8 à 734 nm. À cette solution, on ajoute un volume déterminé d'extrait ou de Quercétine (molécule de référence), puis le tout est incubé pendant 30 minutes.

Après incubation, l'absorbance est mesurée à 734 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle}] \times 100 \text{ où}$$

A contrôle : l'absorbance du blanc (solution ABTS⁺ sans extrait).

A échantillon : l'absorbance de l'échantillon testé.

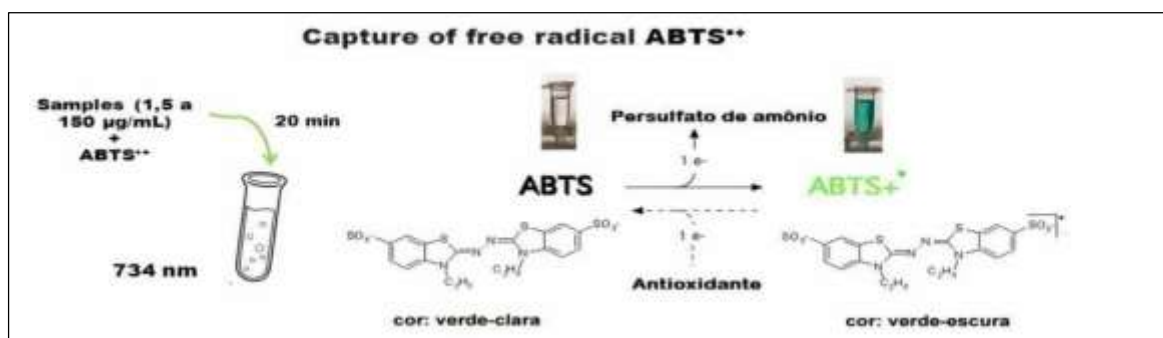


Figure 20 : Mécanisme de neutralisation du radical ABTS^{•+} par les antioxydant de *T.gallica* .

(Re *et al.*, 1999).

IV5. Evaluation de la toxicité des deux pesticides sur la motilité des spermatozoïdes

Principe :

Cette étude a pour objectif d'évaluer l'effet toxique de deux pesticides, la Deltaméthrine et le Pirimiphos-méthyl, sur la motilité des spermatozoïdes caprins. La mobilité est un paramètre clé de la qualité spermatique, reflétant le potentiel fécondant des gamètes. Les spermatozoïdes sont exposés aux pesticides dans des conditions contrôlées, et leur mobilité est mesurée à différents temps d'incubation à l'aide d'un système d'analyse assistée par ordinateur (CASA), permettant une évaluation quantitative, fiable et reproductible.

Mode opératoire :

Les deux pesticides, Deltaméthrine et Pirimiphos-méthyl ont été dilués dans une solution saline stérile (NaCl 0,9 %) pour obtenir des solutions de travail à une concentration finale de 100 µg/mL, utilisées pour le traitement des échantillons. Les solutions ont été homogénéisées à l'aide d'un vortex, filtrées pour garantir la pureté, puis conservées à 4°C jusqu'à leur utilisation.

Les spermatozoïdes caprins ont été répartis en trois groupes : un groupe témoin (non traité), un groupe traité à la Deltaméthrine, et un groupe traité au Pirimiphos-méthyl. Après mélange avec les solutions correspondantes correspondantes (Un volume de chaque pesticide a été ajouté à un volume de sperme afin d'obtenir une concentration finale de 25 µg/mL pour chaque pesticide dans le mélange réactionnel). Par la suite, tous les échantillons ont été incubés au bain-marie à 37°C afin de simuler les conditions physiologiques.

La mobilité a été évaluée à deux temps d'incubation : T0 (immédiatement après traitement) et T30 (30 minutes). L'analyse a été réalisée à l'aide du système CASA, qui permet une quantification objective des paramètres de motilité : VCL (Vitesse curviligne), VSL (Vitesse en ligne droite) et VAP (Vitesse moyenne le long d'une trajectoire).

IV.6. Evaluation de la toxicité de l'extrait de *Tamarix gallica*

Principe :

Ce test vise à évaluer l'impact de l'extrait de *Tamarix gallica* sur la mobilité des spermatozoïdes, afin de déterminer la concentration à partir de laquelle cet extrait devient toxique pour ces cellules. L'objectif est de définir la concentration minimale qui n'affecte pas leur motilité, ce qui permettrait de fixer des conditions optimales pour des tests de protection.

Mode opératoire :

Pour évaluer la toxicité de *Tamarix gallica*, une solution mère est préparée à une concentration de 10 mg/mL, qui est ensuite diluée successivement pour obtenir trois concentrations différentes : 5 mg/mL, 2,5 mg/mL et 1,25 mg/mL.

Ces solutions sont utilisées pour traiter les spermatozoïdes, avec trois tests indépendants réalisés pour chaque concentration. Chaque test est répété trois fois pour assurer la reproductibilité des résultats. Un groupe témoin, sans extrait de *Tamarix gallica*, est également inclus pour comparaison.

Les échantillons sont incubés à différents intervalles de temps (T0, T20 et T40) et l'évaluation de la toxicité est effectuée en analysant la motilité des spermatozoïdes après chaque incubation à l'aide du système CASA .

IV.7. Evaluation de l'effet protecteur de l'extrait contre la toxicité des pesticides sur les spermatozoïdes

Principe :

L'étude vise à déterminer si l'extrait de *Tamarix gallica*, seul ou associé à la vitamine E, peut protéger les spermatozoïdes caprins des effets toxiques de la Deltaméthrine et du Pirimiphos- méthyl. Ces pesticides induisent un stress oxydatif responsable de la peroxydation lipidique, altérant la motilité et compromettant ainsi la fertilité. L'effet protecteur des traitements est évalué en comparant la motilité des spermatozoïdes entre les groupes expérimentaux, à l'aide du système CASA , un outil permettant une analyse quantitative, précise et reproductible (Oda *et al.*,2012).

Mode opératoire :

Les solutions de travail ont été préparées. L'extrait de *Tamarix gallica*, obtenu à partir d'une solution mère à 10 mg/mL, est dilué à 2,5 mg/mL. Cette concentration a été choisie sur la base de tests de toxicité confirmant l'absence d'effet nocif sur les spermatozoïdes. La vitamine E, quant à elle, est préparée à 1 mg/mL puis diluée à 0,25 mg/mL. Les deux pesticides, Deltaméthrine et Pirimiphos-méthyl, sont préparés à une concentration de 25 µg/mL. Cinq groupes expérimentaux sont constitués. Les détails relatifs à chaque groupe expérimental sont regroupés dans le (**Tableau II**) ci-après : (AlSolaiman *et al.*,2019)

Tableau II : Groupes expérimentaux pour l'évaluation de l'effet protecteur des extraits de *T.gallica*

Groupe 1	Témoin positif: Sperme exposé aux pesticides (Pirimiphos-méthyl ou Deltaméthrine).
Groupe 2	Témoin négatif : Sperme seul, exposé à une solution saline (NaCl 0,9%).
Groupe 3	Extrait de <i>T. gallica</i> seul: Sperme exposé à l'extrait à 2,5 mg/mL.
Groupe 4	Vitamine E seule : Sperme exposé à la vitamine E à 0,25 mg/ mL..
Groupe 5	Synergie (Extrait <i>T.gallica</i> +vit E): Sperme exposé à l'extrait de plante (2,5 mg/mL) et à la vitamine E (0,25 mg/mL) simultanément.

Le sperme est mélangé à chaque traitement, puis incubé durant 20 minutes à température ambiante, afin de permettre une adaptation préalable aux solutions. Ensuite, 50 µL de pesticide (Pirimiphos-méthyl ou Deltaméthrine) sont ajoutés à chaque tube, suivis d'une nouvelle incubation de 15 min dans les mêmes conditions.

Chaque condition expérimentale est répétée trois fois (triplicat) afin d'assurer la reproductibilité des résultats. À l'issue de l'incubation, les spermatozoïdes sont analysés à l'aide du système CASA. Ce système permet de mesurer avec précision la vitesse, la progression et la motilité globale.

IV.8. Test de peroxydation lipidique

Le taux de malondialdéhyde (MDA) a été mesuré comme indicateur de la peroxydation lipidique, un processus de dégradation des lipides membranaires sous l'effet des radicaux libres, générant des composés toxiques comme le MDA. Ce phénomène affecte particulièrement les membranes des spermatozoïdes, riches en acides gras polyinsaturés (Ayala *et al.*, 2014). Le test visait à évaluer l'effet oxydatif de pesticides tels que la deltaméthrine et le pérिमiphos- méthyl, ainsi que le potentiel protecteur de l'extrait de *Tamarix gallica* sur ces membranes (Sehrawat et Sultana, 2006).

Principe :

Le protocole adopté repose sur le test à l'acide thiobarbiturique (TBA), selon la méthode de Buege et Aust (1978), avec certaines modifications. Après 15 minutes de co- incubation, les échantillons ont été centrifugés à 800 g pendant 10 minutes pour séparer les spermatozoïdes du milieu de traitement. De l'eau distillée a été ajoutée aux culots, puis les cellules ont été soniquées. Ensuite, 315 µl d'acide trichloroacétique (TCA) et 125 µl de NaCl à 0,9 % ont été ajoutés à chaque surnageant. Les échantillons ont été incubés à 0 °C pendant 2 heures, puis centrifugés à 16 000 g pendant 10 minutes. À chaque surnageant, 150 µl d'acide thiobarbiturique ont été ajoutés, puis les échantillons ont été bouillis pendant 15 minutes avant d'être refroidis dans un bain de glace. L'absorbance a été mesurée à 535 nm. Le coefficient d'extinction molaire du MDA est de $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, et les résultats ont été exprimés en nmol de MDA/10⁸ spermatozoïdes.

IV.9. Etude statistique

L'analyse statistique a été effectuée avec le logiciel StatView.5, les résultats sont présentés comme moyenne ± écart type (n =3). Les valeurs sont données en * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001. Le test ANOVA One-Way a été utilisé pour comparer la différence entre chaque groupe traité avec le groupe sélectionné. Les valeurs de p < 0,05 ont été considérées comme significatives.

Chapitre V :
Résultats et discussion

V.1. Taux d'extraction

L'extraction solide-liquide permet de libérer les composés bioactifs par diffusion du solvant à travers la matrice végétale (Vercauteren, 1996). Les composés phénoliques étant sensibles à l'oxydation et à l'hydrolyse, le choix du solvant est important (Naczk & Shahidi, 2004). Dans notre étude, l'éthanol 70 % a permis d'obtenir un rendement de **23,36 %** à partir des feuilles de *Tamarix gallica*, ce qui reste proche des 26,31 % pour *T. africana*, étude rapportée par Khabtane et son équipe en 2017, et supérieur aux 11,35 % obtenus par Soxhlet concernant la même plante (Bihaoui *et al.*, 2024).

Une étude récente menée par l'équipe de Zar Kalai, en 2023 a rapporté que le méthanol à 70 % s'est avéré être le solvant de macération le plus efficace pour l'extraction des feuilles et des fleurs de *T.gallica*, permettant d'obtenir une capacité antioxydante totale ainsi qu'une activité anti-radicalaire élevées. Cette étude a révélé des teneurs élevées en composées phénoliques atteignant 196,3 mg EAG /g MS pour les feuilles et 186,9 mg EAG /g MS pour les fleurs confirmant ainsi l'efficacité du solvant utilisé.

Le rendement dépend de nombreux facteurs : espèce, variété, stade de maturité, conditions environnementales, conservation, et surtout conditions d'extraction (température, durée, répétition) (Levizou *et al.*, 2004 ; Naczk & Shahidi, 2006; Falleh *et al.*, 2008). Il a été démontré que l'augmentation de la polarité du solvant améliore significativement l'extraction des polyphénols (Goli *et al.*, 2005).

Chez *Tamarix gallica*, plusieurs composés phénoliques majeurs comme la catéchine et l'isoquercétine ont été identifiés (Zar Kalai *et al.*, 2023). *T. nilotica* contient aussi des tanins hydrolysables et des flavonoïdes sulfatés (Nawwar *et al.*, 1982 ; Orabi *et al.*, 2016), tandis que *T. aphylla* est riche en quercétine, acide ellagique et gallique (Ben Ammar *et al.*, 2014). Ces profils révèlent une bonne affinité des espèces du genre *Tamarix* avec les solvants polaires.

V.2. Teneurs en composés phénoliques

V.2.1. Polyphénols totaux

L'analyse de l'extrait éthanolique à 70 % des feuilles de *T. gallica* a révélé une teneur élevée en polyphénols totaux (**figure 21**), estimée à $361,5 \pm 8,891$ mg EAG/g d'extrait. Cette richesse en composés phénoliques est cohérente avec les données rapportées dans la littérature, où des teneurs variant de $339,61 \pm 4,04$ à $334,19 \pm 8,47$ mg EAG/g ont été observées pour des extraits similaires (Said *et al.* 2018 ; Bencherif *et al.*, 2019). D'autres études ont également mis en évidence des concentrations significatives en polyphénols dans les extraits de *T. gallica*, soulignant son potentiel antioxydant (Chaturvedi *et al.*, 2012).

V.2.2. Flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes totaux, exprimée en équivalent de quercétine, a montré une teneur de $141,6 \pm 4,411$ mg EQ/g d'extrait. (*figure 21*) Ces résultats corroborent ceux obtenus par (Said *et al.* 2018), qui ont rapporté une teneur de $159,73 \pm 6,28$ mg EQ/g dans des extraits de feuilles de *T. gallica*. La présence notable de flavonoïdes tels que la catéchine et l'isoquercétine a été identifiée dans des études antérieures, renforçant l'idée que *T. gallica* est une source riche en flavonoïdes bioactifs (Chaturvedi *et al.* 2012 ; Ben Hmidene *et al.* 2017).

V.2.3. Tannins hydrolysables

La teneur en tannins hydrolysables, exprimée en équivalent d'acide tannique, a été déterminée à $185,9 \pm 1,88$ mg EAT/g d'extrait. (*figure 21*) Les tannins hydrolysables, tels que l'acide ellagique et l'acide gallique, sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et ont été identifiés dans diverses espèces de *Tamarix*, notamment *T. aphylla* (Ishak *et al.*, 1972). Ces composés contribuent significativement à l'activité biologique des extraits de *T. gallica*.

V.2.4. Tannins condensés

L'analyse des tannins condensés, exprimée en équivalent de catéchine, a révélé une teneur de $85,83 \pm 9,619$ mg ECAT/g d'extrait. (*figure 21*) Bien que les tannins condensés soient généralement moins abondants que les hydrolysables dans *T. gallica*, leur présence est significative et contribue aux propriétés antioxydantes de la plante. Des études antérieures ont rapporté des teneurs variables en tannins condensés dans les extraits de *T. gallica*, soulignant l'influence des conditions environnementales et des méthodes d'extraction sur leur concentration (Hadjadj *et al.*, 2022).

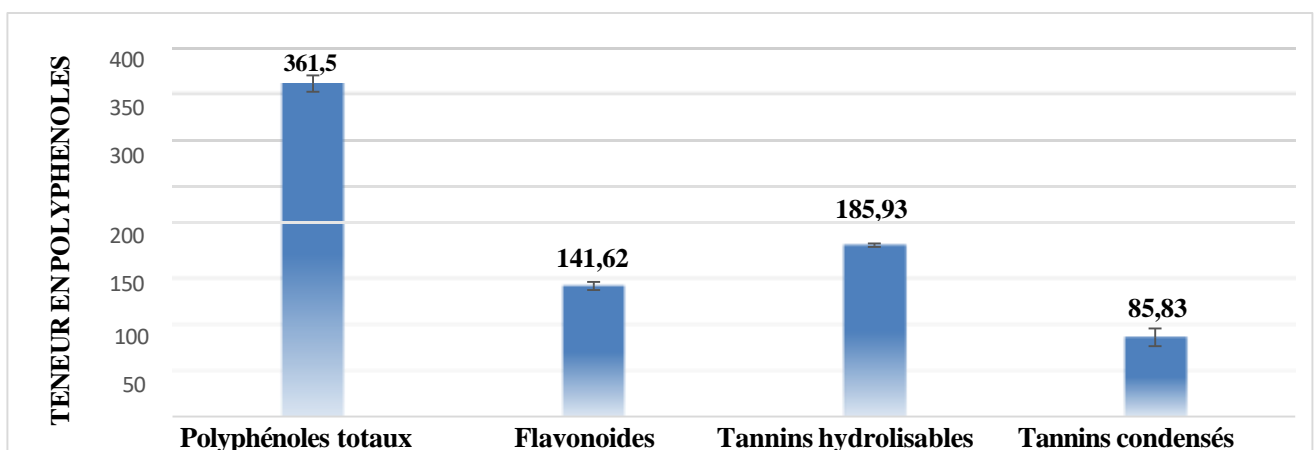


Figure 21 : Taux de phénols totaux (mg EAG/g), flavonoïdes (mg EQ/g), tannins hydrolysables (mg AT/g) et tannins condensés (mg CAT/g) dans les extraits de feuilles de *T. gallica*.

V.3. Évaluation du pouvoir antioxydant

V.3.1. Activité scavenger contre le radical DPPH

L'extrait éthanolique de *Tamarix gallica* a montré une activité antioxydante modérée (**figure 22**) contre le radical DPPH, avec un taux d'inhibition de $30,9 \pm 1,37$ % à la concentration de 0,25 mg/mL. En comparaison, la Catéchine, utilisé comme référence, a atteint une inhibition de $87,48 \pm 0,23$ % à 0,1 mg/mL, avec une différence hautement significative ($p < 0,001$). Ces résultats sont cohérents avec ce qui a été rapporté pour *Tamarix ramosissima*, ou une inhibition d'environ 40 % a été des concentrations similaires (Zhang *et al.*, 2020).

D'autres travaux sur *Tamarix aphylla* rapportent également une inhibition proche de 60 % (Said *et al.*, 2018). Inhibitions plus élevées (jusqu'à 95 %), ce qui confirme que l'activité antiradicalaire contre le radical DPPH des extraits bruts de feuilles de *Tamarix gallica*, est relativement modérée. Ces différences s'expliquent par la variabilité du profil phytochimique entre les espèces, la méthode d'extraction et les conditions environnementales.

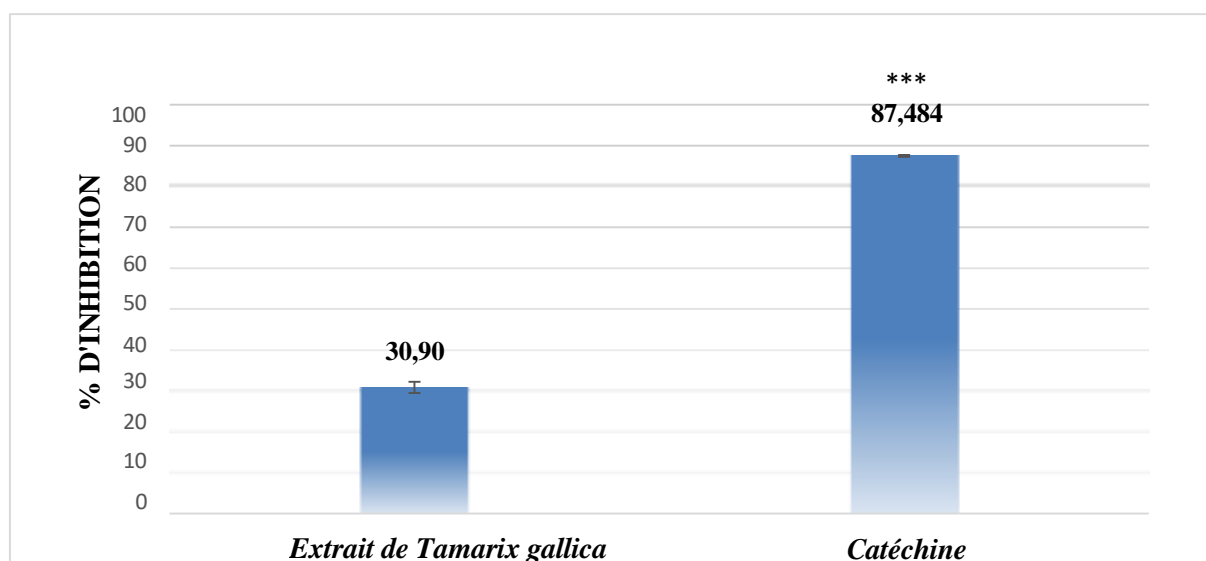


Figure 22 : Evaluation du pouvoir anti-radicalaire au DPPH de l'extrait brut des feuilles *T.gallica*, comparé à la catéchine.

V.3.2. Activité scavenger contre le radical ABTS

L'extrait de *T. gallica* a démontré une forte capacité antioxydante en piégeant le radical $ABTS^+$, avec un taux d'inhibition de $95,76 \pm 0,45$ % à une concentration de 0,125 mg/mL (**figure 23**). Aucune différence significative n'a été observée par rapport à la quercétine, utilisée comme standard à 0,025 mg/mL, qui a présenté une inhibition comparable de $96 \pm 3,34$ %.

Ces résultats s'alignent avec ceux rapportés pour *Tamarix gallica*, confirmant la richesse en composés antioxydants de cette espèce (Bettaib *et al.*, 2017). En revanche, d'autres auteurs ont observé des inhibitions plus faibles pour des extraits de la même plante, ce qui pourrait être dû aux différences de composition en polyphénols et flavonoïdes, souvent influencées par l'origine géographique ou la période de récolte (Ksouri *et al.*, 2009). Il est également souligné que l'efficacité du piégeage d'ABTS dépend fortement de la structure des flavonoïdes, en particulier de la présence de groupements hydroxyles libres (Oszmianski *et al.*, 2007).

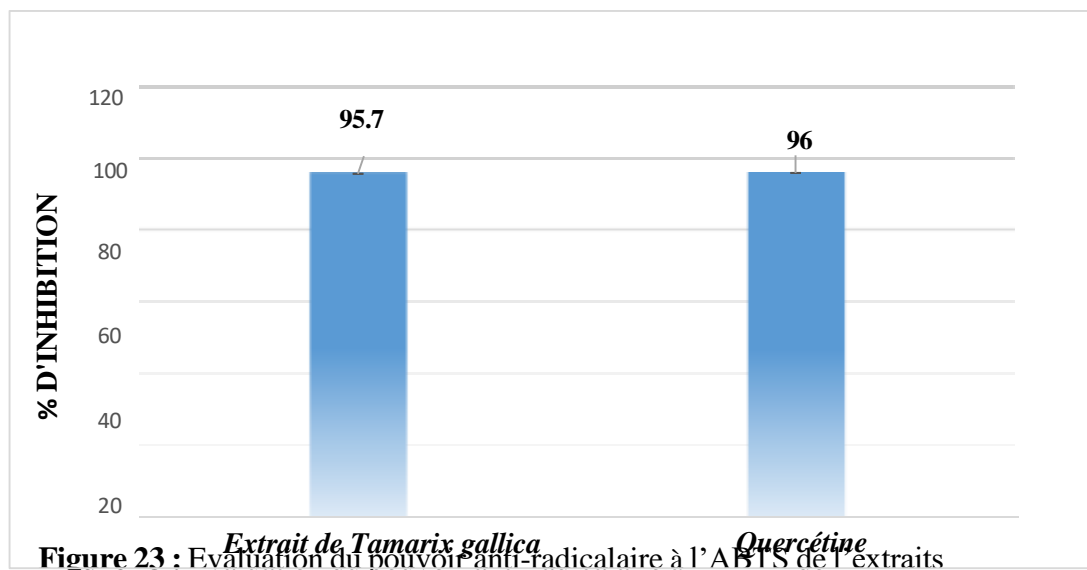


Figure 23 : Évaluation du pouvoir anti-radicalaire à l'ABTS de l'extrait brut des feuilles de *T.gallica* comparé à la quercétine.

V.3.3. Activité scavenger du radical hydroxyle (OH)

L'extrait brut des feuilles a montré une bonne capacité à inhiber le radical hydroxyle, avec un taux d'inhibition de $65,68 \pm 4,51$ % à une concentration de 0,125 mg/mL (figure 24). Cette activité, bien que modérée, demeure significative et remarquable. En comparaison, la quercétine, utilisée comme standard à 0,025 mg/mL, a présenté une inhibition légèrement inférieure ($54,23 \pm 4,72$ %), sans aucune différence significative ne soit observée entre les deux échantillons. Ces résultats peuvent s'expliquer par les propriétés chélatrices du fer de l'extrait, favorisant ainsi la neutralisation des radicaux hydroxyles (Rice-Evans *et al.*, 1996).

Une activité plus élevée a été observée avec *Tamarix ramosissima*, ce qui pourrait être lié à des différences interspécifiques ou à la nature des composés actifs présents (Ren *et al.*, 2019). Par ailleurs, il a été confirmé que l'efficacité des flavonoïdes contre les radicaux OH dépend non seulement de leur capacité à capturer directement les radicaux, mais aussi à perturber la réaction de Fenton par chélation des métaux (Soucek *et al.*, 2011).

Dans cette présente étude L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts de feuilles de *Tamarix gallica*, a révélé un potentiel intéressant, bien que variable selon le type de radical ciblé (**figure 24**). Plusieurs études récentes confirment que cette activité antioxydante s'explique principalement par la richesse de cette espèce en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins. Ainsi, un extrait aqueux issu de feuilles récoltées dans trois zones climatiques en Algérie a montré une teneur élevée en polyphénols totaux (Fellah *et al.*, 2019).

De même, une étude utilisant des extraits méthanoliques et à l'acétate d'éthyle a mis en évidence des quantités importantes de composés phénoliques (jusqu'à 190 mg ÉAG/g) et de flavonoïdes (près de 79 mg ÉQ/g), corrélées à une forte capacité antioxydante (Lefahal *et al.*, 2021). Par ailleurs, une revue récente consacrée au genre *Tamarix* a recensé une diversité de composés bioactifs : flavonoïdes (18 %), phénols (14 %) et tanins (environ 9 %), associés à des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses (Li *et al.*, 2024). Ces données renforcent l'idée que la performance antioxydante des extraits étudiés repose en grande partie sur leur profil phytochimique, particulièrement riche en molécules bioactives.

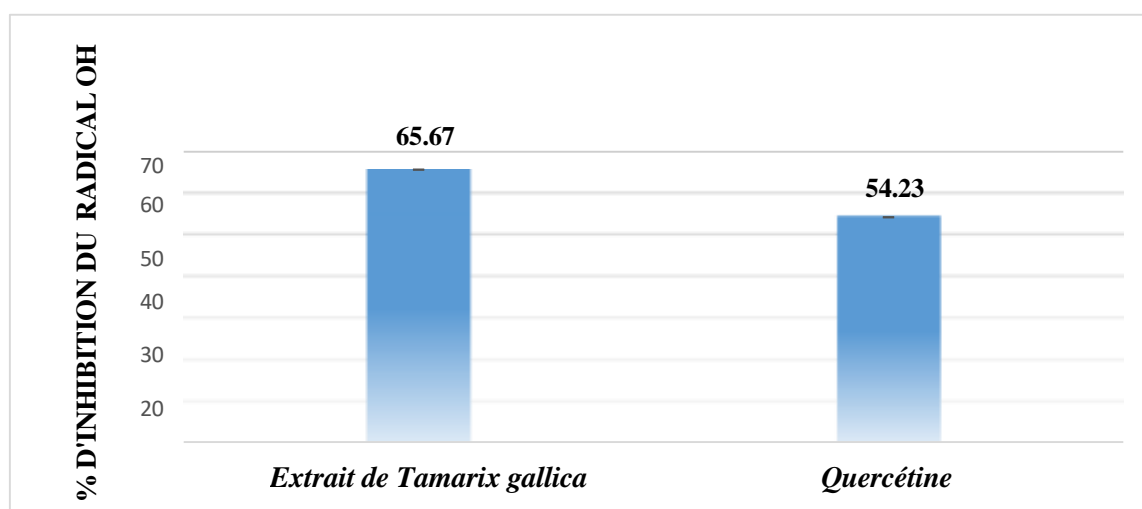


Figure 24 : Effet scavenger de l'extrait brut des feuilles de *Tamarix gallica* comparé à celui de la quercétine sur le radical hydroxyle (\bullet OH)

V.4. Évaluation de la toxicité sur la mobilité des spermatozoïdes

V.4.1. Toxicité des pesticides sur la mobilité des spermatozoïdes

L'évaluation de la toxicité de la Deltaméthrine (DLM) et du Pirimiphos-méthyl (PMM) à la concentration de 25 µg/mL sur la mobilité des spermatozoïdes, réalisée à l'aide du système CASA aux temps T₀ et T₃₀, a révélé une diminution marquée des vitesses VCL, VSL et VAP par rapport au témoin, avec des différences statistiquement significatives (*figure 25*).

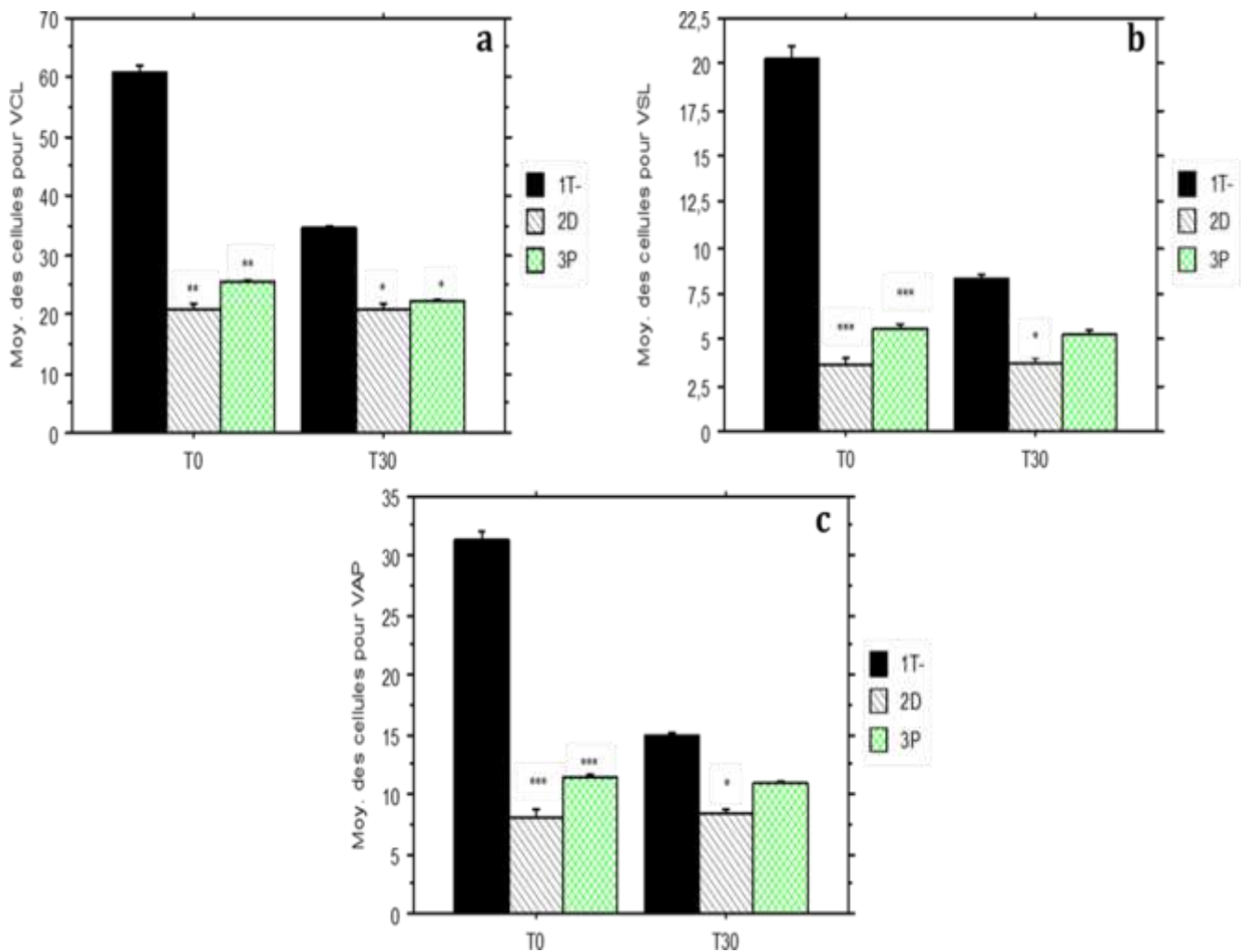


Figure 25 : Paramètres cinématiques des spermatozoïdes de caprin co-incubés avec le Deltaméthrine (D) et le Pirimiphos-méthyl (P).

(a) Vitesse curviligne (VCL), (b) vitesse en ligne droite (VSL) et (c) vitesse moyenne sur trajectoire (VAP), mesurées après 0,30 minutes de co-incubation des spermatozoïdes avec les différents échantillons testés : T⁻ : groupe témoin négatif (SPZ + Nacl 0,9%) ; D : groupe pesticide 1 (SPZ + Deltaméthrine 25 µg/mL + Nacl 0,9%) ; P : groupe pesticide 2 (SPZ + Pirimiphos-méthyl 25 µg/mL + Nacl 0,9%). * : comparaison la vitesse des SPZ traités par les deux pesticides avec le T⁻. Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM des différentes expérimentations (* p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001).

À T₀, la VCL est passée d'environ 60 ± 2,0 µm/s dans le groupe témoin à ~ 20 ± 1,0 µm/s avec la Deltaméthrine (DLM) et ~ 25 ± 1,0 µm/s avec le Pirimiphos-méthyl (PMM).

À T₃₀, une baisse continue a été observée, avec une VCL de $\sim 35 \pm 1,5 \mu\text{m/s}$ chez le témoin, contre ($\sim 21 \pm 1,0 \mu\text{m/s}$ et $\sim 22 \pm 0,9 \mu\text{m/s}$ pour la DLM et le PMM respectivement, traduisant une toxicité évolutive dans le temps. De même, la VSL a fortement chuté, passant d'environ $\sim 20 \pm 0,8 \mu\text{m/s}$ chez le témoin à $\sim 3,5 \pm 0,5 \mu\text{m/s}$ pour la Deltaméthrine et $\sim 5,0 \pm 0,4 \mu\text{m/s}$ pour le Pirimiphos-méthyl. Quant à la VAP, elle est descendue de $\sim 32 \pm 1,0 \mu\text{m/s}$ dans le groupe témoin à $\sim 7,5 \pm 0,6 \mu\text{m/s}$ avec la Deltaméthrine et $\sim 11 \pm 0,5 \mu\text{m/s}$ avec le Pirimiphos-méthyl.

Ces résultats confirment une altération sévère de la mobilité spermatozoïdienne, en lien avec les effets délétères bien documentés des pesticides, notamment le stress oxydatif, la peroxydation lipidique, l'altération de la fonction mitochondriale et la fragmentation de l'ADN (Agarwal *et al.*, 2014 ; El-Farag *et al.*, 2014 ; Mehrpour *et al.*, 2014 ; Farag *et al.*, 2016 ; Osama *et al.*, 2019).

La Deltaméthrine, en tant que pyréthriinoïde, perturbe l'intégrité de la membrane cellulaire, tandis que le Pirimiphos-méthyl, un organophosphoré, inhibe l'acétylcholinestérase et induit le stress oxydatif via la génération des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ces mécanismes expliquent la diminution simultanée des paramètres cinétiques ; VCL, VSL et VAP, indicateurs critiques de fertilité spermatozoïdienne (Aitken *et al.*, 2014).

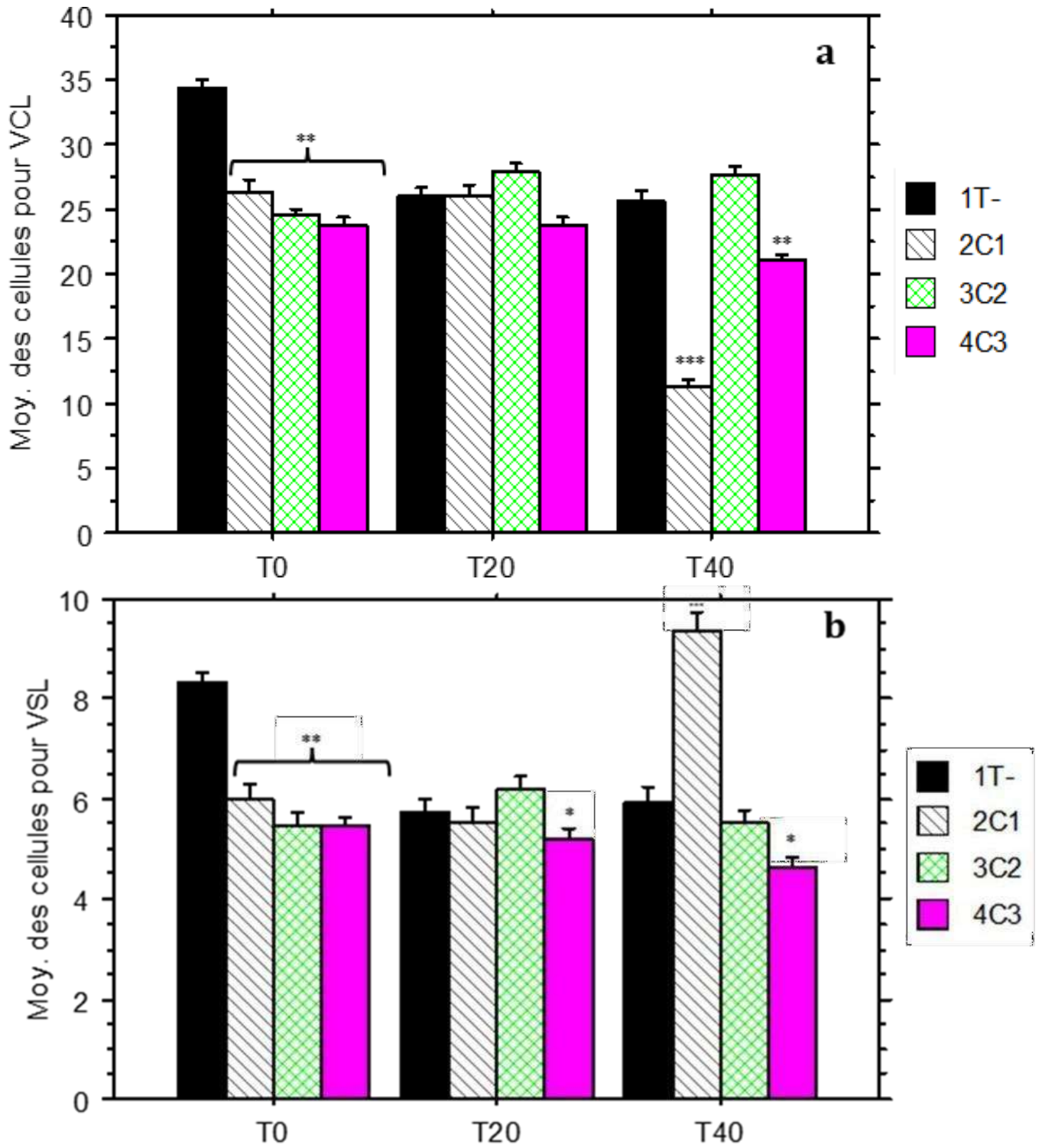
V.4.2. Toxicité de l'extrait brut des feuilles de *T.gallica* sur les spermatozoïdes

L'extrait hydroalcoolique de *T. gallica* a été évalué à trois concentrations (1,25, 2,5 et 5 mg/mL) à différents temps d'incubation (T₀, T₂₀, T₄₀). La **figure 26** montre qu'à la concentration de 1,25 mg/mL (C1), une altération modérée de la mobilité spermatozoïdienne a été observée à T₀, en particulier sur les paramètres VSL ($6,0 \pm 0,3 \mu\text{m/s}$) et VAP ($13,0 \pm 0,4 \mu\text{m/s}$), comparé avec le témoin ($8,2 \pm 0,5 \mu\text{m/s}$ pour VSL et $15,0 \pm 0,6 \mu\text{m/s}$ pour VAP), traduisant une bonne tolérance de l'extrait à cette dose. Toutefois, une baisse marquée de la VCL a été enregistrée à T₄₀ ($12,0 \pm 0,5 \mu\text{m/s}$), suggérant une sensibilité plus prononcée de ce paramètre.

À la concentration plus élevée de 2,5 mg/mL (C2), la mobilité a été relativement préservée aux temps initiaux, avec une légère diminution des trois paramètres dès T₀. Fait intéressant, une augmentation des vitesses VCL, VSL et VAP ($27,5 \pm 0,7 \mu\text{m/s}$, $6,0 \pm 0,4 \mu\text{m/s}$, $13,0 \pm 0,4 \mu\text{m/s}$, respectivement) a été notée à T₂₀ et T₄₀ par rapport au témoin, ce qui pourrait s'expliquer par un effet protecteur des composés bioactifs présents dans l'extrait.

À cette concentration, leur teneur suffisante et optimale pourrait contribuer à la préservation, voire à l'amélioration, de la mobilité des spermatozoïdes, notamment en limitant les notamment sur la VCL ($21,0 \pm 0,6 \mu\text{m/s}$) après 40 min.

Ce profil dose-dépendant reflète un comportement biphasique classique des extraits riches en flavonoïdes et polyphénols, bénéfiques à faible dose mais pro-oxydants à concentration élevée (Bahramsoltani et al., 2019 ; Zaha et al., 2023). Des effets similaires ont été observés avec des extraits de grenade, de thé vert ou de romarin, qui, au-delà d'un certain seuil, altèrent les mitochondries et réduisent la motilité (Rodrigues et al., 2018 ; Beigi Harchegani et al 2019 ; Fujiwara et al., 2023). Cette toxicité pourrait être liée à un déséquilibre du potentiel mitochondrial et à une baisse d'ATP, comme le soulignent Costa et ses collaborateurs en 2021.



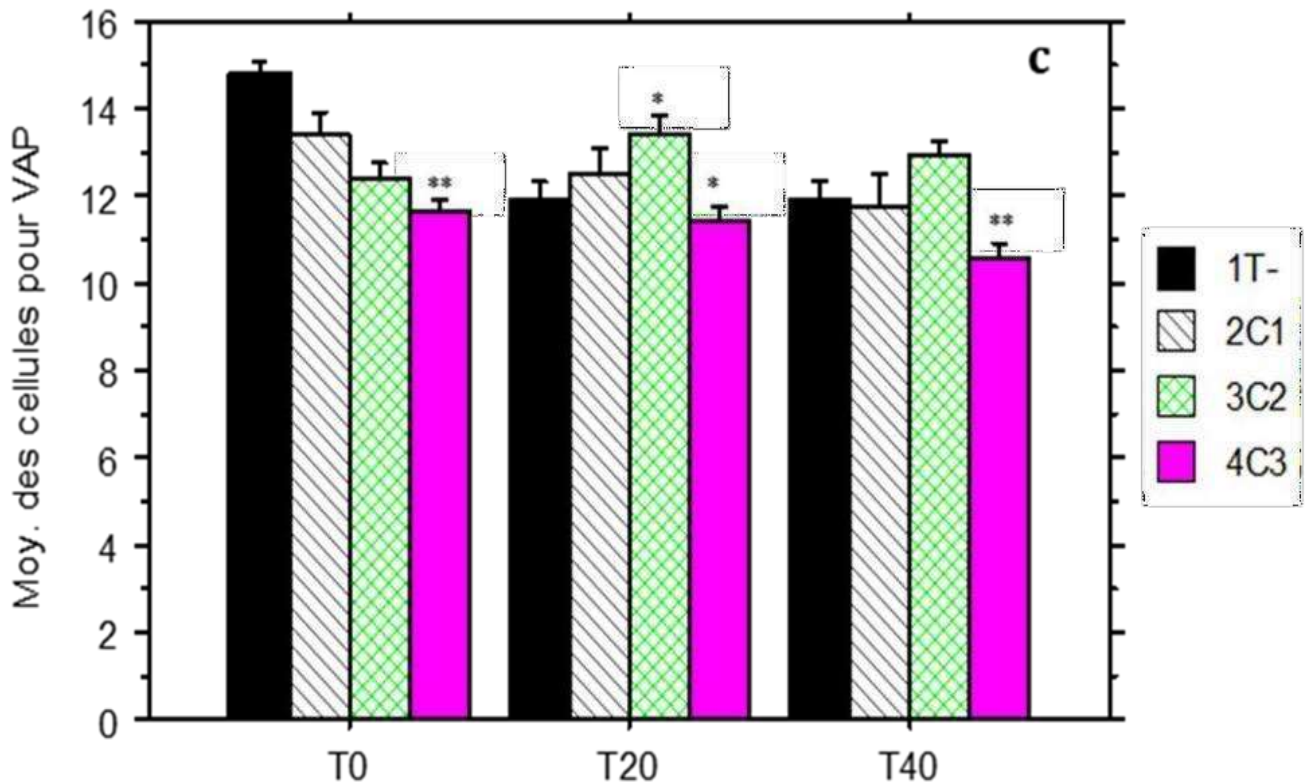


Figure 26 : Paramètres cinématiques des spermatozoïdes de caprin co-incubés avec l'extrait brut des feuilles de *T.gallica*.

(a) Vitesse curviligne (VCL), (b) vitesse en ligne droite (VSL) et (c) vitesse moyenne sur trajectoire (VAP), mesurées après 0, 30 et 40 minutes de co-incubation des spermatozoïdes avec les différentes concentrations de l'extrait : **T-** : groupe témoin négatif (SPZ + NaCl 0,9%) ; **C1** : groupe (SPZ + Extrait à 1,25 mg/ml) ; **C2** : groupe (SPZ + Extrait à 2,5 mg/ml) ; **C3** : groupe (SPZ + Extrait à 2,5 mg/ml) . * comparaison la vitesse des SPZ traités par les deux pesticides avec le **T-**. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM des différentes expérimentations (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Les résultats sont donc cohérents avec les données de la littérature : **C1** est bien tolérée, **C2** est optimale, et **C3** devient toxique avec l'exposition prolongée. Ce modèle en cloche, appelé « effet hormétique » est bien documenté (Chakraborty & Saha, 2023). Le choix de C2 pour les tests de protection est ainsi justifié, à l'image de l'étude de (Grami *et al.* 2020) où une concentration modérée d'extrait végétal préservait efficacement la mobilité spermatique.

V.5. Effet protecteur de l'extrait des feuilles de *Tamarix gallica* contre les pesticides

V.5.1. Protection contre le Pirimiphos-méthyl

L'effet protecteur de l'extrait brut des feuilles de *T.gallica* (2,5 mg/mL) contre le Pirimiphos- méthyl a été évalué en comparant plusieurs groupes : témoin négatif, pesticide seul, extrait seul, vitamine E seule, et combinaison extrait + vitamine E. D'après les résultats présentés dans la (**figure 27**), le Pirimiphos-méthyl a entraîné une diminution marquée des vitesses spermatisques (VCL, VSL, VAP), confirmant ainsi sa toxicité oxydative, déjà bien documentée dans la littérature. Cette toxicité est notamment liée à ses effets délétères sur l'intégrité membranaire et la motilité des spermatozoïdes (El-Farag *et al.*, 2014 ; Mohammadi-Sardoo *et al.*, 2018).

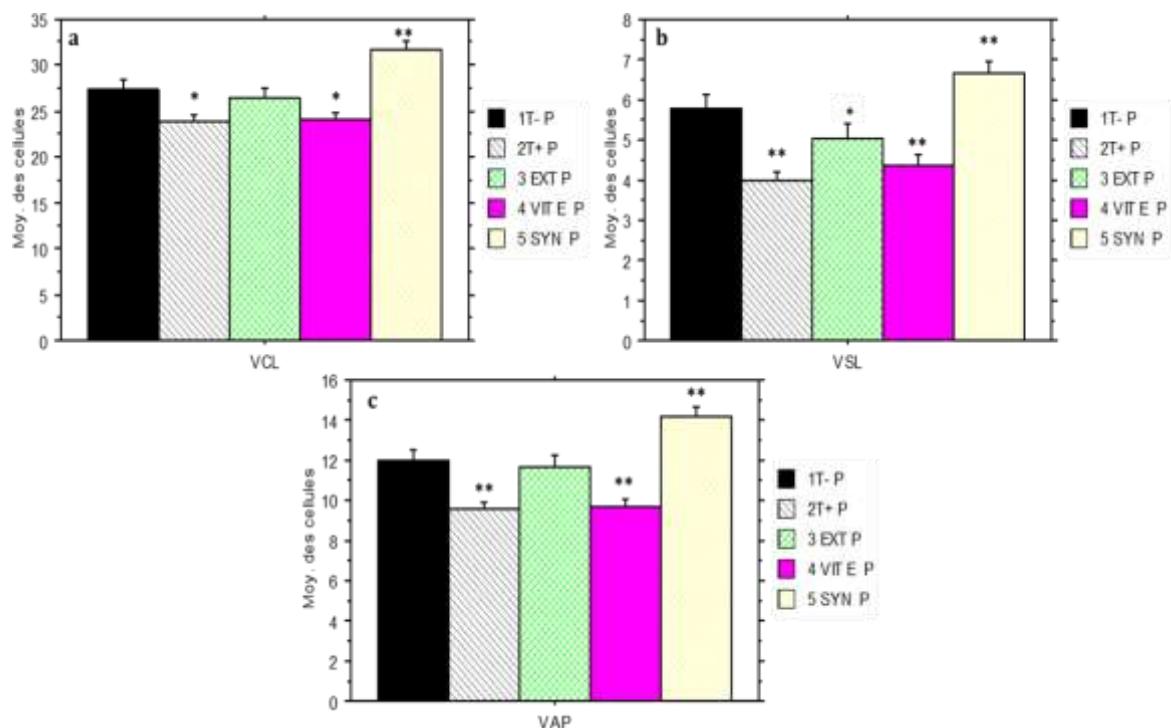


Figure 27 : Paramètres cinématiques des spermatozoïdes caprins co-incubés avec l'extrait brut de *Tamarix gallica* et/ou la vitamine E, suivie d'une exposition *in vitro* au PPM

(a) Vitesse curviligne (VCL), (b) vitesse en ligne droite (VSL) et (c) vitesse moyenne sur trajectoire (VAP), mesurées après une co-incubation des spermatozoïdes avec le pesticide et les antioxydants :

T- : groupe témoin négatif (SPZ + Nacl 0,9%) ; **T+** : groupe (SPZ + PM 25 µg/mL + Nacl 0,9%).

EXT: groupe (SPZ + Extrait 2,5 mg/ml + PMM 25 µg/mL) ; **VIT E**: groupe (SPZ + VIT E 0,25 mg/ml + PM 25 µg/mL) ; **SYN**: groupe (SPZ + Extrait 2,5 mg/ml + VIT E 0,25 mg/ml + PMM 25 µg/mL).

* : comparaison la vitesse des différents groupes traités avec le **T-**. Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM des différentes expérimentations (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

L'extrait seul de *Tamarix gallica* a permis une bonne préservation des vitesses spermatiques, notamment de la VCL ($22,0 \pm 0,4 \mu\text{m/s}$) et de la VAP ($11,0 \pm 0,3 \mu\text{m/s}$), avec des valeurs très proches de celles du témoin négatif ($27,0 \pm 0,5 \mu\text{m/s}$, $12,0 \pm 0,4 \mu\text{m/s}$), indiquant une efficacité protectrice notable. Cette action protectrice est probablement liée à la présence de flavonoïdes et de tanins, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et leur capacité à neutraliser les radicaux libres générés par les pesticides (Bahramsoltani *et al.*, 2019 ; Chakraborty & Saha, 2023).

Le groupe combiné extrait + vitamine E a montré les meilleurs résultats (VCL : $33,0 \pm 0,6 \mu\text{m/s}$; VSL : $6,5 \pm 0,3 \mu\text{m/s}$; VAP : $14,0 \pm 0,4 \mu\text{m/s}$), surpassant non seulement ceux obtenus avec la vitamine E seule, mais également les valeurs du témoin négatif, avec une différence statistiquement significative remarquable. Ces résultats suggèrent un effet synergique entre les composés antioxydants présents dans l'extrait de *Tamarix gallica* et la vitamine E, renforçant ainsi la protection contre les altérations de la mobilité spermatique. Cette synergie antioxydante est soutenue par plusieurs études ayant démontré que l'association de flavonoïdes végétaux avec la vitamine E renforce la défense mitochondriale et améliore la motilité spermatique (Costa *et al.*, 2021 ; Sadikin *et al.*, 2022).

Par exemple, l'extrait de thé vert, riche en catéchines, a permis d'atténuer la toxicité du chlorpyrifos sur la motilité et la morphologie des spermatozoïdes chez le rat (El-Wakf *et al.*, 2019). De même, l'association du sésame (*Sesamum indicum*) avec la vitamine C a amélioré la qualité du sperme et les taux de testostérone (Oyewopo *et al.*, 2010). L'extrait de thé vert a également montré une efficacité contre les effets du diméthoate, en préservant la qualité spermatique et la structure testiculaire (Abd El-Mageed *et al.*, 2022).

V.5.2. Protection contre la Deltaméthrine

Comme pour le Pirimiphos-méthyl, la Deltaméthrine (*figure 28*) a provoqué une chute importante des paramètres de mobilité (VCL : $22,0 \pm 0,4 \mu\text{m/s}$, VSL : $3,5 \pm 0,2 \mu\text{m/s}$, VAP : $8,0 \pm 0,3 \mu\text{m/s}$), confirmant sa toxicité mitochondriale et sa capacité à induire un stress oxydatif intense perturbant la production d'ATP (Mehrpour *et al.*, 2014 ; Osama *et al.*, 2019). L'extrait de *Tamarix gallica* seul a exercé une protection notable contre les effets toxiques de la deltaméthrine, en particulier sur la VAP ($10,0 \pm 0,3 \mu\text{m/s}$), bien que cette protection demeure partielle. En revanche, à l'instar de ce qui a été observé avec le pirimiphos-méthyl, la vitamine E administrée seule n'a pas montré d'effet protecteur. Au contraire, elle a entraîné une différence très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au témoin négatif, avec des résultats similaires à ceux du témoin positif (VSL : $3,0 \pm 0,2 \mu\text{m/s}$; VAP : $8,3 \pm 0,3 \mu\text{m/s}$).

Ce constat pourrait s'expliquer par un effet pro-oxydant de la vitamine E en l'absence de co-antioxydants. En effet, une étude de Bowry & Stocker (1993) a démontré que la vitamine E peut agir comme pro-oxydant dans des conditions de stress oxydatif modéré, notamment lorsqu'elle n'est pas régénérée par d'autres molécules antioxydantes telles que la vitamine C.

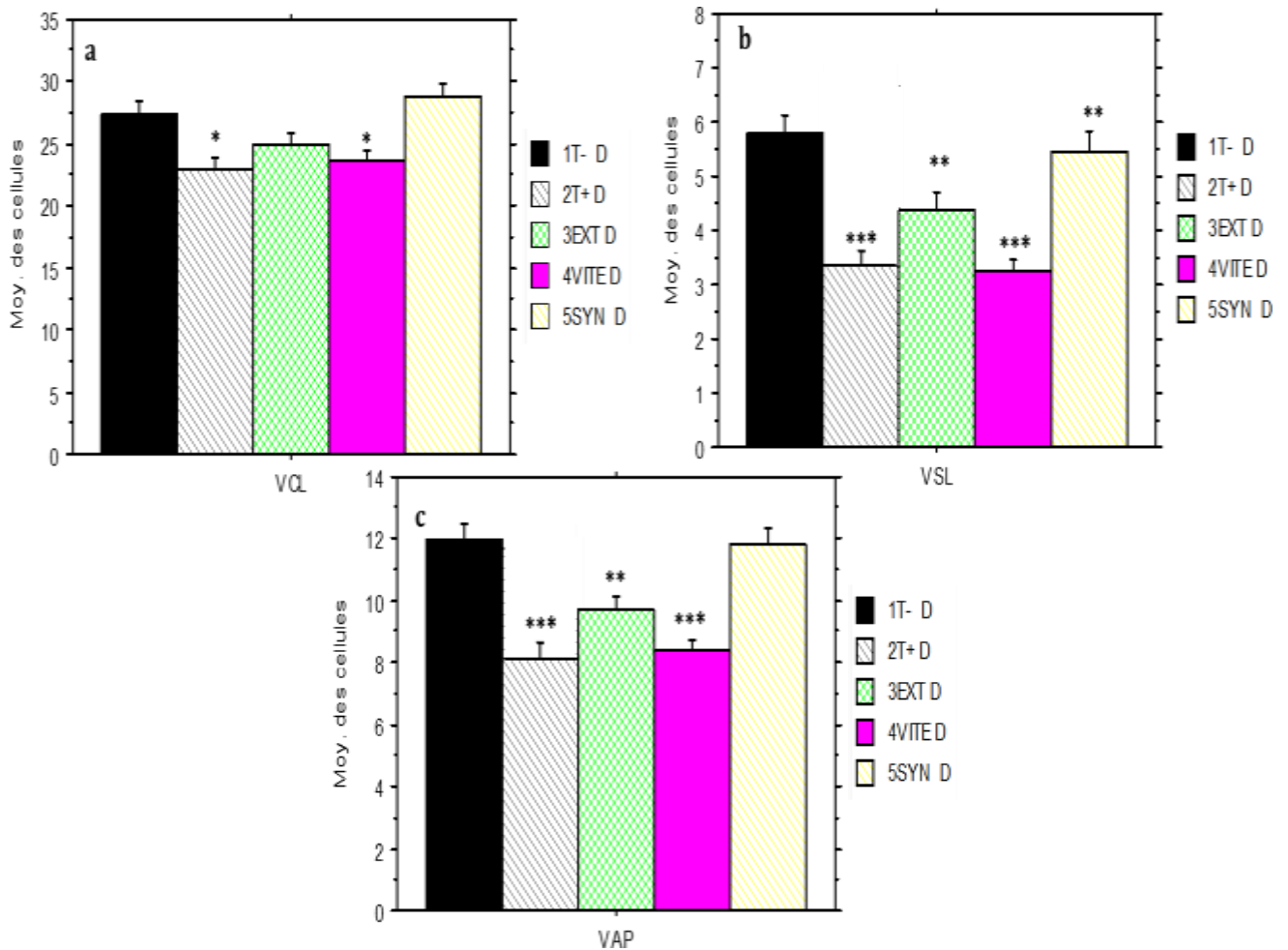


Figure 28 : Paramètres cinématiques des spermatozoïdes caprins co-incubés avec l'extrait brut de *Tamarix gallica* et/ou la vitamine E, suivie d'une exposition *in vitro* à la DLM

(a) Vitesse curviligne (VCL), (b) vitesse en ligne droite (VSL) et (c) vitesse moyenne sur trajectoire (VAP), mesurées après une co-incubation des spermatozoïdes avec le pesticide et les antioxydants : T⁻ : groupe témoin négatif (SPZ + NaCl 0,9%) ; T⁺ : groupe (SPZ + Deltaméthrine 25 µg/mL + NaCl 0,9%). EXT: groupe (SPZ + Extrait 2,5 mg/ml + Deltaméthrine 25 µg/mL) ; VIT E: groupe (SPZ + VIT E 0,25 mg/ml + Deltaméthrine 25 µg/mL) ; SYN: groupe (SPZ + Extrait 2,5 mg/ml + VIT E 0,25 mg/ml + Deltaméthrine 25 µg/mL). * : comparaison la vitesse des différents groupes traités avec le T⁻. Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM des différentes expérimentations (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Toutefois, la synergie entre l'extrait de *Tamarix gallica* et la vitamine E a permis de bien préserver les paramètres de mobilité spermatiques (VAP : $12,0 \pm 0,4$ µm/s), atteignant des niveaux proches de ceux observés chez le témoin négatif ($12,0 \pm 0,4$ µm/s), ce qui souligne une efficacité protectrice renforcée.

Un effet synergique similaire a également été rapporté par (Fujiwara *et al.* 2023), qui ont observé une amélioration de la qualité spermatique avec une combinaison de thé vert et de vitamine E dans un modèle de stress thermique. Cette protection renforcée s'explique par l'action conjointe des flavonoïdes de *Tamarix gallica* et de la vitamine E, impliqués dans la régulation de la peroxydation lipidique et la neutralisation des radicaux libres (Malo *et al.*, 2011 ; Zaha *et al.*, 2023).

L'étude de (Llavanera *et al.* 2022) a d'ailleurs confirmé qu'un polyphénol comme la quercétine, également présent dans *Tamarix gallica*, limite les dommages oxydatifs sur les spermatozoïdes, ce qui pourrait justifier les effets observés dans la présente étude. Ces observations confirment que la combinaison *Tamarix gallica* + vitamine E pourrait agir selon un mécanisme antioxydant synergique, capable de limiter les dommages oxydatifs et mitochondriaux induits par les pesticides, tout en préservant les fonctions clés de la fertilité masculine.

L'étude de (Llavanera *et al.* 2022) a d'ailleurs confirmé qu'un polyphénol comme la quercétine, également présent dans *Tamarix gallica*, limite les dommages oxydatifs sur les spermatozoïdes, ce qui pourrait justifier les effets observés dans la présente étude. Ces observations confirment que la combinaison *Tamarix gallica* + vitamine E pourrait agir selon un mécanisme antioxydant synergique, capable de limiter les dommages oxydatifs et mitochondriaux induits par les pesticides, tout en préservant les fonctions clés de la fertilité masculine.

V.6. Effet protecteur de l'extrait de *T. gallica* sur la peroxydation lipidique induite par les pesticides

L'analyse des taux des MDA a permis de quantifier l'intensité du stress oxydatif causé par les pesticides, et d'évaluer l'effet antioxydant de l'extrait de *T. gallica*. Le MDA étant un marqueur direct de la peroxydation lipidique, sa réduction indique une action protectrice sur les membranes cellulaires (Agarwal *et al.*, 2014 ; Zaha *et al.*, 2023).

V.6.1. MDA – Pirimiphos-méthyl

Les résultats montrés dans la (*figure 29*) indiquent que le groupe Pirimiphos seul présente une élévation significative des taux de MDA ($0,43 \pm 0,03$ nmol/mg). Cette augmentation est corrélée à une perte de motilité, confirmant les effets oxydants du pesticide. Ces résultats sont comparables à ceux de (Sultana *et al.* 2014), qui ont observé une élévation similaire du MDA avec le malathion. L'extrait seul a permis une réduction, bien que modérée,

du MDA ($0,30 \pm 0,02$ nmol/mg). La vitamine E seule a également eu un effet réducteur ($0,31 \pm 0,02$ nmol/mg), mais c'est la combinaison des deux qui a montré le plus grand effet avec un taux de $0,24 \pm 0,01$ nmol/m.

Une étude *in vivo* menée par Dogan Atilgan *et al.* (2014) a démontré que l'administration de jus de grenade (*Punica granatum*) entraîne une réduction significative des niveaux de malondialdéhyde (MDA), un marqueur de la peroxydation lipidique, dans le sérum et les tissus testiculaires. Ces résultats suggèrent une diminution du stress oxydatif, accompagnée d'une préservation notable de la spermatogenèse.

Le mécanisme proposé repose sur l'action conjointe des polyphénols et de la vitamine E pour neutraliser les ROS et stabiliser les membranes mitochondriales (Costa *et al.*, 2021 ; Chakraborty & Saha, 2023).

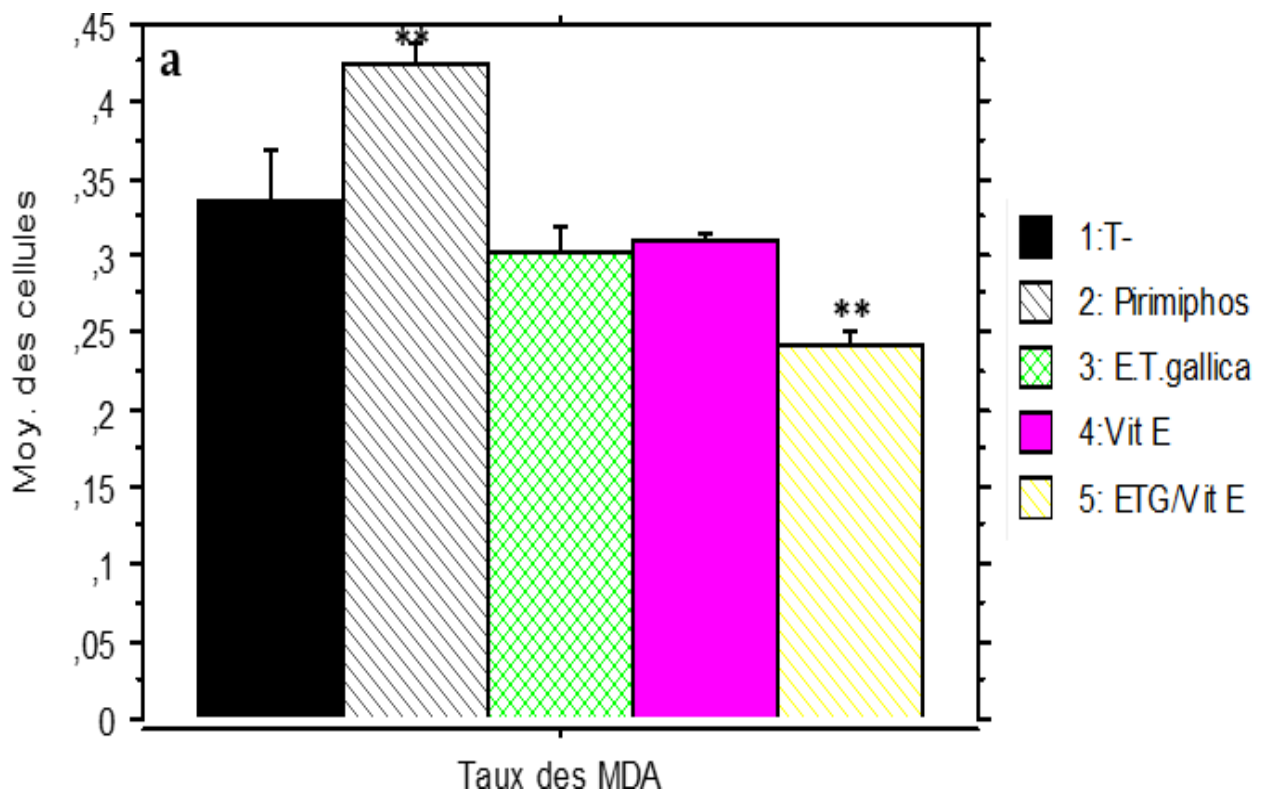


Figure 29 : Taux de malondialdéhyde (MDA) mesurés dans le culot cellulaire après co-incubation avec l'extrait brut de *Tamarix gallica* et/ou la vitamine E, suivie d'une exposition *in vitro* des spermatozoïdes caprins au PPM.

T- : groupe témoin négatif (SPZ + NaCl 0,9%) ; *T+* : groupe (SPZ + pirimiphos-méthyl 25 µg/mL + NaCl 0,9%). *EXT*: groupe (SPZ + Extrait 2,5 mg/ml + pirimiphos-méthyl 25 µg/mL) ; *VIT E*: groupe (SPZ + VIT E 0,25 mg/ml + pirimiphos-méthyl 25 µg/mL) ; *SYN*: groupe (SPZ + Extrait 2,5 mg/ml + VIT E 0,25 mg/ml + pirimiphos-méthyl 25 µg/mL) . * : comparaison les taux des MDA des différents groupes traités avec le *T-*. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM des différentes expérimentations (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

V.6.2. MDA – Deltaméthrine

La Deltaméthrine seule augmente également les taux des MDA de façon significative ($0,58 \pm 0,03$ nmol/mg) (**figure 30**), comme montré dans d'autres études (Mehrpour *et al.*, 2014 ; Osama *et al.*, 2019). L'extrait de *Tamarix gallica* a permis une réduction partielle ($0,40 \pm 0,02$ nmol/mg), mais encore une fois, c'est la combinaison avec la vitamine E qui a été la plus efficace ($0,30 \pm 0,01$ nmol/mg).

Des résultats similaires ont été trouvés par (Daghigh-Kia *et al.*, 2014), où l'extrait de romarin réduisait les taux de MDA dans un modèle de stress oxydatif testiculaire. (Fujiwara *et al.* 2023) ont également montré une baisse du MDA avec des extraits riches en catéchines.

Ces résultats confirment le rôle protecteur de *Tamarix gallica* contre les dommages oxydatifs, principalement lorsque combiné à la vitamine E. Cela soutient l'idée d'une utilisation complémentaire dans les formulations naturelles contre les effets toxiques des pesticides sur la fertilité masculine (Adewoyin *et al.*, 2020 ; Grami *et al.*, 2020 ; Vahedi Raad *et al.*, 2023).

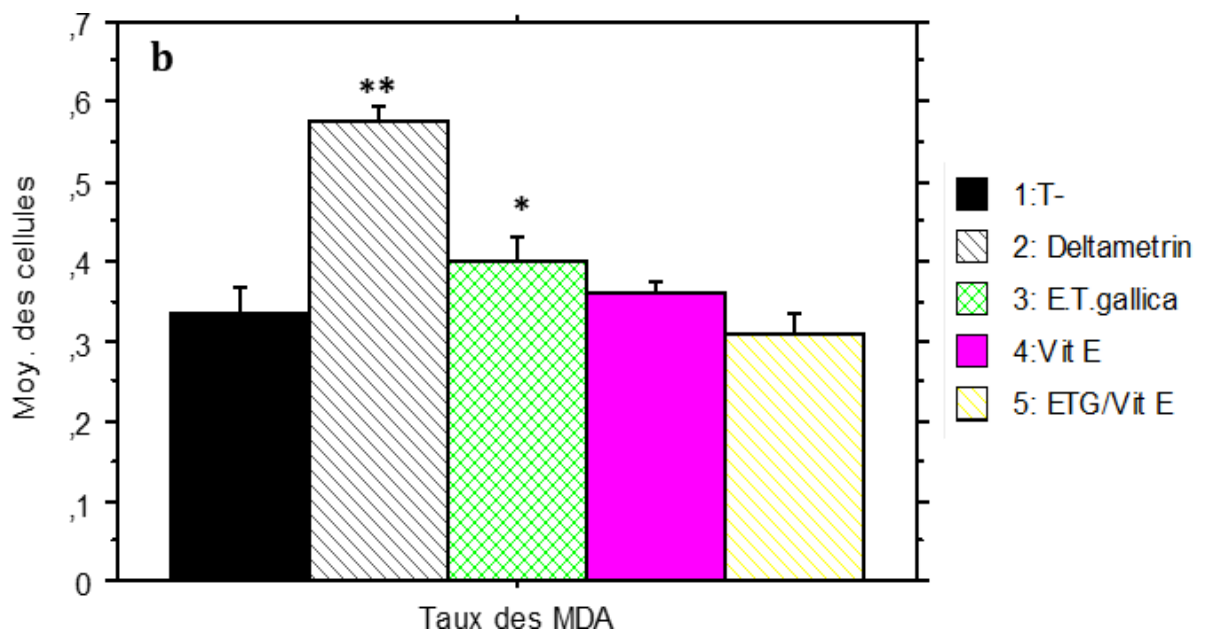


Figure 30 : Taux de malondialdéhyde (MDA) mesurés dans le culot cellulaire après co-incubation avec l'extrait brut de *Tamarix gallica* et/ou la vitamine E, suivie d'une exposition *in vitro* des spermatozoïdes caprins à la DLM.

T- : groupe témoin négatif (SPZ + NaCl 0,9%) ; *T+* : groupe (SPZ + Deltaméthrine 25 µg/mL + NaCl 0,9%). *EXT* : groupe (SPZ + Extrait 2,5 mg/ml + Deltaméthrine 25 µg/mL) ; *VIT E* : groupe (SPZ + VIT E 0,25 mg/ml + Deltaméthrine 25 µg/mL) ; *SYN* : groupe (SPZ + Extrait 2,5 mg/ml + VIT E 0,25 mg/ml + Deltaméthrine 25 µg/mL). * : comparaison les taux des MDA des différents groupes traités avec le *T-*. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM des différentes expérimentations (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

V.7. Analyse des pourcentages de mobilité des spermatozoïdes (rapides, PR, PM)

En complément de l'analyse des vitesses cinétiques (VCL, VSL, VAP), les pourcentages de spermatozoïdes rapides, progressifs rapides (PR) et progressifs moyens, présentés par la (figure 31), permettent une évaluation plus fine de la qualité fonctionnelle du sperme.

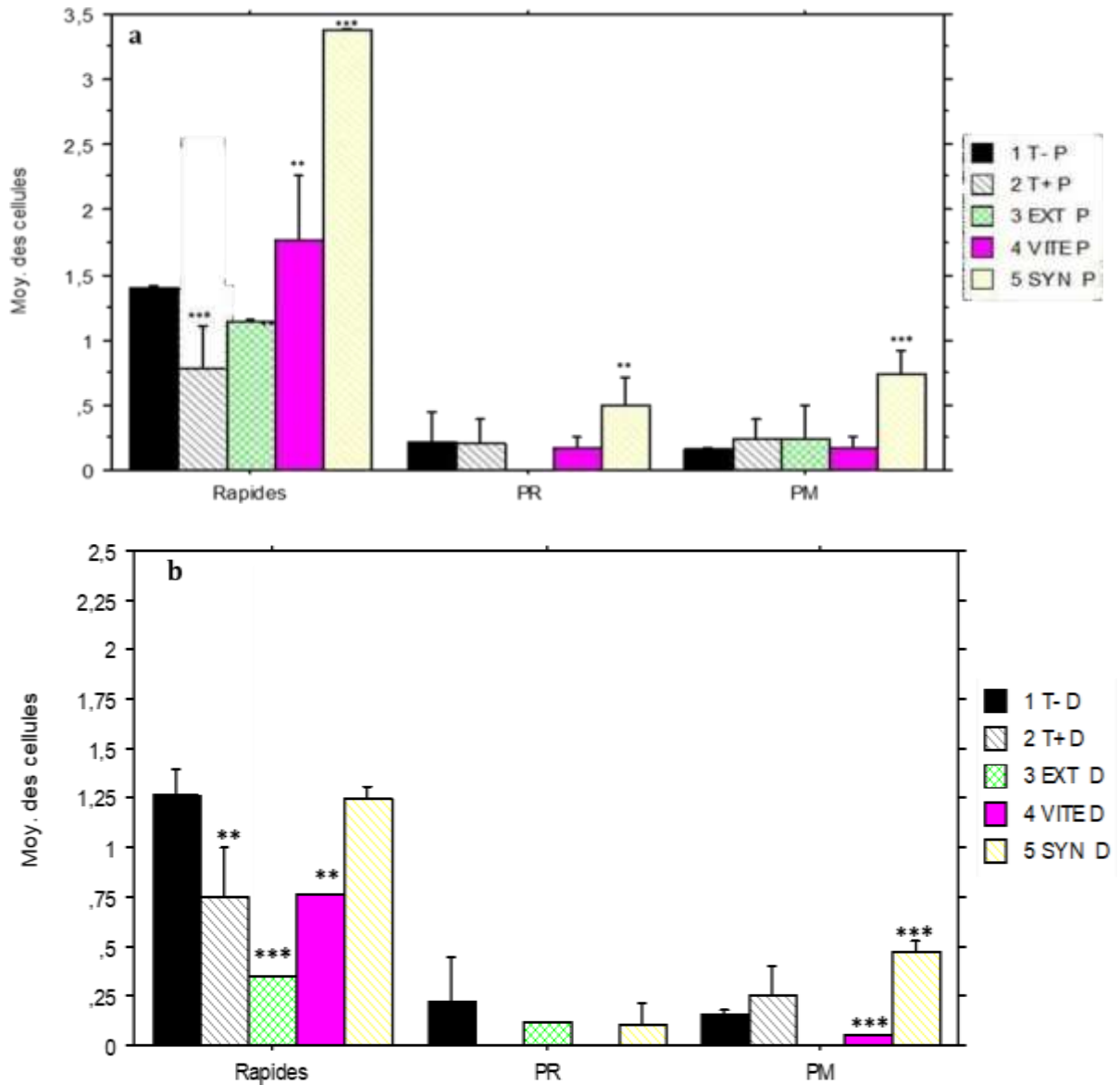


Figure 31 : Pourcentages de spermatozoïdes rapides (R), progressifs rapides (PR) et progressifs moyens (PM) après exposition *in vitro* des spermatozoïdes caprins au pirimiphos-méthyl et à la deltaméthrine, suivie d'une co-incubation avec l'extrait brut de *Tamarix gallica* et/ou la vitamine E.

T- : groupe témoin négatif (SPZ + NaCl 0,9%) ; *T+* : groupe (SPZ + Deltaméthrine 25 µg/mL + NaCl 0,9%). *EXT*: groupe (SPZ + Extrait 2,5 mg/ml + Deltaméthrine 25 µg/mL) ; *VIT E*: groupe (SPZ + VIT E 0,25 mg/ml + Deltaméthrine 25 µg/mL) ; *SYN*: groupe (SPZ + Extrait 2,5 mg/ml + VIT E 0,25 mg/ml + Deltaméthrine 25 µg/mL) . * : comparaison le taux du pourcentage des R, PR et PM des groupes traités avec le *T-*. Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM des différentes expérimentations (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Les groupes traités uniquement avec les pesticides (*Pirimiphos-méthyl* et *Deltaméthrine*) ont montré une nette réduction des spermatozoïdes rapides (0,75 %) et progressifs rapides (0,2 %), accompagnée d'une hausse des progressifs moyens (0,3 % pour le *Pirimiphos-méthyl* ; 0,5 % pour la *Deltaméthrine*) et des formes immobiles, traduisant une altération grave de la motilité. Ces effets sont bien documentés pour les organophosphorés et les pyréthriinoïdes, connus pour perturber les fonctions neuronales et mitochondriales impliquées dans la mobilité (Bonde & Giwercman, 2014 ; Mehrpour *et al.*, 2014 ; Sultana *et al.*, 2014 ; Ullah *et al.*, 2019 ; Elsharkawy *et al.*, 2020).

Lors de l'exposition au *Pirimiphos-méthyl*, l'ajout de *Tamarix gallica* a partiellement restauré les pourcentages de PR (0,4 %) et rapides (3,4 %), effet encore amplifié en synergie avec la vitamine E. Des études similaires sur d'autres extraits végétaux montrent aussi une stabilité ou une amélioration de la répartition des types de mobilité à doses modérées (Bahramsoltani *et al.*, 2019 ; Grami *et al.*, 2020 ; Costa *et al.*, 2021 ; Fujiwara *et al.*, 2023).

Cette action conjointe permet de limiter les dommages oxydatifs et de rétablir une dynamique fonctionnelle, comme démontré dans des études sur la quercétine et d'autres flavonoïdes végétaux (Chakraborty & Saha, 2023 ; Llawanera *et al.*, 2022 ; Sadikin *et al.*, 2022 ; Zaha *et al.*, 2023).

Une tendance similaire a été observée face à la *Deltaméthrine* : l'extrait seul améliore légèrement la répartition (rapides : 0,27 %, PR : 0,2 %) mais seule la combinaison avec la vitamine E permet de retrouver des pourcentages proches du témoin (rapides : 1,24 %, PR : 0,2 %, PM : 0,5 %). Ce type de synergie a également été rapporté avec des extraits de thé vert, de grenade ou de romarin dans des modèles soumis à un stress oxydatif intense (Daghigh-Kia *et al.*, 2014 ; Fujiwara *et al.*, 2023).

Ces résultats confirment que l'exposition aux pesticides désorganise profondément la mobilité spermatique. Toutefois, l'extrait des feuilles de *Tamarix gallica*, en particulier lorsqu'il est associé à la vitamine E, améliore significativement la proportion de spermatozoïdes fonctionnels. Cet effet pourrait être attribué à la richesse de cet extrait en diverses classes de

polyphénols. Ce constat renforce l'idée que la répartition des classes de mobilité constitue un indicateur fiable de la fertilité masculine et met en évidence l'intérêt des approches antioxydantes d'origine naturelle face aux effets délétères des polluants environnementaux (Aitken *et al.*, 2014 ; Zhou *et al.*, 2015 ; Costa *et al.*, 2021).

Conclusion

Conclusion :

L'étude menée dans ce travail s'inscrit dans un contexte préoccupant lié à l'impact des pesticides sur la santé reproductive masculine. En partant de l'hypothèse que l'activité antioxydante de *Tamarix gallica* pourrait atténuer les effets délétères de la deltaméthrine et du pirimiphos-méthyl.

La présente étude a combiné des approches phytochimiques et biologiques. L'extraction des composés actifs, leur dosage (polyphénols totaux : $361,5 \pm 8,8$ mg EAG/g, flavonoïdes : $141,62 \pm 4,4$ mg EQ/g, tanins hydrolysables : $185,9 \pm 1,8$ mg EC/g et tanins condensés : $85,83 \pm 9,6$ mg EC/g), ainsi que la caractérisation de leur activité antioxydante (anti-ABTS : $95,76 \pm 0,45$ %, et anti- OH· : $65,67 \pm 4,50$ %) ont permis de démontrer que les extraits de feuilles de *Tamarix gallica* possèdent un réel potentiel protecteur contre le stress oxydatif susceptible d'être induit par les xénobiotiques. Les résultats obtenus confirment que *T. gallica* améliore significativement les paramètres de motilité (VCL atteignant $33,0$ $\mu\text{m/s}$, VSL : $6,5$ $\mu\text{m/s}$, VAP : $14,0$ $\mu\text{m/s}$) des spermatozoïdes et réduit les niveaux de malondialdéhyde (MDA) (jusqu'à $0,24$ nmol/mg, contre $0,43$ pour les groupes pesticides seuls), reflétant ainsi sa capacité à atténuer les dommages causés par les radicaux libres. L'effet synergique avec la vitamine E s'est également manifesté par une restauration des pourcentages de spermatozoïdes progressifs rapides (PR : $0,4$ %) et une nette augmentation des formes rapides (jusqu'à $3,4$ %).

Ces effets, amplifiés en présence de vitamine E, suggèrent un mécanisme d'action antioxydant prometteur. Toutefois, le mode d'action exact de l'extrait de *Tamarix gallica* reste à élucider, notamment à l'échelle moléculaire. L'étude de son impact sur l'intégrité de l'ADN spermatique représente une piste de recherche pertinente à approfondir. Par ailleurs, une caractérisation chimique fine des extraits, notamment par HPLC ou RMN, apparaît nécessaire afin d'identifier les différentes molécules bioactives responsables de l'activité observée.

Enfin, ce travail met en évidence que la qualité des antioxydants est un critère déterminant, parfois plus que leur concentration. Un taux élevé ne garantit pas une efficacité optimale si les molécules actives sont peu réactives ou instables. L'idéal serait de combiner quantité et qualité pour maximiser l'effet protecteur. Ce travail ouvre ainsi la voie à la valorisation de *Tamarix gallica* dans une approche naturelle, accessible et durable de prévention des atteintes toxiques à la fertilité masculine.

***Références
Bibliographiques***

A

- Abd El-Mageed, A. I., Abdel-Daim, M. M., & El-Magd, M. A. (2022). Protective role of green tea extract against dimethoate-induced testicular injury in rats. *Toxicology Reports*, 9, 2192–2200.
- Abi Nahed, R. (2015). *Cahier d'infertilité masculine*. Beyrouth : Éditions universitaires.
- Adewoyin, M., Ibrahim, M., Roszaman, R., Isa, M. L., Alewi, N. A. M., Rafa, A. A. A., & Anuar, M. N. N. (2020). Male infertility: The effect of natural antioxidants and phytochemicals on sperm oxidative stress. *Antioxidants*, 9(9), 770.
- Agarwal, A., Bui, A. D. (2017). Oxidation-reduction potential as a new marker for oxidative stress: Correlation with sperm DNA fragmentation and semen parameters. *Asian Journal of Andrology*, 19(1), 58–64.
- Agarwal, A., Gupta, S., & Sekhon, L. (2005). The role of oxidative stress in the pathophysiology of human reproduction. *Fertility and Sterility*, 84(4), 958–964.
- Agarwal, A., Gupta, S., & Sharma, R. K. (2014). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3, 28.
- Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A., & Chyatte, M. R. (2014). A unique view on male infertility around the globe. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12(1), 37.
- Aitken, R. J., & Clarkson, J. S. (1987). Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *Journal of Reproduction and Fertility*, 81(2), 459–469.
- Aitken, R. J., Smith, T. B., Jobling, M. S., Baker, M. A., & De Iuliis, G. N. (2014). Oxidative stress and male reproductive health. *Asian Journal of Andrology*, 16(1), 31–38.
- Aktar, W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: Their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1), 1–12.
- Alahmar, A. T. (2017). Role of oxidative stress in male infertility: An updated review. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 10(1), 58–64.
- Albrecht, M., Henke, J., & Weiger, T. M. (2006). Oxidative stress and sperm DNA damage in response to insecticide exposure. *Toxicology Letters*, 165(1), 82–90.
- Alshehri, M. M., Alshahrani, M. M., Al-Malki, A. L., & Alqarni, M. H. (2022). Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activities of *Tamarix gallica* extracts: A potential source of bioactive compounds. *Journal of King Saud University – Science*, 34(3), 102082.
- Amaral, S., & Ramalho-Santos, J. (2008). Mitochondrial functionality and sperm quality. *Reproduction*, 135(4), 1–14.
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M. R., & Martínez, M. A. (2013). Pyrethrins and synthetic pyrethroids: Use in veterinary medicine. In *Veterinary Toxicology* (2nd ed., pp. 539–550). Elsevier.

Andhiwal, V., Sharma, S., & Kaul, V. K. (1982). Chemical constituents of Tamarix species. *Indian Journal of Chemistry, 21B*, 473–474.

Ankel-Simons, F., & Cummins, J. M. (1996). Misconceptions about mitochondria and mammalian fertilization: Implications for theories on human evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 93*(4), 13859–13863.

Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Boudaoud, H., Debbache, N., & Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry, 112*(2), 303–309.

Atropurpurea, P. (2018). Folin-Ciocalteu method for total phenolics quantification. *Journal Contribution*, publié le 12 juin 2018.

Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2014*, 1–31.

B

Bagherpour, H., Yadegari, M., & Asadi, M. (2019). The adverse effects of deltamethrin on testicular function and testosterone level in rats. *Journal of Environmental Health Science and Engineering, 17*(2), 1137–1144.

Bahramsoltani, R., Farzaei, M. H., & Rahimi, R. (2019). Medicinal plants and their natural components as future drugs for the treatment of erectile dysfunction: A mechanistic review. *Phytotherapy Research, 33*(2), 203–223.

Battandier, J. A. (1907). *Flore d'Algérie : Dicotylédones*. Alger : Imprimerie Typo- Lithographique.

Baum, B. R. (1978). *The genus Tamarix*. Ottawa : Canada Department of Agriculture.

Beigi Harchegani, A., Mirnamniha, M., Tahmasbpour, E., Shotorbani, S. S., Ghasemi, M., & Ahmadi, A. (2019). The effect of oxidative stress on male reproductive system: A review. *Asian Pacific Journal of Reproduction, 8*(5), 243–250.

Ben Ammar, W., Ben Hsouna, A., Ben Halima, N., & Hamdi, N. (2014). Phytochemical composition and biological activities of Tunisian *Tamarix aphylla* (L.) Karst. *Natural Product Research, 28*(7), 471–475.

Ben Hmidene, A., Haddar, A., Fakhfakh, N., Bougatef, A., & Nasri, M. (2017a). Neuroprotective effects of *Tamarix gallica* extracts. *Journal of Medicinal Plants Research, 11*(12), 345–352.

Ben Hmidene, A., Haddar, A., Fakhfakh, N., Bougatef, A., & Nasri, M. (2017b). Effects of *Tamarix gallica* on sperm quality and mitochondrial proteins. *Phytotherapy Research, 31*(10), 1602–1608.

Bencherif, K., Bellal, S. A., & Chenchouni, H. (2019). Ecological traits and adaptation of *Tamarix gallica* in arid regions of Algeria. *Environmental Monitoring and Assessment, 191*(2), 120.

- Bencherif, T., Gherib, M., Arrar, L., & Cheriti, A. (2019). Évaluation de l'activité antioxydante et étude phytochimique de *Tamarix gallica* récoltée dans la région de Biskra (Algérie). *Phytothérapie*, 17(3), 179–185.
- Bensatal, A., & Ouahrani, M. R. (2008). Study of hepatoprotective effects of *Tamarix gallica* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(1), 10–16.
- Bettabib, N., Bouaziz, M., & Boudaya, M. (2017). Antioxidant capacity and phenolic profile of *Tamarix gallica* leaves extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(1), 162–167.
- Bhooshan, A., & Vani, A. (2009). Antioxidant and protective role of *Tamarix gallica* leaf extract in rat models of oxidative stress. *Journal of Ethnopharmacology*, 124(1), 283–289.
- Bisht, S., Faiq, M., Tolahunase, M., & Dada, R. (2017). Oxidative stress and male infertility. *Nature Reviews Urology*, 14(8), 470–485.
- Bihaoui, M., Kharchoufa, L., & Balahbib, A. (2024). Effet du mode d'extraction sur le rendement et l'activité antioxydante des extraits de *Tamarix gallica*. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 12(2), 76–83.
- Björndahl, L., Söderlund, I., & Kvist, U. (2010). Evaluation of the one-step eosin-nigrosin staining technique for human sperm vitality assessment. *Human Reproduction*, 18(4), 813–816.
- Bonde, J. P., & Giwercman, A. (2014). Environmental estrogens and male reproductive health. *Theriogenology*, 81(1), 1–12.
- Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Manni, L., Ravallec, R., Barkia, A., Guillochon, D., & Nasri, M. (2009). Antioxidant activities of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products protein hydrolysates obtained by enzymatic treatment. *Food and Chemical Toxicology*, 47(2), 375–380.
- Boulaaba, M., Harzallah-Skhiri, F., & Mighri, H. (2013). Anticancer activity of extracts from Tunisian *Tamarix gallica*. *Natural Product Research*, 27(9), 807–811.
- Boulaaba, M., Harzallah-Skhiri, F., & Mighri, H. (2015). Antimicrobial activity of *Tamarix gallica* L. extracts against clinical bacterial strains. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 14(1), 1–7.
- Boughio, F. M., Wagan, T. M., & Qureshi, M. A. (2018). Essential oil yield and chemical constituents of *Tamarix gallica*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(3), 700–705.
- Boussaid, M., Ben Ammar, R., & Trabelsi, M. (2018). The medicinal value of *Tamarix* honey. *Journal of Apicultural Research*, 57(4), 521–53.
- Bowry, V. W., & Stocker, R. (1993). Tocopherol-mediated peroxidation of lipoproteins: Implications for vitamin E as a potential antiatherogenic supplement. *FASEB Journal*, 7(7), 64–70.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
- Bragina, E. E., & Bocharova, T. V. (2017). Morphological and functional analysis of spermatozoa in the assessment of male fertility. *Andrology*, 6(3), 123–129.

Breitbart, H., Rubinstein, S., & Nass-Arden, L. (1985). The role of calcium and calmodulin in spermatozoa motility. *Biology of Reproduction*, 33(3), 489–494.

Bretveld, R. W., Thomas, C. M. G., Scheepers, P. T. J., Zielhuis, G. A., & Roeleveld, N. (2008). Pesticide exposure: the hormonal function of the female reproductive system disrupted? *Human Reproduction Update*, 14(1), 59–74.

Broadhurst, R. B., & Jones, W. T. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29(9), 788–794.

Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, 302–310.

Burnie, D. (2001). *Guide des plantes médicinales*. Paris : Bordas.

C

Chakraborty, S., & Saha, S. (2023). *Hormesis in plant-derived bioactive compounds: A double-edged sword in phytomedicine*. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 23(1), 1–19.

Chakraborty, S., & Saha, S. (2023). *Hormetic effects of plant polyphenols: Molecular mechanisms and therapeutic implications*. *Pharmacological Research*, 186, 106602.

Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). *Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.

Chaturvedi, A., Kumar, M., Tripathi, Y. B., & Pandey, V. B. (2012). *Antioxidant and free radical scavenging activities of Tamarix gallica L.* *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 49(4), 292–297.

Chaturvedi, P., Srivastava, R., & Choudhary, S. (2012). *Comparative phytochemical screening of Indian Tamarix species*. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 3(4), 480–485.

Chopra, R. N., Nayar, S. L., & Chopra, I. C. (2000). *Glossary of Indian medicinal plants*. New Delhi : Council of Scientific and Industrial Research.

Chung, S. S. M., Wang, X., & Wolgemuth, D. J. (2011). *Male infertility: From research bench to clinical practice*. *Molecular Human Reproduction*, 17(7), 379–390.

Chebaibi, M., Ramdani, M., & Bousta, D. (2020). *Review on phytochemistry and pharmacological properties of Tamarix gallica L.* *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(3), 133–138.

Chevallier, A. (1996). *Encyclopédie des plantes médicinales*. Paris: Larousse.

Costa, M. G., Barros, M. A., Alves, G. M., & Almeida, M. D. (2021). *Synergistic effect of flavonoids and vitamin E on mitochondrial function and sperm motility in rats exposed to oxidative stress*. *Andrologia*, 53(2), e13974.

Creasy, D. M., & Foster, P. M. (2002). *Reproductive toxicology: Significance of nonhuman findings to human health risk*. *Toxicologic Pathology*, 30(1), 112–123.

Cuquel, P., Guillot, M., & Le Coz, P. (2015). *Les pesticides: Histoire, usages et enjeux*. Paris: Editions Quae.

Cuvelier, M. E., Berset, C., & Richard, H. (2003). *Antioxidant constituents in cocoa and chocolate: Analysis and health implications*. *Food Chemistry*, 80(4), 581–586.

D

Daghigh-Kia, H., Youssefi, R., & Najafi, G. (2014). Protective effects of rosemary extract on testicular toxicity induced by formaldehyde in adult male rats. *Cell Journal (Yakhteh)*, 16(4), 440–448.

Davies, T. G. E., Field, L. M., Usherwood, P. N. R., & Williamson, M. S. (2007). DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. *IUBMB Life*, 59(3), 151–162.

Dey, S., Gadadhar, S., & Roy, A. (2014). A-kinase anchoring proteins (AKAPs) in human sperm motility and fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12, 1–9.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654–660.

Dogan Atilgan, R., Koyuncu, I., & Turedi, S. (2014). Protective effects of pomegranate juice against malathion-induced testicular damage and oxidative stress in rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 3(3), 195–200.

Drabu, S., Sharma, R., Gupta, A., & Gupta, A. (2012). Botanical and pharmacological profile of *Tamarix gallica*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(3), 24–28.

Dubois-Deruy, E., Peugnet, V., Turkieh, A., Pinet, F., & Hennuyer, N. (2020). Oxidative stress in human diseases: Current understanding and therapeutic perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1584.

Du Plessis, S. S., Agarwal, A., & Sabanegh, E. (2015). The role of mitochondria in sperm function and pathology. *Asian Journal of Andrology*, 17(4), 607–612.

Duquesnoy, P., Escudier, E., & Amselem, S. (2009). Primary ciliary dyskinesia and outer dynein arm deficiency: Genes involved and genotype–phenotype relationships. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 179(4), 367–374.

E

EFSA. (2005). *Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance pirimiphos-methyl*. European Food Safety Authority. Publié en 2005.

El-Farag, R. S., Attia, S. M., & Ahmed, E. A. (2014). Evaluation of deltamethrin-induced testicular toxicity and DNA damage in male rats: The protective role of garlic. *Environmental Toxicology*, 29(10), 1161–1169.

Elsharkawy, E. E., Yahia, D., & El-Nahass, E. (2020). Deltamethrin-induced reproductive toxicity in male mice: The protective role of *Nigella sativa* oil. *Toxicology Reports*, 7, 120–125.

El-Wakf, A. M., Elhabiby, M. I., & El-Sherbiny, E. M. (2019). Green tea extract mitigates chlorpyrifos-induced toxicity in rat testes and sperm morphology. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(34), 35070–35078.

F

FAO. (2000). *Pirimiphos-methyl (JMPR Evaluations 2000 Part II Toxicological)*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Publié en 2000.

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Tamarix gallica* L. and *Tamarix aphylla* L. leaves and their antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, 27(3), 322–330.

Farag, A. T., El-Aswad, A. F., & Shaaban, N. A. (2016). The protective effect of quercetin on reproductive toxicity induced by the insecticide pirimiphos-methyl in male rats. *Toxicology Reports*, 3, 928–935.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Médecine et Longévité*, 3(6), 311–322.

Fellah, H., Boumendjel, M., & Bensouici, C. (2018). Antiproliferative effect of *Tamarix gallica* extract on liver and colon cancer cells. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 6(3), 53–58.

Fellah, H., Dekmouche, A., & Chibane, M. (2019). Évaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux de feuilles de *Tamarix gallica* récoltées dans trois zones climatiques en Algérie. *Revue des BioRessources*, 9(3), 54–64.

Ferreira, I. C. F. R., Barros, L., & Abreu, R. M. V. (2009). Antioxidants in wild mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*, 16(12), 1543–1560.

Fujiwara, T., Inoue, Y., & Yamaguchi, M. (2023). Green tea extract impairs sperm motility by disrupting mitochondrial function in vitro. *Reproductive Toxicology*, *119*, 12–20.

Fujiwara, T., Inoue, Y., & Yamaguchi, M. (2023). Protective effect of green tea polyphenols and vitamin E on heat stress-induced damage in rat sperm. *Reproductive Toxicology*, *119*, 33–41.

Fulton, M. H., & Key, P. B. (2001). Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *20*(1), 37–45.

G

Galal, M. K., Hegazy, A. M., & Salem, M. A. (2014). Deltamethrin-induced oxidative stress in reproductive tissues of male rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *4*(11), 68–73.

García, J., Ventura, M. I., Requena, M., Hernández, A. F., & Parrón, T. (2018). Association of pesticide exposure with clinical signs and reproductive health in male farmers in southern Spain: A cross-sectional study. *Environmental Research*, *163*, 283–291.

Gaskin, J. F., & Schaal, B. A. (2003). Molecular phylogenetic investigation of U.S. invasive *Tamarix*. *Molecular Ecology*, *12*(7), 1913–1923.

Goli, A. H., Barzegar, M., & Sahari, M. A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, *92*(3), 521–525.

Grami, D., Dkhil, M. A., & Al-Quraishy, S. (2020). Protective role of plant extract against sperm toxicity induced by oxidative agents in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *132*, 110886.

Gupta, R. C., Milatovic, D., & Dettbarn, W. D. (2019). Organophosphates and pyrethroids: Mechanisms of toxicity. In *Toxicology of Organophosphate and Carbamate Compounds* (pp. 141–160). Academic Press.

H

Hughes, M. F., Beck, B. D., Chen, Y., Lewis, A. S., & Thomas, D. J. (2010). Arsenic exposure and toxicology: A historical perspective. *Toxicological Sciences*, *123*(2), 305–332.

Hadjadj, A., Bensouici, C., & Baghiani, A. (2022). Étude phytochimique et activités antioxydantes d'extraits de *Tamarix gallica* et *Tamarix aphylla*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 91, 155–164.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., & Cheramy-Bien, J. P. (2007). Oxidative stress in vascular pathologies: A review. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 65(2), 77–85.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1981). Formation of thiobarbituric-acid-reactive substance from deoxyribose in the presence of iron salts: the role of superoxide and hydroxyl radicals. *FEBS Letters*, 128(2), 347–352.

Hamid, A., Zaman, K., & Aziz, W. (2012). Subchronic effects of pirimiphos-methyl on reproductive hormones in male rats. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 47(3), 215–220.

Hansraj, D., Peerbaccus, N. K., & Ramasami, P. (2006). DPPH free radical scavenging activity of phenolic compounds from Mauritian endemic plants. *Journal Contribution*, publié le 22 octobre 2006.

Hénault-Éthier, L. (2016). *Les effets neurotoxiques des insecticides chez les pollinisateurs*. Rapport scientifique, Université de Montréal.

Hwang, J. Y., Mannowetz, N., Zhang, Y., Qi, H., Wood, C., Cohen, M., Shen, P., & Chung, J.-J. (2019). Dual sensing of physiologic pH and calcium by EFCAB9 regulates sperm motility. *Cell*, 177(4), 823–835.e21.

I

Ince, S., Arslan-Acaroz, D., Demirel, H. H., Kucukkurt, I., & Varol, N. (2010). Hepato-renal toxicity induced by deltamethrin in rats and protective effect of vitamins C and E. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30(2), 193–198.

Ishak, M. S., & Evans, W. C. (1972). 3,4,5-trihydroxybenzoic acid derivatives in *Tamarix aphylla*. *Phytochemistry*, 11(4), 1471–1473.

J

Janoš, T., Tomkova, Z., & Stebelova, K. (2023). Pesticides and male fertility: Oxidative stress and hormonal disruption. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 99, 104023.

Jones, K. C., & Taylor, R. T. (2010). Pesticides in the environment: Fate and transport. *Environmental Science and Pollution Research*, 17(2), 97–104.

K

KalamUr, R., Khan, S., Ali, M., & Shoeb, A. (2016). Phytochemical and antioxidant investigation of *Tamarix gallica* Linn. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(4), 1745–

1752.

Kalamurfi, Y., Javed, S., & Rehman, M. (2016). Anti-inflammatory properties of *Tamarix gallica* extract in experimental models. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(2), 39–45.

Kamiya, R., & Okamoto, M. (1985). A mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* that lacks outer dynein arms. *Journal of Cell Biology*, 100(1), 179–186.

Katz, A., Meiri, H., & Shufan, E. (2015). Environmental pollutants and fertility: Impact of pesticides on reproductive function. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13, 17.

Khabtane, M., Fadli, M., & Cherkaoui-Tangi, K. (2017). Étude comparative du rendement d'extraction et de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du genre *Tamarix* au Maroc. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 9(7), 84–89.

Khan, M. A., Qaiser, M., & Ali, M. (2006). Biology and dispersal of *Tamarix* seeds. *Pakistan Journal of Botany*, 38(2), 335–345.

Khan, R. A., Khan, M. R., Sahreen, S., & Ahmed, M. (2012). Evaluation of phenolic contents and antioxidant activity of various solvent extracts of *Sonchus asper* (L.) Hill. *Chemistry Central Journal*, 6(1), 12.

Kim, K. H., Kabir, E., & Jahan, S. A. (2017). Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of The Total Environment*, 575, 525–535.

Kirichok, Y., Navarro, B., & Clapham, D. E. (2006). Whole-cell patch-clamp measurements of spermatozoa reveal an alkaline-activated Ca²⁺ channel. *Nature*, 439(7077), 737–740.

Kirtikar, K. R., & Basu, B. D. (1996). *Indian Medicinal Plants* (Vol. 1–4). Dehradun : International Book Distributors.

Klai, S. (2022). Représentation visuelle des mécanismes d'action des insecticides. *Journal de Toxicologie Environnementale*, 11(2), 45–49.

Köck-Schulmeyer, M., Villagrasa, M., López de Alda, M., Céspedes-Sánchez, R., Ventura, F., & Barceló, D. (2013). Occurrence and behavior of pesticides in wastewater treatment plants and their environmental impact. *Science of The Total Environment*, 458–460, 466–476.

Kobori, Y., Ota, S., Sato, R., Yagi, H., Sohda, S., Yumura, Y., & Komori, K. (2014). Antioxidant supplements improved the sperm quality and pregnancy rate of infertile patients with leukocytospermia. *Asian Journal of Andrology*, 16(3), 397–402.

Koppers, A. J., Garg, M. L., & Aitken, R. J. (2008). Significance of mitochondrial reactive oxygen species in the generation of oxidative stress in spermatozoa. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93(8), 3199–3207.

Ksouri, R., Falleh, H., Megdiche, W., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., & Abdelly, C. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of *Tamarix gallica* L. *Journal of Food Biochemistry*, 33(6), 798–814.

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., & Abdelly, C. (2009). Salinity effects on phenolic composition and antioxidant activities of *Tamarix gallica*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(9), 645–652.

L

Lavaine, C., Guesdon, G., & Farre, J. (2011). Ecologie du *Tamarix gallica* dans les milieux côtiers. *Acta Botanica Gallica*, 158(1), 47–56.

Ledda, S., Hassoun, R., & Salamone, D. (2021). Oxidative stress and testicular damage induced by pesticides in mammals: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 26801–26819.

Lefahal, M., Benmehdi, H., Riahi, A., Boucherit, Z., & Maachi, R. (2021). Étude phytochimique et activité antioxydante des extraits méthanoliques et à l'acétate d'éthyle de *Tamarix gallica*. *Journal Algérien des Régions Arides*, 18, 1–9.

Lehti, M. S., & Sironen, A. (2017). Formation and function of sperm tail structures in association with sperm motility defects. *Biology of Reproduction*, 97(4), 522–536.

Lerro, C. C., Beane Freeman, L. E., DellaValle, C. T., Andreotti, G., Hofmann, J. N., Parks, C. G., ... & Sandler, D. P. (2015). Pesticide exposure and incident cancer among wives of farmers in the Agricultural Health Study. *Environmental Health Perspectives*, 123(11), 1170–1176.

Levizou, E., Drilias, P., & Karataglis, S. (2004). Physiological and antioxidant responses of *Lotus creticus* and *Medicago marina* to salinity. *Plant Science*, 167(4), 705–711.

Li, J., Liu, Y., & Zhang, Y. (2024). A comprehensive review of phytochemistry and pharmacological properties of the genus *Tamarix*. *Phytotherapy Research*, 38(2), 212–228.

Lindemann, C. B., & Lesich, K. A. (2016). Functional anatomy of the mammalian sperm flagellum. *Cytoskeleton*, 73(11), 652–669.

Llavanera, M., Del Olmo, D., Miguel-Jiménez, S., Gonzalez-Rasero, R., Yeste, M., & Bonet, S. (2022). Quercetin supplementation reduces oxidative stress and improves sperm parameters in boars. *Antioxidants*, 11(4), 723.

Losano, J. D. A., Angrimani, D. S. R., & Nichi, M. (2018). The role of mitochondria in sperm function and quality: Influence of dietary antioxidants. *Animal Reproduction Science*, 195, 43–51.

Lv, Q., Wang, Y., & Chen, X. (2020). Exposure to environmental pollutants impairs sperm motility and embryo quality in assisted reproduction. *Environmental Research*, 184, 109321.

M

- Mahfoudhi, A., Chahdoura, H., & Mnif, W. (2016). Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of *Tamarix gallica* extract in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 180, 197–204.
- Makkar, H. P. S., Blümmel, M., Borowy, N. K., & Becker, K. (1995). Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 69(3), 329–332.
- Maksimović, Z., Malencić, D., & Kovačević, N. (2005). Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresource Technology*, 96(8), 873–877.
- Malo, C., Gil, L., & Cano, R. (2011). Effect of vitamin E addition to semen extenders on sperm motility and lipid peroxidation in boar semen. *Animal Reproduction Science*, 127(1–2), 176–180.
- Mandal, S. M., Chakraborty, D., & Dey, S. (2010). Environmental pesticides and their impact on male fertility. *Journal of Reproductive Health and Medicine*, 6(3), 123–130.
- Marlin, D. (2017). Global distribution data of *Tamarix* species. GBIF Repository and Field Surveys.
- Martin, C., & Andriantsitohaina, R. (2002). Reactive oxygen species: Role in the pathophysiology of cardiovascular diseases. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 60(6), 390–396.
- Martin-Hidalgo, D., Bragado, M. J., Batista, A. R., Oliveira, P. F., & Alves, M. G. (2019). Antioxidants and male fertility: From molecular studies to clinical evidence. *Antioxidants*, 8(4), 89.
- Mayonde, S. G., Kalema, J., & van der Bank, M. (2015). Distribution and herbarium records of *Tamarix*. *African Journal of Ecology*, 53(3), 365–374.
- Mehrpour, O., Akhgari, M., & Abdollahi, M. (2014). Poisoning with pesticides in Iran: A review of human studies. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 274(3), 221–228.
- Meinhardt, A., & Hedger, M. P. (2011). Immunological, paracrine and endocrine aspects of testicular immune privilege. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 335(1), 60–68.
- Mitchell, D. R., & Rosenbaum, J. L. (1985). A motile flagellar mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* that lacks outer dynein arms. *Journal of Cell Biology*, 100(4), 1228–1234.
- Mohammadi-Sardoo, M., Ghasemi, M., Khazaei, M., & Mohammadi, M. (2018). The adverse effects of Pirimiphos-methyl on sperm quality in rats and protective role of antioxidants. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 16(2), 117–124.

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219.

Morrison, C., Mohanty, S. K., & Britz, M. L. (2021). Sublethal effects of pirimiphos-methyl on male insect behavior. *Ecotoxicology*, 30(2), 312–321.

Mostafalou, S., & Abdollahi, M. (2013). Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 268(2), 157–177.

Mostafalou, S., & Abdollahi, M. (2017). Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 324, 94–104.

N

Naczka, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2), 95–111.

Naczka, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523–1542.

Narayana, K., Prashanthi, N., Nayanatara, A., Kumar, H. H., & D'Souza, U. (2006). Reproductive toxicity of deltamethrin in male rats. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 50(1), 65–72.

Naveed, M., Asif, N., & Tahir, M. (2015). Hepatoprotective effect of *Tamarix gallica* in alloxan-induced diabetic rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(1), 60–64.

Nawwar, M. A., Hussein, S. A., Merfort, I., & Willuhn, G. (1982). Flavonol glycosides and sulphates from *Tamarix nilotica*. *Phytochemistry*, 21(12), 3057–3060.

NCBI. (2014). Toxicological profile for deltamethrin. National Center for Biotechnology Information. Publié le 3 juillet 2014.

Ni, Z., Hou, S., & Shi, Y. (2016). Pesticide-induced mitochondrial dysfunction in reproductive cells. *Reproductive Toxicology*, 65, 246–252.

O

Oliveira, H., Spanò, M., & Pereira, M. D. L. (2012). Evaluation of environmental pollutants on male fertility: A review. *Reproductive Toxicology*, 34(3), 346–355.

Orabi, M. A. A., Abdelwahed, A., & Hegazy, A. K. (2016). Phytochemical investigation and biological activities of *Tamarix nilotica*. *Natural Product Research*, 30(24), 2851–2855.

Orabi, M. A. A., El-Desouky, S. K., & El-Sayed, M. A. (2015). Chemical profile and biological activities of *Tamarix gallica* extracts. *Natural Product Research*, 29(5), 494–498.

Osama, A. M., Fawzy, N. S., & El-Maraghy, N. (2019). Comparative toxicity of organophosphorus and pyrethroid insecticides on male reproductive function in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(1), 150–160.

Oszmianski, J., Wolniak, M., Wojdyło, A., & Wawer, I. (2007). Comparative study of polyphenolic content and antiradical activity of cloudy and clear apple juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(4), 573–579.

Oyewopo, A. O., Olaniyi, S. K., Oyewopo, C. I., & Jimoh, A. T. (2010). Effects of combined administration of sesame seed (*Sesamum indicum*) and vitamin C on sperm parameters in Wistar rats. *International Journal of Morphology*, 28(4), 1273–1278.

Ozmen, B., Caglar, G. S., & Berker, B. (2007). DNA damage in sperm: Its relationship with sperm parameters and ART outcomes. *Reproductive BioMedicine Online*, 15(4), 434–439.

Ozsoy, N., Can, A., Yanardag, R., & Akev, N. (2008). Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. *Food Chemistry*, 110(3), 571–583.

P

Panwar, N., & Abro, A. (2007). Ethnopharmacological uses of *Tamarix* species. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(12), 2073–2078.

Paschal, B. M., Shpetner, H. S., & Vallee, R. B. (1987). MAP 1C is a microtubule-activated ATPase which translocates microtubules in vitro and has dynein-like properties. *The Journal of Cell Biology*, 105(3), 1273–1282.

Patel-King, R. S., & King, S. M. (2009). An outer arm dynein light chain acts in a conformational switch for flagellar motility. *Journal of Cell Biology*, 186(3), 283–295.

Pérez, R. A., Lorenzo, J. L., & Sánchez, M. J. (2015). Chronic exposure to pirimiphos-methyl and reproductive toxicity in rodents. *Toxicology Reports*, 2, 1035–1041.

Perry, S. W., Norman, J. P., & Reynolds, I. J. (2011). Mitochondrial dysfunction in neurons: Importance for HIV-associated neurocognitive disorders and other neurodegenerative diseases. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 6(2), 147–159.

Pisarska, M. D., Chan, J. L., & Lawrenson, K. (2019). Impact of oxidative stress on oocyte quality and embryo development. *Fertility and Sterility*, 111(6), 1062–1070.

Poljsak, B., Šuput, D., & Milisav, I. (2013). Achieving the balance between ROS and antioxidants: When to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 956792.

Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2010). Evaluation of antioxidant activity of *Salvia officinalis* and *Thymus vulgaris* extracts by two different methods. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(10), 1045–1052.

Q

Quezel, P., & Santa, S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (Vol. 1–2). Paris : CNRS.

R

Rahman, T., Hosen, I., Islam, M. M., & Shekhar, H. U. (2011). Oxidative stress and human health. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2(7), 441–455.

Rajamanikandan, S., Sindhu, T., Dinesh, D., & Akilandeshwari, K. (2011). Radical scavenging and antioxidant activity of ethanolic extract of *Mollugo nudicaulis* by in vitro assays. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 45(4), 310–316.

Ranjan, A., Shukla, P., & Mehrotra, P. K. (2018). Pesticide exposure and reproductive health in rural women. *Toxicology Reports*, 5, 799–805.

Rasouli, H., Yarani, R., Mohammadi, M., & Hosseini, S. (2017). Antioxidant and antibacterial activities of *Tamarix gallica* extracts. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 904–912.

Reddam, A., Hamade, A., & Ghosh, S. (2023). Mechanisms of mitochondrial disruption in sperm cells exposed to environmental toxins. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 33(1), 52–62.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231–1237.

Rehman, H., Aziz, A. T., Saggu, S., & Abulmeaty, M. (2006). Oxidative stress in hepatic tissues due to deltamethrin toxicity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 13(1), 47–54.

Ren, J., Liu, Y., Li, S., Wang, R., & Li, Y. (2019). Antioxidant activity and chemical composition of *Tamarix ramosissima* extracts. *Industrial Crops and Products*, 139, 111517.

Reyes, J. G., Hohn, E., & Zampighi, G. A. (1987). ATP synthase inhibition and mitochondrial dysfunction in sperm cells. *Biophysical Journal*, 51(2), 276a.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956.

Rodrigues, A. M., Piccinelli, A. C., Ferreira, M. R. A., & Kassuya, C. A. L. (2018). Mitochondrial dysfunction induced by polyphenol-rich extracts at high doses: A mechanistic study. *Journal of Ethnopharmacology*, 227, 93–101.

Ros, E. (2010). Health benefits of nut consumption. *Nutrients*, 2(7), 652–682.

S

Sabeti, P., Pourmasumi, S., Rahiminia, T., Akyash, F., & Talebi, A. R. (2016). Etiologies of sperm oxidative stress. *International Journal of Reproductive Biomedicine*, 14(4), 231–240.

Sadikin, M., Fitriani, F., & Dewi, D. A. (2022). The combination of flavonoid extract and vitamin E improves sperm quality in oxidative stress-induced rats. *Journal of Reproductive Biology and Endocrinology*, 20(1), 112–119.

Sahnoun, Z., Boudawara, T., Zeghal, N., et al. (1997). Protective effects of vitamins E and C against lindane-induced hepatotoxicity in the rat. *Archives of Toxicology*, 71(12), 738–745.

Said, O., Khalil, K., & Fulder, S. (2018). Herbs of the Holy Land: Traditional uses of Tamarix. *Journal of Herbal Medicine*, 12(2), 75–81.

Said, O., Saad, B., Fulder, S., & Khalil, K. (2018). Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *Journal of Ethnopharmacology*, 83(3), 251–265.

Said, R. B., Hmida, F. B., & Mahjoub, M. A. (2018). Phytochemical screening and antioxidant activity of Tamarix gallica L. leaves extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 10(3), 88–95.

Salissou, M., Issa, H., & Abdou, A. (2018). Neuroprotective effect of Tamarix gallica in Alzheimer's models. *Journal of Neurochemistry*, 144(2), 231–241.

Salvio, G., Cutini, M., Ciarloni, A., Giovannini, L., Perrone, M., & Balercia, G. (2021). Coenzyme Q10 and male infertility: A systematic review. *Antioxidants*, 10(6), 874.

Savitz, D. A., Arbuckle, T., Kaczor, D., & Curtis, K. M. (2001). Male pesticide exposure and pregnancy outcome. *American Journal of Epidemiology*, 154(8), 702–710.

Schin, A. K., Prado, R. E., & de Souza, L. R. (1998). Vitamin C as a free radical scavenger in sperm physiology. *Andrologia*, 30(6), 345–349.

Schlingmann, K. P., Hou, J., & Gudermann, T. (2007). Ion transporters and channels in sperm motility and male fertility. *Pflugers Archiv – European Journal of Physiology*, 455, 729–744.

Sehrawat, A., & Sultana, S. (2006a). Evaluation of Tamarix gallica against oxidative stress. *Journal of Natural Remedies*, 6(1), 54–61.

Sehrawat, A., & Sultana, S. (2006b). Hepatoprotective potential of *Tamarix gallica* against toxins. *Toxicology and Industrial Health*, 22(2), 75–81.

Sharma, R., Biedenharn, K. R., Fedor, J. M., & Agarwal, A. (2013). Lifestyle factors and reproductive health: Taking control of your fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 11, 66.

Siegwart, M. (2017). Understanding insecticide mode of action and resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 138, 1–8.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.

Smith, A. G., Stephenson, C. L., & Hayes, W. J. (2005). Pesticides and the human health: A hazard or a risk? In *Handbook of Pesticide Toxicology* (Vol. 1, pp. 145–168). Elsevier.

Smith, E. F., & Sale, W. S. (1992). Regulation of dynein-driven microtubule sliding by the radial spokes in flagella. *Science*, 257(5067), 1557–1559.

Soucek, K., Schmidt, M., & Valtcheva, N. (2011). Iron chelation properties of flavonoids: Evaluation by a modified ferrozine-based assay and by DNA protection assay. *Free Radical Research*, 45(5), 567–575.

Srivastava, R., & Choudhary, S. (2014). Traditional and vernacular names of *Tamarix* species in India. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 13(3), 530–533.

Su, T. W., Hsiao, C. J., & Lee, R. K. (2021). Role of antioxidants in the treatment of male infertility. *Journal of the Chinese Medical Association*, 84(2), 127–134.

Sultanova, N., Makhmudov, M., & Malikov, V. (2004). Phytochemical studies of Central Asian *Tamarix* species. *Chemistry of Natural Compounds*, 40(4), 356–359.

Sunahara, R. K., & Taussig, R. (2002). Isoforms of mammalian adenylyl cyclase: Multiplicities of signaling. *Molecular Interventions*, 2(3), 168–184.

Syngenta. (2004). Pirimiphos-methyl technical data sheet. Basel : Syngenta Crop Protection AG.

T

Tabet, H., Boukhari, M. E. (2014). Anti-inflammatory activity of *Tamarix gallica* extract. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 11(2), 408–414.

Tabet, H., Mahdeb, S., & Boukhari, M. E. (2018). Phytochemical screening of Algerian *Tamarix gallica*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(2), 135–140.

Tagarelli, A., Tagarelli, G., & Piro, B. (2010). Folk medicine and *Tamarix* use in Calabria, Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(3), 753–765.

Thany, S. H., Moffat, C., & Williamson, M. S. (2013). Neuroactive insecticides: Targets, resistance and new possibilities in pest control. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 106(3), 123–131.

Toshimori, K., & Oura, C. (1993). Development and transformation of the acrosome during spermiogenesis in mammals. *Microscopy Research and Technique*, 24(2), 109–120.

Traber, M. G., & Stevens, J. F. (2011). Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(5), 1000–1013.

Troiano, L., Granata, A. R. M., Cossarizza, A., Kalashnikova, G., Bianchi, R., & Pinti, M. (1998). Mitochondrial membrane potential and reactive oxygen species generation in human spermatozoa. *Human Reproduction*, 13(4), 998–1002.

Tudi, M., Ruan, H. D., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., ... & Yu, H. (2021). Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3), 1112.

U

Ullah, A., Pirzada, M., Jahan, S., Ullah, H., Shaheen, G., Rehman, H., & Siddiqui, M. F. (2019). Bisphenol A and its analogs induce oxidative stress and DNA damage leading to reproductive toxicity. *Environmental Pollution*, 255(2), 113129.

V

Vahedi Raad, Z., Sadeghi, M., & Jafari, M. (2023). Therapeutic potential of medicinal plants on male fertility impairment: A review of experimental and clinical studies. *Phytotherapy Research*, 37(4), 1767–1787.

Vale, R. D., & Toyoshima, Y. Y. (1988). Dynamics of motor proteins. *Annual Review of Biochemistry*, 57, 745–776.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84.

Vercauteren, J. (1996). Les polyphénols végétaux: Aspects biologiques et pharmacologiques. In *Actes des Journées Internationales sur les Substances Naturelles* (pp. 35–49). Éditions Universitaires Européennes.

Vested, A., Giwercman, A., Bonde, J. P. E., Toft, G., & Jensen, T. K. (2013). Persistent organic pollutants and male reproductive health. *Asian Journal of Andrology*, 16(1), 71–80.

W

Wang, X., Sharma, R. K., & Sikka, S. C. (2003). Oxidative stress is associated with increased apoptosis in spermatozoa. *Urology*, 61(3), 551–555.

WHO. (2006). Pesticides and their application: For the control of vectors and pests of public health importance (6th ed.). World Health Organization.

WHO. (2006b). Guidelines for drinking-water quality (3rd ed.). World Health Organization. Publié le 29 septembre 2006.

WHO. (2010). Global insecticide use for vector-borne disease control: A 10-year assessment (2000–2009). World Health Organization. Publié le 12 avril 2010.

Wilkins, R. M., Lewis, M. C., & Walsh, R. M. (2020). Effects of pirimiphos-methyl on insect locomotion and mating behavior. *Journal of Experimental Biology*, 223(Pt 9), jeb.214678.

Williams, D. R., & Brown, L. A. (2012). Persistent organic pollutants and their environmental fate. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(8), 1887–1893.

Y

Yagi, T., Uematsu, K., & Nakamura, T. (2005). Functional analysis of sperm axoneme defects in male infertility. *Journal of Andrology*, 26(6), 700–709.

Yanagimachi, R. (1994). Mammalian fertilization. In Knobil, E. & Neill, J. D. (Eds.), *The Physiology of Reproduction* (Vol. 1, pp. 189–317). Raven Press.

Younous, A., Sari, A., & Medjahdi, B. (2005). Etude taxonomique et distribution du genre *Tamarix* en Algérie. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 152(1), 45–55.

Z

Zaha, D. C., Bungau, S. G., Uivarosan, D., Tit, D. M., Maghiar, T. A. & Maghiar, O. (2023). Flavonoids and their pro-oxidant activity in anticancer therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2023, Article ID 5598923.

Zama, A. M. T., & Uzumcu, M. (2007). Fetal and neonatal exposure to the endocrine disruptor methoxychlor causes epigenetic alterations in adult rat testes. *Environmental Health Perspectives*, 117(4), 625–630.

Zar Kalai, F., Oueslati, S., Dakhlaoui, S., Hammami, M., Msaada, K. & Ksouri, R. (2023). Chemical profiling of maceration and decoction of *Tamarix gallica* L. organs. Publié le 13 septembre 2023.

Zhang, H., Chen, Z. & Liu, Z. (2020). Antioxidant activities of polyphenols from *Tamarix ramosissima*. *Journal of Ethnopharmacology*, 259, 112942.

Zhang, J., Yang, X., Wang, Y., & Wang, Y. (2008). Mechanism of action of pyrethroid insecticides on neuronal sodium channels. *Pest Management Science*, 64(2), 115–120.

Zhang, X., Sanfilippo, J. S. & Li, Y. (2016). Mitochondrial dysfunction and reproductive outcomes. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(5), 1837–1846.

Zhou, Y., Fu, S., Liu, H. & Pan, Q. (2015). Vitamin C and E supplementation protects against heat-induced damage of sperm quality. *Animal Reproduction Science*, 160, 93–99.

Zhou, Y., Fu, S., Liu, H. & Pan, Q. (2019). Impact of environmental contaminants on reproductive health and mitochondrial dysfunction. *Reproductive Toxicology*, 87, 118–128.

Zhou, Y., Zhang, Z., Wang, X. & Yang, M. (2015). Mitochondria-targeted antioxidants for reducing sperm oxidative stress. *Reproductive Biology and Endocrinology*.

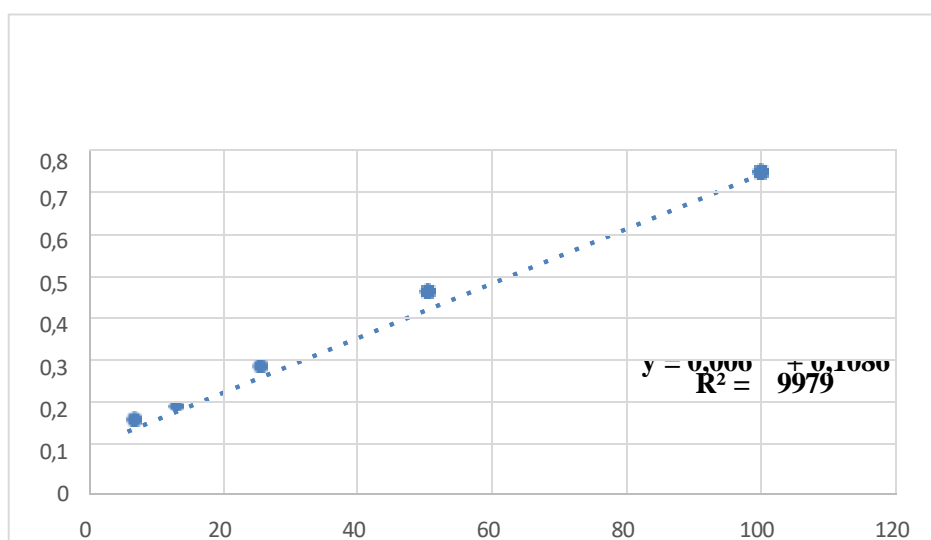
Annexes

Matériel utilisé

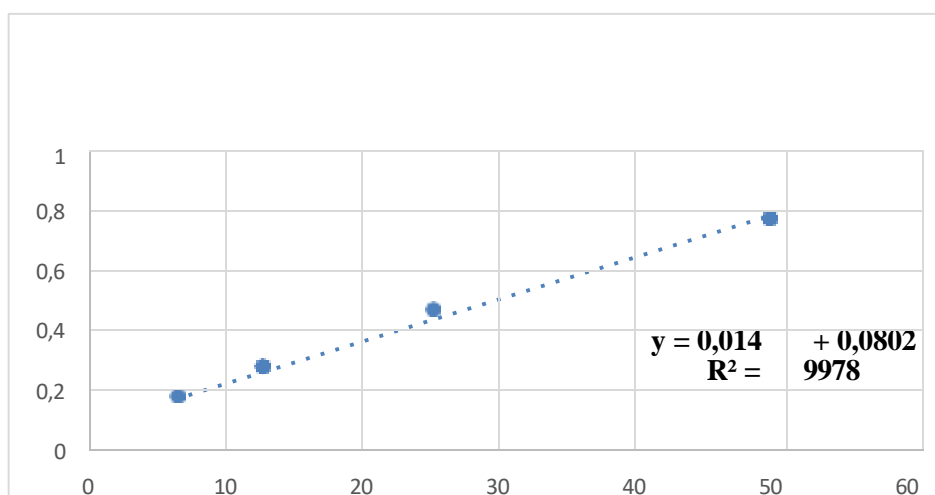
<i>Categories:</i>	<i>Elements:</i>
<i>Produits Chimiques et réactifs :</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Eau distillé - Éthanol 70 % - Folin-Ciocalteu - Carbonate de sodium (Na_2CO_3 7,5 %) - Chlorure d'aluminium (AlCl_3) - Acétate de sodium (CH_3COONa) - Vanilline - Acide chlorhydrique (HCl) - Méthanol - Iodate de potassium (KIO_3) - Sulfate ferreux (FeSO_4) - Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) - Salicylate de sodium - DPPH - ABTS - Persulfate de potassium - Acide gallique - Catéchine - Acide tannique - Malondialdéhyde (MDA) - Acide thiobarbiturique (TBA) - Acide trichloroacétique (TCA) - Vitamine E - NaCl 0,9 % - Pirimiphos-méthyl - Deltaméthrine
<i>Appareils et Équipements utilisés :</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Broyeur électrique (GRINDER) - Tamis - Agitateur magnétique - Bain-marie (37 °C) - Spectrophotomètre (Vis-7220G) - Centrifugeuse (800 g et 16 000 g) - Sonicateur - Hotte / chambre froide (implicite) - Système CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) - Logiciel StatView.5
<i>Verrerie & Récipients :</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Tubes à hémolyse / microtubes / tubes à essai - Pipettes automatiques / Pasteur - Bêchers / fioles jaugées - Flacons ambrés - Cristalliseur / boîte de Pétri - Cuvettes spectrophotométriques

Échantillons Biologiques :

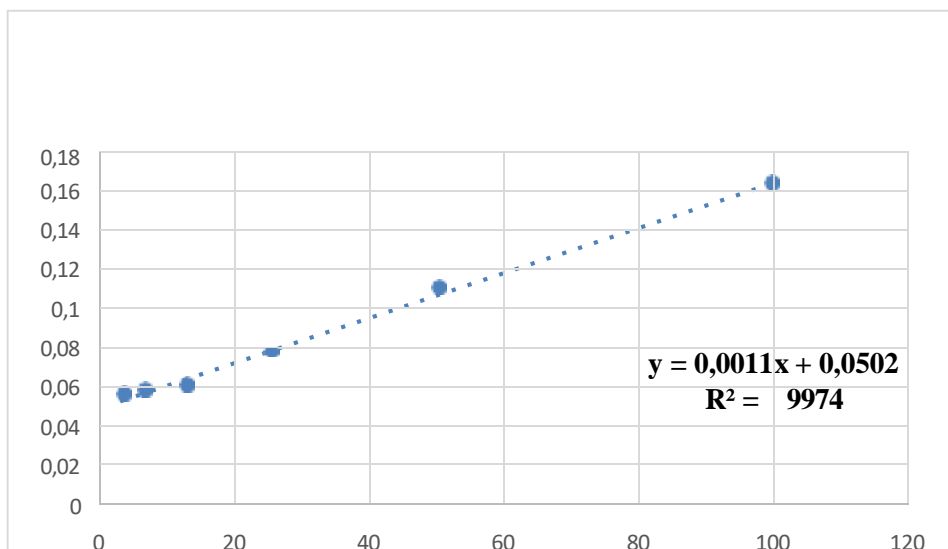
- Feuilles de *Tamarix gallica*
- Extrait brut hydroalcoolique de *Tamarix gallica*
- Spermatozoïdes de caprins (boucs)



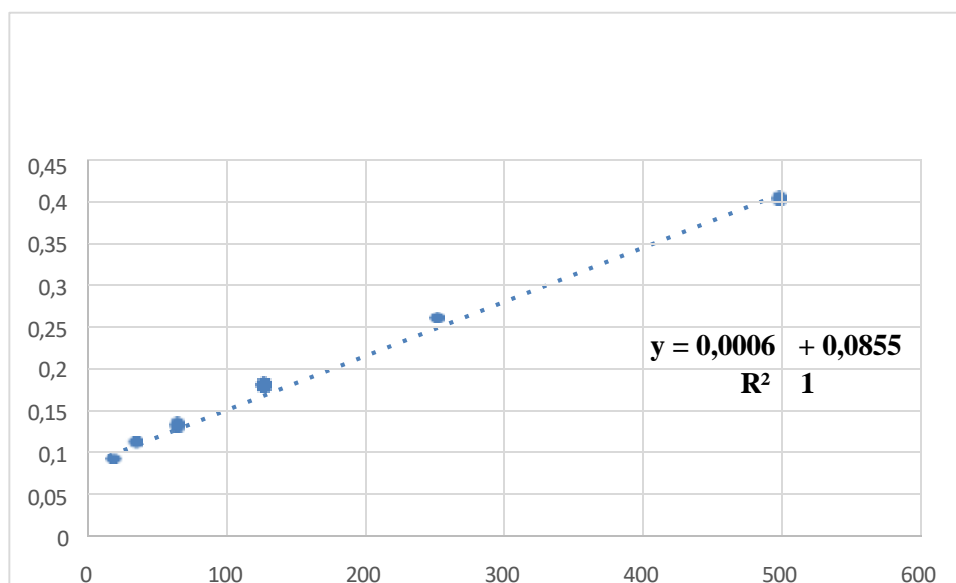
Annexe 1 : Courbe d'étalonnage pour la quantification des polyphénols dans l'extrait, réalisée avec l'acide gallique comme standard.



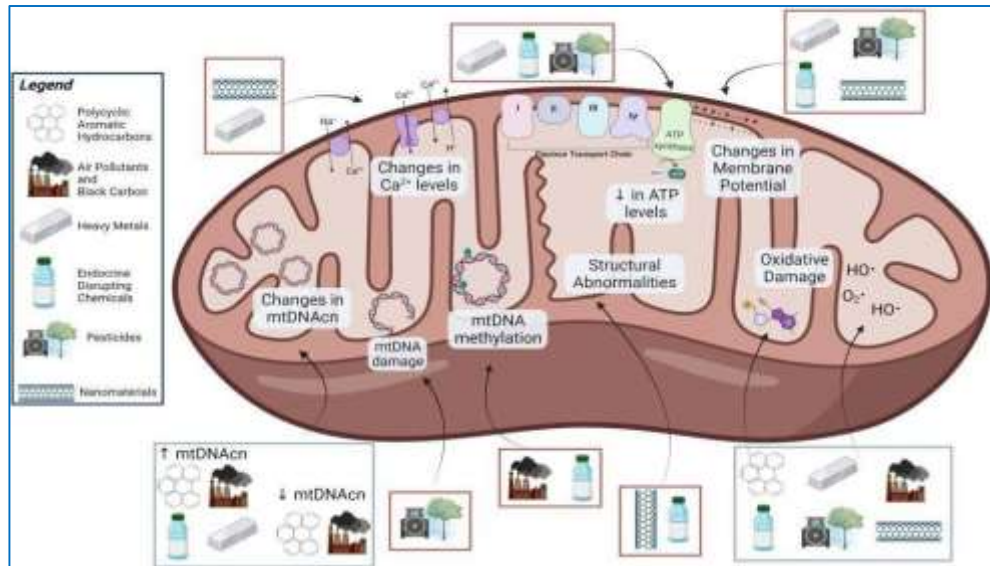
Annexe 2 : Courbe d'étalonnage pour la quantification des flavonoïdes dans l'extrait, réalisée avec la quercétine comme standard.



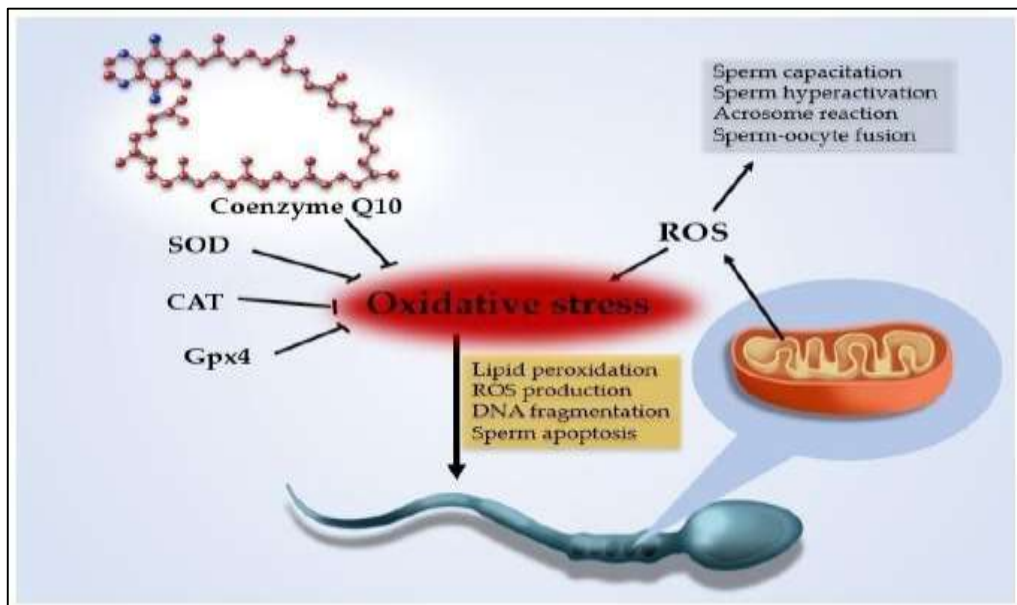
Annexe 3 : Courbe d'étalonnage pour la quantification des tannins hydrolysables dans l'extrait, réalisée avec l'acide tannique comme standard.



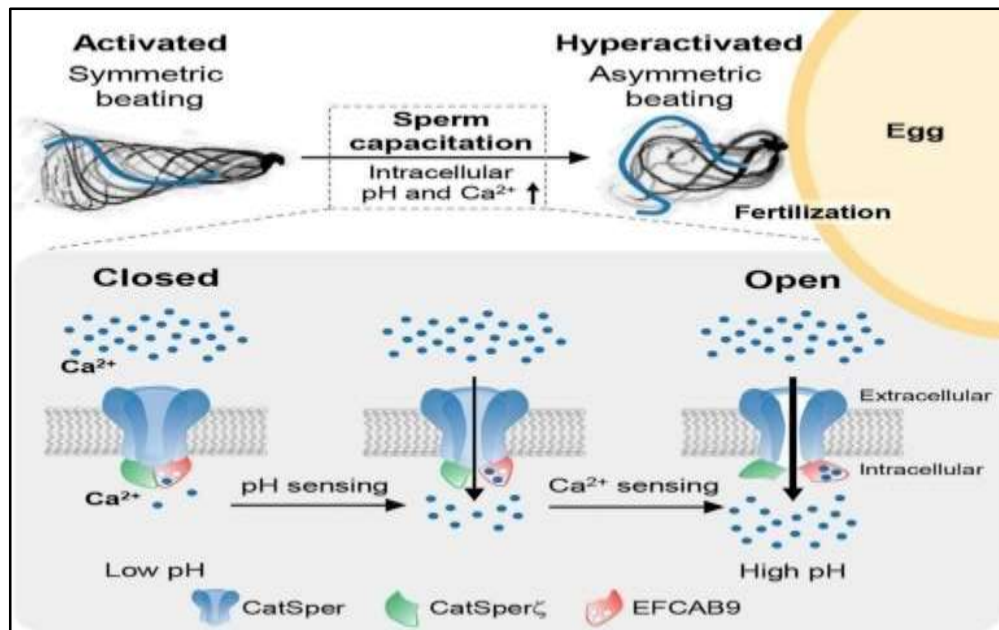
Annexe 4 : Courbe d'étalonnage pour la quantification des tannins condensées dans l'extrait, réalisée avec la vanilline comme standard.



Annexe 5 : Les voies de dysfonctionnement mitochondrial induites par des toxiques environnementaux discutées dans cette revue.



Annexe 6 : Les espèces réactives de l'oxygène (ERO), produites principalement par les mitochondries, jouent un rôle clé dans certaines fonctions spermatiques, mais leur excès cause un stress oxydatif. Les spermatozoïdes, vulnérables à ce stress à cause de leur membrane riche en acides gras polyinsaturés, disposent d'antioxydants comme la SOD, la CAT et la Gpx4 pour se protéger. La coenzyme Q10 aide à réduire les ERO et à protéger les spermatozoïdes (Hwang *et al.*, 2019).



Annexe 7 : Influence du pH et du calcium sur la motilité des spermatozoïdes. Cette figure montre comment l'EFCAB9, en détectant à la fois les variations du pH physiologique et du calcium, régule la motilité des spermatozoïdes. Ces deux facteurs sont cruciaux pour l'activation et le maintien de la motilité des spermatozoïdes, influençant ainsi leur capacité à atteindre l'ovule. (Uwamahoro *et al.*, 2021)

Résumé

Résumé :

Dans un contexte marqué par les effets délétères des xénobiotiques sur la fertilité masculine, l'étude a évalué le potentiel protecteur des extraits de *Tamarix gallica* contre la cytotoxicité induite par deux pesticides couramment utilisés : la deltaméthrine (pyréthrine) et le pirimiphos-méthyl (organophosphoré). L'analyse phytochimique a révélé une richesse en composés antioxydants (polyphénols totaux : 361,5 mg EAG/g ; flavonoïdes : 141,6 mg EQ/g). L'extrait a montré une activité anti-radicalaire élevée (ABTS : 95,76 % ; OH· : 65,67 %), comparable aux standards de référence.

Sur le plan biologique, *T. gallica* a amélioré significativement la motilité des spermatozoïdes exposés aux pesticides (VCL jusqu'à 33,0 µm/s) et réduit les niveaux de peroxydation lipidique (MDA jusqu'à 0,24 nmol/mg contre 0,43 chez les groupes pesticides). L'effet synergique avec la vitamine E a permis une nette restauration des formes rapides (jusqu'à 3,4 %) et progressives rapides (PR : 0,4 %). Ces résultats soulignent le fort potentiel thérapeutique de *Tamarix gallica* dans la prévention du stress oxydatif et des troubles de la fertilité associés aux pesticides, ouvrant des perspectives prometteuses pour son intégration en phytothérapie.

Mots-clés : *Tamarix gallica* ; fertilité ; spermatozoïdes ; pesticides ; antioxydants ; stress oxydatif.

Abstract:

In light of increasing concerns about xenobiotic-induced male infertility, this study investigated the protective effect of *Tamarix gallica* leaf extracts against the cytotoxicity induced by two widely used pesticides: deltamethrin (a pyrethroid) and pirimiphos-methyl (an organophosphate). Phytochemical analysis revealed a high content of antioxidant compounds (total polyphenols: 361.5 mg GAE/g; flavonoids: 141.6 mg QE/g). The extract showed strong free radical scavenging activity (ABTS: 95.76%; OH·: 65.67%), comparable to reference standards. Biologically, *T. gallica* significantly improved sperm motility under pesticide exposure (VCL up to 33.0 µm/s) and reduced lipid peroxidation levels (MDA down to 0.24 nmol/mg compared to 0.43 in pesticide groups). The combination with vitamin E further enhanced recovery of rapid (up to 3.4%) and progressive rapid (0.4%) sperm forms. These findings highlight the strong therapeutic potential of *Tamarix gallica* in mitigating oxidative stress and pesticide-related fertility impairments, opening promising prospects for its integration into phytotherapeutic strategies.

Keywords: *Tamarix gallica*; fertility; sperm motility; pesticides; antioxidants; oxidative stress.

المخلص :

في ظل التزايد الملحوظ للتلوث البيئي الناتج عن الاستخدام المفرط للمبيدات الحشرية (من نوع البيروثرويد) *Tamarix gallica* والبيريميفوس-ميثيل (مبيد فوسفاتي عضوي). أظهرت التحليلات الكيميائية محتوى غني بالمركبات المضادة للأكسدة، حيث بلغ المحتوى الكلي من البوليفينولات 361.5 ملغ مكافئ حمض الفينوليك، ومن الفلافونويدات 141.6 ملغ مكافئ كيرسيتين. كما أظهر المستخلص نشاطاً قوياً في اختبارات مكافحة OH· إلى 65.67%، و في اختبار الجذر البيروكسيلي ABTS الجذر الحرة، حيث وصلت نسبة التثبيط في الاختبار وهي نتائج مقارنة للمعيار المرجعي.

، كما (حتى 33.0 ميكرون ثانية VCL) بيولوجياً، ساهم المستخلص في تحسين ملحوظ لحركة الحيوانات المنوية المعرضة للمبيدات إلى 0.24 نانومول/ملغ، مقارنة بـ 0.43 في مجموعة المبيدات. كذلك، أدى الجمع (MDA) خفض من مستويات بيروكسيدات الدهون (0.43) إلى استعادة نسب الحيوانات المنوية السريعة (حتى 3.4%) والقدرة السريعة بين المستخلص وفيتامين E.

الناتجة عن التعرض للمبيد، مما

في الوقاية من الإجهاد التأكسدي واضطرابات الخصوبة لمرحلة العلاج *Tamarix gallica* تؤكد هذه النتائج الإمكانات العلاجية الواعدة للنبات بفتح آفاقاً جديدة لاستخدامه في

الكلمات المفتاحية : الخصوبة، الحيوانات المنوية، المبيدات، مضادات الأكسدة، الإجهاد التأكسدي، *Tamarix gallica*