

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR –
ANNABA



جامعة باجي مختار-
عنابة

FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE BIO SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat

Domaine : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES
Spécialité : PHYSIOPATHOLOGIE

Intitulé

**Étude de l'effet direct du 1 méthylcyclopropène ; un
régulateur de synthèse sur les paramètres métaboliques,
hormonales, et de détoxification des rats wistar.**

Presentée par : Ouali Abdelnour

Directeur de thèse : Trea Fouzia (Dr, Université Badji Mokhtar -Annaba)

Devant un jury composé de :

| | | |
|---------------------|--------------|-----------------------------------|
| Pr. AMRANI Leila | Présidente | Université Badji Mokhtar - Annaba |
| Pr MERGHAD Amina | Examinatrice | Université Souk-Ahras |
| Dr LAKBAR Chanez | Examinatrice | Université Badji Mokhtar - Annaba |
| Dr BABA-AHMED Fedia | Examinatrice | Université d'El Taref |

Année universitaire : 2024/2025

Dédicaces

À Mon Cher Père Moncef et à Mon Cher Grand-Père Amor,

Je dédie humblement cette thèse à votre mémoire, avec un profond sentiment de gratitude et de respect. Votre influence indélébile sur ma vie, bien que votre présence physique ne soit plus parmi nous, continue de guider mes pas et d'illuminer mon chemin.

À toi, mon cher père, qui m'as inculqué le goût de la connaissance, la valeur du travail acharné et la force de caractère pour surmonter les obstacles. Tu as été mon premier enseignant, mon premier modèle et mon plus grand soutien. Chaque ligne de cette thèse porte l'empreinte de ton amour, de ta sagesse et de ta bienveillance.

À toi, mon cher grand-père, dont la sagesse et l'héritage ont traversé les générations, je rends hommage. Ta persévérance, ton intégrité et ton amour pour l'apprentissage ont été des phares dans ma vie, m'inspirant à toujours viser l'excellence et à ne jamais abandonner mes rêves.

À travers cette dédicace, je veux que le monde sache que votre héritage vit à travers moi, que chaque succès que je remporte est un hommage à votre amour et à votre influence. Puissiez-vous, où que vous soyez, être fiers de ce que j'ai accompli, sachant que vous demeurez à jamais gravés dans mon cœur et dans mes pensées.

Avec tout mon amour et ma reconnaissance éternelle,

Votre fils reconnaissant

Remerciement

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers ma directrice de thèse, Docteur Trea Fouzia, pour son expertise, et ses précieux conseils tout au long de cette aventure académique. Son soutien indéfectible a été essentiel à l'aboutissement de ce travail de recherche, je lui suis infiniment reconnaissant.

Mes remerciements vont également au Professeur Amrani Leila d'avoir accepté avec joie de bien vouloir présider ma soutenance de thèse ainsi qu'aux examinatrices, Professeur Megrghad Amina, Docteur Lakbar Chanez, et Docteur Baba-Ahmed Fedia, pour l'honneur qu'elles m'ont fait en évaluant ce travail avec rigueur et professionnalisme.

Je tiens à dédier une reconnaissance toute particulière au directeur du laboratoire de Biosurveillance Environnementale Professeur Kheireddine, pour son soutien inconditionnel et son rôle déterminant dans la réalisation de cette thèse. Son engagement et ses encouragements ont été une source d'inspiration constante.

Je souhaite également exprimer ma profonde gratitude envers mes parents, mon père Moncef et ma mère Samira, ainsi qu'à mes grands-parents, Amor et Fatiha, pour leur amour inconditionnel, leur soutien constant et leurs sacrifices pour m'offrir les meilleures chances de réussite. Mes frères, Mohamed Saleh et Mohamed Ali, ainsi que ma sœur Karima, ont été des piliers solides tout au long de ce parcours, et je leur suis reconnaissant pour leur soutien inébranlable. Je remercie également mes beaux-parents, Brahim et Nabila, ainsi que mon beau-frère Khaled et ma belle-sœur Sabrina, pour leur soutien et leur encouragement tout au long de cette aventure. Ma chère amie Rania, qui a été mon bras droit tout au long des travaux pratiques de cette thèse, son soutien tant physique que morale et sa présence été d'une immense aide. Son humour, et sa bienveillance a rendu cette expérience encore plus précieuse et riche en souvenirs chaleureux.

Enfin, je voudrais exprimer ma gratitude infinie envers ma femme Sameh, qui a été mon soutien le plus fidèle, mon roc dans les moments difficiles, et ma plus grande source de motivation. Sa patience, son encouragement et son amour inconditionnel ont été les forces qui m'ont permis de surmonter les obstacles et d'atteindre cet objectif.

À chacun d'entre vous, je suis profondément reconnaissant pour votre précieuse aide et votre soutien tout au long de ce voyage académique. Merci du fond du cœur.

Communications

- Séminaire Nationale en Bio-resources : Nutrition, Santé et Environnement (BR-NSE 2021), Université Mohamed Boudiaf de M'Sila, Algérie.

Intitulé : Etude de l'effet d'un régulateur de croissance végétale « 1-méthylcyclopropène » sur la fonction hépatique des rats wistar.

- 1st International Seminar on Pollution, Health, Environment and Bio-monitoring (SIPSEB 2021), Université 20 Aout 1955, Skikda, Algérie.

Intitulé : Mesure Des Taux De Catalase, Superoxyde Dismutase, et Acétylcholinestérase Cérébrales Des Rats Traités Avec Le 1-Mthylcyclopropène Par Voie Oral.

- The 32st international congress of the Tunisian Society of Biological Sciences (ATSB 2023), Sousse, Tunisie.

Intitulé : Prediction In Silico du Métabolisme, Toxicité, et Carcinogénéicité d'un Régulateur de Croissance Végétale Utilisé sur les Fruits et les Légumes « 1-Méthylcyclopropène »

- Premier Colloque Doctoral National des Sciences Biologiques (CDNSB 2023), Université Saad Dahlab, Blida, Algérie.

Intitulé : Perturbation du Profil Lipidique, Glucidique et des Paramètres Biochimiques de la Fonction Hépatique et Rénale Induite par l'Ingestion Directe du 1-méthylcyclopropène chez les Rats Wistar.

Résumé

Le 1-méthylcyclopropène (1-MCP) est un régulateur de croissance des plantes (RCP) utilisé pour prolonger la conservation des fruits et légumes en inhibant l'éthylène, retardant ainsi la maturation et la sénescence. Cela permet de réduire les pertes post-récolte et de maintenir la qualité des produits, notamment pour l'exportation. Cependant, des préoccupations existent quant à ses effets sur la santé humaine. Les travailleurs agricoles peuvent être contaminés par les vapeurs du 1-MCP, et les consommateurs y sont exposés par des résidus du 1-MCP sur les produits traités et ingérés. Le point alarmant est que certains métabolites du 1-MCP, qui sont moins volatils et se déposent sur les tissus végétaux sont classés comme cancérigènes et mutagènes. De plus, des études ont révélé des effets toxiques des RCPs, tels que des perturbations endocriniennes et immunitaires, des dommages sur différents organes comme le foie, les reins, et les organes reproducteurs et des effets neurotoxiques.

L'objectif de notre étude a été d'évaluer le risque potentiellement toxique de l'ingestion directe de très faibles doses de 1-MCP pendant une période prolongée sur la fonction hépatique et cérébrale. Pour ce faire, on a traité oralement des rats wistar avec de très faibles doses du 1-MCP pendant une période de 8 semaines consécutives. À la fin du traitement, nous avons établi une courbe pondérale et mesuré les paramètres hématologiques, on a évalué la fonction hépatique en mesurant les paramètres biochimiques (ASAT, ALAT, bilirubine), métabolique (glucose, cholestérol, et triglycérides), ainsi que les mesures des biomarqueurs du stress oxydant (GSH, GST, GPx, CAT, SOD), et produit de la peroxydation lipidique (MDA), nous avons également réalisé une étude histologique. D'autre part, nous avons évalué la capacité antioxydante au niveau cérébral par mesure de paramètres du stress oxydant enzymatiques et non enzymatiques ainsi qu'à la mesure de l'activité acétylcholinestérase cérébrale. L'étude in

vivo a été compléter avec une étude in silico de prédiction où les propriétés physico-chimiques, la pharmacocinétique, la toxicité, ainsi que la carcinogénicité du 1-MCP été établi.

Chez les rats exposés au 1-MCP, une augmentation des globules blancs et des plaquettes a été observée, suggérant une réaction inflammatoire. Des dommages hépatiques ont été constatés, incluant des altérations dans les taux de triglycérides, des dommages structuraux aux hépatocytes, et une augmentation des niveaux de MDA, un indicateur de stress oxydatif et de peroxydation lipidique. Le traitement au 1-MCP a également perturbé les activités des enzymes antioxydantes dans le foie, suggérant un déséquilibre oxydatif. Au niveau cérébral, une diminution significative du GSH et une augmentation des activités des enzymes antioxydantes ont été notées, ainsi qu'une augmentation des niveaux de MDA. Le 1-MCP a réduit l'activité de l'acétylcholinestérase, indiquant une neurotoxicité potentielle.

Ces résultats soulignent les dangers potentiels du 1-MCP sur la santé humaine, mettant en évidence la nécessité d'une surveillance rigoureuse de son utilisation et de recherches supplémentaires pour évaluer pleinement ses risques.

Mots clés : 1-méthylcyclopropène, éthylène, stress oxydant, neurotoxicité, hépatotoxicité.

Abstract

1-Methylcyclopropene (1-MCP) is a plant growth regulator (PGR) used to extend the shelf life of fruits and vegetables by inhibiting ethylene, thus delaying ripening and senescence. This helps reduce post-harvest losses and maintain product quality, especially for export. However, concerns exist regarding its effects on human health. Agricultural workers may be exposed to 1-MCP vapors, and consumers may be exposed to residues of 1-MCP on treated and ingested products. The alarming point is that some metabolites of 1-MCP, which are less volatile and deposit on plant tissues, are classified as carcinogenic and mutagenic. Additionally, studies have revealed toxic effects of PGRs, such as endocrine and immune disruptions, damage to various organs like the liver, kidneys, and reproductive organs, and neurotoxic effects.

The objective of our study was to assess the potentially toxic risk of direct ingestion of very low doses of 1-MCP over an extended period on liver and brain function. To do this, we orally treated Wistar rats with very low doses of 1-MCP for a consecutive 8-week period. At the end of the treatment, we established a weight curve and measured hematological parameters. We evaluated liver function by measuring biochemical parameters (AST, ALT, bilirubin), metabolic parameters (glucose, cholesterol, and triglycerides), as well as oxidative stress biomarkers (GSH, GST, GPx, CAT, SOD), and lipid peroxidation product (MDA). We also conducted a histological study. Additionally, we assessed antioxidant capacity at the cerebral level by measuring enzymatic and non-enzymatic oxidative stress parameters and cerebral acetylcholinesterase activity. The *in vivo* study was complemented with an *in silico* prediction study where the physicochemical properties, pharmacokinetics, toxicity, and carcinogenicity of 1-MCP were established.

In rats exposed to 1-MCP, an increase in white blood cells and platelets was observed, suggesting an inflammatory response. Liver damage was observed, including alterations in triglyceride levels, structural damage to hepatocytes, and increased levels of MDA, an indicator

of oxidative stress and lipid peroxidation. 1-MCP treatment also disrupted antioxidant enzyme activities in the liver, suggesting oxidative imbalance. At the cerebral level, a significant decrease in GSH and an increase in antioxidant enzyme activities were noted, along with an increase in MDA levels. 1-MCP reduced acetylcholinesterase activity, indicating potential neurotoxicity.

These results underscore the potential dangers of 1-MCP to human health, highlighting the need for rigorous monitoring of its use and further research to fully assess its risks.

Keywords: 1-methylcyclopropene, ethylene, oxidative stress, neurotoxicity, hepatotoxicity.

ملخص

يُستخدم لتمديد فترة صلاحية الفواكه والخضروات عن طريق تثبيط (RCP) الميثيل سيكلوبروبين هو مشط نمو نباتي الإيثيلين، مما يؤخر عملية النضج والشيخوخة. وهذا

يساعد في تقليل الخسائر بعد الحصاد والحفاظ على جودة المنتجات، خاصة

للتصدير. ومع ذلك، هناك مخاوف من تأثيره على صحة الإنسان. يمكن أن يتعرض العمال الزراعيون لبخار الميثيل سيكلوبروبين،

وقد يتعرض المستهلكون لبقايا الميثيل سيكلوبروبين على المنتجات المعالجة والمتناولة. النقطة المثيرة للقلق هي أن بعض المتمثلات

لهذا المنتج، التي تقل قوتها التبخيرية وترسب على أنسجة النباتات، تصنف كمواد مسرطنة ومتحورة وراثيًا. بالإضافة إلى ذلك،

كشفت الدراسات عن تأثيرات سامة للمنبطات النباتية، مثل اضطرابات الغدد الصماء والمناعية، والأضرار بأعضاء مختلفة مثل الكبد والكلى والأعضاء التناسلية، بالإضافة

إلى التأثيرات العصبية السامة

كان الهدف من دراستنا تقييم المخاطر السامة المحتملة للتعرض المباشر لجرعات منخفضة جدا من 1-ميثيل سيكلوبروبين على

المدى الطويل على وظيفة الكبد والدماغ. لتحقيق هذا، قمنا بمعالجة جردان ويستار شفويًا بجرعات منخفضة جدا من 1-ميثيل

سيكلوبروبين لمدة 8 أسابيع متتالية. في نهاية العلاج، قمنا بإنشاء منحنى الوزن وقياس المعلمات الدموية، وقياس تقييم وظيفة الكبد

عن طريق قياس المعلمات الكيميائية الحيوية (أسبارتات أمينو ترانسفيراز، ألانين أمينو ترانسفيراز، البيليروبين)، والمعلمات

الأبيضية (الجلوكوز، الكوليسترول، والتريغليسيريدات)، بالإضافة إلى قياس علامات الإجهاد التأكسدي (الجلوتاثيون، الجلوتاثيون

إس ترانسفيراز، الجلوتاثيون بيروكسيداز، الكاتالاز، السوبرأوكسيد ديسموتاز)، ومنتجات أكسدة الدهون (المالونديالدهيد)، كما قمنا بإجراء دراسة نسيجية. من ناحية أخرى،

قمنا بتقييم القدرة المضادة للأكسدة على مستوى الدماغ من خلال قياس المعلمات الإجهادية

التأكسدية الإنزيمية وغير الإنزيمية، وكذلك قياس نشاط الأستيل كولين إستيراز الدماغية. أكملنا الدراسة في الجسم الحي بدراسة في

الحاسوب للتنبؤ حيث تم تحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والدوائية الحركية، والسمية، والسرطانية لميثيل سيكلوبروبين. لدى الجردان المعرضة لميثيل سيكلوبروبين، لوحظ

ارتفاع في كريات الدم البيضاء والصفائح الدموية، مما يشير إلى استجابة التهابية. لوحظت أضرار في الكبد، بما في ذلك تغيرات في مستويات التريغليسيريدات، وأضرار

هيكلية للخلايا الكبدية، وزيادة في مستويات المالونديالدهيد، مؤشر على الإجهاد التأكسدي وأكسدة الدهون. كما أدى علاج ميثيل سيكلوبروبين إلى تعطيل أنشطة

الإنزيمات المضادة للأكسدة في الكبد، مما يشير إلى عدم التوازن التأكسدي. على مستوى الدماغ، لوحظ انخفاض كبير في الجلوتاثيون وزيادة في أنشطة الإنزيمات

المضادة للأكسدة، بالإضافة إلى زيادة في مستويات المالونديالدهيد. خفض ميثيل سيكلوبروبين نشاط الأستيل كولين إستيراز، مما يشير إلى السمية العصبية المحتملة. تؤكد هذه

النتائج على المخاطر المحتملة لميثيل سيكلوبروبين على صحة الإنسان، مما يبرز ضرورة مراقبة استخدامه بدقة وإجراء المزيد من الأبحاث لتقييم مخاطره بشكل كامل

الكلمات الرئيسية: 1-ميثيل سيكلوبروبين، الإيثيلين، الإجهاد التأكسدي، السمية العصبية، السمية الكبدية

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1. Conditions d'élevage des rats au laboratoire LBSE..... | 20 |
| Figure 2. Structure chimique en 3D du 1-MCP..... | 21 |
| Figure 3. Courbe d'étalonnage du Sérum Bovine Albumine (BSA)..... | 29 |
| Figure 4. Réaction de mesure de la GSH (Sedlak & Lindsay, 1968). | 30 |
| Figure 5. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'évolution du poids corporel des rats | 43 |
| Figure 6. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les activités enzymatiques ASAT et ALAT. | 45 |
| Figure 7. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur la concentration de la bilirubine | 46 |
| Figure 8. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur la concentration de glucose..... | 46 |
| Figure 9. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les concentrations de cholestérol et des triglycérides..... | 47 |
| Figure 10. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur la concentration de GSH hépatique | 48 |
| Figure 11. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur la concentration du MDA hépatique..... | 48 |
| Figure 12. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité de la GST hépatique | 49 |
| Figure 13. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité de la GPx hépatique..... | 49 |
| Figure 14. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité CAT hépatique | 50 |
| Figure 15. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité SOD hépatique | 50 |
| Figure 16. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les photomicrographies de sections colorées (H&E) de foies de rats..... | 51 |
| Figure 17. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) cérébrale | 52 |
| Figure 18. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les taux de GSH cérébrale | 52 |
| Figure 19. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les taux du MDA cérébrale..... | 53 |
| Figure 20. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité de la GST cérébrale | 53 |
| Figure 21. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité GPx cérébrale..... | 54 |

| | |
|---|----|
| Figure 22. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité CAT cérébrale | 54 |
| Figure 23. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité SOD cérébrale | 55 |
| Figure 24. Diagramme de l'oeuf pour le 1-MCP | 56 |
| Figure 25. Prédiction de la classe de toxicité du 1-MCP..... | 57 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1. Constitution des lots de rats pendant l'expérimentation. | 22 |
| Tableau 2. Solutions utilisés dans la mesure de la GSH selon Ellman, 1959..... | 30 |
| Tableau 3. Solutions utilisées dans la mesure de l'activité GST selon Habig,1974..... | 31 |
| Tableau 4. Solutions utilisées dans la mesure de l'activité GPx selon Hafeman, 1974. | 32 |
| Tableau 5. Solutions utilisées dans la mesure de l'activité CAT selon Cohen, 1970. | 34 |
| Tableau 6. Solutions utilisées dans la mesure du MDA selon Ohkawa, 1979. | 35 |
| Tableau 7. Les solutions utilisées dans la mesure de l'activité SOD selon Splitz et Obreley, 1989..... | 36 |
| Tableau 8. Les solutions utilisées dans la mesure de l'activité AChE selon Ellman et al, 1961. | 37 |
| Tableau 9. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur le poids absolu et relatif des organes des rats. | 44 |
| Tableau 10. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les paramètres hématologiques | 44 |

Liste des Abréviations

AJA : Apport Journalier Acceptable

MRL : Maximum Residus Levels (Niveau Maximum des Résidus)

RCPs : Régulateurs de Croissance des Plantes

UE : Union Européen

PGRs : Plant Growth Regulators

ABA : Acide Abscissique

GA : Gibbérellines

ETP : Ethéphon

NAA : Acide Naphtalène-Acétique

1-MCP : 1-méthylcyclopropène

KMnO₄ : Permanganate de Potassium

UV : Ultraviolet

CO₂ : Dioxyde de carbone

2-4D : 2,4-Dichlorophénoxy-acétique

Ag(I) : Thiosulfate d'argent

2,5-NBD : 2,5-norbornadiène

TCO : trans-cyclooctène

CP : cyclopropènes

1-CMP : 1-chlorométhylpropène

3-CMP : 3-chlorométhylpropène

COC : Comité de la Cancérogénicité des Produits Chimiques dans les Aliments et les Produits de Consommation et l'Environnement

NTP : National Toxicology Program (Programme Nationale de Toxicologie)

EFSA : European Food Safety Authority (Autorité Européenne de la Sécurité Alimentaire)

3-CA : 3-chloroaniline

CIPC : Isopropyl-3-chlorophényl carbamate

IAA : Acide Indole-3-Acétique

ASAT : Aspartate Amino-Transférase

ALAT : Alanine Amino-transférase

GSH : Glutathion

GST : Glutathion-s-transférase

GPx : Glutathion Peroxidase

CAT : Catalase
SOD : Superoxyde Dismutase
MDA : Malon-dialdéhyde
H & E : Hématoxyline et Eosine
AChE : Acétylcholinestérase
IPA : Institut Pasteur d'Alger
LBSE : Laboratoire de Biosurveillance Environnementale DL50 : Dose létale a 50 %
a.i. : Ingrédients Actif
NOAEL : No Observed Adverse Effect Level (Niveau sans Effet Nocif observable)
EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique
FNS : Formule de Numérotation Sanguine
NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide (réduit)
NAD⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide (oxydé),
H⁺ : ions d'hydrogène
Abs : Absorbance
POD : Peroxydase
4-AF : 4- aminophénazone (4-AF)
DCPS : 2-4 Dichlorophénol sulphonate
RT : Réactif de Travail
LPL : Lipoprotéine lipase
GPO : Glycérophosphate Déshydrogénase
ATP : Adénosine Tri-phosphate
GK : Glycérol Kinase
G3P : Glycérol 3-phosphate
ADP : Adénosine di-phosphate
DAP : Dihydroxyacétone phosphate
BSA : Bovine Sérum Albumine
DTNB : Acide 5-dithiobis 2-nitrobenzoic
HCl : Acide hydro chlorhydrique
TCA : Acide Tri-chloro Acétique
CDNB : 1-chloro-2,4-dinitrobenzene
KCl : Chlorure de Potassium
NaN₃ : Sodium Azide

NaCl : Chlorure de Sodium
TBA : Acide Thiobarbiturique
NBT : Nitrobleu Tetrazolium
TPSA : Surface Polaire Topologique
GI : Gastro-intestinale
BHE : Barrière Hémato-Encéphalique
SRN : Signalisation des récepteurs nucléaires
RS : Réponse au Stress
GB : Globules Blancs
PLT : Plaquettes
GR : Globules Rouges
HGB : Hémoglobine
HCT : Hématocrite
VGM : Volume Globulaire Moyen
TMH : Teneur Moyenne en Hémoglobine
CCMH : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
P-LCR : Taux de Plaquettes a Grandes Cellules
H : Cellules hépatiques
N : Noyau
VC : Veine Centrale
PD : Triades Portales
VP : Veine Porte
S : Sinusoïdes
Pn : pycnotiques
Con : Congestion
Inf : Infiltration
ROS : Reactif Oxygen Species (Espèces Réactives a l'Oxygène)
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
EPA : Agence de Protection de l'Environnement
ADN : Acide Désoxyribonucléique

Table de matières

| | |
|---|-------------|
| Résumé | V |
| Abstract | VII |
| ملخص | IX |
| Liste des figures | X |
| Liste des tableaux | XII |
| Liste des Abréviations | XIII |
| Table de matières | XVI |
| Chapitre -I- Introduction | 2 |
| 1. Évaluation des Risques Sanitaires liés à l'Utilisation Intensive des Produits Phytosanitaires en Horticulture Moderne | 2 |
| 2. Les régulateurs de croissance végétale (RCPs) | 5 |
| 2.1. Définition, Classes et Utilisations | 5 |
| 2.2. Cause de l'Émergence des RCPs : les Pertes Post Récoltes | 7 |
| 2.3. L'éthylène : Implications et Méthodes de Gestion | 9 |
| 3. 1-méthylcyclopropène : la Technologie la Plus Prometteuse | 11 |
| 3.1. 1-MCP : Historique, Propriétés, et Commercialisation | 11 |
| 3.2. Mode d'Action et Effet au Niveau Végétale | 13 |
| 3.3. 1-MCP : Potentiel Toxique | 13 |
| 4. Problématique et Objectifs | 16 |
| Chapitre -II- Matériels et méthodes | 20 |
| 1. Matériels utilisés dans l'expérimentation | 20 |
| 1.1. Modèle animal | 20 |

| | |
|--|-----------|
| 1.2. Produit chimique _____ | 21 |
| 1.3. Choix des doses _____ | 21 |
| 2. Méthodes expérimentales _____ | 22 |
| 2.1. Protocole expérimental _____ | 22 |
| 2.2. Techniques de dosage _____ | 23 |
| 2.2.1. Analyse des paramètres hématologiques _____ | 23 |
| 2.2.2. Analyse des paramètres biochimiques et métaboliques _____ | 23 |
| 2.2.2.1. Paramètres biochimiques de la fonction hépatique _____ | 23 |
| 2.2.2.2. Paramètre du métabolisme glucidique _____ | 25 |
| 2.2.2.3. Paramètres du métabolisme lipidique. _____ | 26 |
| 2.3. Dosage des biomarqueurs du stress oxydant _____ | 28 |
| 2.3.1. Dosage des protéines _____ | 28 |
| 2.3.2. Mesure des taux de la glutathion réduit (GSH). _____ | 29 |
| 2.3.3. Mesure de l'activité glutathion-s-transférase (GST) _____ | 31 |
| 2.3.4. Mesure de l'activité glutathion peroxydase (GPx) _____ | 32 |
| 2.3.5. Mesure de l'activité catalase (CAT) _____ | 33 |
| 2.3.6. Mesure du taux de mano-dialdéhyde (MDA) _____ | 35 |
| 2.3.7. Mesure de l'activité superoxyde dismutase (SOD) _____ | 36 |
| 2.3.8. Mesure de l'activité l'acétylcholinestérase. _____ | 37 |
| 2.4. Etude histologique _____ | 38 |
| 2.4.1. Préparation des coupes histologiques _____ | 38 |
| 2.4.2. Technique de coloration a Hématoxyline et a l'Eosine _____ | 39 |
| 2.6. Etude in silico _____ | 40 |
| 2.5. Tests statistiques _____ | 41 |
| Chapitre -III- Résultats expérimentaux _____ | 43 |
| 1. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'évolution pondérale des rats _____ | 43 |
| 2. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les paramètres hématologiques _____ | 44 |
| 3. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur la fonction hépatique _____ | 45 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 3.1. | Variation des paramètres biochimiques _____ | 45 |
| 3.1.1. | Activité des transaminases _____ | 45 |
| 3.1.2. | Mesure du taux de bilirubine _____ | 46 |
| 3.2. | Variation des paramètres du métabolisme lipidique et glucidique _____ | 46 |
| 3.2.1. | Taux de glucose _____ | 46 |
| 3.2.2. | Taux de cholestérol et des triglycérides _____ | 47 |
| 3.3. | Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les biomarqueurs du stress oxydant au niveau hépatique | 48 |
| 3.3.1. | Taux de la glutathion réduit (GSH) hépatique _____ | 48 |
| 3.3.2. | Taux du mano-dialdéhyde (MDA) hépatique _____ | 48 |
| 3.3.3. | Activité de la glutathion-s-transférase (GST) hépatique. _____ | 49 |
| 3.3.4. | Activité de la glutathion réduit (GPx) hépatique _____ | 49 |
| 3.3.5. | Activité de la catalase (CAT) hépatique _____ | 49 |
| 3.3.6. | Activité de la superoxyde dismutase (SOD) hépatique. _____ | 50 |
| 3.4. | Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'anatomie du foie _____ | 51 |
| 4. | Effet de l'ingestion du 1-MCP sur la fonction cérébrale _____ | 52 |
| 4.1. | Activité de l'acétylcholinestérase (AChE) _____ | 52 |
| 4.2. | Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les biomarqueurs du stress oxydant au niveau cérébrale | 52 |
| 4.2.1. | Taux de la glutathion réduit (GSH) cérébrale _____ | 52 |
| 4.2.2. | Taux du malon-dialdéhyde (MDA) cérébrale _____ | 53 |
| 4.2.3. | Activité de la glutathion-s-transférase (GST) cérébrale _____ | 53 |
| 4.2.4. | Activité de la glutathion peroxydase (GPx) cérébrale _____ | 54 |
| 4.2.5. | Activité de la catalase (CAT) cérébrale . _____ | 54 |
| 4.2.6. | Activité de la superoxyde dismutase (SOD) cérébrale _____ | 55 |
| 5. | Etude In silico _____ | 55 |
| 5.1. | Propriétés physico-chimique _____ | 55 |
| 5.2. | Pharmacocinétique _____ | 56 |
| 5.2. | Prédiction de toxicité _____ | 57 |
| 5.3. | Cancérogénicité des organes spécifiques chez les rongeurs _____ | 57 |

| | |
|---|----|
| 1. Effet du 1-MCP sur les paramètres hématologiques _____ | 61 |
| 2. Effet du 1-MCP sur la fonction hépatique _____ | 62 |
| 3. Effet du 1-MCP sur le cerveau _____ | 67 |
| <i>Chapitre -IV- Conclusion</i> _____ | 73 |
| <i>Chapitre -VI- Références bibliographiques</i> _____ | 75 |



*Chapitre – I –
Introduction*

Chapitre -I- Introduction

1. Évaluation des Risques Sanitaires liés à l'Utilisation Intensive des Produits Phytosanitaires en Horticulture Moderne

L'un des principaux défis de l'horticulture contemporaine réside dans la capacité à fournir des fruits et légumes, denrée de nature très sensibles et périssable, à une population mondiale en constante croissance, qui devrait atteindre 10 milliards d'ici 2050, tout en s'adaptant aux changements climatiques et environnementaux majeurs (Rouphael et al., 2018). Et en répondant à la demande croissante de denrées alimentaires de bonne qualité, principalement due à l'intérêt grandissant de la société pour des produits frais et hors saison de haute qualité nutritionnelle et fonctionnelle (Donkor, 2016). D'ailleurs, les exportations et les importations de fruits et légumes ont doublé de quantité et de gain économique au cours des vingt dernières années (FAO, 2023). Dans ce contexte, l'utilisation de produits chimiques phytosanitaires comme les insecticides et les agents de maturation, tel que les régulateurs de croissance des plantes (RCPs), a connu une augmentation significative. Plus de 1000 composés chimiques différents sont couramment employés (Donkor, 2016). Cette intensification soulève des préoccupations quant à la toxicité potentielle de ces substances et de leur omniprésence tant pour les travailleurs agricoles, que pour les consommateurs, en raison des résidus chimiques présents dans les aliments. Ces résidus peuvent être des substances seules ou des mélanges de substances présentes dans les aliments ou l'environnement. Ils peuvent également être des produits de conversion, de dégradation, des réactions, ainsi que des métabolites et des impuretés ayant une importance toxicologique (Marques et Silva, 2021).

Suite à la surutilisation de ces produits, des résidus pénètrent dans la chaîne alimentaire via les aliments traités, mais aussi par l'environnement et l'eau d'irrigation, cependant, les

conséquences de l'exposition par la voie alimentaire dépasse largement celle de l'air et l'eau et elle est cinq fois plus élevée (Chen et al., 2011 ; Donkor et al., 2016), exposant ainsi les humains à une toxicité aiguë comme les maux de tête et les nausées, et à une toxicité chronique cause des maladies plus graves comme le cancer (Donkor, 2016). Ceci est encore plus accentué chez les pays en développement, notamment dans les tropiques et les pays africains, utilisant davantage de produits phytosanitaires pour satisfaire la demande des nations développées. A titre d'exemple, La production à grande échelle de denrées au Brésil, a entraîné une augmentation de 135 % de la consommation totale de pesticides entre 2000 et 2014, augmentant ainsi l'exposition aux résidus de ces substances (Marques et Silva, 2021).

Des résidus de produits chimiques ont été trouvés dans plusieurs aliments du quotidien (Hou et al., 2013 ; Ernst et al., 2018 ; Chen et al., 2016). Toutefois, on a observé les niveaux les plus élevés dans les fruits et légumes, ce qui les rend parfois inadmissibles à la consommation (Diop et al., 2016 ; Jallow et al., 2017 ; Kariathi et al., 2016 ; Lehmann et al., 2017). Selon Chen et al. (2011) et Donkor (2016), les niveaux de pesticides dans différents fruits et légumes pourraient dépasser les limites établies par les organismes de réglementation (Chen et al., 2011 ; Donkor, 2016). Ces derniers ont fait l'objet de plusieurs études concernant leurs niveaux de pesticides. Dans le sud de la Chine, 66,7 % des échantillons de fruits contenaient des résidus de pesticides, en Pologne, plus de 60 % des échantillons de pommes, un des fruits le plus commercialisé et consommé au monde, contenaient des pesticides (Liu et al., 2016). Par ailleurs, les doses réglementaires ne sont pas toujours respectées. Plusieurs études ont montré les résidus de pesticides dans les échantillons de fruits et légumes dépassaient la valeur de l'apport journalier acceptable (AJA) (Bhandari et al., 2019 ; Marques et Silva, 2021). D'autres études ont montré que les résidus de pesticides dans les fruits et légumes dépassent les niveaux maximaux de résidus (MRL) (Hjorth et al., 2011).

Les cas de surdosage et d'empoisonnement sont beaucoup plus fréquents dans les pays en développement que dans les pays développés en raison de l'utilisation excessive des pesticides, y compris les RCPs, et d'une gestion et réglementation inadéquates (Chen et al., 2011 ; Donkor, 2016). Selon Hjorth et al. (2011), le rapport annuel de surveillance de l'UE révèle que les résidus de pesticides dans les produits exportés par les pays tropicaux et africains dépassent plus fréquemment les limites maximales de résidus que ceux des pays de l'UE. Effectivement, l'usage des pesticides dans l'agriculture est soumis à une surveillance constante en matière d'autorisation et d'enregistrement. Toutefois, ces inquiétudes ne sont pas prises en considération de manière adéquate dans la majorité des pays en développement (Donkor et al., 2016). Les pays africains et tropicaux producteurs ont des lois et des législations restreintes pour contrôler les résidus de pesticides. En outre, les formations pour les agriculteurs et l'équipement de protection sont souvent inexistantes (Hjorth et al., 2011). De plus, les associations nationales d'agriculteurs et industrielles en Afrique estiment que 15 % à 20 % des pesticides sur le marché sont illégaux. Dans certaines zones, ce chiffre peut atteindre jusqu'à 80 % en raison des préparations domestiques à petite échelle et des importations de produits agricoles et de pesticides contrefaits (Frezal et Garsous, 2020). Des risques plus complexes doivent être évalués également, notamment l'exposition cumulative ; résultant de l'utilisation de différents pesticides sur une période donnée, ainsi que l'exposition par différentes voies telles que l'inhalation, l'ingestion et le contact cutané. De plus, il est nécessaire de considérer l'exposition agrégée, qui résulte de l'utilisation simultanée de plusieurs pesticides ou de l'exposition à plusieurs produits contenant des résidus de pesticides (van Klaveren et Boon, 2009).

L'utilisation des RCPs a récemment soulevé des inquiétudes quant à la sécurité et à la qualité nutritionnelle des fruits traités par ce type de produits (Liu et al., 2016). En effet ; une étude avait montré qu'environ 40 % des échantillons analysés d'herbes chinoises les plus utilisés

révélaient la présence individuelle d’RCP comme le chlorure de chlorocholine et le chlorméquat, tandis que dans la plupart des lots, ces composés étaient présents conjointement (Sutcharitchan et al., 2020). De plus, la teneur en métabolites essentiels dans les plantes phyto- thérapeutiques a été considérablement altérée après traitement avec les RCPs (Sutcharitchan et al., 2020). Ainsi, la consommation d'aliments contaminés par des RCPs expose les humains à ces substances. Non seulement les aliments frais d'origine végétale présentent un potentiel toxicologique, mais aussi les préparations maison et les aliments transformés trouvés dans les supermarchés (Marques et Silva, 2021). Les effets sur la santé humaine peuvent être très grave, car plusieurs avaient montré d’avoir un effet toxique en altérant les systèmes immunitaires et endocriniens des mammifères (Barański et al., 2021), la fertilité et le système reproducteur (Wang et Hao, 2023) ainsi que les fonctions neurologiques (Marques et Silva, 2021).

Plusieurs études ont déjà évalué le risque lié à l’utilisation des pesticides, et plusieurs d’entre eux ont été classé comme hautement toxiques cependant très peu d’études s’intéresse au RCPs malgré leur émergence dans l’horticulture moderne. Leur utilisation a tellement augmenté qu'ils surpassent désormais la quantité d'insecticides utilisés (Ozok et Celik, 2012), bien que ces derniers soient parmi les produits phytosanitaires les plus répandus. Ainsi, une analyse approfondie est donc devenue nécessaire pour évaluer les risques sanitaires associés à ces pratiques agricoles et pour déterminer les mesures de sécurité à adopter afin de protéger la santé publique.

2. Les régulateurs de croissance végétale (RCPs)

2.1. Définition, Classes et Utilisations

Les régulateurs de croissance des plantes (RCPs), également connus sous le nom de régulateurs d'hormones végétales ou PGR (pour Plant Growth Regulators), sont perçus comme des agents de maturation. De nombreux processus physiologiques des plantes sont affectés par

ces éléments, d'où leur utilisation dans le contrôle de la production agricoles (Hajam et al., 2018 ; Tousson et al., 2019 ; Abdel-Rahman et al., 2023). Ils peuvent être issus d'origine naturelle, comme les « phytohormones », qui sont produites naturellement par les plantes elles-mêmes. Les hormones végétales jouent un rôle crucial tout au long du cycle de vie des plantes, influençant divers processus allant de la croissance des fleurs, des tiges et des feuilles à la chute des feuilles, ainsi qu'à la maturation des graines et des fruits (Xiong et Zhu, 2003 ; Isik et Celik, 2015 ; Hajam et al., 2018). Ces hormones sont divisées en six catégories principales : auxines, gibbérellines, cytokinines, éthylène, acide abscissique et polyamines.

Chacune de ces hormones a des fonctions spécifiques. Par exemple, les auxines et les cytokinines sont connues pour stimuler la croissance et le développement des plantes, ce qui les classe parmi les promoteurs de croissance végétale (Hassan et al., 2013). L'acide abscissique (ABA), quant à lui, joue un rôle clé dans le développement des graines, la dormance et la germination (Xiong et Zhu, 2003 ; Isik et Celik, 2015). D'autre part, certaines hormones peuvent inhiber la croissance et retarder le développement des plantes. Par exemple, les gibbérellines (GA), bien qu'elles puissent promouvoir la croissance dans certains contextes, peuvent également bloquer la floraison de certaines plantes, agissant ainsi comme des retardateurs de croissance (Hajam et al., 2018).

En plus de ces fonctions, les cytokinines sont également impliquées dans la division cellulaire et la différenciation, tandis que l'éthylène joue un rôle dans la maturation des fruits et la réponse au stress. Les polyamines, bien que moins étudiées, sont également essentielles pour la stabilisation des membranes cellulaires et la régulation de la croissance. Ainsi, la compréhension et la manipulation de ces hormones peuvent avoir des implications importantes pour l'agriculture et l'horticulture, permettant de maximiser la productivité et la résilience des cultures.

Les régulateurs de croissance des plantes (RCPs) peuvent être d'origine synthétique, imitant ainsi les phytohormones naturelles ou, au contraire, inhibant leurs effets. Par exemple, le GA3, un antagoniste des gibbérellines (GA), empêche la floraison, renforce la solidité des fruits, augmente leur teneur en anthocyanines et prévient les infections fongiques. De même, l'éthéphon (ETP) inhibe l'action de l'éthylène, empêchant ainsi le ramollissement et la maturation des fruits (Hajam et al., 2018).

Les effets des RCPs dépendent de plusieurs facteurs, notamment du type de régulateur utilisé, de la dose, du stade de maturation de la plante et du type de plante concernée. Par exemple, l'acide naphthalène-acétique (NAA), une auxine artificielle, retarde la floraison chez les pommes, les poires et les pêches, tout en favorisant une floraison précoce et une nouaison accélérée chez l'ananas (Hajam et al., 2018). Un autre exemple notable est le 1-méthylcyclopropène (1-MCP), qui bloque l'effet de l'éthylène, retardant ainsi le ramollissement et la maturation des pommes (Paul et Pandey, 2017). L'éthéphon, quant à lui, imite l'effet de l'éthylène en augmentant la concentration en anthocyanes et en réduisant celle de la chlorophylle, ce qui est particulièrement bénéfique pour la coloration des fruits (Whale et al., 2008). Ces interventions permettent de mieux contrôler la maturation et la qualité des fruits, ayant des implications importantes pour l'agriculture et la gestion post-récolte.

2.2. Cause de l'Emergence des RCPs : les Pertes Post Récoltes

La nature périssable des fruits et légumes est intrinsèquement liée à leur composition biologique et à leur sensibilité aux facteurs environnementaux. Dès leur récolte, les fruits et légumes entament un processus de maturation et de sénescence naturel. Ce processus est régulé par des hormones végétales tel que l'éthylène. Par exemple, les fruits peuvent devenir trop mûrs, présenter des taches ou des pourritures, tandis que les légumes peuvent se flétrir, perdre leur croquant et développer des moisissures (Paul et Pandey, 2017). Ces altérations réduisent non seulement la valeur commerciale des produits, mais également leur attrait visuel, leur

saveur et leur valeur nutritive, affectant ainsi leur acceptation par les consommateurs. Parallèlement aux pertes qualitatives, les fruits et légumes subissent également des pertes quantitatives post-récolte. Ces pertes peuvent être causées par des facteurs physiologiques tels que la transpiration, la respiration et la décomposition des tissus, elle-même sollicitée par l'éthylène (Paul et Pandey, 2017). Ainsi que par des facteurs biotiques tels que les maladies, les ravageurs et les dommages mécaniques. Les conditions de stockage inappropriées, telles que des températures élevées, une humidité excessive ou insuffisante, ainsi qu'une mauvaise manipulation et un transport inadéquat, peuvent également contribuer aux pertes quantitatives. (Tepe et al., 2022).

L'augmentation intensive de l'utilisation des RCPs est largement attribuable à la nature périssable des fruits et légumes, ainsi qu'à la nécessité de lutter contre les pertes post-récolte afin de répondre à la demande croissante du marché international pour des produits frais et hors saison (Donkor, 2016). La nature périssable des fruits et légumes entraîne des pertes importantes tout au long de la chaîne d'approvisionnement, de la récolte à la distribution, en raison de facteurs tels que la maturation accélérée, la dégradation des tissus et les altérations physiologiques, qui sont plus accentuées dues aux techniques de gestion inappropriées et aux conditions climatiques perturbées (Esparza et al., 2020 ; Tepe et al., 2022). En effet, dans la majorité des pays ; les fruits et les légumes représentent le pourcentage de denrée alimentaire le plus perdu parmi tous les aliments, allant de 30 % jusqu'à 70 % de pertes globale (Esparza et al., 2020). Pour contrer ces pertes et prolonger la durée de conservation des produits frais, les producteurs et les distributeurs ont recours à l'utilisation de technologies pour minimiser les pertes post récoltes dans le but de produire des fruits et légumes qui répondent aux normes de qualité et de fraîcheur tout au long de l'année, indépendamment des saisons de récolte (Kuchler et Arnade, 2016). Et maintenir ainsi la qualité et la durée de conservation des produits frais jusqu'à leur distribution et leur consommation finales.

2.3. L'éthylène : Implications et Méthodes de Gestion

L'éthylène est un régulateur de croissance des plantes qui joue un rôle crucial dans divers processus de croissance et de développement, notamment le mûrissement des fruits, la sénescence des feuilles et des fleurs, ainsi que la réponse au stress (Sisler et Blankenship, 1996 ; Khan, 2006). Cette phytohormone gazeuse est essentielle pour la synchronisation du développement des plantes, facilitant des transitions critiques telles que le passage de la croissance végétative à la croissance reproductive et la maturation des organes de la plante.

En plus de ces fonctions, l'éthylène est également impliqué dans l'abscission des feuilles et des fruits, la réponse aux infections pathogènes et la modulation de la croissance des racines et des tiges en réaction à des conditions environnementales adverses. Par exemple, lors d'un stress hydrique ou d'une attaque pathogène, l'éthylène peut activer des mécanismes de défense qui aident la plante à survivre (Khan, 2006).

Les applications agricoles de la régulation de l'éthylène sont nombreuses. En inhibant ou en modifiant son action, il est possible de prolonger la durée de conservation des fruits et légumes, de synchroniser la floraison et la maturation des cultures, et de réduire les pertes post-récolte. (Paul et Pandey, 2017). Ainsi, l'éthylène, bien qu'étant un simple composé gazeux, possède une influence complexe et multifonctionnelle sur la physiologie des plantes, et sa gestion précise peut considérablement améliorer les pratiques agricoles et horticoles.

La maturation des plantes est influencée par des réponses médiées par l'éthylène comprenant l'accroissement de la synthèse d'éthylène et des taux de respiration, modifications de la pigmentation causées par l'accumulation de caroténoïdes, dégradation de la paroi pectocellulosique, perte de chlorophylle, production de composés volatils de saveurs et d'arômes, accroissement des sucres et des acides (Paul et Pandey, 2017), responsables d'une altération de la couleur, de l'apparence générale, de la fraîcheur, de la qualité nutritionnelle, du goût, de l'arôme et de la texture des produits d'où les pertes quantitatives et qualitatives des fruits

et légumes (Khan, 2006). Cependant, son effet final dépend de plusieurs facteurs, notamment le type de produit, les variétés, le degré de maturité à la récolte, la température et l'activité d'autres hormones. Par exemple, il permet de colorer les poires, de déverrouiller les agrumes tels que les oranges, de déhiser les noix et de maturer les pommes, ainsi que de fleurir les l'ananas. (Saltveit, 1999 ; Fan, 1999).

Les taux de production d'éthylène par les produits fraîchement récoltés, ainsi que leur vitesse de maturation ou de sénescence, peuvent réguler par deux principales stratégies : soit en contrôlant l'exposition à l'éthylène, limitant ainsi son action soit en réduisant sa biosynthèse (Khan, 2006).

- L'exposition des tissus à l'éthylène peut être réduite par modification d'atmosphère et les conditions de stockage. Par exemple par ventilation adéquate et utilisation de filtres à charbon actif bromé, de permanganate de potassium (KMnO₄) ou de purification par lumière ultra-violet (UV) ce qui permet l'élimination de l'éthylène dans l'environnement, pendant le stockage et le transport des fruits frais. Ou bien, en retirant les fruits endommagés ou malades, qui produisent d'avantage l'éthylène et accélère ainsi la détérioration des fruits et légumes (Paul et Pandey, 2017).
- La biosynthèse de l'éthylène peut être supprimé en appliquant le dioxyde de carbone (CO₂) a haute concentration. Dans le stockage en atmosphère contrôlée des fruits et légumes (John, 1997). Ou bien par l'application de certains produits chimiques comme l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) sur les tissus végétaux qui retarde certains processus induits par l'éthylène, cependant, ces derniers ne se lie pas aux récepteurs d'éthylène, et leur action est indirecte (Sisler et al., 1985). La biosynthèse de l'éthylène dans les plantes peut également être minimisée par modification génétique de l'expression ou de la suppression de certains gènes des enzymes responsables de la biosynthèse de l'éthylène. Les inconvénients dans cette approche résident dans la

nécessité de développer des lignées transgéniques pour chaque espèce, ce qui est presque impossible, et les préoccupations publiques y sont élevées (Khan, 2006).

Comme ces approches affectent la biosynthèse de l'éthylène et ne protègent pas les plantes de l'éthylène exogène, De nombreux efforts ont été concentrés sur le contrôle de l'action de l'éthylène qui commence par la liaison de l'éthylène au récepteur. Pour ce but, le thiosulfate d'argent ou l'ion Ag(I), est un inhibiteur très efficace de l'action de l'éthylène en se liant à son récepteur. L'argent, étant un métal lourd, a été interdit dans certains pays pour contrer l'éthylène, ce qui a limité son utilisation (Khan, 2006). Par la suite il y'a eu la découverte que certains alcènes inhibaient les réponses à l'éthylène tel que le 2,5-norbornadiène (2,5-NBD), bien qu'il nécessite une exposition continue et ait une odeur désagréable. Malgré ces limites, Le 2,5-NBD est resté le meilleur antagoniste jusqu'à la découverte du trans-cyclooctène (TCO), presque 100 fois plus efficace en termes de concentration. Cependant, le TCO a aussi une odeur très désagréable et doit être synthétisé, limitant ainsi son utilisation. De plus, Ces composés restent liés plus longtemps que l'éthylène, avec une demi-vie de 3 à 6 heures. De nombreuses réponses à l'éthylène nécessitent plus de 6 heures d'exposition pour induire une réponse observable, expliquant pourquoi une exposition continue est nécessaire (Khan, 2006 ; Paul et Pandey, 2017). Toutes les méthodes décrites précédemment ont été abandonnées car ils nécessitent une exposition continue.

3. 1-méthylcyclopropène : la Technologie la Plus Prometteuse

3.1. 1-MCP : Historique, Propriétés, et Commercialisation

Dans les années 1990, le professeur E.C. Sisler de l'Université d'État de Caroline du Nord a découvert que certains cyclopropènes, notamment le 1-MCP, peuvent neutraliser les effets de l'éthylène en se liant aux récepteurs spécifiques de l'éthylène et inhibant ainsi son activité (Sisler et Blankenship, 1996). Ce dernier est plus stable que les cyclopropènes (CP) et ne

nécessite pas une exposition à long terme, en effet une exposition unique est suffisante pour contrer les effets de l'éthylène. A titre d'exemples ; le traitement avec le 1-MCP permet de protéger les bananes contre l'éthylène pendant environ 12 jours à 23 °C (Khan, 2006).

Le 1-MCP a une masse moléculaire de 54,09 daltons et est volatile à température et pression standard. Une avancée majeure dans l'application du 1-MCP a été réalisée avec le développement d'une formulation en poudre stable, complexée avec de la γ -cyclodextrine, qui permet sa libération sous forme de gaz lorsqu'elle est dissoute dans l'eau (Watkins, 2006). Cela a conduit à la commercialisation de produits contenant du 1-MCP, tels que EthylBloc® pour les cultures ornementales et SmartFresh™ pour les produits alimentaires. SmartFresh™ est formulé avec 3,3 % de 1-MCP, libéré lors de son mélange avec de l'eau. Une variante de SmartFresh™ contient seulement 0,14 % de 1-MCP, préférée pour les essais de recherche à petite échelle en raison de sa facilité de manipulation (Paul et Pandey, 2017). Le 1-MCP a été enregistré pour un usage commercial dans de nombreux pays, y compris dans l'Union européenne, en Amérique, en Afrique et en Asie (Paul et Pandey, 2013). On l'utilise après la récolte sur les fruits et légumes climactériques, où il entrave la perception et la production d'éthylène, ce qui inhibe les réponses médiées par cette hormone, notamment les processus de maturation des fruits et de sénescence des fleurs, des feuilles et de la plante (Fan, 1999 ; Paul et Pandey, 2013 ; Paul et Pandey, 2017). Par conséquent, il préserve la qualité des aliments traités, prolonge leur durée de conservation et réduit considérablement les pertes quantitatives et qualitatives après récolte pour de nombreux fruits, légumes, fleurs et plantes (Watkins, 2006). Cela met en évidence l'importance économique majeure des utilisations du 1-MCP dans la gestion après la récolte des produits périssables.

3.2. Mode d'Action et Effet au Niveau Végétale

Les effets du 1-MCP sur la physiologie des produits agricoles dépendent de plusieurs facteurs tels que le type de plante traitée, de son stade de maturation, de la durée du traitement, de la dose du 1-MCP, ainsi que des conditions de stockage et de transport ultérieures comme le taux d'humidité et la température (Paul et Pandey, 2017 ; Zhang et al., 2020). En tant qu'antagoniste aux récepteurs de l'éthylène, le 1-MCP bloque la perception de l'éthylène de source exogène, mais aussi la production auto-induite d'éthylène. La production auto-induite d'éthylène est une réponse de l'éthylène lui-même qui entraîne sa propre production en stimulant les enzymes clés de la biosynthèse de l'éthylène (Paul et Pandey, 2017). En présence du 1-MCP, les réponses médiées par l'éthylène, telles que le mûrissement des fruits et la sénescence des fleurs, des feuilles et de la plante dans son ensemble, sont retardées. Ce qui permet l'amélioration de la durée de conservation après la récolte des produits périssables dont les fruits, légumes, fleurs, plantes et bulbes, c'est ainsi que le 1-MCP offre l'approche la plus efficace et pratique pour gérer les réponses à l'éthylène dans les fruits, les légumes climactériques. Un autre avantage de l'utilisation du 1-MCP c'est qu'il peut être lentement désorbé pendant le stockage et pourrait devenir disponible pour les sites d'éthylène nouvellement synthétisés ou régénérés (Paul et Pandey, 2017).

3.3. 1-MCP : Potentiel Toxique

Malgré son importance économique dans l'agriculture, plusieurs facteurs remettent en question la sécurité du 1-MCP. Tout d'abord, c'est vrai que le 1-MCP est plus stable que les cyclopropènes, néanmoins, il reste toujours instable à l'état liquide, et à haute température et stable à l'état gazeux pendant des mois, uniquement à température ambiante et à faible concentration et sous une atmosphère inerte (Sisler et Blankenship, 1996 ; Khan, 2006).

Par ailleurs, le statut cancérigène du 1-MCP n'est pas clairement établi dans la littérature. En effet, il a été rapporté que certains cyclopropènes biologiquement actifs, ont la capacité

d'interagir avec les tissus des organismes vivants. Une étude a montré que les cyclopropènes entraînent des dommages inhabituels dans les foies des truites arc-en-ciel et augmentent le risque de carcinomes hépatocellulaires. Ils ont la capacité de s'introduire dans les membranes phospholipidiques et cause la désaturation des acides gras et perturbe la gluconéogenèse (Pawlowski et al., 1985). De plus, le 1-méthylcyclopropène se transforme en deux sous-produits, le 1-chloro-2-méthylpropène (1-CMP) et le 3-chloro-2-méthylpropène (3-CMP), tous deux considérés comme génotoxiques et cancérigènes par le Comité sur la Cancérogénicité des Produits Chimiques dans les Aliments, les Produits de Consommation et l'Environnement (COC) (COC, 2003). En réalité, ces deux composés ont été scrutés par le Programme National de Toxicologie (NTP). Une étude de deux ans sur l'ingestion prolongée de 1-CMP chez les rongeurs a révélé des résultats préoccupants : des tumeurs se sont formées dans la cavité nasale, l'œsophage et l'estomac, et une nécrose hépatique a été observée. De plus, le 1-CMP a été identifié comme immunosuppresseur, augmentant la vulnérabilité aux infections bactériennes et diminuant l'activité des macrophages, en plus de ses propriétés mutagènes (NTP, 1986a). Des recherches supplémentaires ont confirmé que le 1-CMP peut induire des tumeurs gastriques indépendamment de la voie d'exposition (Cannon et al., 2000; Katigri et al., 2000).

De manière similaire, le 3-CMP a été reconnu mutagène et cancérigène, provoquant des tumeurs au niveau du tractus gastro-intestinale et des reins ainsi que des métastases chez les rongeurs sur une période de deux ans. Des inflammations des structures hépatiques et rénales ont également été constatées (NTP, 1986b). Malgré ces résultats alarmants, l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) a classé le 1-méthylcyclopropène comme étant faiblement toxique (EFSA, 2018). Toutefois, il est essentiel de noter que les métabolites de ce composé peuvent persister dans les aliments à des niveaux non maîtrisés, soulevant des questions concernant leur sécurité à long terme (Renwick et al., 2010).

Par ailleurs, La littérature récente sur divers produits agrochimiques, y compris les régulateurs de croissance des plantes (RCPs), indique que ces composés et leurs métabolites peuvent être toxiques pour les humains, les animaux et l'environnement (Paul et Pandey, 2017). Les produits de leur métabolisme peuvent être plus toxique que les composés originaux. D'ailleurs, le chlorprophame, un herbicide similaire au 1-MCP, produit des métabolites toxiques comme la 3-chloroaniline (3-CA), qui partagent des caractéristiques avec les métabolites du 1-MCP, le 1-chloro-2-méthylpropène (1-CMP) et le 3-chloro-2-méthylpropène (3-CMP). Le 1-MCP se lie aux récepteurs de l'éthylène des plantes de manière similaire au 3-CA, rendant difficile l'évaluation de la toxicité alimentaire (Paul et Pandey, 2017). De plus, La faible dose journalière admissible pour le 1-MCP, limitée à 0,02 mg/kg de poids corporel par jour (EFSA, 2018), comparée à celle du glyphosate et du CIPC, deux des pesticides les plus utilisés au monde et les plus toxiques, indique une toxicité du 1-MCP relativement élevée et soulève des préoccupations quant utilisation (Paul et Pandey, 2017).

D'autres part ; Des études ont démontré les effets toxiques des RCPs agissant de manière similaire au 1-MCP sur divers systèmes biologiques, induisant des dommages immunitaires, génétiques, tératogènes et neurotoxiques (Paul et Pandey, 2017). Par exemple, l'acide indole-3-acétique (IAA) augmente les activités antioxydante dans les leucocytes (de Melo et al., 2004). L'éthéphon peut causer du stress oxydatif et des dommages aux tissus rénaux et hépatiques (Mokhtari et al., 2020 ; Abou-Zeid et al., 2018). Les expositions combinées aux RCPs peuvent avoir des effets pro-oxydants et inflammatoires sur le foie (Abdel-Rahman et al., 2023). En résumé, les RCPs peuvent déclencher une cytotoxicité et des dommages tissulaires en déclenchant un stress oxydatif, un mécanisme clé dans l'étude des effets toxiques associés à l'exposition à ces composés (Celik et al., 2006; Celik et Tuluçe, 2007).

4. Problématique et Objectifs

Les résultats mentionnés précédemment ont suscité de vives préoccupations quant au risque toxique potentiel lié à l'exposition au 1-méthylcyclopropène (1-MCP), tant par contact professionnel que par ingestion de produits contaminés. À ce jour, aucune recherche approfondie n'a été menée pour évaluer l'impact de la contamination par le 1-MCP sur le fonctionnement des tissus mammifères et la santé humaine. Les données toxicologiques disponibles proviennent uniquement des processus d'autorisation de mise sur le marché. De plus, il existe un manque de connaissances sur les effets de l'exposition alimentaire aux résidus de 1-MCP, sur ses mécanismes de toxicité et sur ses interactions avec les molécules biologiques. L'utilisation croissante du 1-MCP sur une variété de cultures et la consommation quotidienne répétée de fruits et légumes traités avec ce régulateur de croissance suscitent un intérêt particulier pour son impact potentiel. Le 1-MCP agit de manière similaire à d'autres régulateurs de croissance des plantes, ce qui soulève des questions sur ses effets à long terme sur la santé publique. De plus, les résidus de 1-MCP pourraient s'accumuler dans les tissus humains, provoquant des effets inconnus et potentiellement nocifs. Compte tenu de ces préoccupations, nous avons entrepris cette étude pour analyser les conséquences de l'ingestion répétée de faibles doses de 1-MCP sur la santé publique. Cette recherche vise à combler les lacunes actuelles en matière de connaissances, en évaluant non seulement les effets toxiques à court terme, mais aussi les impacts potentiels à long terme sur divers systèmes biologiques. En outre, nous cherchons à déterminer les seuils de sécurité pour l'exposition alimentaire au 1-MCP, afin de guider les réglementations futures et de protéger la santé des consommateurs.

Notre étude a été scinder en deux parties, Une étude in vivo qui visait à évaluer le fonctionnement du foie et du cerveau suite à l'exposition au 1-MCP ainsi qu'à leur réponse face au potentiel stress oxydant déclenché par le traitement. La deuxième partie consistée a une étude in silico dans une approche complémentaire. Ce qui nous a permis de modéliser et de prédire les interactions et les effets toxiques à un niveau moléculaire, enrichissant ainsi les données obtenues expérimentalement, valider et vérifier les observations in vivo et aider à comprendre le mécanisme sous-jacent de sa toxicité. Ce qui nous a permis d'explorer un large éventail de scénarios, doses, et conditions expérimentales, qui seraient coûteux et longs à tester uniquement in vivo comme le test de cancérogénicité. Lors de l'étude in vivo, On a évaluer l'effet de l'ingestion direct et subaigüe du 1-MCP chez les rats Wistar albinos en mesurant les paramètres hématologiques, en évaluant la fonction hépatique par la mesure les paramètres biochimiques à savoir la mesure de l'Aspartate Amino Transférase (ASAT), l'Alate Amino Transférase (ALAT), bilirubine, ainsi que métaboliques à savoir la mesure du glucose, cholestérol, et triglycérides. On a également évalué le fonctionnement physiologique du foie en mesurant les paramètres du stress oxydant (concentration de la glutathion réduit 'GSH'; l'activité enzymatique de la glutathion-s-transférase 'GST', la glutathion peroxydase 'GPx', la catalase 'CAT', et le sueroxyde dismutase 'SOD'), et la concentration du produit final de la peroxydation lipidique (malon-dialdéhyde 'MDA') et en réalisant une étude histologique des coupes colorées à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E). D'autre part, on a évalué l'effet sur le cerveau en mesurant les biomarqueurs du stress oxydant (GSH, GST, GPx, CAT, SOD, MDA) ainsi que la mesure de l'acétylcholinestérase cérébrale (AChE).

Nous avons choisi de nous concentrer sur le foie et le cerveau dans notre étude en raison de leurs rôles cruciaux et leurs sensibilités aux dommages oxydatifs respectivement. Le foie, en tant que principal organe de détoxification et du métabolisme, il est l'un des premiers organes à entrer en contact avec les xénobiotiques. Les lésions hépatiques causées par

l'intoxication aux produits chimiques, tels que les pesticides, peuvent être mortels et déclencher des maladies chroniques et dangereuses tel que les cancers (Ahmed et al., 2023). De nombreuses études ont montré que les régulateurs de croissance des plantes (RCPs) peuvent provoquer des modifications morphologiques et des dysfonctionnements hépatiques (Celik et Tuluca, 2007; Ozok et Celik, 2012; Bhadoria et al., 2018). Les cyclopropènes, en particulier, peuvent interagir avec les membranes microsomales, altérer le métabolisme des acides gras et des sucres, et sont impliqués dans certains cancers hépatiques (Pawloski, 1985). En ce qui concerne le cerveau, sa haute sensibilité aux dommages oxydatifs est due à sa forte demande en oxygène et à l'abondance de substrats oxydables tels que les acides gras polyinsaturés et les catécholamines (Troudi et al., 2012). Plusieurs études ont révélé que les RCPs peuvent induire un stress oxydatif, générant des radicaux libres et provoquant la peroxydation des lipides au niveau cérébral (Celik et Tuluca, 2006; Tuluca et Celik, 2006; Troudi et al., 2012). En outre, certains RCPs, comme l'acide indole-3-acétique (IAA), peuvent induire l'apoptose neuronale (Furukawa et al., 2004). De même, l'acide gibberellique (GA₃) peut réduire le taux d'acétylcholinestérase dans différentes parties du cerveau lorsqu'il est consommé dans l'eau potable (Troudi et al., 2012; Isik et Celik, 2015).

En somme, l'accent mis sur le foie et le cerveau dans cette étude est justifié par leur vulnérabilité aux effets toxiques des régulateurs de croissance des plantes, justifiant ainsi une investigation approfondie de l'impact de l'ingestion de faibles doses de 1-MCP sur ces organes clés.



Chapitre – II –
Matériels et Méthodes

Chapitre -II- Matériels et méthodes

1. Matériels utilisés dans l'expérimentation

1.1. Modèle animal

On a réalisé cette étude sur des rats wistar mâles adultes de 3 mois, issus de l'Institut Pasteur d'Alger (IPA). Après avoir été placés au laboratoire, les rats ont été répartis en cages en plexiglas et placés dans une enceinte autonome Techni-Plast (Figure 1), où la température a été maintenue à 22°C (\pm 3°C), le taux d'humidité a été compris entre 55 % et 65 %, et un cycle de lumière/obscurité de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Les rats étaient en libre accès à l'eau potable et à une alimentation normale tout au long de l'étude.



Figure 1. Conditions d'élevage des rats au laboratoire de Biosurveillance Environnementale (LBSE).

1.2. Produit chimique

La poudre du 1- méthylcyclopropène utilisé dans cette étude a été procuré par un fabricant international de produits phytosanitaires ; Chesen Biochem Co.,Ltd (Chine). Le 1-MCP utilisé été commercialisé sous le nom de PlantFresh™ .

Tableau 1. Propriétés physicochimiques du 1-méthylcyclopropène utilisé pendant l'expérimentation.

| Propriété | |
|-------------------|-------------------------------|
| Nom | 1-Méthylcyclopropène |
| Poids moléculaire | 54,090 g/mol |
| Ingrédient actif | 3,3 i.a. |
| Numéro CAS | 3100-04-7 |
| Formule chimique | C ₄ H ₆ |
| Rôle | Régulateur d'éthylène |
| Etat | Poudre |

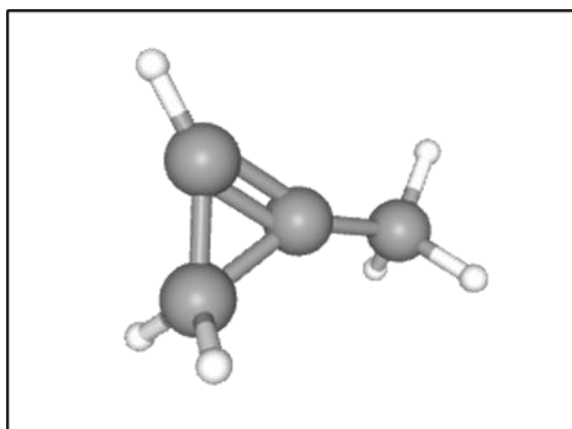


Figure 2. Structure chimique en 3D du 1-MCP.

1.3. Choix des doses

Dans notre recherche, nous avons décidé d'examiner deux doses déjà établies, à savoir la dose mortelle à 50 % par voie orale divisée par 1000 (DL50/1000) qui équivaut à 5 mg/kg de poids corporel par jour (EPA, 2008). La dose suivante est la dose sans effets indésirables

systémiques observés, également connue sous le nom de NOAEL, qui correspond à 6,5 mg/kg de poids corporel et par jour (EFSA, 2018).

2. Méthodes expérimentales

2.1. Protocole expérimental

Les rats ont été distribués en 3 lots de 6 rats, avec un poids moyen de 260 g \pm 20 g au début de l'expérimentation et recevais chaque jours 1 ml du traitement :

- Lot T : lot témoin ; recevais uniquement 1 ml l'huile de tournesol
- Lot D1 : lot traiter ; recevais 1 ml de la première dose du 1-MCP à savoir la DL 50 / 1000 dilué dans l'huile de tournesol.
- Lot D2 : lot traiter ; recevais 1 ml de la deuxième dose du 1-MCP à savoir la NOAEL dilué dans l'huile de tournesol.

Tableau 1. Constitution des lots de rats pendant l'expérimentation.

| Lot | Traitement | Dose |
|------------|-------------------|-------------|
| T | Témoin | / |
| D1 | DL50/1000 | 5 mg/kg |
| D2 | NOAEL | 6,5 mg/kg |

Le protocole expérimental consisté a traité les rats avec du 1-MCP oralement. La poudre du 1-MCP a été dilué dans l'huile de tournesol pour permettre d'avoir les deux doses. Chacun des lots a été gavé avec 1 ml des doses respectives du 1-MCP par voie orale à l'aide d'une sonde gastrique spécialisé une fois par jour pendant une période de 8 semaines consécutive.

Chaque semaine, les rats ont été pesés et surveillés attentivement pour détecter tout signe possible d'intoxication ou de maladie. Les rats ont été décapités à la fin de l'expérience et leur sang a été prélevé dans des tubes à EDTA et des tubes secs pour des analyses biochimiques,

métaboliques, hématologiques et hormonales. On a prélevé les organes, les a nettoyés avec une solution physiologique à 0,9 % et les a pesés. Les paramètres liés au stress oxydatif ont été analysés à froid pour une partie des échantillons, tandis qu'une autre partie a été fixée dans du formol à 10 % pour la réalisation de l'étude histologique.

2.2. Techniques de dosage

2.2.1. Analyse des paramètres hématologiques

Nous avons réalisé une formule de numérotation sanguine (FNS) au niveau du laboratoire Al-Moussa, situé à Annaba, Algérie.

2.2.2. Analyse des paramètres biochimiques et métaboliques.

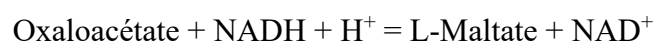
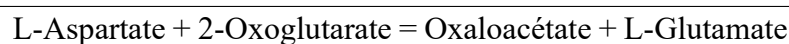
La mesure des paramètres biochimiques a été effectuées au niveau du laboratoire LAABED, situé à Annaba, en Algérie à l'aide d'un analyseur clinique de chimie multifonctionnel.

2.2.2.1. Paramètres biochimiques de la fonction hépatique.

La détermination de l'activité enzymatiques de l'Aspartate Amino-Transfèrease (ASAT) et l'Alanine Amino-Transfèrease (ALAT), a été effectuée conformément aux normes de BIOLABO, tandis que la mesure des taux de la bilirubine a été effectuée conformément aux normes de BioSystems.

➤ Activité enzymatique ASAT :

Principe : la mesure de l'activité ASAT a été réalisé selon la méthode de [Henry et al., 1960](#) et respecte les directives de l'IFCC. Le principe est illustré par la réaction suivante:



Méthode :

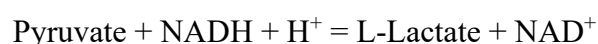
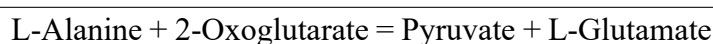
Dans un tube à essai, nous avons placé 1000 µL du mélange réactif, suivi de 100 µL de solution standard ou d'échantillon. Après une minute, à une longueur d'onde de 340 nm, nous avons mesuré l'absorbance initiale, puis répéter cette opération toutes les 3 minutes pendant une durée totale de 3 minutes. Enfin, la variation moyenne de l'absorbance a été évaluée par minute pour obtenir une indication précise de l'évolution de la réaction.

Calcul :

$$\text{Activité ASAT}_{\text{Echantillon}} \text{ (U/L)} = ((\Delta \text{ Abs/min})_{\text{Echantillon}} / (\Delta \text{ Abs/min})_{\text{Calibrant}}) \times \text{Activité}_{\text{Calibrant}}$$

➤ **Activité enzymatique ALAT :**

Principe : la mesure de l'activité ASAT a été réalisée selon la méthode de [Henry et al., 1960](#) et respecte les directives de l'IFCC. Le principe est illustré par la réaction suivante:



Calcul :

$$\text{Activité ALAT}_{\text{Echantillon}} \text{ (UI/L)} = ((\Delta \text{ Abs/min})_{\text{Echantillon}} / (\Delta \text{ Abs/min})_{\text{Calibrant}}) \times C_{\text{calibrant}}$$

➤ **Bilirubine :**

Principe : En utilisant la bilirubine présente dans l'échantillon, le composé acide sulfonique diazoïque forme un complexe coloré, qui peut ensuite être mesuré à l'aide de la spectrophotométrie

Méthode :

- Pipter dans des tubes à essais les solutions suivantes :

| | Blanc réactif | Blanc échantillon | Echantillon | Etalon |
|-------------------|---------------|-------------------|-------------|--------|
| Eau distillé (µL) | 100 | - | - | - |
| Echantillon (µL) | - | 100 | 100 | - |

| | | | | |
|--------------------------------|---|---|---|-----|
| Etalon (µL) | - | - | - | 100 |
| Réactif (ml) | - | 1 | - | - |
| Réactif de travail (ml) | 1 | - | 1 | 1 |

- Effectuer une bonne agitation et laisser les tubes reposer. L'absorbance (A) de l'échantillon blanc est mesurée à 540 nm par rapport à l'eau distillée.

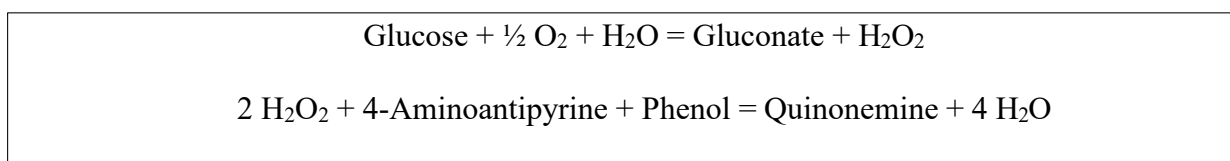
Calcule :

$$\text{Concentration Bilirubine Echantillon (mg/dL)} = (A_{\text{Echantillon}} - A_{\text{blanc Echantillon}} / A_{\text{Etalon}}) \times C_{\text{Etalon}}$$

2.2.2.2. Paramètre du métabolisme glucidique.

Les normes de BioSystems ont été utilisées pour évaluer le taux de glucose dans le sang.

Principe : Le glucose de l'échantillon génère, en suivant les réactions décrites ci-dessous, un complexe coloré qui peut être quantifié par spectrophotométrie.



Méthode :

- Placer les réactifs à température ambiante
- Pipeter dans des tubes à essais les solutions suivantes :

| | Blanc | Etalon | Echantillon |
|---------------------------|--------------|---------------|--------------------|
| Etalon glucose (S) | - | 10 µL | - |
| Echantillon | - | - | 10 µL |
| Réactif (A) | 1 mL | 1 mL | 1 Ml |

- Agiter soigneusement et mettre les tubes en incubation pendant 10 minutes à température ambiante. La lecture de l'absorbance (A) de l'étalon et de l'échantillon à 500 nm.

Calcule :

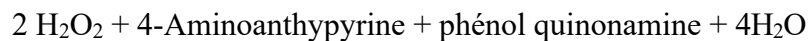
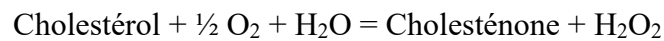
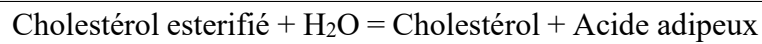
$$C_{\text{Echantillon}} (\text{g/L}) = (A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Etalon}}) \times C_{\text{Etalon}}$$

2.2.2.3. Paramètres du métabolisme lipidique.

La mesure de la concentration du cholestérol et des triglycérides a été effectués en suivant les kites et les normes de BioSystems et de SPINREACT respectivement.

➤ **Concentration du cholestérol dans le sang**

Principe : Le cholestérol présent dans l'échantillon proviennent d'un complexe coloré qui est quantifié par spectrophotométrie.



Méthode :

- Pipeter dans des tubes à essai les solutions suivantes :

| | Blanc | Standard | Echantillon |
|--------------------------|-------|----------|-------------|
| Standard Cholestérol (S) | - | 10 µL | - |
| Echantillon | - | - | 10 µL |
| Réactif (A) | 1 mL | 1 mL | 1 mL |

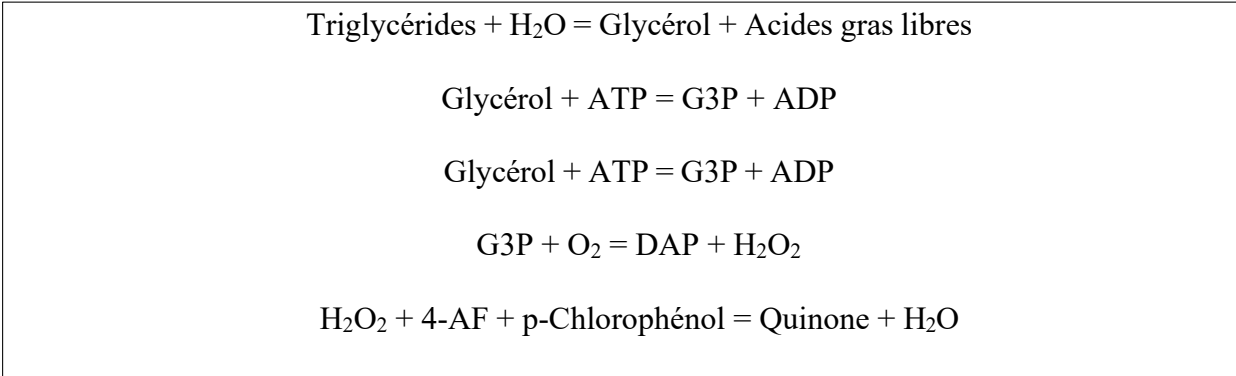
- Agiter et incuber à température ambiante. Les absorbances (A) du standard et de l'échantillon doivent être mesurées à l'aide d'un port au blanc à 500 nm

Calcule : $C_{\text{Cholestérol}} (\text{mg/dL}) = (A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{standard}}) \times \text{Concentration}_{\text{standard}}$

➤ **Concentration des triglycérides dans le sang :**

Principe: La lipo-protéine lipase (LPL) libère du glycérol et des acides gras libres lors de l'incubation des triglycérides. En présence de glycérol kinase (GK), le glycérol est

phosphorilasé par le glycérophosphate déshydrogénase (GPO) et l'ATP afin de générer du glycérol-3-phosphate (G3P) et de l'adénosine-5-di phosphate (ADP). En utilisant le GPO, le G3P est converti en dihydroxiacétone phosphate (DAP) et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Finalement, la peroxydase (POD) catalyse la réaction entre le H₂O₂ et le 4-aminophénazone (4- AF) et le p-chlorophénol, ce qui donne une teinte rouge. L'intensité de la teinte produite est liée à la quantité de triglycérides dans l'échantillon examiné.



Méthode :

- Pipetter dans une cuvette les solutions suivantes :

| | Blanc | Modèle | Echantillon |
|--------------------|-------|--------|-------------|
| RT | 1 mL | 1 mL | 1 mL |
| Modèle | - | 10µL | - |
| Echantillon | - | - | 10µL |

- Mélanger et laisser incuber pendant 10 minutes à température ambiante puis lecture de l'absorbation (A) de l'échantillon.

Calcule :

$$C_{\text{Triglycérides}} \text{ (mg/dL)} = A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Modèle}} \times 200 \text{ (concentration modèle)}$$

2.3. Dosage des biomarqueurs du stress oxydant

La mesure des biomarqueurs du stress oxydant a été réalisée au niveau du laboratoire LBSE à l'université Badji Mokhtar d'Annaba, Algérie.

2.3.1. Dosage des protéines.

Principe : D'après la méthode de Bradford, le bleu de coomassie est un colorant qui présente une teinte rougeâtre lorsqu'il est libre. En se fixant aux protéines du milieu, il se métamorphose en bleu, ce qui permet de détecter l'intensité de la couleur à une longueur d'onde de 595 nm (Bradford, 1976).

Solutions :

- **1 mg/ml solution mère de sérum albumine bovine (BSA) :** 1 mg de BSA mis en solution dans de l'eau distillée (entreposé à une température de -20 °C).

Le colorant Bleu de Coomassie : diluer 100 mg de Bleu de Coomassie dans 50 ml d'éthanol à 96 % et 100 ml d'acide orthophosphorique à 85 % (w/v).

- Ensuite, il faut compléter 1 L avec de l'eau distillée.
- La filtration se fait à l'aide du papier Whatman No. 1
- le stockage se fait à température ambiante dans une bouteille ambrée.

Gamme d'étalonnage :

- À partir de la solution mère de BSA à une concentration de 1 mg/ml, prélevez des volumes équivalents de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 et 100 µl, puis complétez-les avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre 100 µl pour obtenir des solutions filles (étalons).
- Transférez 100 µl d'eau distillée dans un tube à essai vide pour servir de blanc.
- Ajoutez 5 ml du réactif Bleu de Coomassie dans chaque tube d'échantillon.
- Mélangez soigneusement en effectuant des inversions douces ou en utilisant un vortex à faible vitesse pour éviter la formation de mousse.

- Évaluez la capacité d'absorption à 595 nm des protéines standards par rapport au blanc, entre 5 et 60 minutes après le mélange.
- Construisez la courbe d'étalonnage en fonction des mesures de la capacité d'absorption des protéines (exprimées en µg).

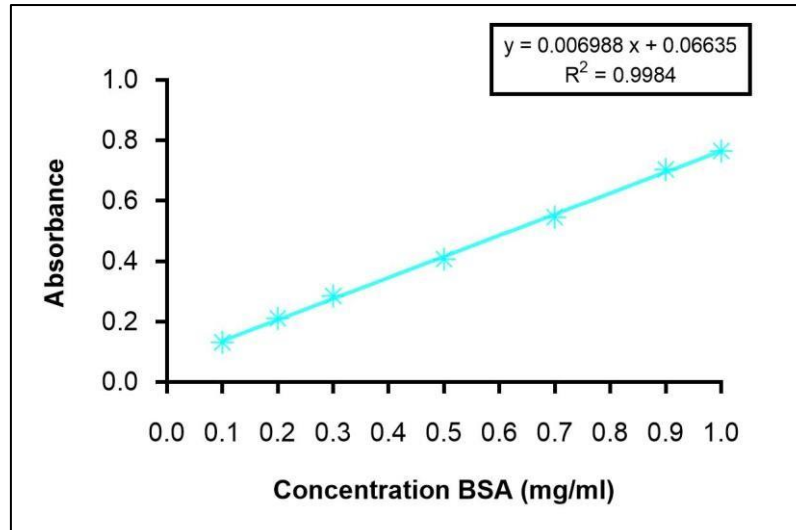


Figure 3. Courbe d'étalonnage du Sérum Bovine Albumine (BSA).

Dosage des protéines :

Pour commencer, On a homogénéisé le tissu à 10 % (poids/volume) avec un tampon de sodium phosphate (pH 7) en utilisant d'abord un broyage mécanique puis une homogénéisation ultrasonique. Ensuite, l'homogénat a été centrifugé à 9000 rpm pendant 15 minutes à une température de 4°C. Dans un tube à essai, On a rajouté soit 100 µL de liquide sous-jacent (échantillon) soit 100 µL d'eau distillée (blanc), et y incorporer 5 ml du réactif Bleu de Coomassie et mélanger délicatement par inversion ou en utilisant un vortex doux pour éviter la formation de mousse. La lecture de l'absorbance à 595 nm des échantillons par rapport au blanc a été effectuée après le mélange dans des cuves en plastique sur une période de 5 à 60 minutes. Enfin, calcule des concentrations de protéines dans les échantillons en utilisant la gamme d'étalonnage établie précédemment.

2.3.2. Mesure des taux de la glutathion réduit (GSH).

Principe : Selon la méthode d'ellman, les groupements sulfhydriles réduisent l'acide 5-dithiobis 2-nitrobenzoic (DTNB) afin de produire de l'acide 2-nitro 5-mercaptobenzoic (Figure

11). Ce dernier présente une couleur jaune intense perceptible à une longueur d'onde de 412 nm (Ellman, 1959).

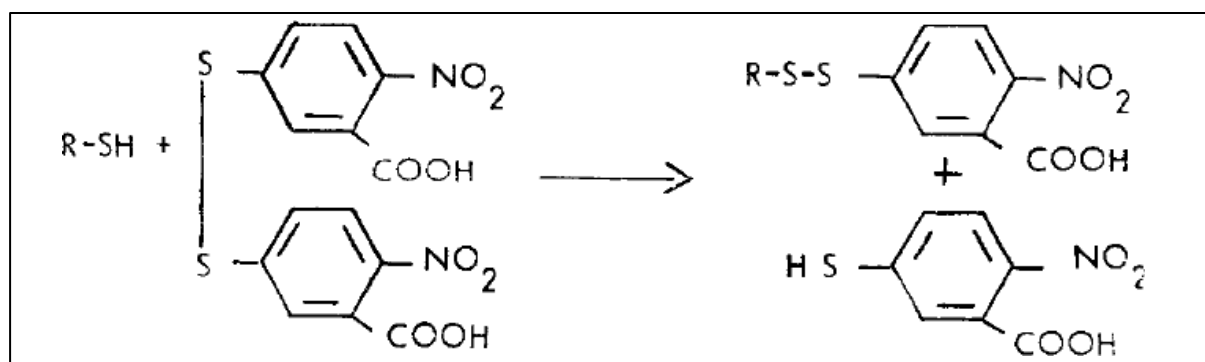


Figure 4. Réaction de mesure de la GSH (Sedlak & Lindsay, 1968).

Solutions : les réactifs et solutions utilisés lors de la méthode de mesure de la teneur cellulaire en GSH sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. Solutions utilisés dans la mesure de la GSH selon Ellman, 1959.

| Solution | Quantité de produit | Volume du solvant |
|---|---------------------|---|
| 0.01 M de DTNB (5-dithiobis 2-nitrobenzoic acid) | 99 mg DTNB | 25 mL Méthanol |
| 0.2 M EDTA | 11,68 g EDTA | 100 mL Eau distillé |
| 0.02 M EDTA | 58,44 mg EDTA | 10 mL eau distillé |
| 1M HCl | 3,64 g HCL | 100 mL eau distillé |
| 0.4 M de tampon Tris (pH 8.9) | 48,45 g Tris | 100 mL 0,2 M EDTA complété a 1 L d'eau distillé |
| 5 % TCA (TriChloroacetic Acid) | 5 g TCA | 100 mL eau distillé |

Méthode :

Un homogénéisateur rotatif est employé pour homogénéiser 200 mg de l'organe avec 8 mL de solution d'EDTA 0,02 M, suivi par l'utilisation d'un homogénéisateur ultrasonique dans un bain de glace. Après cela, l'homogénat a été centrifuger pendant 5 minutes à une vitesse de 3000 rpm (un volume de 5 mL de l'homogénat obtenu en utilisant 4 mL d'eau distillée et 1 mL de solution de TCA à 5 %). Ensuite, Dans un tube à essai on ajoute soit 2 mL d'échantillon de surnageant, soit 2 mL d'eau distillée ou de tampon (pour le blanc), suivi de l'addition de 4 mL de tampon Tris (pH 8,9). Une concentration de 0,1 mL de DTNB est

ensuite ajoutée et le mélange est agité pendant 15 minutes. La lecture de l'absorbance à 412 nm est réalisée pendant 5 minutes après l'ajout du DTNB dans une cuve en quartz de 1 cm.

Calcul : Concentration GSH (mmol/mg prot) = (Absorbance_{Echantillon}) x D / (ε x l x C)

D : Facteur de dilution

E : Facteur d'extinction molaire du DTNB (13600 M⁻¹/cm⁻¹).

l : Longueur de la cuve en cm (1 cm)

C : Quantité de protéines contenus dans l'échantillon en mg

2.3.3. Mesure de l'activité glutathion-s-transférase (GST).

Principe : Selon la méthode de Habig, l'enzyme GST entraîne une réaction de conjugaison du groupement sulfhydryle de la GSH avec le 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB). L'activité de la GST dans l'échantillon est liée à l'étendue de la conjugaison, ce qui entraîne une variation de l'absorbance à 340 nm (Habig et al., 1974).

Solutions : les solutions et réactifs utilisés dans la méthode de mesure de l'activité de la GST sont présentés au niveau du tableau 3.

Tableau 3. Solutions utilisées dans la mesure de l'activité GST selon Habig,1974.

| Solution | Quantité de produit | Volume du solvant |
|--|--|---------------------|
| 0.1 M Tampon sodium phosphate (pH 6,5) | 4,27 g Na ₂ HPO ₄ 8,38 g NaH ₂ PO ₄ | 1 L d'eau distillé |
| 1 Mm GSH (Glutathion réduit) | 15,36 mg GSH | 50 mL eau distillé |
| 1 Mm CDNB (1-chloro-2,4-dinitrobenzene) | 10,12 g CDNB | 5 mL Ethanol a 96 % |

Méthode :

Ona commencer par broyer mécaniquement 0,5 g de tissu dans un tampon de 5 mL. Ensuite, traiter le mélange obtenu avec un homogénéisateur ultrasonique. L'homogénat obtenu est ensuite centrifugé à 5000 rpm pendant 10 minutes. les échantillons été transférer dans des tubes à essai. Pour chaque tube, on ajoute 1,5 ml de tampon de phosphate de sodium, 0,2 ml de GSH, 0,02 ml de CDNB, et soit 0,1 ml de l'échantillon, soit 0,1 ml d'eau distillée pour le blanc. Enfin,

procéder à l'analyse de l'absorbance à 340 nm pendant 5 minutes, tout en maintenant la température à 25 °C.

Calcul :

$$\text{Activité GST } (\mu\text{mol/min/mg prot}) = \frac{((\Delta \text{ Absorbance}_{\text{Echantillon}} - \Delta \text{ Absorbance}_{\text{Blanc}}) \times D)}{(\epsilon \times l \times C)}$$

Δ Absorbance : moyenne des absorbances pendant 5 min.

D : Facteur de dilution

E : Facteur d'extinction molaire du CDNB ($9.6 \text{ M}^{-1}/\text{cm}^{-1}$).

l : Longueur de la cuve du spectrophotomètre (1 cm)

C : Quantité de protéines contenus dans l'échantillon en mg

2.3.4. Mesure de l'activité glutathion peroxydase (GPx).

Principe : En utilisant la GSH présente dans le milieu, l'enzyme GPx transforme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en 2 molécules d'eau, selon la méthode de Hafeman. La quantité de GSH restante dans le milieu est déterminée par la mesure de l'absorbance à 412 nm, qui est inversement liée à l'activité du GPx dans l'échantillon (Hafeman et al., 1974).

Solutions : les réactifs et solutions utilisés dans la méthode de mesure de la GPx sont présentés au niveau du tableau 4.

Tableau 4. Solutions utilisées dans la mesure de l'activité GPx selon Hafeman, 1974.

| Solution | Quantité de produit | Volume du solvant |
|--------------------------------------|--|-------------------------------|
| 0.4 M Tampon sodium phosphate (pH 7) | 32.76962 g Na_2HPO_4 20.29618 g NaH_2PO_4 | 1 L d'eau distillé |
| 0.15 M KCl | 1,11 KCl | 100 ml eau distillé |
| 0.01 M NaN_3 (sodium azide) | 6,50 mg NaN_3 | 10 ml eau distillé |
| 1.25 Mm H_2O_2 | 0.01 ml H_2O_2 A 30 % | 1 L d'eau distillé |
| 2 Mm GSH | 12.29 mg | 50 ml eau distillé |
| 0.01 M DTNB | 40 mg DTNB | 100 ml citrate tri-sodique 1% |
| Acide métaphosphorique | 30 g NaCl | 100 ml eau distillé |

0,2 g EDTA
1,67 g Acide métaphosphorique
glacial

Méthode :

On a homogénéiser une masse définie de l'organe avec 4 volumes équivalents de solution de KCl 0,15 M. Dans un tube à essai, on ajoute 1 ml de GSH 2 mM, 1 ml de tampon phosphate de sodium pH 7 0,4 M, 0,50 ml de NaN₃ 0,01 M et 0,03 ml d'homogénat. On complète avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre un volume total de 4 ml et on pré-incube dans un bain-marie à 37°C pendant 5 minutes. Par la suite, on rajoute 1 ml de H₂O₂ 1,25 mM (préchauffé à 37°C) et on incube pendant 3 minutes à 37°C. 1 ml du mélange d'incubation est ajouté à 4 ml d'une solution d'acide métaphosphorique puis centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. Mélanger 2 ml du surnageant (échantillon) avec 2 ml d'eau distillée (blanc), puis ajouter 2 ml de Na₂HPO₄ 0,4 M et 1 ml de DTNB. Enfin, on mesure l'absorbance à 412 nm après 2 minutes de l'ajout du DTNB.

Calcule :

$$\text{Activité GPx (mmol/mg prot)} = ((\text{Absorbance}_{\text{Blanc}} - \text{Absorbance}_{\text{Echantillon}}) \times D) / (\epsilon \times l \times C)$$

D : Facteur de dilution

E : Facteur d'extinction molaire du DTNB (13600 M⁻¹/cm⁻¹).

I : Longueur de la cuve de spectrophotomètre (1 cm)

C : Quantité de protéines contenus dans l'échantillon en mg

2.3.5. Mesure de l'activité catalase (CAT).

Principe : D'après l'approche de Cohen, 1970, ainsi que celle d'Abei, 1974. Les molécules de H₂O et d'O₂ sont décomposées par l'enzyme CAT, qui déclenche l'oxydation des donneurs d'hydrogène tels que l'éthanol. Grâce à la mesure d'absorbance à 240 nm, il est possible de mesurer la baisse de la quantité de H₂O₂ au fil du temps, ce qui indique l'activité de la catalase dans l'échantillon (Cohen et al., 1970 ; Abei, 1974).

Solutions : les réactifs et solutions nécessaires dans la méthode de mesure de l'activité de la catalase sont présentés au niveau du tableau 5.

Tableau 5. Solutions utilisées dans la mesure de l'activité CAT selon Cohen, 1970.

| Solution | Quantité de produit | Volume du solvant |
|---|---|----------------------------------|
| 1M Tampon phosphate PBS (pH 7,4) | 8 g NaCl 200 mg KCl 1,44 g Na ₂ HPO ₄ 240 mg KH ₂ PO ₄ | 1 L d'eau distillé |
| 30 Mm H₂O₂ | 0,34 ml de 30 % H ₂ O ₂ | Complété a 100 ml d'eau distillé |
| 10 % Triton | 10 ml titron pure | Complété a 100 ml d'eau distillé |
| 0.17 M Ethanol | 0,1 ml éthanol | 10 ml eau distillé |

Méthode :

On a homogénéisé 1 g de tissu avec 9 ml de tampon phosphate dans un bain de glace en utilisant d'abord un broyeur mécanique puis un homogénéisateur ultrasonique. L'homogénat a été ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. On ajoute par la suite 1/95 du volume d'homogénat d'éthanol et laissez reposer dans un bain de glace pendant 30 minutes. Ensuite, on rajoute 1/8,9 du volume d'homogénat du Triton X-100 à 10 %. L'homogénat original a été dilué dans la solution tampon selon un rapport de 1:100. Dans un tube à essai, on ajoute 2 ml du surnageant, puis 1 ml de H₂O₂ (pour l'échantillon) ou 1 ml de tampon (pour le blanc). On mélange et on place le mélange dans une cuve en quartz. Enfin, la diminution de l'absorbance est mesurée à 240 nm toutes les 10 secondes pendant 1 minute.

Calcule :

$$\text{Activité catalase } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = \frac{((\Delta \text{ Absorbance}_{\text{Echantillon}} - \Delta \text{ Absorbance}_{\text{Blanc}}) \times D)}{(\epsilon \times l \times C)}$$

Δ Absorbance : moyenne des absorbances pendant 1 min

D : Facteur de dilution

E : Facteur d'extinction molaire du H₂O₂ (43.6 M⁻¹/cm⁻¹).

I : Longueur de la cuve du spectrophotomètre (1 cm)

C : Quantité de protéines contenus dans l'échantillon en mg

2.3.6. Mesure du taux de mano-dialdéhyde (MDA).

Principe : D'après l'approche de Ohkawa, le mano-dialdéhyde (MDA) est un composé de la peroxydation lipidique qui se lie à l'acide thio-barbiturique (TBA) pour donner une teinte rouge dans l'environnement. La détection de cette dernière se fait à une longueur d'onde de 532 nm et est liée à la concentration de l'MDA dans l'échantillon (Ohkawa et al., 1979).

Solutions : les réactifs et solutions nécessaires pour la méthode de mesure de l'MDA sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6. Solutions utilisées dans la mesure du MDA selon Ohkawa, 1979.

| Solution | Quantité du produit | Volume du solvant |
|-------------------------------------|----------------------|---------------------|
| 20 % Acide acétique | 20 ml acide acétique | 100 ml eau distillé |
| 0.8 % TBA (Acide thio-barbiturique) | 0.4 g TBA | 50 ml eau distillé |
| 1.15 % KCl | 1.15 g KCl | 100 ml eau distillé |

Méthode :

On a homogénéisé 1 g de tissu dans 9 ml de solution de KCl à 1,15 %. Dans des tubes à essai, on a ajouté 1,5 ml d'acide acétique à 20 %, 1,5 ml de solution aqueuse d'acide thio-barbiturique (TBA) à 0,8 %, et soit un volume de l'homogénat (pour l'échantillon) soit 0,1 ml d'eau distillée (pour le blanc). On complète jusqu'à 4 ml avec de l'eau distillée et on chauffe la solution à 95 °C pendant 60 minutes. Après refroidissement des tubes, 1 ml d'eau distillée et 5 ml de n-butanol (dans un ratio de 1:1 v/v). On agite au vortex et on centrifuge à 4000 rpm pendant 10 minutes. La couche supérieure formée et récupéré dans une cuve en quartz et son absorbance est mesuré à 532 nm.

Calcul :

$$\text{Concentration MDA (nmol/g de tissu)} = \text{Absorbance} \times D / (\epsilon \times l \times C)$$

D : Facteur de dilution

E : Facteur d'extinction molaire du TBA ($0.156 \times 10^6 \text{ M}^{-1}/\text{cm}^{-1}$).

I : Longueur de la cuve du spectrophotomètre (1 cm)

C : Quantité de tissu utilisé dans l'homogénat en g

2.3.7. Mesure de l'activité superoxyde dismutase (SOD).

Principe : D'après l'approche de Splitz et Oberley (1989). Un flux de superoxyde a été produit par la xanthine-xanthine oxydase. On étudie le degré d'inhibition de la diminution de la couleur bleue du nitrobleu tetrazilium (NBT) à 560 nm (Spitz et Oberley, 1989).

Solutions : les réactifs et solutions nécessaires dans la méthode de mesure de la SOD sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7. Les solutions utilisées dans la mesure de l'activité SOD selon Splitz et Obreley, 1989.

| Solution | Quantité du produit | Volume du solvant |
|--|--|--------------------|
| 0.05 M Tampon potassium phosphate (pH 7,8) | 7,44 g K_2HPO_4 0,98 g KH_2PO_4 | 1 L d'eau distillé |
| 1.8 Mm xanthine | | |
| 2.24 Mm NBT (Nitrobleu tetrazilium) | | |
| 1.33 Mm DETAPAC | | |
| 40 U/ml catalase | | |
| 10^{-2} U/ml xanthine oxydase | | |

Méthode :

Une quantité définie du tissu est homogénéiser avec trois fois son volume de tampon phosphate de potassium à 0,05 M et pH 7,8 avec un broyeur mécanique, à l'aide d'un homogénéisateur ultrason pendant 2 minutes. L'homogénat est ensuite centrifugé à 9000 rpm pendant 15 minutes. Pour préparer un essai de 20 tubes, on mélange : 13 ml de tampon phosphate à 0,05 M, 0,50 ml de catalase, 0,50 ml de NBT, 1,70 ml de xanthine, et 0,30 ml de tampon phosphate, et on répartit 0,8 ml de cette solution dans chaque tube. On ajoute 100 μ l de l'homogénat (pour l'échantillon) ou 100 μ l de tampon phosphate (pour le blanc). Ensuite, on rajoute 100 μ l de xanthine oxydase. Enfin, On rajoute de la xanthine oxydase dans chaque échantillon et on mesure l'absorbance à 560 nm dans une cuve en quartz.

Calcul :

Le pourcentage d'inhibition de la xanthine oxydase par la SOD est mesuré comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = (A_{\text{control}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{control}} \times 100 \%$$

L'activité SOD a 50 % est calculée comme suit :

$$\text{Concentration SOD}_{\text{Echantillon}} (\text{U/mg prot}) = (\% \text{ d'inhibition} \times D) / C \times 50$$

D : Facteur de dilution

C : Quantité de protéines contenus dans l'échantillon en mg

2.3.8. Mesure de l'activité l'acétylcholinestérase.

Principe : Selon la méthode d'Ellman (1961), la mesure de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) consiste à utiliser l'acétylthiocholine iodure comme substrat, qui est hydrolysé par l'AChE pour produire de l'acide acétique et du thiocholine. Le thiocholine réagit ensuite avec le réactif d'Ellman (DTNB), formant un composé jaune appelé 5-thio-2-nitrobenzoate. L'intensité de la couleur produite, mesurée spectrophotométriquement à 412 nm, est proportionnelle à l'activité de l'AChE présente dans l'échantillon.

Solutions : les réactifs et solutions utilisées dans la méthode de mesure de l'activité de l'acétylcholinestérase sont représentés au niveau du tableau 8.

Tableau 8. Les solutions utilisées dans la mesure de l'activité AChE selon [Ellman et al, 1961](#).

| Solution | Quantité du produit | Volume du solvant |
|------------------------------------|---|-------------------------------------|
| 0.1 M Tampon phosphate (pH 8) | 16,28 g K ₂ HPO ₄ 888 mg KH ₂ PO ₄ | 1 L d'eau distillé |
| 0.1 M Tampon phosphate (pH 7) | 9,34 K ₂ HPO ₄ 6,30 KH ₂ PO ₄ | 1 L d'eau distillé |
| 0.01 M DTNB | 39,6 DTNB 15 mg bicarbonate de sodium | 10 ml 0.1 M tampon phosphate (Ph 7) |
| 0,075 M Acétyl-thio-choline iodide | 21,67 mg | 1 ml 0.1 M tampon phosphate (pH 7) |

Méthode :

- **Homogénéisation** : 20 mg de l'organe + 1 ml tampon phosphate (pH 8) est broyé puis homogénéisé.
- Dans une cuvette, ajouté :
- 0.4 ml de l'homogénat (échantillon)
- 0.4 ml d'eau distillé ou tampon (Blanc)
- 2.6 ml du tampon phosphate (pH 8).
- 100 µl DTNB et secoué.
- Lecture d'absorbance a 412 nm. Quand l'absorbance s'arrête d'augmenter, le spectrophotomètre est mit a zero.
- 20 µl du substrat est ajouté à la cuvette.
- Lecture l'absorbance a 412 nm par minute.

Calcule :

$$R = \Delta A / (1.36 \times 10^4) \times 1 / (400 / 3210) C_0 = (5.74 \times 10^{-4}) \Delta A / C_0$$

R = taux de substrat hydrolysé en moles par minute par g de tissue (moles/min/g de tissue).

ΔA = Changement de l'absorbance par minute.

C_0 = concentration originale du tissue (mg/ml).

2.4. Etude histologique

2.4.1. Préparation des coupes histologiques

La préparation des coupes de sections du foie incorporés a la paraffine a été effectué selon la méthode de Fischer ([Fisher et al., 2008](#)). Et réalisé au niveau du laboratoire d'Anapathologie du Centre Anti-Cancer à l'Hopital Ibn-Rochd – CHU d'Annaba.

- Pour préparer des sections de tissu en paraffine, dans un bain-marie à une température stable entre 42 °C et 48 °C et 50 mg de gélatine par litre d'eau a été rajouter pour améliorer l'adhérence des sections au verre.
- Le bloc de tissu a été placer sur de la glace pour durcir la paraffine, ce qui facilitera la découpe en fines bandes.

- La cassette contenant l'échantillon dans le support du microtome a été fixer et le couteau avancer à l'aide des ajustements grossiers jusqu'à environ 1 mm du bloc.
- L'épaisseur des sections à découper a été ajuster a 3 μm pour les tissus inclus en paraffine.
- Une lame de microscope a été émerger sous le ménisque du bain-marie, en plaçant un ou plusieurs profils de tissu vers l'extrémité de l'étiquette de la lame.
- La lame a été retiré de l'eau à un angle de 45° pour récupérer la section sur la lame. Laisser sécher à l'air libre à température ambiante, puis placer sur son bord et chauffer pendant 15 minutes à 60 °C pour faire fondre la cire, facilitant ainsi les réactions avec les réactifs aqueux.
- Cette méthode permet de préparer des sections de tissu en paraffine de haute qualité pour une analyse microscopique précise, en assurant une bonne adhérence et une manipulation optimale des sections.

2.4.2. Technique de coloration a Hématoxyline et a l'Eosine :

La technique de coloration des coupes histologiques du foie utilisée par Lillie ([Lillie et al., 1976](#)) a été réalisée en respectant les normes de Aladdin Bio-Chem Technology Co., LTD. Au niveau du laboratoire d'Ana-pathologie du Centre Anti-Cancer à l'Hôpital Ibn-Rochd – CHU d'Annaba.

- Ce processus de préparation des coupes histologiques commence par la déparaffiner les coupes dans deux bains de xylène.
- Ensuite, les coupes sont réhydratées dans deux bains d'alcool absolu, suivi par l'immersion dans des solutions d'alcool à 95% puis à 70%.
- Après un rinçage rapide à l'eau distillée, les coupes sont colorées avec de l'hématoxyline, ce qui permet de mettre en évidence les structures cellulaires.

- Les coupes sont lavées à l'eau courante pour éliminer l'excès de colorant. Une différenciation avec de l'alcool acide à 1% est réalisée pour accentuer les contrastes, suivie d'un nouveau rinçage à l'eau.
- Les coupes sont ensuite immergées dans de l'eau ammoniacale à 0,2% ou une solution saturée de carbonate de lithium pour un bleuissement optimal.
- Après un dernier rinçage à l'eau, les coupes sont déshydratées dans deux bains d'alcool à 95%, , puis contre-colorées dans une solution d'éosine-phloxine pour mettre en évidence certaines structures cellulaires spécifiques.
- Enfin, les coupes sont déshydratées à nouveau dans deux bains d'alcool à 95%, nettoyées dans deux bains de xylène, et montées avec un support à base de xylène pour l'observation microscopique.
- Ce processus permet de préparer les échantillons de manière optimale pour l'analyse histologique, en mettant en évidence les structures cellulaires avec précision.

2.6. Etude in silico

Le serveur en ligne Swiss ADME ([Dain et al., 2017](#)) a été utilisé pour obtenir les paramètres physico-chimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques computationnels du 1-MCP. Ces paramètres prédits comprenaient le nombre de liaisons rotatives, le score de biodisponibilité, la surface polaire (TPSA), la solubilité dans l'eau, la lipophilicité, le niveau de solubilité, l'absorption gastro-intestinale (GI), la pénétration de la barrière hémato-encéphalique (BHE), la perméation cutanée, la prédiction de substrat de la P-glycoprotéine (P-gp) et l'inhibition des enzymes du cytochrome P450. Le serveur web ProTOXII ([Banerjee, 2018](#)) a été utilisé pour prédire la dose de valeur LD50, la classe de toxicité, et prédire les toxicités du composé, y compris l'hépatotoxicité, la cancérogénicité, l'immunotoxicité, la mutagénicité et la cytotoxicité ainsi que les voies de signalisation des récepteurs nucléaires Tox21 (SRN) et la réponse au stress Tox21 (RS).

Le service web ROSC-Pred (Lagunin et al., 2018) a été utilisé pour prédire la cancérogénicité des organes spécifiques de rongeurs. La prédiction est basée sur la formule structurale des composés organiques.

2.5. Tests statistiques

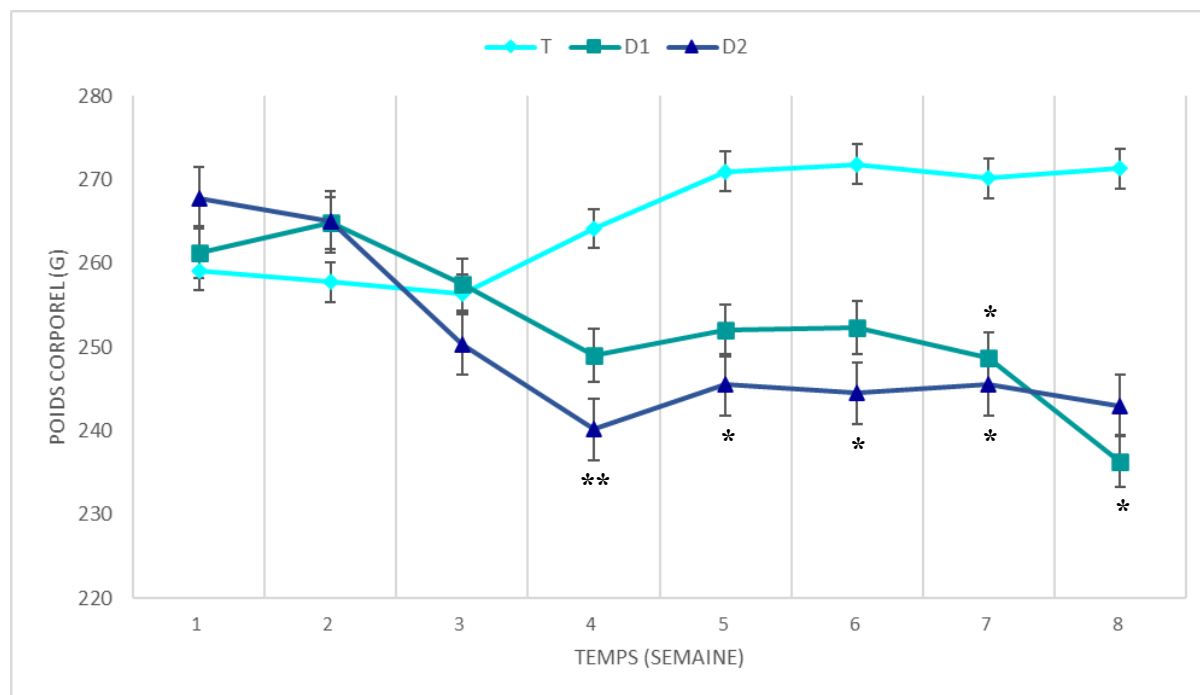
- Tous les données ont été examinées de manière statistique en utilisant le test d'analyse de la variance (One-Way ANOVA), puis le test de comparaison multiple (test de Dunnett), où chaque lot a été comparé au lot témoin.
- Les résultats statistiques sont présentés sous la forme de la Moyenne \pm Ecart type ($M \pm SD$).
- On a utilisé le logiciel GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, États-Unis) pour effectuer des analyses statistiques où la valeur de $P \leq 0,05$ a été traitée comme significative.



Chapitre – III –
Résultats Expérimentaux

Chapitre -III- Résultats expérimentaux

1. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'évolution pondérale des rats



Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 5. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'évolution du poids corporel des rats.

Les résultats du traitement au 1-MCP sur le poids corporel des rats des lots traités (lot D1 et D2) et du lot témoin (T) sont illustrés dans le graphe ci-dessus. Les deux premières semaines de l'expérimentation ont été marquées par une relative stabilité du poids corporel. Dès la troisième semaine, le poids du lot témoin s'est progressivement accru jusqu'à la fin du traitement, tandis que le poids des deux lots traités (D1 et D2) a commencé à diminuer. La diminution du poids chez le lot traité avec la dose D1 a été considérée comme significative uniquement pendant les deux dernières semaines du traitement (* $p \leq 0,05$), tandis que chez le lot D2, la diminution a été considérée comme hautement significative (** $p \leq 0,01$) la quatrième semaine et significative (* $p \leq 0,05$) pendant le reste de la période du traitement jusqu'à la fin de l'expérimentation.

L'effet du traitement au 1-MCP sur le poids absolu et relatif des organes des rats, tels que le foie, les reins, les testicules, le cerveau et les poumons, est illustré dans le tableau 9. Les deux groupes de rats traités (lot D1 et D2) ont présenté une baisse du poids relatif et absolu du foie en les comparant avec le lot témoin (lot T), sans aucune signification statistique.

Tableau 9. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur le poids absolu et relatif des organes des rats.

| | | T (M ± SD) | D1(M± SD) | D2 (M ± SD) |
|-------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | Poids du corps (g) | 271 ± 55 | 236 ± 23 | 243 ± 30 |
| Foie | Poids absolu (g) | 11.64 ± 1.32 | 10.88 ± 1.04 | 10.95 ± 0.90 |
| | Poids relatif (%) | 4.37 ± 0.65 | 3,89 ± 1.95 | 3.92 ± 1,96 |
| Reins | Poids absolu (g) | 1.8 ± 0.4 | 1.89 ± 0.14 | 1.97 ± 0.18 |
| | Poids relatif (%) | 0.75 ± 0.12 | 0.65± 0.33 | 0.71 ± 0.35 |
| Testicules | Poids absolu (g) | 3.2 ± 0.4 | 3.30 ± 0.22 | 3.64 ± 0.26 |
| | Poids relatif (%) | 1.19 ± 0.10 | 1.40 ± 0.18 | 1.15 ± 0.16 |
| Cerveau | Poids absolu (g) | 1.16 ± 0.40 | 1.32 ± 0.07 | 1.36 ± 0.18 |
| | Poids relatif (%) | 0.43 ± 0.05 | 0.45 ± 0.25 | 0.51 ± 0.07 |
| Poumons | Poids absolu (g) | 1.83 ± 0.35 | 2.15 ± 0.26 | 2.14 ± 0.20 |
| | Poids relatif (%) | 0.71 ± 0.11 | 0.84 ± 0.10 | 0.90 ± 0.07 |

2. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les paramètres hématologiques

L'effet de l'ingestion du 1-MCP sur les paramètres hématologiques chez les rats est illustrée dans le tableau ci-dessous. Le nombre de globules blancs (GB) s'est amplifié chez les deux lots traités avec le 1-MCP, cette différence n'a été identifiée comme significative (* $p \leq 0,05$) que chez le lot traité avec la dose la plus élevée (lot D2) par rapport au lot témoin (lot T). De même, le nombre de plaquettes (PLT) dont l'augmentation n'a été considérée comme significative (* $p \leq 0,05$) que chez le lot traité avec une dose élevée (lot D2) par rapport au lot témoin (lot T).

Tableau 10. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les paramètres hématologiques.

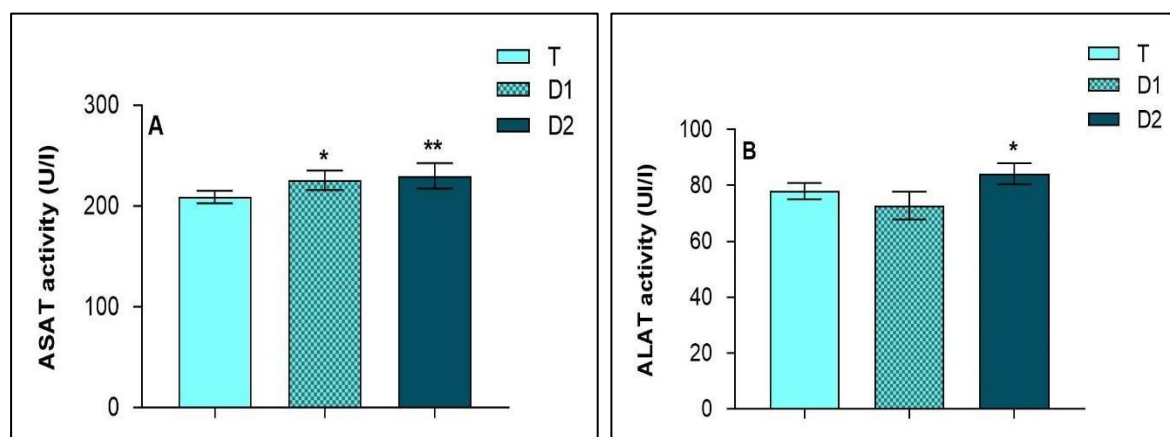
| Paramètres | T (M ± SD) | D1 (M ± SD) | D2 (M ± SD) |
|----------------------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| GB (x 10³ /μL) | 5,64 ± 0,22 | 6,23 ± 0,23 | 6,54 ± 0,85 * |

| | | | |
|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|
| GR (x 10 ⁶ / μ L) | 8,53 \pm 0,53 | 8,14 \pm 0,39 | 8,52 \pm 0,35 |
| HGB (g/dL) | 15,36 \pm 0,83 | 15,05 \pm 0,93 | 15,58 \pm 0,64 |
| HCT (%) | 43,12 \pm 2,17 | 42,47 \pm 2,40 | 43,62 \pm 1,43 |
| VGM (fL) | 50,66 \pm 1,65 | 51,94 \pm 1,19 | 51,26 \pm 1,09 |
| TMH (pg) | 17,96 \pm 0,45 | 18,20 \pm 0,60 | 18,24 \pm 0,50 |
| CCMH (g/dL) | 35,56 \pm 0,32 | 35,20 \pm 0,39 | 35,64 \pm 0,37 |
| PLT (x 10 ³ / μ L) | 613 \pm 54 | 641 \pm 46 | 697 \pm 51,01 * |
| PCT (%) | 0,425 \pm 0,06 | 0,425 \pm 0,06 | 0,487 \pm 0,06 |

3. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur la fonction hépatique

3.1. Variation des paramètres biochimiques

3.1.1. Activité des transaminases



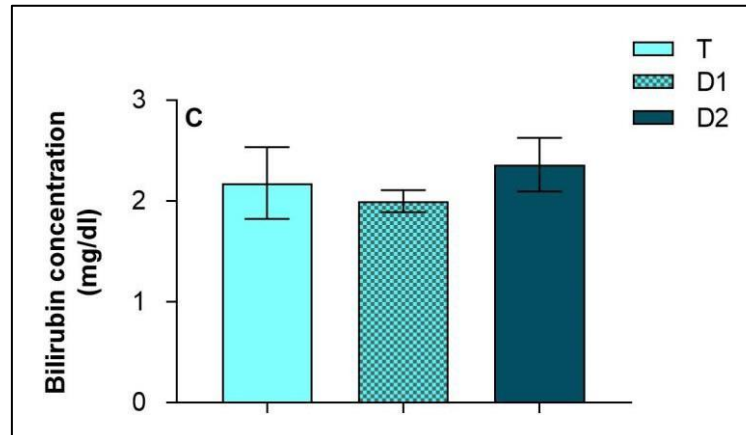
Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 6. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les activités enzymatiques ASAT et ALAT.

La représentation graphique ci-dessus illustre l'impact du traitement au 1-MCP sur les fluctuations de l'activité sérique de l'ASAT et de l'ALAT. Chez le lot D1, les taux d'ASAT ont connu une augmentation significative (* $p \leq 0,05$) et de manière très significative chez le lot D2 en les comparant avec le lot témoin (T). De plus, les niveaux d'ALAT ont connu une

Augmentation significative (* $p \leq 0,05$) seulement chez le lot D2 en comparaison avec le lot témoin (T).

3.1.2. Mesure du taux de bilirubine.



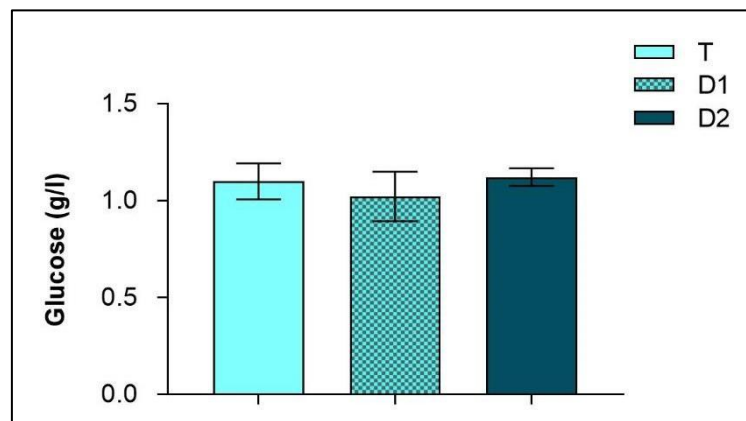
Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 7. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur la concentration de la bilirubine.

Aucune différence significative n'est observée dans les taux de bilirubine chez les deux lots traités (lot D1 et D2) par rapport au lot témoin (lot T) dans la figure ci-dessus.

3.2. Variation des paramètres du métabolisme lipidique et glucidique

3.2.1. Taux de glucose

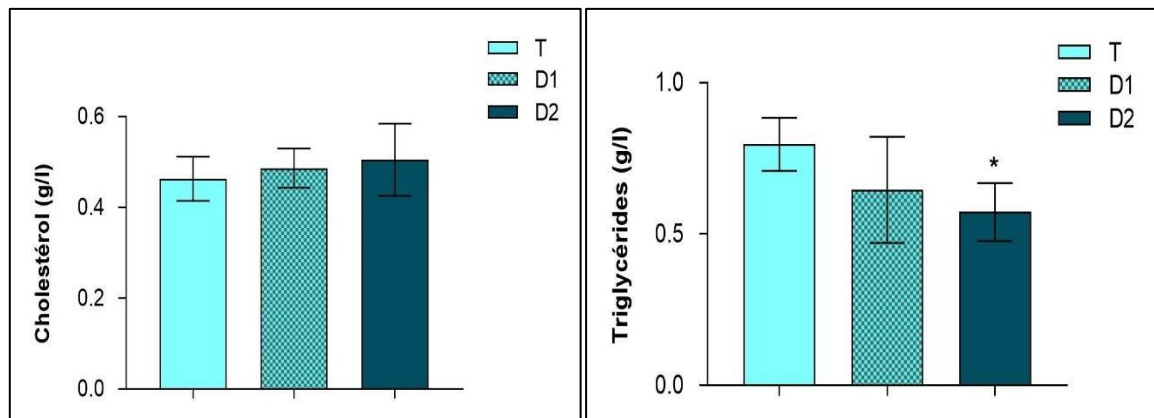


Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 8. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur la concentration de glucose.

Les taux de glucose sanguin chez les rats traités avec le 1-MCP sont illustrés dans la figure ci-dessus. Il n'y a pas eu de changement statistiquement significatif chez les deux lots traités D1 et D2 en comparaison avec le lot témoin T.

3.2.2. Taux de cholestérol et des triglycérides



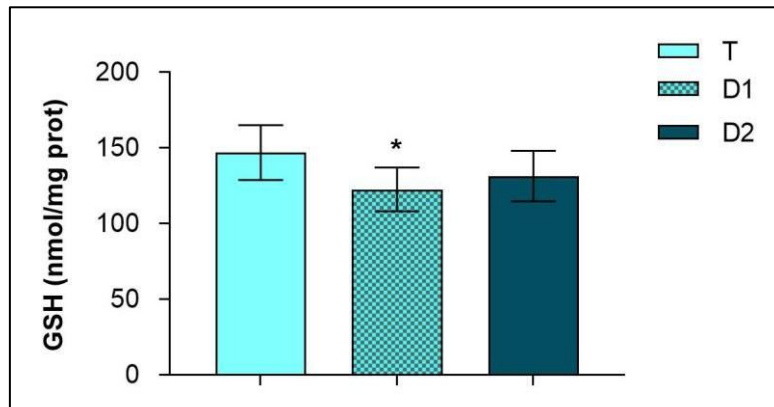
Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 9. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les concentrations de cholestérol et des triglycérides.

Aucune variation significative n'a été observée dans les taux de cholestérol chez les deux lots traités (D1 et D2) en comparaison avec le lot témoin (T) dans la figure ci-dessus. Néanmoins, on a observé une baisse des taux de triglycérides chez les deux lots traités, mais cela a été interprété comme significatif (* $p \leq 0,05$) uniquement chez le lot D2 en les comparant avec le lot témoin (T).

3.3. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les biomarqueurs du stress oxydant au niveau hépatique

3.3.1. Taux de la glutathion réduit (GSH) hépatique.

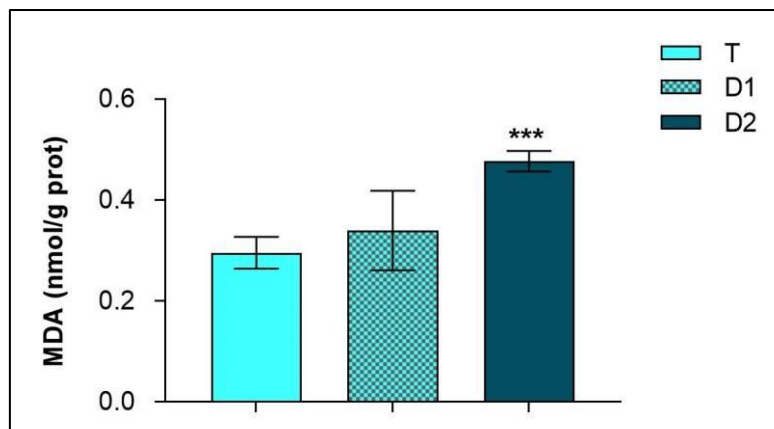


Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 10. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur la concentration de GSH hépatique.

Le graphique ci-dessus présente une baisse des taux de GSH au niveau hépatique chez les deux lots traités avec le 1-MCP, mais cette diminution a été considérée comme significative ($p \leq 0,05$) uniquement chez le lot D1 en les comparant avec le lot contrôle (T).

3.3.2. Taux du mano-dialdéhyde (MDA) hépatique.

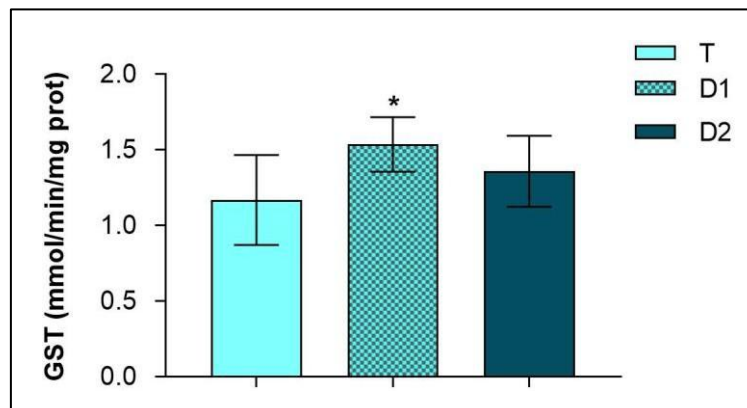


Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 11. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur la concentration du MDA hépatique.

La représentation graphique ci-dessus illustre une hausse des taux d'MDA au niveau hépatique chez les deux groupes traités. En comparant le lot D2 avec le lot témoin (T), cette augmentation a été jugée très significative ($*** p \leq 0,001$).

3.3.3. Activité de la glutathion-s-transférase (GST) hépatique.

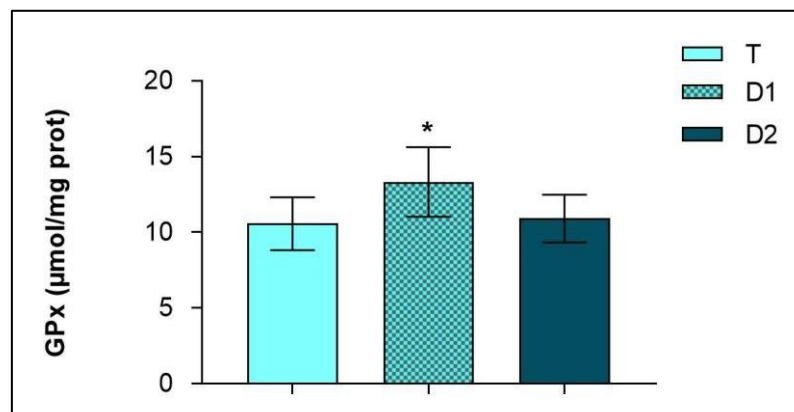


Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 12. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité de la GST hépatique.

L'illustration ci-dessus présente une hausse de l'activité GST hépatique chez les deux lots traités avec le 1-MCP, mais cette augmentation a été considérée comme significative ($* p \leq 0,05$) uniquement chez le lot D1 en les comparant avec le lot témoin (lot I).

3.3.4. Activité de la glutathion réduit (GPx) hépatique.

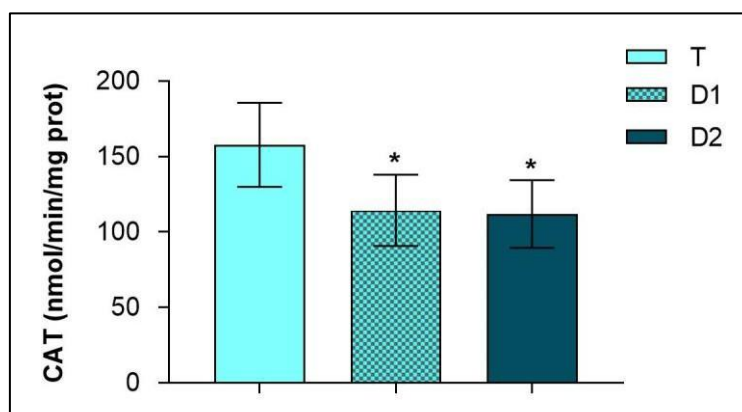


Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 13. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité de la GPx hépatique.

Dans l'illustration ci-dessus, on observe une augmentation de l'activité GPx au niveau hépatique chez les deux lots traités. Cependant, cette augmentation n'a été significative ($* p \leq 0,05$) que chez le lot D1 en les comparant avec le lot témoin (T).

3.3.5. Activité de la catalase (CAT) hépatique.

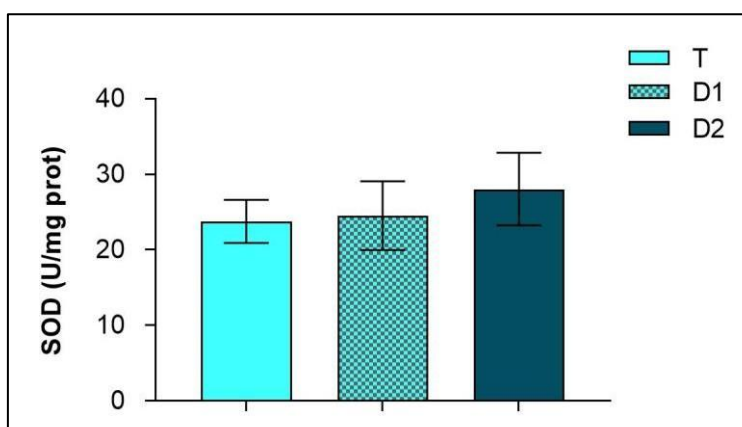


Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 14. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité CAT hépatique.

La représentation graphique ci-dessus illustre une baisse significative ($* p \leq 0,05$) de l'activité catalase chez les deux groupes (D1 et D2) traités avec le 1-MCP au niveau du foie.

3.3.6. Activité de la superoxyde dismutase (SOD) hépatique.



Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 15. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité SOD hépatique.

Aucune variation statistiquement significative de l'activité SOD au niveau hépatique n'est observée dans la figure ci-dessus chez les deux lots (D1 et D2) traités avec le 1-MCP en comparaison avec le lot témoin (T).

3.4. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'anatomie du foie

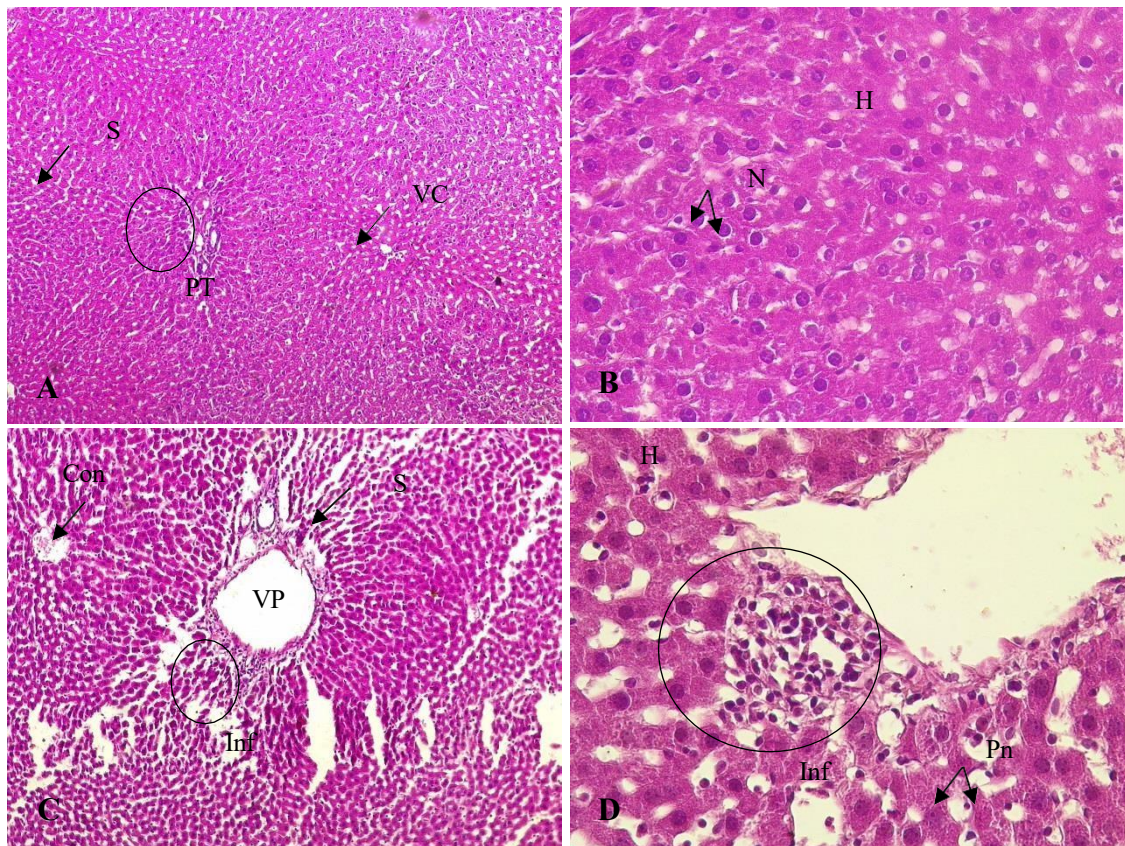
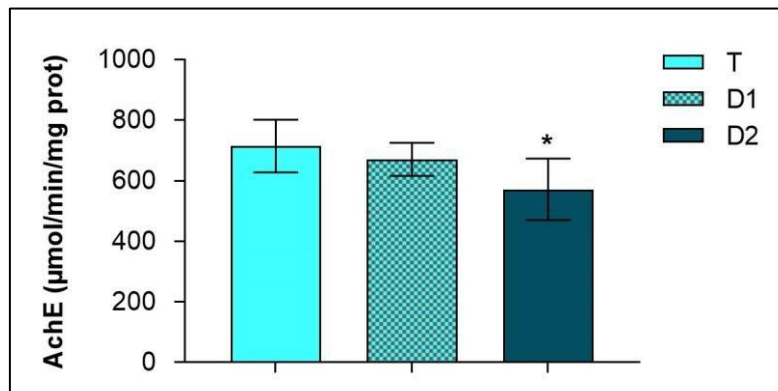


Figure 16. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les photomicrographies de sections colorées (H&E) de foies de rats.

La figure ci-dessous représente des photomicrographies de coupes du foie de rats colorées à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E) ; A et B représentent une section du foie de rat témoin avec un grossissement respectif de 150X et 300X. Les deux montrent des cellules hépatiques normales (H) avec des noyaux bien définis, arrondis et centraux (N) ; et un cytoplasme coloré en rose, la veine hépatique centrale (VC), les triades portales (PD) avec la veine porte (VP), et des sinus normaux (S). C et D représentent une section du foie de rat traité au 1-MCP avec D2 (6,5 mg/kg) avec un grossissement respectif de 150X et 300X ; montrant des cellules hépatiques anucléées désorganisées (H), des cellules hépatiques mourantes avec des noyaux pycnotiques (Pn), un cytoplasme rétréci (éosinophilie) avec vacuolisation, une perturbation des sinus (S), une dilatation asymétrique de la veine porte (VP) avec une infiltration lymphocytaire (Inf), et la congestion (Con) de la veine centrale (VC).

4. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur la fonction cérébrale

4.1. Activité de l'acétylcholinestérase (AChE).



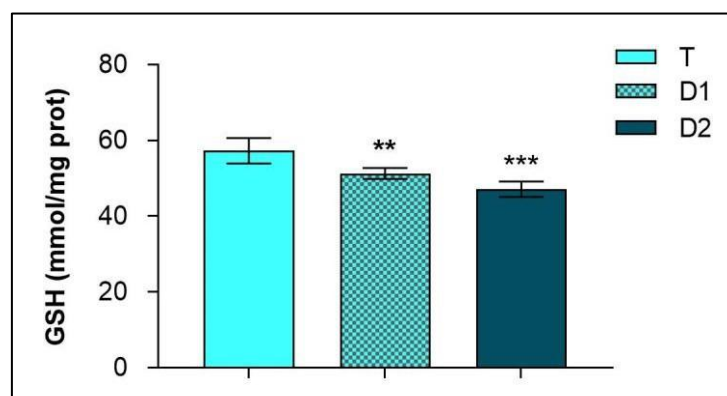
Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 17. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) cérébrale.

La figure précédente illustre une baisse de l'activité enzymatique de l'AChE qui a été jugée significative (* $p \leq 0,05$) seulement chez le lot D2 en les comparant avec le lot témoin (T).

4.2. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les biomarqueurs du stress oxydant au niveau cérébral

4.2.1. Taux de la glutathion réduit (GSH) cérébrale

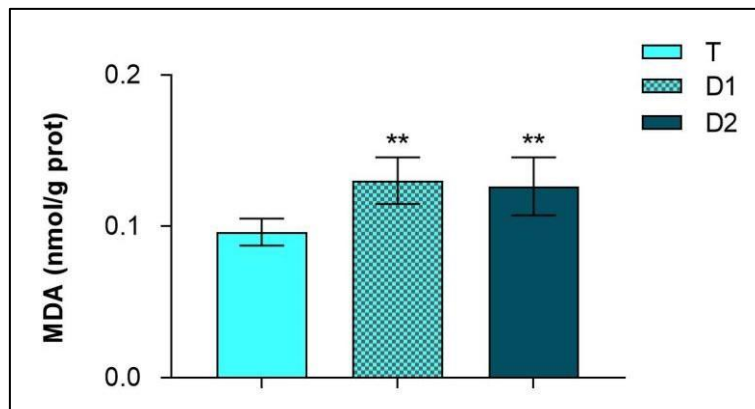


Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 18. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les taux de GSH cérébrale.

La figure ci-dessus illustre une baisse des taux de GSH qui a été jugée très significative (** $p \leq 0,01$) chez le lot traité D1 et très significative ($p^{***} \leq 0,001$) chez le lot traité D2 en comparaison avec le lot témoin (T).

4.2.2. Taux du malon-dialdéhyde (MDA) cérébrale.

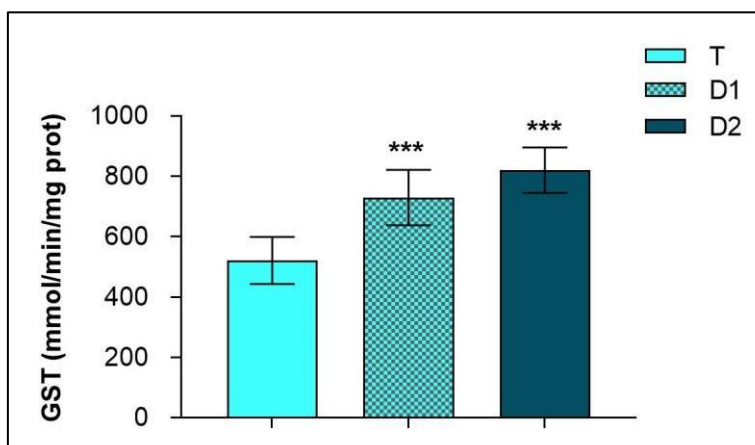


Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 19. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur les taux du MDA cérébrale.

Dans la figure ci-dessus, on observe une hausse des taux de MDA au niveau cérébral chez les deux lots traités avec le 1-MCP (D1 et D2), ce qui a été considéré comme hautement significatif (** $p \leq 0,01$) en les comparant avec le lot sans trait (T).

4.2.3. Activité de la glutathion-s-transférase (GST) cérébrale.



Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 20. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité de la GST cérébrale.

La représentation graphique ci-dessus illustre une hausse de l'activité GST cérébrale qui a été jugée très significative (***) $p \leq 0,001$ chez les deux lots traités avec le 1-MCP (D1 et D2) en les comparant avec le lot neutre (T).

4.2.4. Activité de la glutathion peroxydase (GPx) cérébrale.

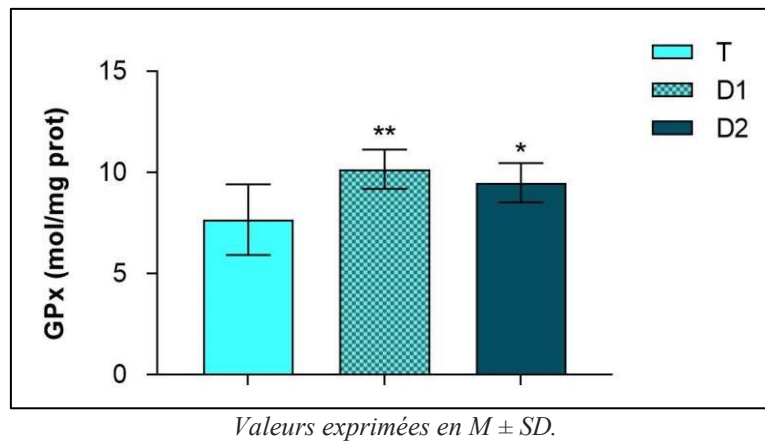


Figure 21. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité GPx cérébrale.

Selon la figure ci-dessus, on observe une augmentation de l'activité GPx cérébrale chez les deux lots traités. Cette augmentation a été jugée hautement significative (** $p \leq 0,01$) chez le lot D1 et significative (* $p \leq 0,05$) chez le lot D2 en les comparant avec le lot témoin (T).

4.2.5. Activité de la catalase (CAT) cérébrale.

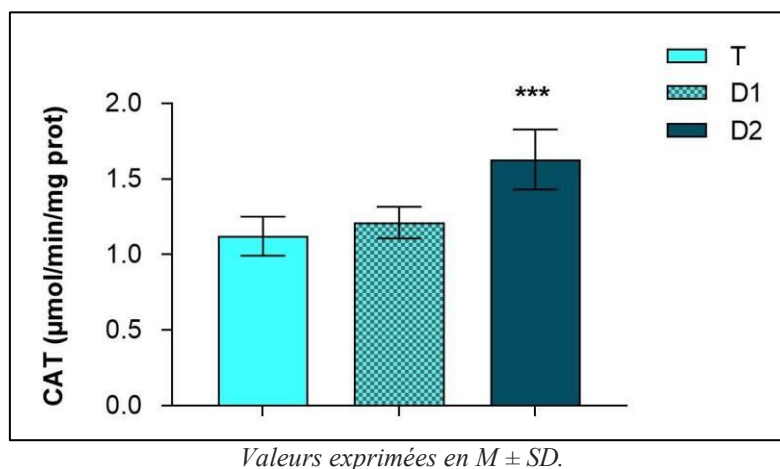
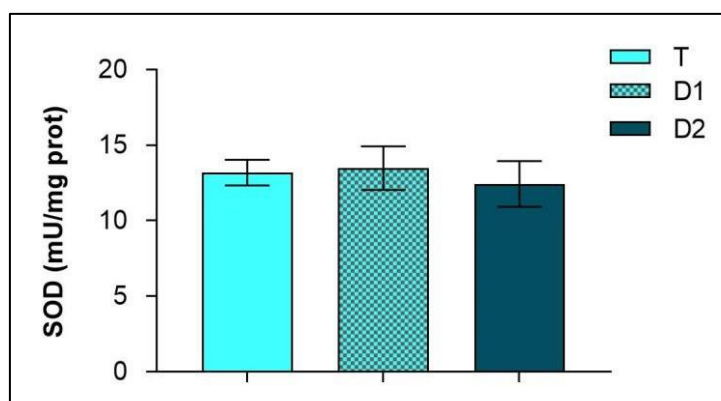


Figure 22. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité CAT cérébrale.

La représentation graphique ci-dessus illustre une hausse significative (***) de l'activité CAT cérébrale chez le lot D2 traité avec le 1-MCP. De plus, l'activité CAT chez le lot traité D1 reste inchangée en comparaison avec le lot témoin (T).

4.2.6. Activité de la superoxyde dismutase (SOD) cérébrale.



Valeurs exprimées en $M \pm SD$.

Figure 23. Effet de l'ingestion du 1-MCP sur l'activité SOD cérébrale.

Aucune variation statistiquement significative de l'activité SOD au niveau cérébral n'est observée dans la figure ci-dessus chez les deux lots traités avec le 1-MCP (D1 et D2) en comparaison avec le lot témoin (T).

5. Etude In silico

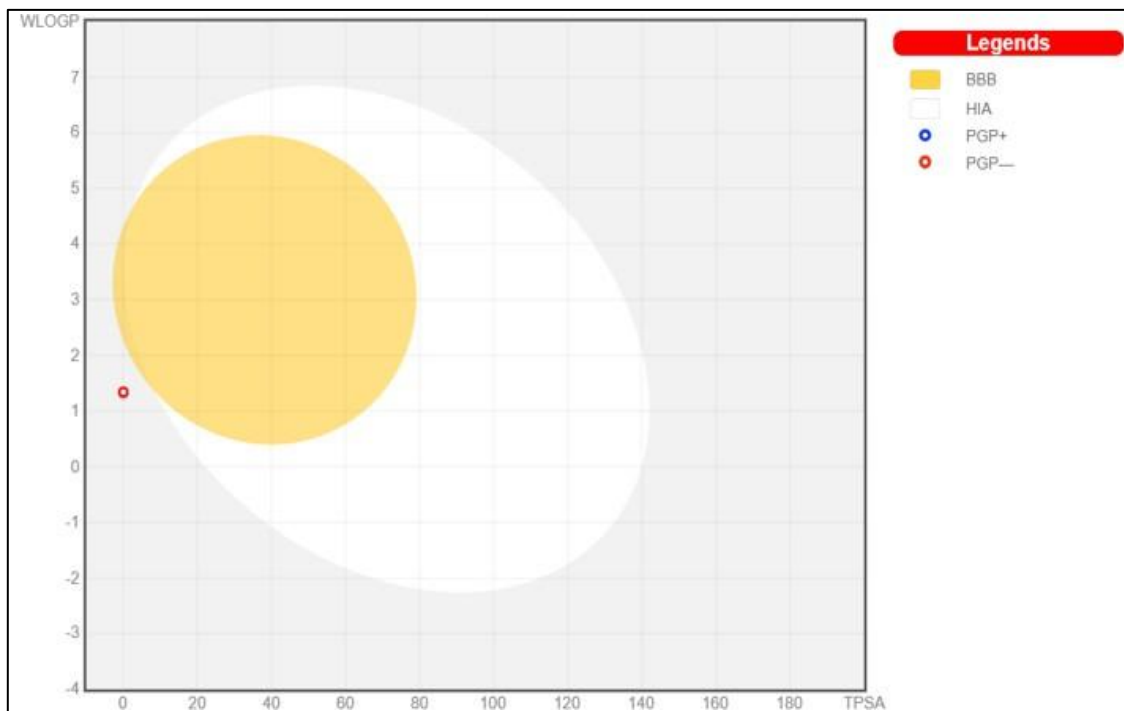
5.1. Propriétés physico-chimique

- ✓ Les résultats ont montré que le poids moléculaire est de 54,09 g/mol, ce qui facilite sa traversée des membranes, son transport, son absorption et sa diffusion par rapport aux molécules lourdes (Waring, 2009).
- ✓ La Surface Polaire Topologique (TPSA) est un paramètre important pour l'absorption orale. Avec une valeur de 0 Å², le composé devrait être facilement transporté par la voie transcellulaire (<120 Å²) (Kelder et al., 1999).

- ✓ Le composé a un score de biodisponibilité plus élevé de 0,55, ce qui suggère sa bioactivité (Martin et al., 2005).

5.2. Pharmacocinétique

À partir du diagramme de l'œuf dur (figure 24), nous pouvons voir que le composé a une faible absorption gastro-intestinale, une faible perméabilité cutanée (-5,92 cm/s), et ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique, cependant il semble qu'il ait une bonne disponibilité orale. Le serveur a prédit que le composé n'est pas un substrat de la P-glycoprotéine, de plus, il est prédit qu'il n'est pas un inhibiteur des enzymes du cytochrome P450 (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 et CYP3A4).



5.2. Prédiction de toxicité

La LD50 prédite est de 810 mg/kg, la classe de toxicité prédite est de 4 (figure 25), ce qui signifie que le composé est nocif s'il est avalé ($300 < LD50 \leq 2000$) (Unietd Nations, 2019).

Le composé est prédit comme non hépatotoxique, non immuno-toxique, non mutagène et non cytotoxique avec respectivement 84, 99, 62 et 75 % de probabilité, mais il est cancérigène avec une probabilité de 60 %.

Le composé est inactif pour les voies de signalisation des récepteurs nucléaires Tox21 et de réponse au stress Tox21.

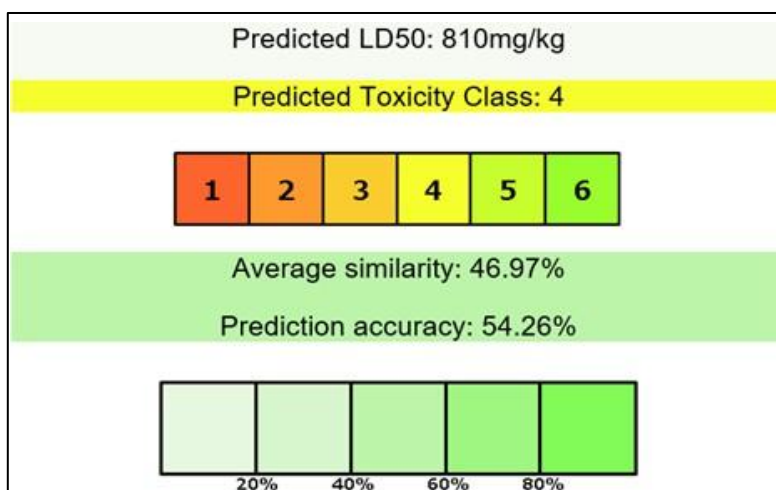


Figure 25. Prédiction de la classe de toxicité du 1-MCP.

5.3. Cancérogénicité des organes spécifiques chez les rongeurs

D'après les résultats de ROSC-Pred, les organes présentant la probabilité la plus élevée étaient le rein (0,840) chez le rat mâle, l'utérus (0,505) chez la rate, la vessie urinaire (0,529) chez la souris mâle et l'utérus (0,635) chez la souris femelle.



Chapitre – V –
Discussion

Chapitre -V- Discussion

Le 1-méthylcyclopropène (1-MCP) est un composé chimique largement utilisé comme régulateur de croissance des plantes dans l'industrie agroalimentaire. Son utilisation vise principalement à augmenter la durée de conservation produits horticoles en inhibant l'action de l'éthylène, une hormone végétale clé impliquée dans le processus de maturation et de sénescence des plantes. En supprimant la production d'éthylène, le 1-MCP retarde le processus de maturation des produits agricoles, ce qui permet de maintenir leur fraîcheur, leur qualité nutritionnelle et leur aspect visuel pendant une période prolongée. Cette stratégie contribue à réduire considérablement les pertes post-récolte quantitatives et qualitatives, ce qui est particulièrement important pour les produits destinés à l'exportation sur les marchés internationaux.

Malgré les avantages indéniables du 1-MCP en matière de conservation des fruits et légumes, des préoccupations ont été soulevées quant à ses effets potentiels sur la santé humaine. Les consommateurs peuvent être exposés au 1-MCP par le biais des résidus présents sur les surfaces externes des produits traités. De plus, des études antérieures ont mis en évidence la formation de métabolites du 1-MCP, certains étant considérés comme potentiellement carcinogènes. La diversité des doses utilisées dans le traitement des fruits et légumes rend le contrôle de son utilisation encore plus complexe, en particulier dans les pays en développement, où les normes de surveillance des résidus peuvent être moins rigoureuses.

En outre, des recherches ont montré que les régulateurs de croissance des plantes, dont le 1-MCP fait partie, peuvent présenter des effets toxiques sur la santé, notamment des effets neurotoxiques, reprotoxiques et génotoxiques. Dans cette optique, nous avons entrepris une étude visant à évaluer les effets de l'exposition au 1-MCP sur la fonction hépatique, le cerveau,

ainsi que sur le système antioxydant de ces deux organes chez des rats albinos. Cette étude implique une exposition directe du 1-MCP à des doses très faibles sur une période prolongée de 8 semaines, visant à reproduire les conditions d'exposition humaine à ce pesticide principalement les consommateurs et les travailleurs horticoles.

1. Effet du 1-MCP sur les paramètres hématologiques

Les globules blancs (GB) sont composantes essentielles de l'immunité impliqué dans la défense de l'organisme contre les infections et les maladies. Ils détectent et neutralisent les xénobiotiques et les agents pathogènes. Dans notre étude, les résultats ont révélé une augmentation dans les taux des GB (Tableau 10) chez tous les rats traités, mais qui a été considérée comme statistiquement significative ($P \leq 0,05$) uniquement dans le lot qui a ingéré la dose D2 du 1-MCP (lot D2). Nos résultats concordent avec des études récentes qui montrent que les RCPs comme l'éthéphon ou le carbure de calcium peuvent perturber les taux de GB dans le sang soit en provoquant une réaction inflammatoire soit en altérant les réponses immunitaires (Tudor et al., 2017 ; Andrew et al., 2018). De même, nous avons observé une augmentation statistiquement significative ($P \leq 0,05$) dans les taux de plaquettes (PLT) (Tableau 10) chez le lot traiter avec la dose D2 du 1-MCP (lot D2). Les plaquettes jouent un rôle clé dans la coagulation sanguine et la réponse aux infections, leur augmentation peut être une réaction du corps à divers types de stress, y compris l'exposition à des substances toxiques afin de limiter les dommages et à initier les processus de réparation (Andrew et al., 2018). Cette thrombocytose peut survenir en réponse à une inflammation, une infection où les plaquettes peuvent s'accumuler et libérer des molécules pro-inflammatoires, contribuant à la défense contre les agents pathogènes (Tudor et al., 2017). Nos résultats sont similaires à ceux d'Andrew et al., 2018 qui a suggéré que le traitement avec un RCP « le carbamure de calcium » avait causé une hémolyse, ce qui avait pour conséquences l'augmentation des plaquettes (Andrew et al., 2018). Dans notre cas, l'augmentation parallèles des taux de GB et des PLT suggère que les plaquettes interagissent avec les globules blancs pour renforcer les réponses immunitaires et inflammatoires principalement déclenché par l'ingestion direct du 1-MCP.

2. Effet du 1-MCP sur la fonction hépatique

Le foie est le principal organe de détoxification des xénobiotiques et la régulation du métabolisme énergétique. Les intoxications aux produits chimiques tel que les pesticides constituent une des principales causes de lésions hépatique mortels (Ahmed et al., 2023). Notre étude a révélé une baisse statistiquement significative ($P \leq 0,05$) dans les taux de triglycérides (Figure 9) uniquement chez les lots de rats ayant ingéré la dose D2 du 1-MCP (lot D2) en comparant avec le lot témoin (lot T). Cependant, aucune modification statistiquement significative n'a été enregistré dans les taux de cholestérol (Figure 9) ni dans les taux de glucose (Figure 8). Nos résultats sont comparables avec ceux des études antérieures suggérant l'effet perturbant des RCPs tel que le GA₃ et le calcium carbamide sur les taux de triglycérides et cholestérol (Muthu et al., 2011 ; Andrew et al., 2018). Il est essentiel de souligner que les cyclopropènes ont la capacité remarquable d'interagir avec les molécules phospholipidiques qui constituent les membranes microsomales et plasmiques du foie. Cette capacité découle de leur structure caractéristique en anneau cyclopropène, qui favorise leur incorporation dans les membranes lipidiques (Powlowski et al., 1985). Cette interaction peut influencer divers processus cellulaires et métaboliques liés à la fonction hépatique, ajoutant ainsi une dimension importante à leur compréhension et à leur impact biologique. En conséquence la biosynthèse de certains triglycérides est bloquée et leur métabolisme est perturbée. Ainsi le 1-MCP, par sa nature cyclique et en agissant de manière similaire aux autres RCPs, peut diminuer les taux de triglycérides et perturber leur métabolisme. Nos données suggèrent donc que le traitement aux 1-MCP a probablement altéré le profil lipidique suite à un déséquilibre métabolique dans le foie, causé par le stress oxydatif au niveau hépatique. Cette hypothèse est confirmée par les résultats énoncer ci-dessous.

La bilirubine, un pigment biliaire formé par la dégradation de l'hème dans les globules rouges, est utilisée pour diagnostiquer des affections comme la jaunisse, l'anémie et les

maladies du foie. Des concentrations élevées de la bilirubine indique généralement une pathologie, liée à une pression sur les canaux biliaires due à une intoxication, comme décrit par [Andrew \(2018\)](#). Dans notre étude, aucune modification statistiquement significative des taux de bilirubine n'a été observé chez les deux lots traiter avec le 1-MCP (Figure 7). Les taux normaux de bilirubine suggèrent qu'il n'y a pas eu de dysfonctionnement hépatobiliaire significatif causé par le 1-MCP. D'autre part ; ASAT et ALAT sont deux enzymes hépatiques cruciales dans le métabolisme des acides aminés. Leur libération dans le sang résulte de la destruction des hépatocytes, et indique divers troubles hépatiques, tels que l'hépatite, la cirrhose ou la stéatose ([Rezg et al. 2008](#)). Ce qui en fait des marqueurs sensibles de l'intégrité et de la fonction hépatique. Notre étude a montré augmentation des taux d'ASAT chez les deux lots de rats traiter avec la dose D1 et D2 du 1-MCP qui a été considéré respectivement comme statistiquement significative ($P \leq 0,05$) et hautement significative ($P \leq 0,01$) (Figure 6). Nos recherches sont similaires aux expériences réalisées sur plusieurs types d'RCPs. En effet, l'ETP, un RCP agissant de façon très similaire au 1-MCP a la capacité d'augmenter les niveaux sériques d'ASAT et d'ALAT qu'il soit administré pendant 4 semaines ([Tousson et al., 2019](#)), 6 semaines ([Abdel-Rahman et al., 2023](#)), ou 8 semaines ([Abou-Zeid et al., 2018](#)). D'après nos résultats, il est possible que le traitement au 1-MCP ait eu une interaction avec le tissu hépatique des rats traités, ce qui a entraîné des dommages structurels aux hépatocytes, ce qui a eu pour conséquence la fuite des enzymes dans le sang. Les coupes histologiques du foie colorées à l'hématoxyline et à l'éosine ont confirmé cela, montrant des cellules hépatiques anormales avec quelques changements pathologiques.

En outre, nos résultats ont mis en évidence une augmentation des taux d'MDA hépatique, qui a été jugée très significative ($P \leq 0,001$) chez les rats traités avec la dose D2 du 1-MCP (Figure 11). Selon [Celik et Tuluce \(2007\)](#), le MDA est un produit de l'oxydation des acides gras polyinsaturés, qui est un biomarqueur de la peroxydation lipidique et des dommages

cellulaires. Nos résultats concordent avec des recherches récentes qui indiquent que l'ETP, un RCP bien connu, a un effet significatif sur les niveaux de MDA dans tous les organes vitaux des rongeurs ([Abou-Zeid et al., 2018](#) ; [Mokhtari et al., 2020](#) ; [Abdel-Rahman et al., 2023](#)).

Selon ces résultats, une augmentation des niveaux de MDA peut suggérer que le foie a été soumis à une peroxydation lipidique qui a entraîné une destruction des membranes hépatiques et des dommages cellulaires qui ont permis la libération des enzymes ASAT et ALAT dans le sang.

Les activités élevées d'ASAT et d'ALAT ainsi que les niveaux de MDA sont clairement corrélés avec les constatations histopathologiques de la présente étude et attestent l'ensemble des dommages cellulaires du foie. En effet, les foies des rats traités avec la dose la plus élevée de 1-MCP (lot D2) ont montré une architecture lobulaire anormale ; les hépatocytes étaient désorganisés et variaient en taille et en forme. Certains hépatocytes présentaient un aspect nécrotique avec un cytoplasme rétréci et des noyaux pycnotiques. De plus, une perturbation des sinusoides, une congestion de la veine centrale et une dilatation de la veine porte ont été observées, démontrant une altération de la fonction hépatique, attestée par une infiltration de lymphocytes dans la région de la triade portale (Figure 16). Ces observations soutiennent notre hypothèse selon laquelle le 1-MCP entraîne des dommages structurels à la membrane cellulaire, entraînant la libération d'AST et d'ALT dans le sang. Le niveau élevé de MDA, accompagné des changements histopathologiques, indique que ces dommages structurels sont provoqués par une peroxydation lipidique. Nos résultats sont en accord avec des recherches antérieures sur les régulateurs de croissance des plantes, qui démontrent que les altérations de la fonction hépatique et les modifications histopathologiques sont liées au stress oxydatif et à la peroxydation lipidique, provoqués par la production de radicaux libres ([Abou-Zeid et al., 2018](#) ; [Al-Barakati et al., 2020](#)).

Le système antioxydant joue un rôle crucial dans la protection des cellules contre le stress oxydatif et les dommages induits par les radicaux libres. Ce système repose sur l'interaction synergique entre la GSH et diverses enzymes antioxydantes. Ensemble, ces composants forment un réseau de défense sophistiqué qui neutralise les xénobiotiques et protège l'organisme contre les effets délétères du stress oxydant. En neutralisant les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et en détoxifiant les composés nuisibles, ce système maintient l'intégrité cellulaire et prévient les dommages cellulaires qui peuvent mener à diverses pathologies. Dans l'étude actuelle, l'ingestion directe du 1-MCP a entraîné une baisse dans la concentration de la GSH hépatique dans les deux groupes de rats (lot D1 et D2) qui a été considérée comme significative ($P \leq 0,05$) uniquement chez le lot traité avec la dose D1 du 1-MCP (lot D1) (Figure 10). De même, l'activité de GST ainsi que de la GPx avait été augmentée significativement ($P \leq 0,05$) chez le lot traité avec la dose D1 du 1-MCP (lot D1) (Figure 12 et 13). Cette observation est similaire à celle de plusieurs études ayant montré que les RCPs qu'ils soient de source naturelle ou synthétique provoquent une diminution des niveaux de GSH et augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes dans plusieurs tissus de rats y compris le foie (Celik et al., 2006, Celik et Tuluce, 2007, Troudi et al., 2010 ; Ozok et Celik, 2012 ; Abou-Zeid et al., 2018, Abdel-Rahman et al., 2023). On peut expliquer la baisse de la concentration en GSH après le traitement avec le 1-MCP par son utilisation comme substrat par les enzymes antioxydantes qui utilisent les groupements sulfhydryles de la GSH pour lutter contre le stress oxydatif due aux ROS générés par le traitement au 1-MCP, principalement due à son oxydation directe, mais potentiellement l'altération de sa synthèse et la déplétion de ses précurseurs.

Par ailleurs, Nos résultats sont également en faveur d'une perturbation globale de l'activité enzymatique antioxydante du foie. En effet, On n'a pas pu établir une relation dose-réponse concernant l'activité GST et GPx, d'autre part ; l'activité des enzymes CAT a diminué de façon

significative ($P \leq 0,05$) dans les deux groupes de rats traités avec les deux doses du 1-MCP (Figure 14). Les résultats que nous avons obtenus sont semblables à ceux de plusieurs études sur les RCPs qui ont démontré une réduction importante des activités de CAT hépatique causées par le traitement avec un RCP tel que l'éthéphon (Abdel-Rahman et al., 2023) ou le GA₃ (Troudi et al., 2010). D'autres recherches ont démontré que l'ingestion de RCPs chez les rats à différentes doses perturbait les activités des enzymes antioxydantes dans divers tissus de rat (Celik et al., 2006 ; Celik et Tuluce, 2007 ; Ozok et Celik, 2012). Les RCPs ont la capacité d'interférer avec le mécanisme de transcription des gènes, et bloquent ainsi la biosynthèse et la régulation des protéines et des enzymes y compris les enzymes antioxydantes comme la catalase, les ROS produites par le 1-MCP pourraient avoir entravé la production et le fonctionnement des enzymes antioxydantes (Celik et al., 2006). En outre, il est connu que les radicaux superoxyde et H₂O₂ produits par les RCPs ont la capacité d'oxyder les enzymes protéases et de réduire leur activité, ce qui est crucial pour réguler les enzymes antioxydantes comme CAT et GPx. Toute altération de ce métabolisme enzymatique pourrait également influencer leur activité (Celik et Tuluce, 2007).

Les activités élevées de GST et de GPx dans le foie des rats exposés au 1-MCP reflètent une réponse adaptative du corps pour éliminer les substances étrangères et neutraliser les radicaux libres, soulignant l'importance de ces enzymes dans la détoxification et la protection contre le stress oxydatif. Cependant, malgré ces réponses, il n'existe pas de corrélation directe entre la dose administrée et la réponse observée, indiquant une complexité dans la manière dont l'organisme réagit aux doses variables de 1-MCP. De plus, l'activité diminuée de la CAT dans le foie peut être attribuée à une réponse en deux phases lors d'un traitement sub-chronique avec le 1-MCP. Initialement, une augmentation progressive de l'activité de la CAT témoigne d'une réponse adaptative initiale face au stress oxydatif causé par les xénobiotiques, cette augmentation est suivie d'une diminution graduelle de l'activité enzymatique, suggérant une

saturation ou une inhibition des systèmes antioxydants cellulaires lorsque la concentration de radicaux libres excède leur capacité de neutralisation (Mokhtari et al., 2020). Par ailleurs, il faut noter que la présente étude avait montré que le poids global des rats avait été diminué considérablement pendant la période du traitement. Ce déclin dans le poids corporel est observé principalement chez le lot traité avec la dose D2 du 1-MCP. Nos résultats sont en accord avec ceux de Bhadoria et al., 2018 qui a démontré que l'administration d'ETP, un RCP agissant de façon similaire au 1-MCP provoqué une diminution dans le poids des rats (Bhadoria et al., 2018). Dans notre cas cette perte de poids peut être expliquée par la dégénérescence cellulaire observée au niveau hépatique générée par un stress oxydant. Par conséquent, nos résultats soutiennent l'existence d'un déséquilibre entre les agents pro-oxydants et antioxydants dans les cellules, ce qui entraîne l'apparition du stress oxydatif dans le foie.

3. Effet du 1-MCP sur le cerveau

Le cerveau des mammifères est très sensible aux dommages oxydatifs en raison de sa forte demande en oxygène et de l'abondance de substrats oxydables tels que les acides gras polyinsaturés et les catécholamines (Troudi et al., 2012). Les données nous ont permis de constater une baisse des taux de GSH chez les deux groupes de rats traités avec la dose D1 et D2 du 1-MCP (lot D1 et D2), qui a été jugée hautement significative ($P \leq 0,01$) et très hautement significative ($P \leq 0,001$) (Figure 18). L'augmentation des enzymes métabolisant la GSH, à savoir la GST et la GPx, a également été observée. Les deux lots traités avec le 1-MCP ont été considérés comme étant très hautement significatives ($P \leq 0,01$) pour la GST (Figure 20), tandis que la GPx a été considérée comme étant hautement significative ($P \leq 0,01$) pour le lot traité avec la dose D1 et significative ($P \leq 0,05$) pour le lot traité avec la dose D2 du 1-MCP (Figure 21). L'enzyme antioxydante CAT a été augmentée chez le lot traité avec la dose D2 du 1-MCP de façon très hautement significative ($P \leq 0,001$) (Figure 22).

Nos résultats sont comparables à plusieurs études antérieures sur les différents RCPs, plusieurs études ont révélé que les régulateurs de croissance des plantes (RCPs) comme le NAA, ou encore 2,4-D ingéré par des souris sprague dawley pendant 25 jours diminuer grandement les taux de GSH, de certains enzymes antioxydantes, et augmenter l'activité CAT dans plusieurs tissus y compris le cerveau (Celik et al., 2006). D'autres ont montré qu'une administration prolongée d'RCPs causer une diminution de taux de GSH cérébrale accompagné d'une fluctuation anormale dans l'activité enzymatique de la GST, GR, GPx, et CAT (Ozock et Celik, 2012). Les RCPs ont ainsi été identifier comment des agents neurotoxiques pouvant induire un stress oxydatif, générant des radicaux libres au niveau cérébrale ce qui provoque une peroxydation des lipides (Celik et al., 2006; Celik et Tuluce, 2007, Troudi et al., 2012), cette peroxydation lipidique serais par la suite responsable d'une apoptose neuronale (Furukawa et al., 2004). D'autre part, Il faut noter que la GSH, un antioxydant cellulaire non enzymatique important est une substance vitale dans la détoxification. Selon (Troudi et al., 2012), la baisse de GSH elle-même pourrait entraîner une augmentation de la peroxydation lipidique, provoquant la formation de radicaux, rendant les tissus cérébraux encore plus susceptibles aux dommages oxydatifs et rendant le système antioxydant inefficace. Le contenu cérébral en MDA, produit majeur de la peroxydation lipidique, avait été augmenter de façon hautement significative ($P \leq 0,01$) chez les deux groupes traiter avec le 1-MCP (lot D1 et D2) (Figure 19). Nos résultats concordent avec ceux de plusieurs études portant sur l'effet des RCPs sur le système antioxydant au niveau cérébrale (Celik et al., 2006 ; Ozock et celik, 2012 ; Troudi et al., 2012). La peroxydation lipidique a été déterminée par l'étendue du mécanisme des radicaux libres formant des peroxydes sur les acides gras polyinsaturés (Troudi et al., 2012). Il est donc plausible de spéculer que le traitement au 1-MCP pourrait générer des radicaux libéré en déclenchant un processus de stress oxydatif au niveau cérébrale, ces derniers pourrait avoir causer la peroxydation des acides gras polyinsaturés, conduisant à la

dégénérescence des phospholipides et à la détérioration cellulaire d'où l'augmentation des taux d'MDA.

D'autre part, l'acétylcholinestérase joue un rôle crucial dans la régulation de la neurotransmission cholinergique dans le cerveau. Sa diminution suite à une exposition aux xénobiotiques est un signe d'interférence toxique avec le système nerveux, conduisant à des effets néfastes sur la santé neurologique. L'AChE est souvent utilisée comme biomarqueur de l'exposition aux inhibiteurs de l'AChE, tels que certains pesticides, indiquant une toxicité potentielle. En effet ; l'Agence de protection de l'environnement des États-Unis (EPA) (2006) a rapporté que l'indicateur le plus sensible de l'exposition à un RCP connus « l'éthéphon » est l'inhibition du cholinestérase, qui se produit à de faibles niveaux d'exposition et peut ne pas être accompagnée de signes cliniques de toxicité jusqu'à ce qu'un seuil d'exposition soit atteint. (El-Okazy, 2008). La présente étude a révélé que l'ingestion du 1-MCP avait diminuant les taux de l'AChE cérébrale qui a été considéré comme significative ($P \leq 0,05$) chez le lot traiter avec la dose D2 du 1-MCP (Figure 17). Nos résultats concordent avec des études antérieures ; le GA3 peut diminuer le taux d'acétylcholinestérase dans différents parties du cerveau lorsqu'il est consommé dans l'eau potable (Troudi et al., 2012 ; Isik et Celik, 2015). Nos données confirment aussi les découvertes de Yilmaz et Celik (2009) qui ont observé une diminution de l'activité de l'AChE chez des rats adultes traités avec l'acide indole-3-butyrrique (IBA), et ceux de Troudi et al., 2012 où le GA3 ingéré par les rats femelles pendant la fin de la grossesse et les premières périodes postnatales a inhibé l'activité d'AChE dans le cerveau et le cervelet de leurs nourrissons, indiquant ainsi la sensibilité accrue du cerveau aux RCPs. De plus l'administration de faibles doses de GA₃ combiné à l'ETP pendant une période prolongé de 23 semaines a des souris avait perturbé les taux de AChE dans les érythrocytes et le cerveau (El-Okazy, 2008). Ainsi, nos résultats suggèrent que le 1-MCP peut entraînant une diminution des activités enzymatiques notamment c'elle de l'AChE par l'augmentation des radicaux oxygène

réactifs en raison de la condition de stress chez les rats. Il est connu que les radicaux superoxydes, par eux-mêmes ou après leur transformation en H_2O_2 , provoquent une oxydation de la cystéine dans l'enzyme et diminuent l'activité des enzymes [Das et Mukherjee \(2003\)](#) ont déclaré que la raison de la diminution de l'activité de l'AChE pourrait être directement due aux effets des polluants sur la partie active de l'enzyme ou indirectement à l'inhibition de la synthèse de l'enzyme ([Das et Mukherjee, 2003](#)). De plus, Les rapports récents montrent que la toxicité de nombreux xénobiotiques, y compris les RCPs, est liée à la production de ROS qui interagissent avec les tissus, provoquant de nombreuses aberrations pathophysiologiques ([Celik et al., 2006](#)). En fait, les ROS peuvent endommager chaque composant cellulaire majeur, y compris les protéines, les lipides, les glucides et l'ADN.

En somme, notre étude souligne les effets néfastes du 1-MCP sur le système antioxydant et la peroxydation lipidique dans le cerveau des rats. Ces résultats mettent en évidence une sensibilité accrue du cerveau aux dommages oxydatifs induits par le 1-MCP ainsi que son potentiel neurotoxique soulignant l'importance de mieux comprendre ces mécanismes pour préserver la santé neurologique.

Les résultats de l'étude *in silico* ont révélé que le 1-MCP peut traverser des membranes, son transport, son absorption et sa diffusion est facilité grâce à son poids moléculaire ([Waring, 2009](#)). Et il est peut-être transporté facilement par voie transcellulaire ([Kelder, 1999](#)). De plus, le 1-MCP a un score de biodisponibilité de 0,55, ce qui indique qu'il a une probabilité plus élevée d'être disponible pour des interactions biologiques dans l'organisme, est donc susceptible d'avoir une activité biologique et d'interagir avec les biomolécules ([Martin et al., 2005](#)). Ce qui explique son interaction et son effet inhibiteur sur certains enzymes antioxydantes tel que la catalase et l'acétylcholinestérase.

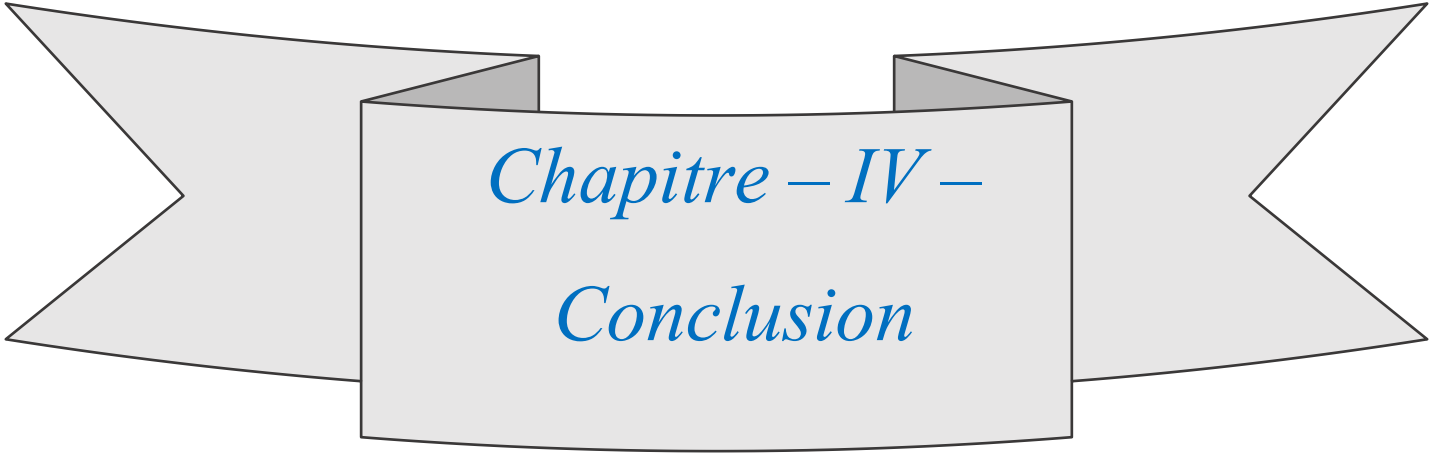
Par ailleurs, les résultats ont montré que le 1-MCP n'est pas un inhibiteur des enzymes du cytochrome P450. Suggérant que le 1-MCP est métabolisé par des voies métaboliques

alternatives qui n'impliquent pas les enzymes du système P450 et que son hépatotoxicité observé lors de l'étude in vivo est principalement due à un stress oxydatif en provoquant des dommages aux cellules hépatiques ou en perturbant l'équilibre des réactions redox dans le foie, sans agir sur les enzymes du système P450, mais plutôt sur les mécanismes de défense antioxydants du foie, tels que la diminution des niveaux d'enzymes antioxydantes ou la perturbation de l'activité des systèmes de détoxification endogènes, Ce qui concorde avec son score de score de biodisponibilité de 0,55, qui indique sa capacité d'avoir une activité biologique et d'interagir avec les biomolécules (Martin et al., 2005).

L'étude a montré que le 1-MCP ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique (Figure 24), en complémentarité avec l'étude in vivo, nos résultats suggèrent que les effets neurotoxiques observés sont principalement due aux radicaux libres générés par la métabolisation du 1-MCP plutôt que par le produit lui-même, ces derniers auront un effet direct sur le statut oxydo-redox des cellules nerveuses au niveau cérébrale.

D'autre part, la DL50 % prédite est de 810 mg/kg, et donc une classe de toxicité de 4, ce qui signifie que le composé est nocif s'il est avalé (Figure 25) (Unietd Nations, 2019). Ces résultats sont en contradiction avec les résultats de l'EFSA qui émit les autorisations de mise en marché et qui a classé le 1-MCP comme ayant une très faible toxicité et une DL50 % de 5000 mg/kg (EPA, 2008). Ce qui sonne l'alarme encore plus sur son utilisation et les doses autorisés lors des traitement agricoles. Les tests ont également prédit que le 1-MCP n'est pas hépatotoxique, immuno-toxique, mutagène mais cancérigène avec une probabilité de 60 %. Ainsi, nos résultats suggèrent que le 1-MCP pourrait induire des cancers par des mécanismes indirects, tels que le stress oxydatif chronique, favorisant un environnement cellulaire propice à la prolifération cellulaire incontrôlée, même sans provoquer de mutations directes dans l'ADN (ce qui serait une cause directe de mutagénicité). Les tests in silico peuvent avoir montré que le métabolisme hépatique du 1-MCP n'active pas de voies toxiques connues dans le foie. Cependant, les

résultats de l'expérimentation animale montre clairement des dommages structuraux et fonctionnels au niveau du foie probablement lié au processus de peroxydation lipidique. Ces résultats soulignent la nécessité d'examiner de manière holistique les effets toxicologiques potentiels des substances chimiques. La prédiction élevée de la carcinogénicité du 1-MCP, ainsi que son hépatotoxicité prouvée sur le modèle animal montre qu'il peut exercer des effets néfastes par des mécanismes complexes et parfois indirects. La découverte de potentielle carcinogénicité du 1-MCP doit inciter à une recherche plus approfondie sur les risques à long terme liés à l'exposition humaine au 1-MCP, particulièrement dans un contexte d'utilisation croissante en horticulture.



Chapitre – IV –
Conclusion

Chapitre -IV- Conclusion

La présente étude, menée sur l'effet du 1-méthylcyclopropène sur divers paramètres biologiques chez les rats albinos a révélé des résultats significatifs et préoccupants. Bien que le 1-MCP soit largement utilisé pour prolonger la durée de conservation des fruits et légumes en inhibant l'action de l'éthylène, les résultats de cette étude suggèrent qu'une exposition sub-chronique à ce composé peut avoir des effets délétères sur la santé des mammifères, y compris des humains. Les principaux constats de l'étude incluent une perturbation notable des paramètres hématologiques, des fonctions hépatiques, ainsi que du système antioxydant, tant au niveau du foie que du cerveau.

Les résultats ont montré une augmentation significative des globules blancs et des plaquettes, indiquant une réaction inflammatoire ou une altération des réponses immunitaires. Les fonctions hépatiques ont été compromise, comme en témoignent les niveaux élevés d'ASAT et d'ALAT, ainsi que les modifications histopathologiques observées dans le foie des rats traités. De plus, le stress oxydatif, illustré par des niveaux élevés de MDA et une diminution de la teneur en GSH, a été significatif tant au niveau hépatique que cérébral, suggérant que le 1-MCP provoque une peroxydation lipidique et des dommages cellulaires. L'inhibition de l'acétylcholinestérase dans le cerveau, un indicateur de toxicité neurologique, renforce l'idée que le 1-MCP peut interférer de manière toxique avec le système nerveux. Par ailleurs, l'étude *in silico* a confirmé la capacité du 1-MCP à interagir avec les biomolécules, soulignant sa toxicité orale et son potentiel cancérigène chez les mammifères.

Des études à long terme avec une gamme plus large de doses doivent être menées pour mieux comprendre les effets chroniques du 1-MCP et déterminer les seuils de sécurité pour une exposition prolongée, et pour élucider les mécanismes moléculaires par lesquels le 1-MCP induit le stress oxydatif et les dommages cellulaires. Une attention particulière devrait être portée à l'interaction du 1-MCP avec les systèmes enzymatiques et antioxydants. De plus, une

Investigation sur les effets combinés du 1-MCP avec d'autres pesticides ou régulateurs de croissance des plantes pour comprendre les interactions potentielles et les effets synergiques sur la santé est essentielle. Cette étude vise à encourager la mise en place des protocoles rigoureux pour surveiller les résidus de 1-MCP dans les fruits et légumes, particulièrement dans les pays en développement, afin de garantir que les niveaux restent en dessous des seuils de sécurité, et développer des alternatives au 1-MCP qui offrent les mêmes avantages de prolongation de la durée de conservation sans les effets néfastes sur la santé humaine et animale. Cependant ; réévaluer les politiques de réglementation concernant l'utilisation du 1-MCP et émettre des directives plus strictes est nécessaires pour protéger la santé publique. La découverte de la carcinogénicité du 1-MCP doit inciter à une réévaluation des pratiques agricoles et à une stricte régulation pour garantir la sécurité des consommateurs.

En conclusion, bien que le 1-MCP joue un rôle crucial dans la conservation des produits agricoles, cette étude souligne l'importance de continuer à évaluer et à réglementer son utilisation afin de minimiser les risques pour la santé humaine et animale. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour développer des stratégies de conservation des aliments qui soient à la fois efficaces et sûres.

Chapitre -VI- Références bibliographiques

« A »

- Abdel-Rahman, M. F., El-Azhari, D. B., & Amin, H. M. (2023). The potential protective role of vitamins C against adverse effects of some plant growth regulators in albino rats. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 337-346.
- Abou-Zeid, S. M., Allam, T., El-Bahrawy, A., & Mohamed, A. (2018). Ameliorating effects of green tea on ethephon-induced immunotoxicity and oxidative stress in mice. *Int J Pharm Sci Res*, 4(1), 1-9.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, 105, 121-126. doi:10.1016/s0076-6879(84)05016-3
- Ahmed, A., Ahmed, M., Adam, G. O., Yang, D. K., Tungalag, T., Lee, S. J., ... & Kim, S. J. (2023). Effect of Low-dose Indole-3-Butyric Acid on Hematological and Serum Biochemical Parameters against Thioacetamide-Induced Acute Hepatotoxicity in Rats. *Pakistan Veterinary Journal*, 43(1).
- El-Okazy, A. M. (2008). The effects of combination of gibberellic acid-3 (GA3) and ethephon (2-chloroethyl phosphonic acid)(plant growth regulators) on some physiological parameters in mice. *J Egypt Public Health Assoc*, 83(1-2), 67-86.
- Andrew, G. S., Simon, U. T., John, A. U., Godwin, O. O., Alexander, N. I., & Ikagu, Y. M. (2018). Studies on changes in some haematological and plasma biochemical parameters in wistar rats fed on diets containing calcium carbide ripened mango fruits. *Int J Food Sci Nutr Eng*, 8(2), 27-36.

« B »

- Barański, M., Średnicka-Tober, D., Rempelos, L., Hasanaliyeva, G., Gromadzka-Ostrowska, J., Skwarło-Sońta, K., ... & Leifert, C. (2021). Feed composition differences resulting from organic and conventional farming practices affect physiological parameters in Wistar rats—results from a factorial, two-generation dietary intervention trial. *Nutrients*, 13(2), 377.
- Bhadoria, P., Nagar, M., Bharihoke, V., & Bhadoria, A. S. (2018). Ethephon, an organophosphorous, a fruit and vegetable ripener: has potential hepatotoxic effects?. *Journal of family medicine and primary care*, 7(1), 179.

- Bhandari, G., Zomer, P., Atreya, K., Mol, H. G., Yang, X., & Geissen, V. (2019). Pesticide residues in Nepalese vegetables and potential health risks. *Environmental research*, 172, 511-521.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72, 248-254. doi:10.1006/abio.1976.9999

« C »

- Cannon, R. E., Graves, S., Spalding, J. W., Trempus, C. S., & Tennant, R. W. (2000). Oral administration of dimethylvinyl chloride increases frequency of forestomach papillomas in Tg. AC mice. *Molecular Carcinogenesis: Published in cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center*, 29(4), 229-235.
- Celik, I., Tuluca, Y., & Isik, I. (2006). Influence of subacute treatment of some plant growth regulators on serum marker enzymes and erythrocyte and tissue antioxidant defense and lipid peroxidation in rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 20(4), 174-182.
- Celik, I., & Tuluca, Y. (2007). Determination of toxicity of subacute treatment of some plant growth regulators on rats. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 22(6), 613-619.
- COC (2003). Committee on Carcinogenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. Statement on Carcinogenic Impurities in the Pesticide 1-Methylcyclopropene (1 MCP).
- Cohen, G., Dembiec, D., & Marcus, J. (1970). Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Anal Biochem*, 34, 30-38. doi:10.1016/0003-2697(70)90083-7
- Chen, C., Qian, Y., Chen, Q., Tao, C., Li, C., & Li, Y. (2011). Evaluation of pesticide residues in fruits and vegetables from Xiamen, China. *Food Control*, 22(7), 1114-1120.
- Chen, H., Hao, Z., Wang, Q., Jiang, Y., Pan, R., Wang, C., ... & Lu, C. (2016). Occurrence and risk assessment of organophosphorus pesticide residues in Chinese tea. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 22(1), 28-38.
- CIPAC (2009). 1-Methylcyclopropene Impurities GC method (4667/m). Spring House, Pa. 19477. CBE, P. B.

« D »

- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, 7(1), 42717.
- Das, B. K., & Mukherjee, S. C. (2003). Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 134(1), 109-121.
- de Melo, M. P., De Lima, T. M., Pithon-Curi, T. C., & Curi, R. (2004). The mechanism of indole acetic acid cytotoxicity. *Toxicology letters*, 148(1-2), 103-111.
- Diop, A., Diop, Y. M., Thiare, D. D., Cazier, F., Sarr, S. O., Kasprowiak, A., ... & Delattre, F. (2016). Monitoring survey of the use patterns and pesticide residues on vegetables in the Niayes zone, Senegal. *Chemosphere*, 144, 1715-1721.
- Donkor, A., Osei-Fosu, P., Dubey, B., Kingsford-Adaboh, R., Ziwu, C., & Asante, I. (2016). Pesticide residues in fruits and vegetables in Ghana: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 18966-18987.

« E »

- EFSA (European Food Safety Authority), Arena, M., Auteri, D., Barmaz, S., Brancato, A., Brocca, D., ... & Villamar-Bouza, L. (2018). Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance 1-methylcyclopropene. *EFSA Journal*, 16(7), e05308.
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 82(1), 70-77. doi:10.1016/0003-9861(59)90090-6
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- EPA (US EPA Office of Pesticide Programs) (2008) Biopesticides registration action document, 1-methylcyclopropene (PC Code 224459) (Vol. 1, pp. 23).

- Ernst, F., Alonso, B., Colazzo, M., Pareja, L., Cesio, V., Pereira, A., ... & Pérez-Parada, A. (2018). Occurrence of pesticide residues in fish from south American rainfed agroecosystems. *Science of the total environment*, 631, 169-179.
- Esparza, I., Jiménez-Moreno, N., Bimbela, F., Ancín-Azpilicueta, C., & Gandía, L. M. (2020). Fruit and vegetable waste management: Conventional and emerging approaches. *Journal of environmental management*, 265, 110510.

« F »

- FAO (2023). FAOSTAT DATABASE License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Extracted from: <https://www.fao.org/faostat/fr/#data/TCL>. Accessed 06 March 2023.
- Fan, X., Blankenship, S. M., & Mattheis, J. P. (1999). 1-Methylcyclopropene inhibits apple ripening. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 124(6), 690-695.
- Fischer, A. H., Jacobson, K. A., Rose, J., & Zeller, R. J. C. p. (2008). Cutting sections of paraffin-embedded tissues. 2008, pdb. prot4987-pdb. prot4987.
- Furukawa, S., Abe, M., Usuda, K., & Ogawa, I. (2004). Indole-3-acetic acid induces microencephaly in rat fetuses. *Toxicologic pathology*, 32(6), 659-667.

« H »

- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, 249(22), 7130-7139.
- Hafeman, D. G., Sunde, R. A., & Hoekstra, W. G. (1974). Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. *J Nutr*, 104(5), 580-587. doi:10.1093/jn/104.5.580
- Hajam, M. A., Hassan, G. I., Parray, E. A., Wani, M. A., Shabir, A., Khan, I. F., ... & Masoodi, L. (2018). Transforming fruit production by plant growth regulators. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1), 1613-1617.
- Henry, R. J., Chiamori, N., Golub, O. J., & Berkman, S. (1960). Revised spectrophotometric methods for the determination of glutamic-oxalacetic transaminase, glutamic-pyruvic transaminase, and lactic acid dehydrogenase. *Am J Clin Pathol*, 34, 381-398. doi:10.1093/ajcp/34.4_ts.381

- Hjorth, K., Johansen, K., Holen, B., Andersson, A., Christensen, H. B., Siivinen, K., & Toome, M. (2011). Pesticide residues in fruits and vegetables from South America–A Nordic project. *Food Control*, 22(11), 1701-1706.
 - Hou, X., Han, M., Dai, X., Yang, X., & Yi, S. (2013). A multi-residue method for the determination of 124 pesticides in rice by modified QuEChERS extraction and gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1198-1205.
- « I »
- Isik, I., & Celik, I. (2015). Investigation of neurotoxic and immunotoxic effects of some plant growth regulators at subacute and subchronic applications on rats. *Toxicology and Industrial Health*, 31(12), 1095-1105.

« J »

- Jallow, M. F., Awadh, D. G., Albaho, M. S., Devi, V. Y., & Ahmad, N. (2017). Monitoring of pesticide residues in commonly used fruits and vegetables in Kuwait. *International journal of environmental research and public health*, 14(8), 833.
- John, P. (1997). Ethylene biosynthesis: the role of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxidase, and its possible evolutionary origin. *Physiologia Plantarum*, 100(3), 583-592.

« K »

- Kariathi, V., Kassim, N., & Kimanya, M. (2016). Pesticide exposure from fresh tomatoes and its relationship with pesticide application practices in Meru district. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1196808.
- Katagiri, T., Takeuchi, T., Mine, T., Noguchi, T., Nishizawa, T., Yamamoto, S., ... & Matsushima, T. (2000). Chronic inhalation toxicity and carcinogenicity studies of 3-chloro-2-methylpropene in BDF1 mice. *Industrial health*, 38(3), 309-318.
- Kelder, J., Grootenhuis, P. D., Bayada, D. M., Delbressine, L. P., & Ploemen, J. P. (1999). Polar molecular surface as a dominating determinant for oral absorption and brain penetration of drugs. *Pharmaceutical research*, 16, 1514-1519.
- Khan, N. A. (Ed.). (2006). *Ethylene action in plants*. Springer Berlin Heidelberg.

- Kuchler, F., & Arnade, C. (2016). Consumers' welfare and off-season produce imports. *European Review of Agricultural Economics*, 43(4), 585-608.

« L »

- Lagunin, A., Rudik, A., Druzhilovsky, D., Filimonov, D., & Poroikov, V. (2018). ROSC-Pred: web-service for rodent organ-specific carcinogenicity prediction. *Bioinformatics*, 34(4), 710-712.
- Lehmann, E., Turrero, N., Kolia, M., Konaté, Y., & De Alencastro, L. F. (2017). Dietary risk assessment of pesticides from vegetables and drinking water in gardening areas in Burkina Faso. *Science of the Total Environment*, 601, 1208-1216.
- Lillie, R., Pizzolato, P., & Donaldson, P. J. H. (1976). Nuclear stains with soluble metachrome metal mordant dye lakes. 49(1), 23-35.
- Liu, S., Huang, X., He, H., Jin, Q., & Zhu, G. (2016). Evaluation of selected plant growth regulators and fungicide residues in fruits for dietary risk assessment. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 22(6), 1386-1395.

« M »

- Martin YC (2005) A bioavailability score. *J Med Chem* 48(9):3164–3170
- Marques, J. M. G., & Silva, M. V. D. (2021). Estimation of chronic dietary intake of pesticide residues. *Revista de Saúde Pública*, 55, 36.
- Mokhtari, T., Osman, H. E. H., El-Kenawy, A. E. M., & Dashti, N. (2020). Ameliorative effect of virgin olive oil against nephrotoxicity following sub-chronic administration of ethephon in male rats. *Journal of traditional and complementary medicine*, 10(5), 487-495.
- Muthu, S., Muthuraman, P., Muthuviveganandavel, V., & Srikumar, K. (2011). Acute effect of gibberellic acid on serum enzymes and blood markers in male albino rats. *International Journal of Drug Delivery*, 3(2), 340.

« N »

- National Toxicology Program. (1986a). NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Dimethylvinyl Chloride (1-Chloro-2-Methylpropene)(CAS No. 513-37-1) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). National Toxicology Program technical report series, 316, 1-238.
- National Toxicology Program. (1986b). NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of 3-Chloro-2-methylpropene (Technical grade containing 5% dimethylvinyl

chloride)(CAS No. 563-47-3) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). National Toxicology Program technical report series, 300, 1-196.

« O »

- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95(2), 351-358. doi:10.1016/0003-2697(79)90738-3
- Ozok, N., & Celik, I. (2012). Effects of subacute and subchronic treatment of synthetic plant growth regulators on liver damage serum biomarkers tissue antioxidant defense systems and lipid peroxidation in rats. *J Drug Metab Toxicol*, 3(124), 2.

« P »

- Paul, V., & Pandey, R. (2013). Delaying tomato fruit ripening by using 1-methylcyclopropene (1-MCP) for better postharvest management: current status and prospects in India. *Indian Journal of Plant Physiology*, 18, 195-207.
- Paul, V., & Pandey, R. (2017). 1-Methylcyclopropene (1-MCP) treatments. In *Novel Postharvest Treatments of Fresh Produce* (pp. 149-216). CRC Press.
- Pawlowski, N. E., Hendricks, J. D., Bailey, M. L., Nixon, J. E., & Bailey, G. S. (1985). Structural-bioactivity relationship for tumor promotion by cyclopropenes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 33(4), 767-770.

« R »

- Renwick, A., Leblanc, J. C., & Setzer, R. W. (2010). Application of the margin of exposure (MoE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic—Example: 1-Methylcyclopropene and its impurities (1-chloro-2-methylpropene and 3-chloro-2-methylpropene). *Food and chemical toxicology*, 48, S81-S88.
- Rezg, R., Mornagui, B., El-Fazaa, S., & Gharbi, N. (2008). Biochemical evaluation of hepatic damage in subchronic exposure to malathion in rats: effect on superoxide dismutase and catalase activities using native PAGE. *Comptes Rendus Biologies*, 331(9), 655-662.
- Rouphael, Y., Kyriacou, M. C., Petropoulos, S. A., De Pascale, S., & Colla, G. (2018). Improving vegetable quality in controlled environments. *Scientia Horticulturae*, 234, 275-289.

« S »

- Sedlak, J., & Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, 25(1), 192-205. doi:10.1016/0003-2697(68)90092-4
- Saltveit, M. E. (1999). Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest biology and technology*, 15(3), 279-292.
- Sisler, E. C., Goren, R., & Huberman, M. (1985). Effect of 2, 5-norbornadiene on abscission and ethylene production in citrus leaf explants. *Physiologia Plantarum*, 63(1), 114-120.
- Sisler EC, Blankenship SM (1996) U.S. Patent No. 5,518,988. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Spitz, D. R., & Oberley, L. W. (1989). An assay for superoxide dismutase activity in mammalian tissue homogenates. *Anal Biochem*, 179(1), 8-18. doi:10.1016/0003-2697(89)90192-9
- Sutcharitchan, C., Miao, S., Li, W., Liu, J., Zhou, H., Ma, Y., ... & Cui, Y. (2020). High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for residue determination of 39 plant growth regulators in root and rhizome Chinese herbs. *Food chemistry*, 322, 126766.

« T »

- Tepe, J., Benali, M., & Lemken, D. (2022). Consumer demand for novel fruit and vegetable products with extended shelf lives in East Africa: a multinational multi-product analysis. *Public Health Nutrition*, 25(6), 1472-1482.
- Tousson, E., El-Atrsh, A., Mansour, M., & Assem, A. (2019). Histopathological and immunohistochemical studies on the effects of Ethephon on liver and kidney in male rats. *Journal of Medical and Life Science*, 1(4), 104-109.
- Troudi, A., Samet, A. M., & Zeghal, N. (2010). Hepatotoxicity induced by gibberellic acid in adult rats and their progeny. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(6), 637-642.
- Troudi, A., Bouaziz, H., Soudani, N., Amara, I. B., Boudawara, T., Touzani, H., ... & Zeghal, N. (2012). Neurotoxicity and oxidative stress induced by gibberellic acid in rats

during late pregnancy and early postnatal periods: Biochemical and histological changes. *Experimental and toxicologic pathology*, 64(6), 583-590.

- Tudor, M., Cuciureanu, M., Cuciureanu, R., & Slencu, B. G. (2017). Experimental evaluation of the action of ethephon and sodium selenite on some hematological parameters in rats. *The Medical-Surgical Journal*, 121(4), 806-814.

« V »

- van Klaveren, J. D., & Boon, P. E. (2009). Probabilistic risk assessment of dietary exposure to single and multiple pesticide residues or contaminants: summary of the work performed within the SAFE FOODS project. *Food and Chemical Toxicology*, 47(12), 2879-2882.

« U »

- United Nations (2019) Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals, 8th, revised. United Nations, New York

« W »

- Wang, X., & Hao, W. (2023). Reproductive and developmental toxicity of plant growth regulators in humans and animals. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 105640.
- Waring, M. J. (2009). Defining optimum lipophilicity and molecular weight ranges for drug candidates—molecular weight dependent lower log D limits based on permeability. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 19(10), 2844-2851.
- Watkins, C. B. (2006). The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. *Biotechnology advances*, 24(4), 389-409.
- Whale, S. K., Singh, Z., Behboudian, M. H., Janes, J., & Dhaliwal, S. S. (2008). Fruit quality in 'Cripp's Pink' apple, especially colour, as affected by preharvest sprays of aminoethoxyvinylglycine and ethephon. *Scientia Horticulturae*, 115(4), 342-351.

« X »

- Xiong, Liming, and Jian-Kang Zhu. "Regulation of abscisic acid biosynthesis." *Plant physiology* 133.1 (2003): 29-36.

« Y »

- Yilmaz, Z., & Celik, I. (2009). Neurotoxic and immunotoxic effects of Indole-3-butyric acid on rats at subacute and subchronic exposure. *Neurotoxicology*, 30(3), 382-385.

« Z »

- Zhang, J., Ma, Y., Dong, C., Terry, L. A., Watkins, C. B., Yu, Z., & Cheng, Z. M. M. (2020). Meta-analysis of the effects of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on climacteric fruit ripening. *Horticulture Research*, 7.