

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° d'ordre :
N° de série :

Université de Ghardaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la terre
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de
MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biochimie

Spécialité : biochimie appliquée

Par: SALMI Maria et MAIKHAF Khadidja

Thème

**Cholinestérase et toxicité des extraits aqueux
bruts de dattier du désert (*Balanites aegyptiaca*)
sur les moustiques de la wilaya de Ghardaïa.**

Soutenu publiquement le:

| Devant le jury | | | |
|---------------------------------|-------------------------|----------------|------------------|
| M. BENBEKHTI Zineddine | Maître Assistant A | Univ. Ghardaïa | Président |
| Mme. HAMID OUDJANA Aicha | Maître de conférences B | Univ. Ghardaïa | Encadreur |
| M.GHANIA Ahmed | Maître Assistant B | Univ. Ghardaïa | Examineur |

Année universitaire :2019/2020

Résumé

Notre étude vise à étudier l'effet toxique du dattier du désert (*Balanites aegyptiaca*) récolté dans le sud du Sahara Algérien, sur les larves de moustique *Culex pipiens* de la wilaya de Ghardaïa. Pour ce fait, nous avons préparé des extraits aqueux bruts des feuilles et d'amande des fruits de *Balanites aegyptiaca* et chercher leurs compositions et leurs effets sur le taux de mortalité par rapport aux témoins et sur l'activité de cholinestérase. Les résultats de rendement d'extraction ont montré que le pourcentage des métabolites secondaires d'amande des fruits ($12.60\pm 0.10\%$) est élevé par rapport aux feuilles ($8.47\pm 0.00\%$). Les analyses phytochimiques ont permis de mettre en évidence la présence de plusieurs familles de métabolites secondaires, les feuilles et l'amande des fruits sont composés d'un taux élevé des coumarines, stérols, polyterpènes, alcaloïdes et stéroïdes, ainsi les saponines sont plus abondants dans l'amande des fruits par rapport aux feuilles, mais les huiles essentielles résident uniquement dans les feuilles. Selon les études antérieures, la mortalité augmente avec la dose et le temps et elle s'est avéré que l'extrait d'amande des fruits est plus toxique, 95% de mortalité que l'extrait des feuilles qui présente 92% de mortalité. Ainsi plusieurs études montrent que l'extrait aqueux de plusieurs solvants organiques des feuilles et des amandes des fruits de *B. aegyptiaca* provoque une inhibition d'activité de cholinestérase chez les larves de moustiques.

Mots clés: *Culex pipiens*, Dattier du désert (*Balanites aegyptiaca*), Extrait aqueux bruts, Criblage phytochimique, Toxicité, mortalité, cholinestérase.

Abstract

Our work aims to study the toxic effect of the desert date (*Balanites aegyptiaca*) collected in the southern Algerian Sahara, on the larvae of mosquito *Culex pipiens* from the wilaya of Ghardaïa. For this fact, we have prepared raw aqueous extracts of the leaves and kernels of the fruit of *Balanites aegyptiaca* and investigated their compositions and their effects on the mortality rate compared to the controls and on the cholinesterase activity. The extraction yield results show that the percentage of kernels secondary metabolites of fruits ($12.60 \pm 0.10\%$) is high compared to leaves ($8.47 \pm 0.00\%$). Phytochemical analyses revealed the presence of several families of secondary metabolites, the leaves and kernels of the fruit are composed of high levels of coumarin, sterol, polyterpenes, alkaloids and steroids, thus saponins are more abundant in the kernel of the fruits compared to the leaves, but the essential oils reside only in the leaves. According to previous studies, mortality increases with dose and time, and kernel of the fruits extract is found to be more toxic, with 95% mortality than leaf extract, which has 92% mortality. Thus several studies show that the aqueous extract of several organic solvents of leaves and kernels of fruits of *B. aegyptiaca* causes an inhibition of cholinesterase activity in mosquito larvae.

Key words: *Culex pipiens*, Desert Date (*Balanites aegyptiaca*), Crude aqueous extract, Phytochemical screening, Toxicity, Mortality, Cholinesterase.

الملخص

تهدف دراستنا إلى دراسة التأثير السمي لثمر الصحراء (*Balanites aegyptiaca*) الذي تم جمعه في جنوب الصحراء الجزائرية على يرقات بعوض *Culex pipiens* في ولاية غرداية. ولهذا السبب قمنا بإعداد المستخلصات المائية الخام للأوراق ولوز الفاكهة من *Balanites aegyptiaca* والبحث عن مكوناتها وتأثيراتها على نسب موت البعوض بالمقارنة مع الشاهد وعلى نشاط إنزيم الكولين استراز. أظهرت نتائج مردود الاستخلاص أن نسبة المستقلبات الثانوية للوزة الثمار مرتفعة ($12.60 \pm 0.10\%$) مقارنة بالأوراق ($8.47 \pm 0.00\%$). أظهرت التحليلات الكيميائية النباتية وجود عدة عائلات من المستقلبات الثانوية على مستوى الأوراق ونواة الثمار وبنسب عالية الكومارين والسترولات والبوليتربينو القلويدات ، أما بالنسبة للصابونين هو أكثر وفرة في لوز الفاكهة مقارنة بالأوراق. لكن الزيوت الأساسية تتواجد فقط في الأوراق. وفقا للدراسات السابقة، يزداد معدل الوفيات بتزايد الجرعة والوقت وقد تبين أن مستخلص اللوز من الفاكهة أكثر سمية (95%) مقارنة بمستخلص الأوراق (92%). أيضا تظهر العديد من الدراسات أن المستخلص المائي للعديد من المذيبات العضوية من أوراق و لوز الفاكهة يسبب في تثبيط الكولين استراز ليرقات البعوض.

الكلمات المفتاحية: *Culex pipiens*، الثمر الصحراوي (*Balanites aegyptiaca*)، المستخلص المائي الخام، الفحص الكيميائي النباتي، السمية، الوفيات ، الكولين استراز.

Dédicace



Je dédie ce modeste travail :

Aux deux personnes les plus chères au monde ma mère et mon père, sans votre affection, vos conseils, vos sacrifices, vos encouragements et vos efforts

Mes deux chers frères (Anes et Mossab) et mes petites sœurs (Sahla et Sarra)

Mes grands parents, mes oncles et tantes

A toute la famille : Salmi et Boukadi

Mes chères: Romassa, Zhadidja, Somia, Om kalthome, Safia, Abir et Salih

A tous ceux que j'aime et respecte

Merci



Maria

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes très chers parents, qui n'ont cessé de m'encourager et qui ont toujours donné le meilleur d'eux même

A mes sœurs: Halima, Amina, fatma

A mon frère: Ahmed

A toute la famille: Maikhaf, Isassi,

A mon âme jumelle: Maria et sa famille

A ma tante: fatma et à son mari Rashid Belakhal

A mon petit ange sodjoud et Ahmed dia-elhaque

A mes chères: Fatma, Oum kalthom, Roumaissa,

Zohra, Abla, Saida, Abir et Salih

Khadija

Remerciements

Nous remercions tout d'abord notre dieu ALLAH tout puissant pour la force, le courage et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces années universitaires

Mes profonds remerciements s'adressent à notre encadreur **Mme HAMID OUDJANA Aïcha** Maître de conférences à l'université de Ghardaïa, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses aides, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance... tout au long de ce mémoire, pour cela, nous tenons à lui exprimer toute notre gratitude.

Nous adressons nos plus vifs remerciements à **Mr BENBEKHTI Zineddine**

Maître Assistant à l'université de Ghardaïa, pour l'honneur de présider notre soutenance et d'avoir eu l'amabilité de lire ce travail, nous lui exprimons notre reconnaissance pour sa bienveillance et sa gentillesse.

Nous exprimons également notre profonde gratitude à

Mr GHANIA Ahmed

Maître Assistant à l'université de Ghardaïa en acceptant d'examiner et de juger notre travail et l'enrichir par ses propositions.

Un très grand merci à : **Melle BELABBASSI Warda, Melle GHARIZOU Zohra, Melle RAGGANI Fatma, Melle BENMASSOUDE Sara**

Nous remercions aussi tous les ingénieurs du département de biologie de l'université de Ghardaïa.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

| N° | Titre | Page |
|----|--|------|
| 1 | Réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine..... | 05 |
| 2 | Modélisation 3D d'AchE ₁ chez les moustiques | 06 |
| 3 | Représentation schématique de l'AChE..... | 07 |
| 4 | Mécanisme d'hydrolyse par une sérine hydrolase..... | 08 |
| 5 | Hydrolyse de l'acétylcholine par l'AChE au niveau de la synapse cholinergique..... | 09 |
| 6 | Mécanisme d'action toxique des OPs et carbamates..... | 11 |
| 7 | Mécanisme d'action toxique d'un OP le chlorpyrifos-éthyl sur l'activité de l'AChE..... | 12 |
| 8 | Morphologie schématique d'une larve de moustique <i>Culex pipiens</i> | 15 |
| 9 | Morphologie externe de la tête de la larve des Culicidae..... | 16 |
| 10 | Morphologie générale d'un moustique adulte de <i>Cx. pipiens</i> | 18 |
| 11 | Cycle de développement biologique du moustique <i>Cx. pipiens</i> (x40)..... | 20 |
| 12 | Cycle de transmission du virus West Nile..... | 22 |
| 13 | Cycle biologique de <i>W. bancrofti</i> | 23 |
| 14 | Différentes parties de grain de la plante <i>B. aegyptiaca</i> | 25 |
| 15 | Situation géographique de lieu de la récolte des moustiques..... | 29 |
| 16 | Situation géographique de lieu de la récolte d'échantillon végétale..... | 30 |
| 17 | Carte représente la distribution de <i>B. aegyptiaca</i> dans population Africain..... | 33 |
| 18 | Protocole de la préparation d'extrait méthanolique par macération..... | 37 |
| 19 | Rendement d'extraction..... | 45 |

| | | |
|----|--|----|
| 20 | Abundance des métabolites secondaires dans les extraits des feuilles et des fruits d'extrait aqueux bruts de dattier du désert (<i>B. aegyptiaca</i>)..... | 47 |
|----|--|----|

| N° | Titre | Page |
|----|---|------|
| 1 | Nacelle d'œufs de <i>Cx. pipiens</i> | 13 |
| 2 | Morphologie générale d'une larve du 4 ^{ème} stade (L4) de <i>Cx. pipiens</i> | 16 |
| 3 | Morphologie générale d'une nymphe de <i>Cx. pipiens</i> | 17 |
| 4 | <i>Cx. pipiens</i> adulte..... | 18 |
| 5 | Arbre de <i>B. aegyptiaca</i> à Est-tefert -Abalessa-tamanrasset..... | 30 |
| 6 | Séchage et broyage des feuilles de <i>Balanites aegyptiaca</i> | 31 |
| 7 | Broyage d'amande récupérée de <i>Balanites aegyptiaca</i> | 31 |
| 8 | Site urbain de baba saad à Berriane, Wilaya de Ghardaïa (Originale).... | 33 |
| 9 | La cage d'élevage des moustiques (Originale)..... | 34 |
| 10 | L'extraction par macération (Originale)..... | 36 |
| 11 | Montage de rotavapor (Originale)..... | 36 |

Liste des tableaux

| N° | Titre | Page |
|----|--|------|
| 1 | Systematique de <i>Culex pipiens</i> Linnée, 1758..... | 12 |
| 2 | Caractères morphologiques distinctifs des différents stades larvaires d'un isolat de <i>Cx. pipiens</i> | 14 |
| 3 | Utilisations de <i>B. aegyptiaca</i> en médecine humaine | 26 |
| 4 | Utilisations de <i>B.aegyptiaca</i> en médecine animale..... | 27 |
| 5 | Résultats de criblage phytochimique d'extrait aqueux bruts des feuilles et des fruits de dattier du désert (<i>B. aegyptiaca</i>)..... | 47 |
| 6 | Activités inhibitrices de l'AChE de l'extrait et de la fraction de feuilles de <i>B. aegyptiaca</i> | 52 |

3D: trois dimensions

ACh: acétylcholin

AChE: acétylcholinestérase

B: Balanites

BBC: Bleu Brillant de Coomassie.

Cx: Culex

Del: Delile

DL₅₀ : Dose létale 50

DTNB: Dithiobisnitrobenzoate

Glu: acide Glutamique

GPI: glycosylphosphatidyl inositol

His: histidine

L: Linnée

L1, 2,3,4: larvaire 1,2,3,4

OP: organophosphat

OPs: organophosphorés

S: substrat

SAB: Sérum Albumine Bovine .

Ser: Serine

SNC: système nerveux central

TL₅₀ : Temps létal 50

TNB: acide 5-thio (2-nitrobenzoïque)

Trp: Tryptophane

VWN: Virus West Nil

| | |
|--|------|
| Résumés | i |
| Dédicace..... | iii |
| Remerciements..... | iv |
| Liste des figures..... | vi |
| Liste des photos..... | vii |
| Liste des tableaux..... | viii |
| Liste des abréviations..... | x |
| Table des matières..... | 1 |
| Introduction..... | 1 |
| Chapitre I.- Revue bibliographique | |
| I.1.Cholinestérase et toxicité chez les insectes..... | 5 |
| I.1.1. Structure tridimensionnelle de l'Acétylcholinestérase..... | 5 |
| I.1.2. Site actif..... | 6 |
| I.1.3. Mécanisme catalytique..... | 8 |
| I.1.4. Rôle physiologique des cholinestérases..... | 9 |
| I.1.5. Toxicité des phytométabolites inhibiteurs d'AChE..... | 10 |
| I.2. Moustique de <i>Culex pipiens</i> Linnée, 1758..... | 12 |
| I.2.1. Classification de <i>Culex pipiens</i> Linnée, 1758..... | 12 |
| I.2.2. Description du moustique <i>Culex pipiens</i> Linnée, 1758..... | 13 |
| I.2.2.1. Les œufs..... | 13 |
| I.2.2.2. La larve..... | 14 |
| I.2.2.3. La Nymphe..... | 16 |
| I.2.2.4. Les adultes..... | 17 |
| I.2.3. Cycle biologique..... | 18 |
| I.2.3.1. Les œufs..... | 19 |
| I.2.3.2. Les larves..... | 19 |
| I.2.3.3. Les nymphes..... | 19 |
| I.2.3.4. Les adultes..... | 19 |
| I.2.4. Dégâts de <i>Cx.pipiens</i> | 20 |
| I.2.4.1. Piqures..... | 20 |
| I.2.4.2. Transmission de maladie..... | 20 |
| Le virus West Nile (VWN)..... | 21 |
| La filariose..... | 22 |
| I.3. <i>Balanites aegyptiaca</i> (L)..... | 23 |
| I.3.1. Historique et origine..... | 23 |
| I.3.2. Description botanique..... | 24 |
| I.3.3. Utilisation traditionnelle de <i>B.aegyptiaca</i> | 25 |
| I.3.4. Composition phytochimique..... | 27 |
| I.3.4.1. Flavonoïdes..... | 28 |
| I.3.4.2. Alcaloïdes..... | 28 |
| I.3.4.3. Glucosides..... | 28 |
| I.3.4.4. Composés phénoliques..... | 28 |
| I.3.4.5. Saponine..... | 28 |
| Chapitre II. Matériel et méthodes | |
| II.1. Principe adopté..... | 29 |
| II.2. Matériel biologique..... | 29 |
| II.2.1. Présentation du site expérimental..... | 29 |
| II.2.1.1. Berriane..... | 29 |
| II.2.1.2. East-tefert-Ablassa..... | 30 |

| | |
|---|----|
| II.2.2. Matériel végétal..... | 30 |
| II.2.2.1. Position systématique..... | 32 |
| II.2.2.2. Distribution géographique de la plante..... | 32 |
| II.2.3. Matériel animal..... | 33 |
| II.2.3.1. Échantillonnage..... | 33 |
| II.2.3.2. Élevage des insectes..... | 34 |
| II.3. Méthodes d'extraction | 34 |
| II.3.1. Préparation des extraits végétaux..... | 34 |
| II.3.1.1. Principe..... | 34 |
| II.3.1.2. Mode opératoire..... | 35 |
| II.3.2. Extraction d'enzyme cholinestérase et des protéines totaux..... | 38 |
| II.3.2.1. Principe..... | 38 |
| II.3.2.2 Mode opératoire..... | 38 |
| II.4. Screening phytochimique sur les extraits aqueux des végétaux..... | 38 |
| II.4.1. Identification de tanin..... | 38 |
| II.4.2. Identification des flavonoïdes | 38 |
| II.4.2.1. Test d'anthocyanes..... | 38 |
| II.4.2.2. Réaction à la cyanidine..... | 39 |
| II.4.3. Identification des coumarines..... | 39 |
| II.4.4. Identification des quinones libres..... | 39 |
| II.4.5. Identification des alcaloïdes..... | 39 |
| II.4.6. Identification des saponines..... | 39 |
| II.4.7. Identification des stérols et polyterpènes..... | 40 |
| II.4.8. Identification des stéroïdes..... | 40 |
| II.4.9. Test des glycosides cardiaques..... | 40 |
| II.4.10. Test des huiles volatiles..... | 40 |
| II.4.11. Identification des composés réducteurs..... | 40 |
| II.5. Étude de la toxicité..... | 40 |
| II.5.1. Méthode de traitement..... | 41 |
| II.5.2. Constitution des lots..... | 41 |
| II.5.2.1. Constitution des lots destinés à l'étude de la mortalité..... | 41 |
| II.5.2.1. Constitution des lots destinés à l'étude des paramètres biochimiques..... | 41 |
| II.5.3 Dosage de l'activité de l'Acétylcholinestérase..... | 41 |
| II.5.3.1. Principe..... | 41 |
| II.5.3.2. Mode opératoire..... | 42 |
| II.5.4. Dosage des protéines..... | 42 |
| II.5.4.1. Principe..... | 42 |
| II.5.4.2 Mode opératoire..... | 43 |
| II.6. Exploitation des résultats..... | 43 |
| II.6.1. Détermination de taux de mortalité..... | 43 |
| II.6.2. Dose létale 50 (DL ₅₀)..... | 44 |
| II.6.3. Temps léthal 50 (TL ₅₀)..... | 44 |
| Chapitre III. Résultats et discussion | |
| III.1. Rendement d'extraction des feuilles et des amandes des fruits de <i>B. aegyptiaca</i> | 45 |
| | |
| III.2. Criblage phytochimique des extraits aqueux bruts des feuilles et des fruits de dattier du désert (<i>B. aegyptiaca</i>)..... | 46 |
| III.3. Toxicité des extraits aqueux des feuilles et des amandes des fruits sur les moustiques <i>Culex pipiens</i> | 49 |

| | |
|--|----|
| III.4. Effets des extraits aqueux des feuilles et des amandes des fruits sur l'activité d'enzyme cholinestérase chez les moustiques <i>Culex pipiens</i> | 50 |
| Conclusion..... | 53 |
| Références bibliographiques..... | 55 |
| Annexes..... | I |

Introduction

Depuis 170 millions d'années, les diptères forment un groupe d'insecte le plus écologiquement diversifié (ZERROUG, 2018). Les moustiques font partie de la classe des hexapodes, de l'ordre des Diptères, et de la famille des Culicidés (LACEY et ORR, 1994). La famille des Culicidés est considérée comme la plus importante, elle comprend environ 3528 espèces de la faune du monde (POUPARDIN, 2011). Les espèces constituant le même groupe sont regroupées sous le vocable commun : le complexe d'espèces. Dans le groupe des Culicidés, on trouve trois complexes ; le complexe *Anopheles gambiae* Giles, 1902, le complexe *Anopheles punctulatus* et le complexe *Culex pipiens* Linnee, 1758. Ce dernier est le plus anciennement étudié (ZERROUG, 2018). Il comprend deux espèces; *Culex globocoxitus* Dobrotworsky, 1953 endémique de l'Australie et *Culex pipiens* Linné, 1758 à répartition circummondiale, qui est parmi les espèces les plus abondantes en Algérie (AISSAOUI et BOUDJELIDA, 2014).

La place importante qu'occupent les moustiques dans la faune terrestre comme dans la faune aquatique, fait de ces Arthropodes un matériel d'étude important pour les biologistes. Au cours des vingt dernières années, la faune Culicidienne d'Algérie a fait l'objet d'un grand nombre de travaux qui s'intéressent plus particulièrement à la systématique, la biochimie et la morphométrie de ces insectes (TINE-DJEBBAR et SOLTANI, 2008; TINE-DJEBBAR, 2009; MESSAI *et al.*, 2010; TINE-DJEBBAR *et al.*, 2011; ZERROUG, 2018). Parmi les espèces Culicidiennes, *Culex pipiens*, plus précisément la femelle, est connue comme vecteur de plusieurs agents pathogènes responsables de maladies infectieuses parfois mortelles pour l'homme et les animaux (AOUINTY *et al.* 2006 ; KOSONE *et al.* 2008) puisque leurs caractères hématophages leur confèrent l'état d'ectoparasites temporaires, transmettant à l'homme et aux animaux diverses maladies. La malaria avec 300-500 millions de cas infectés et 1,5-2,7 million de morts par année, la filariose lymphatique avec 120 cas, la dengue avec 50 millions de cas et la fièvre jaune (GOVINDARAJAN, 2010). *Cx. Pipiensse* trouve sous deux formes : *Culex pipiens pipiensrural*, dont les larves se développent dans les eaux claires et qui attaque surtout les oiseaux et *Culex pipiens molestus*, citadin, attaque les oiseaux et l'homme (ZERROUG, 2018).

Dans les années soixante, la lutte était essentiellement basée sur l'élimination mécanique des gîtes larvaires potentiels (HAMON et MOUCHET, 1967) et à la protection personnelle, en portant des vêtements amples à manches longues et de couleurs pâles, ainsi que les moustiquaires imprégnées d'insecticides de synthèse et les pulvérisations intra domiciliaires d'insecticides.

Introduction

La première catégorie d'insecticide élaboré est représentée par les organochlorés ou composés synthétiques de première génération. Ainsi le dichlorodiphényltrichloéthane (DDT) (MOUCHET, 1994). La deuxième catégorie d'insecticide est quant à elle représenté par les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoïdes. Ces insecticides chimiques sont très efficaces car ils ont une action directe sur le système nerveux. Soit en inhibant l'acétylcholinestérase pour les organophosphorés et les carbamates, soit en bloquant l'activité des canaux sodium pour les organochlorés et les pyréthrinoïdes (AOUATI, 2016). Bien que cela se révèle très efficace sur les moustiques Culicidés, il présente plusieurs inconvénients. (AOUATI *et al.*, 2006). Toutefois, l'usage de ses substances de synthèse s'est révélé très toxique sur l'environnement par l'intoxication de l'homme et du bétail, la phytotoxicité, la toxicité des sols, des eaux et l'apparition des formes de résistances chez les organismes ciblés (HAMID OUDJANA, 2017).

L'attention des chercheurs à l'heure actuelle est l'utilisation d'autres méthodes alternatives aux insecticides chimiques. Ce conduit au développement et utilisation des nouvelles molécules prenant en considération des paramètres biologiques, physiques et biochimiques des organismes vivants. Ces molécules sont sélectives, sans risque écotoxicologique, biodégradables (AOUATI, 2016). Cet état de fait vis-à-vis de ces produits toxiques, a généré l'intérêt pour développer d'autres moyens de lutte (ZERROUG, 2018).

La lutte biologique se développe depuis les années 1960 suite aux résistances acquises par les insectes au cours des traitements de masse avec les insecticides chimiques. Cette lutte a pour principe d'utiliser un « ennemi naturel » d'un arthropode vecteur pour en diminuer les populations et ainsi réduire les risques de transmission du pathogène. (FONTENILLE *et al.*, 2009). La lutte microbiologique est utilisation de microorganisme (champignon, bactéries) qui infectent la cible souvent par ingestion. D'ailleurs, le *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) est le plus utilisé comme bioinsecticide et représente plus de 90% de marché des bioinsecticides, mais seulement 2 % à peine du marché global des insecticides (BOYER, 2006). L'avantage de cette bactérie réside dans son innocuité envers la faune non cible et les mammifères (AOUATI, 2016).

En quête de nouvelles techniques pour lutter contre les insectes nuisibles, les possibilités d'utiliser les substances secondaires des plantes contre les insectes nuisibles a suscité beaucoup des travaux (KEMASSI *et al.*, 2015).

L'effet insecticide des plantes a été évalué par nombreux chercheurs, parmi les études qui ont traité ces paramètres. KEMASSI et *al.*, 2012 qui ont montrés l'activité larvicide des extraits foliaires bruts acétoniques de *Cleome arabica L.* (Capparidaceae) chez des larves du cinquième stade et des imagos de *Schistocerca gregaria*. Ainsi KEMASSI *etal.*, 2015 ontutilises les extraits aqueux d'*Euphorbia guyoniana* sur les larves de *Cx. pipiens*. AOUATI (2016) a également testé l'effet des extraits d'une dizaine de plante aromatiques à savoir « *Artemisia herba alba*, *Marrubium vulgar*, *Laurusnobilis*, *Eucalyptus globulus*, *Mentha spicata*, *Rosmarinus officinalis*, *Ruta montana*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula officinalis* et *Organum compactum* » sur les larves d'une espèce *Cx. pipiens L.*

De larves de 3^{ème} et 4^{ème} stade larvaire du moustique *Cx. pipiens L.* ont été exposées aux extrait aquaux de huit plantes « *Eucalyptus globulosaussi*, *Nicotiana tabacum*, *Ocimum basilicum*, *Myrtus communis*, *Origanun majorana*, *Nerium oleander*, *Salvia officinalis*, *Jasminum polyanthum* » à différentes doses afin d'évaluer leur effet larvicide.

Les études de l'effet toxique des extraits de *Balanites aegyptiaca* ont souvent porté sur la mortalité. CHAPAGAIN et WIESMAN (2005) ont étudié l'effet de l'extrait d'aqueux de pulpe du fruit du l'amande de la graine, des racines, de l'écorce et des feuilles de *B. aegyptiaca Del.* contre les larves de moustique *Culex pipiens*. En 2006, CHAPAGAIN recherchant l'effet de saponine de cette plante sur *A. aegypti* et *Cx. pipiens*. Le travail de ELAMIN et SATTI (2013) a évalué le potentiel insecticide de *B. aegyptiaca* contre les larves du troisième stade larvaire de *Trogoderma granaruim*.

Malgré les nombreuses études sur l'effet insecticide d'extrait des végétaux. Le travail sur l'activité anticholinestrasique des insecticides de *Balanites aegyptiaca* n'est pas réalisé jusqu'à présent.

Dans ce contexte, l'objectif principal de notre travail s'intéresse à évaluation les réponses de population d'une espèce de moustique *Culex pipiens* à l'impact d'un nouvel insecticide à base d'extrait de *Balanites aegyptiaca* et leur effet sur l'activité d'enzyme de cholinestérase.

Notre présente étude dans ces objectifs est répartie en trois chapitres

-Le premier chapitre on développe une synthèse bibliographique sur le *Balanites aegyptiaca*, le *Culex pipiens* et l'enzyme de cholinestérase.

Introduction

-Le deuxième chapitre détail le matériel nécessaire et les protocoles mis en œuvre pour l'étude expérimentale.

-Les résultats obtenus sont reportés dans le troisième chapitre ainsi que leurs discussions en se référant aux études antérieures faites dans ces recherches, ce manuscrit est enfin clôturé par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I
Revue Bibliographique

distinctes. Il existe, chez la plupart des insectes, deux AChE: AChE1 et AChE2. Il semble qu'AChE1 soit majoritairement responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine (MOHAMED, 2011). (Figure 2).

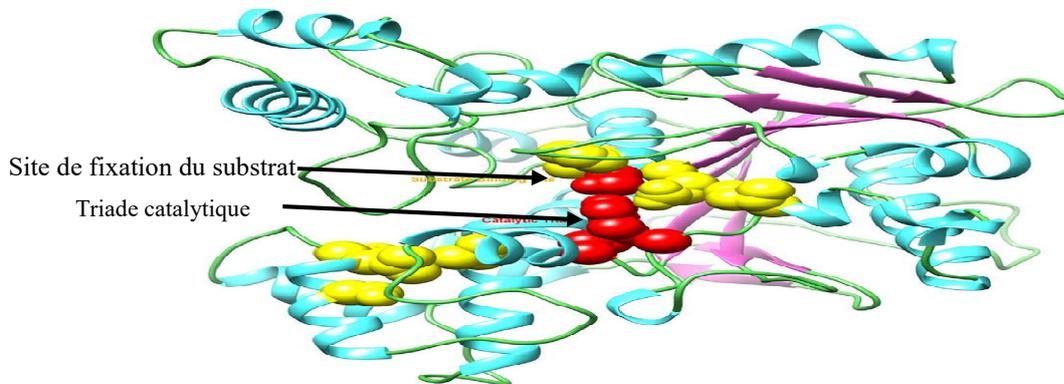


Figure 2: Modélisation 3D d'AChE1 chez l'*Anopheles gambiae* (SINGH et al., 2017).

I.1.2. Site actif

L'AChE est une protéine complexe qui possède un centre actif, une multitude de sites périphériques et de nombreux domaines hydrophobes (Figure 3). Le site actif, région particulière de l'enzyme où se déroule la réaction enzymatique, possède une taille restreinte par rapport à la taille globale de l'enzyme. Ce site actif de l'AChE possède un site catalytique qui peut être décomposé en deux parties:

Le sous-site anionique: responsable de la stabilisation du substrat lors de la catalyse par fixation de l'ammonium quaternaire de la partie choline de l'ACh. Il était admis, jusque dans les années 1990, que cette liaison se faisait par interaction électrostatique entre la charge positive de l'ammonium et la charge négative d'un groupement carboxyle libre de l'enzyme. Cette interaction est stabilisante, mais en réalité un transfert de charge entre la charge positive de l'ammonium quaternaire de l'ACh et les électrons π du noyau indole du Tryptophane (Trp) l'est beaucoup plus (BEN OUJJI, 2012). Ce sous-site est composé d'une majorité de résidus aromatiques et il est estimé que plus de 50% de l'énergie de stabilisation provient de ce dernier (BADIOU, 2007).

Le sous-site estérasique: contenant la triade catalytique Ser200, His440 et Glu327 (numérotation d'après la séquence de l'AChE de *Torpedo californica*), cette triade est localisée à la base d'une gorge étroite de 20 Å de profondeur et qui est alignée de 14 résidus aromatiques (SUSSMAN et al., 1991). Ce site constitue le lieu de la catalyse, ainsi que la cible de certains insecticides, qui agissent en bloquant de manière irréversible l'enzyme

Chapitre I. - Revue bibliographique

(BENZIAN, 2014). Dans un premier temps, la partie acétyle de la molécule d'ACh se fixe et forme un intermédiaire tétrahédrique. Le trou oxyanion favorise la formation de cette intermédiaire en accueillant l'oxygène négativement chargé du carbonyle de l'ACh. L'His 440 joue un rôle important en se comportant comme un catalyseur pour la formation et la décomposition de l'intermédiaire. Au sein du sous-site estérasique se trouve une petite cavité hydrophobe appelée, poche acyle, qui stabilise le groupement méthyle de la partie acétate et confère un rôle de sélectivité du substrat (BEN OUJJI, 2012). La mutagenèse dirigée a montré que le remplacement des résidus impliqués dans la poche acyle induisait une spécificité plus large de substrat (BENZIAN, 2014). L'hydrolyse de l'ACh implique la participation du N de l'imidazole de l'histidine qui va attirer le proton de l'hydroxyle de la sérine du site actif, le rendant plus mobile et favorisant l'interaction de l'oxygène de la sérine avec le centre électrophile de l'ACh. Une fois le complexe intermédiaire non covalent enzyme substrat formé ($k+1$), l'AChE est acétylée par estérification de l'hydroxyle de la sérine active ($k2$) et la partie choline est libérée (BEN OUJJI, 2012). L'enzyme est régénérée ($k3$) lorsque l'atome d'oxygène d'une molécule d'eau, électronégatif, attaque le site électrophile du carbonyle du groupement acétyle produisant de l'acide acétique (BADIOU, 2007).

En plus de ce site, l'enzyme possède également un second site actif, appelé "site périphérique anionique" comportant des groupements périphériques secondaires qui permettent la fixation de ligands (BENZIANE,2014). L'utilisation de l'AChE pour la détermination des insecticides a été largement décrite et la littérature propose une gamme variée de systèmes impliquant cette enzyme en solution ou immobilisée. Ces systèmes sont basés sur la détermination de l'activité de l'enzyme avant et après contact avec l'inhibiteur, la diminution d'activité induite est alors fonction de la concentration de l'insecticide. Ce principe représente la base analytique des biocapteurs à AChE pour la détection des insecticides (BEN OUJJI, 2012).

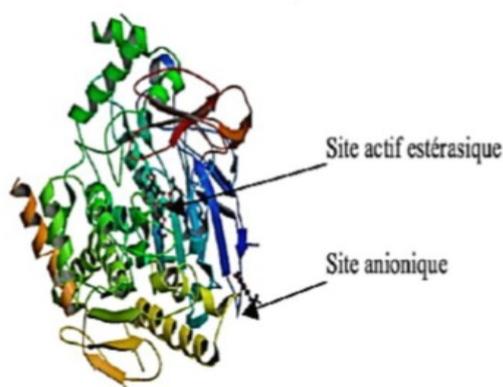


Figure 3: Représentation schématique de l'AChE (BENZIANE,2014).

I.1.3. Mécanisme catalytique

L'AChE (acétylcholine acétyle hydrolase – EC 3.1.1.7) est une carboxylestérase de type B, appartenant à la famille des sérines hydrolases (TOUGU,2011).

Cette famille comprend, entre autres, la trypsine, la chymotrypsine et l'élastase. Les sérines hydrolases sont considérées comme des enzymes relativement rapides et efficaces, étant donné leur mécanisme catalytique et le « design » approprié de leur site actif ; on y trouvera en effet toujours une poche responsable de la stabilisation de l'intermédiaire tétraédrique, appelée « trou oxyanion », une autre en charge de la spécificité de substrat, est nommée « poche acyle », dans le cas de l'AChE. Toutes les enzymes de cette famille présentent une triade catalytique, impliquant une sérine, une histidine et un acide aspartique ou glutamique qui, quant à lui, sera toujours trouvé dans une poche inaccessible au solvant.

Le mécanisme catalytique des sérines hydrolases (Figure 4), conservé, est le suivant

- Formation du complexe michaëlien;
- Attaque nucléophile de la sérine catalytique sur le substrat;
- Formation du 1er intermédiaire tétraédrique;
- Libération du 1er produit (choline);
- Attaque nucléophile d'une molécule d'eau sur la sérine acylée;
- Formation du 2ème intermédiaire tétraédrique;
- Libération du 2ème produit (acétate)(COLLETIE, 2006).

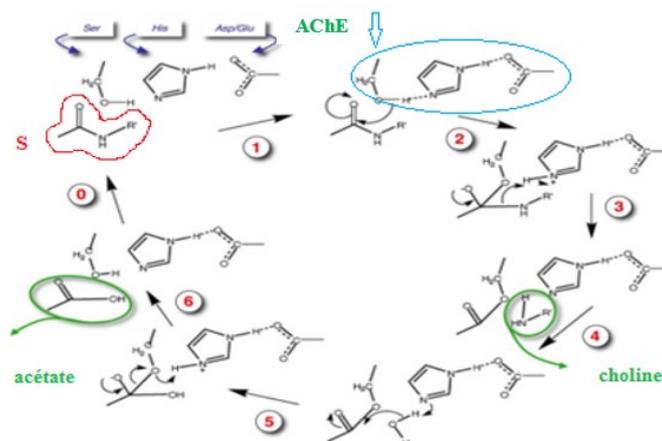


Figure 4: Mécanisme d'hydrolyse par une sérine hydrolase. (s) : substrat. (AChE) : Acétylcholinestérase (COLLETIE, 2006).

I.1.4. Rôle physiologique des cholinestérases

Les Cholinestérases diffèrent par leur origine, leur lieu de synthèse, leur structure, leur spécificité d'action, l'indication de la mesure de leur activité et en plus de leur fonction ou rôle physiologique. L'AChE présente dans la fente synaptique est une enzyme qui inactive l'acétylcholine non fixée ce qui évite toute accumulation de neurotransmetteur qui perturberait la transmission de l'influx nerveux. Son rôle physiologique est d'assurer le fonctionnement des synapses acétylcholinergiques, en évitant l'accumulation du neurotransmetteur. Cette enzyme est la cible de molécules inhibitrices de type organophosphorés (OPs) ou carbamates, utilisées comme insecticides (GHONEIM, 2015). En hydrolysant le neurotransmetteur acétylcholine, elle assure la terminaison de l'influx nerveux au sein des synapses cholinergiques et des jonctions neuromusculaires (SANSON, 2009). Si cette hydrolyse n'a pas lieu, l'augmentation de la concentration en acétylcholine induit une hyperactivité aboutissant à la mort de l'insecte (MOHAMED, 2011)(Figure 5).

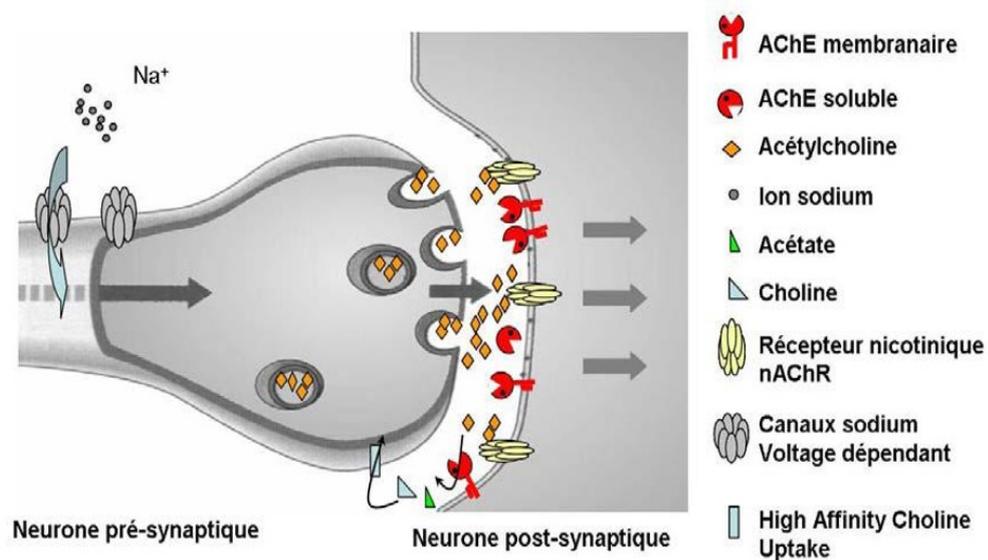


Figure 5: Hydrolyse de l'acétylcholine par l'AChE au niveau de la synapse cholinergique (BEN OUJJI, 2012).

I.1.5. Toxicité des phytométabolites inhibiteurs d'AChE

Les végétaux supérieurs ont la capacité de synthétiser, par des voies métaboliques complexes des métabolites dits secondaires. Ces composés sont utilisés par les plantes pour diverses fonctions adaptatives notamment en réponse aux stress biotiques (phytopathogènes, herbivores, insectes...) et abiotiques (UV, température...) qu'ils peuvent subir (LAOUAR et LATLA, 2019).

Les saponines appartiennent à un groupe complexe et chimiquement divers de composés qui tirent leur nom de leur capacité à former une mousse semblable à du savon dans des solutions aqueuses. Chez les plantes, les saponines jouent un rôle de métabolites secondaires et sont affectées au mécanisme de défense. En termes chimiques, les saponines contiennent une fraction glucidique attachée à un aglycone triterpénoïde ou stéroïde (CHAPAGAIN, 2006).

Selon SAMI *et al.*, (2018), les saponines dérivées du neem ont une affinité plus élevée pour les insectes ravageurs en inhibant l'enzyme de système nerveux AchE, ils pourraient être utilisés comme bio-sures pesticides verts.

Les propriétés molluscicides et autres de *B. aegyptiaca* sont attribuées à leurs constituants de saponine, des études antérieures ont montré que le noyau et l'extrait de racine de *B. aegyptiaca* contiennent des saponines stéroïdiennes (FARID *et al.*, 2002).

Une étude de la littérature a révélé des activités anti-persévérantes, antidiabétiques, molluscicides, antihelminthiques et contraceptives dans divers extraits de balanites. La plupart des études ont rapporté que les composés actifs étaient des saponines (CHAPAGAIN et WIESMAN, 2005).

Des extraits riches en saponine comme l'extrait de la paroi corporelle du concombre de mer ont également des propriétés larvicides contre le moustique *Cx. pipiens fatigans* (THAKUR *et al.*, 2004). Au cours des deux dernières décennies, de nombreux extraits de plantes ont été évalués pour leurs activités larvicides (JANG *et al.*, 2002), afin de trouver une méthode de lutte biologique contre les moustiques; très peu d'études ont été réalisées sur l'effet larvicide des plantes riches en saponine (PELAH *et al.*, 2002). Cependant, la plupart des études se sont concentrées sur les extraits de solvants organiques. Compte tenu de la bioactivité des composés de saponine et de la présence de ces composés dans *B. aegyptiaca*, ainsi que de la gravité des maladies transmises par les moustiques et de la situation socio-économique des zones de culture des Balanites, cette étude a été réalisée sur l'effet larvicide

Chapitre I. - Revue bibliographique

des différents extraits. En utilisant des procédures simples, de la plante *Balanites* contre les larves de *Cx. pipiens* (CHAPAGAIN et WIESMAN, 2005).

D'après PRAVEENA et SANJAYAN (2011), les monoterpénoïdes provenant de plantes se sont révélés être une alternative aux insecticides synthétiques, ont examiné l'inhibition de l'activité de l'AChE par les monoterpénoïdes contre divers ravageurs.

Le système nerveux des insectes s'étend sur la face ventrale et leurs cerveaux coordonnent les mouvements. *Cx. pipiens* comme les autres insectes ont un système nerveux qui contient des neurones mais l'AChE parmi les enzymes les plus rapides de la nature (SANSON, 2009).

Les inhibiteurs d'acétylcholinestérase empêchent la dégradation de l'acétylcholine libérée. Il en résulte une persistance du médiateur dans la synapse et une amplification de la réponse biologique. Ils réagissent chez les insectes avec l'acétylcholinestérase. Ils empêchent ainsi la destruction de l'acétylcholine dont l'accumulation perturbe le comportement de l'insecte et entraîne sa mort sans se mouvoir et se nourrir (Figure 6) (HAMID OUDJANA, 2017). Par exemple les OP viennent occuper en le phosphorylant le site estérasique de l'enzyme, s'opposant s'opposant à l'hydrolyse de l'acétylcholine. Dans un deuxième temps, une déalkylation va rendre irréversible cette phosphorylation entraînant le vieillissement de l'enzyme ce qui correspond à une inactivation quasi-définitive (Figure 7) (MOHAMED, 2011).

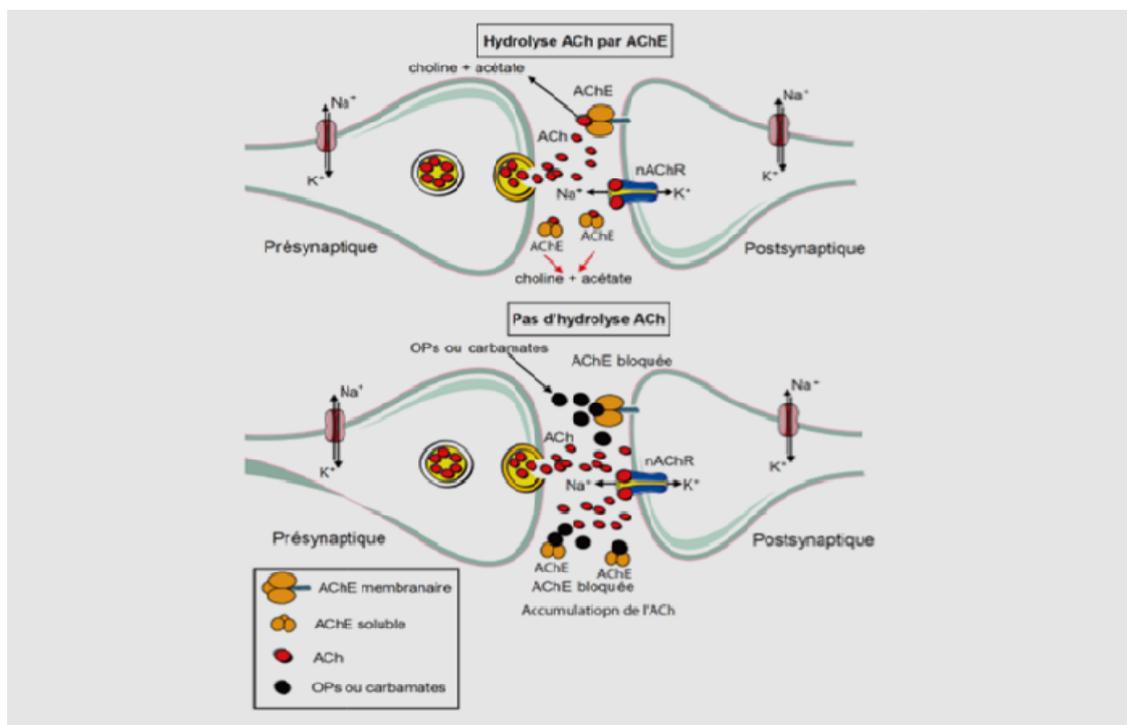


Figure 6: Mécanisme d'action toxique des OP et carbamates (MOHAMED, 2011).

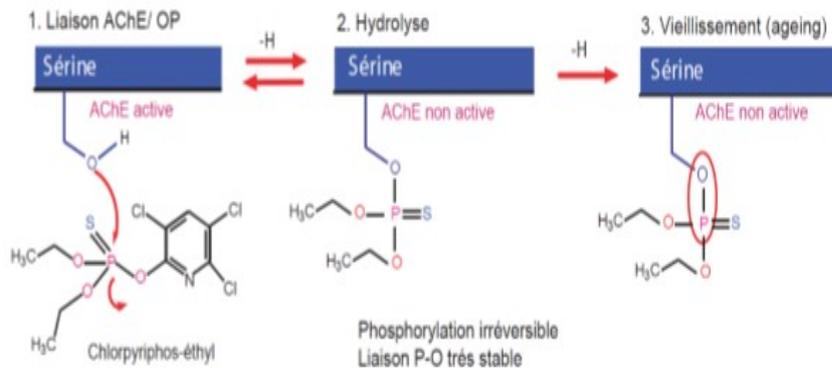


Figure 7: Mécanisme d’action toxique d’un OP le chlorpyrifos-éthyl sur l’activité de l’AChE (MOHAMED, 2011).

I.2. Moustique de *Culex pipiens* Linnée, 1758

Les moustiques regroupent plus de 3000 espèces réparties dans le monde entier dont la plupart se retrouvent dans les régions tropicales et subtropicales. Il constitue un groupe de vecteurs important en santé publique (KEMASSI et al., 2015), tels que *Culex pipiens*.

I.2.1. Classification de *Culex pipiens* Linnée, 1758

Tableau 1- Systématique de *Culex pipiens* Linnée, 1758 (ZERROUG, 2018).

| | |
|---------------------------|------------------------------------|
| Règne | Animalia |
| Sous-règne | Metazoa |
| Embranchement | Arthropoda |
| Sous-embranchement | Hexapoda |
| Super-classe | Protostomia |
| Classe | Insecta |
| Sous-classe | Pterygota |
| Infra-classe | Neoptera |
| Super-ordre | Endopterygota |
| Ordre | Diptera |
| Sous-ordre | Nematocera |
| Infra-ordre | Culicomorpha |
| Famille | Culicidae (Meigen, 1818) |
| Sous famille | Culicinae |
| Genre | <i>Culex</i> (Linné ,1758) |
| Espèce | <i>Culex pipiens</i> (Linné, 1758) |

I.2.2. Description du moustique *Culex pipiens* Linnée, 1758

Cx. pipiens L. est une espèce de moustique de la famille des Culicidae. Cette dernière est divisée en trois sous-familles; les Culicinae, Anophelinae et les Toxorhynchetinae. La famille de Culicidae regroupe environ 3200 espèces réparties sur 37 genres (KEMASSI et al., 2015) dont il possède les principales caractéristiques :

- palpes allongés chez le male (plus longs que la trompe) et légèrement recourbes vers le haut,
- palpes plus courts que la trompe chez la femelle (environ un quart de sa taille),
- au repos, l'abdomen des adultes est quasiment parallèle au support
- larves avec antennes allongées,
- siphon respiratoire des larves longues (TORAL Y CARO, 2005)

La morphologie de *Cx. pipiens* est différente selon les stades.

I.2.2.1. Les œufs

La ponte se fait sur la surface d'eau, les œufs peuvent être pondus groupés en nacelles (Photo 1). Ils sont généralement fusiforme et mesure environ 0.5mm. Au moment de la ponte, ils sont blanchâtre (ZAIDI-AISSAOUI, 2008) après quelque heures la coloration devient grisâtre ou noirâtre ceci due à l'oxydation de certains composants chimiques de la thèque au contact de l'eau ou l'air (GAIDI et GOUCEM, 2017).

Le stade ovulaire dure deux à trois jours dans les conditions de: température du milieu, pH de l'eau, nature et abondance de la végétation aquatique de même que la faune associée (ZERROUG, 2018). Une Corolla est présente au niveau du pôle inférieur de l'œuf. Ils sont pondus dans l'eau, réunis par 200 à 400 en nacelle dont l'arrangement leur permet d'être insubmersibles (TORAL Y CARO, 2005)



Photo 1 : Nacelle d'œufs de *Cx. pipiens* (BERCHI, 2000)

Chapitre I. - Revue bibliographique

I.2.2.2.- La larve

Possède un aspect vermiforme, son corps se divise en trois segments : tête, thorax trapu et dépourvu d'appendices locomoteurs, abdomen souple. Sa taille varie de 2mm à 12 mm en moyenne en fonction des stades. Elle est dépourvue d'appareil locomoteur, ce qui ne signifie pas qu'elle soit immobile. Son extrémité caudale est munie d'un siphon, ou tube respiratoire (dans le prolongement de l'abdomen), long et étroit affleurant à la surface de l'eau (TORALY CARO, 2005).

Le développement larvaire entre 7 et 12 jours et est divisée en 4 étapes (L1, L2, L3 et L4) successives, séparées par des mues (Tableau 2) (Figure 8).

Tableau 2 : Caractères morphologiques distinctifs des différents stades larvaires d'un isolat de *Cx. pipiens* (échantillonné dans le sud de Tunis) (KRIDA et al., 1998)

| | Stade L1 | Stade L2 | Stade L3 | Stade L4 |
|---------------------------------------|--|--|---|---|
| Longueur moyenne en mm | 1.27 | 2.26 | 3.76 | 5.79 |
| Tête | | | | |
| Soie frontale intérieure | Simple | 2 branches | 4 branches | 5 branches |
| Soie frontale moyenne | Simple | 2 branches | 3 branches | 5 branches |
| Soie frontale extérieure | Simple | 2 branches | 5 branches | 8 branches |
| Soie antennaire | 3 branches | 10 branches | 14 à 17 branches | 21 à 28 branches |
| Abdomen | | | | |
| Écailles du VIII ^e segment | 10 écailles disposées sur seul rangées | 18 à 24 écailles disposées sur 2 rangées | 33 à 46 écailles disposées sur 3 rangées irrégulières | 33 à 46 écailles disposées sur 4 rangées irrégulières |
| Soie sub-siphonale | Simple | 2 ou 3 branches | 2 ou 3 branches | 5 à 8 branches |

Chapitre I. - Revue bibliographique

| | | | | |
|----------------------------|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Soie ano-siphonale | Simple | 2 ou 3 branches | 4 à 6 branches | 7 à 8 branches |
| Dents du peigne siphonique | 4 dents avec 2 denticules | 5 ou 6 dents avec 2 denticules | 8 à 11 dents avec 3 denticules | 13 à 17 dents avec 3 denticules |
| Brosse ventral | Absente | 4 paires de soies | 6 paires de soies | 6 paires de soies |

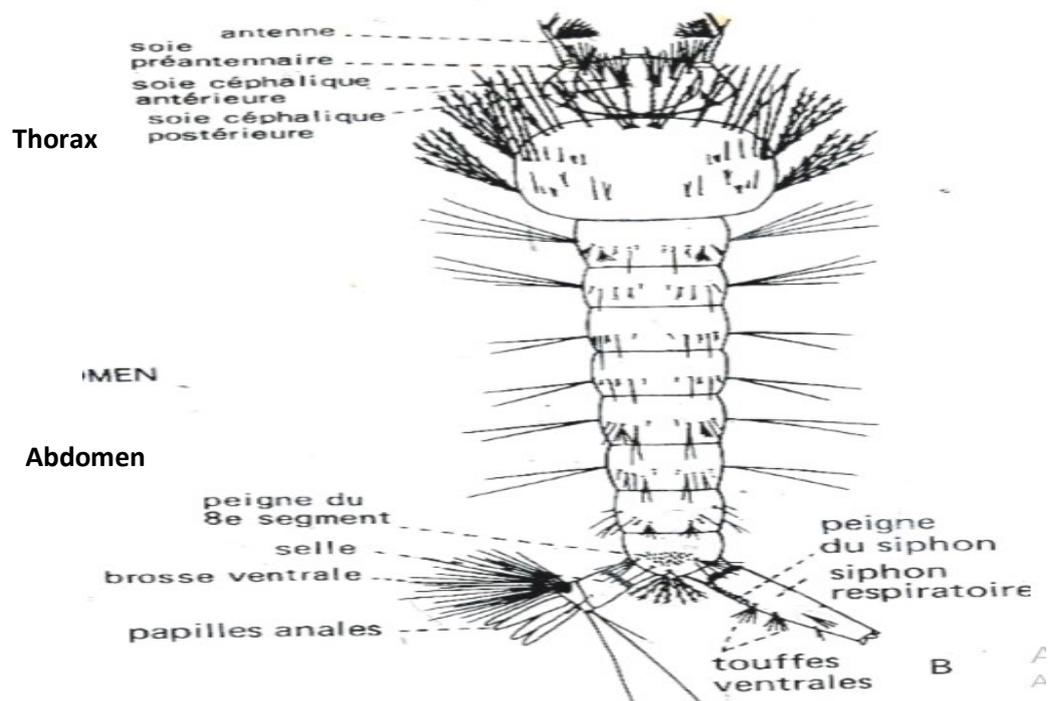


Figure 8 : Morphologie schématique d'une larve de moustique *Culex pipiens*
(BEN MALEK, 2010).

La larve de 4^{ème} stade est bien visible à l'œil nu (photo 2).

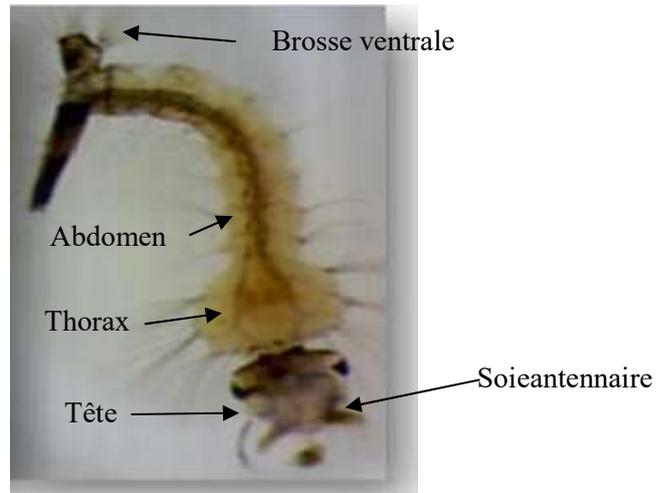


Photo2. Morphologie générale d'une larve du 4^{ème} stade (L4) de *Cx. pipiens* (HAMID, 2015).

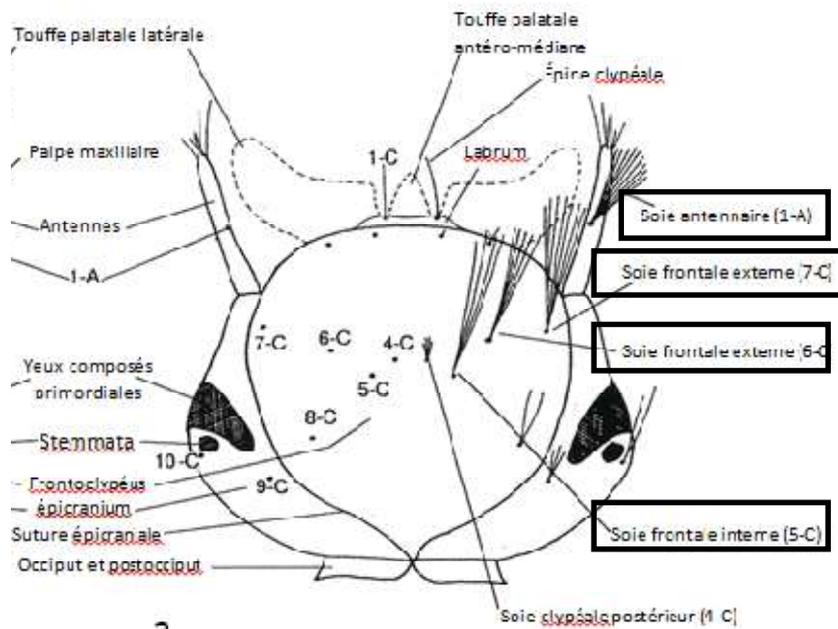


Figure 9: Morphologie externe de la tête de la larve des Culicidae (ALAYAT, 2012)

I.2.2.3. La Nympe

La tête et le thorax fusionnent pour donner un cephalo-thorax sur lequel on trouve deux trompes qui permettent à la nymphe de respirer (Photo 3). Sa forme globale rappelle celle d'un point d'interrogation (TORALY CARO, 2005). Elle n'ingère par contre aucune nourriture et extrêmement sensible et plonge dans l'eau au moindre mouvement perçu (ZERROUG, 2018).



Photo 3. Morphologie générale d'une nymphe de *Cx .pipiens* (BERCHI, 2000)

I.2.2.4. Les adultes.

Ils possèdent un corps mince se divise en trois parties : la tête, le thorax, l'abdomen,(Figure 10) de taille moyenne environ 9 mm, globalement brun clair et des pattes longues et fines. Ils se reconnaissent facilement par la présence d'écailles sur la majeure partie de leur corps. Au niveau de la tête, l'imago se différencie des autres familles de diptères par des antennes longues, fines et articulées. Les femelles se distinguent facilement des mâles par la présence des antennes plumeuses. Elles possèdent de longues pièces buccales caractéristiques de type piqueur-suceur (Photo 4) (GAIDI et GOUCEM, 2017).

Les adultes s'éloignent peu des gîtes larvaires après l'éclosion. Ils ne dépassent pas 3 km de distance, sauf lors de vent violent qui pousse les *Culex* beaucoup plus loin. (RESSEGUIER, 2011).

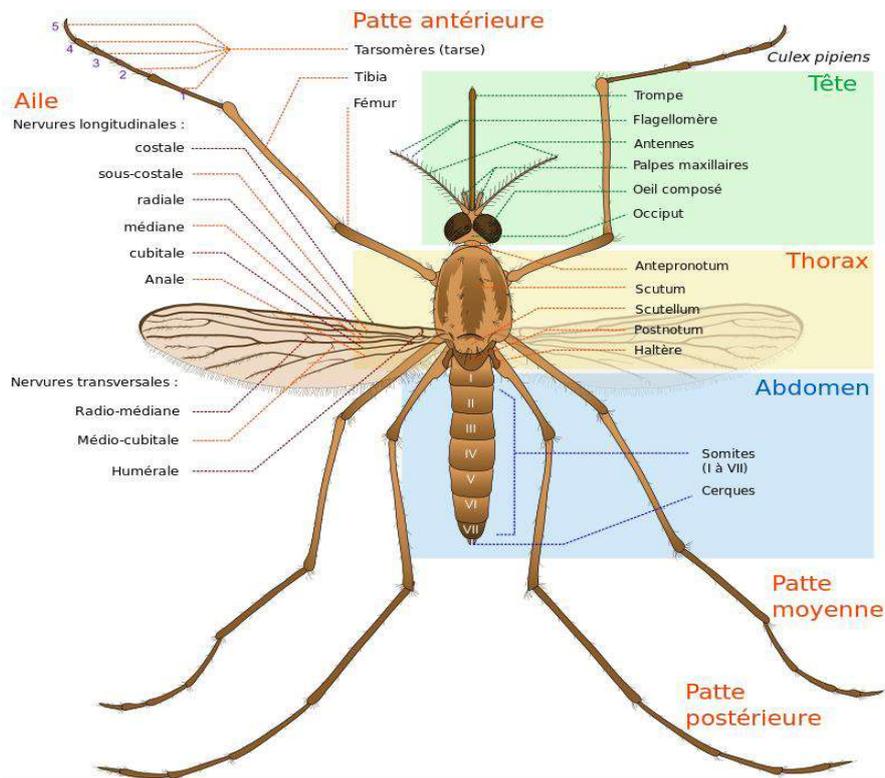


Figure 10: Morphologie générale d'un moustique adulte de *Cx. pipiens* (ZERROUG, 2018)



Photo 4: *Cx. pipiens* adulte.

I.2.3. Cycle biologique

Généralement la vie du moustique est composée de 3 stades distincts ; les stades larvaire, nymphal (aquatiques) et le stade adulte (aérien) (KEMASSI et *al.*, 2015). Le cycle de développement des moustiques dure environ douze à vingt jours (BEZZAOUI, 2013). Mais la durée de vie larvaire est variable selon les espèces et les conditions de température. Il agit par deux mécanismes pour empêcher l'insémination multiple. Le premier est la formation d'un amas nucoïde (un plug) secrété par le mâle. Dans le cas de double insémination par un

deuxième mâle, l'efficacité de ce plug serait incomplète et le deuxième mécanisme, plus efficace, est représenté par la glande phéromone accessoire (matrone) (ZERROUG, 2018).

D'après TORAL Y CARO (2005), le cycle comprend quatre(4) stades: l'œuf, larve, nymphe et le stade adulte et est correspondre deux phase, aérienne pendant laquelle l'adulte vole et s'accouple, et phase aquatique est celle de développement des larves et des nymphes.

I.2.3.1. Les œufs

Sont pondus dans l'eau, claire en général, mais on en trouve également dans les eaux polluées, avec des matières organiques qui permettront aux larves de se nourrir (TORALY CARO, 2005). Les œufs sont disposés en paquets formant une nacelle qui flotte sur l'eau. Cette nacelle mesure 3-4 mm de long et 2-3 mm de large(HAMID, 2015). Une femelle peut pondre jusqu'à 300 œufs, qui éclosent en 24 à 48 heures lorsque la température de l'eau est suffisante (RESSEGUIER, 2011).

I.2.3.2. Les larves

Ont un mode de vie exclusivement aquatique, d'une durée de 5 à 6 jours (TORALY CARO, 2005). La larve évolue ainsi selon quatre stades pendant 8 à 12 jours, avant d'atteindre le stade nymphal (RESSEGUIER, 2011). Elles subiront 3 mues avant de se transformer en nymphe ; A chaque mue, une exuvie du stade précédent (tégument externe) est abandonnée dans l'eau (ZERROUG, 2018). Après une 4^{ème} mue larvaire, la larve de 4e stade donne naissance à une nymphe (Imago imparfait) (KEMASSI et *al.*,2015).

I.2.3.3. Les nymphes

Elle est extrêmement sensible et plonge dans l'eau au moindre mouvement perçu *Culex pipiens* reste sous cette forme pendant 2 à 4 jours. A la fin de cette période, la nymphe donne un adulte, mâle ou femelle (HAMID, 2015). D'abord relativement mobile, elle finit par s'immobiliser a la surface de l'eau (TORALY CARO, 2005).

I.2.3.4. Les adultes

Le male se nourrit exclusivement de suc et de nectar extrait de plantes, et meurt après la copulation. La femelle peut vivre de 3 semaines à 3 mois selon la température et la qualité du gite. Elle se nourrit du suc des plantes et est en plus hématophage, ce qui est indispensable a la formation des œufs.

Cx. pipiens existe sous deux forme : la forme *molestus*, anthropophiles, autogène, sténogame (peut s'accoupler dans des espaces confinés), urbaine et reste en activité durant la période hivernale (homodynamique). La forme *pipiens*, ornithophile, anautogène, eurygame

(s'accouple en plein air) et entre en diapause pendant l'hiver (hétérodynamique) (GAIDI et GOUCEM, 2017)

L'accouplement se produit dans les 48 heures suivant l'émergence des femelles et avant le premier repas sanguin. Le mâle est attiré par les fréquences sonores ainsi que par des phéromones émises par la femelle. Après l'accouplement, la femelle part à la recherche d'un hôte pour se nourrir de sang nécessaire à la maturation des ovules. La ponte a lieu environ 5 jours après le dernier repas (RESSEGUIER, 2011) (Figure 11).

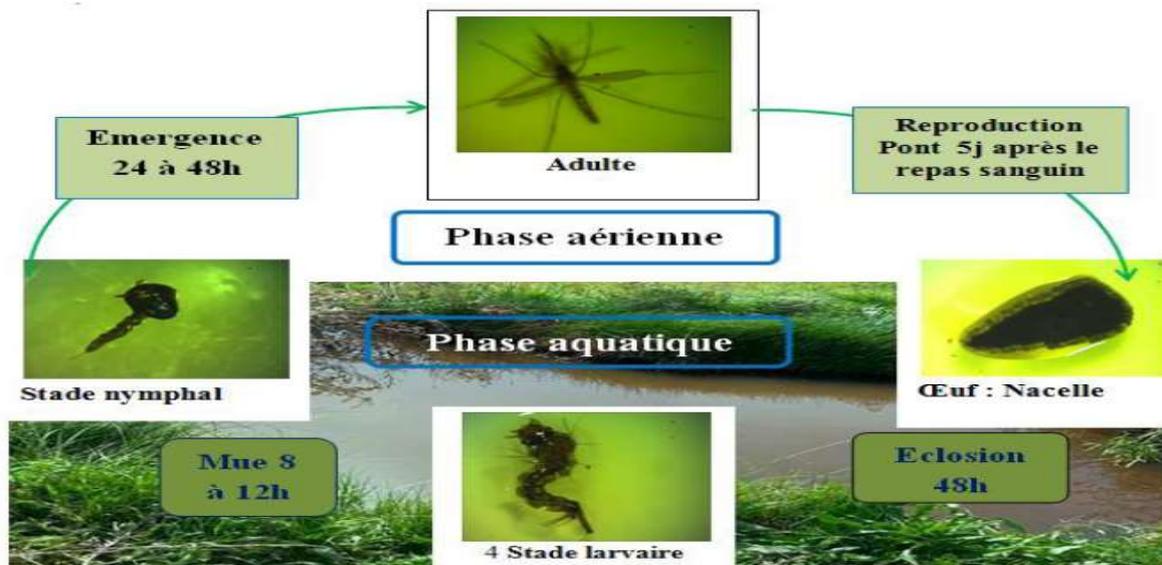


Figure 11: Cycle de développement biologique du moustique *Cx. pipiens* (x40) (GAIDI et GOUCEM, 2017).

I.2.4. Dégâts de *Cx. pipiens*

Il existe deux types de nuisances causées par *Cx. pipiens* :

I.2.4.1. Piqures

Chez l'homme comme chez l'animal, la pique du moustique femelle provoque une lésion ronde érythémateuse de quelques mm à 2 cm de diamètre. Souvent prurigineuse. Des réactions allergiques à ces piqures peuvent apparaître dues à l'injection d'antigènes salivaires, mais pouvant aussi être dues au simple contact avec le moustique ou ses excréments (BEZZAOUI, 2013).

I.2.4.2. Transmission de maladie

La transmission des agents pathogènes se fait selon un peu varié : contamination du moustique sur un hôte porteur de la maladie, maturation et par fois multiplication de l'agent pathogène dans le corps du moustique (pour les parasites), puis inoculation d'un autre hôte lors d'un second repas sanguin.

Chapitre I. - Revue bibliographique

Les principaux agent pathogènes sont des virus : West Nile (EL-AKHAL et *al.*,2014), fièvre jaune, dengue et des parasites notamment des nématodes dites filaires (BEZZAOUI, 2013).

***Le virus West Nile (VWN)**

L'infection humaine résulte le plus souvent des piqûres de moustiques infectés. Ces insectes se contaminent en se nourrissant sur les oiseaux infectés, chez lesquels le virus reste pendant quelques jours dans la circulation sanguine. Le virus finit par migrer dans les glandes salivaires du moustique, lors de repas ultérieurs, le virus peut être injecté à des êtres humains ou à des animaux. Il se multiplie alors et peut provoquer la maladie. Le virus peut aussi se transmettre par contact avec d'autres animaux infectés avec sang ou d'autres tissus (BEZZAOUI, 2013). Le VWN est maintenu au sein d'un cycle enzootique «moustique-oiseaux» et la contamination de l'homme et du cheval est accidentelle (Figure 12) (AMRAOUI, 2012). L'enzootie apparaît comme une maladie spécifique à une région (foyer) et y régnant presque constamment. Elle tend à se propager hors de son foyer propre, provoquant alors pour une autre région non encore atteinte une épizootie (GUINTARD, 2005 ; FAILLOUX et MOUTAILLER, 2015)

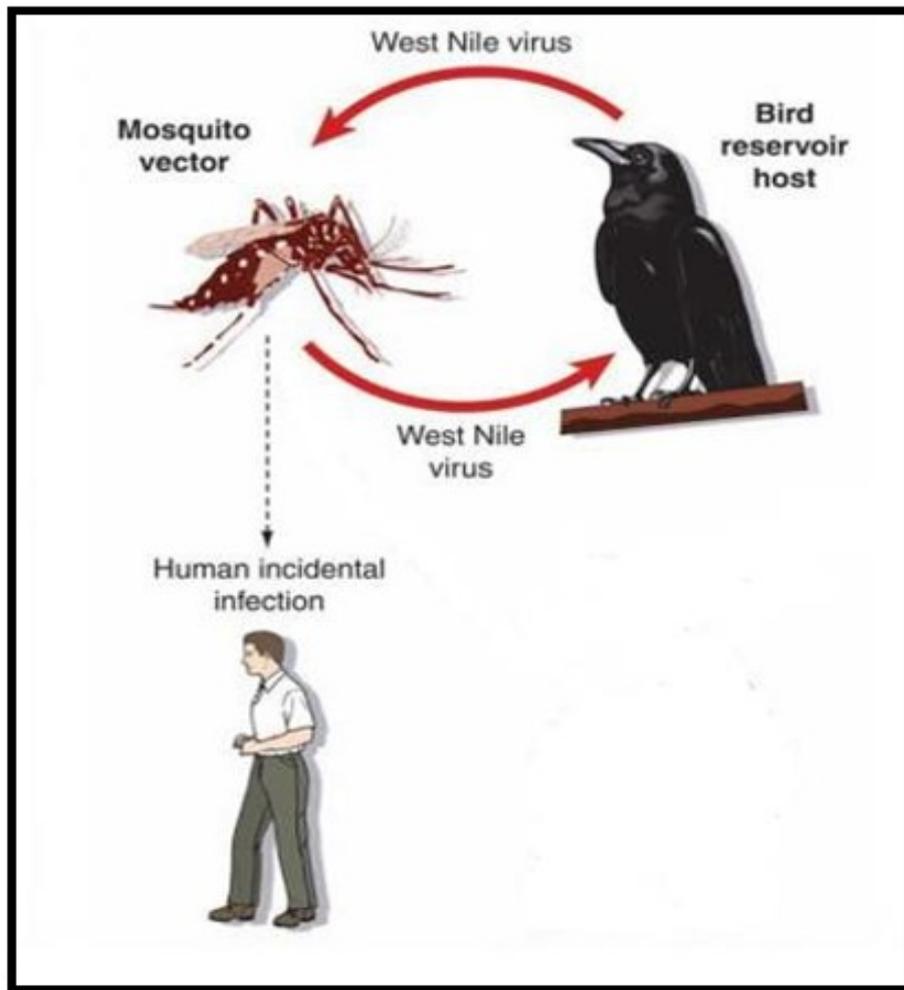


Figure 12: Cycle de transmission du virus West Nile (BEZZAOUI.213).

*La filariose

Plus de 40 espèces de Culicidae, relevant de 4 genres, sont impliquées dans la transmission des filarioses lymphatiques. Ce sont des infections parasitaires engendrées par trois espèces de filaires : *Wuchereria bancrofti*, la plus fréquente et *Brugiamalayi* et *Brugiatimori*. La filariose de Bancroft est transmise par pique d'homme à l'homme par un helminthe (ver). Son développement débute chez les moustiques des espèces *Cx. pipiens palens* et se poursuit chez l'homme (SCHAFFNER, 2004). Le parasite est transmis par un moustique infecté: les larves inoculées migrent dans les vains les vaisseaux lymphatiques de l'homme où elles se développent en vers adultes pendant six à douze mois (Figure 13) (CAMARA, 2012)

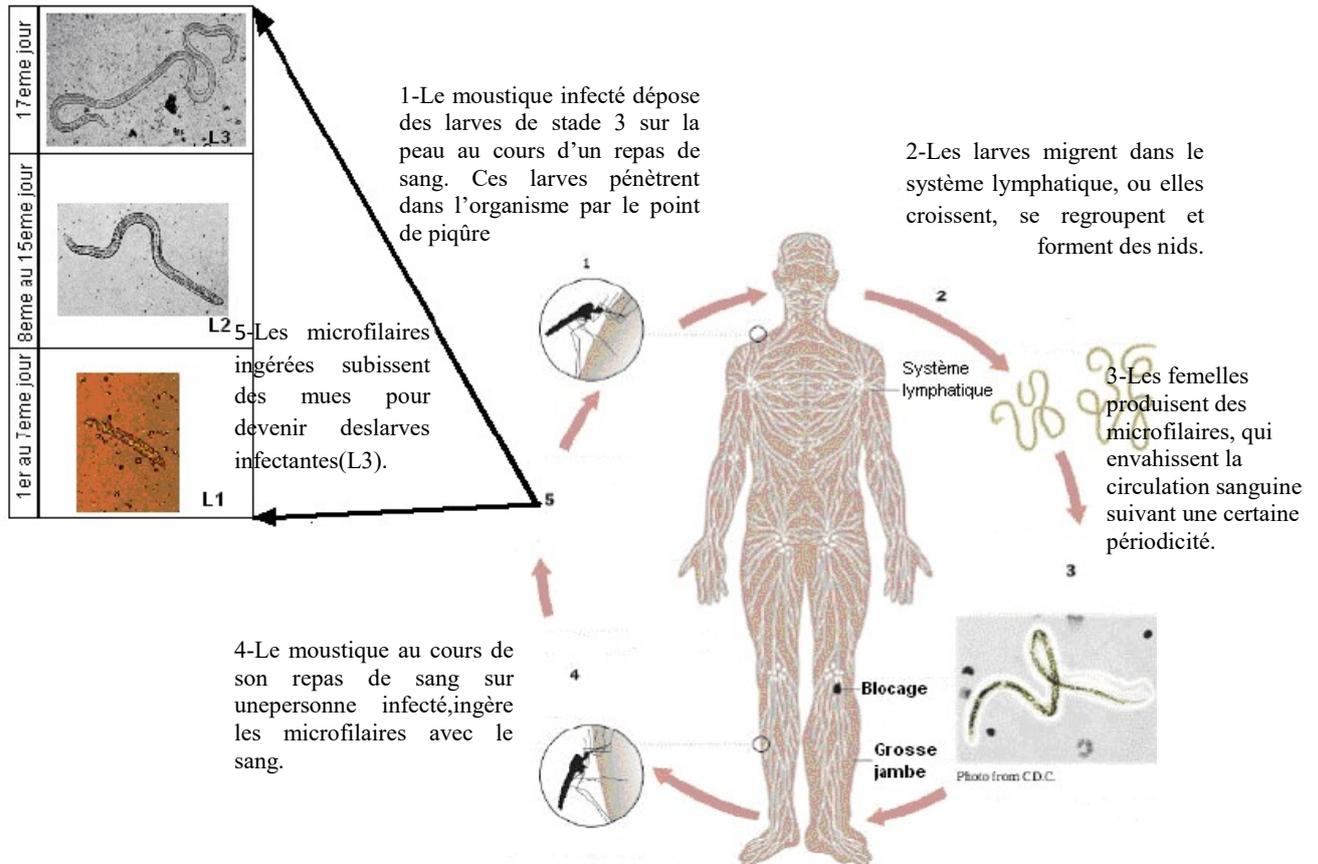


Figure 13: Cycle biologique de *W. bancrofti* (CAMARA, 2012).

I.3. *Balanites aegyptiaca* (L)

I.3.1. Historique et origine

Dattier du désert, désigné par le nom d'espèce *Balanites aegyptiaca* (L) Del. est une plante de la famille botanique des Zygophyllaceae ou Balanitaceae. Il a été planté en Egypte depuis plus de 4000 ans et s'est progressivement répandu dans d'autres parties d'Afrique (CHAPAGAIN, 2006). Très commun dans la région sahélienne mais pénétrant dans la région soudanienne où il est vraisemblablement apporté par les animaux qui recherchent ses fruits (KERHARO et ADAM, 1964), le mot *Balanites* est dérivé du mot grec *acoron*, qui signifie fruit par Alire Delile en 1813, qui remplace le nom *Agihalid* dérivé du mot arabe *heglig* (AL-THOBAITI et ABU-ZEID, 2018). *B. aegyptiaca* et ses sous-espèces sont néanmoins aussi présentes dans le sous-continent indien. Plusieurs synonymes peuvent aussi être rencontrés pour le désigner [*Ximenia aegyptiaca* L., (*Balanites roxburghii* Planch), *Agialida senegalensis* Van Tiegh., *Agialida barteri* Van Tiegh., *Agialida tombuctensis* Van Tiegh., *Balanites ziziphoides* Milbr et Schlechter, *Balanites latifolia* Van Tiegh. Chiov] (DAYA et al., 2010).

B. aegyptiaca et ses sous-espèces sont néanmoins aussi présentes dans le sous-continent indien. Il est connu sous plusieurs noms vernaculaires :

En Anglais: Desert date, Soapberry tree, Thorn tree.

En Français : le dattier sauvage, le dattier du désert, le myrobolan d'Égypte (GAUTIER et al, 2002). Balanite ou Hagueleg (CHOTHANI et VAGHASIYA, 2011).

En arabe: اللالوب (MOHAMED ELMUSTAFA FREGON, 2005) الهجليج (CHOTHANI et VAGHASIYA, 2011).

Langue nationale sénégalaise: Soump en Wolof (DIEDHIOU, 2017).

I.3.2. Description botanique

B. aegyptiaca est un arbre ou arbuste à cime sphérique, aplatie ou irrégulière, atteignant 8 à 9m de haut (ZIDA, 2009) pouvant atteindre 12m, de morphologie variable (DIEDHIOU, 2017). Tronc court et souvent ramifié à partir de la base. Son écorce grise et lisse au stade jeune devient fissurée et crevassée chez les sujets âgés (CHOTHANI et VAGHASIYA, 2011). Bois dur et résistant à l'attaque d'insectes (DIEDHIOU, 2017). Branches armées d'épines jaunes ou vertes jusqu'à 8cm de long, réparties en général de manière irrégulière ou pendante, formant parfois une couronne ronde (CHOTHANI et al, 2011), alternes ou disposées plus ou moins en spirale (ZIDA, 2009). Les feuilles en général sont alternes, de couleur verte à grisâtre, avec deux folioles sessiles, obovales, orbiculaires et rhomboïdes (DIEDHIOU, 2017). Feuilles séparées ; folioles ovales, asymétriques, de longueur 2,5 à 6cm, vert-clair avec des poils fins lorsqu'il est jeune (CHOTHANI et VAGHASIYA, 2011). Les inflorescences sont des petits racèmes disposées à l'aisselle des feuilles, composées de fascicules, jusqu'à 3 cm de large (ZIDA, 2009). La fleur jaune verdâtre composée de 5 pétales et 5 sépales est sur un pédicelle de 1 cm de long environ forte odeur spécifique, hermaphrodites et pollinisées par les insectes (DIEDHIOU, 2017). Le fruit est plutôt long, drupe étroite, de 2,5 à 7cm de long, 1,5 à 4cm de diamètre, le fruit vert devenant jaune à maturité (CHOTHANI et VAGHASIYA, 2011). Il est composé d'un épicarpe (5-9%), d'un mésocarpe (28-33%) et d'un endocarpe (graine : coque et amande) (49-54%) (DIEDHIOU, 2017) (Figure 14).

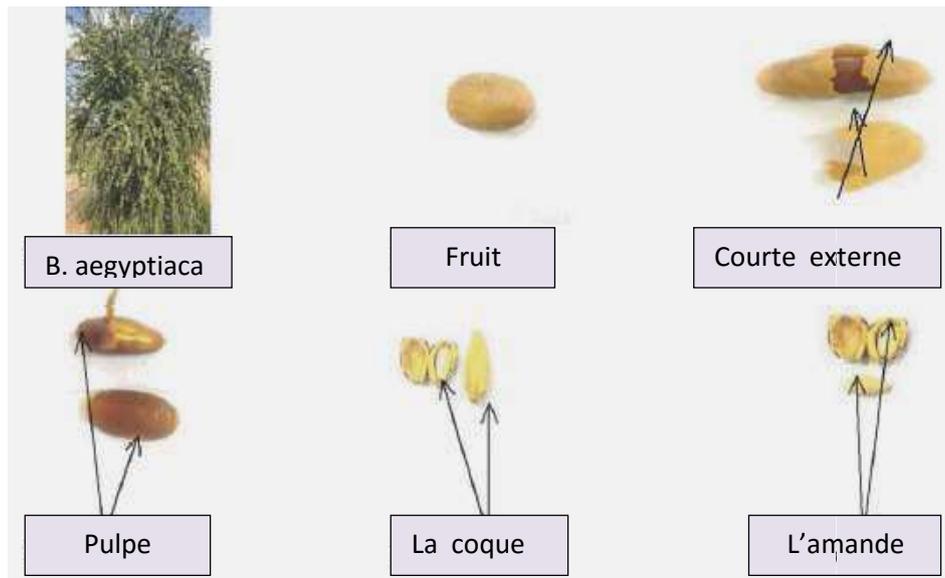


Figure 14: Différentes parties de grain de la plante *B. aegyptiaca* (AL-THOBAITI et ABU-ZEID, 2018)

I.3.3. Utilisation traditionnelle de *B. aegyptiaca*

Cette espèce est largement utilisée dans l'alimentation des populations de Gaongo relève de la province du Bazéga, située à 30 Km à l'est d'Ouagadougou, la totalité (100%) des personnes enquêtées utilise les différents produits (feuilles, fleurs, fruits, amandes) de cette espèce dans leurs plats. Les feuilles et les fleurs sont utilisées pour faire du couscous ainsi que de la sauce. Les fruits ont une pulpe douce-amère appréciée surtout par les enfants (ZIDA, 2009). La dattier du désert peuvent être produire de 100 à 150 kg de fruits annuellement (ELAMIN et SATTI, 2013 ; DIEDHIOU, 2017). Leur richesse en sucre (35 à 37%) et en acides organiques (15%) leur vaut d'être consommés sous forme de bonbons. Ils sont utilisés pour la préparation de boissons alcoolisées (DIEDHIOU, 2017). La graine représente 49 à 54% du poids du fruit (MOHAMED et al., 2002), ce qui correspondrait à une production de 49 à 84 kg de graines par arbre et par an (DIEDHIOU, 2017). Il est légèrement laxatif fibreux, huileux et contient de la gomme, son goût est doux amer (40% de sucre et 7% de saponine) (KONE, 2017), les fruits qui tombent des arbres sous l'effet du vent, les feuilles, et les fleurs du *B. aegyptiaca* sont très bien appréciés par les bovins, les ovins (ZIDA, 2009).

Dans la médecine traditionnelle égyptienne, les fruits sont utilisés comme un hypoglycémiant et dans la médecine populaire soudanaise pour le traitement de l'ictère. Ainsi, les fruits sont couramment utilisés pour purger, pour éliminer les parasites intestinaux et parfois pour traiter les infestations contre *Schistosomum japonicum* (DIEDHIOU, 2017). L'écorce constitue

Chapitre I. - Revue bibliographique

surtout la partie la plus utilisée dans le traitement de ces différentes affections. Les formes de préparation les plus habituelles sont la décoction et la macération. Le mode d'administration le plus courant est la voie orale et l'application externe (cutanée) (ZIDA, 2009).

Plus que, la *B. aegyptiaca* intervient dans le traitement de plusieurs affections ; Elle intervient dans le traitement de quelques affections (Tableau3).

La qualité de dureté de bois de tige et sa résistance à l'attaque d'insectes lui valent d'être une matière première pour la fabrication d'ustensiles ménagers (cuillères, écuelles, battoires, etc.), d'outils et de mobilier. Il est également utilisé comme bois de chauffage et transformé en charbon de bois (DIEDHIOU, 2017). Les noyaux (50% du poids du fruit) contiennent 40% d'huile, ils sont comestibles ou transformables en savon (KONE, 2017).

D'après ZIDA (2009), les enquêtes effectuées auprès des éleveurs et des paysans ont révélé une large gamme d'affections soignées par ces espèces. Le mode d'administration le plus courant est la voie orale. Les principaux symptômes d'appel de ces plantes sont les pathologies digestives, viennent ensuite les altérations extérieures comme les contusions, et les blessures, pour lesquelles on utilise la voie cutanée (Tableau 4).

Tableau3: Utilisations de *B. aegyptiaca* en dans la médecine humaine (ZIDA, 2009)

| Parties de l'arbre | Maladies soignées | Mode d'administration | Destinataires |
|--------------------|---------------------|--|--------------------|
| Ecorce | Irritation du corps | Décocté en bain | Enfants Adultes |
| | Maux de ventre | Décocté en boisson, et en lavement | Enfants Adultes |
| | Maux de flanc | Décocté en purgation | Enfants |
| | Vers intestinaux | Décocté en boisson | Enfants Adultes |
| | Irritation du corps | Décocté de l'écorce en association avec l'écorce du <i>Tamarindusindica</i> , et du <i>Kaya senegalensis</i> en bain | Adultes |
| | Noma (cancrunoris) | Manger la partie interne de l'écorce accompagnée du cola | Adultes |
| | Diarrhée | Décoctéen purgation | Bébés |

Chapitre I. - Revue bibliographique

| | | | |
|-------------|----------------|---|--------------------|
| | Maux de dents | Décocté en bain de bouche | Enfants Adultes |
| | Maux des yeux | Macéré d'écorce dans de l'eau en lavement des yeux chaque matin | Enfants Adultes |
| | Dentition | Décoctéen purgation | Bébés |
| | Toux | Décoctéenboisson | Enfants Adultes |
| Racine | Maux de ventre | Décoctéen purgation | Enfants |
| Fruits mûrs | Maux de ventre | Macéré de fruits pendant 48 heures en boisson chaque matin à jeun | Enfants |

Tableau4: Utilisations de *B.aegyptiaca* en médecine animale (ZIDA, 2009)

| Parties de l'arbre | Maladies soignées | Modes d'administration | Destinataires |
|--------------------|-----------------------|---|---------------------------|
| Ecorce | Diarrhée | Macéré en boisson | Volaille |
| | Trypanosomiase | Décocté en boisson | Bovins; Ovins; Caprins |
| Graines | Délivrance (facilite) | Macéré de graines écrasées pendant 12 heures en boisson | Bovins; Ovins; Caprins |
| Bois | Insecticide (poux) | Enfumer le poulailler par combustion. | Volaille |

I.3.4. Compsition phytochimique

B. aegyptiaca ont été étudiés chimiquement pour différentes classes de constituants. Il contient un certain nombre de métabolites secondaires et de composés bioactifs, notamment des flavonoïdes, des alcaloïdes, des glucosides, des phénols, des saponines de stéroïdes, des furanocoumarins, de la diosgénine, de la N-trans-feruloyltyramine, de la N-cis ferulotyramine, de la trigonelline, du balanitol, acide gras (AL-THOBAITI et ABU ZEID, 2018).

I.3.4.1. Flavonoïdes

Six flavonoïdes, des glycosides identifiés comme quercetin-3-rutinoside, quercetin-3-glucoside, 3-glucoside, 3-rutinoside, 3-7 diglucoside et 3rhamnogalactosides de l'isorhamnetine ont été extraits et identifiés des feuilles et des branches des espèces égyptiennes (KONE,2017). SPERONI *et al.*, (2005) ont identifié la présence d'isorhamnetin-3-O-robinobioside dans toutes les parties de *B. aegyptiaca*. Les flavonoïdes jouent un rôle considérable dans le traitement des tumeurs et des maladies chroniques et ont également des propriétés antimicrobiennes.

I.3.4.2. Alcaloïdes

L'écorce de *B. aegyptiaca* contient divers alcaloïdes comme la N-transferuloyltyramine et la N-cisferuloyltyramine. La présence d'alcaloïdes a également été signalée dans les graines et l'huile. Le rôle de la N-trans-feruloyltyramine dans le traitement du cancer a été bien étudié par divers chercheurs (AL-THOBAITI et ABU ZEID, 2018)

I.3.4.3. Glucosides

Les feuilles, les fruits, l'écorce et les grains de *B. aegyptiaca* contiennent diverses classes de glucosides, dont le 2- Diglucosyldirhamnoside, le bêta-sitostérol, le di-, le tri-et les tétraglucosides. Ces glucosides sont responsables des propriétés antidiabétiques et antimicrobiennes de l'extrait d'arbre (ANSARI *et al.*,2006).

I.3.4.4. Composés phénoliques

Les phénols du constituant bioactif proviennent des graines et de l'écorce de *B. aegyptiaca*. Les composés phénoliques les plus couramment signalés sont le 2,4-di-tertbutyl-phénol, le 2,6-di-tert-butyl-phénol (graine), le 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1-propanone, l'acide syringique, l'acide vanillique et les coumarins (écorce) (AL-THOBAITI et ABU ZEID, 2018).

I.3.4.5.Saponine

B. aegyptiaca contient différent type appelés balanitine 1,2,3,4,5,6 et 7. Les teneurs en saponosides totaux dans le mésocarpe et la noix du fruit sont respectivement 7,2% et 6,7% (KONE, 2017).Saponines possèdent des propriétés cytotoxiques, antifongiques, antibactériennes, larvicides et anti-inflammatoires et jouent un rôle important dans le métabolisme et dans la biosynthèse. Elles sont considérées comme les principaux composés actifs à propriétés thérapeutiques (CHAPAGAIN et WIESMAN, 2007).

Chapitre II

Matériel et méthodes

II.1. Principe adopté

Cette étude a été réalisée au sein de laboratoire pédagogique de biologie de l'université de Ghardaïa et vise à étudier les effets toxiques et insecticides des extraits aqueux bruts de dattier du désert (*B. aegyptiaca*) sur les moustiques de la wilaya de Ghardaïa, un screening phytochimique est réalisé sur ces extraits ainsi la mortalité et le taux d'activité d'enzyme cholinestérase sont étudiés.

II.2. Matériel biologique

Le matériel biologique se compose d'une population de *Cx pipiens* récupérée de la région de Berriane, wilaya de Ghardaïa et de dattier du désert (*B. aegyptiaca*) récoltée dans la région East-tefert, Ablassa wilaya de Tamanrasset.

II.2.1. Présentation du site expérimental

II.2.1.1. Berriane

Berriane est une commune de la wilaya de Ghardaïa située à 44 Km au Nord de Ghardaïa, elle est limitée au Nord par Hassi Dellaa (Wilaya de Laghouat), à l'Ouest par Hassi R'Mel (Wilaya de Laghouat), et Est par Guerrara (Figure 15).

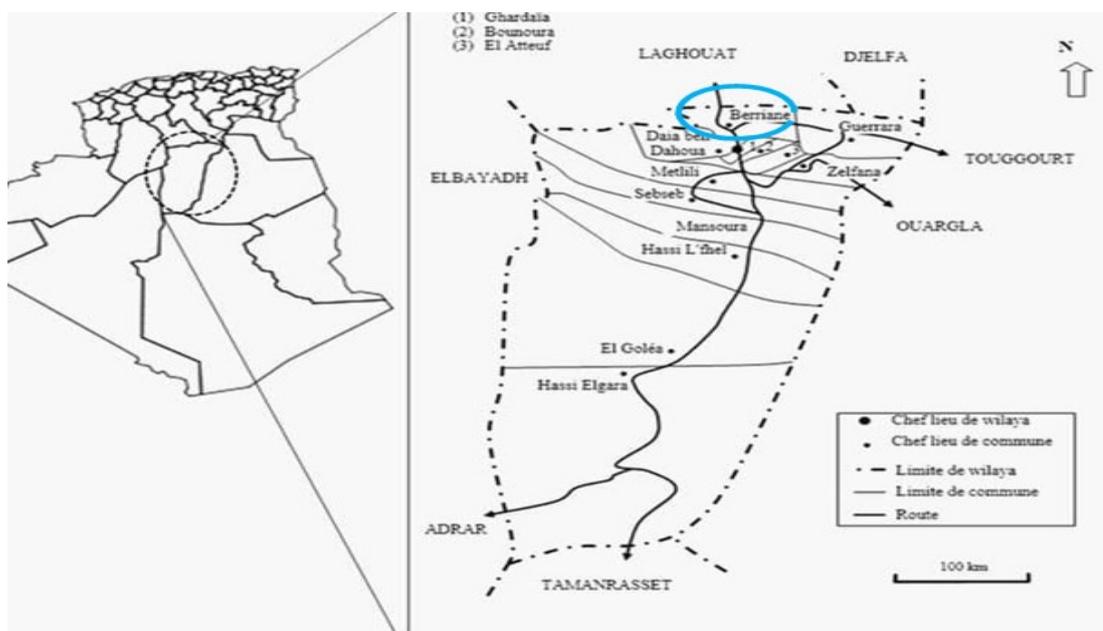


Figure 15: Situation géographique de lieu de la récolte des moustiques (BEN SEMOUNE *et al.*, 2019).

Chapitre II. - Matériel et méthodes

II.2.1.2. East-tefert-Ablassa

East-tefert-Ablassa est une commune de la wilaya de Tamanrasset située à 80 km au Ouest de Tamanrasset, est limitée au Nord par la commune In amguel, au sud par la commune Tinzaouatine, à l'Est par centre de wilaya de Tamanrasset et à l'Ouest par la wilaya d'Adrar (Figure 16)



Figure 16 : Situation géographique de lieu de la récolte d'échantillon végétale (BEN SEBGAG, 2013).

II.2.2. Matériel végétal

Dans cette expérimentation le matériel végétal est composé de deux parties, les feuilles et l'amande de fruits de *B. aegyptiaca*. La récolte a été réalisée dans un arbre de *B. aegyptiaca* à Est-tefert -Abalessa-tamanrasset durant le mois de décembre 2019 (photo 5).



Photo 5: Arbre de *B. aegyptiaca* à Est-tefert -Abalessa-tamanrasset (Originale).

Chapitre II. - Matériel et méthodes

Les feuilles est rincée avec l'eau pour débarrasser les impuretés, laissée séchée à l'air libre et dans une température ambiante, une fois séchée, les feuilles seront broyées avec un broyeur électrique type IKA jusqu'à l'obtention d'une poudre fine (photo6) qui sera conservée dans des bocaux sombres en verre.



Photo 6 : Séchage et broyage des feuilles de *Balanites aegyptiaca* (Originale).

Pour les fruits, la partie mésocarpe des fruits est éliminée à l'aide d'une lame bistouri à fins d'obtenir le noyau puis, ils sont déposés dans un plateau et séchés à l'étuve à 30°C, pesés chaque jour dans un balance précision jusqu'à le séchage total des noyaux qui correspond à un poids constant.une fois séché, les noyaux sont écrasés manuellement pour récupérer l'amande ensuite broyer dans un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre (photo 7) qui sera conservée dans des bocal sombre en verre.



Photo 7: Broyage d'amande récupérée de *Balanites aegyptiaca* (Originale)

II.2.2.1. Position systématique

Sous Règne:Trachebionta

Division:Magnoliophyta

Classe:Magnoliopsida

Sous Classe:Rosidae

Ordre:Sapindales

Famille:Zygophyllaceae (Balanitaceae)

Genre:Balanites

Espèce:*Balanites aegyptiaca*(L.). Delile (DIEDHIOU, 2017),(CHOTHANI et VAGHASIYA, 2011)

II.2.2.2. Distribution géographique de la plante

B. aegyptiaca est un arbre afro-asiatique. Sur le Continent asiatique, l'arbre se trouve au Moyen-Orient du sud au nord jusqu'à 35 ° 25 'de latitude nord, en Arabie, en Birmanie, en Inde et au Pakistan et tout le long du golfe Persique. En Afrique, sa zone s'étend d'ouest en est, dans la bande sahélienne de l'océan Atlantique (Sénégal, Mauritanie) jusqu'en Erythrée. L'aire de répartition de *B. aegyptiaca* s'étend à travers le Sahara, jusqu'à l'Algérie où sa frontière est située à 27 ° N; puis en Afrique de l'Est dans la bande allant de l'Egypte et de la Libye jusqu'au Zimbabwe (19 ° S) (SAGNA, 2014).

Cependant, il est principalement distribué dans les zones semi-arides et arides d'Afrique tropicale (MOHAMED ELMUSTAFA FREGON, 2005) (Figure 17).

En effet, il fleurit dans différents types de sols (sableux, argileux, argilo-limoneux, graveleux, lourds), régulièrement inondés et sur des dunes formées par le vent. Dans sa zone de distribution, l'usine reçoit des précipitations allant de 150 à 1 300 mm par an et où les températures moyennes se situent entre 20 et 30 ° C. L'espèce peut croître à basse altitude (niveau de la mer) et jusqu'à 2000 m d'altitude, comme c'est le cas au Soudan (SAGNA, 2014).

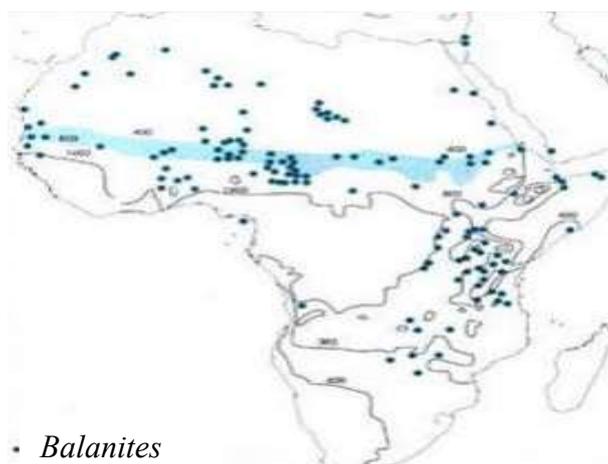


Figure 17: Carte représente la distribution de *B. aegyptiaca* dans population Africain (BICHI et HORO, 2018).

II.2.3. Matériel animal

II.2.3.1. Échantillonnage:

Durant la période du mois de février 2020, les larves de moustiques sont récoltées à partir d'un réservoir à eau dans une palmeraie situé dans la zone de baba saad à Berriane, Wilaya de Ghardaïa (photo 8)

Le prélèvement est effectué en plongeant dans l'eau une louche en plastique et en repérant les larves par leur position horizontale à la surface de l'eau. Le contenu de la louche est versé à chaque fois dans des récipients, qui seront par la suite transporté au laboratoire.



Photo 8:Site urbain de baba saad à Berriane, Wilaya de Ghardaïa (Originale)

Chapitre II. - Matériel et méthodes

II.2.3.2. Élevage des insectes:

Les larves des moustiques sont déposées à l'intérieur des bacs en plastique dans une cage avec une armature en bois de dimensions 120×60×70cm³, La cage est recouverte d'une toile moustiquaire et possède une porte coulissante en verre pour permettre les différentes manipulations (**photo 9**). Les larves sont nourries tous les 2 à 3 jours d'une mixture composée de dattes, de sucre et de feuilles de palmier dattier. Ainsi les adultes femelles et males sont nourris de l'eau sucrée, et pour assurer une fécondation des femelles un repas sanguin est porté chaque deux jours, placé dans des bouchonnes de bouteilles en plastique.



Photo 9: La cage d'élevage des moustiques (Originale)

II.3. Méthodes d'extraction

Pour la présente étude deux extractions ont été réalisées, une extraction par macération des feuilles et les noyaux de dattier du désert (*B. aegyptiaca*) et une extraction de l'enzyme cholinestérase à partir des *Cx. pipiens*.

II.3.1. Préparation des extraits végétaux

La préparation des extraits aqueux des feuilles et d'amande d'*B. aegyptiaca* est réalisée par macération.

II.3.1.1.Principe

La macération est une extraction solide-liquide, elle permet un transfert de matière entre une phase qui contient la matière à extraire «solide», et un solvant d'extraction «liquide» (HERZI, 2013 ; BELAZIZIA et BETTICHE, 2019). Suite au contact entre le solvant et le solide

Chapitre II. - Matériel et méthodes

hétérogène, les substances ayant une affinité pour le solvant sont solubilisées et passent de la phase solide dans la phase liquide. Au cours de l'extraction, leurs teneurs (fractions) dans la phase solide diminuent et leurs concentrations dans la phase liquide augmentent. Le transfert de matière se réalise par diffusion moléculaire et par convection. L'extraction est un processus non stationnaire qui s'arrête au moment où s'établit un équilibre entre les deux phases (BEGHDAD et BEGHDAD, 2018). Ce qui nécessite plusieurs macérations pour le même échantillon.

La macération est relativement peu coûteuse et aussi la plus simple, elle est utilisable dans le cas de l'extraction d'un ensemble de molécules fragiles et se déroule à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules bioactives qui sont sensibles aux changements de température. En outre, une matrice peut subir plusieurs extractions successives en utilisant des solvants de plus en plus polaires afin d'obtenir des mélanges enrichis en molécules d'intérêt (BEGHDAD et BEGHDAD, 2018). Cette technique a été optimisée, notamment, pour l'analyse des composés non volatils (poly phénols, sucres) avec l'utilisation d'une quantité considérable de solvant pour être efficace (BELAZIZIA et BETTICHE, 2019), une macération, peut durer de 4 à 10 jours environ ; ceci peut présenter quelques inconvénients, en termes de fermentation, ou de contamination bactérienne notamment si le solvant utilisé est l'eau. Ces phénomènes peuvent entraîner une dégradation rapide des molécules actives. En vue d'éviter ou de réduire ces inconvénients, la macération peut être opérée dans un récipient couvert, le tout à l'abri de la lumière et, dans certains cas, maintenue dans un réfrigérateur (BEN AMOR, 2008).

Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre, pour l'alcool, le vinaigre, huiles, cette macération peut se prolonger plusieurs jours sans inconvénients. (LEHOUT et LAIB, 2015).

II.3.1.2. Mode opératoire

L'extraction est réalisée selon la méthode modifiée de SHUKLA et SHARMA (2011):

Une quantité de 50 gde poudre d'échantillon (Feuilles / noyaux) est macérée dans 200ml d'un mélange méthanol /eau (2/1) pendant 24h. à température ambiante dans un cristalliseur couvert et à l'abri de la lumière (photo10).

Chapitre II. - Matériel et méthodes

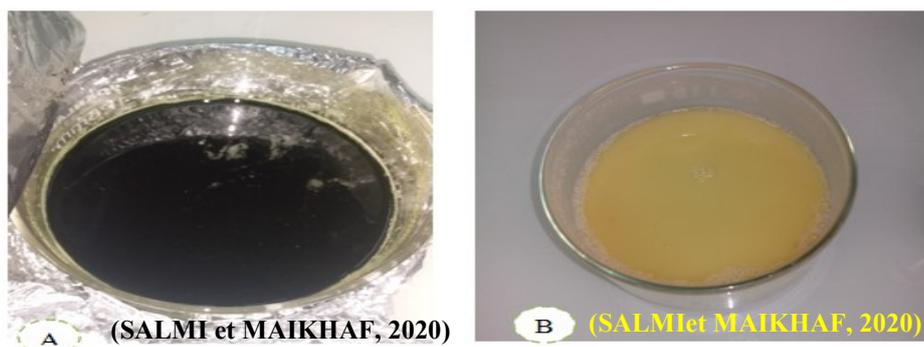


Photo10 : L'extraction par macération; A: extrait des feuilles ; B: extrait de noyaux
(Originale)

Après filtration à l'aide d'un papier filtre, le filtrat recueilli est soumis à une évaporation sous vide à (50-45)°C dans un rotavapor type Heidolph, pour éliminer le méthanol. La durée d'évaporation dépend de la quantité initiale du filtrat, elle est contrôlée par les gouttes récupérées de réfrigérant (photo11).



Photo 11: Montage de rotavapor (Originale).

L'extrait aqueux est conservé dans des bouteilles sombres hermétiquement fermées, étiquetées et maintenues à 4°C jusqu'à l'utilisation.

Chapitre II. - Matériel et méthodes

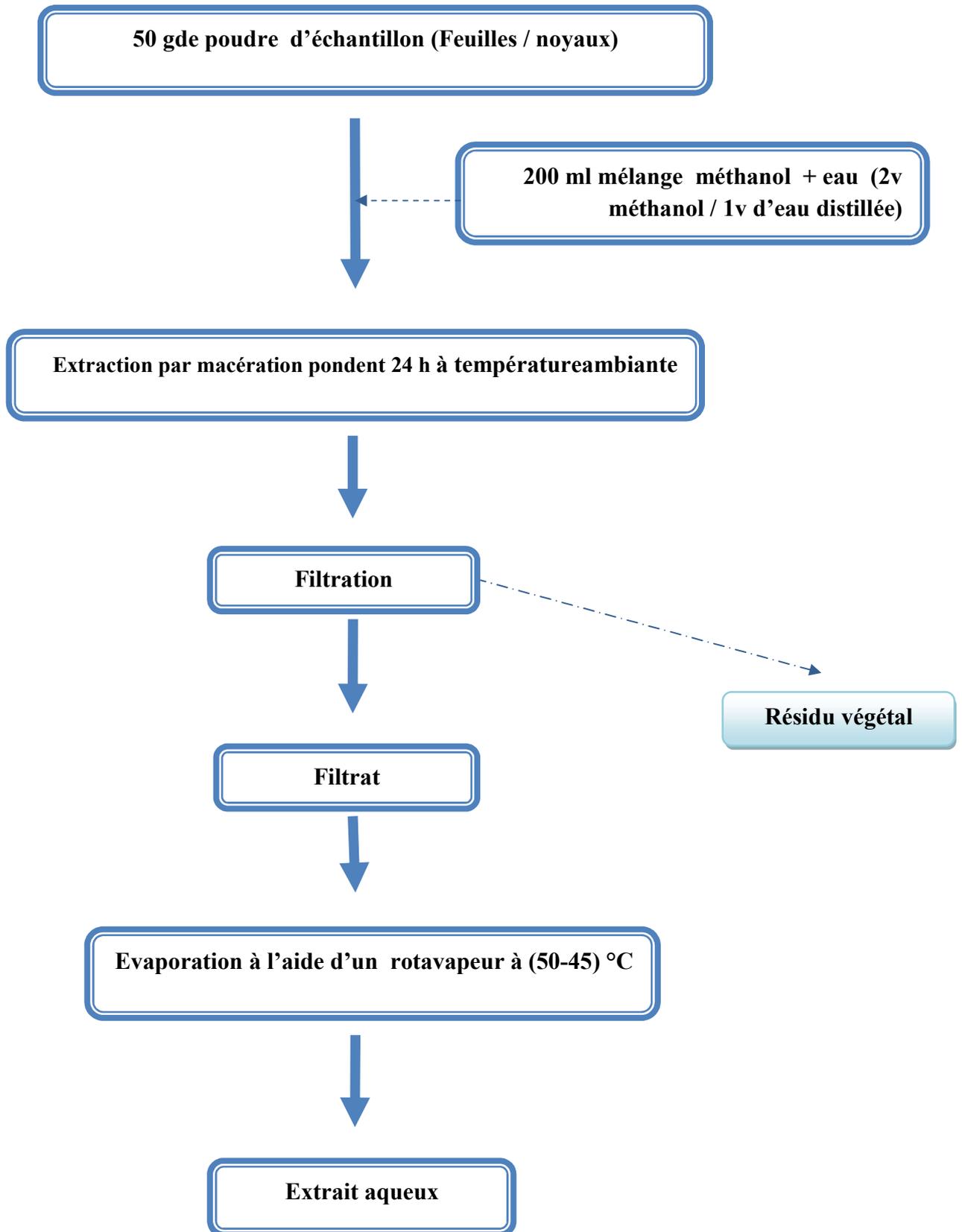


Figure18: Protocole de la préparation d'extrait méthanolique par macération.

II.3.2. Extraction d'enzyme cholinestérase et des protéines totaux

L'extraction de l'enzyme, porte sur la libération de l'enzyme cholinestérase des compartiments cellulaires et le dosage enzymatique et protéique chez *Cx. pipines*.

II.3.2.1. Principe

Selon la méthode de Lui *et al.*,(2011) ; l'extraction d'une enzyme contenue dans un tissu commence par la destruction des cellulaires par broyage, ultrasons, lyse des parois..., cependant l'extraction des enzymes membranaires pose des problèmes spécifiques et nécessite l'emploi de détergents (neutres ou ioniques) pour les solubiliser après dissociation des membranes (HAMID OUDJANA, 2017). L'acétylcholinestérase est présente en forte concentration au niveau du cerveau, notamment dans le réseau de de neuropile (EN-BO *et al.*,2004).

II.3.2.2 Mode opératoire

Les étapes d'extraction doivent être réalisées à froid afin d'éviter l'altération de l'enzyme. Les insectes sont amputés et homogénéisés dans un mortier porté à l'avance dans un congélateur. L'homogénat est récupéré avec 0,5 ml d'eau glacée et 1 ml d'un mélange de 0,1M tampon phosphate (pH 7.4) contenant 0.1% d'un détergent : le triton X-100, afin d'éliminer les impuretés et les lipides membranaires détruits par le détergent, une sédimentation est effectuée par centrifugation à 10.000 g pendant 20 mn dans une microcentrifugeuse réfrigérée de type SIGMA 1-16. Le surnageât renfermant l'enzyme est récupéré à l'aide d'une micropipette.

II.4. Screening phytochimique sur les extraits aqueux des végétaux

II.4.1. Identification de tanin

La réaction au chlorure ferrique ($FeCl_3$) a permis de caractériser les tanins. A 2ml de chaque extrait-nous avons ajouté quelques gouttes d'une solution de ($FeCl_3$) à (1%). le mélange est incubé pendant 15 min à 50°C. La présence des tanins est indiquée par coloration verdâtre ou bleu-noire (BENDIF, 2017).

II.4.2. Identification des flavonoïdes

II.4.2.1. Test d'anthocyanes

Le test d'anthocyanes consiste à mettre 2 ml de chaque extrait on ajoute 2 ml d'HCL (2 N) puis 2ml NH_4OH . Une coloration rouge en milieu acide et bleu violacé en milieu basique témoigne de la présence d'anthocyanes (DAIRA *et al.*, 2016)

II.4.2.2. Réaction à la cyanidine

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine. 5 ml de chaque extrait ont été ajoutés à 5 ml d'éthanol chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume); on ajoute 1 ml d'alcool iso-amylique puis quelques copeaux de magnésium. Il se produit une réaction de précipitation pendant quelques minutes. L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones) ou rose-violacée (flavanones) ou rouge (flavonones, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageant d'alcool iso-amylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). La réaction à la cyanidine sans ajouter de copeaux de magnésium et chauffer pendant 15 mn au bain-marie. En présence de leucoanthocyanane, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée; les catéchols donnent une teinte brun-rouge (DAIRA *et al.*, 2016).

II.4.3. Identification des coumarines

Les coumarines sont révélées à partir de 2 ml de chaque extrait placé dans un tube dans lesquels ont été ajoutés 3 ml de NaOH (10%). Après agitation de la solution, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence de coumarines (DAIRA *et al.*, 2016).

II.4.4. Identification des quinones libres

La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH à 1%, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (AISSOUS et BECHARA, 2016).

II.4.5. Identification des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été caractérisés à partir des réactifs de Mayer (1,36g HgCl₂; 5g KI; eau distillée q.s.p 100 ml) et de Wagner (2g KI; 1,27g d'iode; eau distillée q.s.p 100ml). L'addition de 5ml d'acide chlorhydrique à (1%) à 1ml de chaque extrait, ce mélange est chauffé au bain-marie puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par 5 gouttes de réactif de Mayer (1,36g HgCl₂; 5g KI; eau distillée q.s.p 100ml), l'autre par 5 gouttes de réactifs de Wagner (2g KI; 1,27g d'iode; eau distillée q.s.p 100ml). La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes (BERREGHIOUA, 2016).

II.4.6. Identification des saponines

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant quelques gouttes d'eau à 2 mL de l'extrait aqueux, après l'agitation pendant 15 s et repos durant 15 min. une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm indiquait la présence de saponosides.

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux, la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé pendant 20 minutes. La présence des saponosides est évaluée comme suit :

Pas de mousse = test négatif

Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif

Mousse de 1-2 cm = test positif

Mousse plus de 2 cm = test très positive (DAIRA *et al.*, 2016)

II.4.7. Identification des stérols et polyterpènes

Ont été recherchés par à partir de 10 ml de filtrat est évaporé à sec sur bain de sable, le résidu sec est dissous dans un mélange de 1 ml d'anhydride acétique et 1ml de chloroforme et ensuite partagé entre deux tubes. L'un servant de témoin et le second contenant préalablement 1 à 2 ml de H₂SO₄ concentré. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et d'une coloration violette à la couche surnageant révèlent la présence des stérols et des polyterpènes (HADJADJ, 2017).

II.4.8. Identification des stéroïdes

La recherche des stéroïdes est réalisée par l'ajout de 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml de chaque extrait, qui sont repris dans un tube à essai dans lequel sont ajoutés 0,5 ml de H₂SO₄ concentré. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive (DAIRA *et al.*, 2016).

II.4.9. Test des glycosides cardiaques

La détection de la présence des glycosides cardiaques est réalisée par l'ajout de 2 ml de chaque extrait avec 2 ml de chloroforme et d'acide sulfurique concentré ajoutée avec précaution pour former une couche rougeâtre foncée de couleur brun à l'interface de l'anneau stéroïde qui indique la présence de glycosides cardiaques (BOUKRI, 2014).

II.4.10. Test des huiles volatiles

Leur détection consiste à ajouter à 2 ml d'extrait 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (10%) et quelques gouttes de HCl dilué à 10%, la formation d'un précipité blanc indique la présence d'huiles volatiles (BOUKRI, 2014).

II.4.11. Identification des composés réducteurs

Pour rechercher des composés réducteurs, nous avons versé 1 ml de deux extraits aqueux avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (BADEREDDINE et MOUSSAOUI, 2014).

II.5. Étude de la toxicité

Les tests de toxicité ont pour objet d'évaluer le degré de sensibilité (ou de résistance) d'une substance toxique chez les diverses espèces animales ou végétales. En pratique, ils cherchent à déterminer les différentes formes de toxicité (par ingestion; par inhalation ou par contact) et à faire une évaluation quantitative des principaux effets létaux ou sublétaux (RAMADE, 2007).

II.5.1. Méthode de traitement

La méthode de traitement est par pulvérisation. La pulvérisation comme étant une méthode qui consiste à fractionner un liquide en une infinité de très petites gouttelettes, à assurer leur transport et leur répartition régulière sur une surface préalablement définie. Un pulvérisateur muni d'un adaptateur de surface de gouttelettes est utilisé (HAMID OUDJANA, 2017).

II.5.2. Constitution des lots

II.5.2.1. Constitution des lots destinés à l'étude de la mortalité

Les moustiques sont déposés dans des gobelets en plastique couvrant à la surface par une gaze. Pour l'étude de la toxicité des extraits aqueux, six lots de 20 individus sont préparés, ainsi différentes concentrations des extraits sont utilisés : extrait brut (100%) et dilués (80%, 60%, 40% et 20%) par l'eau distillée et un témoin (0%) préparé aussi par l'eau distillée. Les tests toxicologiques ont été réalisés avec trois répétitions, soit un ensemble de 720 individus. Les séries traitées des moustiques *Cx. pipiens* ont été suivies jusqu'à la mort des individus, (MERABTI *et al.*, 2015).

II.5.2.1. Constitution des lots destinés à l'étude des paramètres biochimiques

Les lots préparés pour cette étude sont identiques aux lots préparés pour l'étude de la toxicité : nombre des individus, dilution, conditions expérimentales. Le temps d'exposition à l'insecticide dépend des résultats de la durée moyenne de la mortalité, après traitement on sacrifie les insectes pour réaliser l'extraction et le dosage.

II.5.3. Dosage de l'activité de l'Acétylcholinestérase

L'activité de l'AChE résiduelle est mesurée par dosage colorimétrique selon le protocole d'Ellman *et al.* (1961).

II.5.3.1. Principe

L'AChE catalyse la réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et acide acétique. Elle est spécifique des esters de l'acide acétique et si, physiologiquement, son substrat est l'acétylcholine, elle catalyse l'acétylthiocholine (ATCh). Dans ce cas, les produits de la

Chapitre II. - Matériel et méthodes

réaction d'hydrolyse sont l'acide acétique et la thiocholine. La méthode spectrophotométrique d'Ellman (1961) utilise cette propriété de l'AChE en faisant interagir les groupements thiols ainsi rendus disponibles dans le milieu avec le DNTB pour donner du TNB (coloré en jaune) (MOHAMED, 2011).

II.5.3.2. Mode opératoire

Le mélange réactionnel est réalisé directement dans la cuve de dosage. L'activité est évaluée contre un blanc à 25°C, dans un tampon phosphate de sodium (0.1 mol⁻¹, pH 7.4) en présence d'un volume de substrat (acétylthiocholine) et de DNTB (500µl) et d'un volume d'échantillon (500µl). L'absorbance est mesurée à 412 nm pendant 5 min avec un intervalle de 60s entre chaque mesure sur un spectrophotomètre de type BIOTECH ENGINEERING MAGEMENT CO. LTD. (UK) modèle SpectroScan 40.

L'activité enzymatique spécifique qui se calcule l'équation suit :

$$A = \Delta DO.V / (t_2 - t_1). \epsilon.d.x$$

A: Activité enzymatique (en nanomole /min /mg)

ΔDO: variation de la densité optique à 412nm durant t₂-t₁ min,

t₁: temps initial de la lecture,

t₂: temps final de la lecture après un intervalle de 60 s,

ε: coefficient d'extinction spécifique du DNTB à 412nm pour une réponse en µmoles transformés, ε = 1,36 .10⁴ (M⁻¹.cm⁻¹).

d: épaisseur de la cuve.

V: volume du milieu d'incubation dans la cuve en millilitre (ml),

x : prise d'essai en millilitre (ml),

A : en nanomole /min /mg.

II.5.4. Dosage des protéines :

Le dosage des protéines est effectué sur l'extrait selon la technique de BRADFORD (1976)

II.5.4.1. Principe

La méthode de BRADFORD(1976) est un dosage colorimétrique qui permet d'estimer la quantité de protéine contenue dans un extrait. Cette méthode a pour principe la formation de complexes entre le bleu de Coomassie et les résidus basiques et aromatiques des protéines. Elle est basée sur le changement d'absorbance qui se manifeste par la modification de la couleur du bleu de Coomassie qui se fixe sur les liaisons peptidiques et se stabilise sous forme anionique. La solution initialement marron vire au bleu en présence de protéines, déplaçant la

Chapitre II. - Matériel et méthodes

bande d'absorption de 465 nm à 595 nm. Le changement d'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant lié, indiquant ainsi la concentration en protéines dans l'échantillon (BOUMAZA, 2015). Cette technique est rapide et reproductible, la coloration est stable pendant une heure (OUIS, 2008).

II.5.4.2 Mode opératoire

Le dosage des protéines est la conséquence de la réaction du Bleu Brillant de Coomassie (BBC) G250 en aliquote de l'échantillon (100 µL). Cette fraction est additionnée à la solution de Bradford (4mL) (Annexe II). Le mélange est agité, puis mis au repos pendant 5 minutes pour stabiliser le complexe coloré avec les protéines. La mesure effective des protéines est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre BIOTECH ENGINEERING MANAGEMENT CO. LTD. (UK) modèle SpectroScan 40 dans le visible à une longueur d'onde de 595nm. À cette longueur d'onde le blanc (H₂O, eau distillée) et les échantillons de protéines sont lus alternativement pour s'assurer de l'absence d'interférence de ces liées au solvant eau.

Une gamme étalon est réalisée à partir d'une solution de serum albumine bovine (SAB) pour un domaine de concentration compris entre 0 à 1 g/L. À partir de cette courbe d'étalonnage, on détermine systématiquement par extrapolation toutes les solutions inconnues en protéines exprimées en mg ou g/L (BOUMAZA, 2015).

II.6. Exploitation des résultats :

II.6.1. Détermination de taux de mortalité

La mortalité est le premier critère de jugement de l'efficacité d'un traitement chimique ou biologique. Afin de caractériser l'effet toxicologique d'extrait de *B. aegyptiacea* sur les individus de *Cx. pipiens*. Le pourcentage de mortalité est calculé à l'aide de la formule suivante (KORICHI-ALMI et al., 2016):

$$\text{Taux de mortalité(\%)} = \frac{\text{Nombre d'individus morts}}{\text{Nombre total d'individus}} \times 100$$

Le pourcentage de mortalité observé est corrigé par rapport au témoin selon la formule de Schneider (KORICHI-ALMI, 2016) :

$$MC = [(M2 - M1) / (100 - M1)] \times 100$$

MC : taux de mortalité corrigé

M2: taux de mortalité dans la population traitée.

M1 : taux de mortalité dans la population témoin.

II.6.2. Dose létale 50 (DL₅₀)

La toxicité d'un extrait peut être fixée par la détermination de la dose létale 50 (DL₅₀) (HILAN *et al.*, 2009). La dose létale médiane est la valeur statistique de la dose d'une substance chimique qui provoque la mort de 50% des organismes d'une population donnée dans des conditions expérimentales définies (LAIGNEAU, 2000).

II.6.3. Temps léthal 50 (TL₅₀):

Le temps léthal 50 (TL₅₀) correspond au temps nécessaire pour que périssent 50% des individus exposés à une dose ou à une concentration déterminée. Il est calculé à partir de la droite de régression des probits correspondant aux pourcentages des mortalités corrigées en fonction des logarithmes des temps de traitement. On utilise la formule de Schneider et la table de probits (KEMASSI *et al.*, 2012).

Chapitre III

Résultats et Discussion

Chapitre III. - Résultats et discussions

Ce chapitre vise à présenter et discuter les résultats des effets toxiques et insecticides des extraits aqueux bruts de dattier du désert (*B. aegyptiaca*) sur les moustiques de *Cx. pipiens* de la wilaya de Ghardaïa, un criblage phytochimique est réalisé, ainsi un ensemble des travaux et des résultats sur l'effet insecticide en visagé par l'étude de la mortalité et de l'activité d'enzyme cholinestérase est préparé.

III.1. Rendement d'extraction des feuilles et des amandes des fruits de *B.aegyptiaca*.

Les résultats relatifs au rendement d'extraction sont déposés dans la figure 19, selon les résultats le rendement d'extrait aqueux des feuilles et des amandes des fruits montre une différence. Le pourcentage des métabolites secondaires dans l'extrait des feuilles $8.47\pm 0.10\%$ est moins par rapport à l'extrait des amandes des fruits $12.60\pm 0.10\%$. Ce qui signifie selon les résultats que les amandes des fruits contiennent plus de métabolites secondaires par rapport aux feuilles.

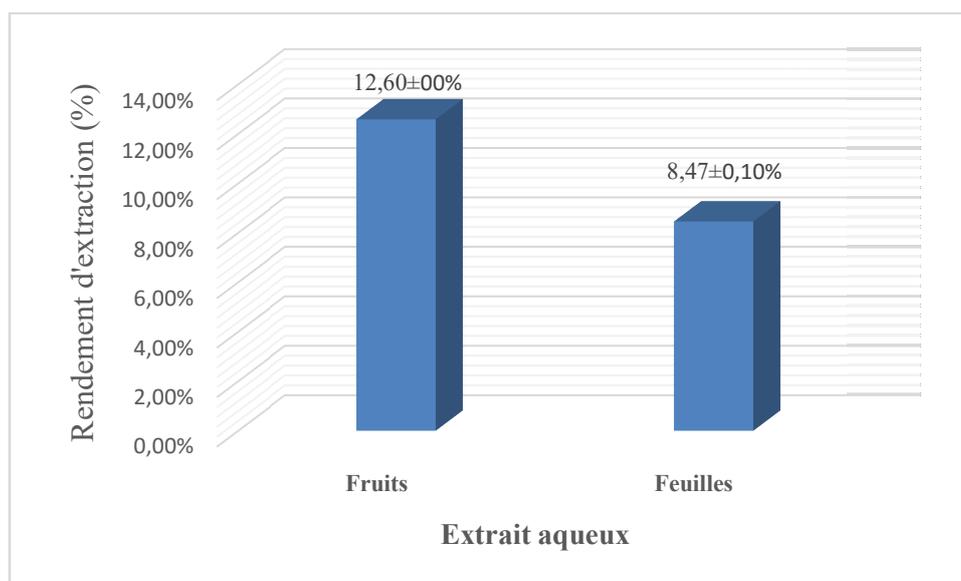


Figure 19 : Rendement d'extraction des feuilles et des amandes des fruits de *B. aegyptiaca*.

KOUBALA et *al.*, (2013), signalent un rendement d'extraction sur les feuilles de *B. aegyptiaca* plus élevée de 30.86%, de même MOHAMED ELAMIN et SATTI (2013) signalent un taux élevé de 25.8%, tandis que ADENIYI et *al.*, 2010 montrent un taux moins élevé de 11,10% avec les feuilles de *B. aegyptiaca*.

La variabilité observée au niveau des rendements d'extraction serait probablement liée à la composition chimique des feuilles et des amandes utilisées. En effet la capacité d'extraction

Chapitre III. - Résultats et discussions

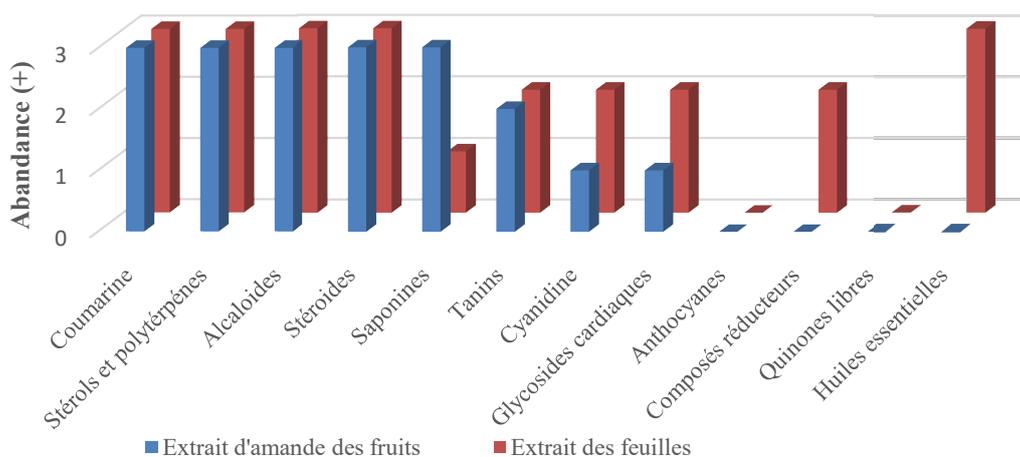
d'un solvant dépend d'une part de l'affinité de ce solvant à l'égard des phytomolécules et d'autre part de la polarité de ce solvant (FIFAME et *al.*, 2015).

Le rendement des extraits est différent d'une famille botanique à une autre, d'une espèce à une autre et même entre les plantes de la même espèce. De plus, cette différence peut être liée à plusieurs facteurs tels que la zone géographique de collecte, le climat, le stade de développement, la saison et les conditions édaphiques (ENNAJAR, 2009);(KOUBALA et *al.*, 2013).

II.2. Criblage phytochimique des extraits aqueux bruts des feuilles et des fruits de dattier du désert (*B. aegyptiaca*)

Les résultats relatifs à l'abondance des métabolites secondaires dans les extraits aqueux des feuilles et des fruits de dattier du désert (*B. aegyptiaca*), sont présentés dans la figure 20 et le tableau 5. L'analyse montre une diversité des métabolites secondaires dans les fruits et les feuilles de dattier du désert. Les deux extraits présentent un taux élevé des coumarines, stérols, polyterpènes, alcaloïdes et stéroïdes, et un taux moyens des tanins. Ainsi le taux des saponines est plus élevé pour l'extrait d'amande des fruits alors que pour les feuilles le taux de saponine est moyen. Les huiles essentielles présentent un taux élevé dans l'extrait de feuille et absent dans l'extrait d'amande. Un taux moyens des cyanidines (Flavones et Génine), des glycosides cardiaques et des composés réducteurs sont observés pour l'extrait des feuilles, alors que l'extrait d'amande des fruits montre un taux faible des cyanidines (Flavones et Génine), des glycosides cardiaques et une absence totale des composés réducteurs. Ainsi une absence des anthocyanes et quinones libres pour les deux extraits avec une absence des huiles essentielles pour l'extrait d'amande des fruits.

Chapitre III. - Résultats et discussions



Métabolites secondaires

Figure 20: Abondance des métabolites secondaires dans les extraits aqueux bruts des feuilles et des fruits de dattier du désert (*B. aegyptiaca*).

Tableau 5-Résultats de criblage phytochimique d'extraits aqueux bruts des feuilles et des fruits de dattier du désert (*B. aegyptiaca*).

| Composé | Résultat obtenue | | Interprétation | |
|--------------------|----------------------------------|----------------------------------|--|--|
| | Extrait de feuilles | Extrait d'amande de fruit | Extrait de feuilles | Extrait d'amande de fruit |
| Anthocyanes | Pas changement de couleur | Pas changement de couleur | Absence d'anthocyanes (-) | Absence d'anthocyanes (-) |
| Cyanidine | Rose orangé + surnageant | Rose orangé + surnageant | Présence « Flavones » + « Génine » (+) | Présence « Flavones » + « Génine » (+) |
| Tanins | Obtention de coloration verdâtre | Obtention de coloration verdâtre | Présence de tanins à moyenne concentration (++) | Présence de tanins à moyenne concentration (++) |
| Coumarines | Coloration jaune | Coloration jaune | Présence de coumarines à haute concentration (+++) | Présence de coumarines à haute concentration (+++) |

Chapitre III. - Résultats et discussions

| | | | | |
|--------------------------------|---|---|---|---|
| Composés réducteurs | Précipitation rouge brique | Pas changement sur mélange | Présence des composés réducteurs à moyenne concentration (++) | Absence de composé réducteurs (-) |
| Stérols et polyterpènes | Coloration violette à couche surnageant | Coloration violette à la surnageant | Présence de stérols et polyterpènes à haute concentration (+++) | Présence de stérols et polyterpènes à haute concentration (+++) |
| Alcaloïdes | Test de mayer: précipité brun | Test de mayer: précipité brun | Présence des alcaloïdes à haute concentration (+++) | Présence des alcaloïdes à haute concentration (+++) |
| | Test de wagner: précipité brun | Test de wagner: précipité brun | | |
| Saponines | Hauteur de mousse persistante 1.2 cm | Hauteur de mousse persistante 3cm | Présence de la saponine à faible concentration (+) | Présence de la saponine à haute concentration (+++) |
| Quinones libres | Pas changent | Pas changent | Absence de Quinones libres (-) | Absence de Quinones libres (-) |
| Huiles essentiels | Précipité blanc | Pas changent | Présence des Huiles essentiels à haute concentration (+++) | Absence des Huiles essentiels (-) |
| Glycosides cardiaques | Couche rougeâtre foncée de couleur brun à interface | Couche rougeâtre foncée de couleur brun à interface | Présence des glycosides cardiaques à moyenne concentration (++) | Présence des glycosides cardiaques à faible concentration (+) |
| Stéroïdes | Couche marron foncé | Couche marron foncé | Présence de stéroïdes à haute concentration (+++) | Présence de stéroïdes à haute concentration (+++) |

Selon CHAIBOU *et al.* (2020), les feuilles de *B. aegyptiac* renferment une quantité importante en flavonoïde, tanin, saponine et stéroïde-terpène et une absence des alcaloïdes (teste Mayer et Dragendorff) et des quinones.

Chapitre III. - Résultats et discussions

KOUBALA et al.(2013) montrent que l'extrait éthanolique des feuilles de *B. aegyptiaca* contient des saponines, flavonoïde et composé phénolique avec un taux élevé des alcaloïdes et un faible taux des terpènes est l'absence des tanins, des anthraquinones et des phlobatanine.

Pour l'extrait aqueux d'amande des fruits de *B. aegyptiaca*, ALHASSAN et al. (2018) ont notés que certaines substances phytochimiques révèlent des quantités élevées de saponines($427.90 \pm 10.17 \text{ mg} / 100 \text{ mg}$) , de flavonoïdes($388.33 \pm 2.08 \text{ mg} / 100 \text{ mg}$), de glycosides ($203.92 \pm 1.22 \text{ mg} / 100 \text{ mg}$), d'alcaloïdes ($68.67 \text{ mg} / 100 \text{ mg}$), des stéroïdes($32.4 \pm 0.10 \text{ mg} / 100 \text{ mg}$), de tanins($27.50 \pm 0.15 \text{ mg} / 100 \text{ mg}$),des quantités faible des phytostérols, des huiles volatiles et l'absence des anthraquinones et des composés phénoliques.

L'analyse phytochimique de l'extrait de méthanol du fruit de *B. aegyptiaca* a révélé la présence de terpénoïdes de saponine, de composés phénoliques et d'alkaloïdes, avec des quantités considérables des phénols totaux et de flavonoïdes totaux, ainsi les principales classes de composés antimicrobiens provenant des plantes sont les lectines, les alcaloïdes, les phénols; les poly- peptides et les poly-acétylènes (ABDALLAH, 2012).

D'après SEREME et al. (2008). Le rapport de tanins chez *B. aegyptiaca* et diffèrent selon les parties de l'arbre, il est de 0.3% dans la fleur, 1.5% dans la feuille, 11% dans l'écorce, 2.9% dans les fruits immatures et de 2.5% dans les fruits matures.

DAYA et al. (2010) note que les feuilles de *B. aegyptiaca* contiennent du saponine, furanocoumarin, et flavonoides appeler quercetin 3-glucoside, quercetin-3-rutinoside; 3-glucoside, 3-rutinoside, 3-7-diglucoside et 3-rhamnogalactoside de isorhamnetin. L'amande des fruits contient xylopyranosyl dérivé de saponine de la partie supérieure de mésocarpe.

III.3. Toxicité des extraits aqueux des feuilles et des amandes des fruits sur les moustiques *Culex pipiens*

Selon l'étude de CHAPAGAIN et WISMAN (2005) sur le pourcentage de la mortalité des larves de *Culex pipiens*, en fonction de l'extraits des feuilles et des amandes des fruits de *B. aegyptiaca*, avec une dilution de 0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,5 ; 1,0 et 2.0% d'extrait aqueux, après 1, 2 et 3 jours de traitement montre un effet toxique de cette plante sur les *Culex pipiens* traités.

Chapitre III. - Résultats et discussions

Selon les résultats le nombre des individus morts augmentent avec le temps et la concentration, le taux de la mortalité le plus élevé est enregistré à la dose la plus élevée de l'extrait aqueux.

La concentration la plus élevée (2.0 %) d'extrait aqueux d'amande de fruits de *B. aegyptiaca* tue 38 % d'individus de larves de *Cx. pipiens* le premier jour, le deuxième jour 73% des larves sont tuées et 95 % après le troisième jour.

Ainsi l'extrait aqueux des feuilles de *B. aegyptiaca* tue 20% des larves de *Cx. pipiens* le premier jour, 75% de larves le deuxième jour et 92% de larves le troisième jour. Il est noté que les doses utilisées pour cette étude n'ont pas tué 100 % des larves de *Cx. pipiens*.

Le travail de KOUBALA et al. (2013) qui ont étudié l'effet toxique d'extrait éthanolique des feuilles de *B. aegyptiaca* sur l'adulte de *Colletes maculatus*, montre que le taux de mortalité augmente avec le temps, il atteint 98% après le 4^{ème} jour d'exposition.

Une autre étude menée par ABDALLA (2011) montre que l'extrait acétonique des feuilles de *B. aegyptiaca* à une concentration de 602mg/l peut tuer 50% des larves de *Culex quinquefasciatus* et l'extrait éthanolique des feuilles de la même plante à une dose de 1380,38mg/l peut tuer 50% des mêmes larves.

Par ailleurs SHUKLA et SHARM en 2011 ont trouvé que l'extrait méthanolique des feuilles de *B. aegyptiaca* a un effet toxique sur *Tribolium castaneum* après 24h d'exposition avec une concentration de (175000mg/l).

III.4.- Effets des extraits aqueux des feuilles et des amandes des fruits sur l'activité d'enzyme cholinestérase chez les moustiques *Culex pipiens*

Le rôle de l'acétylcholinestérase est d'hydrolyser l'acétylcholine ce qui permet la fermeture des canaux associés au récepteur du neurotransmetteur. Si l'action de cette enzyme est bloquée, la membrane post synaptique se trouve continuellement excitée. Les inhibiteurs de cholinestérase agissent en inhibant l'activité catalytique de l'acétylcholinestérase. Ils se fixent en effet sur le site actif de l'enzyme, à la place de l'acétylcholine. L'accumulation de l'acétylcholine dans la région synaptique provoque une hyperexcitation des liaisons cholinergiques causant finalement la mort de l'insecte (HAUBRUGE et AMICHOT, 1998).

Cependant au niveau des insectes, plusieurs mutations de l'acétylcholinestérase ont été identifiées autour du site d'action des insecticides. Chez les moustiques, *Culex pipiens* ont

Chapitre III. - Résultats et discussions

développé une résistance à ces toxiques qui implique de supprimer ou de diminuer l'inhibition de l'acétylcholinestérase des synapses. Trois locus sont responsables des résistances majeures, Est-2, Est-3 et Ece-1, ces gènes codent pour des estérases qui piègent ou métabolisent les insecticides avant qu'ils puissent inhiber l'acétylcholinestérase des synapses (WEIL *et al.*, 2003) ; (BANGO, 2012).

Un nombre considérable de produits naturels et de plantes médicinales contiennent certains ingrédients phytochimiques actifs tels que les phénols, les flavonoïdes, les coumarines, les curcuminoïdes ou les terpènes qui induisent différentes activités biologiques chez les animaux, y compris les antioxydants, anti-inflammatoires et anti-cholinestérase (MEDA *et al.*, 2010) ; (ABDALLAH, 2012).

Des travaux antérieurs ont montré que les polyphénols comme les alcaloïdes, les terpénoïdes, les glucosides et les coumarines sont les principales familles de composés reconnues étant des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (BANGO, 2012).

BAKASSO (2009) a également montré que les bons inhibiteurs de l'acétylcholinestérase sont recherchés du côté des composés phénoliques. En effet il a évalué les corrélations entre l'activité de l'acétylcholinestérase et les teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes et les flavonols totaux et a trouvé respectivement : $R^2 = 0,51$; $R^2 = 0,06$ et $R^2 = 0,05$. De même TALLINI *et al.* (2018) ont trouvés des inhibitions intéressantes entre les alcaloïdes.

L'effet de différents extraits des feuilles de *B. aegyptiaca* sur l'activité d'enzyme cholinestérase est étudié *in vitro* par MEDA *et al.* (2010), l'extrait aqueux d'acétone retenu après une macération est soumis à une extraction liquide-liquide par différents solvants organiques : n-héxane, dichlorométhane, éthyl-acétate et n-butanol. Pour l'étude d'activité inhibitrice 100µl d'extrait aqueux ou de chaque fractions retenues après l'extraction liquide-liquide est incubé avec 100µl ($0,22U/ ml^{-1}$) d'enzyme cholinestérase pendant deux minutes, après ils ont mesurer le taux d'inhibition, les résultats obtenus sont comparés avec un témoin positif Galanthamine (20µg/ml) et montrent que l'extrait aqueux d'acétone et la fraction obtenue par n-hexane ne présentent aucune activité inhibitrice de cholinestérase, ainsi les autres fractions présentent une activité inhibitrice mais inférieure à celle de témoin positif Galanthamine selon le tableau suivant :

Chapitre III. - Résultats et discussions

Tableau 6: Activités inhibitrices de l'AChE de l'extrait des feuilles de *B. aegyptiaca*

| Echantillon | Activité inhibitrice d'Acétylcholinestérase (%) |
|-----------------------------|---|
| Fraction de n-hexane | Pas d'activité |
| Fraction de Dichloromethane | 3.83±0.89 |
| Fraction d'Ethylacetate | 21.07±0.66 |
| Fraction de n-butanol | 11.49±1.15 |
| Extrait aqueux d'acétone | Pas d'activité |
| Gаланthamine (20µg/ml) | 50.00±1.21 |

A la lumière de cette étude nous avons constaté que les extraits aqueux acétoniques n'ont pas un effet inhibitrice sur l'enzyme cholinestérase et que leurs fractions alcooliques (n-butanol) exercent une inhibition faible, qui semble être due à la faible teneur d'un métabolite secondaire inhibiteur de cholinestérase, ce qui nous à orienter à l'efficacité de notre extrait aqueux alcoolique.

Selon KHAN *et al.* (2018) plusieurs flavonoïdes sont isolés des plantes et certains montrent une activité inhibitrice de cholinestérase, parmi ces flavonides ils ont cité : Flavone-1, Macluraxanthone, Rutin et Quercetin. Ainsi ils ont notés deux mécanismes d'action d'inhibition, la première repose sur la création d'un effet antagoniste sur l'enzyme cholinestérase dû à l'augmentation de taux d'acétylcholine dans les synapses cholinergiques. La deuxième repose sur une inhibition compétitive sur le site actif d'enzyme.

DAYA *et al.*, (2010) à tester un extrait de saponine et un extrait d'eau de l'amande des fruits de *B. aegyptiaca* sur le deuxième L₂ et le quatrième L₄ stade larvaire des moustiques *Anopheles arabiensis*, *Culex quinquefasciatus* et *Aedes aegypti*, les résultats montrent que les extraits testés présentent un effet insecticide sur ces moustiques et que les larves L₂ sont plus sensibles que les larves L₄. Ainsi ils sont notés que l'extrait de saponine est plus efficace que l'extrait d'eau. L'extrait de saponine de mesocarpe des fruits de *B. aegyptiaca* est testé sur *Cx. pipiens* et *Aedes aegypti* les résultats montrent un effet larvicide sur ces moustiques.

Conclusion

Les Culicidae constituent les insectes piqueurs les plus nuisibles aux populations. Certaines espèces peuvent transmettre des agents pathogènes responsables des maladies infectieuses. La résistance de ces insectes aux insecticides chimiques utilisés et la bioaccumulation des composés chimiques toxiques dans l'environnement ; a incité les chercheurs à trouver de nouvelles méthodes alternatives biologiques, sélectives et surtout biodégradables. Plusieurs méthodes de contrôle sont élaborées notamment celles relatives à l'utilisation des extraits de plantes comme insecticides.

Dans notre présente étude toxicologique, nous avons appliqué un des extraits aqueux bruts des feuilles et des amandes des fruits de *B. aegyptiaca* sur les moustiques de *Culex pipiens* et évalué l'effet de ces extraits sur la mortalité et l'activité d'enzyme cholinestérase.

Les résultats obtenus révèlent, un rendement appréciable des extraits aqueux, plus élevé pour l'extrait d'amande ($12.60 \pm 0.10\%$) par rapport à l'extrait des feuilles ($8.47 \pm 0.00\%$). Les résultats du criblage phyto-chimique montrent la richesse des amandes des fruits et des feuilles de *B. aegyptiaca* en métabolites secondaires : coumarines, stérols, polyterpènes, alcaloïdes et stéroïdes. Les amandes des fruits sont constituées d'un taux plus élevé de saponine par rapports aux feuilles. Cependant les composés réducteurs et les huiles essentielles sont présents chez les feuilles seulement.

Selon la recherche la plus proche à notre travail, l'étude de la toxicité des amandes des fruits de *B. aegyptiaca* vis à vis des larves de *Culex pipiens* par une séries de dilution d'extraits aqueux, montre un maximum de mortalité après le troisième jours de traitement chez les larves traités avec la dose la plus forte (2%) avec une mortalité de 95% chez les individus traités par l'extrait aqueux d'amande et 92% de mortalité chez les individus traités par l'extrait de feuilles.

Selon les recherches l'extrait aqueux de plusieurs solvants organiques des feuilles et d'amande des fruits de *B. aegyptiaca* provoque une inhibition de cholinestérase, il paraît que plusieurs métabolites secondaires dont les saponines, flavonoïdes et alcaloïdes exercent un effet soit antagoniste ou inhibiteur de cholinestérase chez les insectes.

Enfin, les substances actives présentes dans les feuilles et les amandes des fruits de datte du désert *B. aegyptiaca* ont un effet insecticide sur la *Culex pipiens* et un effet inhibiteur sur l'activité d'enzyme acétylcholinestérase.

Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour l'application des extraits aqueux de *B. aegyptiaca* contenant des molécules bioactives, pour développer la production des biocides. Il serait intéressant de compléter cette recherche, par :

-Evaluer la toxicité de cette plante sur les moustiques in vitro et in vivo et étudier l'effet des extraits sur l'activité d'enzyme cholinestérase et d'autres enzymes responsables de la résistance aux composés exogènes toxiques chez l'insecte dont la Gluthation- S-transférase et les oxydases.

-Etudier l'effet de ces extraits sur le taux des sucres, protéines et lipides chez les moustiques à fin de savoir les conséquences de cette toxicité.

-Identifier exactement quelles sont les métabolites secondaires de *B. aegyptiaca* qui possèdent un effet toxique sur les insectes nuisibles et aussi leur effet sur l'activité d'enzyme cholinestérase.

-Selon la bibliographie et étant donné que toutes les parties de la plante sont bioactives il est souhaitable de chercher l'effet toxique pour d'autres parties du dattier du désert sur les moustiques.

-Etudier l'effet des extraits sur d'autres stades larvaires et d'autres espèces de moustiques.

-Tester leur efficacité en plein champ.

-Etudier l'effet de ces extraits sur les plantes afin de rechercher leur phytotoxicité.

*Références
bibliographiques*

Références Bibliographiques

ABDALLA, O. M., (2011)-Acute toxicity of some parts of *Balanitis aegyptiaca* (L.) Against the larvae of *Culex quinquefasciatus*. A dissertation submitted in Partial fulfillment of M.Sc. degree in Medical Entomology and Vector Control. University of Khartoum.71p.

ABDALLAH, E. M., HSOUNA, A. B., and AL-KHALIFA, K. S., (2012)-Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigation of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. edible fruit from Sudan. *African Journal of Biotechnology*, 11(52), 11535-11542.

AISSAOUI, L., and BOUDJELIDA, H., (2014)-Larvicidal activity and influence of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac G), on longevity and fecundity of mosquito species. *European Journal of Experimental Biology*.4 (1), 104-109.

AISSOUS, A., et BECHARA, R., (2016)-Caractérisation chimique et activités biologiques d'extrait brut hydroalcoolique des graines de *Lepidium sativum*. *Mémoire de Master. Université de Constantine*.

ALAYAT, M. S., (2012)-Bio-écologie, position taxonomique et compétence vectorielle du complexe *Culex pipiens* (Diptera; Culicidae) responsable de la transmission du virus West Nile et du virus de la fièvre de la vallée du Rift en Algérie. *Mémoire de Magistère en Biologie environnementale, option de Biologie et écologie animale. Université Annaba*. 67p.

ALHASSAN, A. J., MUHAMMAD, I. U., IDI, A., DANAGMBO, M. A., RAMATU, Y., MOHAMMAD, A., NASIR, A., YARADUA, A.I., ADAMU, S.M., and ALEXANDER, I., (2018)-Phytochemical Screening and Proximate Analysis of *Balanites aegyptiaca* Kernel. *Food Science and Quality Management*, 74, 37-41.

AL-THOBAITI, S. A., and ABU ZEID, I. M.,(2018)-Phytochemistry and pharmaceutical evaluation of *Balanites aegyptiaca*: An Overview. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 6(3), 453-465.

AL-THOBAITI, S., and ZEID, A., (2018)-Medicinal properties of desert date plants (*Balanites aegyptiaca*): an overview. *Global Jour Pharm*, 12(1), 01-12.

AMRAOUI, F., (2012)-Le moustique *Culex pipiens*, vecteur potentiel des virus West Nile et fièvre de la vallée du Rift dans la région du Maghreb. *Thèse de doctorat, Université Mohammed V-Agdal, Rabat*, 105p.

ANSARI, M. M., AHMAD, J., ALI, M., and ANSARI, S. H.,(2006)-10-Methyl-n-heptacosane and diglucosyldirhamnoside from the stem bark of *Balanites aegyptiaca* Delile. *Indian Journal of Chemistry*.45 (09), 2154-215.

AOUINTY, B., OUFARA, S., MELLOUKI, F., et MAHARI, S., (2006)-Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés: *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnologie. Agron. Soc. Environ.*, 10 (2), 67-71.

Références Bibliographiques

BADIOU, A., (2007)-Caractérisation cinétique et moléculaire du biomarqueur acétylcholinestérase chez l'abeille, *Apis mellifera*.Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, France. 136p.

BAKASSO, S., (2009)-Etudes phytochimiques et potentialités biologiques de cinq espèces d'*indigofera* (Fabaceae) utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso. *Thèse unique de doctorat*. Université d'Ouagadougou.135p.

BANGO, J.M., (2012)-Etude phytochimique et activités biologiques des tiges feuilles de *camara* L.et de *Lippa chevalieri*Moldenke : deux verbénacées du Burkina Faso. *Thèse unique de doctorat*. Université d'Ouagadougou.199p.

BEGHDAD, N., etBEGHDAD, L., (2018)-Extraction de la curcumine du Curcuma, étude de ses propriétés par DFT et évaluation de ses activités antibactérienne, antioxydante et anti inflammatoire, Mémoire de master, Université Djilali Bounaâma de Khemis. Miliana-Khemis Miliana, 80p.

BELAZIZIA, S., BETTICHE, H., et BOUCHEMMA, A., (2019)-Extraction et caractérisation de la substance active de curcumine. Mémoire de master, Université Larbi Ben M'Hidi, Oum El Bouaghi, 57p.

BEN AMOR, B., (2008)-Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs: texturation par détente instantanée contrôlée (DIC).Thèse doctorat, Université de La Rochelle, France, 187p.

BEN MALEK, L., (2010)-Etude bioécologique des Culicidae des zones urbaines et rurales de l'extrême nord-est algérien. Lutte bactériologique par le *Bacillus thuringiensis israelensis* sérotype h14 à l'égard des adultes femelles et des larves néonates d'*Anopheles maculipennis labranchiae*. Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie.130p.

BEN OUJJI, N., (2012)-Développement de biocapteurs enzymatiques associés à des polymères à empreinte moléculaire (MIPs) pour la détection sélective et sensible des organophosphorés utilisés en oléiculture. Université Ibn Zohr Faculté des Sciences Agadir/ Université Via Domitia Perpignan, Maroc/France, 162p.

BEN SEBGAG, M., (2013)-Etude hydrogéologique de la nappe inferofluxde OuaTinzaouatine. Mémoire de master. Université de KASDI MERBAH-Ouargla.60p

BEN SEMAOUNE, Y., SENOUSI, A.,et FAYE, B., (2019)-Typologie structurale des élevages camelins au Sahara septentrional Algérien-cas de la willaya de Ghardaïa. Livestock Reserche Rural development.31(2), 19p.

BENDIF, H., (2017)-Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae. *Ajuga iva*. Thèse de doctorat, L'école normale supérieure de koubba-Alger.149p.

Références Bibliographiques

- BENZIAN, A. D.**, (2014)-Effet d'un régime enrichi en chlorpyrifos chez le rat Wistar : étude de l'activité enzymatique des cholinestérases comme indicateur biologique, Mémoire de master. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Tlemcen, 51p.
- BERCHI, S.**, (2000)-Bioécologie de *Culex pipiens* L.(Diptera: Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de lutte. *Université de Constantine (Algérie)*, 133.
- BERREGHIOUA, A.**, (2016)-Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux brassicaceae médicinales du sud algérien: *Moricandia arvensis* et *Zilla macroptera*. *Thèse de doctorat*. Université Abou Bakr Belkadi- Tlemcen.
- BERTRAND, C., COUSIN, X., HAUBRUGE, E., TOUTANT, J. P., et CHATONNET, A.**, (1998)-L'acétylcholinestérase des poissons, cible des organophosphorés et des carbamates. Caractérisation du gène et des formes moléculaires de l'enzyme chez *Danio rerio*. Effets des anticholinestérasiques. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, (350-351), 535-546.
- BEZZAOUI, O.**,(2013)-*Comparaison* de l'efficacité des extraits aqueux et des huiles essentielles de *derosmarinus officinalis* (la sauge) avec un insecticide chimique la cyperméthrine sur les larves de *culex pipiens* en conditions contrôlées, Mémoire de master. Université Saad Dehleb Blida,51p.
- BIHI, F., et HORO, F.**, (2018)-Etude phyto-chimique et activité biologique des extraits des fruits de «*Balanites aegyptiaca*».Mémoire de master. Université Tahri Mohamed. Béchar-Béchar.51p.
- BOCQUENE, G.**, (1996)-L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins (Doctoral dissertation, Paris, EPHE
- BOUKRI, N. H.**, (2014)-Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. *Thème Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouargla*, 99p.
- BOYER, S.**,(2006)-Résistance métabolique des larves de moustique aux insecticides: conséquences environnementales. *Thèse de doctorat. Université Joseph-fourir-Grenoble I.-France*.78p.
- BRADFORD, M.**,(1976)-A rapid and sensitive Method for the quantitation of Microgram quantities of protein-dye binding.*Analytical biochemistry* 72. 248-254.
- CAMARA, M.**,(2012)-Evaluation entomologique dans les sites sentinelles du programme national d'élimination de la filariose lymphatique avant et après le premier traitement de masse dans la région de Sikasso au mali, Docteur en Médecine (DIPLOME D'ETAT), Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie, Mali.70p.

Références Bibliographiques

CHAIBOU, M., BAMBA, A. N. M., MOUSSA, I., et ILAGOUMA, A.T., (2020)-Etude bibliographique et phytochimique de quelques plantes médicinales utilisées pour le traitement de certaines maladies par les tradipraticiens de la zone de l'Azawagh au Niger. *European scientific Journal*.16(6):126-151.

CHAPAGAIN, B., and WIESMAN, Z.,(2007)-Detrmination of saponins in the kernel of *Balanites aegyptiaca* by HPLC-ESI/MS. *Phytochemical Analysis*.18(4).354-362.

CHAPAGAIN, B. P.,(2006)-Characterization of desert date (*Balanitesaegyptiaca*) saponins and their biological activities. *Thèse de Doctorat, Université de Ben-Gurionde Néguev. Néguev*. 137p.

CHAPAGAIN, B. P.,et WIESMAN, Z., (2005)-Larvicidal effects of aqueous extracts of *Balanites aegyptiaca* (desert date) against the larvae of *Culex pipiens* mosquitoes, *African Journal of Biotechnology*.4 (11): 1209-1213.

CHOTHANI, D.,and VAGHASIYA, H.,(2011)-A review on *Balanitesaegyptiaca*Del (desert date): phytochemical constituents, traditional uses, and pharmacological activity. *Pharmacognosy Reviews* 5(9), 55-62.

COLLETIER, J. P., (2006)-Etude des relations structure-dynamique-fonction au sein de l'acétylcholinestérase. *Thèse de Doctorat. Université Joseph-Fourier-Grenoble I*. 214 p.

DAIRA, N. E. H., MAAZI, M. C. et CHEFROUR, A., (2016). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* (Desf). Briq.) de l'Est Algérien. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85, 276-290.

DAYA, L., CHOTHANI, and VAGHASIYA, H.U.,(2011)-A review on *Balanites aegyptiaca* Del. (desert date): phytochemicalconstituents, traditional uses, and pharmacological activity. *Pharmacognosy Reviews*.5(9):55-62.

DIEDHIOU, D.,(2017), Fractionnement analytique de la graine de neem (*Azadirachtaindica A.Juss.*) et de la graine de dattier du désert (*Balanites aegyptiaca L.*) Valorisation des constituants de la graine de neem par bioraffinage *Thèse de Doctorat, INP, Toulouse*.292p.

EL-AKHAL, F., EL-OUALI LALAMI, A., EZZOUBI, Y., GRECHE, H., and GUEMMOUH, R.,(2014) composition chimique et activité larvicide de l'huile essentielle de *Origanun Majorana (Lamiaceae)* cultivé au Maroc contre *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae).*Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4(9) :746-750.

ELLMAN, G. L., COURTNEY, K. D., ANDRES JR, V., and FEATHERSTONE, R. M.,(1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.

ELAMAIN, M. M., and SATTI, A.A., (2013). Insecticidal potentialities of *Balanitesaegyptiaca* extracts against the khapra beetle (*Trogodermagranarium*).*Global Advanced Research journal of Environmental Science and Toxicology*.2 (1).5-10.

Références Bibliographiques

EN-BO, M., YAN-PING, H., et ZHU, K. Y., (2004). Comparative studies of acetylcholinesterases purified from two field populations of oriental migratory locust (*Locustamigratoriamanilensis*): implications of insecticide resistance. *Journal of pesticide biochemistry and physiology*, 78:67-77.

ENNAJAR, M., BOUAJILA, J., LEBRIHI, A., MATHIEU, F., MKADDEM, M., and ROMDHN, M.,(2009)- Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Mentha* (*longifolia* L. and *viridis*). *Essential Oils. Journal of food Science*. 74(7) :358-363.

FAILLOUX, A.B., et MOUTAILLER S., (2015). Aspects zoonotiques des infections à transmission vectorielle. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 34 (1), 165-174.

FARID, H., HASLINGER, E., and KUNERT, O., (2002)-New Glycosydes from *Balanites aegyptiaca*. *Helvetica Chimica Acta* 85:1019-1026.

FONTENILLE, D., LAGNEAU, C., LECOLLINET, S., LEFAIT-ROBIN, R., SETBON M., TIREL B., et YEBAKIMA, A., (2009)-La lutte antivectorielle en France, France. IRD éditions. 230p.

GAIDI, I., et GOUCEM, C., (2017)-Étude de l'activité larvicide des huiles essentielles de *Rutagraveolens* à l'égard d'une espèce de moustique *Culex pipiens*. Mémoire de master. Université de Larbi Tébessi –Tébessa, 50p.

GAUTIER, D., HAUTDIDIER, B., NTOUPKA, M., ONANA, J., PERROT, N., et TAPSOU, T., (2002)-Fiches techniques des arbres utiles aux paysans du Nord Cameroun. Caractéristiques de l'arbre, ce qu'en font les paysans et ce qu'ils pourraient en faire. Denis Gautier, Baptiste Hautdidier, Mama Ntoupka, Joseph Onana, Nathalie Perrot, Tapsou. Cameroun. 107p

GHONEIM, K., (2015)-Disturbed acetylcholinesterase activity in haemolymph and fat bodies of *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orthoptera: Acrididae) by extracts of pomegranate *Punicagranatum* Linn. and toothpick weed *Ammiviviparum* L. *Review of Knowledge Economy*, 2(1), 39-53.

GOVINDARAJAN, M., (2010)-Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausenaanisata* (Willd.) Hook. f. ex (Rutaceae) against three mosquito species. *Asian Pacific Journal of tropical medicine*. 3(11).874-877.

GUINARD, C.,(2005) -L'histoire de la médecine vétérinaire : apport des sources écrites (Moyen Âge et Époque Moderne) et réflexions sur l'intérêt et les limites de l'archéozoologie pour l'étude de la paléo pathologie animale In : Les animaux malades : En Europe occidentale (vie-xive siècle) [en ligne]. Toulouse: Presses universitaires du Midi, (généré le 21 août 2020). Disponible sur Internet : <http://books.openedition.org/pumi/8518>.

GUNNVOR, B., DRISSA, D., et BRITT, H., (2005)-Les plantes sauvages du Sahel malien: les stratégies d'adaptation à la sécheresse des Sahéliens, Karthala Editions, 330 p.

Références Bibliographiques

- HADJADJ, S., et OULD, E.,** (2017)- Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien. *Thèse de doctorat. Université KASDI MERBAH Ouargla-Algérie.*99p
- HAMID OUDJANA, A.,** (2017)-Cholinestérasés et toxicité d'extraits de quelques plantes acridicides ou acridifuges chez *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). *Thèse de doctorat, Université KasdiMerbah, Ouargla,* 91p.
- HAMON, J., et MOUCHET, J.,**(1967)-La résistance aux insecticides chez *Culex pipiens fatigans* Wideman. *Bulletin of the world health organization* 37(2).277-286.
- HAUBRAGE, E., et AMICHOT, M.,** (1998)-Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acriens. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 2(3).161-174.
- HERZI, N.,** (2013)-Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles, *Thèse doctorat, l'Université de Toulouse, France,* 184p.
- HILAN, C., BOUAOUN, D., AOUN, J., SFEIR, R., et GARABETH, FJ P.,**(2009)- Propriétés antimicrobiennes et toxicité par détermination de la DL 50 de l'huile essentielle de *Prangos asperula* Boissier. *Phytothérapie,* 7(1), 8-14.
- JANG, Y.S., BAEK. BR., YANG, YC., KIM, M.K., et LEE, H.S.,** (2002)- Larvicidal activity of leguminous seeds and grains against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* .18:210-213.
- KEMASSI, A., BOUAL, Z., LEBBOUZ, I., DADDI BOUHOUN, M., SAKER, M., OULD ELHADJ, K., et OULD ELHADJ, M D.,** (2012)- Etude de l'activité biologique des extraits foliaires de *Cleome arabica* L. (Capparidaceae). *Lebanese Science Journal.*13 (2) 81-97.
- KEMASSI, A., BOUKHARI, K., CHERIF, R., GHADA, K., BENDAKEN, N., BOUZIANE, N., BOUAL, Z., BOURAS, N., OULD ELHADJ-KHELIL, A., et OULD ELHADJ, M.D.,** (2015)-Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait aqueux d'*Euphorbia guyoniana* (Boiss. & Reut.) (Euphorbiaceae). *ElWahat pour les recherches et les études.*8(1) :44-61.
- KERHARO, J., et ADAM, J. G.,** (1964). Plantes médicinales et toxiques des Peul et des Toucouleur du Sénégal. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée,* 11(10), 384-444.
- KHAN, H., MARYA, SURIYA, A., KAMAL, A.M., and SEEMA, P.,** (2018)-Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: Current therapeutic stading and futur projects. *Biomedicine et pharmacotherapy.*101: 860-870.
- KONE, J P.,** (2017)-Etude de 5 plantes utilisées par les tradipracienes sante bwa de la communie du district de Bamako pour le traitement traditionnel de diabète. *Thèse de doctorat. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako. Mali.*113p.

Références Bibliographiques

- KOSONE, T., TAKAGI, H., HORIGUCHI, N., KAKIZAKI, S., and SATO, K.,**(2008)-Transforming growth factor- α accelerates hepatocyte repopulation after hepatocyte transplantation. *J. Gastro. Enterol. Hepatol.*, 23, 260-266.
- KOUBALA, B. B., TAKOUDJOU MIAFO, A., et BOUBA, D.,** (2013)-Evaluation of Insecticide Properties of Ethanolic Extract from *Balanites aegyptiaca*, *Melia azedarach* and *Ocimumgratis simum* leaves on *Callosobruchus maculatus* (Coleptera: Bruchidae). *Asian Journal of Agricultural Sciences* 5(5): 93-101.
- KRIDA, G., RHAJEM, A., JARRAYA, A., et BOUATTOUR, A.,** (1998)-Morphologie comparée des quatre stades larvaires de *Culex pipiens* Linné récolté en Tunisie (Diptera, Culicidae). *Bulletin de société entomologique de France*. 103 (1).5-10.
- LACEY, L.A., and Orr, B.K.,** (1994)-The role of biological of mosquitoes in integrated vector control. *Americane journal of tropical medicine and hygiene*. 50(6).7-115.
- LAIGNEAU, J.,**(2000)-Mort annoncée du pire des tests spontanées, cultivées et utilisées dans la Nord Afrique. Collection du centenaire d'Algerie-Alger.
- LAOUAR, F., et LATLA, F.,** (2019)- Effets biologiques de quelques plantes spontanées du Sahara septentrional Est algérien sur la cochenille blanche Parlatoriablanchar di Targ. dupalmier dattier dans la wilaya de Ghardaïa, *Mémoire master, Université Ghardaïa, Ghardaïa, 94p.*
- LEHOUT, R., et LAIB, M.,** (2015)-Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso, *Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, Alger* 52p.
- MEDA, N.T.R., MEDA, L. A., KIENDREBEOGO, M., LAMIEN, C.E, COULIBALY, A. Y., MILLOGO-RASOLODIMBY, J., et NACOULMA, O. G.,** (2010)-In vitro Antioxydant, Xanthine Oxidase and Acetylcholinesterase inhibitory activities of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. (Balanitaceae). *Pakistan Journal of Biological Sciences* .13(8): 362-368.
- MERABTI, B., LEBOUZ, I., ADAMOU, A., et OUAKID, M. L.,** (2015). Effet toxique de l'extrait aqueux des fruits de *citrullus colocynthis* (L.) schrad sur les larves des *Culicidae*. *Revue des BioRessources*.5 (2).120- 130.
- MESSAI, N., BERCHI, S., BOULKNAFD, F., et LOUADI, K.,** (2010)-Inventaire systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera: Nematocera) dans la région de Mila (Algérie). *Entomologie faunistique– Faunistic Entomology*. 63(3), 203-206.
- MOHAMED ELMUSTAFA FREGON, S.,** (2005)-Physicochemical Properties of *Balanitesaegyptiaca* (Laloub) Seed Oil, A thesis Submitted in Partial Fulfillment for the Requirements of the Degree of Master of Science in Food Science and Technology .*Sudan University of Science and Technology College of Graduate Studies*.55p.

Références Bibliographiques

MOHAMED, A.A., (2011)-Etude du mode d'action neurotoxique d'un répulsif, le deet utilise seul et en association avec un insecticide sur l'acetylcholinesterase des dum neurones d'un insecte la blatte *periplaneta americana*. *Thèse de doctorat. Ecole doctorale venam*.160p.

MOHAMED, A.M., WOLF, W.,andSPIEB, W.E.L.,(2002)-Physical, morphological and
MOUCHET, J., (1994)-Le DDT en santé publique, *cahier santé 4*, 257-262.

OUIS, M., (2008)-Polymorphisme protéique chez *Atriplex halimus* L. sous régime saline et de déficit hydrique. *Mémoire de magéster. Université d'Oran ES SENIA –Oran*.85p.

PELAH,D., ABRAMOVICH, Z., MARKUS, A., et WIESMAN, Z.,(2002)-The use of commercial saponin from Quillajasaponaria barks as a larvicidal agent against *Aedesaegypti* and *Culexpiapiens*. *J. Ethnopharm.81*:407-409.

PRAVEENA, A., et SANJAYAN, K.P., (2011)-Inhibition of acetylcholinesterase in three insects of economic importance by linalool, a monoterpene phytochemical. *Insect Pest, Management, A. CurrentScenario*: 340-345.

RAMADE, F., (2007)- Introduction à l'écotoxicologie, Ed. Lavoisier, Ile de France, 618 p.

RESSEGUIER, P.,(2011)-Contribution a l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens pipiens*. *Thèse d'exercice, école nationale de Toulouse-ENTV*,80p.

SAGNA, M. B., NIANG, K. S., GUISSSE, A., et GOFFNE, D., (2014)-*Balanites aegyptiaca* (L.) Delile: geographical distribution and ethnobotanical knowledge by local populations in the Ferlo (north Senegal) *Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 18*(4), 503-511.

SAMI, A J., BILAL, S., KHALID, M., NAZIR, M T., et SHAKOORI, A. R., (2018)-A Comparative Study of Inhibitory Properties of Saponins (derived from *Azadirachtaindica*) for Acetylcholinesterase of *Tribolium castaneum* and *Apis mellifera*. *Pakistan Journal of Zoology*, 50(2), 725-733.

SANDS, M. J. S., (2001)-The desert date and its relatives: A revision of thegenus*Balanites*. *Kew Bulletin* 56 (1):1-128.

SANSON, B., (2009)- La dynamique structurale de l'acetylcholinestérase: étude réalisée par cristallographie aux rayons X et une méthode spectroscopique complémentaire.*Sciences du Vivant [q-bio], Thèse doctourat, Université Joseph-Fourier - Grenoble I, Français*.209p.

SCHAFFNER, F., FONSECA, D. M., KEYGHOBADI, N., MALCOLM, C. A., MEHMET,C., MOGI, M., and WILKERSON, R.C., (2004)- Emerging vectors in the *Culexpiapiens*complex. *Science, Sciencemag.org*, 303(5663), 1535-1538.

SEREME, A., MILLOGO-RASOLODIMBY, J., GUINKO, S., et NACRO, M., (2008)- Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du BURKINA FASO. *Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines*; 15 : 41 – 49.

Références Bibliographiques

SHUKLA, P., and SHARMA, S., (2011)-Effect of *Balanites aegyptiaca* on Bran Bugs.In:*Proceedings of 2011 International Conference on Biotechnology and Environment Management (ICBEM)*.18, 98-101.

SINGH, K. D., LABALA, R. K., DEVI, T. B., SINGH, N. I., CHANU, H. D., SOUGRAKAM, S.,NAMEIRAKPAM, B. S., SAHOO, D. AND RAJASHEKAR, Y. (2017)- Biochemical efficacy, molecular docking and inhibitory effect of 2, 3-dimethylmaleic anhydride on insect acetylcholinesterase. *Scientific reports*, 7(1), 1-11.

SPERONI, E., CERVELLATI, R.,INNOCENTI, G., COSTA, S., GUERRA, M., and DALL, S., (2005)-Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of *Balanitesaegyptiaca* (L.) Delile.*Journal of Ethnopharmacology* 98.117-125.

SUSSMAN, J. L., HAREL, M., FROLOW, F., OEFNER, C., GOLDMAN, A., TOKER L., et SILMAN, I.,(1991)-Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science* (253) 872-879.

TALLINI, L.R., BASTIDA, J., CORTES, N., OSORIO, E.H., THOLOZ, C., and HIRCHMAN, G., (2018)-Cholinesterase inhibition activity, Alkaloide profitling and molecular Docking of chilean*Rhodophiala (Amaryllidaceae)*.*Molecules* 23:3-27.

THAKUR, N. L., MANIKAR, S. P., PANDIT, R. A., et INDAP, M. M., (2004)-Mosquito larvicidal potential of some extracts obtained from the marine organisms- prawn and sea cucumber. *Indian Journal of Marine Science* 33: 303-306.

TINE-DJEBBAR, F., (2009)-Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halofenozide et méthoxyfenozide) à l'égard de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*: toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. *Thèse de doctorat, Université d'Annaba, Algérie*, 168 p.

TINE-DJEBBAR, F., LARHEM A. B., and SOLTANI N., (2011)-Enzyme immunoassay measurements of the molting hormone in different post-embryonic stages of two mosquito species, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *African Journal of Biotechnology* 10(67) ,15 :195-15199.

TORAL Y CARO, M., (2005)-Evaluation in vitro de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*. *Thèse de doctorat. Université Toulouse-Toulouse*.409p.

TOUGU, V., (2001)-Acetylcholinesterase: Mechanism of Catalysisand Inhibition*Curr. Med. Chem. – Central Nervous System Agents (1)* 155-170.

WANDHAMMER, M.,(2012)-Etude structurale de l'inhibition des cholinestérasés) par les neurotoxiques organophosphorés—Stratégie de réactivation, *Thèse de doctorat, Université de Strasbourg, France*, 246p.

WEIL, M., DURON, O., LABBE, P., BERTHOMIEU, A., and MICHEL, R., (2003)-La résistance du moustique *Culex pipiens* au insecticides, *Medsci (Paris)*, 19(12),1190-1192.

Références Bibliographiques

WIESMAN, Z., and CHAPAGAIN, B.P., (2006)-Larvicidal activity of saponin containing extractes and fractions of fruits mesocarp of *Balanitesaegyptiaca*. *Fitoterapia*.77(6).420-424.

ZERROUG, S.,(2018)-Etude biométrique et histologique sur des larves de *Culex pipiens* Linnée, 1758 (Diptera, Culicidae) Exposées aux extraits aqueux de plantes. *Thèse doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine – Constantine*,109p.

ZIDA, W.A., (2009)-Etude de la régénération de *Balanites aegyptiac*(L.)Del., *Sclerocarya birrea* (A.Rich.) Hochst., et de *Diospyros mespiliformis* Hochst. Ex A.Rich. dans la zone nord soudanienne du Burkina Faso. *Thèse de Doctorat, MSc, Université polytechnique de Bobo-Dioulasso. Burkina Faso*.77p.

Annexe

Annexe I

Préparation des échantillons

- Préparation d'échantillon de feuillet



1-Séchage



2-Broyage



3-Poudre des feuilles

- Préparation d'échantillon d'amande de fruit



1-Fruits de dattier de désert



2-Fruit de dattier de désert sans écorce



3-Séchage



4-Epluchage des fruits et récupération des noyaux



5-Ecrasement des
noyaux



6-Broyage



7- Poudre d'amande du
fruit

Annexe II

Composition et preparation du réactif de Bradford

-Bleu brillant de Coomassie (BBC) G250 (Merck1544)100 mg.

-Ethanol (Sigma-Aldrich) à 95%50 mL.

Après agitation pendant 2heures à l'abri de la lumière on ajoute:

-Acide orthophosphorique (Sigma-Aldrich) à 85%100 mL.

-Eau distillée q.s.p.....1000 mL.

Cholinestérase et toxicité des extraits aqueux bruts de dattier du désert (*Balanites aegyptiaca*) sur les moustiques de la wilaya de Ghardaïa

Résumé

Notre étude vise à étudier l'effet toxique du dattier du désert (*Balanites aegyptiaca*) récolté dans le sud du Sahara Algérien, sur les larves de moustique *Culex pipiens* de la wilaya de Ghardaïa. Pour ce fait, nous avons préparé des extraits aqueux bruts des feuilles et d'amande des fruits de *Balanites aegyptiaca* et chercher leurs compositions et leurs effets sur le taux de mortalité par rapport aux témoins et sur l'activité de cholinestérase. Les résultats de rendement d'extraction ont montré que le pourcentage des métabolites secondaires d'amande des fruits ($12.60 \pm 0.10\%$) est élevé par rapport aux feuilles ($8.47 \pm 00\%$). Les analyses phytochimiques ont permis de mettre en évidence la présence de plusieurs familles de métabolites secondaires, les feuilles et l'amande des fruits sont composés d'un taux élevé des coumarines, stérols, polyterpènes, alcaloïdes et stéroïdes, ainsi les saponines sont plus abondants dans l'amande des fruits par rapport aux feuilles, mais les huiles essentielles résident uniquement dans les feuilles. Selon les études antérieures, la mortalité augmente avec la dose et le temps et elle s'est avéré que l'extrait d'amande des fruits est plus toxique, 95% de mortalité que l'extrait des feuilles qui présente 92% de mortalité. Ainsi plusieurs études montrent que l'extrait aqueux de plusieurs solvants organiques des feuilles et des amandes des fruits de *B. aegyptiaca* provoque une inhibition d'activité de cholinestérase chez les larves de moustiques.

Mots clés: *Culex pipiens*, Dattier du désert (*Balanites aegyptiaca*), Extrait aqueux bruts, Criblage phytochimique, Toxicité, mortalité, cholinestérase.

Cholinesterase and toxicity of crude aqueous extracts of desert daste (*Balanites aegyptiaca*) on mosquitoes in the wilaya of Ghardaïa

Abstract

Our work aims to study the toxic effect of the desert date (*Balanites aegyptiaca*) collected in the southern Algerian Sahara, on the larvae of mosquito *Culex pipiens* from the wilaya of Ghardaïa. For this fact, We have prepared raw aqueous extracts of the leaves and kernels of the fruit of *Balanites aegyptiaca* and investigated their compositions and their effects on the mortality rate compared to the controls and on the cholinesterase activity. The extraction yield results showed that the percentage of kernels secondary metabolites of fruits ($12.60 \pm 0.10\%$) is high compared to leaves ($8.47 \pm 00\%$).

Phytochemical analyses revealed the presence of several families of secondary metabolites, the leaves and kernels of the fruit are composed of high levels of coumarin, sterol, polyterpenes, alkaloids and steroids, thus saponins are more abundant in the kernel of the fruits compared to the leaves, but the essential oils reside only in the leaves. According to previous studies, mortality increases with dose and time, and kernel of the fruits extract is found to be more toxic, with 95% mortality than leaf extract, which has 92% mortality. Thus several studies show that the aqueous extract of several organic solvents of leaves and kernels of fruits of *B. aegyptiaca* causes an inhibition of cholinesterase activity in mosquito larvae.

Key words: *Culex pipiens*, Desert Date (*Balanites aegyptiaca*), Crude aqueous extract, Phytochemical screening, Toxicity, Mortality, Cholinesterase.

الكولين استراز وسمية المستخلصات المائية الخام لتمر الصحراء (*Balanites aegyptiaca*) على البعوض في ولاية غرداية

الملخص

الذي تم جمعه في جنوب الصحراء الجزائرية على يرقات بعوض (*Balanites aegyptiaca*) تهدف دراستنا إلى دراسة التأثير السمي لتمر الصحراء والبحث عن (*Balanites aegyptiaca*) في ولاية غرداية. ولهذا السبب قمنا بإعداد المستخلصات المائية الخام للأوراق ولوز الفاكهة من *Culex pipiens* مكوناتها وتأثيراتها على نسب موت البعوض وعلى نشاط الكولين استراز إنزيم. أظهرت نتائج الاستخلاص أن نسبة المستقلبات الثانوية للوزة الثمار مرتفعة ($12.60 \pm 0.10\%$) مقارنة بالأوراق ($8.47 \pm 00\%$).

أظهرت التحليلات الكيميائية النباتية وجود عدة عائلات من المتقلبات الثانوية على مستوى الأوراق ونواة الثمار وينسب عالية الكومارين، السترات والبوليتربين والقلويدات، أما بالنسبة للصابونين هو أكثر وفرة في لوز الفاكهة مقارنة بالأوراق. لكن الزيوت الأساسية تتواجد فقط في الأوراق. وفقا للدراسات السابقة، يزداد معدل الوفيات بتزايد الجرعة والوقت وقد تبين أن مستخلص اللوز من الفاكهة أكثر سمية (95%) مقارنة بمستخلص الأوراق (92%).

وأبضا تظهر العديد من الدراسات أن المستخلص المائي للعديد من المذيبات العضوية من أوراق و لوز الفاكهة ل يسبب في تثبيط الكولين استراز ليرقات البعوض.

الكلمات المفتاحية: *Culex pipiens*، التمر الصحراوي (*Balanites aegyptiaca*)، المستخلص المائي الخام، الفحص الكيميائي النباتي، السمية، الوفيات، الكولين استراز.