



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Akli Mohand Oulhadj de Bouira
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre
Département des Sciences Biologiques



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Réf :...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2022

Domaine : SNV Filière : Science Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par :

ESAIED Radhia

GUESMI Sabrina

Thème

synthèse bibliographique sur l'état de l'art des techniques d'extraction d'ADN de certaines espèces végétales(cas de la sauge)

Soutenu le :07/07/2022Devant le jury composé de :

M. REMINI Hocine

MCB

Univ. De Bouira

Président

M. MAHDJOUR Mohamed Malik

MCB

Univ. De Bouira

Promoteur

M. KADRI Nabil

MCA

Univ. De Bouira

Examineur

Année universitaire : 2021-2022

Remerciements

Avant tout nous tenons à remercier celui qui nous a créé, protégé, aidé et celui qui nous a donné la force, la patience et le courage pour pouvoir accomplir notre travail dans les meilleures conditions en disant « Dieu Merci ».

*Nous exprimons toutes nos gratitudees et nos sincères remerciements à notre promoteur monsieur **Mahdjoub Mohamed Malik**, d'avoir accepté de nous encadrer, ses conseils ses orientations et ses encouragements ainsi que pour la confiance qu'il nous a donné tout au long de la réalisation de ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier aussi les membres de jury **M. REMINI Hocine** et **M. KADRI Nabil** d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce mémoire.*

Nous remercions infiniment tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce projet

Dédicace

Aucune dédicace ne saurait exprimer tout ce que nous ressentons pour vous nos chers parents. Nous vous remercions pour tout le soutien exemplaire et l'amour exceptionnel que vous nous portez depuis notre enfance et nous espérons que votre bénédiction nous accompagnera toujours.

A nos frères avec notre tout reconnaissance pour votre soutien et vos encouragements.

A nos sœurs pour votre supporte et pour votre soutien et vos encouragements.

A toute nos amies et nos camarades

A tous qui nous aime

....Merci pour tout...

C'est grâce à vous que nous avons trouvé la force de nous dépasser et d'arriver jusque là.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales

I.1. Les plantes médicinales	Erreur ! Signet non défini.
I.2.1. Définition d'une plante médicinale	2
I.2.2. Historique des plantes médicinales	3
I.2.3. Les plantes médicinales en Algérie	4
I.2.4. Intérêt et importance des plantes médicinales	4
I.2. La famille des Lamiacées	5
I.2.1. Une vue alternative sur les lamiacées	5
I.2.1. Description botanique générale	6
I.2.1. Les activités biologiques des lamiacées	7
I.2.1.1. Les lamiacées comme antioxydants	7
I.2.1.1. Les lamiacées comme agents antimicrobiens	8
I.2.1.1. Les lamiacées comme agents anti-inflammatoires	Erreur ! Signet non défini.
I.2.1.1. Lamiacées et autres activités des substances contenues	Erreur ! Signet non défini.
I.2. Généralités sur la sauge	9
I.2.1.1. Origine	9
I.2.1.2. Historique de la culture	9
I.2.1.3. Classification taxonomique	10
I.2.1.4. Répartition géographique de genre <i>Salvia</i> dans le monde	10
I.2.1.5. Noms vernaculaires	11
I.2.1.6. Description botanique	11
I.2.1.7. Aspect photochimique	13
I.2.1.8. Principaux usages de la sauge	13
I.2.1.9. Toxicité de la plante	15

Chapitre II : L'extraction d'ADN

II.1. Généralité sur le monde cellulaire	17
II.2. ADN et organismes	19
II.3. L'histoire de l'extraction d'ADN	19
II.4. Principe de l'extraction d'ADN.....	20
II.5. Les différentes méthodes d'extraction d'ADN.....	22
II.5.1. Les méthodes conventionnelles	22
II.5.2. Les méthodes modernes	23
Chapitre III: l'extraction d'ADN dans le monde végétal	
III.1. L'extraction d'ADN pour les plantes médicinales.....	33
III.1.1. Extraction d'ADN d'Armoise blanche	33
II.1.L'extraction d'ADN pour la famille des <i>Lamiacées</i>	35
II.5.1. Le genre de <i>Salvia</i>	35
Conclusion.....	41
References bibliographiques	

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique
ARNm: acide ribonucléique messenger
CA: chromatographie d'affinité
CEI: chromatographie échangeuse d'ions
CIA: chloroforme isoamylique
CsCl: chlorure de césium
CTAB : cetyltriméthylammonium bromide
DEAE: diéthylaminoéthyl cellulose
DM :dry matter (matière sèche)
DPPH : Di Phényl Picryl Hydrazyle
EDTA :Éthylènediaminetétraacétique
EtBr: bromure d'éthium
PCIA : phénol chloroforme-alcoolisoamylique
PCR : Polymerase Chain Reaction
PVP : polyvinyl pyrrolidone
RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism
SDS : dodécylsulfate de sodium
SEC: chromatographie d'exclusion de taille
TE:Tris-EDTA
UV : ultra violet

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 01	Romarin officinal (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	02
Figure 02	Le quinquina (<i>Cinchona officinalis</i>)	03
Figure 03	<i>Scutellaria altissima</i> le genre de <i>Scutellaria</i>	06
Figure 04	La plante Chia	10
Figure 05	Diversité morphologique de quelques espèces de genre <i>Salvia</i>	12
Figure 06	Représentation d'une fleur de la sauge	13
Figure 07	Organisation d'une cellule végétale	17
Figure 08	Emplacement d'ADN dans la cellule	19
Figure 09	Interprétation artistique de la lyse progressive de membrane plasmique et nucléaire	21
Figure 10	L'Armoise blanche	33
Figure11	<i>Salvia officinalis</i> dans la nature	35

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Position systématique de genre <i>Salvia</i>	10
Tableau 2	Les principales différences entre cellule animale/végétale et eucaryote/procaryote	18
Tableau 3	Comparaison des différents critères de diverses méthodes d'extraction d'ADN	36
Tableau 4	Comparaison de rendement d'extraction d'ADN entre les méthodes utilisées	39

Introduction

Introduction

La Biologie moléculaire a fait de grands progrès dans ses différents domaines en bénéficiant du développement de diverses technologies qui sont devenues basées sur l'extraction de l'ADN, qui est la matière première de nombreuses études génétiques. Les différentes techniques pour son étude sont importantes, car certaines caractéristiques génétiques peuvent présenter un intérêt économique et / ou être liées à la santé, par conséquent, des études de base sur les techniques d'extraction de l'ADN avec une concentration adéquate et complète sont cruciales pour le développement de recherche de cette discipline. La purification de l'ADN génomique est une étape de base importante dans des différentes applications biologique et médicale. Dans nombreux espèces végétales, la qualité de L'ADN purifié ne présente aucun problème grâce aux métabolites secondaires qui interfèrent avec des différents procédures d'isolement de l'ADN (Abdellaoui *et al.*, 2012).

L'ADN est une molécule de base de tous les organismes vivants car elle porte l'information génétique qui permet l'existence d'une cellule, d'un organe, d'un organisme et qui va être transmise aux générations futures. L'ADN ou l'acide désoxyribonucléique est composé d'un groupement phosphate liée à un sucre (désoxyribose), lorsque ce complexe forme la nucléotide, et l'assemblage des nucléotides par polymérisation donne naissance à un brin d'ADN (Abdellaoui *et al.*, 2012).

La plante médicinale possède des propriétés thérapeutiques qui existent au niveau de diverses parties de celle-ci, ce qui la rend utilisée pour le traitement et la guérison. L'utilisation de ce type de traitement n'est pas moderne, mais remonte à des milliers d'années, car l'homme a travaillé dur pour découvrir ceux qui peuvent être utilisés ceux qui se sont avérés toxique. Puisque les plantes médicinales proviennent de la nature c'est ce qui les fait varier en grand nombre et les distinguer de manière traditionnelle (Passeport santé, 2015).

Le but de notre travail est de réaliser l'état de l'art de certaines espèces végétales précisément le genre *Salvia* de la famille des *Lamiaceae* à travers une étude comparative entre des différentes méthodes de purification de matériel génétique pour avoir un meilleur résultat quantitatif et qualitatif d'après la vérification de la pureté d'ADN extrait.

Ainsi, ce manuscrit est divisé en trois parties :

- La première partie est un aperçu sur les plantes médicinales ,la famille des Lamiacées (sa description botanique et ses activités biologiques) avec des généralité sur le genre *Salvia* et ses principales domaines.
- La deuxième partie de ce travail a traité tout ce qui concerne les techniques d'extraction d'ADN, leurs caractéristiques, principes et développements depuis la première expérience d'isolement de matériel génétique jusqu'au présent.
- La troisième partie de l'étude a été consacrée à l'étude de diverses techniques d'extraction d'ADN appliquées à diverses espèces végétales en s'appuyant sur les caractéristique comparative de différents protocoles.

Notre étude s'achèvera par une conclusion générale regroupant tous les résultats obtenus.

*Chapitre I : Généralités sur les
plantes médicinales*

Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales

I.1. Les plantes médicinales:

I.1.1. Définition d'une plante médicinale:

Plante médicinale : c'est une espèce végétale qui constitue de principes actifs ou métabolites secondaires responsables des activités biologiques différentes soit au niveau général de la plante ou dans une partie de ses organes par exemple la feuille ou l'écorce qui possède des vertus curatives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise (Chabrier,2010).



Figure 01:Romarin officinal (*Rosmarinus officinalis*) (Martinat, 2020).

I.1.2. Historique des plantes médicinales

L'utilisation des plantes pour se soigner date de la préhistoire et tous les peuples de tous les continents utilisent ce vieux remède. Malgré les efforts des chimistes, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (El haykle & Omar 1993). Depuis la nuit des temps et à travers les siècles, les traditions humaines apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes et ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales (Gurib-Fakim, 2006). Jusqu'au XIXe siècle, les médecins se contentaient, pratiquement, de puiser dans la « pharmacie du bon dieu » pour soulager les maux de leurs contemporains. C'est alors que les chimistes ont réussi à isoler les principes actifs de certaines plantes importantes (la quinine du *Quinquina*(Figure 3), la digitaline de la digitale, etc...). Poursuivant leurs recherches au début du XXe siècle, ils ont fabriqué des molécules synthétiques. Récemment, des médecins et des

professeurs dynamiques ont créé des centres de formation en phytothérapie (dans des universités ou dans des institutions privées). Ils expérimentent de nouvelles plantes, modernisant la présentation des médicaments et rendent ceux-ci plus efficaces. Aujourd'hui, les plantes ont montrés leurs efficacités thérapeutiques prouvées et leurs bienfaits incontestables pour notre santé (Cragg & Newman, 2003)



Figure 02 : Le quinquina (*Cinchona officinalis*)

I.1.3. Les plantes médicinales en Algérie :

En Algérie, l'utilisation des plantes médicinales est considérée comme existant depuis l'Antiquité de sorte qu' Ishâ Ben-Amran et Abdallah Ben-Lounès ont été les premiers à écrire sur ces dernières au 9ème siècle, mais après le passage de cette période, à savoir aux 17ème et 18ème siècles, la culture de la production de livres traitant de tout ce qui concerne ce type d'herbe a balayé. Pendant l'occupation française, les botanistes sont venus à travers diverses études pour compiler et former des catalogues qui incluent un grand nombre de ces plantes de différents types. En 1942, un livre contenant 200 espèces végétales a été publié par Roquit et Forment, qui provenaient toutes de la région nord de l'Algérie à l'exception de 6 espèces qui étaient d'origine désertique algérienne. Les derniers sujets des plantes médicinales algériennes ont été présentés en 1998 et 1999 dans les ouvrages de Babal-Wad et Baba Issa respectivement lorsque 600 espèces ont été collectées au niveau national. En effet, on peut dire que notre pays constitue une richesse importante en cette diversité végétale à intérêt

médicinal de sorte qu'elle couvre presque tous les besoins du marché pour les différentes utilisations de ce trésor naturel (Adouane, 2016).

I.1.4. Intérêt et Importance des plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs. La tubocurarine, le relaxant musculaire le plus puissant dérive du Curane (*Chondroendron tomentosum*). La morphine, alcaloïde caractéristique des Papavères (*Papaver somniferum*) est l'analgésique le plus puissant, utilisé dans la chirurgie lourde et la thérapie anticancéreuse (Verdrager, 1978. Anonyme, 1999). Il est difficile d'imaginer le monde sans la Quinine (dérivée du genre *Cinchona*) qui est un alcaloïde anti malarique, sans la Dioxine (du genre *Digitalis*) qui est cardiotonique, ou encore l'Ephédrine (du genre *Ephédra*) que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre le rhume stimule l'automatisme cardiaque, elle est bronchodilatatrice et stimulante du centre respiratoire bulbaire (Verdrage, 1978. Anonyme, 1999). Il est acquis que les plantes médicinales sont en mesure de soigner des maladies simples comme le rhume, ou d'en prévenir de plus importantes comme l'ulcère, la migraine, l'infarctus en plus de certaines allergies ou affections. Si l'on y ajoute leurs vertus réparatrices, tonifiantes, sédatives, revitalisantes ou immunologiques, on mesure mieux l'aide précieuse qu'elles sont susceptibles de nous apporter au quotidien (Anonyme, 2005). Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable: c'est l'un de leurs principaux avantages. De plus, l'action synergique des divers constituants commence à être mieux comprise et acceptée scientifiquement (Decaux, 2002), contrairement à certaines croyances populaires, plusieurs plantes ont des effets pratiquement immédiats sur le métabolisme. Par contre, les médicaments de synthèses ont souvent une action plus directe et plus spectaculaire puisqu'ils sont formulés pour être immédiatement assimilés par l'organisme. Il est également plus facile de s'assurer de leur composition exacte, de leurs conditions de conservation (Mills & Simon, 2001). Certaines plantes sont inoffensives, mais d'autres, comme de nombreuses espèces (digitale, belladone, colchique, etc...), sont toxiques et ne sont utilisées sous des formes bien contrôlées, exclusivement commercialisées en pharmacie. L'emploi inconsidéré de plantes cueillies dans la nature peut aboutir à des intoxications graves et mortelles (Williamson, 2001).

I.2. Les *Lamiacées* :

I.2.1. Une vue alternative sur la famille des *Lamiacées* :

Les *Lamiacées* (*Labiatae*) sont une famille de l'ordre des Lamiales. Il contient d'importantes plantes médicinales et aromatiques, très importantes dans l'industrie du miel et des cosmétiques. Il contient des herbes culinaires célèbres comme la Sauge, la Menthe, le Thym et la Sarriette. Leurs constituants chimiques, y compris les terpénoïdes et les flavonoïdes, sont les agents importants pour leurs propriétés aromatiques, antioxydantes, antibactériennes et antifongiques. Les *Lamiacées* (*Labiatae*) sont une famille composée de 250 genres et de plus de 7000 espèces. Les plus grands genres appartenant à cette famille sont *Salvia*, *Scutellaria*(Figure 4), *Stachys*, *Plectranthus*, *Hyptis*, *Teucrium*, *Thymus*, *Vitex*, *Nepeta*, etc. Un grand nombre d'espèces de *Lamiacées* habitent différents écosystèmes et ont une grande diversité avec une distribution cosmopolite. La plupart des espèces sont aromatiques et possèdent un mélange complexe de composés bioactifs qui contribuent à l'activité biologique globale dans des conditions *in vitro* et *in vivo* à travers ses métabolites secondaires. Les plantes de la famille des *Lamiacées* sont largement cultivées et sont donc considérées comme une source indispensable d'aliments fonctionnels. Sur la base de ces faits, de nombreux travaux de recherche ont été menés sur différents aspects des espèces de *Lamiacées* en ce qui concerne leur biologie, leur écologie et leurs applications (Stankovic, 2020).



Figure 03: *Scutellaria altissima* de genre *Scutellaria*(Schönfelder& Peter, 2015).

I.2.2. Description botanique générale :

✓ Feuilles, tiges et racines :

Les tiges de cette famille sont très souvent carrées. Les feuilles sont simples et non divisées, par paires sur la tige, chaque paire à angle droit avec la dernière, et elles sont fréquemment poilues ou avec des glandes olfactives (A bit of botany, 2013).

✓ Fleurs :

Ce sont les fleurs qui donnent à cette famille de plantes son nom original de *Labiatae*. Ils ont deux lèvres, l'une plus saillante que l'autre (labia est le latin pour «lèvre»). Généralement, la lèvre supérieure a deux lobes et forme un capuchon sur la lèvre inférieure, et la lèvre inférieure se compose de trois lobes qui forment une plate-forme d'atterrissage pour les insectes pollinisateurs. Les fleurs apparaissent en verticilles ou en cercles autour de la tige, et chaque fleur dépasse d'un calice pointu (A bit of botany, 2013).

Récemment, le panel international de botanistes qui statuent sur ces choses a décidé que toutes les familles de plantes devaient avoir la même terminaison (*-aceae*), et être nommées d'après une plante typique de la famille, de sorte que la famille s'appelle maintenant *Lamiaceae*, d'après le type plante, *Lamium* (ortie morte) (A bit of botany, 2013).

✓ Graine :

Chaque fleur peut produire quatre graines. Ils se forment à la base de la fleur et se développent à l'intérieur du calice. Il n'y a pas de gousse. Lorsque les graines sont mûres, elles sortent simplement du calice (A bit of botany, 2013).

I.2.3. les activités biologiques des *Lamiacées* :

➤ Les *Lamiacées* comme antioxydants :

Les antioxydants végétaux sont très importants car leur présence dans l'alimentation humaine peut aider le corps à neutraliser les radicaux libres et à réduire les dommages causés par le stress oxydatif. Au contraire, les antioxydants synthétiques ont une activité possible en tant que promoteurs de la cancérogenèse (Suhaj, 2006). L'activité antioxydante des composés phénoliques dépend de la structure et de la nature des substitutions sur les cycles aromatiques (Balasundram et al., 2005) alors que leurs bienfaits pour la santé dépendent de leur absorption

et de leur métabolisme (Parr & Bolwel, 2000). La plupart des sources d'antioxydants des Lamiacées appartiennent à la sous-famille des Nepetoideae, notamment le Basilic, la Mélisse, la Marjolaine, la Menthe, l'Origan, le Romarin, la Sauge, etc. Ils contiennent de l'acide rosmarinique et sont fréquemment abondants en terpènes volatils parfumés (Wink, 2003). De plus, les extraits de Romarin ont été les premiers antioxydants naturels commercialisés. Dans l'étude de Kaefer et Milner (2008), le Thym, la Sauge, le Romarin et la Marjolaine ont montré la plus grande capacité antioxydante parmi les herbes étudiées. Albayrak et coll. (2013) ont montré qu'outre le Thym, le Romarin, la Sauge, la Menthe poivrée, la Mélisse et le Basilic contiennent également une quantité considérable de composés phénoliques avec de fortes activités antioxydantes totales et de piégeage des radicaux DPPH. Les espèces susmentionnées sont parmi les espèces les plus fréquemment étudiées de la famille des *Lamiacées* et leur activité antioxydante a été démontrée dans de nombreuses études (Gonçalves *et al*, 2009).

➤ **Les *Lamiacées* comme agents antimicrobiens:**

Il est bien documenté que la majorité des espèces étudiées appartenant à la famille des Lamiacées, par exemple la Mélisse, la Menthe, le Basilic, l'Origan et le Romarin (Toroglu, 2009) possèdent des propriétés antimicrobiennes. Le thymol et le carvacrol sont les principaux composants responsables de ces propriétés car ils interfèrent avec le métabolisme cellulaire après avoir pénétré dans la cellule (Marino *et al.*, 2001). L'une des espèces de *Lamiacées* les plus célèbres riches en acide ursolique est le Romarin qui a fait l'objet de nombreuses études. L'étude de Sharma et Bhadange (2013) a montré que le Basilic (*Ocimum gratissimum* et *Ocimum kilimandscharicum* et *Pogostemon benghalensis* Kuntze) possèdent une activité antimicrobienne contre les souches bactériennes (*e. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium*) et fongiques (*C. albicans* et *A. niger*). La Mélisse, la Menthe, le Basilic, le Boldo brésilien (*Plectranthus barbatus* Andrews) et le Romarin ont fait l'objet de l'étude Araújo et al. (2014) ont montré une activité antibactérienne sur les souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif (*e. faecalis*, *S. aureus*, *S. mutans*, *e. coli*, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa*) (Carović-Stanko *et al*, 2016).

➤ **Les *Lamiacées* comme agents anti-inflammatoires :**

La découverte d'agents inflammatoires naturels et le développement ultérieur de des compléments alimentaires naturels aux activités anti-inflammatoires, revêtent une importance

considérable pour la santé publique, car la malnutrition (habitude alimentaire moderne) est liée à l'inflammation, aux bienfaits du vieillissement et à d'autres processus dégénératifs (Charami *et al.*, 2008). L'espèce de la famille des *Lamiacées* est une grande source de composés phénoliques d'activité biologique multidirectionnelle, y compris anti-inflammatoires. Les principales classes de composés phénoliques signalés comme présents dans la famille des *Lamiacées* sont les acides phénoliques, principalement l'acide caféique et l'acide rosmarinique et les flavonoïdes. Les espèces de la famille des *Lamiacées* connues pour posséder une activité anti-inflammatoire sont l'Hysope géante mexicaine, Lavande, Sauge, Savoureux et le Lévrier (Carović-Stanko *et al.*, 2016).

➤ ***Lamiacées* et autres activités des substances contenues :**

De plus, les espèces de *Lamiacées* sont une source importante d'agents préventifs pour le traitement des problèmes de santé mondiaux. Pour le diabète *Gmelina arborea* Roxb, *Marrubium vulgare* L, *Salvia hispanica* L se sont avérés efficaces, tandis que *Salvia elegans* Vahl, *thymus capitatus* (L.), *Salvia hispanica* L, et *thymus serpyllum* L peut être utilisé pour l'hypertension (Jovanovic *et al.*, 2005). En raison de leur composition chimique, les espèces de la famille des *Lamiacées* indiquent un grand potentiel en tant qu'aliments fonctionnels. De nombreuses études ont montré leurs propriétés qui peuvent être pertinentes pour la promotion de la santé et la prévention ou le traitement de certaines maladies (Carović-Stanko *et al.*, 2016).

1.3. Généralités sur la Sauge :

1.3.1. Origine:

La Sauge est une plante vivace annuelle et bisannuelle originaire des régions méditerranéennes orientales. Elle préfère les terrains chauds et calcaires. Elle croît de manière spontanée et en culture de long de tout le bassin méditerranéen, depuis l'Espagne jusqu'à la Turquie, et dans le Nord de l'Afrique. Elle est économiquement un des genres les plus importants et comprend près de 1000 espèces à travers le monde, et représente l'un des plus grands genres dans la famille des *Lamiacées* (Djerroumi et Nacef, 2004).

1.3.2. Historique de la culture

En 1551, un herboriste anglais a observé que la Sauge « restaure la chaleur naturelle, améliore la mémoire et stimule les sens ». La Sauge est l'une des plantes médicinales la plus renommées, aux multiples vertus, dont celle de stimuler l'ensemble de l'organisme (Chevrillier, 2007),

D'après la 1^{ère} histoire, une variété de Sauge appelée « Chia » était cultivée par les mexicains. Les grecs, les romains et les arabes ont utilisé la Sauge comme tonique, et en compresse contre les morsures de serpent. Au 18^{ème} siècle, les feuilles de la Sauge ont été roulées comme des cigarettes pour les fumer contre l'asthme et surtout au printemps (Madi, 2007).



Figure 04: La plante Chia (Gardening Know How, 2021).

1.3.3. Classification taxonomique :

La position systématique de la Sauge est résumée dans le tableau n°1 :

Tableau n° 1: Position systématique du genre *Salvia* (Cronquist, 1981)

Règne	Plantae
Embranchement	Cormophytes
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Salvia</i> L.

1.3.4. Répartition géographique de genre *Salvia* dans le monde :

Le genre *Salvia* donne aux *Lamiaceae* une grande diversification botanique et géographique grâce à sa composition de plus de 900 espèces distribuées dans le monde entier principalement en Amérique latine et centrale, Asie occidentale et orientale et en Afrique dans la région Nord-Ouest et la zone méditerranéenne (Ozler *et al*, 2011)

1.3.4. Noms vernaculaires :

- Français : Grande Sauge, Thé d'Europe, Thé de Provence, Sauge commune, Herbe sacré
- Anglais : Sage, Great sage, Garden sage.
- Arabe : Souak en nebi, Salma, Naama. Marimia
- Berbère : Tazourt (Djelili, 2007).

1.3.5. Description botanique du genre *Salvia*:

L'identification des espèces de genre *Salvia* se fait principalement par leurs tiges qui ont une forme quadrangulaire, leurs feuilles simples et opposées, veloutées ou poilues qui sont souvent rugueuses, entières, dételées, lobées (Kabouche, 2005).



Figure05: Diversité morphologique de quelques espèces du genre *Salvia* (Hu *et al.*, 2011).

Les fleurs sont généralement bisexuées, mais parfois unisexuées, fleurissant selon les espèces du printemps à l'automne. Le calice se compose de cinq sépales partiellement fusionnés qui forment un tube à double lèvres (bilabié), qui fixe la corolle et l'ovaire au pédicelle. Les apex des lèvres supérieures et inférieures du calice sont souvent dentelés. Comme le calice, la corolle est gamopétale et bilabée avec une lèvre supérieure à deux lobes et une lèvre inférieure à trois lobes. La lèvre supérieure peut être falciforme ou dressée par rapport à la position de la corolle. Les proportions de la lèvre supérieure, de la lèvre inférieure et du tube de la corolle sont variables d'une espèce à l'autre. Les corolles sont disponibles dans une variété de couleurs, du blanc au jaune, bleu, violet, rose et parfois rouge. Les tubes de la corolle ont également des caractéristiques morphologiques spécifiques à l'espèce. Il peut y avoir un anneau de poils à l'intérieur du tube pour garder le fruit mûr dans la fleur. Le tube peut également être gonflé au milieu ou en retrait près de la base (Celep *et al.*, 2011 ; Walker *et al.*, 2015).



Figure 06: Représentation d'une fleur de la Sauge (Maalem & Nada-Abi, 209)

1.3.6. Aspect phytochimique :

Les principaux composés phytochimiques des fleurs, des feuilles et de la tige de la Sauge ont été identifiés comme de nombreux constituants : alcaloïdes, glucides, acides g, dérivés glycosidiques (ex : glycosides cardiaques, flavonoïdes, glycosides), les composées phénoliques (ex : coumarines, flavonoïdes, tannins), poly acétylènes, stéroïdes, terpènes, terpéoides, monoterpénoïdes et diterpénoïdes. Les principales molécules contenues dans l'huile essentielle, qui donnent à la sauge son odeur typique sont les thuyones (a- thuyine 18-43% et B-thuyone 3-85%), qui peuvent représenter jusqu'au 50 % de la composition chimique, et la camphre (4,5-24N) (Ghorbani & Mahdi, 2017).

1.3.7. Principaux usages de la Sauge :

- **Usages traditionnels :**

- Elle est considérée comme un stimulant pour les gens anémique, aussi les personnes stressées et déprimées, et conseillée pour les étudiants en période d'examen (Djerroumi & Nacef, 2004).

- Pour usage extrême, elle est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche, les abcès, et aussi le nettoyage et la cicatrisation des plaies (Djerroumi & Nacef, 2004).

- Traitement de plusieurs maladies de la circulation sanguines et les troubles digestifs et les problèmes du système nerveux (Radulescu *et al.*, 2004).

- Emploi dans la cuisine, pour son gout puissant, légèrement amer et camphré (Duling *et al.*, 2007).

- **Usage cosmétologique :**

La cosmétologie emploie les plantes depuis ses origines. Elles apportent des actions bio pharmacologiques en raison des différents composants qu'ils contiennent L'huile essentielle de la sauge est utilisée à la fabrication de parfums, de savons, de dentifrice, et des produits cosmétiques. Elle est aussi utilisée en aromathérapie (bains et massage...) (Gotz & Busser, 2007).

- **Usage alimentaire :**

Les feuilles de la Sauge sont utilisées fraîches dans la cuisine pour parfumer les grillades, les marinades, les sauces et les plats de viande ou de poissons, elles ont légèrement amer et peuvent être utilisées avec succès pour parfumer les sauces des pites et même les salades. Les fleurs sont utilisées pour faire des confitures et peuvent être incorporées dans certains gâteaux ou glaces (Rebiere & Rebiere, 2018).

- **Usage pharmaceutique :**

La Sauge a été employée comme une plante qui possède des propriétés médicinales saluaires pendant des milléniums. La Sauge était un composant fréquent des mélanges des tisanes recommandés pour les patients tuberculeux. Outre ces utilisations, les feuilles de la Sauge montrent une gamme des activités biologiques antibactérienne, antifongique, antivirale et astringente (Baricevic. & Bartol, 2000).

Cette plante est avérée active dans les préparations combinées pour le traitement de la bronchite aiguë et chronique. Les études *in vivo*, montrent que les extraits de Sauge ont un effet hypotensif et déprimant sur le système nerveux central, et vu leurs activités antimicrobiennes et astringentes, ces extraits entrent souvent dans la constitution des dentifrices (Farag *et al.*, 1989).

1.3.8. Toxicité de la plante :

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise. Ces expositions se font par ingestion, par contact, par inhalation qui peut induire ou aggraver des problèmes respiratoires (une diminution de la fonction pulmonaire, une augmentation de la sensation de poitrine oppressée, une respiration sifflante et augmenter l'asthme chez les populations sensibles) (Ozanda, 1977).

Certains auteurs se basent sur la composition des huiles essentielles en termes de toxicités relatives des familles biochimiques aux quelles appartiennent leurs constituants. Les huiles essentielles de *Salvia officinalis* L contient jusqu'à 50% de thuyone, l'excès de cette substance est toxique pour les tissus nerveux (Anne-Claire *et al.*, 2008).

Chapitre II : L'extraction d'ADN

Chapitre II : L'extraction d'ADN

II.1. Généralités sur le monde cellulaire :

La cellule est l'unité de base qui comporte les molécules fondamentales de la vie de tous les êtres vivants lorsque une seule cellule peut former un organisme complet en soi (comme une bactérie ou une levure) ce type appelé organisme unicellulaire. D'autres cellules coopèrent avec d'autres cellules spécialisées et deviennent les éléments constitutifs de grands organismes multicellulaires grâce à des fonctions spécialisées à mesure qu'elles mûrissent (Bernfield *et al*, 2022).

➤ La cellule végétale :

Les cellules végétales sont les unités de base des organismes végétaux de type eucaryote avec un noyau et différentes particularités appelées organelles, avec différentes fonctions. Ce qui distingue les cellules végétales des cellules animales, des champignons et d'autres domaines de la vie, c'est leur paroi cellulaire, leurs vacuoles centrales et leurs chloroplastes (CAP fleuriste, 2022).

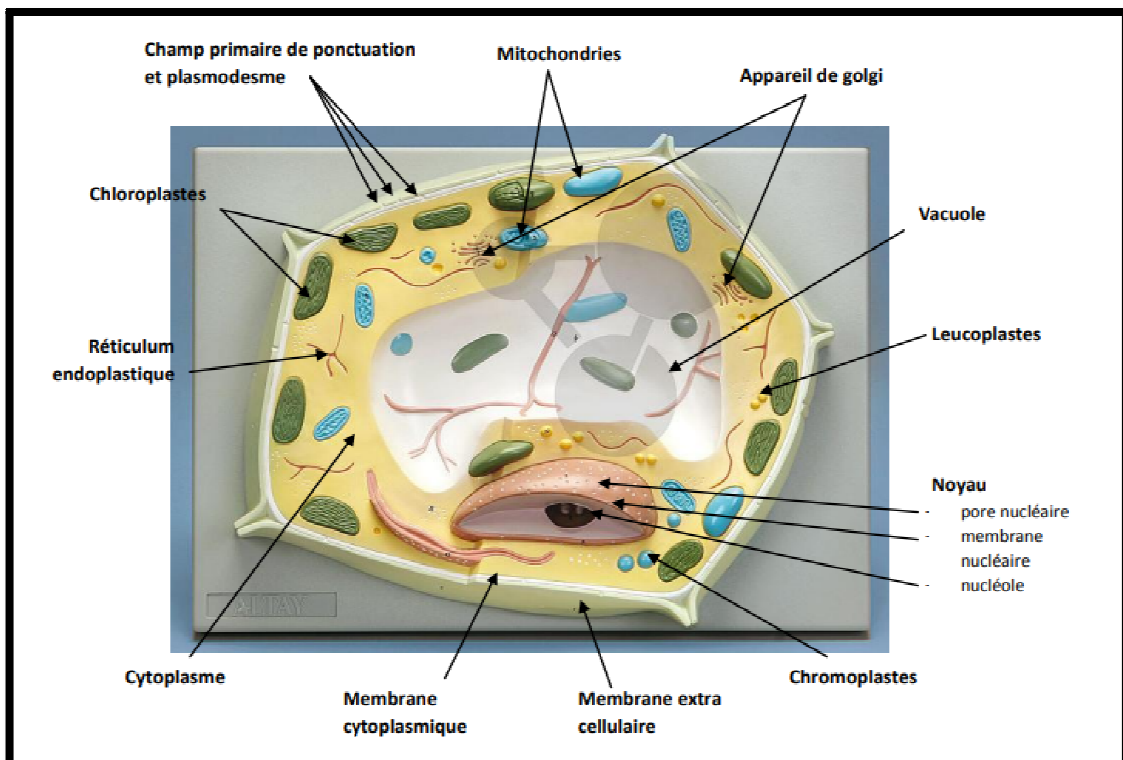


Figure 07: organisation d'une cellule végétale (Conatex, 2018).

➤ **La différence entre la cellule animale et la cellule végétale :**

La cellule végétale et la cellule animale peuvent être différenciées par la présence et l'absence des organites. Bien que les deux soient classés comme eucaryotes, la présence de la paroi cellulaire, des vacuoles et des chloroplastes sont les composants les plus remarquables et les plus distinctifs des cellules végétales qui sont absentes dans les cellules animales. La taille de la cellule animale est plus petite que celle de la cellule végétale (Zylberberg, 2018).

Tableau 2: les principales différences entre cellule eucaryote animale/végétale et cellule procaryote (Slideplayer, 2022).

	Cellule eucaryote		Cellule procaryote
	Cellule animale	Cellule végétale	Bactérie
Taille	Entre 20 et 50 µm	Entre 50 et 100 µm	De l'ordre du µm
Paroi	Absente	Paroi cellulosique	Paroi bactérienne
Membrane plasmique	Présente		
Enveloppe nucléaire	Noyau vrai délimité par une enveloppe		Pas de noyau vrai
Matériel génétique			
Cytosol	Composé d'eau, d'ions et de molécules organiques		
Organites :	Organites délimitants des compartiments internes :		Pas d'organites, Pas de compartiments internes
R.E	Réticulum endoplasmique		
Corps de Golgi	Corps de Golgi		
Mitochondries	Mitochondries		
Chloroplastes	Pas de chloroplastes	Présence des chloroplastes	
Vacuoles	Pas de vacuole	Présence des vacuoles	Présence possible

				de chlorophylle
Métabolisme	Hétérotrophe	Autotrophe chloroplastes	si	Autotrophe chlorophylle

II.2. ADN et organismes vivants :

L'ADN : est le support de l'information génétique chez les êtres vivants. Il est constitué de deux chaînes super enroulées en double hélice. Les deux brins de l'ADN sont l'assemblage de molécules élémentaires : les nucléotides. Chaque nucléotide comprend un sucre, le désoxyribose, un résidu phosphate et une des 4 bases azotées : adénine, guanine, cytosine, thymine. Le génome nucléaire de la cellule végétale représente 95% de la totalité de l'information génétique nécessaire à sa vie. Lorsque ce dernier forme une coopération avec le génome des mitochondries (environ 1%) et le génome des chloroplastes (environ 4%), sachant que ces deux ADN sont responsables à l'hérédité de type cytoplasmique, donc de transmission maternelle. En effet, lors de la fécondation, le pollen, gamète mâle, apporte l'information contenue dans le noyau, alors que l'ovule, gamète femelle, fournit, en plus de son noyau, son cytoplasme (Psychomédia, 2014).

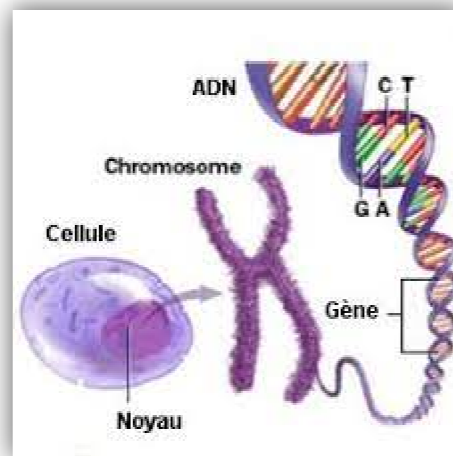


Figure 08: emplacement de l'ADN dans la cellule (Psychomédia, 2014).

II.3. L'historique de l'extraction d'ADN

L'histoire de l'ADN avait commencé avec sa description depuis 153 ans par Friedrich Miescher, un homme beaucoup moins connu qui a effectué la première purification de matériel héréditaire en 1869. La découverte de l'ADN était généralement sous-estimée. Bien que la découverte de la base moléculaire de la vie cellulaire soit devenue l'un des problèmes les plus fondamentaux de l'époque, personne n'a compris la signification réelle des découvertes de Miescher pour répondre à ce problème avant le milieu du 20^e siècle. Décédé un demi-siècle plus tôt, Friedrich Miescher a été largement oublié et est rarement crédité de sa découverte (Ralf, 2005).

Miescher avait obtenu la première purification brute de l'ADN, lorsque son but étant d'élucider les éléments constitutifs de la vie. En choisissant les leucocytes comme matériel source. Cependant, au cours de ces expériences, il a remarqué une substance aux propriétés inattendues qui ne correspondaient pas à celles des protéines. Il a ensuite examiné les propriétés et la composition de cette substance énigmatique et a montré qu'elle différait fondamentalement des protéines. En raison de son apparition dans les noyaux des cellules, il a appelé la nouvelle substance "nucléine" un terme encore conservé dans le nom actuel d'acide désoxyribonucléique (Ralf, 2005).

II.4. Principe de l'extraction d'ADN

II.4.1. La lyse cellulaire :

C'est la première étape et plus essentielle qui sert à perturber la cellule qui porte le matériel génétique. Les morceaux de tissus, prélevés directement sur les spécimens récoltés, doivent dans un premier temps être fragmentés, pour dissocier les tissus, les parois cellulaires, les membranes intracellulaires et les protéines qui entourent l'ADN. Une première étape mécanique peut-être nécessaire. Cela peut être réalisé à l'aide d'une machine : un mouvement latéral rapide et répété entraîne le déplacement d'une bille de métal placée dans le tube contenant le tissu, ce qui a pour effet de broyer les tissus. Dans une seconde étape, les tissus sont placés dans une solution tampon qui contient notamment un détergent, qui a pour effet de dissocier les membranes, et une enzyme, la protéinase, activée à 56°C. Au cours de cette étape qui peut durer plusieurs heures, l'enzyme va « digérer » les protéines contenues dans la cellule, et notamment celles qui sont liées à l'ADN (Nicolas, 2006).

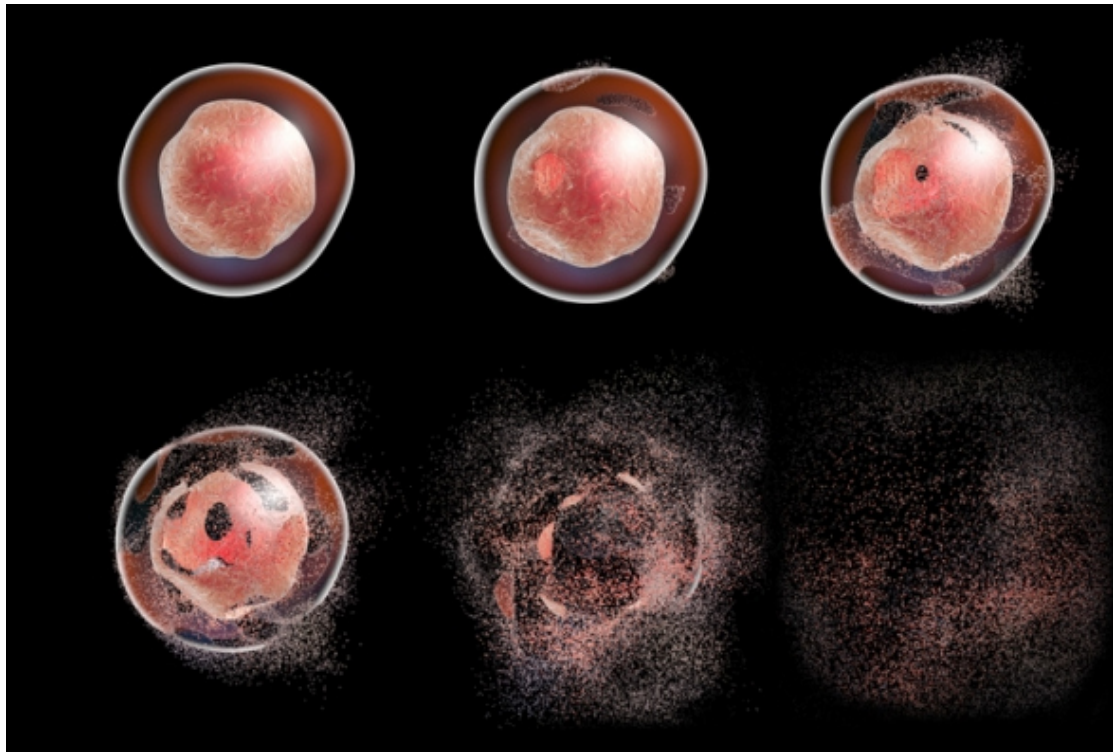


Figure 09:Interprétation artistique de la lyse progressive de membranes plasmique et nucléaire (Istock, 2022).

II.4.2. Séparation de l'ADN des autres constituants

Cette étape sert à éliminer toutes molécule autre que l'ADN après sa séparation de toutes ses interactions, donc il n'est plus maintenant associé aux autres constituants des cellules, mais reste mélangé avec ceux-ci dans le tampon d'extraction. Pour séparer l'ADN, plusieurs méthodes existent : différents agents chimiques peuvent permettre de séparer l'ADN des autres constituants, par exemple en obtenant 2 phases par ajout Chloroforme Iso-Amyle (CIA) et centrifugation, une qui contient l'ADN et l'autre les résidus que l'on veut éliminer. L'ADN est ensuite précipité, en ajoutant par exemple du NaCl (Chlorure de Sodium). C'est par ce procédé que l'ADN devient visible sous forme de « méduse » (Nicolas, 2006).

II.4.3. Récupération de l'ADN

Encore une fois, selon la méthode employée à l'étape précédente, il existe plusieurs façons de récupérer l'ADN après nettoyage :

- Après avoir ajouté les différents produits pour nettoyer l'ADN, le tube qui contient la solution et l'ADN est centrifugé. L'ADN se retrouve alors sous la forme d'un culot, c'est-à-dire un précipité solide collé au fond du tube qui contient le tampon. Il suffit ensuite d'évacuer le tampon sans faire tomber le culot, puis de laisser sécher l'ADN. L'ADN séché est ensuite élué dans un tampon adapté pour éviter sa dégradation
- L'ADN fixé à la colonne est ensuite « décroché » en ajoutant une solution qui inverse les relations d'affinité de la colonne pour l'ADN. Comme pour l'autre méthode, l'ADN est élué dans un tampon adapté (Nicolas, 2006).

II.5. Les différentes méthodes pour l'extraction d'ADN :

L'extraction de l'ADN est généralement l'une des étapes les plus laborieuses et les plus longues du processus d'analyse des échantillons. Cette partie décrit les différentes méthodes d'extraction de l'ADN, qui s'est avérée adaptée au traitement de nombreux échantillons végétales ou animales.

II.5.1. Les méthodes conventionnelles :

- **SDS-Protéinase K :**

La protéinase K est une sérine protéase qui a été découverte pour la première fois par Ebeling et al. Dans l'album *Engyodontium* en 1974 (Thomas *et al*, 1989). Pour l'extraction de l'ADN, 20 à 50 μL de 10 à 20 mg/mL de protéinase K sont généralement ajoutés. Le dodécylsulfate de sodium (SDS) est également ajouté pour dissoudre la membrane cellulaire et l'enveloppe nucléaire ainsi que pour dénaturer et déplier les protéines, les exposant à l'activité protéase de la protéinase K. La solution est incubée pendant 1 à 18 h à 50 à 60°C et peut ensuite être utilisée pour extraire l'ADN en utilisant le chloroforme de phénol ou la méthode de salage (Evans, 2001).

- **Extraction par kit commercial :**

Cette méthode est conçue pour l'extraction rapide d'ADN génomique de grande qualité à partir d'une grande variété de tissus végétaux frais ou secs. L'ADN purifié peut être utilisé dans beaucoup d'applications comme la PCR, la digestion avec des enzymes de restriction, l'hybridation et d'autres applications (Clinisciences, 2022).

Kit : c'est un paquet contenant tous les réactifs nécessaires à l'emploi et/ou permettant de réaliser l'extraction de façon rapide, se caractérise par la reproductivité, l'absence de solvants toxiques et la spécificité pour l'espèce étudié (Brinis & Drihem,2020).

II.5.1. Les méthodes modernes :

II.5.1.1. Les méthodes organiques :

- **Extraction Alcaline :**

Introduite pour la première fois en 1979 par Birnboim et Doly, la méthode est principalement utilisée pour extraire l'ADN plasmidique des cellules bactériennes (Brinboim & Doyle, 1979). L'échantillon est d'abord mis en suspension dans une solution alcaline contenant du NaOH et du détergent SDS pour la lyse de la membrane cellulaire et la dénaturation des protéines. La condition alcaline dénature sélectivement l'ADN chromosomique qui a un poids moléculaire plus élevé que l'ADN plasmidique intact qui reste double brin. De l'acétate de potassium est ensuite ajoutée pour neutraliser la solution, provoquant la renaturation de l'ADN chromosomique et la précipitation de la solution. L'ADN plasmidique dans le surnageant peut être récupéré après centrifugation (Voglstien & Gillespie, 1979).

- **Méthode d'extraction par l'utilisation d'un tampon d'extraction CTAB :**

Le CTAB est un détergent cationique qui facilite la séparation des polysaccharides pendant la purification, tandis que des additifs, tels que la polyvinylpyrrolidone, aident à inactiver les polyphénols. Les tampons d'extraction à base de CTAB sont largement utilisés lors de la purification de l'ADN des tissus végétaux. Le danger avec les protocoles CTAB traditionnels est que le composant protéique des lysats végétaux est généralement éliminé à l'aide de phénol et de chloroforme. Ces deux solvants sont généralement considérés comme dangereux (Budelier & Schorr, 1998). Une option pour purifier l'ADN à l'aide du CTAB exploite les différentes solubilités des polysaccharides et de l'ADN dans le CTAB en fonction de la concentration en chlorure de sodium. À des concentrations de sel plus élevées (1,4 M), les polysaccharides sont insolubles, tandis qu'à des concentrations plus faibles (600 mM), l'ADN est insoluble. Par conséquent, l'ajustement de la concentration en sel dans les lysats avec CTAB, les polysaccharides et l'ADN peuvent être précipités de manière différentielle (Budelier & Schorr, 1998). La plupart des méthodes utilisent le CTAB pour éliminer les polysaccharides, suivis de l'élimination des protéines et de la séparation de l'ADN à l'aide de colonnes de précipitation ou de spin (Clark, 2009).

Les cellules végétales contiennent des composés phénoliques, tels que le catéchol, qui est catalysés par le polyphénol oxydase en o-quinones. Les o-quinones peuvent à leur tour alkyler et inactiver les protéines. Les polyphénols oxydases se trouvent dans les plastes (c'est-à-dire les chloroplastes) tandis que le catéchol se trouve dans les vacuoles. Lorsque les cellules et les tissus végétaux sont perturbés, l'enzyme et le substrat se mélangent et génèrent les o-quinones réactives (qui sont associées au brunissement des feuilles et des fruits endommagés). Par conséquent, l'homogénéisation des tissus végétaux donne des molécules réactives qui peuvent potentiellement interférer avec la manipulation ultérieure de l'ADN. Pour éviter la production d'o-quinones, les précurseurs phénoliques sont capturés par la polyvinylpyrrolidone (PVP) présente dans le tampon d'homogénéisation. Le PVP se lie fortement aux composés aromatiques, tels que le catéchol et les polyphénols ultérieurs, et empêche la formation d'o-quinones réactives. Les protocoles basés sur le CTAB ont tendance à très bien fonctionner, mais avec un inconvénient important, les extractions de phénol/chloroforme sont couramment utilisées pour séparer les protéines de l'ADN. Comme le chloroforme est cancérigène, de nombreuses institutions désapprouvent son utilisation. De plus, le phénol peut causer de graves brûlures chimiques. Le protocole traditionnel sera couvert, ainsi qu'un protocole

alternatif qui utilise l'extraction en phase solide. L'extraction en phase solide est la base du kit d'extraction d'ADN végétal (OPS Diagnostics, 2001).

- **L'extraction de l'ADN phénol-chloroforme:**

La méthode a été introduite en 1998 par Barker et al. Les cellules sont d'abord traitées avec un tampon de lyse contenant des détergents tels que le dodécylsulfate de sodium (SDS) pour dissoudre les membranes cellulaires et l'enveloppe nucléaire. Les autres composants du tampon de lyse peuvent inclure du Tris de 10 mM, de l'EDTA de 1 mM et du NaCl de 0,1 M. Le réactif PCIA est ensuite ajouté dans un rapport de 25:24:1 (Paterson *et al*, 1956). Le SDS et le phénol dénaturent efficacement les protéines, et l'alcool isoamylique empêche l'émulsification et facilite donc la précipitation de l'ADN. Le contenu est mélangé pour former une émulsion biphasique suivie d'un vortexage si les molécules d'ADN à extraire sont <10 kb ou d'une légère agitation si les molécules d'ADN sont de 10 à 30 kb. L'émulsion se sépare en deux phases lors de la centrifugation: la phase aqueuse supérieure composée d'ADN dissous dans l'eau et la phase organique inférieure contenant des solvants organiques et des composants cellulaires hydrophobes, y compris des protéines. La partie aqueuse est ensuite transférée dans un tube frais à l'aide d'une pipette et la phase organique peut être éliminée. L'aspiration de solvants organiques peut être évitée en laissant derrière elle une couche de la phase aqueuse proche de l'interface. Ces étapes sont répétées jusqu'à ce que l'interface entre les phases aqueuse et organique soit débarrassée des protéines (Elkins, 2013). Le chloroforme augmente la densité de la phase organique, empêchant le phénol de s'inverser en phase aqueuse, ce qui pourrait se produire sans l'utilisation de chloroforme en raison de sa densité proche de l'eau (1 g/mL). Par conséquent, le chloroforme est utilisé pour préserver l'ADN de la dégradation par le phénol. L'ADN peut être concentré par la méthode standard de précipitation à l'éthanol en ajoutant une solution d'acétate de sodium (concentration finale de 0,3 M, pH 5,2) et de l'éthanol dans un rapport 2:1 ou 1:1, suivie d'une centrifugation pour séparer l'ADN de la solution. La pastille est lavée à l'éthanol à 70% à froid pour éliminer l'excès de sel de l'ADN. Enfin, le culot est à nouveau centrifugé avant l'élimination de l'éthanol. Le culot est séché et remis en suspension soit dans de l'eau distillée stérile, soit dans un tampon aqueux (Paterson *et al*, 1956).

La méthode phénol-chloroforme est l'étalon-or pour l'extraction de l'ADN. Il peut être utilisé pour extraire l'ADN du sang, de la culture en suspension ou de l'homogénat tissulaire. Il offre un rendement élevé et est relativement peu coûteux avec une estimation des coûts de

moins de 5\$ pour un échantillon (Paterson *et al*, 1956). Cependant, la nature toxique du phénol et du chloroforme nécessite l'utilisation de hottes et constitue une limitation majeure de cette méthode. Les échantillons d'ADN extraits sont plus purs que les autres méthodes conventionnelles, mais inférieurs à ceux obtenus à l'aide de méthodes basées sur des colonnes (Evans, 2001). Un exemple de kit disponible dans le commerce basé sur cette méthode est Thermo Fisher Easy-DNA (Dhaliwal, 2013).

- **Extraction de Chelex-100 :**

En 2011, Xiong Hui, Xie Liquan et Chen Jiayi ont breveté une méthode d'extraction d'ADN utilisant le chelex-100. La résine Chelex est un copolymère de styrène-divinylbenzène utilisé pour chélater les ions métalliques qui agissent comme cofacteurs pour les DNases avec ses groupes acides iminodiacétiques. Après une nuit d'incubation, une solution de chelex à 5% et de la protéinase K utilisée pour dégrader les DNases sont ajoutées. L'échantillon de tissu est ensuite bouilli dans la solution de chelex à 5% pour lyser les membranes restantes ainsi que pour dénaturer les protéines et l'ADN. Chelex empêche l'ADN d'être digéré par des DNases qui pourraient rester après ébullition, stabilisant ainsi la préparation. L'ADN simple brin résultant peut puis être concentré à partir du surnageant après centrifugation. Les avantages de cette méthode comprennent le risque réduit de contamination et de mauvais pipetage, car la procédure ne nécessite l'utilisation que d'un seul tube à essai et de quelques étapes de manipulation (Mariyam *et al*, 2020). Cependant, le manque de purification rend cette méthode inefficace dans l'élimination des inhibiteurs de la PCR. Une autre limitation est que l'ADN isolé peut être instable et ne convient pas à l'analyse RFLP (Mariyam *et al*, 2020).

II.5.1.2. Les méthodes non-organiques :

- **Par Chromatographie :**

Les méthodes d'extraction d'ADN par chromatographie peuvent être utilisées pour isoler l'ADN de tout type de matériel biologique (Mariyam et al, 2020). En chromatographie d'exclusion de taille (SEC), les molécules sont séparées selon leurs tailles moléculaires et leur forme. Le terme chromatographie par filtration sur gel est utilisé lorsqu'une solution aqueuse est utilisée pour transporter l'échantillon contenant de l'ADN à travers la chromatographie colonne, par rapport à la chromatographie par perméation sur gel, dans laquelle un solvant organique est utilisé à la place. La colonne contient des billes poreuses composées de polyacrylamide, de dextrane ou d'agarose. Lorsque l'échantillon est appliqué sur le dessus et passé à travers la colonne, des molécules plus petites telles que l'ARNm et les protéines pénètrent à travers les petits pores et canaux des billes, tandis que l'ADN est exclu d'entrer dans les billes et échappe à la matrice avec son plus grand volume hydrodynamique. Par conséquent, l'ADN est élué de la colonne plus rapidement que les molécules plus petites (Tan et al, 2009, Almeida et al, 2020). SEC convient pour une utilisation sur des substances sensibles aux altérations du pH et des concentrations d'ions métalliques (Budilier et al, 1998). Une autre méthode d'extraction d'ADN basée sur la chromatographie est la chromatographie échangeuse d'ions (CEI). La colonne est d'abord équilibrée avec une solution contenant de la résine échangeuse d'anions d'ADN, qui est utilisée pour lier sélectivement l'ADN avec son groupe diéthylaminoéthylcellulose (DEAE) chargé positivement. L'ADN est retenu dans la colonne tandis que d'autres composants cellulaires tels que les protéines, les lipides, les glucides, les métabolites et l'ARN sont élués avec du sel moyen tampon. L'ADN peut ensuite être récupéré en diminuant le pH ou en utilisant des tampons à haute teneur en sel (Budilier et al, 1998). Cette méthode est relativement simple à mettre en œuvre par rapport à d'autres méthodes d'extraction donnant des résultats de haute qualité ADN, tel que la centrifugation à gradient CsCl (Mariyam et al, 2020).

La purification des acides nucléiques peut également être obtenue par chromatographie d'affinité (CA), consistant en un protocole similaire à la CEI, mais implique à la place l'utilisation d'oligo (dT) ou d'autres substances qui forment des interactions hautement spécifiques avec l'acide nucléique pour le séparer du lysat cellulaire (Mariyam et al, 2020). Cependant, ce protocole est principalement utilisé pour l'isolement de l'ARNm. Il est efficace dans le temps et donne une bonne quantité d'acide nucléique (Chockoling et al, 2001).

- **Centrifugation par Gradient EtBr-CsCl :**

Cette méthode a été développée en 1957 par Matthew Meselson, Franklin W. Stahl et Jerome Vinograd (Meselson *et al.*, 1957). L'ADN est d'abord mélangé avec du chlorure de césium (CsCl), la solution est ensuite ultra-centrifugée à grande vitesse (10 000 à 12 000 tr / min) pendant plus de 10 heures. Avec la centrifugation, l'ADN se sépare du reste des substances en fonction de sa densité. Selon les types d'ADN variant en densité, une ou plusieurs bandes d'ADN apparaissent en atteignant le point isopycniq. Le bromure d'éthidium (EtBr) agit comme un agent intercalant et est incorporé comparativement plus dans les molécules d'ADN non enroulées que les molécules d'ADN enroulées, permettant ainsi à l'ADN enroulé de s'accumuler à des densités plus faibles. L'emplacement de l'ADN peut être facilement visualisé sous la lumière ultraviolette. EtBr et CsCl sont supprimés avant à la précipitation de l'ADN avec de l'éthanol. Cette méthode peut être utilisée pour extraire l'ADN des bactéries, mais avec une grande quantité de la source matérielle est requise. De plus, cette méthode est compliquée, longue et coûteuse en raison de la longue durée d'ultra-centrifugation à grande vitesse requise (Leland *et al.*, 2012).

- **Matrices de Silice :**

La haute affinité entre les silicates et l'ADN a été décrite pour la première fois par Vogelstein et Gillespie en 1979 (Hoss *et al.*, 1993). Cette technique est basée sur le principe de la liaison sélective de l'ADN chargé négativement avec la surface de silice recouverte d'ADN chargé positivement ions. L'ADN étant étroitement lié à la matrice de silice, le reste des contaminants cellulaires peut être éliminé par lavage avant que l'ADN extrait ne soit élué à partir des particules de silice à l'aide d'eau distillée ou d'un tampon tel que le Tris-EDTA (Woodard *et al.*, 1993). Divers protocoles modifiés de cette des techniques ont été décrites dans la littérature, telles que l'utilisation d'une matrice de silice hydratée pour l'extraction de l'ADN (Esser *et al.*, 2006) . La méthode des matrices de silice est simple, rapide à réaliser, rentable, produit un ADN de haute qualité et peut être utilisée pour l'automatisation. Les kits disponibles dans le commerce qui impliquent l'utilisation de matrices de silice comprennent le kit d'extraction d'ADN génomique Thermo Fisher Purelink et le sang QIAGEN DNeasy (Dhaliwal, 2013). La limitation majeure est que les matrices de silice ne peuvent pas être réutilisées comme avec les résines utilisées dans la méthode d'échange d'anions en raison de leur capacité de liaison réduite et fixation aux particules d'ADN même après élution.

Cependant, des méthodes plus récentes telles que maxXbond ont été conçues pour permettre une utilisation multiple des matrices de silice (Miller *et al.*, 1998).

- **Méthode de Salting out :**

La méthode de Salting out est une méthode d'extraction d'ADN non toxique décrite par Miller, Dykes et Polesky en 1988. L'échantillon contenant de l'ADN est ajouté à 3 ml de tampon de lyse (NaCl 0,4 M, Tris-HCl 10 mM pH 8,0 et EDTA 2 mM, pH 8,0), de SDS et de protéinase K. Le mélange est incubé à 55-65°C pendant une nuit. Ensuite, environ 6 M de NaCl saturé sont ajoutés et le mélange est agité pendant 15 secondes puis centrifugé à 2500 tr / min pendant 15 minutes. La concentration élevée en sel diminue la solubilité des protéines, ce qui entraîne sa précipitation. Le contenant de l'ADN le surnageant est pipeté dans un tube frais et peut être précipité à l'aide d'éthanol (Paterson *et al.*, 1956). Il a été rapporté que la méthode de salage donne un ADN de haute qualité comparable à celui obtenu avec la méthode phénol-chloroforme, et est supérieure à cette dernière en ce qu'elle est plus rapide et plus rentable et, surtout, les réactifs utilisés ne sont pas toxiques (Doyle, 1991). Il est également utilisé pour extraire l'ADN du sang, de la culture en suspension ou de l'homogénat tissulaire (Paterson *et al.*, 1956).

- **Méthode d'extraction d'ADN à base de colonne de silice :**

Dans cette méthode, un tampon de lyse (EDTA 0,05 M et 3 ml de Tris 0,2 M, pH 8,0), 1% de SDS et 100 microgrammes de protéinase K sont ajoutés à l'échantillon. Après incubation à 60°C pendant une heure, le mélange est ajouté dans un tube contenant du gel de silice. Le phénol-chloroforme est ajouté dans un rapport de 1:1 et le mélange est agité vigoureusement et centrifugé pendant 5 minutes à 1000 x g. Cela emprisonne les protéines et la phase organique sous la colonne de silice, tout en permettant la phase aqueuse contenant de l'ADN pour rester au-dessus de la couche de polymère de gel. La couche aqueuse contenant du ADN est ensuite transférée dans un nouveau tube par décantation ou pipetage et dissoute dans du tampon TE. Dans le procédé classique sans gel de silice, l'aspiration de solvants organiques est généralement évitée en laissant derrière elle une couche de la phase aqueuse proche de l'interface pour éviter toute contamination. Mais avec l'utilisation de gel de silice, il n'y a pas d'interface à éviter, augmentant ainsi la pureté de l'ADN extrait. Le gel de silice aide également à empêcher le contact physique avec les réactifs toxiques, et le rendement en ADN a été rapporté comme étant 40% plus élevé que la méthode habituelle d'extraction d'ADN à base de solvant organique (Howkins, 1998).

- **Billes magnétiques :**

En 1998, Trevor Hawkins a déposé un brevet intitulé " Purification et isolement de l'ADN à l'aide de particules magnétiques" (Elkins, 2013). Des nanoparticules magnétiques recouvertes d'un anticorps ou d'un polymère de liaison à l'ADN ayant une affinité spécifique pour l'ADN peuvent être utilisées pour lier l'ADN à sa surface. Les billes magnétiques sont généralement composées de magnétite ou de maghémite au cœur, et les substances de surface qui peuvent être utilisées comprennent la silice ainsi que des groupes fonctionnels tels que les groupes sulfate et hydroxyle (Saiyed *et al*,2007). La séparation des billes magnétiques liées à l'ADN du lysat cellulaire peut être obtenue en appliquant un champ magnétique au fond du tube à l'aide d'un aimant externe. Les billes étant agrégées au fond du tube, le surnageant peut ensuite être rincé. Le culot magnétique peut être élué par la méthode de précipitation à l'éthanol, après quoi le culot est incubé à 65°C pour éluer les particules magnétiques de l'ADN (Paterson *et al*, 1956). Le rendement en ADN obtenu par cette méthode est comparable à celui obtenu dans les autres méthodes conventionnelles et il a été démontré que le protocole prend moins de 15 minutes à compléter, ce qui est beaucoup plus rapide par rapport à d'autres méthodes conventionnelles qui peuvent prendre jusqu'à plusieurs heures (Abd El Aal *et al*, 2010). De plus, il est idéal pour l'automatisation et nécessite peu d'équipement car il ne dépend pas de la centrifugation. Un autre avantage par rapport aux méthodes basées sur la centrifugation est que cette technique n'implique pas l'utilisation de forces de cisaillement qui pourraient endommager l'intégrité des acides nucléiques. Cependant, ce protocole n'est pas rentable par rapport aux autres méthodes (Mariyam *et al*, 2020).

- **Méthode d'extraction d'ADN à base de papier filtre :**

En 2017, Rui Shi et Dilip Panthee décrivent une méthode d'extraction d'ADN utilisant du papier filtre, qui peut être utilisée pour isoler l'ADN de sources végétales. Une plaque d'essorage composée d'une plaque de 96 puits (fond en V) avec un trou (environ 1 mm de diamètre) percé dans le fond de chaque puits est utilisée, chaque puits contenant un disque de papier filtre Whatman (environ 8 mm de diamètre). Les échantillons traités avec des tampons de lyse sont filtrés par centrifugation. Cette méthode remplace filtres en fibre de verre utilisés dans les kits commerciaux pour l'extraction d'ADN avec du papier filtre, réduisant ainsi considérablement les coûts de cette méthode (Mariyam *et al*, 2020). En 2000, Whatman, Inc. a déposé un brevet intitulé (Ftacoated media for use as a molecular diagnostic tool). Les cartes Whatman FTA sont un exemple de papier à base de cellulose disponible dans le commerce qui est largement utilisé pour l'extraction de l'ADN. Ils sont imprégnés de tampons, de détergents et d'agents chélatants qui facilitent l'extraction de l'ADN. Environ 1 à 2 mm de la zone d'échantillon sont ensuite retirés à l'aide d'une micro-puce stérilisée. Avant qu'il ne puisse être traité pour d'autres applications en aval, le poinçon est lavé avec un détergent et rincé. L'extraction de l'ADN à l'aide de papier à base de cellulose est rapide, très pratique, ne nécessite pas d'expertise approfondie en laboratoire et permet un stockage facile de l'échantillon sans réfrigération. Cependant, le traitement en aval pour récupérer de l'ADN pur et concentré peut être très difficile (Mariyam *et al*, 2020).

*Chapitre II : L'extraction d'ADN
dans le monde végétal*

Chapitre III. L'extraction d'ADN dans le monde végétal :

En raison de la multitude d'espèces utilisées comme plantes médicinales et parfois des difficultés à identifier les matières végétales transformées, les méthodes basées sur l'ADN deviennent de plus en plus intéressantes (Gnavi *et al*, 2010, Heubl, 2010) et nombreux protocoles d'extraction de matériel génétique ont été publiés et des kits d'extraction prêts à l'emploi sont disponibles auprès de nombreux fournisseurs (Demeke & Jenkins, 2010).

III. 1. L'extraction d'ADN pour les plantes médicinales :

II.1.1. Extraction d'ADN d'Armoise blanche :

Réalisation d'une extraction d'ADN d'une plante médicinale de l'Armoise blanche sur des feuilles fraîches conservées à une température -20 C° lorsque ces échantillons vont être broyées avec l'azote liquide puis employées pour faire extraire leur matériel génétique par l'utilisation d'un tampon selon le protocole d'extraction basé sur l'utilisation de tampon CTAB (la modification de la technique de Dellaporta *et al.* (1983) Zidani adapté à l'espèce *Pennisetum glaucum* sur l'espèce *Artemisia herba alba*). Il nécessite plusieurs étapes qui doivent être manipuler avec des différentes solutions (β -mércaptoéthanol, isopropanol, tampon d'acétate d'ammonium, éthanol, solution TE buffer, l'RNase) ainsi que la centrifugation qui permet la séparation de la phase liquide qui comporte l'ADN purifié (Maghni *et al*, 2014).



Figure 10: L'Armoise ; *Artemisia herba-alba* à la fin de la saison de fleuraison (Messai, 2011).

L'amplification se fait avec une solution PCR composée de Buffer PCR, MgCl₂, d'NTP, Primer, Taqpolymérase, H₂O et l'ADN à l'aide d'un thermocycleur qui conduit à sur une prédénaturation initiale à 94° C pendant 2 min, suivie de 30 cycles d'amplification comportant chacun une étape de dénaturation de 45 secondes à 94° C, une étape d'hybridation de 45 secondes à 50° C et une étape d'élongation de 2 min à 72° C, et en fin une élongation finale à 72°C pendant 5 min (Maghni et al,2014).

La séparation de l'ADN s'effectue par électrophorèse sur gel d'agarose, la détection des bandes d'ADN se fait par bromure d'éthidium, une visualisation sous radiation UV avec un dispositif pour prise de photos UVet par l'utilisation des logiciels ImageJ et Gen, ils ont quantifié la taille des bandes d'ADN amplifié (Haouari& Ferchichi, 2004).

La modification de la technique de Dellaporta et al. (1983) donne un bon rendement d'ADN mais la différence c'est que la couleur obtenus c'était jaune alors que la technique originale donne une couleur brune. Ainsi que l'ADN purifié est ni clivable par restriction enzymatique ni amplifiable par PCR (Haouari& Ferchichi, 2004).

Néanmoins leurs protocole adapte et optimisé à l'Armoise blanche donne un ADN propre de couleur blanche grâce aux ajustements suivants :

- L'utilisation de l'isopropanol à la place de l'éthanol pour une bonne précipitation d'ADN (Dellaporata et al, 1983)
- Le lavage avec un tampon compose d'éthanol, et d'acétate d'ammonium au lieu d'éthanol et d'acétate de sodium (Krisman et al, 2006).
- La centrifugation à 4 °C favorise une bonne séparation des phases pendant les différentes étapes (Benbouza et al, 2006).

III.2 L'extraction d'ADN pour la famille des lamiacées :

➤ Le genre de *Salvia* :

a. Exemple de l'espèce *Salvia officinalis* :

Les feuilles ont été obtenues à partir de plantes de *Salvia officinalis* cultivées en serre. Le matériel foliaire a été fraîchement collecté à partir de parties en croissance active des plantes, congelé avec de l'azote liquide et conservé à -80°C jusqu'à une utilisation ultérieure. Avant de procéder à l'extraction de l'ADN, les feuilles congelées ont été placées dans un mortier préalablement refroidi à l'azote liquide. L'échantillon congelé a été broyé avec un pilon et de l'azote liquide qui a été ajoutée pour empêcher la décongélation (Saeid, 2011).

On vue de l'obtention d'un meilleur résultat quantitatif et qualitatif d'un ADN purifié, plusieurs protocoles ont été comparés pour l'isolement efficace de l'ADN de *Salvia officinalis* pour connaitre le principela, fiabilité et l'efficacité de chaque protocole (Saeid, 2011).



Figure 11 : *Salvia officinalis* dans la nature. – A: une partie de la population naturelle de l'Adriatique du Mont Orjen (ORJ), Monténégro; B: un individu plante de la population OR J; C: une fleur zygomorphe de *S. officinalis* de la population OR (Stojanovic, 2015).

La concentration et la qualité de l'ADN isolé ont été déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre en mesurant l'absorbance à 260 nm (absorption maximale des acides nucléiques). La présence de contaminations par des protéines et des glucides ou des polyphénols a été déterminée en mesurant le rapport d'absorbance UV d'A260/280 et A260/230, respectivement (Saeid, 2011).

Le premier protocole d'extraction d'ADN essayé méthode Doyle et Doyle (1987) été basée sur l'utilisation de CTAB pour faciliter la séparation des protéines des acides nucléiques dans les extractions de matériaux biologiques, alors que les trois autres méthodes d'extraction de l'ADN ont été modifiées à partir de la méthode précédente.

Tableau03 : Comparaison des différents critères de diverses méthodes d'extraction d'ADN (Saeid, 2011).

Méthodes	Principe	Rendement en ADN (μg ADN/g de tissus foliaires)	Durée	Contamination par les protéines et les glucides A260/280	Contamination Par les polyphénols A260/230
Doyle et Doyle	Utilisation d'un tampon CTAB pour une séparation des protéines des acides nucléiques	178 ± 13.5	2h	1.27 ± 0.082	1.63 ± 0.067
Karizman	Utilisation des adsorbants PVP et le charbon actif dilués dans le CTAB	411 ± 15.7	3h	1.86 ± 0.075	1.95 ± 0.051
Sarwat	Méthode d'extraction	257 ± 11.6	Rapide	1.74 ± 0.064	1.80 ± 0.047

	CTAB avec un procédé de purification sur colonne				
Bokszczanin et Prazybyla	Méthode d'extraction CTAB utilisant une solution d'acétate de cuivre	205 ± 10.2	1h	1.70 ± 0.077	1.77 ± 0.032

Les résultats de trois extractions d'ADN indépendantes ont montré que le protocole de la méthode Krizman produisait le rendement d'ADN le plus élevé, produisant en moyenne $411 \pm 15,7$ µg d'ADN/g de tissus foliaires, suivi de la méthode Sarwat qui produisait $257 \pm 11,6$ µg d'ADN/g de tissus foliaires. La qualité de l'ADN isolé par la méthode Krizman était également meilleure que les trois autres protocoles (Saeid, 2011)

Méthode CTAB traditionnelle (méthode Doyle et Doyle) résulte le rendement d'ADN le plus faible et une qualité médiocre. Pour une préparation bonne et propre de l'acide nucléique, le rapport A260/280, qui représente la contamination des protéines, devrait être compris entre 1,8 et 2,0 tandis que le rapport A260/230, qui représente la contamination des glucides, devrait être supérieur à 2,0 (Sambrook & Russel, 2001). L'incorporation de charbon actif dans le mélange d'extraction Krizman avant l'incubation de l'échantillon a considérablement augmenté l'ADN, qualité, rendement et chances d'amplification de l'ADN (Krizman et al, 2006).

Une qualité élevée pourrait probablement être due à la prévention des interactions irréversibles de l'ADN avec les polyphénols, car les composés véhiculés par le cytosol devraient entrer en contact avec le charbon actif plus tôt que l'ADN. Il est possible que le PVP ait un effet synergique dans la liaison des polyphénols au charbon actif (Fang et al, 1992).

b. Effet de différentes méthodes d'extraction d'ADN sur le rendement d'extraction d'ADN de *Salvia officinalis* :

Les kits d'extraction d'ADN utilisés dans cette étude étaient limités à un kit d'extraction d'ADN très rapide (Kit de Purification d'ADN génomique Wizard®) et deux systèmes à base de gel de silice (Nucleospin® Plant, DNeasy® Plant Mini Kit), car ces deux dernières méthodes sont spécialement adaptées au matériel végétal et fréquemment utilisées. De plus, deux protocoles peu coûteux basés sur le CTAB ont été inclus dans cette étude (Le CTAB I a été modifié à partir du protocole publié par Doyle et Doyle (1990) et le CTAB II a été réalisé comme décrit par Pirtillä et al. (2001) avec quelques modifications). L'objectif de ce travail était d'analyser l'application des cinq méthodes d'extraction d'ADN sélectionnées, suivies d'un test PCR standard sur des plantes médicinales représentatives des différents organes végétaux (Schmiderer *et al*, 2013).

Les concentrations d'ADN obtenues ont été mesurées avec une méthode fluorimétrique et la quantité d'ADN extraite par masse sèche (DM) de matériel végétal extrait a été calculée. La valeur la plus élevée des quantités d'ADN extraites a pu être obtenue avec DNeasy (603 ng/mg DM), des quantités moyennes ont été obtenues avec les méthodes CTAB I et Wizard (204-182-155 ng/mg DM) et la quantité la plus faible a été obtenue avec Nucleospin (<1 ng/mg DM). Pour la DNeasy, la quantité d'ADN isolé attendue était de 150 à 1500 ng/mg de masse sèche et pour la nucléospine de 500 à 1500 ng/mg de masse sèche.

Le rendement en ADN généralement inférieur des méthodes basées sur la colonne de spin est dû à faibles capacités des colonnes. Cependant, si une quantité d'ADN extraite est inférieure à la sensibilité de la méthode utilisée pour la quantification de l'ADN, parfois des problèmes de PCR peuvent être attendus. Ici, la méthode fluorométrique de quantification de l'ADN a été préférée à d'autres méthodes (en particulier à la détermination spectrophotométrique largement utilisée de la concentration en ADN) en raison de sa sensibilité élevée et de la faible interaction du colorant fluorescent avec les protéines, l'urée, l'éthanol et le chloroforme (Demeke & Jenkins, 1990).

Tableau 4: comparaison de rendement d'extraction d'ADN entre les méthodes utilisés (Schmiderer *et al*, 2013).

		Quantité d'ADN [ng / mg DM (masse sèche)]				
Méthode Échantillon	CTAB I	CTAB II	Wizard	Nucleospin	DNeasy	
-Feuilles fraiches (VetMed)	-	-	-	-	603	
-Feuilles de salvia (pharmacie)	204	42	182	11	67	
- Thé de sauge (Alnatura)	62	27	80	4	22	
- Feuilles sèches (Teekanne)	73	49	155	<1	15	

VetMed :Le jardin botanique de l'Université de Médecine Vétérinaire de Vienne.

Teekanne : Société allemande de négoce de thé.

Conclusion

Conclusion :

Depuis la réalisation de la première purification d'ADN Friedrich Miescher, les biologistes ont arrivé à effectuer des progrès extraordinaires dans la conception de techniques d'isolement plus fiables, plus faciles et plus rapides à réaliser, plus rentables et produisant un rendement plus élevé. Des techniques plus récentes, plus fiables et plus efficaces, ont facilité l'avancement des connaissances sur le génome humain et ils ont joué un rôle majeur dans l'avènement de divers domaines scientifiques tels que l'édition de gènes et la médecine personnalisée. Cependant, à l'heure actuelle, il semble qu'il n'existe pas de procédure unique applicable à tous les contextes d'extraction d'ADN en raison de leurs restrictions dans la production donne des rendements d'une pureté et d'une commodité d'utilisation optimales. Par conséquent, des solutions pour surmonter les limites de ces techniques sont nécessaires pour de meilleurs résultats et pour simplifier la manipulation de l'ADN. Amélioration de la conception des méthodes existantes et le développement de nouvelles techniques seront la force motrice pour diriger le développement futur de la technologie d'extraction d'ADN.

Perspectives :

Les techniques d'extraction sont très complexes et demandent un ajustement précis. Il faut se poser la question de quelle exigence on veut avoir, une économie de temps, d'argent ou encore la plus reproductibilité dans les résultats. Pour la continuité de notre travail nous proposons :

- Augmenter le nombre des échantillons pour faire une étude sur l'efficacité des méthodes d'extraction, ce qui va nous permettre d'en tirer des conclusions et dégager des recommandations, très utiles sur le protocole appliqué.
- Mesurer précisément la quantité et la qualité d'ADN extraits, en effectuant un dosage au Nanodrop
- Valider les résultats obtenus par PCR afin de confirmer la quantité d'ADN obtenu.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdellaoui H (2012). Développement récent et perspectives de l'agriculture biologique en Algérie. In : Colloque international sur les produits de terroir, université de Blida.

Anonyme (2013).. Botanical terms and other technical things: plant families. Lamiaceae- The mint family. <http://theseedsite.co.uk/lamiaceae.html>. Consulté le 23/05/2022

Abd El Aal A, Abd Elghany N, Mohamadin A, El Badry A (2010) Comparative study of five methods for DNA extraction from whole blood samples. IJHS, 3(1).

Adouane S (2016). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Université Mohamed Khider de Biskra.

Almeida A, Eusebio D, Queiroz J, Soussa F, Soussa A (2020) The use of size exclusion chromatography in the isolation of supercoiled minicircle DNA from Escherichia coli lysate. Journal of Chromatography A 1609.

Anne-Claire D, Lanis D, Marie-Alix V, (2008). Atelier sante environnement nsques et bénéfiques possibles des huiles esentielles, ingéniorat du génie sanitaire. Pp: 87.

Anonyme (1999). L'ABC des plantes : Guide pratique de la phytothérapie. Marseille : Romat-édition.

Anonyme (2001). CTAB protocol for isolating DNA from plant tissues. Disponible sur : https://opsdiagnostics.com/notes/protocols/ctab_protocol_for_plants.htm. Consulté le 13/04/2022.

Anonyme. (2005). Ministère de l'agriculture et du Développement Rural, Unité de Conservation et de Développement- Batna.

Anonyme (2013). Botanical terms and othertechnicalthings: plant families. Lamiaceae- The mintfamily. <http://theseedsite.co.uk/lamiaceae.html>. Consulté le 23/05/2022.

Anonyme (2014). 2 nouvelles lettres ajoutées à l'alphabet de l'ADN (biologie synthétique). Disponible sur : <http://www.psychomedia.qc.ca/sante/2014-05-08/biologie-synthetique-adnpartiellement-artificiel>. Consulté le 25/06/2022.

Anonyme (2015). Qu'est-ce qu'une plante médicinale. Disponible sur : <https://www.passeportsante.net/fr/Actualites/Dossiers/DossierComplexe.aspx?doc=plantesmedicinales>. Consulté le 13/03/2022.

Anonyme (2018). Modèle de cellule végétale. Disponible sur : https://www.conatex.com/media/manuals/BAFR/BAFR_1086383.pdf. Consulté le 19/06/2022.

Anonyme (2021). Chia Plant Care : Learn How To Grow Chia Seeds In The Garden. Disponible sur : <https://www.gardeningknowhow.com/edible/herbs chia-plant/howto-grow chia-seeds.htm>. Consulté le 26/06/2022.

Anonyme (2022). La cellule végétale et ses fonctions. Fortrainjobs nature. Disponible sur : <https://admin.fortrainjobs.com/uploads/Nature/Fleuriste/docs/Cours-CAP-Fleuriste-La-cellulevegetale-et-ses-fonctions.pdf> . Consulté le 19/06/2022.

Anonyme (2022). Kit d'extraction d'ADN génomique de plantes. Disponible sur : <https://www.clinisciences.com/lire/extraction-d-039-adn-909/kit-d-039-extraction-d-039-adn1315.html#:~:text=Ce%20kit%20est%20con%C3%A7u%20pour,hybridation%20et%20d'autres%20applications.&text=Rapide%20et%20simple>. Consulté le 17/05/2022.

Anonyme (2022). Les propriétés de quinaquina. <https://www.herbonata.fr/conseil-les-propri-t-sdu-quina-150.htm>. Consulté le 15/06/2022.

Anonyme (2022). Pictures, images and stocks photos. Disponible sur : <https://www.istockphoto.com/fr/photos/lyse>. Consulté le 22/06/2022.

Anonyme (2022). La cellule : tableau comparative. Disponible sur : <https://slideplayer.fr/slide/1315572/>. Consulté le 25/06/2022.

B

Balasundram N., Sundram K., Samman S. (2006): Phenolic compounds in plants and agricultural by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 191–203.

Baricevic D, Bartol T (2000). Pharmacology: The biological, pharmacological activity of the *Salvia* genus. Dans E K. Spiridon, SAGE: The genus *Salvia*. Athens, Greece: Overseas Publishers Association pp. 143-184.

Benbouza H., J-P Baudoin. & G Mergeai., (2006). Amélioration de la méthode d'extraction d'ADN au CTAB appliquée aux feuilles de cotonnier, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, volume. 10, numéro. 2 : 73-76

Bernfield, M. R. , Laskey, . Ronald A. , Slack, . Jonathan M.W. , Alberts, . Bruce M. , Lodish, . Harvey F. , Stein, . Wilfred D. , Cuffe, . Michael , Chow, . Christopher , Staehelin, . L. Andrew and Cooper, . John A. (2022). *cell. Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/cell-biology>. Consulté le 23/05/2022

Birnbiom H, Doyle J (1979) A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Research* 7(6): 1513-1523.

Brinis G, Drihem Y(2020). Mise au point d'un protocole d'extraction d'ADN génomique à partir des feuilles lyophilisées de la vigne.

Budelier K, Schorr J (1998) Purification of DNA by Anion-Exchange Chromatography. *Current Protocols in Molecular Biology* 42(1).

C

- Carovic-Stanko K, Petek M, Grdisa M, Pintar J, Bedekovic D, Herak Ćustic M., Satovic Z (2016) Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods – a review. *Czech J. Food Sci*, 34: 377–390.
- Celep, F., Kahraman, A., Dog̃an, M. (2011). A new taxon of the genus *Salvia* L. (Lamiaceae) from Turkey. *Pl. Ecol. Evol.* 144:111-114.
- Chabrier, J. Y. (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie* [Thèse]. Nancy: *Université Henri Poincaré faculté de pharmacie*.
- Charami M., Lazari D., Karioti A., Skaltsa H., Hadjipavlou- Litina D., Souleles C. (2008): Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Sideritis perfoliata* subsp. *Perfoliata* (Lamiaceae). *Phytotherapy Research*, 22: 450–454.
- Chevrlilier A (2007), *Les plantes médicinales, Avant propos du Dr ANN WALKER*, Editions Gründ pour l'édition française « GRUND » REMEDES posologie préparations Propriétés thérapeutiques. Soins.
- Chockalingam P, Juardo L, Jarret H (2001) DNA Affinity Chromatography. *Molecular Biotechnology* 19(2): 189-200.
- Clarke, J. D. (2009). Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) DNA miniprep for plant DNA isolation. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2009(3), 5177.
- Cragg, G. M, Newman, D. J (2003). Plants as a source of anti-cancer and anti-HIV agents. *Annals of applied biology*, 143(2), 127-133.
- Cronquist, A.(1981). *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia Univ Press, New York.

D

- Decaux I (2002). *Phytothérapie: Mode d'emploi*. Ed: le bien public. P: 6
- Dellaporta S.L., Wood j. & B.Hicks J., (1983). A plant DNA mini preparation: version II. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 1(4), 19-21.
- Demeke T, Jenkins GR (2010). Influence of DNA extraction methods, PCR inhibitors and quantification methods on real-time PCR assay of biotechnology-derived traits. *Anal Bioanal Chem*, 396:1977–1990.
- Dhaliwal A (2013) *DNA Extraction and Purification*. *Materials and Methods* p. 3. 10.

Djerroumi A, Nacef M (2004). 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais de l'Avre. Pp: 135-131.

Djelili F (2007). Etude du pouvoir de précipitation de la protéine BSA des extraits polyphénoliques des plantes médicinales de la région de Beni-Djdlil (wilaya de BEJAIA). Mémoire de Magister. Université Abderahmane Mira de Bejaia. Pp:21

Doyle J (1991) DNA Protocols for Plants. Molecular Techniques in Taxonomy pp. 283-293.

Duling EN, Owen J.C, John B.G, Rosmary F.W., Kevin A.M, Yeap L.F, Nigel B.P. (2007). Extraction of phenolic and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixture. Food chemistry. 101: 1417- 1424.

E

El Abbouyi A., El Khyari S., Eddoha R., Filali-Ansari N. (2013). Anti-inflammatory effect of hydromethanolic extract from *Marrubium vulgare* Lamiaceae on leukocytes oxidativemetabolism: an *in vitro* and *in vivo* studies. International Journal of Green Pharmacy, 7: 224–229.

El haykle Mohamed & Omar A. (1993). Plantes médicinales et aromatiques deuxième adition, installation connaissance d'Alexandrie, 13-134.

Elkins K (2013) DNA Extraction. Forensic DNA Biology p. 39-52.

Esser K, Marx W, Lisowsky T (2006). MaxXbond: first regeneration system for DNA binding silica matrices. Nature Methods 3(1) i-ii.

Evans J (2001). The complexities of predictive genetic testing. BMJ 322(7293): 1052-1056.

F

Fang G, Hammar S, Grumet R (1992). A quick and inexpensive method for removing polysaccharides from plant genomic DNA. BioTech., 13: 52-54.

Farag R, Salem S, Badei H, Hassanein D (1986). Biochemical studies on the essential oil of some medicinal plants. FetteSeifenAnstrichmittel, 88 (2), pp. 69 72.

G

Anonyme (2021). Chia Plant Care: Learn How To Grow Chia Seeds In The Garden.

Disponible sur: <https://www.gardeningknowhow.com/edible/herbs/chia-plant/how-to-grow-chia-seeds.htm>. Consulté le 26/06/2022.

- Ghorbani A, Mahdi E (2017). Pharmacological properties of *Salvia Officinalis* and its components. *Journal of traditional and complementary, medicine*. Pp: 433
- Gnavi G, Berteau CM, Maffei ME (2010). PCR, sequencing and PCR-RFLP of the 5S rRNA-NTS region as a tool for the DNA fingerprinting of medicinal and aromatic plants. *Flavour and Fragrance Journal*, 25:132–137.
- Gonçalves R.S., Battistin A., Pauletti G., Rota L., Serafini L.A. (2009): Antioxidant properties of essential oils from *Mentha* species evidenced by electrochemical methods. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 11: 372–382.
- Gotz P. Busser C (2007). *La phytothérapie thérapeutique*, Springer, 188.
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.

H

- Haouari M. & Ferchichi A., (2004). Utilisation des marqueurs ISSR pour l'étude du polymorphisme génétique d'*Artemisia herba-alba*. In : Ferchichi A. (comp.), Ferchichi A. (collab.). *Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens*. Zaragoza : CIHEAM, p, 115-119.
- Anonyme (2022). Les propriétés de quinaquine. <https://www.herbonata.fr/conseil-les-propri-t-s-du-quinquina-150.htm>. Consulté le 15/06/2022.
- Heubl G (2010) . New aspects of DNA-based authentication of Chinese medicinal plants by molecular biological techniques. *Planta Med*, 76:1963-1974.
- Hoss M, Paabo S (1993) DNA extraction from Pleistocene bones by a silica-based purification method. *Nucleic Acids Research* 21(16): 3913- 3914.
- Howkins T (1998) DNA purification and isolation using magnetic particles. United States.
- Hu, G.X., Takano, A., Drew, B.T., Liu, E.D., Soltis, D.E, Soltis, P.S, Peng, H., Xiang, C.L. (2018). Phylogeny and staminal evolution of *Salvia* (Lamiaceae, Nepetoideae) in East Asia. *Ann. Bot.* 122: 649-668

J

- Jovanovic T., Kitic D., Palic R., Stojanovic G., Ristic M. (2005): Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Acinos arvensis* (Lam.) Dandy from Serbia. *Flavour and Fragrance Journal*, 20: 288–290.

K

Kabouche, A. (2005). Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae [thèse de doctorat]. Université Mentouri, Constantine, Algérie.

Krizman M., Jakse J., Baricevic D., Javornik B. and Prosek M., (2006). Robust CTAB-activated charcoal protocol for plant DNA extraction. Acta Agric. Slov. 87, 427-433.

L

Leland J, Kirakosyan A, Margaret V, Peter B (2012) Handbook of molecular and cellular methods in biology and medicine (3rd Edition). Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis Group, UK.

M

Maalem ML et Nada-Abi (2019). La famille des *Lamiacées*. Université d'Annaba. Disponible sur : https://www.academia.edu/39279296/LA_FAMILLE_DES_LAMIACEES. Consulté le 28/06/2022.

Madi A, (2007). Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire de magister. Université Mentouri Constantine:08.

Maghni B, Adda A, Sahnoune S & Chouhim K (2014). Amélioration de la méthode d'extraction d'ADN au CTAB appliquée aux feuilles d'Armoise blanche «région de Tiaret».

Marino M., Bersani C., Comi G. (2001): Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. International Journal of Food Microbiology, 67: 187–195.

Mariyam D, Preetha J (2020). The evolution of DNA extraction methods. American journal of biomedical sciences and research.

Martinat L (2020). Romarin: propriétés, bienfaits, utilisations, Doctissimo. Disponible sur:<https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/romarin.htm>. Consulté le 13/06/2022.

Meselson M, Stahl F, Vinograd J (1957) Equilibrium Sedimentation of macromolecules in density gradients. Proceedings of the National Academy of Sciences 43(7): 581-588.

Messai L (2011). Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'Est algérien (*Artemisia herba alba*). Thèse de Doctorat. Université de Constantine.

Miller S, Dykes D, Polesky H (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16(3): 1215.

Mills, Simon Y (2001). Evidence for the clinician – a pragmatieframework for phytotherapy.

N

Nicolas P (2006). L'extraction d'ADN. Mission SANTO 2006. Disponible sur : <http://acces.ens-lyon.fr/santo/donnees/biodivmarine/methodes-de-collecte/l2019extraction-d2019adn#:~:text=L'objectif%20de%20l'extraction,les%20manipulations%20de%20biologie%20mol%C3%A9culaire>. Consulté le 03/04/2022.

O

Ozanda P (1977). Flore du Sahara. Paris : 2ème Ed. CNRS.

Özler, H., Pehlivan, S., Kahraman, A., Doğan, M., Celep, F., Başer, B., Yavru, A., Bagherpour, S. (2011). Pollen morphology of the genus *Salvia* L. (Lamiaceae) in Turkey. *Flora*. 206:316-327.

P

Parr A.J., Bolwell G.P. (2000): Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 985–1012.

Peterson E, Sober H (1956) Chromatography of Proteins. I. Cellulose Ionexchange Adsorbents. *Journal of the American Chemical Society* 78(4): 751-755.

R

Radulescu V, Silvia C, Eliza O (2004). Capillary gas chromatography mass spectrometry of volatile and semi volatile compound of *Sahta officinalis*. *Journal of Chromatography A*.1027: 121-126.

Ralf D. (2005). Friedrich Miescher and the discovery of DNA. *Developmental biology*. 278(2). 274-288.

Rebiere O , Rebiere C (2018). Plantes aromatiques pour votre santé. Ed Nature passion t.8.

S

- Saeid, A. R. (2011). Comparison of methods for isolating high quality DNA from sage (*Salvia officinalis*). *Journal of medicinal plants research*, 5(6), 938-941.
- Saiyed Z, Ramchand C (2007). Extraction of Genomic DNA Using Magnetic Nanoparticles (Fe₃O₄) as a Solid-Phase Support. *American Journal of Infectious Diseases* 3(4): 225-229.
- Sambrook J, Russel DW (2001). *Molecular cloning: a laboratory manual*. Third Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Schmiderer, C., Lukas, B., & Novak, J. (2013). Effect of different DNA extraction methods and DNA dilutions on the amplification success in the PCR of different medicinal and aromatic plants. *Zeitschrift für Arznei-und Gewürzpflanzen*, 18, 65-72.
- Schönfelder & Peter. (2015). *Scutellaria altissima* bald ein aggressiver Neophyt?. *Hoppea, Denkschr. Regensb. Bot. Ges.* 76. 141-142.
- Anonyme (2022). La cellule: tableau comparative. Disponible sur: <https://slideplayer.fr/slide/1315572/>. Consulté le 25/06/2022.
- Stankovic, M. (2020). *Lamiaceae Species*. MDPI: Basel, Switzerland.
- Stojanovic, Danilo , Aleksić, Jelena , Jančić, Ivan, Jancic, Radisa. (2015). A Mediterranean medicinal plant in the continental Balkans: A plastid DNA-based phylogeographic survey of *Salvia officinalis* (Lamiaceae) and its conservation implications. 45. 103-118.
- Suhaj M. (2006): Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 531–537.

T

- Tan S, Yiap B (2009) DNA, RNA, and Protein Extraction: The Past and The Present. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*: 1-10.
- Thomas S, Moreno R, Tilzer L (1989). DNA extraction with organic solvents in gel barrier tubes. *Nucleic Acids Research* 17(13): 5411-5411.
- Toroglu S. (2011): *In-vitro* antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils. *Journal of Environmental Biology*, 32: 23–29.

V

Verdrager.J. (1978). Ces médicaments qui nous viennent des plantes : ou les plantes médicinales dans les traitements modernes. Paris Maloine S. A éditeur ; p : 12-15.

Vogelstein B, Gillespie D (1979) Preparative and analytical purification of DNA from agarose. Proceedings of The National Academy of Sciences 76(2): 615-619.

W

Walker, J.B., Sytsma, K.J., Treutlein, J. (2004). Salvia is not monophyletic: implications for the systematic radiation and ecological specializations of Salvia and tribe Mentheae. American J. Bot. 91: 115-1125.

Walker, J.B., Drew, B.T., Sytsma, K.J. (2015). Unravelling species relationships and diversification within the iconic California Floristic Province sages (Salvia subgenus Audibertia, Lamiaceae). Syst. Bot. 40: 826-844.

Williamson E (2001). Synergy and other interactions in phytomedicines. Phytomedicine, 8(5), 401-409

Wink M. (2003): Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. Phytochemistry, 64: 3–19.

Woodard D, Howard A, Down J (1993). Process for purifying DNA on hydrated silica. United States.

Z

Zylberberg S (2018). Différence entre la cellule animale et la cellule végétale. Disponible sur: <https://jeretiens.net/difference-cellule-animale-cellule-vegetale/>. Consulté le 26/06/2022.

Résumé :

Dans le cadre de la recherche scientifique, l'isolement de l'ADN est devenu essentiel dans nombreuses études de biologie moléculaire. Diverses techniques d'isolement d'ADN de certaines espèces végétales principalement de genre *Salvia* ont été comparées, la méthode basée sur l'utilisation des kits d'isolement d'ADN disponibles sur le marché et l'extraction par le détergent CTAB avec ses modifications. Le taux de réussite de la réaction en chaîne par polymérase (PCR) dépend de la qualité de l'ADN. Les plantes médicinales contiennent des quantités exceptionnellement élevées de métabolites secondaires qui interfèrent avec l'isolement de l'ADN. Pour résoudre ce problème, les protocoles modifiés par CTAB ont été comparés dans la premier exemple pour une extraction efficace d'ADN de la sauge (*Salvia officinalis*). Le rendement d'ADN génomique le plus élevé avec la meilleure qualité a été obtenu en utilisant du charbon actif et du PVP dans le tampon d'extraction CTAB, en présence de ces composés, les polysaccharides et les polyphénols indésirables ont été éliminés. Ensuite on a fait une autre étude comparative entre trois méthodes étaient basées sur l'emploi des kits d'extraction d'ADN commerciaux (Nucleospin® Plant (Macherey-Nagel), DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen) et Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega)) et deux méthodes étaient basées sur CTAB. Les résultats ont montré que la méthode de DNeasy donne le meilleur rendement d'ADN extrait à partir des feuilles fraîches de *Salvia officinalis*, donc l'état de la matière première influence sur les résultats d'extraction.

Les mots clé : ADN, plantes médicinales, technique d'extraction, *Salvia*, PCR.

Summary :

In the context of scientific research, DNA isolation has become essential in many molecular biology studies. Various techniques for DNA isolation of certain plant species mainly of the genus *Salvia* were compared, the method based on the use of DNA isolation kits available on the market and extraction by CTAB detergent with its modifications. The success rate of the polymerase chain reaction (PCR) depends on the quality of the DNA. Medicinal plants contain exceptionally high amounts of secondary metabolites that interfere with DNA isolation. To solve this problem, the protocols modified by CTAB were compared in the first example for an efficient DNA extraction from sage (*Salvia officinalis*). The highest genomic DNA yield with the best quality was obtained by using activated carbon and PVP in the CTAB extraction buffer, in the presence of these compounds, unwanted polysaccharides and polyphenols were eliminated. Then another comparative study was carried out between three methods were based on the use of commercial DNA extraction kits (Nucleospin® Plant (Macherey-Nagel), DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen) and Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega)) and two methods were based on CTAB. The results showed that the DNeasy method gives the best yield of DNA extracted from fresh *Salvia officinalis* leaves, so the state of the raw material influences the extraction results.

Key words: DNA, medicinal plants, extraction technique, *Salvia*, PCR.

ملخص:

في سياق البحث العلمي، أصبح عزل الحمض النووي ضروري في العديد من دراسات البيولوجيا الجزيئية. تمت مقارنة تقنيات مختلفة لعزل الحمض النووي لبعض أنواع النباتات بشكل رئيسي من جنس *Salvia*، وهي الطريقة التي تعتمد على استخدام مجموعات (kit) عزل الحمض النووي المتاحة في السوق و تقنية استخدام محلول CTAB مع تعديلاته. يعتمد معدل نجاح تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) على جودة الحمض النووي. تحتوي النباتات الطبية على كميات عالية بشكل استثنائي من المستقلبات الثانوية التي تتداخل مع عزل الحمض النووي. لحل هذه المشكلة، تمت مقارنة البروتوكولات المعدلة في المثال الأول لاستخراج الحمض النووي الفعال (*Salvia officinalis*). تم الحصول على أعلى عائد للحمض النووي الجيني مع أفضل نوعية باستخدام الكربون المنشط و PVP، في وجود هذه المركبات، تم القضاء على السكريات غير المرغوب فيها و البوليفينول. ثم أجريت دراسة مقارنة أخرى بين ثلاث طرق استندت إلى استخدام مجموعات استخراج الحمض النووي التجارية (Nucleospin® Plant (Macherey-Nagel), DNeasy® Plant (Mini Kit (Qiagen) and Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega)) واستندت طريقتين على CTAB. وأظهرت النتائج أن طريقة DNeasy اعطت أفضل عائد من الحمض النووي المستخرج من أوراق *Salvia officinalis* الطازجة وبالتالي فإن حالة المواد الخام تؤثر على نتائج الاستخراج.

الكلمات المفتاحية: الحمض النووي، النباتات الطبية، تقنية الاستخراج، *Salvia*، تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR.