

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 en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : science Biologique

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté Par :

ZIDANE Aïcha

ZITOUT Hafidha

Thème

**Effets biologiques des extraits aqueux de *Cleome arabica* récoltés dans la région du Ghardaïa sur
*Drosophila melanogaster***

Soutenu publiquement le : 28/ 05/ 2017

Devant le jury :

Mlle. BELABBASSI Ouarda	Maître Assistante B.	Univ. Ghardaïa	Président
Mme. HAMID OUDJANA Aïcha	Maître Assistante A.	Univ. Ghardaïa	Encadreur
Mme. MAIDI Leïla	Maître Assistante B.	Univ. Ghardaïa	Examineur
M. BELGHIT Saïd	Maître de Conférences B.	Univ. Ghardaïa	Examineur

Année universitaire 2016/2017

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Taux de Mortalité observée chez l'adulte de <i>Drosophila melanogaster</i> traité par l'extrait aqueux de <i>Cleome arabica</i> (contact).....	23
02	Mortalités observée et probits correspondants en fonction de la concentration de L'extrait appliqué (contact).....	24
03	Équation de régression, coefficient de régression et les valeurs de DL ₅₀ pour l'extrait aqueux de <i>Cleome arabica</i> (contact).....	25
04	Équation des droites de régression, coefficients de régressions et les valeurs de TL ₅₀ évaluées pour les 5 concentrations (contact).....	27
05	Taux de Mortalité observée chez l'adulte de <i>Drosophila melanogaster</i> traité par l'extrait aqueux de <i>Cleome arabica</i> (ingestion).....	28
06	Probit correspond en fonction de la concentration des extraits aqueux de <i>Cleome arabica</i> (ingestion).....	30
07	Equation de régression et de valeurs des DL ₅₀ (dose létal 50) pour l'extrait aqueux de <i>Cleome arabica</i> (ingestion)	30
08	Equation des droites de régression, coefficients de régressions et valeurs de LT ₅₀ évaluées pour l'extrait de <i>Cleome arabica</i> (ingestion).....	32

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Protocole expérimental de l'étude de la toxicité par contact	11
Figure 02	Protocole expérimental de l'étude par ingestion	12
Figure 03	Extraction et dosage des métabolites chez des individus de <i>Drosophila melangaster</i>	14
Figure 04	Protocole d'extraction par reflux de <i>C. arabica</i> L	17
Figure 05	Pourcentage de la mortalité observée chez les individus adultes de <i>Drosophila mélanogaster</i> témoins et traités par différentes concentration des extraits aqueux de <i>Cleome arabica</i>	22
Figure 06	Cinétique de la mortalité observée chez les individus adultes de <i>Drosophila melanogaster</i> traités par l'extrait aqueux de <i>Cleome arabica</i>	24
Figure 07	Courbe de probit en fonction de concentration (mg /ml) des extraits aqueux de <i>Cleome arabica</i>	25
Figure 08	(A, B, C, D, E)- Relation entre <i>Drosophila melangaster</i> et les différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Cleome arabica</i> en fonction du temps	26
Figure 09	Temps létal de 50% (LT ₅₀) des individus à différentes doses de l'extrait aqueux de <i>C. arabica</i>	27
Figure 10	Pourcentage de la mortalité observé chez le chez l'adulte de <i>Drosophila melangaster</i> témoins et traitées par différentes concentration des extraits aqueux de <i>Cleome arabica</i>	28
Figure 11	Cinétique de la mortalité observée chez les adultes de <i>Drosophila melangaster</i> traités par l'extrait aqueux de <i>Cleome arabica</i>	30
Figure 12	Courbe de probit en fonction de concentration (mg /ml) des extraits aqueux de <i>Cleome arabica</i>	31
Figure 13	(A, B, C, D, E)- Relation entre <i>Drosophila melanogaster</i> et la différente concentration de l'extrait aqueux de <i>Cleome arabica</i> en fonction de temps	32
Figure 14	Temps létale de 50% (LT ₅₀) des individus à différentes doses de l'extrait aqueux de <i>Cleome arabica</i>	33
Figure 15	Taux de sucre totaux chez les adultes de <i>Drosophila melanogaster</i> témoins et traités par différentes dose des extraits aqueux de <i>Cleome arabica</i>	34
Figure 16	Taux de glucose chez l'adulte de <i>Drosophila melangaster</i> témoins et traités par différentes concentration des extraits aqueux de <i>Cleome arabica</i>	35

Figure 17	Taux de protéines chez les individus adultes de <i>Drosophila melanogaster</i> témoins et traités par différentes concentration des extraits aqueux de <i>Cleome arabica</i>	36
Figure 18	Taux de cholestérol chez l'adulte de <i>Drosophila melanogaster</i> témoins et traités par différentes concentration de l'extrait aqueux de <i>Cleome arabica</i>	37

Liste des Photo

N°	Titre	Page
Photo 01	<i>Cleome arabica</i> , Aynealmilih, Région de Ghardaïa	04
Photo 02	<i>Drosophila melanogaster</i> adulte : femelle et mâle	08
Photo 03	Cycle de développement de <i>Drosophila melanogaster</i>	09
Photo 04	Elevage des drosophiles	10
Photo 05	Poudre du <i>Cleome arabica</i>	15
Photo 06	Dispositif d'extraction des principes actifs par reflux	16
Photo 07	Elimination de méthanol	16

Liste des abréviations

% : pourcentage

C : Cleome

CL : Concentration Létal

DL : Dose Létal

D : *Drosophila*

g : gramme

L : litre

mmol : millimol

Mg : milligramme

ml : millilitre

TL : temps létal

μ L : microlitre

Table des matières

Dédicaces
Remerciements
Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des photos

Liste des abréviations

Page

Introduction

01

Chapitre I : Méthodologie de travail	
I .1.-Principe adopté	04
I.2- Matériels utilisés	04
I.2.1-Matériel biologique	04
I.2.1.1-Choix de la plante	05
I.2.1.1.1-Position systématique	05
I.2.1.1.2-Description botanique	05
I.2.1.1.3-Réparation géographique	05
I.2.1.1.4-Intérêts socioéconomiques	05
I.2.1.1.5-Utilisation de <i>cleome arabica</i> en médecine traditionnelle	06
I.2.1.1.6-Généralités sur les métabolites secondaires	06
I.2.1.2-Choix de l'insecte	07
I.2.1.2.1.-Présentation de l'insecte	07
I.2.1.2.2.-Position systématique	08

I.2.1.2.3.-Cycle de développement de <i>D.melanogaster</i>	09
I.2.1.2.4-Elevage de l'insecte	10
I.3-Etude de la toxicité	10
I.3.1.- Toxicité in vivo	10
I.3.1.1.-Toxicité par contact	11
I.3.1.2.-Toxicité par ingestion	12
I.3.2.- Toxicité in vitro	13
I.4.-Méthodes d'extraction	15
I.4.1.-Extraction par reflux des extraits végétaux	15
I.4.2.- Extraction des métabolites primaires	17
I. I.5.-Méthodes de dosage	18
I.5.1.-Dosage des glucides	18
I.5.1.1.-Dosage des sucres totaux	18
I.5.1.1.1-Principe	18
I.5.1.1.2.-Mode opératoire	18
I.5.1.2.- Dosage du glucose	18
I.5.1.2.1.-Principe	18
I.5.1.2.2.-Mode opératoire	19

I.5.2.-Dosage de protéines	19
I.5.2.1.-Principe	19
I.5.2.2.-Mode opératoire	20
I.5.3.-Dosage de cholestérol	20
I.5.3.1-Principe	20
I.5.3.2.-Mode opératoire	20
I.6.-Exploitation des résultats	21
I.6.1.-Temps de mortalité	21
I.6.2.-Temps de mortalité 50 (TL₅₀)	21
I.6.3.-Dose létale 50 (DL₅₀)	21

Chapitre II : Résultat et discisions	
II.1-Toxicité par contact des individus adultes de <i>Drosophila mélangaster</i> traités par l'extrait aqueux de <i>Cleome arabica</i>	22
II.1.1-Action sur la mortalité	22
II.1.2- Cinétique de la mortalité observée chez les adultes de <i>Drosophila melangaster</i> traitées par l'extrait aqueux de <i>Cleome arabica</i>	23
II.1.3- Dose létale (DL₅₀)	24
II.1.4- Temps léthal 50 (TL₅₀)	25
II.2-Toxicité par ingestion des individus adultes de <i>Drosophila mélanogaster</i> traités par l'extrait aqueux de <i>Cleome arabica</i>	28
II.2.1- Action sur la mortalité	28

II.2.2- Cinétique de la mortalité observée chez les adultes de <i>Drosophila mélanogaster</i> traités par l'extrait aqueux de <i>C. arabica</i>	29
II.2.3- Dose létale (DL₅₀)	30
II.2.4- Temps létal 50	31
II.3- Effet des extraits aqueux de <i>Cleome arabica</i> sur quelques métabolites primaires chez la <i>Drosophila mélanogaster</i>	33
II.3.1- Taux de glucides	33
II.3.1.1-Taux des sucres totaux	33
II.3.1.2-Taux de glucose	34
II.3.2- Taux de protéines	35
II.3.3- Taux de cholestérol	36
II.4-Discussion	37

Conclusion **40**

Références bibliographiques **42**

Annexe

Résumé



Introduction

Introduction

Les insectes sont très étudiés en raison de leur impact sur la santé humaine et animale, ainsi que sur les cultures et l'habitat. Ils sont caractérisés par leur abondance, leur diversité et leur étendue géographique. Parmi les millions d'espèces qui fourmillent sur la planète, certaines sont considérées comme nuisibles. Il existe différentes méthodes de lutte contre les ravageurs. La lutte biologique qui consiste à détruire les insectes nuisibles par l'utilisation rationnelle de leurs ennemis naturels appartenant soit au règne animal soit au règne végétal et la lutte chimique qui utilise différents types d'insecticides possédant chacun des caractéristiques physiques et chimiques propres, car le taux de toxicité, la dégradation, la biotransformation ou l'accumulation varient d'un insecticide à un autre (STRONG *et al.*, 2000). Cependant, pour des raisons économiques et la facilité de mise en oeuvre, la lutte chimique reste la méthode la plus employée en dépit des dangers pour l'Homme et son environnement (CASSIER *et al.*, 1997).

Les insecticides sont destinés à être inhalés, touchés ou ingérés par l'insecte. Les insecticides, une fois en contact avec l'insecte, pénètrent dans son système nerveux et le tuent comme les organophosphorés. Certains insecticides coupent la sensation de faim et l'insecte s'affame jusqu'à sa mort comme la pymetrozine. D'autres insecticides agissent comme un poison ou étouffent l'insecte. D'autres encore agissent par asphyxie, interférence dans le métabolisme. Les insecticides peuvent également cibler les larves et les oeufs d'insectes (HORDÉ, 2015).

Cependant l'usage des 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, l'apparition des formes de résistances chez les organismes cibles, et même par leurs effets destructeurs sur la biodiversité. De nombreux organismes non cibles dans la lutte contre les insectes nuisibles (insectes pollinisateurs, auxiliaires,...), ont souffert des épandages des produits chimiques, phénomène qui peut engendrer l'émergence de nouvelles espèces nuisibles qui ne seraient plus contrôlées par leurs ennemis naturels (SMIRNOFF, 1991; THIAM, 1991; ABOUZAÏD *et al.*, 1991; RAMADE, 1991; OULD EL HADJ *et al.*, 2007).

Depuis quelques décennies, une prise au sérieux des problèmes environnementaux a incité les organismes et les institutions de recherche à développer beaucoup plus les méthodes biologiques, sous ses diverses formes en vue de limiter l'usage des pesticides chimiques. L'une de ses formes est l'exploitation des composés secondaires, provenant des plantes dans la lutte contre les insectes nuisibles. De nombreuses espèces végétales ont été testées afin d'étudier leurs propriétés insecticides et leur toxicité, dont: *Azadirachta indica*, *Xylopias aetiopica*, *Melia azerdarach*, *Scillamaritima*, *Peganum harmala*, *Glinus lotoides*, *Calotropis procera*, etc. KEMASSI (2008).

La drosophile est responsable de l'installation de la pourriture grise. Les symptômes sont observés après la véraison, grappes serrées, ternes, grisâtres, - les baies dégagent une odeur aigre et renferment de nombreuses larves. Les grappes atteintes par les drosophiles donnent en cuve un goût désagréable d'amertume aumoût, ou engendrent des piqûres acétiques (VERGER *et al.*, 2005). Les fruits attaqués sont reconnaissable par la présence de petites cicatrices à la surface du fruit (trous) engendrées par les piqûres d'oviposition. En se développant, la larve se nourrit de la pulpe, ce qui entraîne un affaissement de l'épiderme autour du site de nutrition (CHOUIBANI *et al.*, 2003). Les plaies créées facilitent l'installation d'autres maladies et ravageurs (maladie scryptogamiques, bactéries...) qui contribueront à la détérioration du fruit. Les dégâts causés par une attaque de Drosophile peuvent provoquer une perte de la totalité de la production (VERGER *et al.*, 2005).

Notre étude a pour but d'évaluer la toxicité d'extraits foliaires de *Cleome arabica* L (*Capparidaceae*) sur un modèle biologique de choix qui est la *Drosophila melanogaster* (Diptère); en effet, cet insecte est un modèle de référence pour tous les travaux liés dans les études toxicologiques ou sur les mécanismes de résistances.

La présente étude comporte deux parties; la première partie, présente les matériels et la méthodologie du travail, avec les protocoles mis en œuvre pour l'étude expérimentale. Le deuxième chapitre présente les résultats obtenus, leur analyse et leur discussion. La deuxième partie présente les résultats obtenus, leur analyse et leur discussion et en terminant par une conclusion générale qui est un ensemble des réflexions achève cette étude.

Chapitre I



Méthodologie de travail

Chapitre I-Bibliographie

I.1.-Principe adopté :

Il porte sur l'étude des effets de l'extrait aqueux d'une plante *Cleome arabica* sur les individus adultes de *Drosophila melangaster* et l'évaluation de sa réponse biologique suit à des observations concernant le comportement, la physiologie et l'étude de quelques métabolites primaires chez l'insecte, dosage des glucides, dosage des protéines et dosage de cholestérol.

I.2- Matériels utilisés

I.2.1-Matériel biologique

I.2.1.1-Description de la plante

Cleome arabica est une plante spontanée d'odeur fétide récoltée à aynealmilih le mois de décembre(2016), connue sous le nom secondaire le «Netile » (Photo 1). La partie aérienne de la plantes testée est rincée à l'eau, est laissée séchée pendant 54 Jours à l'air libre, et dans la température ambiante. Une fois séchées, elles seront broyées et conservées dans des bocaux hermétiques en verre portant une étiquette où le nom de l'espèce, la date et lieu de récolte sont mentionnés.



Photo 01- *Cleome arabica*, Aynealmilih,Région de Ghardaïa

I.2.1.1.1-Position systématique

Embranchement	Spermaphytes
Sous – Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous –classe	Dillenidae
Ordre	Capparales
Sous –ordre	Capparidineae
Famille	Capparidaceae
Tribu	Cleomoideae
Genre	Cleome
Espèce	<i>Cleome arabica</i> L.(OZENDA, 1991).

I.2.1.1.2-Description botanique

Plante vivace de 30 cm de hauteur, à tiges dressées et ramifiées, *Cleome arabica* présente de petites feuilles poiles, trifoliées à folioles lancéolées. Les fleurs ont des pétales dont la couleur va du jaune au pourpre-foncé. Le fruit est une gousse velue de 2 à 5 cm de longueur située à la base de pétiole. C'est une plante à odeur fétide, toxique et présente des effets hallucinogènes. Les glandes stipes sécrètent une substance visqueuse (GUBB, 1913 ; OZANDA, 1991 ; KEMASSI, 2008).

I.2.1.1.3-Répartition géographique

Cleome arabica, fréquente dans les savanes désertiques et les tamarisades de l'étage tropical, monte dans l'étage méditerranéen en inférieure sur les pentes pierreuses et dans les ravins sablonneux jusque vers 2300 m d'altitude (MAIRE, 1933). C'est une espèce commune dans lits d'oued à fond sableux, ou elle peut coloniser de grandes surfaces et dans endémique du Sahara septentrional (CHEHMA, 2006).

I.2.1.1.4-Intérêts socioéconomiques

Le "Netile" est considéré par les nomades, comme plante toxique provoquant des troubles nerveux. Utilisée en pansement pour traiter des rhumatismes et soulager les douleurs. Intérêt pastoral : elle n'est jamais broutée seule par les dromadaires mais en mélange avec

d'autres plantes (CHEHMA ,2006). Elle possède des propriétés sudorifiques, emménagogues et abortives.

I.2.1.1.5-Utilisation de *Cleome arabica* en médecine traditionnelle

Les feuilles et les racines de certains espèces du genre *cleome*, telles que *C.rosea* L., *C. viscosa* L.,*C.gynandra* L.et *C.africana*L.,sont utilisées dans plusieurs régions du monde en pharmacopée traditionnelle contre les diarrhées. Elles présentent des propriétés anti inflammatoires, antimicrobiennes, antiarthritiques, anti-prolifératives, anti-oxydantes, anti-néoplasiques. L'extrait aqueux de *C.viscosa* L. est employé comme analgésique, antipyrétique et comme hypoglycémique (NAGAYA *et al.*, 1997; PARIMALA *et al.*, 2007; SUDHAKAR *et al.*, 2006; SIMOES *et al*, 2006 et NARENDHIRAKANNAN *et al.*,2007;(KEMASSI, 2008).Certain espèces comme *Cleome hirta*L., sont utilisées comme pesticides à des fins agronomiques (NDUNGU *et al.*,1999 ;KEMASSI, 2008).

Divers groupes de composés secondaires dont les triterpènes, les anthroquinones, les flavonoïdes, les saponines, les stéroïdes, les résines, les lectines, les glycosides, les tannins et autres composés phénoliques et les alcaloïdes ont été isolés des *Capparidaceae* notamment des espèces du genre *Cleome* (NARENDHIRAKANNAN *et al.*, 2007 ;KEMASSI, 2008).

I.2.1.1.6-Généralités sur les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (BOUDJOUREF, 2011). Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie) (NEWMAN et CRAGG, 2012).

Une des particularités des végétaux et de former de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante n'est pas encore parfaitement élucidé. Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces montre qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général (métabolisme primaire): ce sont des métabolites secondaires, qui n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétal lui-même, rôle de défense, rôle de résistance. .

Les métabolites secondaires sont classés en trois grandes classes :

- Les composés aromatiques ou poly phénols (acides phénoliques, flavonoïdes,

anthocyanidines, tannins), et les quinones.

- Les terpenoides et leurs dérivés.

- Les alcaloïdes.

Ces molécules très diversifiées, illustrent l'extraordinaire richesse métabolique des plantes supérieures (MERGHAM, 2009).

I.2.1.2-Choix de l'insecte

L'étude porte sur la adultes de *Drosophila melangaster*, elle est un genre de petites mouches, appartenant à la famille Drosophilidae, dont les membres sont souvent appelés «mouches des fruits» ou (moins souvent) mouches grignons, mouches de vinaigre, ou mouches de vin, une référence à la caractéristique de nombreuses espèces de se attarder autour mûrs ou fruits pourris. Le choix des individus adultes se justifie, car c'est le stade où l'insecte est le plus à craindre à cause de l'amplitude de ses déplacements et pour des raisons de commodité au laboratoire, les adultes sont d'usage facile et pratique (OULD EL HADJ et al., 2006).

I.2.1.2.1.-Présentation de l'insecte

Une espèce de drosophile en particulier, *D. melanogaster*, a été fortement utilisé dans la recherche sur la génétique, elle est une commune organisme modèle en biologie du développement. L'ensemble du genre, cependant, contient plus de 1500 espèces et est très diversifiée en apparence, le comportement et l'habitat de reproduction *Drosophila* sont de petites mouches, généralement jaune pâle à brun rougeâtre au noir, avec les yeux rouges. *Drosophila melanogaster* est un animal expérimental populaire parce qu'il est facilement cultivées en masse sur la nature, a un temps de génération court, et les animaux mutants sont faciles à obtenir. En 1906, Thomas Hunt Morgan a commencé son travail sur *D. melanogaster* et rapporté sa première constatation d'un blanc (yeux) mutant en 1910 à la communauté universitaire. Il était à la recherche d'un organisme modèle pour étudier l'hérédité génétique et requis une espèce qui pourrait acquérir hasard mutation génétique qui serait visiblement manifeste que les changements morphologiques dans l'animal adulte. Son travail sur la drosophile lui a valu le 1933 Prix Nobel de médecine pour l'identification des chromosomes en tant que vecteur de l'héritage de gènes. Ceci et d'autres espèces sont largement utilisés dans des études de la génétique, embryogenèse, et d'autres domaines.

L'espèce *D. melanogaster* (Meigen, 1830) est un Diptère Brachycère de la famille des

Drosophilidae. C'est sans aucun doute l'espèce la mieux connue du genre *Drosophila*, et l'une des mieux étudiées parmi tous les êtres vivants. Elle a été choisie au cours du vingtième siècle comme organisme modèle pour la génétique et le développement. Elle est mieux connue sous le nom de Mouche du vinaigre.

I.2.1.2.2.-Position systématique

Règne	Animalia
Embranchement	Arthropodes
Classe	Insecta
Ordre	Diptera
Sous-ordre	Brachycera
Famille	Drosophilidae
Sous-famille	Drosophilinae
Genre	<i>Drosophila</i>
Espèce	<i>melanogaster</i> (TALBI et DOGHBAL, 2016).

Les drosophiles adultes mesurent environ 3 mm de long et présentent un dimorphisme sexuel (photo.02). Pour différencier les mâles et les femelles, plusieurs caractères peuvent être considérés (MEDIA, 2001).

Taille :

Les femelles sont plus grandes que les mâles.

❖ Abdomen :

L'abdomen de la femelle est de forme pointue, avec des segments terminaux de couleur claire. L'abdomen du mâle est plus arrondi, avec des segments terminaux très foncés (photo.02).



Photo 02: *D.melanogaster* adulte : femelle et mâle (MEDIA, 2001)

I.2.1.2.3.-Cycle de développement de *D.melanogaster*

La drosophile est un insecte à métamorphose complète, ou holométabole (Photo 02). La femelle pond quelques centaines d'oeufs allongés et blanchâtres, difficiles à voir à l'oeil nu. Elle les dépose sur des fruits ou d'autres matières humides en train de fermenter (ROBERGE, 2008). Son cycle de vie comporte donc des stades larvaires bien différenciés morphologiquement de l'adulte (larves de type «asticot»), et un stade imaginal ailé. En milieu naturel, cet insecte est présent dans les vergers ou les vignobles (SHORROCKS, 1982) et plus généralement dans les sites où se trouvent des fruits en décomposition (MC KENZIE, 1974, MC KENZIE et MC KECHNIE, 1979, HOFFMANN et PARSONS, 1991).

La femelle pond ses oeufs sur la chair des fruits blessés (MCCOY, 1962). Après 24h (à 25°C), une larve sort des oeufs. Cette larve de premier stade, ainsi que les larves des deux stades larvaires qui lui succèdent, se nourrissent sur le fruit où la femelle a pondu. Ensuite, les larves gagnent une zone moins humide du substrat et s'empupent. Après quelques jours, il y a émergence d'un adulte ailé. Ce cycle s'effectue en moyenne en 11 jours à 25°C. Il est à noter que le temps de développement est chez cette espèce très sensible à la température (Photo03).

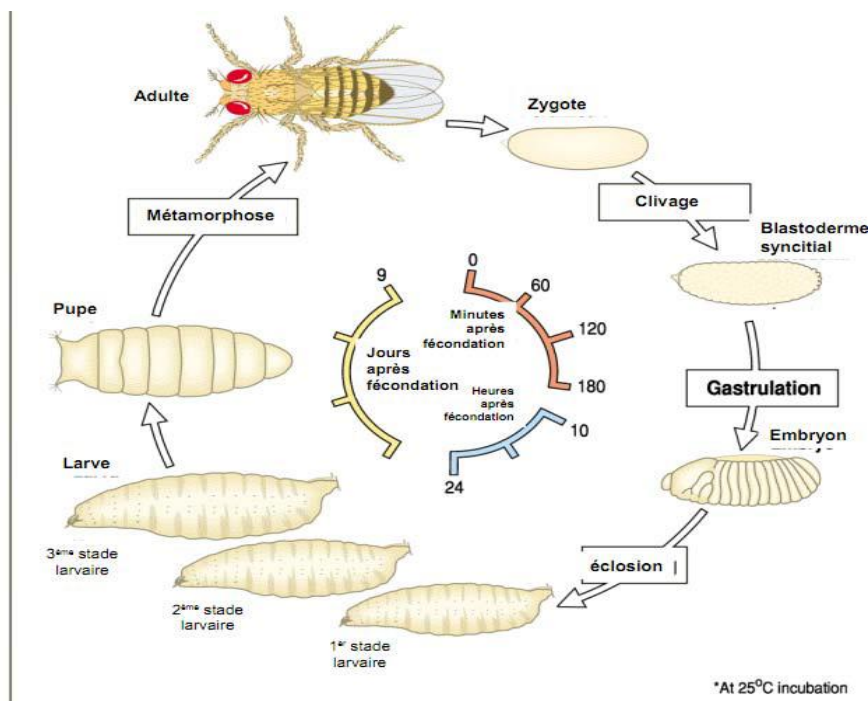
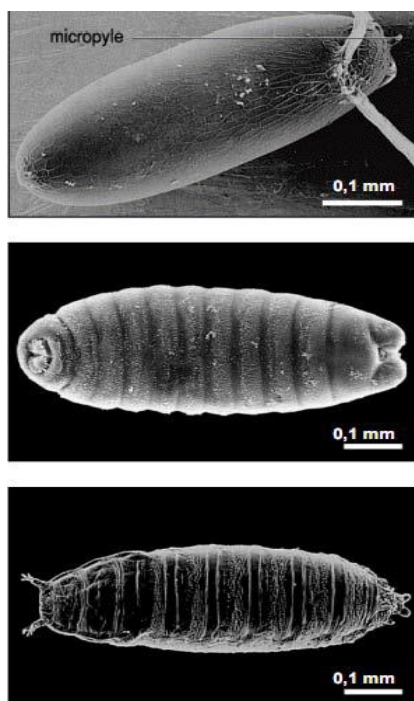


Photo 03-Cycle de développement de *D.melanogaster* (WOLPERT, 2001)

I.2.1.2.4-Elevage de l'insecte

La drosophile s'élève facilement au laboratoire sur un milieu artificiel. Il est possible de se procurer dans le commerce d'un milieu de culture à préparation. L'élevage de l'insecte est maintenu au laboratoire pédagogique, dans les conditions naturelles, les souches d'élevage sont obtenues de la commune de Ghardaïa. Le milieu nutritif gélosé est composée de 30g de Farine de maïs, 30g de levure sèche, 4g d'Agar-agar, 5 ml de vinaigre rouge et d'eau distillée selon le besoin, le mélange est porté à ébullition pendant quelque minutes en agitant sans arrêt pour ne pas accrocher au fond de la casserole, jusqu'à l'obtention d'un mélange épais. Après refroidissement, le substrat est déversé dans des flacons de plastique qui seront fermée avec un tulle permet le passage de l'air et de la lumière (Photo04).

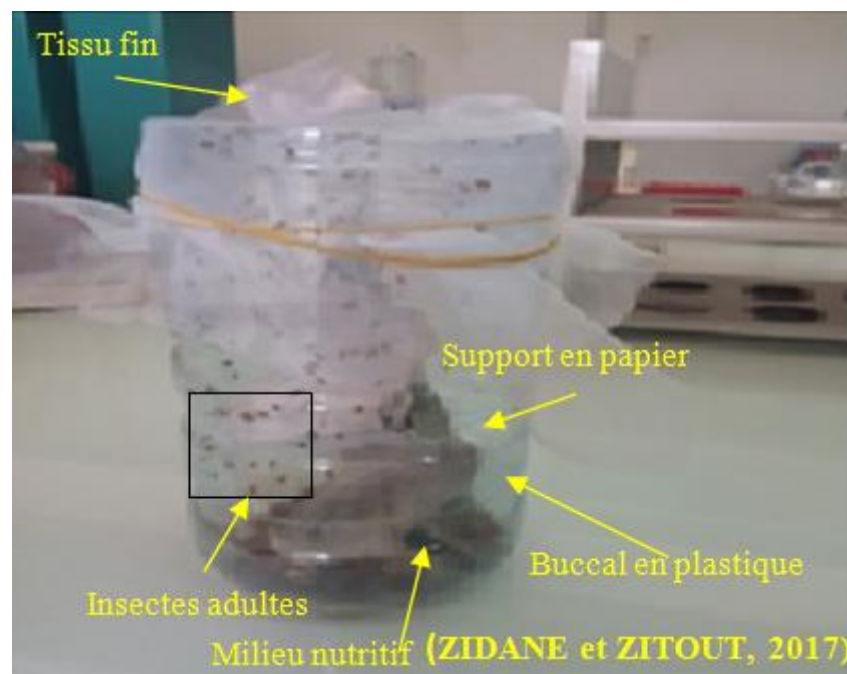


Photo 04- Elevage des drosophiles

I.3-Etude de la toxicité :

L'étude de la toxicité concerne les extraits purs (100%) et dilués (20%, 40 %, 60 %, 80 %), un mode de traitement, est étudié in vivo et in vitro.

I.3.1.- Toxicité *in vivo*

Pour l'étude de la toxicité d'un extrait d'une espèce végétale prise en considération cinq (5) lot fermée avec un tulle ; dont dans chaque lot six (6) adultes des *drosophila melanogaster* ; et dans les lots constitué est caractérisé par une concentration en extrait

végétale d'*cleome arabica* 100% ;80 % ;60 % ;40 % ;20% pour l'études contact ;et pour ingestion ajout dans un milieu nutritif l'extrait végétale. Avec trois répétitions sont réalisées (trios lot) ; et trois (3) lots de témoin contiennent ainsi 6adultes dans chaque lot.

I.3.1.1.-Toxicité par contact

Pour cette étude l'extrait aqueux de la plante est pulvérisé directement sur les adultes de *Drosophila melanogaster*, les individus des lots témoins sont traités avec 500ul d'eau distillée, et les individus des lots traités sont traités avec 500µl de l'extrait pure ou dilué à (20%, 40%, 60%, 80%). Donc six lots sont préparés avec trois répétitions, chaque lot contenant six individus adultes de *Drosophila melangaster*, soit un ensemble de 126 individus.

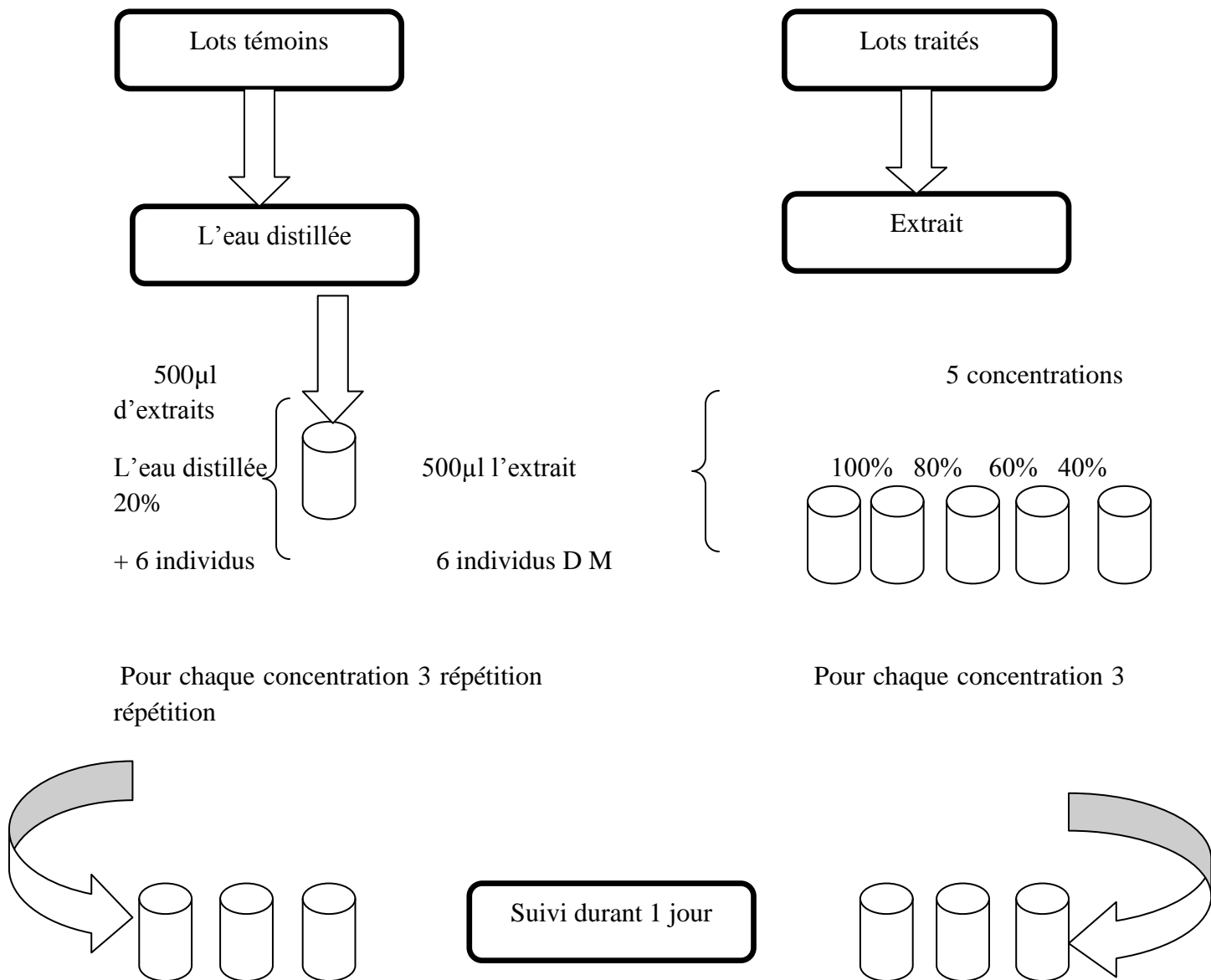


Figure 01 - Protocole expérimental de l'étude de la toxicité par contact

I.3.1.2.-Toxicité par ingestion

Le test de la toxicité par ingestion consiste à alimenter les individus adultes par un milieu nutritif mélangé avec soit 500µl d'eau distillée pour le lot témoin ou mélangé avec 500 µl d'extrait foliaire de *C.arabica* soit pur ou dilué à (20%, 40%, 60%, 80%) pour les lots des individus traités. Donc six lots sont préparés avec trois répétitions, chaque lot contenant six individus adultes de *Drosophila melanogaster*, soit un ensemble de 126 individus.

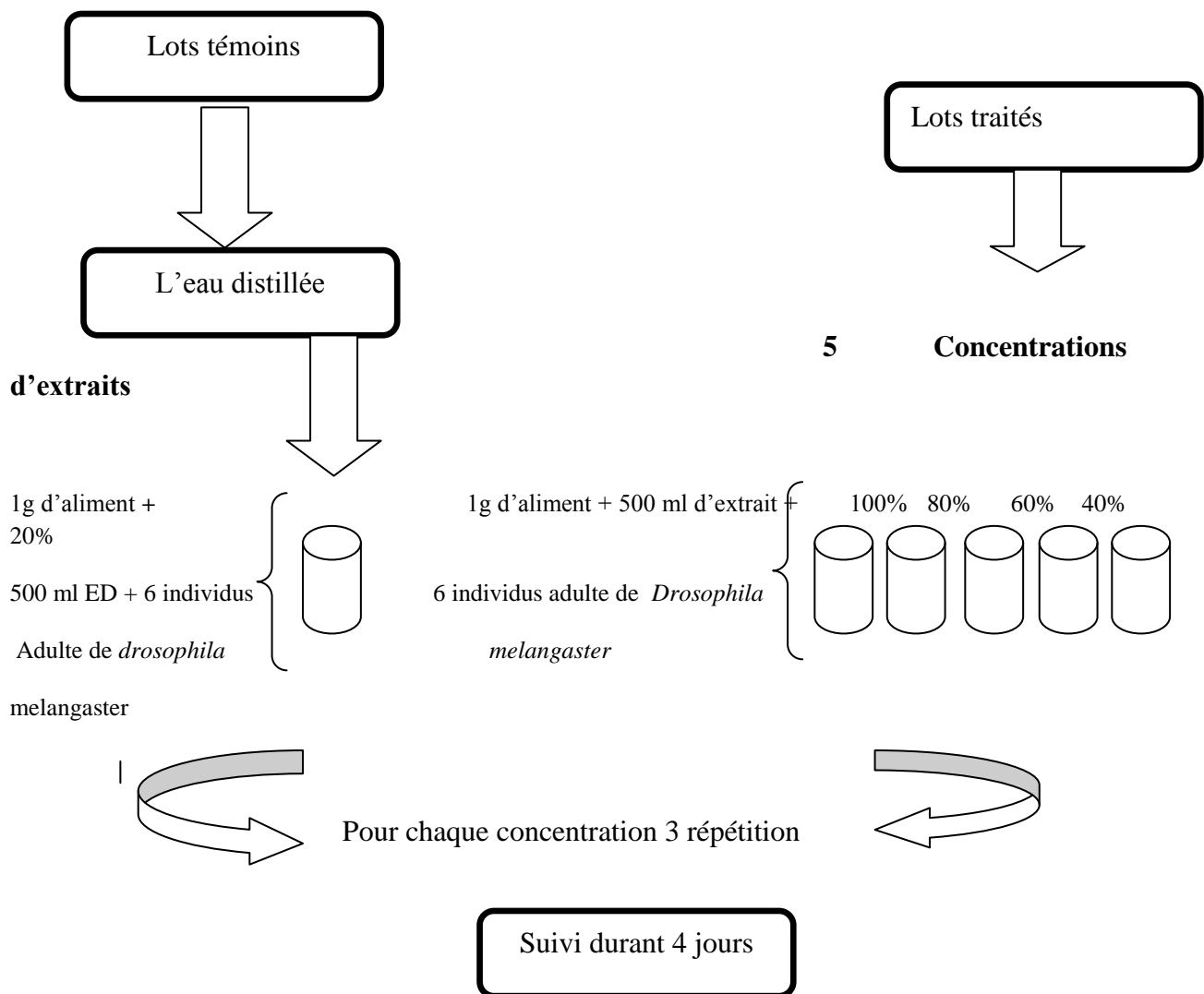


Figure 02 – Protocole expérimental de l'étude par ingestion

I.3.2.- Toxicité in vitro

Pour cette étude chaque individu est soumis à une extraction (Figure 03) à fin de récupérer un surnageant contenant les métabolites à analysés, le surnageant des individus témoins est incubé avec 500µl d'eau distillée, alors que le surnageant des individus traités est incubé avec 500 µl de l'extrait pur ou dilué à 20%, 40%, 60% et 80%.la durée d'incubation est de une heure, et chaque lot contient six individus adultes de *D.mélanogaster*.

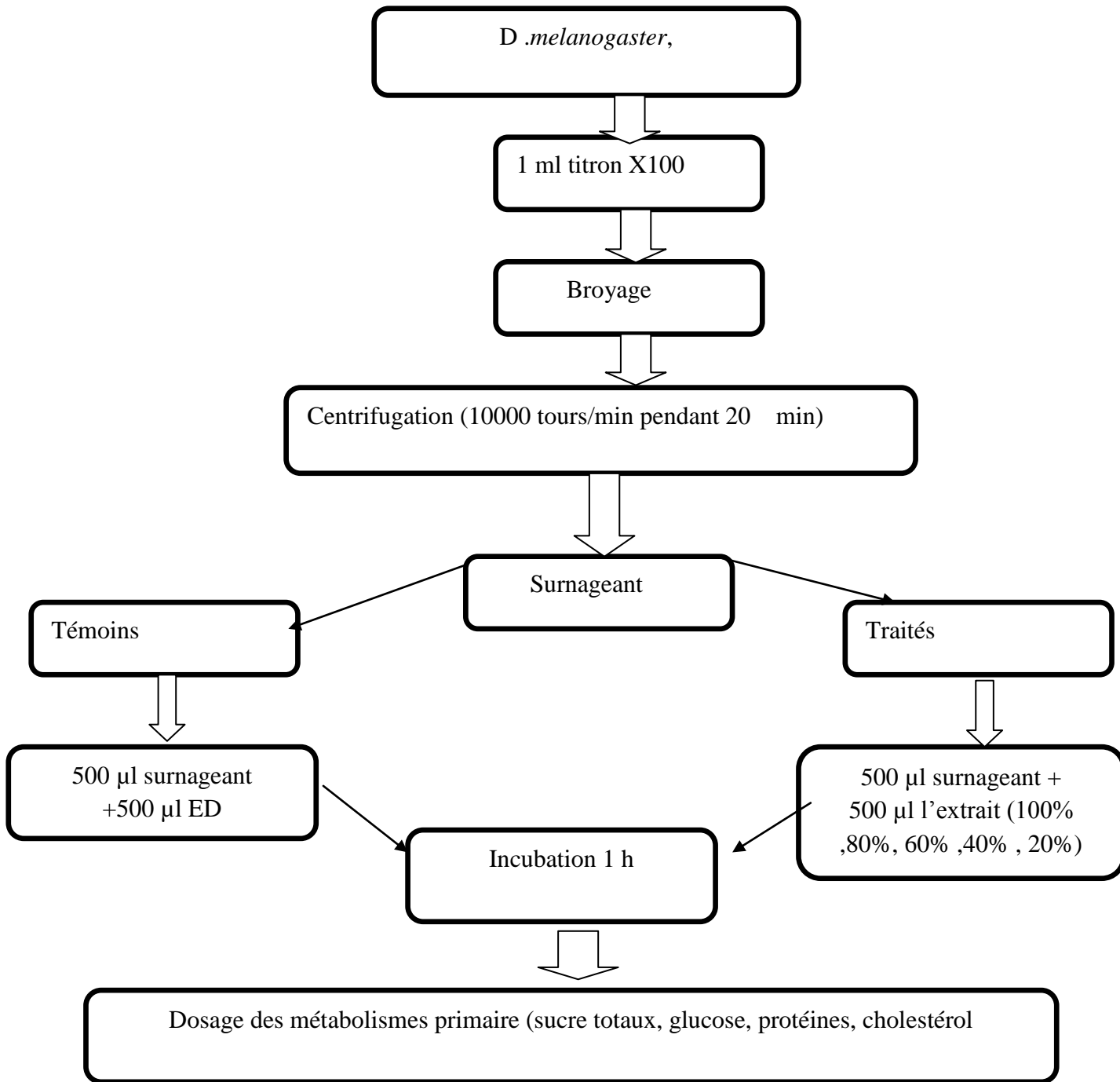


Figure 03-Extraction et dosage des métabolites chez des individus de *Drosophila melangaster*

I.4.-Méthodes d'extraction

I.4.1.-Extraction par reflux des extraits végétaux

Les extraits aqueux sont obtenus par solubilisation des fractions actives dans de l'eau distillée et de méthanol, le type d'extraction est une extraction par reflux. 100 grammes de la poudre végétale de *C.arabica* est misent dans un ballon de 1000ml capacité avec suffisamment de la solution aqueuse de méthanol (2:1) (2/3 de méthanol et 1/3 d'eau distillée). Le ballon est surmonté par un réfrigérant permettant la condensation des fractions volatiles organiques lors d'extraction. Le mélange est porté à ébullition à 50°C pendant 6 heures (photo 4). L'homogénat est refroidi et filtré à l'aide d'un papier filtre. Pour éliminer le méthanol, le filtrat est soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un rotor vapeur. Le produit obtenu, est un extrait aqueux qui servira par la suite aux tests biologiques.



Photo05-Poudre du *Cleome arabica*



Photo 06-Dispositif d'extraction des principes actifs par reflux



Photo 07-Elimination de méthanol

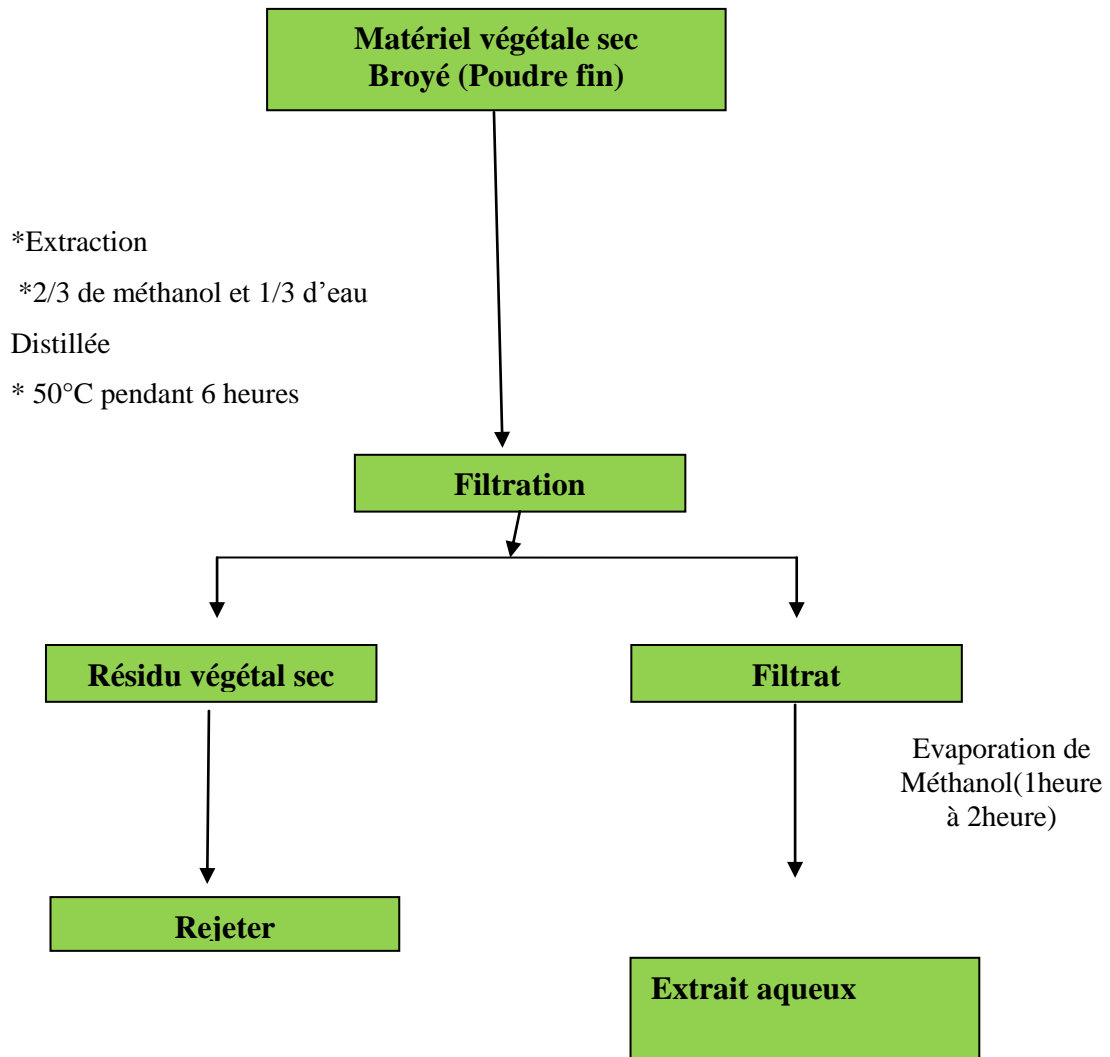


Figure 04 -Protocole d'extraction par reflux de *C. arabica* L

I.4.2.- Extraction des métabolites primaires

L'extraction des différents métabolites (protéines, glucides et cholestérols) est réalisée selon la méthode décrite par LUI *et al.*, (1966), les insectes sont amputés et homogénéisés dans un mortier porté à l'avance dans un congélateur. L'homogénat est récupéré avec 1ml d'un mélange de 0.1M tampon phosphate (ph 7.5)(Annexe 01) 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 pendant 20 mn dans une centrifugeuse. Le surnageant est récupéré à l'aide d'une micropipette, qui servira pour le dosage des glucides, de protéines et de cholestérol.

I.5.-Méthodes de dosage

I.5.1.-Dosage des glucides

I.5.1.1.-Dosage des sucres totaux

I.5.1.1.1-Principe

Le dosage des sucres totaux est réalisé selon la méthode de Dubois *et al.*, (1956), les oses sont stables en milieu acide. Cependant, ils sont chauffés en milieu acide concentré, ils donnent des furfuraldéhydes par cyclisation et déshydratation. Les furfurals et ses dérivés ont la propriété de se condenser avec le phénol pour former des complexes marron.

I.5.1.1.2-Mode opératoire

100 µL de l'échantillon à doser est mélangé avec 100 µL de la solution de Phénol 5 % ;et 500 µL d'acide sulfurique (80 %) et Incuber à 90° C pendant 30 min .L'absorbance est mesurée à 450 nm. Une gamme étalon (0 à 0.16 g/L) du glucose permet de calculer la concentration des sucres totaux (Annexe 02).

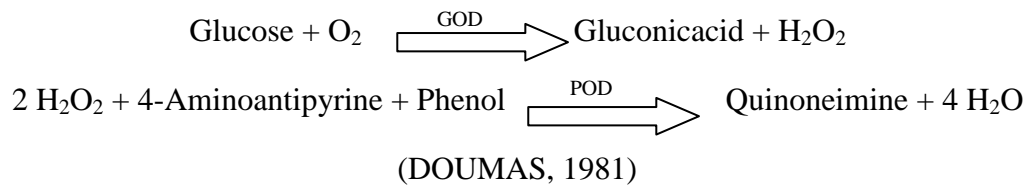
I.5.1.2.- Dosage du glucose

I.5.1.2.1-Principe

Il s'agit d'un dosage colorimétrique à la suite de deux réactions enzymatiques couplées. La réaction enzymatique est étroitement spécifique, l'enzyme glucose-oxydase oxyde le glucose présent dans l'échantillon en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier sert de substrat à la peroxydase dans une réaction couplée conduisant à l'oxydation de l'o-dianisidine en un produit coloré. L'indicateur colorimétrique est la quinoneimine, qui est générée à partir de la 4-aminoantipyrine et du phénol par du peroxyde d'hydrogène sous l'action catalytique de la peroxydase (réaction de Trinder) (DOUMAS *et al.*, 1981).

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose. À partir d'une courbe d'étalonnage (Absorbance = f [glucose]) établie avec des concentrations connues de glucose, on peut déterminer graphiquement la concentration en glucose dans une solution inconnue en mesurant son absorbance après traitement par le réactif (Annexe

3).Détermination du glucose après oxydation enzymatique par l'enzyme glucose oxydase, selon la réaction suivante :



I.5.1.2.2.-Mode opératoire

10ul de l'échantillon à doser est mélangé avec 1ml de réactif enzymatique, puis incubé à 37° pendant 20min. L'absorbance est mesurée à 546 nm. Une gamme étalon (0 à 100ug de glucose) permet de calculer la concentration des sucres totaux (Annexe 2).

I.5.2.-Dosage de protéines

I.5.2.1.-Principe

Les protéines ont été quantifiées selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu brillant de coomassie 1 G 250 comme réactif et l'albumine de sérum de oeuf (100 µg/ml) comme standard. La méthode de Bradford est un dosage colorimétrique, basé sur le changement d'absorbance (la mesure se fait à 595 nm), se manifestant par le changement de la couleur du bleu de Coomassie après liaison (complexification) avec les acides aminés basiques (arginine, histidine, lysine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans la ou les protéines. La forme anionique (libre) du colorant est rouge et possède un spectre d'absorption maximal estimé historiquement à 465-470 nm. La forme cationique (liée à une protéine par interactions hydrophobes) du colorant est bleue, absorbant à 595 nm. Le changement d'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant lié, indiquant donc la concentration en protéines dans l'échantillon.

Contrairement aux autres méthodes de mesure des protéines, la méthode de Bradford est moins sensible aux interférences par divers agents présents dans les échantillons de protéine. Elle est toutefois affectée par les détergents, modifiée par le pH, et donne un résultat positif également aux polyphénols hydrosolubles de haut poids moléculaire (tanins), en raison des interactions hydrophobes qui se font avec ces derniers.

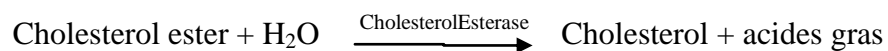
I.5.2.2.-Mode opératoire

200ulde l'échantillon à doser est mélangé avec 5000 ul de réactif au bleu de commassie. Après 2 min d'incubation, la lecture des absorbances est réalisée à 595 nm. Une gamme étalon (0 à 100ug de protéines) avec le sérum albumine bovin (BSA) est préparée à fin de déterminer le taux de protéines (Annexe4)

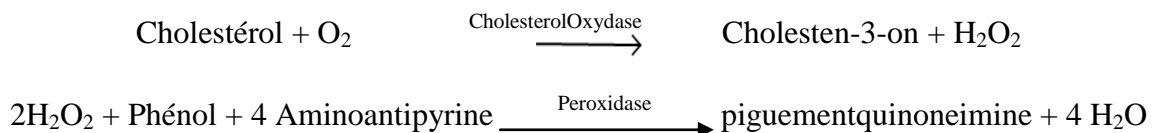
I.5.3.-Dosage de cholestérol

I.5.3.1-Principe

Le cholestérol est déterminé par la méthode enzymatique de Fasce (1982), en utilisant l'estérase et le cholestérol du cholestéroxydase, selon la réaction suivante :



Les esters de cholestérol sont éliminés par l'action de l'estérase de cholestérol pour donner du cholestérol et des acides gras libres.



Le cholestérol est converti par de l'oxygène à l'aide de cholestérol oxydase à cholest-4-en 3-one et au peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène créé forme un colorant rouge en réagissant avec la 4-aminophénazone et le phénol sous l'action catalytique de la peroxydase. L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration de cholestérol et peut être déterminée par voie photométrique.

I.5.3.2.-Mode opératoire

200ulde l'échantillon à doser (contenant au maximum 50ug de protéines) est mélangé avec 5000 µl de réactif au bleu de commassie. La lecture des absorbance est réalisée à 546nm

après 10 min d'incubation. une gamme étalon (0 à 100ug de cholestérol) avec le cholestérol pur permet de déterminer le taux de cholestérol dans l'extrait de l'insecte (annexe5)

I.6.-Exploitation des résultats

I.6.1.-Taux de mortalité

Le temps léthal 50 (TL50), correspond au temps nécessaire pour que 50% des individus d'une population morte suite à un traitement par une substance quelconque. Il est calculé à partir de la droite de régression des probits correspondants au pourcentage de la mortalité corrigée en fonction des logarithmes du temps de traitement. Il a utilisé, la formule de SCHNEIDER et la table des probits (KEMASSI, 2008).Formule de SCHNEIDER:

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

- MC :% de mortalité corrigée;
- M2 : % de mortalité dans la population traitée;
- M1 : % de mortalité dans la population témoin.

I.6.2.-Temps de mortalité 50 (TL₅₀)

La mortalité est le premier critère de jugement de l'efficacité d'un traitement chimique ou biologique. Le pourcentage de la mortalité observée chez les larves de 3e stade témoins et traités, est estimé en appliquant la formule suivante:

$$\text{Mortalité observée} = [\text{Nombre de morts}/\text{Nombre total des individus}] \times 100$$

(OULD EL HADJ et *al*, 2006)

I.6.3.-Dose létale 50 (DL₅₀)

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]

Chapitre II



Résultats et Discussion

Chapitre II- Résultats et Discussion

Le présent chapitre est un ensemble des résultats obtenus après traitement des individus adultes de la *Drosophila mélanogaster* par l'extrait aqueux de *Cleome arabica* pur ou diluer à plusieurs doses, les paramètres étudiés à fin d'évaluer l'effet toxique de l'extrait aqueux sont la mortalité des individus, la DL_{50} , TL_{50} , ainsi que quelques paramètres biochimiques : le taux de protéines, le taux de sucre et le taux de cholestérol.

II.1-Toxicité par contact des individus adultes de *Drosophila mélangaster* traités par l'extrait aqueux de *Cleome arabica*

II.1.1-Action sur la mortalité

Le taux de la mortalité noté dans les différents lots expérimentaux 15 minutes après traitement est représenté dans la figure (05). L'étude a été réalisée dans la condition naturelle, ou 6 concentrations sont choisies avec une période de suivi de 15 min.

Il apparaît une variation de taux de mortalité entre les lots traités par différentes concentrations testées 100%, 80%, 60%, 40%, 20% par rapport au témoin.

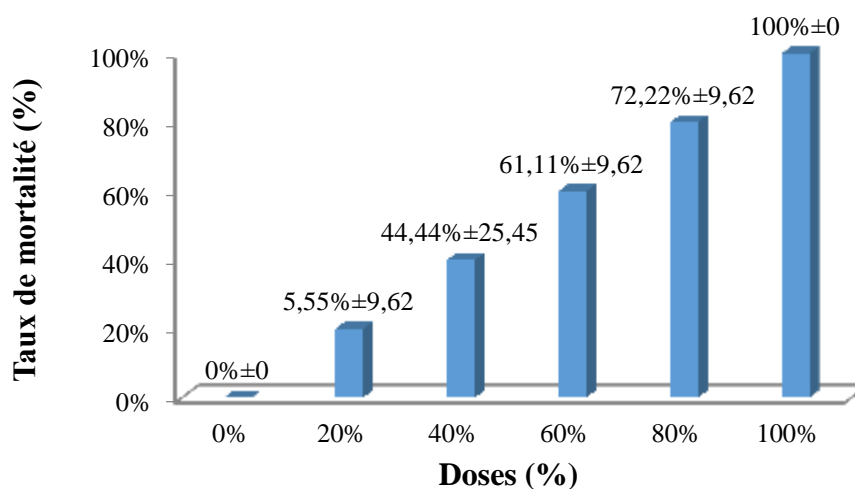


Figure 05 : Pourcentage de la mortalité observée chez les individus adultes de *Drosophila mélanogaster* témoins et traités par différentes concentrations des extraits aqueux de *Cleome arabica*

Les résultats laissent apparaître que l'extrait aqueux des feuilles de *Cleome arabica* engendre une mortalité totale chez les adultes de *Drosophila melangaster* traités par l'extrait pur 100%. Alors que pour les doses 20%, 40%, 60%, 80%, on a enregistré une mortalité de 5.55% et

44.44% et 61.11% et 72.22% respectivement. Alors pour l'extrait aqueux le taux de mortalité maximale atteindre 100% pour les doses les plus élevées.

Tableau1 :-Taux de Mortalité observée chez l'adulte de *Drosophila mélanogaster* traité par l'extrait aqueux de *Cleome arabica*

100%	Doses					Témoins (0%)	Temps
	80%	60%	40%	20%	0%		
38,88	27,77	22,22	11,11	0,00	0	1min	
72,22	50	44,44	27,77	0,00	0	5min	
94,44	61,11	55,55	38,88	0	0	10min	
100,00	72,22	61,11	44,44	5,55	0	15min	

Au vu des résultats de la figure 05 et du tableau 1, il est noté que le taux de la mortalité varie selon les concentrations. Les valeurs rapportées pour le lot témoin sont plus faible que celles notées pour les lots traitements. Aucune mortalité n'est notée au niveau du lot témoin. L'extrait aqueux de *cleome arabica* engendre une mortalité totale chez les adultes de *Drosophila melangaster*. Au niveau des lots traités par l'extrait aqueux pur de *Cleome arabica*, le taux de mortalité noté est de 100%. Bien que pour les autres lots traités, les pourcentages de mortalité observés augmentent en fonction de la concentration en extraits appliquée, un pourcentage de mortalité de (72.22)% est noté au niveau du lot traité par l'extrait à 80% de concentration, alors que pour les trois autres concentrations soit 60% et 40% et 20% il est de 61.11% et 44.44% et 5.55% respectivement.

II.1.2- Cinétique de la mortalité observée chez les adultes de *Drosophila melangaster* traitées par l'extrait aqueux de *Cleome arabica*

Les résultats de l'étude de la cinétique de mortalité observée chez les individus adultes de *Drosophila mélanogaster* traités par l'extrait aqueux de *C. arabica* sont présentés dans la figure 5. Le suivi de taux de mortalité a commencé 1 minute après le traitement. Les résultats montrent durant la première suivi, un taux de mortalité plus de 60 % au niveau des lots traités par l'extrait à concentration de 100% et 80%. En effet les taux de mortalité des adultes augmentent chaque minute pour atteindre un taux maximal (la mort se produit après l'accumulation d'une certaine quantité de l'extrait dans le corps des adultes). Un taux de mortalité de 100% est atteint au bout de 15 minutes (tableau 2).

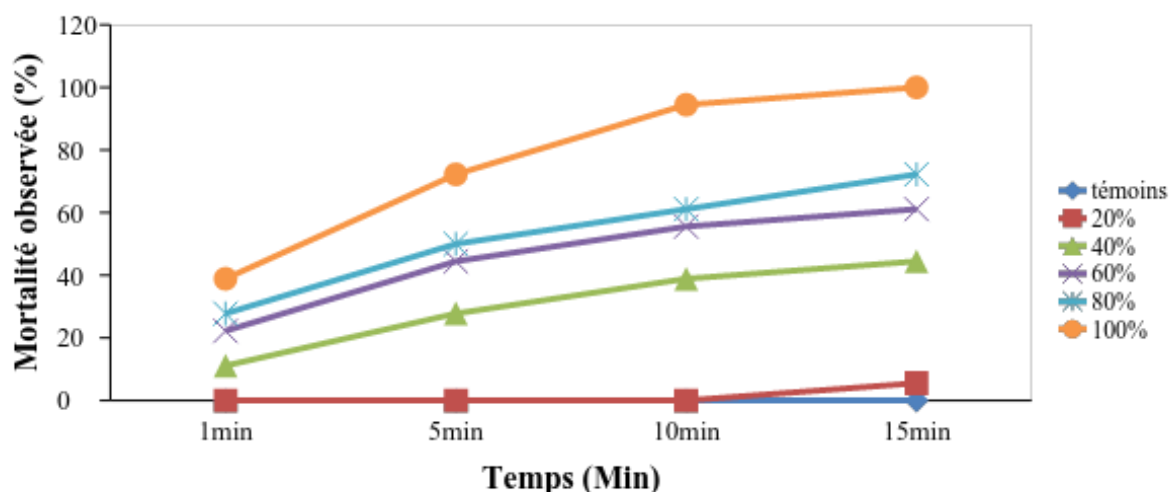


Figure 06- Cinétique de la mortalité observée chez les individus adultes de *Drosophila melanogaster* traités par l'extrait aqueux de *Cleome arabica*

II.1.3- Dose létale (DL₅₀)

Les tests de l'effet insecticide des extraits aqueux de *Cleome arabica* ont été effectués sur les adultes de *Drosophila melanogaster*, afin d'estimer les doses entraînant une mortalité de 50% des adultes selon le modèle des Probits. Au vu des résultats de (tableau 02 et 03) et de la (figure 06), il est noté que les concentrations qui cause la mortalité de 50% des individus par l'extrait aqueux sont de l'ordre DL₅₀ = 0.093831 mg/ml.

Tableau 2 –Mortalités observée et probits correspondants en fonction de la concentration de L'extrait appliqué

Probit	Mortalité observée (%)	Log C (mg/ml)	Concentration (mg/ml)	Dose
7,614	100	-2,01502	0,00966	100
5,5833	72,22	-2,11238	0,00772	80
5,27926	61,11	-2,23687	0,005796	60
4,84926	44,44	-2,41296	0,003864	40
3,40286	5,55	-2,71399	0,001932	20

Tableau 3-Équation de régression, coefficient de régression et les valeurs de DL₅₀ pour l'extrait aqueux de *Cleome arabica*.

DL ₅₀ (mg/ml)	Coefficient de régression	Equation de régression
0,093831	R ² = 0,8519	y = 5,0806x + 17,022

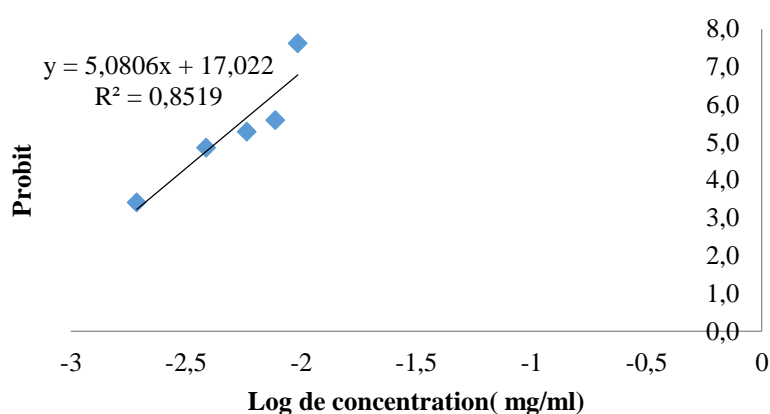
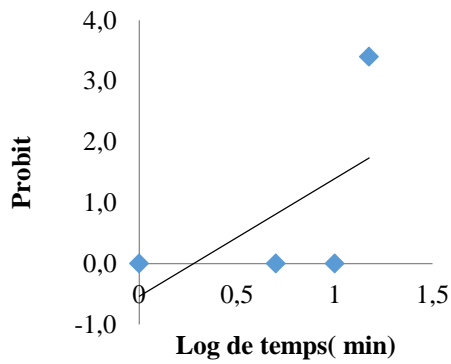


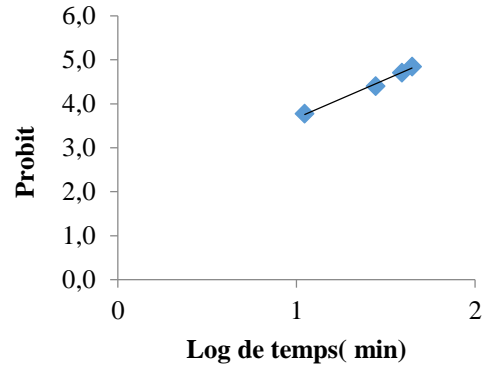
Figure 07- Courbe de probit en fonction de concentration (mg /ml) des extraits aqueux de *Cleome arabica*

II.1.4- Temps léthal 50 (TL₅₀)

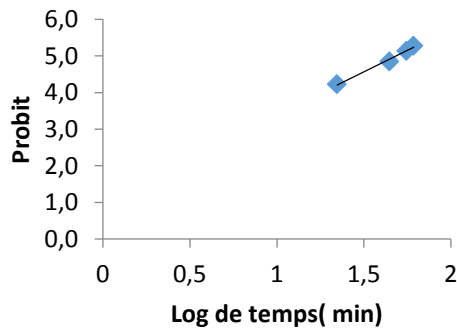
Les calculs de temps léthal 50% (TL₅₀) ont été effectués en dressant la droite de régression des probits correspondants aux pourcentages des mortalités observée en fonction des logarithmes des temps de traitement au moyen de la régression figure 7 et (tableau 4). Les données sont groupées en classe de temps, dans cette étude en minute. Les méthodes d'analyse de survie permettent d'associer la fréquence et le délai de survie de l'événement étudié qui est la mort des individus. Le temps qui s'écoule entre le début du traitement et la date de la dernière observation est étudié. À la dernière minute du comptage le nombre de survivants, est noté.



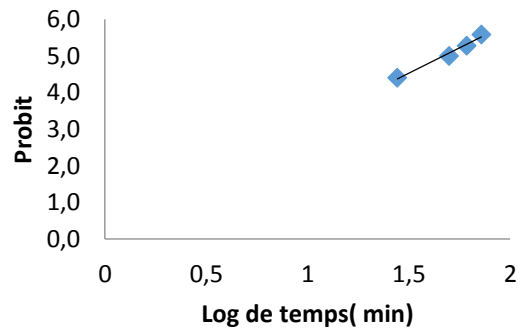
A) Action de l'extrait 20% de *Cleome arabica* dans le temps sur *Drosophila melanogaster*



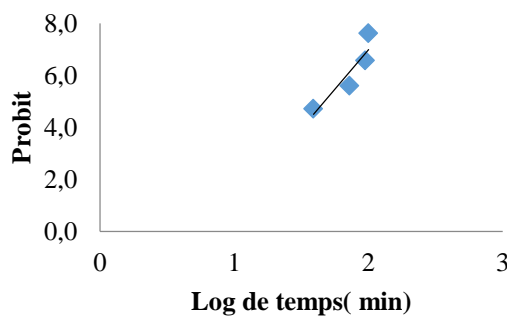
B) Action de l'extrait 40% de *Cleome arabica* dans le temps sur *Drosophila melanogaster*



C) Action de l'extrait 60% de *Cleome arabica* dans le temps sur *Drosophila melanogaster*



D) Action de l'extrait 80% de *Cleome arabica* dans le temps sur *Drosophila melanogaster*



E) Action de l'extrait pur (100%) de *Cleome arabica* dans le temps sur *Drosophila melanogaster*

Figure 08 – (A, B, C, D, E)- Relation entre *Drosophila melangaster* et les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Cleome arabica* en fonction du temps

Tableau 4 - Équation des droites de régression, coefficients de régressions et les valeurs de TL_{50} évaluées pour les 5 concentrations

TL ₅₀ (en minute)	Equation de régression et Coefficient de régression	Concentration
1,6719	$y = 6,0614x - 5,1338$ $R^2 = 0,8269$	100%
1,6728	$y = 2,7537x + 0,3936$ $R^2 = 0,9835$	80%
1,6853	$y = 2,3378x + 1,06$ $R^2 = 0,9904$	60%
1,7544	$y = 1,7557x + 1,9198$ $R^2 = 0,9936$	40%
2,8657	$y = 1,9326x - 0,5384$ $R^2 = 0,3463$	20%

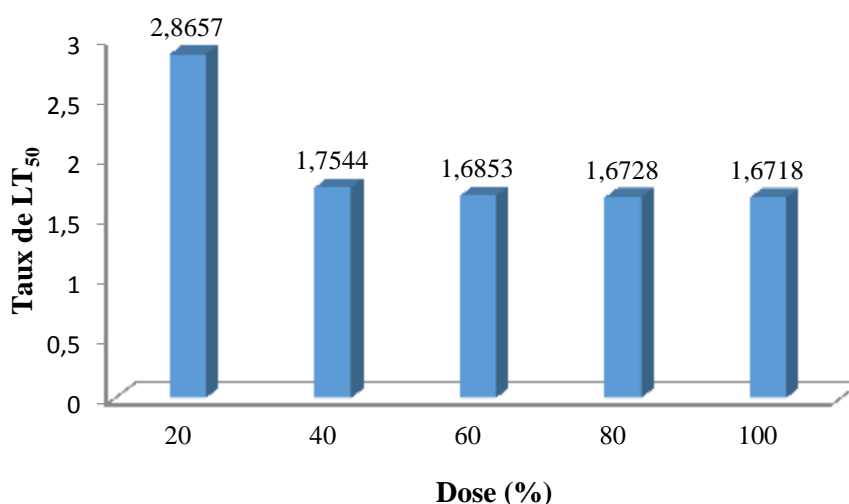


Figure 09 - Temps léthal de 50% (LT_{50}) des individus à différentes doses de l'extrait aqueux de *C. arabica*

Les résultats relatifs aux valeurs de la TL_{50} de chaque concentration de l'extrait aqueux testé et la droite de régression des probits en fonction du logarithme des durées de traitement (Figure 8), montrent un temps très court de la TL_{50} , qui diminue avec l'augmentation de la concentration, il apparaît que l'extrait aqueux de *C. arabica* à 100%, 80 % semble plus toxique que les autres concentrations, il présente un temps léthal 50 de 1,6718 min et 1,6728 min respectivement.

Pour les autres concentrations, il apparaît que les résultats sont respectivement de l'ordre de 1,6853min, 1,7544min, 2,8658 min pour les doses 60%,40% et 20%.

II.2-Toxicité par ingestion des individus adultes de *Drosophila mélanogaster* traités par l'extrait aqueux de *Cleome arabica*

II.2.1- Action sur la mortalité

Le taux de la mortalité observée chez la *Drosophila melanogaster* traitées par les extraits foliaires de *C. arabica*, dans une durée du temps de 38heures, est présenté dans la figure 9. Il apparait une variation du taux de mortalité entre les lots traités par différentes concentration testés 100% ,80%, 60%, 40%,20% par rapport au témoin (tableau 5).

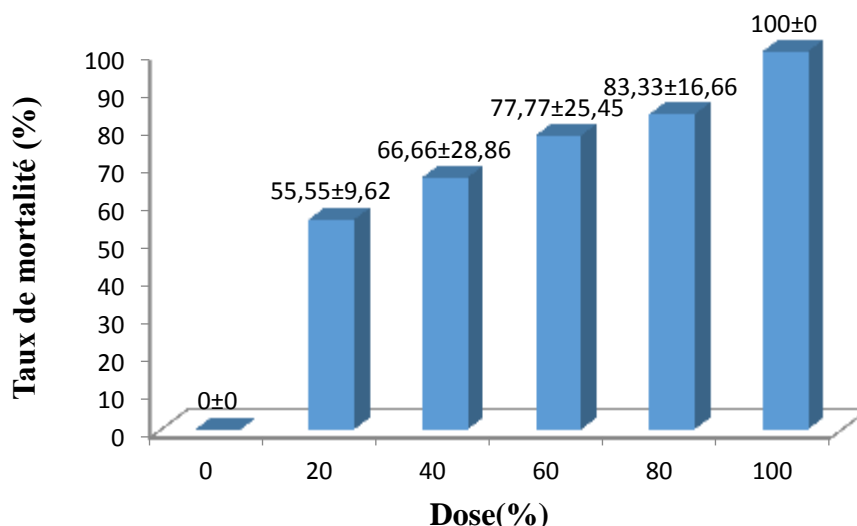


Figure 10: Pourcentage de la mortalité observé chez le chez l'adulte de *Drosophila melangaster* témoins et traitées par différentes concentration des extraits aqueux de *Cleome arabica*

Tableau5:-Taux de Mortalité observée chez l'adulte de *Drosophila melanogaster* traité par l'extrait aqueux de *Cleome arabica*

	Dose					Témoins	Temps
	100%	80%	60%	40%	20%		
	61,11	16,66	11,11	5,55	0,00	0	1h
	77,77	50	22,22	22,22	16,66	0	13h
	88,88	61,11	33,33	33,33	27,77	0	26h
	100,00	83,33	77,77	66,66	55,55	0	38h

Au vu des résultats de la figure 11 et du tableau 5, il est noté que le taux de la mortalité varie selon les concentrations. Les valeurs rapportées pour le lot témoin sont plus différents que celles notées pour les lots traités. Aucune mortalité n'est notée au niveau du lot témoin. L'extrait aqueux de *Cleome arabica* engendre une mortalité totale chez les adultes de *Drosophila mélanogaster*. Au niveau des lots traités par l'extrait aqueux pur de *C. arabica*, le taux de mortalité noté est de 100%. Bien que pour les autres lots des individus traités, les pourcentages de mortalité observés augmentent en fonction de la concentration en extraits appliquée, un pourcentage de mortalité de (83.33)% est noté au niveau du lot traité par l'extrait de *C.arabica* à 80% de concentration, alors que pour les trois autres concentrations soit 60% et 40% et 20%, il est de 77.77% et 66.66% et 55.55% respectivement.

II.2.2- Cinétique de la mortalité observée chez les adultes de *Drosophila mélanogaster* traités par l'extrait aqueux de *C. arabica*

Les résultats relatifs de taux de la mortalité noté pour les individus adultes de *Drosophila melanogaster* traitées par l'extrait aqueux de *C. arabica* sont présentés dans la figure 10, il est apparait que le taux de la mortalité maximal 100% est rapporté pour les extraits 100%.

En effet les taux de mortalité chez les adultes augmentent avec le temps pour atteindre un taux maximal (la mort se produit après l'accumulation d'une certaine quantité de l'extrait dans le corps des adultes). Un taux de mortalité de 100% est atteint au bout de 38 heures, les autres lots des individus traités montrent que les pourcentages de mortalité augmentent en fonction de la concentration et de temps d'exposition. Pour la concentration 80% ; 60 % ; 40%,20% un taux de mortalité est atteint au bout de 38 heure de 83.33% ; 77.77% ; 66.66% ,55.55 respectivement (tableau 6).

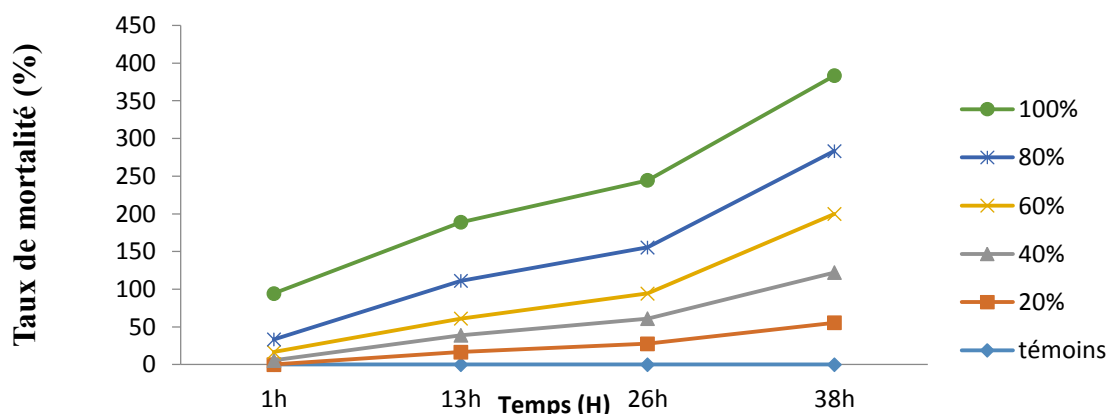


Figure 11- Cinétique de la mortalité observée chez les adultes de *Drosophila melanogaster* traités par l'extrait aqueux de *Cleome arabica*

II.2.3- Dose létale (DL₅₀)

Les tests de l'effet biocide des extraits aqueux de *Cleome arabica* ont été effectués sur l'adultes de *Drosophila melanogaster* afin d'estimer les doses entrainant une mortalité de 50% des adultes selon le modèle des Probits. Au vu des résultats de (tableau 06et 07) et de la (figure10), il est noté que les concentrations qui cause la mortalité de 50% des individus par l'extrait aqueux sont de l'ordre DL₅₀ = 0.071mg/ml (tableau 7).

Tableau 6- Probit correspond en fonction de la concentration des extraits aqueux de *Cleome arabica*

Probit	Mortalité observée (%)	Log C (mg/ml)	Concentration(C) (mg/ml)	Dose
7.614	100	-2,01502	0.00966	100
5.954	83.33	-2,11238	0,00772	80
5,75534	77.77	-2,23687	0,005796	60
5,42628	66.66	-2,41296	0,003864	40
5,13826	55.55	-2,71399	0,001932	20

Tableau 7- Equation de régression et de valeurs des DL₅₀ (dose létal 50) pour l'extrait aqueux de *Cleome arabica*

DL ₅₀	Coefficient de régression	Equation de régression
0,071	R ² = 0,6466	y = 2,8165x + 12,451

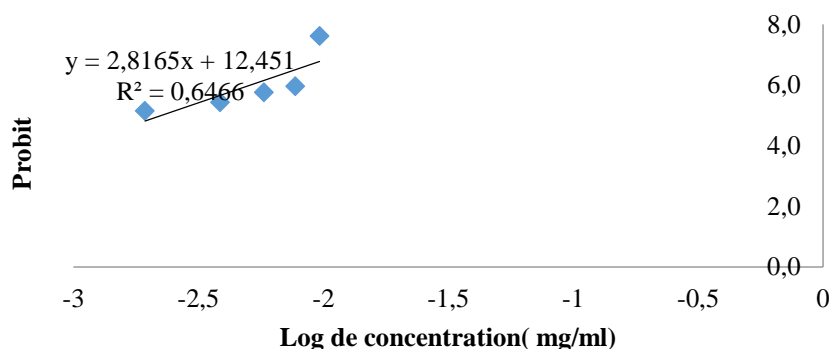
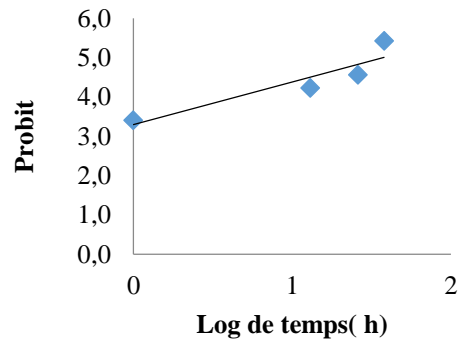
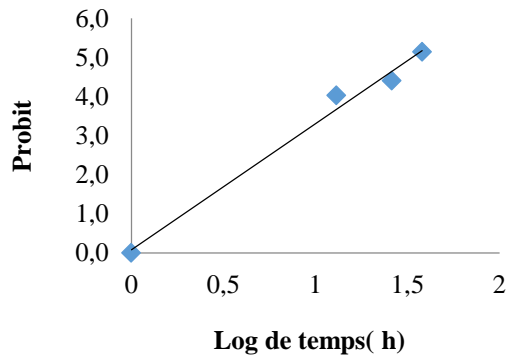


Figure 12-Courbe de probit en fonction de concentration (mg /ml) des extraits aqueux de *Cleome arabica*

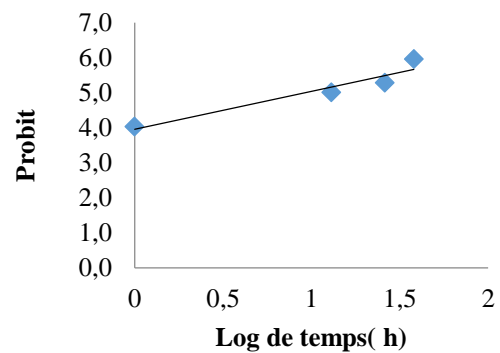
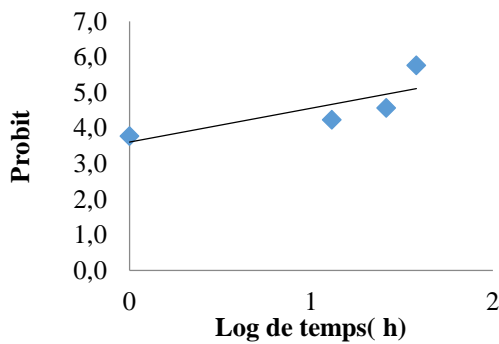
II.2.4- Temps létal 50

Les calculs de temps létal 50% (TL₅₀) ont été effectués en dressant la droite de régression des probits correspondants aux pourcentages des mortalités en fonction des logarithmes des temps de traitement au moyen de la régression figure 13et (tableau 8). Les données sont groupées en classe de temps, dans cette étude en heure. Les méthodes d'analyse de survie permettent d'associer la fréquence et le délai de survie de l'événement étudié qui est la mort des individus. Le temps qui s'écoule entre le début du traitement et la date de la dernière observation est étudié. À la dernière heure du comptage le nombre de survivants, est noté



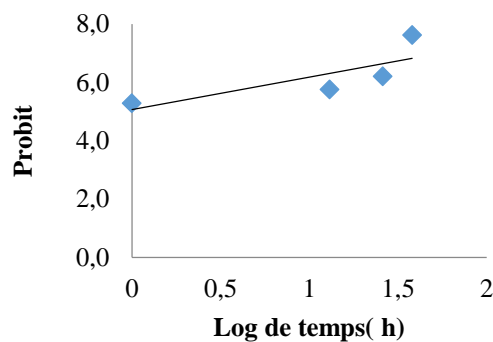
A) Action de l'extrait 20% de *Cleome arabica* dans le temps sur *Drosophila melanogaster*

B) Action de l'extrait 40% de *Cleome arabica* dans le temps sur *Drosophila melanogaster*



C) Action de l'extrait 60% de *Cleome arabica* dans le temps sur *Drosophila melanogaster*

D) Action de l'extrait 80% de *Cleome arabica* dans le temps sur *Drosophila melanogaster*



E) Action de l'extrait pur (100%) de *Cleome arabica* dans le temps sur *Drosophila melanogaster*

Figure 13- (A, B, C, D, E)- Relation entre *Drosophila melanogaster* et la différente concentration de l'extrait aqueux de *Cleome arabica* en fonction de temps

Tableau8 -Equation des droites de régression, coefficients de régressions et valeurs de LT₅₀

évaluées pour l'extraits de *Cleome arabica*

LT ₅₀	Equation de régression et Coefficient de régression	Concentration (%)
0,939188	$y = 1,1125x + 5,0698$ $R^2 = 0,6173$	100
0,96686	$y = 1,0773x + 3,9584$ $R^2 = 0,9179$	80
1,47078	$y = 0,9482x + 3,6054$ $R^2 = 0,6332$	60
1,57904	$y = 1,0792x + 3,2959$ $R^2 = 0,841$	40
1,52594	$y = 3,2245x + 0,0796$ $R^2 = 0,988$	20

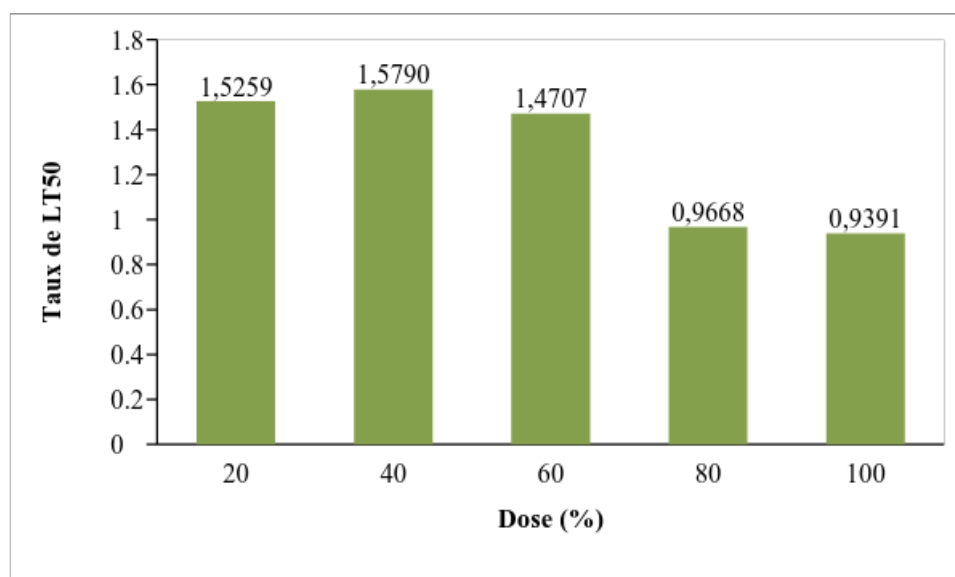


Figure 14 - Temps létale de 50%(LT₅₀) des individus à différentes doses de l'extrait aqueux de *Cleome arabica*

A vu des valeurs de la TL₅₀ de chaque concentration en extrait appliquée testé et la droite de régression des probits en fonction du logarithme des durées de traitement, il apparaît que l'extrait de *Cleome arabica* à 100% semble plus toxique que les autres concentrations. Les résultats du (tableau 08) montrent que l'extrait de *Cleome arabica* à 100% montre une rapidité d'action particulière vis-à-vis les *Drosophila melanogaster*. les autres concentrations 80% ; 60% ;40 % 20% et Le TL50 noté est de l'ordre de 0,9669;1,4708;1,5790;1,526 heure respectivement (Figure 14).

II.3- Effet des extraits aqueux de *Cleome arabica* sur quelques métabolites primaires chez la *Drosophila mélanogaster*

II.3.1- Taux de glucides

II.3.1.1-Taux des sucres totaux

La figure(15) représente le taux de sucre totaux chez les individus adultes de *Drosophila melangaster* témoins et traitées par différentes concentration des extraits aqueux de *Cleome arabica*.

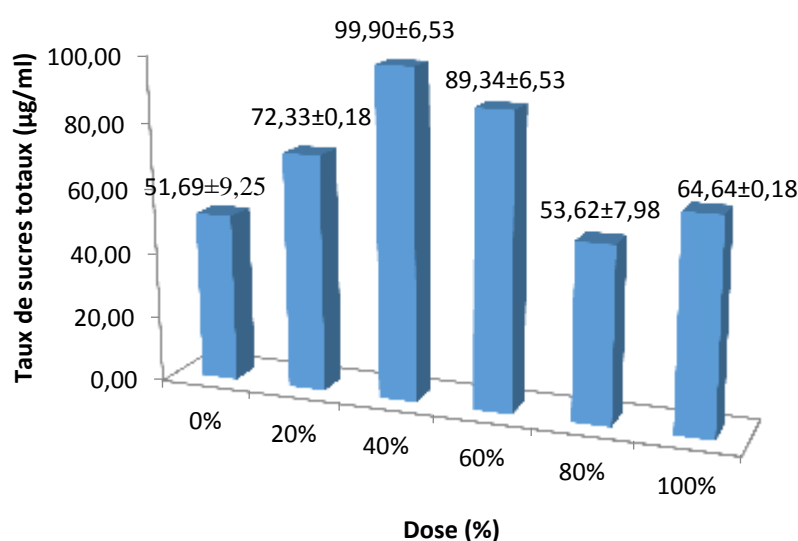


Figure 15 : Taux de sucre totaux chez les adultes de *Drosophila melanogaster* témoins et traités par différentes dose des extraits aqueux de *Cleome arabica*

Au vu des résultats il apparait que le taux de sucre totaux augmente avec la concentration de l'extrait aqueux, il est de 51,69±9,25 µg/ml;72,33±0,18 µg/ml;99,90±6,53 µg/ml;89,34±6,53 µg/ml;53,62±7,98 µg/ml;64,64±0,18 µg/ml rapporté pour la concentration 0% ;20 %;40% ;60% ;80% et 100% respectivement. L'augmentation maximale est enregistrée pour les doses 20 %et 40%. Il semble que les doses les plus faibles de l'extrait aqueux engendrent des coupures au niveau de la liaison osidique des polysaccharides ce qui explique l'augmentation de taux de sucres totaux, alors que les fortes doses provoquent une altération des sucres ce qui explique le taux moins élevés de sucres totaux.

II.3.1.2-Taux de glucose

La figure(16) représente le taux de glucose chez les individus adultes de *Drosophila*

melanogaster témoins et traités par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Cleome arabica*.

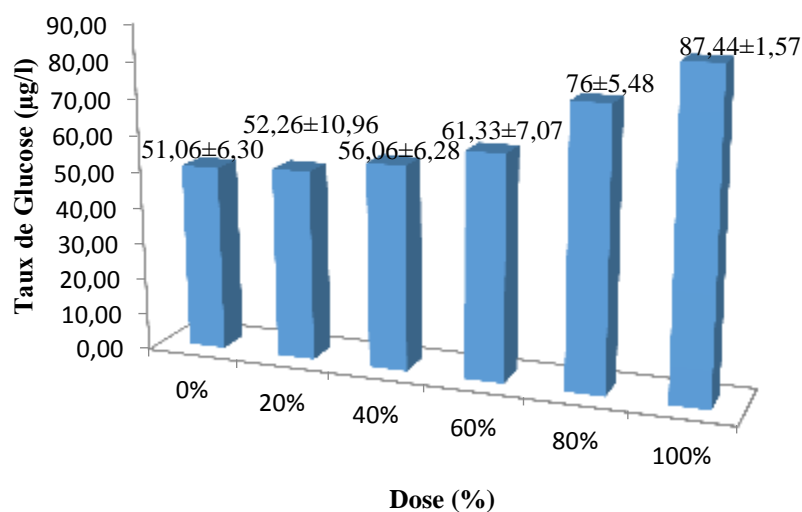


Figure 16: Taux de glucose chez l'adulte de *Drosophila melanogaster* témoins et traités par différentes concentration des extraits aqueux de *Cleome arabica*

Au vu des résultats de taux de glucose noté pour les adultes de *Drosophila melanogaster* traités par l'extrait aqueux, il apparaît une augmentation du glucose en fonction de la dose appliquée, le taux de glucose maximal est de 87,44±1,57 rapporté pour la concentration 100%, le taux de glucose de témoin (0%) ;20 %;40 %;60% ;80% est de 51,06±6,30 ;52,26±10,96 ;56,06±6,28 ;61,33±7,07 ;76±5,48 ;87,44±1,57 µg/ml respectivement.

Il semble que l'extrait aqueux de *Cleome arabica* libère le Glucose à l'intérieur des polysaccharides ce qui provoque une augmentation du taux de glucose.

II.3.2- Taux de protéines

La figure(17) représente le taux de protéines chez les individus adultes de *Drosophila melanogaster* témoins et traités par différentes concentration des extraits aqueux de *Cleome arabica*.

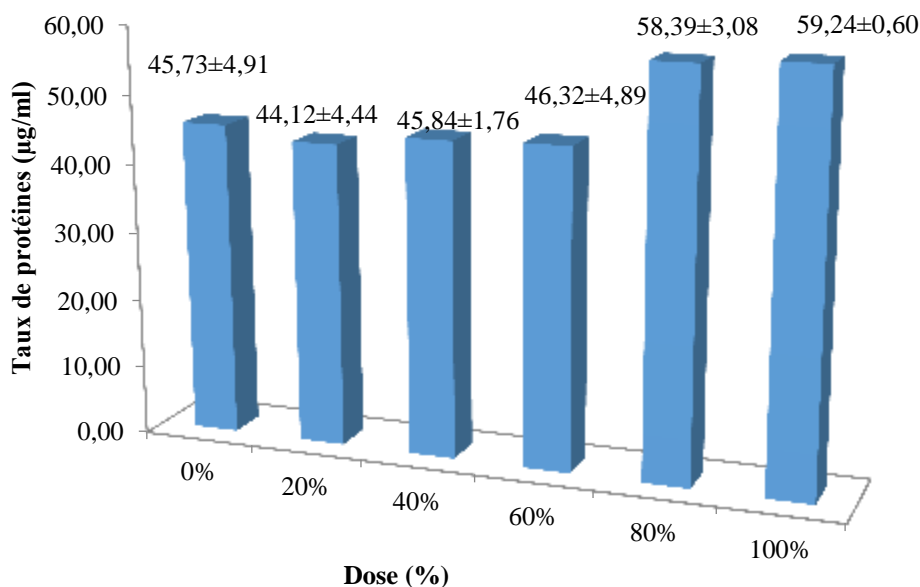


Figure 17 : Taux de protéines chez les individus adultes de *Drosophila melanogaster* témoins et traités par différentes concentration des extraits aqueux de *Cleome arabica*

Au vu des résultats de taux de protéines noté pour les adultes de *Drosophila melanogaster* traitées par l'extrait aqueux, il apparait que le taux de protéines est de $45,73 \pm 4,91 \mu\text{g/ml}$, il semble que les doses de traitement 20 %;40% ;60% n'engendrent pas une variation du taux de protéines par rapport au témoin, alors que les fortes doses 80% et 100% augmentent le taux de proteines avec $58,39 \pm 3,08$; $59,24 \pm 0,60$ respectivement.

II.3.3- Taux de cholestérol

La figure(18) représente le taux de cholestérol chez les individus adultes de *Drosophila melanogaster* témoins et traitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Cleome arabica*.

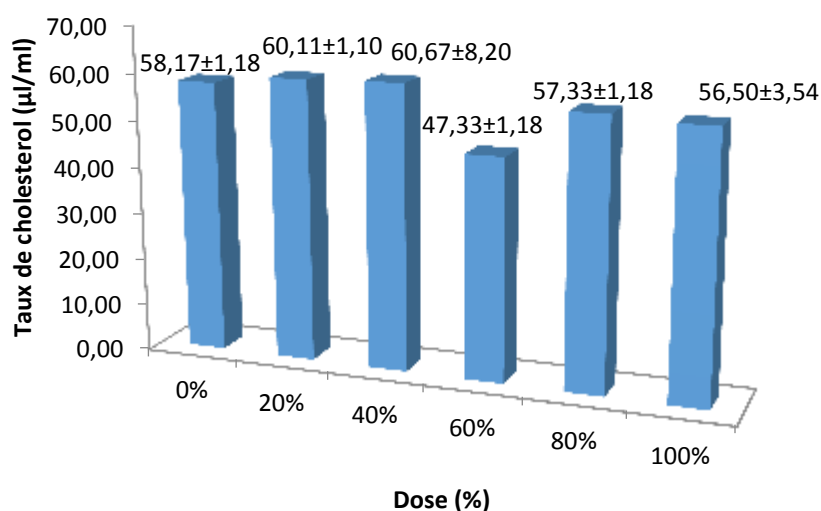


Figure 18: Taux de cholestérol chez l'adulte de *Drosophila melanogaster* témoins et traités par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Cleome arabica*

Au vu des résultats de taux de cholestérol noté pour les adultes de *Drosophila melanogaster* traités par l'extrait aqueux, il apparaît que le taux de cholestérol rapporté pour les individus témoins est de $58,17 \pm 1,18$ µg/ml, les individus traités à différentes doses ne montrent pas une grande variation du taux de cholestérol par rapport aux individus témoins, le taux est de $60,11 \pm 1,10$ µg/ml pour la dose 20%; $60,67 \pm 8,20$ µg/ml pour la dose 40%, $47,33 \pm 1,18$ µg/ml pour la dose 60%; $57,33 \pm 1,18$ µg/ml pour la dose 80% et $56,50 \pm 3,54$ µg/ml pour la dose 100%.

II.4-Discussion

D'après DARRIET *et al.*, (2005), les études en laboratoire réalisées avec la substance active ont montré une bonne activité larvicide du *Caparisspinosa* (*Capparidaceae*), aussi bien sur les souches sensibles aux insecticides citant *Aedesaegypti*, *Anophelesgambiae* et *Culex quinquefasciatus* que celles résistantes aux organophosphorés, aux carbamates et aux pyréthrinoides. Selon les travaux de AOUINTYBOUKHRIS en 2006, les résultats obtenus par les extraits aqueux des poudres végétales, ont montré qu'aucun des 6 extraits testés *Rosmarinisofficinalis* (*Lamiaceae*); *Thymus vulgaris* (*Lamiaceae*); *Salviaofficinalis* (*Lamiaceae*); *Eucalyptus canaldulensis* (*Myrtaceae*); *Artemisiaabsinthium* (*Asteraceae*) et *Organnummajorana* (*Lamiaceae*) ne s'est révélé intéressant en terme de toxicité sur *Aedesaegypti*, malgré cela, les résultats illustrent bien l'intérêt que présentent les extraits aqueux des poudres végétales dans la lutte anti larvaire. L'extrait de

Rosmarinisofficinalis engendre un taux de mortalité plus important par rapport les autres extraits avec une valeur de 17.6% pendant 24h. Alors que les études de BOUDJELIDA, 2011, montrent que l'extrait saponisidique de graine de plusieurs plantes notamment la saponaire, la graine de Cannélie (thé), la lavande, la tomate, pomme de terre. ont une activité insecticide à l'égard des larves du stade 3 et 4 des moustiques *Culex pipiens*.

Ainsi la comparaison des résultats obtenus la mortalité avec les études de STEPHAN *et al.*, (2001) qui ont étudié l'activité nématocide de certains espèces *Cleome*. ils ont signalé toxicité du pétrole brut extrait de différentes plantes y compris par la toxicité de *Cleome* contre les œufs de *Meloidogyne javanica*, un nématode cécidogène du et a constaté que le pré-plantation demande de *Cleome* extraits a entraîné une importante réduction de la racine et une meilleure croissance des plantes (APARADH *et al.*, 2012).

Selon AOUINTY (2006), en étude l'effet toxique d'extrait aqueux des feuilles des ricins (*Ricinus communis*) sur les larves des moustiques (*Aedes*); rapporte que les larves traitées par l'extrait de la partie foliaire de cette plante présente un taux de mortalité de 100% pendant 24 heures. Alors que les travaux de RAGEAU *et al.*, 1979 sur l'effet des extraits alcooliques de plante entière de *Cuscuta epithimum* (*Cuscutoidae*), les résultats obtenus sont : un taux de mortalité de 50 % durant 3 jours après traitement, ce taux augmente avec le temps pour arriver à 100% pendant 7 jours.

BECHROUCH *et al.*, (2010), ont montré l'activité larvicide d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* (*Anacardiaceae*) sur *Ectomyeloiscertoniae* Zeller et *Ephestiakuennilla* Zeller (*Lepidoptera puralidae*). Le TL_{50} rapporté varie de 37.4 h par la dose la plus faible (23ml/l d'air) à 13.3 h pour le plus élevé (68 ml/l d'air) sur *E. ceratoniae*, il varie de 75.3 à 34.3 heures par les doses les plus faibles et les plus élevées respectivement.

Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes connues (Malher et *al*, 1968). Ces dernières entrent dans diverses réactions et peuvent assurer la catalyse biochimique, la régulation hormonale et s'intègrent dans la cellule en tant qu'éléments structuraux en même temps que les glucides et les lipides (Jacobe et *al*, 1961).

Les glucides représentent également l'élément énergétique de l'organisme jouant un rôle essentiel dans le métabolisme des insectes. Les taux de glycogène et de tréhalose, dans les tissus et l'hémolymphe, sont étroitement liés aux événements physiologiques comme la mue et la reproduction (Wiens et *al*, 1968).

Les lipides représentent une partie importante de ces réserves (environ 40% en poids sec) et constitue aussi la principale source d'énergie chez les insectes (Beenakers et *al*, 1985). Ils sont transportés du corps gras, site de leur synthèse et de leur stockage (Keely, 1985) vers les organes utilisateurs (Kilby, 1963) *via* l'hémolymphe pour être utilisés.



Conclusion

Conclusion

Les insectes qui constituent plus de 50% de la diversité de la planète jouent du rôle épidémiologique varié, ce qui fait d'eux un problème majeur de santé publique dont nombreux sont considérés comme étant vecteurs de plusieurs maladies (Zoonoses), raison qui font de ces insectes un bon matériel d'étude pour les biologistes.

En outre, pour lutter contre ces insectes-là. L'utilisation des pesticides chimiques demeure une nécessité certaine, quoique l'usage à outrance de ces produits de synthèse révélé toxique et leurs effets collatéraux sur les écosystèmes naturels soit incontestablement inestimable. Pour cela, la collectivité internationale s'oriente beaucoup plus aux autres moyens de lutte moins nocifs sur l'environnement, tel que la lutte biologique comme l'utilisation des extraits végétaux, qui agit sans effets secondaires sur l'environnement.

Notre étude a été effectuée au niveau de laboratoire région de Ghardaïa, dans le but de mettre en évidence l'impact de la toxicité de quelques extraits de *Cleome arabica* L (*Capparidaceae*) récoltés Aynealmilih (région de Ghardaïa Sahara septentrional et algérien) sur les adultes *Drosophila melanogaster*. A travers cette étude, nous avons apporté notre contribution à l'étude de la toxicité aqueuse des extraits aqueux de *Cleome arabica* (*Capparidaceae*) sur l'adulte de *Drosophila melanogaster*. D'après les tests biologiques, il est noté que l'activité biologique varie selon la concentration et en fonction de temps, il est noté que les valeurs enregistrées pour le lot témoin sont plus faibles que celles notées pour les lots testés au bout de 240 heures. Les résultats obtenus, montrent un taux de mortalité observée de 13.33% observé chez le lot témoin. L'extrait aqueux de *Cleome arabica* produit une mortalité maximale de 100% réalisée par les concentrations de 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, 10%. Alors que pour les doses 20%, 40%, 60%, 80%, on a enregistré une mortalité de 5.55% et 44.44% et 61.11% et 72.22% respectivement. Alors pour l'extrait aqueux le taux de mortalité maximale atteint 100% pour les doses les plus élevées. Cette variabilité est due à la quantité de l'extrait et le temps qui déterminent par une dose létale permet d'effectuer un taux de mortalité de 50% exprimé en 0.093831 mg/ml.

En perspective, pour une meilleure poursuite des travaux de recherche sur des molécules actives, il est souhaitable de prévoir :

- Utiliser des solvants organiques à polarité différente pour l'extraction afin d'extraire les différentes familles de composés chimiques;

- Réaliser des tests avec des différentes concentrations ;

Etudier l'action des extraits végétaux sur d'autres paramètres biologiques et physiologiques notamment sur le métabolisme glucidique et protéique;

- Suivi les tests biologiques par des tests de caractérisation et d'identification phytochimique des extraits végétaux pour identifier le principe actif.

- Application des tests sur le terrain .

-



Références bibliographiques

Références bibliographie

- **KEMASSI A., 2008-** toxicité comparée des quelques plantes acridifuges du Sahara septentrional Est algérien sur les larves du cinq stade et les adultes de *Schistocercagregaria* (Forskil , 1775) Mein .Mag .sp .agres .Univ.KASDI Merbah .ourgla .
- **BOULKENAFET., 2006** – contribution à l'étude de la biodiversité des phlébotomes (Diptera : psychodidae) et appréciation de la faune culicidienne (Diptera : culicidae) dans la région de Skikda . Mémoire magister .Université Mentouri Constantine .
- **BERCHI S., AOUATI A .ET LOUADI., 2012** – typologie des gîtes propices au développement larvaire de *Culex pipiens* /1775 ((Diptera – culicidae) , source de naissance à Constantine (Algérie). *Ecologia mediterranea* –vol.38 (2) :05-15 pp.
- **AOUNTY B., OUFARA S., MELLOUKI F .ET MAHRI S .2006** – évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L .) et du bois de thuya (*tetrachnis articulata* (vahl) Mast.) sur larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspianus*(pallas, *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen) .*Biotechnol .Agron .soc. Environ* .2006 10 (2) , Maroc ,67-71pp .
- **BASSETTI S., 2009-** << nouvelles << maladies infectieuses en Suisse à cause du changement climatique. *Forum Med Suisse* 9 (50), p : 905-910 pp.
- **BERCHI, 2000** – Résistance des certaines population de *Culex pipiens* L . au malation à Constantine (Algérie) .*Bull. Soc .Ent .France* 105 (2) :125-129 pp.
- **SOLTANI N., REHIMI N., DRARDJA H .ET BENDALT F., 1999** – Activité du triflumuron à l'égard de *Culex pipiens* et impacts deux espèces larvivores non visées.- *Annales de la société Entomologique de France* (N. S.), 35 :59-64pp.
- **BOYER S., 2006** –Résistance métallique des larves de moustiques aux insecticides. Thèse de docteur, Université Joseph Fourier Grenoble. p : 8,7.
- **NAGAYA H., TOBITA Y., NAGAE T., ITOKAWA H., TAKEYA K., HALIMT O .B .1997** – cytotoxic triterpenes from *cleome* Africana .
- **Strong C. A., Koehler P. G. Patterson R. S., 2000.** Oral toxicity and repellency of borates to German cockroach (Diptera : Blattellidae). *J. Econ. Entomol*, **86(5)**: 1458-1463.
- **Cassier P., Lafont R., Descamps M., Porchet M. & Soyeux D., 1997.** La reproduction des invertébrés: stratégies, modalités et régulation. *Edition Masson.*, 354 p.
- **OULDELHADJ M.D., DAN-BADJO AT., HALOUA NE F., ET DOUMANDJI, S., 2007.** Étude du cycle biologique de *Schistocerca gregaria* (Forskål , 1775) (Orthoptère, Acrididae) sur le chou *Brassica oleracea* L. (Brassicaceae) en laboratoire. *L'Entomologiste* , 63(1) : 7-12.
- **KEMASSI A., 2008.**Toxicité comparée des extraits de quelques plantes acridifuges du Sahara septentrional Est algérien sur les larves du cinquième stade et les adultes de *Schistocercagregaria*(Forskål, 1775)Mém. Mag. Sp .agro. Univ . KASDI Merbah .Ouargla.

- **Shorrock, B. (1982).** The breeding sites of temperate woodlands *Drosophila*. In M. Ashburner, H. L. Carson, & J. N. J. Thompson (Eds.), *The genetics and biology of drosophila*, Vol. 3b (pp.385-428). New York: Academic Press.
- **McKenzie, J. A. (1974).** The distribution of vineyard populations of *Drosophila melanogaster* during vintage and non-vintage periods. *Oecologia*, **15**: 1-16.
- **McKenzie, J. A., & Mc Kechnie, S. W. (1979).** A comparative study of resource utilization in natural populations of *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Oecologia*, **40**: 299-309.
- **Hoffmann, A. A., & Parsons, P. A. (1991).** *Evolutionary genetics and environmental stress*, (284 p.). Oxford University Press.
- **McCoy, C. E. (1962).** Population ecology of the common species of *Drosophila* in Indiana. *J. Econ. Entomol.*, **55**: 978-985.
- **APARADH et al ., 2012).** Taxonomy and PHiological Studies In Spider Flower (*Cleome* species) :A Critical Review. *Plant Sciences Feed* **2 (3)** : 25- 46
- **STEPHAN, I.D. , Coetze ,V., Law Smith, M . J. and Perrett, D.I. (2009)** kin lood perfusion and oxygenation color affect perceived human health , *PloSONE* ,4,e 5083.
- **DARRIET F ., 1987-**Evaluation sur le terrain de trois inibiteurs de croissance, deux ecdysoïdes et un juvénile, dans la lutte contre *Anopheles gambiae* .Cahiers ORSTOM serEnt .med. et Parasitol. Numéro spécial Pp 113-119.
- **DARRIET F. , 1998** –La lutte contre les moustiques nuisants et vecteurs de maladies. Paris karthala/Orstom, cool. Economie et développement, 114 p.
- **AOUINTY B , OUFARA S , MELLOUKI F , MAHARI S ., 2006-**Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du racin (*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)*. *Biotechnol. Agron. Soc . Environ.* **10 (2)**, Maroc, 67-71.
- **BOUDJELIDA H ,2011** – Activité biologique de la saponine contre les larves de moustiques *Culex pipiens (Diptera , culicidae)* Univ .BADJI Mokhtar ,Annaba .
- (TALBI H., DOGHBAL M., 2016).
- **Doumas. B.T., et al.:** *Clin. Chem.* 27:1642 (1981).
- **Abell L. et al.** *Standard Methods in Clinical Chemistry* 1958; 26:2.
- **Allain C.C. et al.** *Clin Chem* 1974;20:470
- **Burchard H.** *Beiträge zur Kenntnis der Cholesterine.* Dissertation Rostock 1889.
- **Cohn J.S., McNamara J.R., Schaefer E.J.** Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the plasma of Human Subjects as Measured in the fed and Fasted States. *Clin. Chem* 1988;34:2456-2459
- **Glick M.R., Ryder K.W., Jackson S.A.** Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470- 474
- **Greinling H., Gressner A.M.** eds. *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie.* 3rd ed. Stuttgart/New York:Schattauer, 1995
- **Liebermann C.** *Ber Dtschchem Ges* 1885; 18:1803

Références bibliographies :

- **Pisani T., Gebski C.P., Leary E.T. et al.** Accurate Direct Determination of Low-density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. *Arch. Pathol Lab Med* 1995;119:1127
- . Recommendations for Improving Cholesterol Measurement: A Report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. NIH Publication No. 90-2964, February 1990
- **10. Roeschlau P. et al.** *Z Klein Chem Klein Biochem* 1974;12:226
- **DOUMAS B.T., et al.** (1981). *Clin. Chem.* 27:1642



Annexe

Annexe I. Extraction des métabolites primaires

Extraction des métabolites primaires

(Annexe 01.....) 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 pendant 20 mn dans une centrifugeuse. Le surnageant est récupéré à l'aide d'une micropipette, qui servira pour le dosage des glucides, de protéines et de cholestérol.

Annexe II. Le dosage des sucres totaux

1-Mode opératoire

100 μ L de l'échantillon à doser est mélangé avec 100 μ L de la solution de Phénol 5 % ;et 500 μ L d'acide sulfurique (80 %) et Incuber à 90° C pendant 30 min .L'absorbance est mesurée à 450 nm. Une gamme étalon (0 à 0.16 g/L) du glucose permet de calculer la concentration des sucres totaux (Annexe 02....).

2-Gamme d'étalonnage

Tube N°	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Essai 1
Solution de glucose (2g/L)	0	0.020	0.040	0.060	0.080	0.100	0.120	0.140	0.160	200ul
Eau distillée	2	1.98	1.96	1.94	1.92	1.90	1.88	1.86	1.84	0
Concentration finale dans chaque tube(ug)	0	20	40	60	80	100	120	140	160	
Phénol(5%)(ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
H2SO4 (80 %)(ml)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Au bain marie à 90°C	30min	30min	30min	30min	30min	30min	30min	30min	30min	30min
A 450	0	0.033	0.094	0.314	0.280	0.32	0.395	0.456	0.689	

3- Courbe d'étalonnage

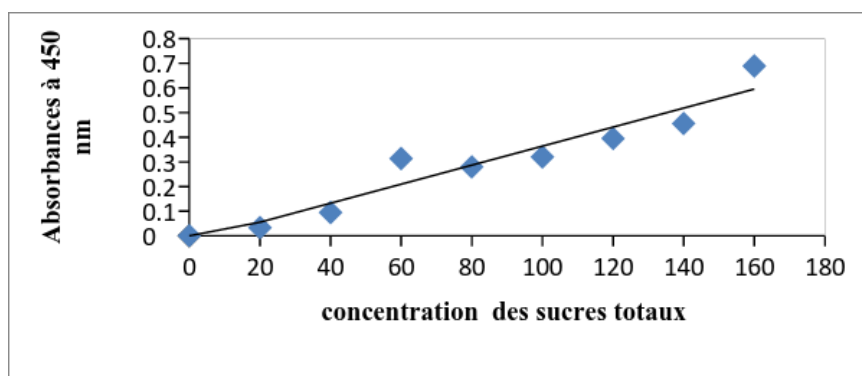


Figure 01- la courbe d'étalonnage des sucres totaux par la méthode de Dubois et aL

Tableau 01 : préparation différent dilution

160	140	120	100	80	60	40	20	0	Concentration finale dans chaque tube(ug)
0.689	0.456	0.395	0.32	0.28	0.314	0.094	0.033	0	L'absorbanceà 450 nm

Tableau 02-Équation de régression, coefficient de régression et taux de sucre totaux

Taux de sucre totaux µg/ml	Equation de régression et Coefficient de régression	Dose
27,97	$y = 0,0039x - 0,0221$ $R^2 = 0,9224$	Témoin
68,74	$y = 0,0039x - 0,0221$ $R^2 = 0,9224$	20%
101,05	$y = 0,0039x - 0,0221$ $R^2 = 0,9224$	40%
150,79	$y = 0,0039x - 0,0221$ $R^2 = 0,9224$	60%
33,10	$y = 0,0039x - 0,0221$ $R^2 = 0,9224$	80%
190,03	$y = 0,0039x - 0,0221$ $R^2 = 0,9224$	100%

Annexe III. Dosage du glucose

1-Mode opératoire

10ul de l'échantillon à doser est mélangé avec 1ml de réactif enzymatique, puis incubé à 37° pendant 20min. L'absorbance est mesurée à 546 nm. Une gamme étalon (0 à 100ug de glucose) permet de calculer la concentration des sucres totaux (Annexe 3)

2-Gamme d'étalonnage

Tube N°	0	1	2	3	4	5	Essai 1 Echantillon de	Essai 2 Echantillon de
Etalon(100ug/ml)	0	0.02	0.025	0.1	0.175	0.2		
Eau distillée (ml)	0.2	0.180	0.175	0.1	0.025	0		
Concentration final (ug/ml)	0	10	25	50	75	100		
BLEU DE coomassie(ml)	5	5	5	5	5	5	5	5
Temp de repos A595	2min	2min	2min	2min	2min	2min	2min	2min

3- Courbe d'étalonnage

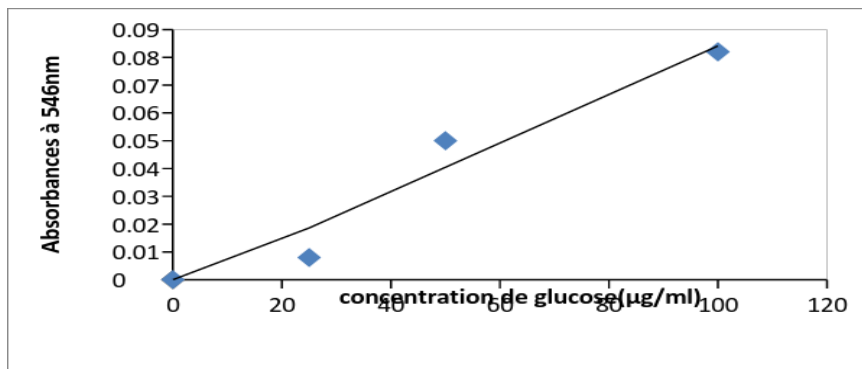


Figure 02- la courbe d'étalonnage des glucoses

100	50	25	0	Concentration final (ug/ml)
0.082	0.05	0.008	0	A 546

Tableau 03-Équation de régression, coefficient de régression et taux de glucose

Taux de glucose	Equation de régression et Coefficient de régression	Dose
0,035	$y = 0,0009x - 0,0032$ $R^2 = 0,9501$	Témoin
0,043	$y = 0,0009x - 0,0032$ $R^2 = 0,9501$	20%
0,038	$y = 0,0009x - 0,0032$ $R^2 = 0,9501$	40%
0,081	$y = 0,0009x - 0,0032$ $R^2 = 0,9501$	60%
0,058	$y = 0,0009x - 0,0032$ $R^2 = 0,9501$	80%
0,186	$y = 0,0009x - 0,0032$ $R^2 = 0,9501$	100%

Annexe IV. Dosage de protéines selon la méthode de Bradford (1976)

Mode opératoire

200ulde l'échantillon à doser est mélangé avec 5000 ul de réactif au bleu de commassie (Annexe04...).Après 2 min d'incubation, la lecture des absorbances est réalisée à 595 nm. Une gamme étalon (0 à 100ug de protéines) avec le sérum albumine bovin (BSA) est préparée à fin de déterminer le taux de protéines (Annexe04.)

2-Gamme d'étalonnage

Tube N°	0	1	2	3	4	5	Essai 1 Echantillon de	Essai 2 Echantillon de
Etalon(100ug/ml)	0	0.02	0.025	0.1	0.175	0.2		
Eau distillée (ml)	0.2	0.180	0.175	0.1	0.025	0		
Concentration final (ug/ml)	0	10	25	50	75	100		
BLEU DE coomassie(ml)	5	5	5	5	5	5	5	5
Temp de repos	2min	2min	2min	2min	2min	2min	2min	2min
A595								

3- Courbe d'étalonnage

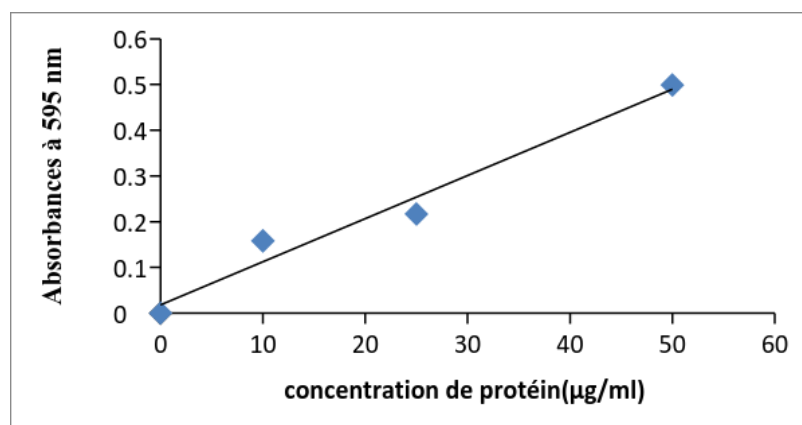


Figure 03- la courbe d'étalonnage des protéines

50	25	10	0	Concentration final (ug/ml)
0.499	0.217	0.158	0	A595 nm

Tableau 04-Équation de régression, coefficient de régression et taux de protéines

Taux de protéines	Equation de régression et Coefficient de régression	Dose
47,22	$y = 0,0094x + 0,0181$ $R^2 = 0,9704$	Témoin
48,39	$y = 0,0094x + 0,0181$ $R^2 = 0,9704$	20%
37,44	$y = 0,0094x + 0,0181$ $R^2 = 0,9704$	40%
51,16	$y = 0,0094x + 0,0181$ $R^2 = 0,9704$	60%
64,78	$y = 0,0094x + 0,0181$ $R^2 = 0,9704$	80%
73,07	$y = 0,0094x + 0,0181$ $R^2 = 0,9704$	100%

Annexe V. Dosage de cholestérol

Mode opératoire

200ulde l'échantillon à doser (contenant au maximum 50ug de protéines) est mélangé avec 5000 µl de réactif au bleu de commassie. La lecture des absorbance est réalisée à 546nm après 10 min d'incubation. Une gamme étalon (0 à 100ug de cholestérol) avec le cholestérol pur permet de déterminer le taux de cholestérol dans l'extrait de l'insecte (annexe5)

2-Gamme d'étalonnage

Tube N°	0	1	2	3	4	5	Essai 1 Echantillon de	Essai 2 Echantillon de
Etalon(100ug/ml)	0	0.02	0.025	0.1	0.175	0.2		
Eau distillée (ml)	0.2	0.180	0.175	0.1	0.025	0		
Concentration final (ug/ml)	0	10	25	50	75	100		
Cholestérol	5	5	5	5	5	5	5	5
Temp de repos	10min	10min	10min	10min	10min	10min	10min	10min
A546								

3- Courbe d'étalonnage

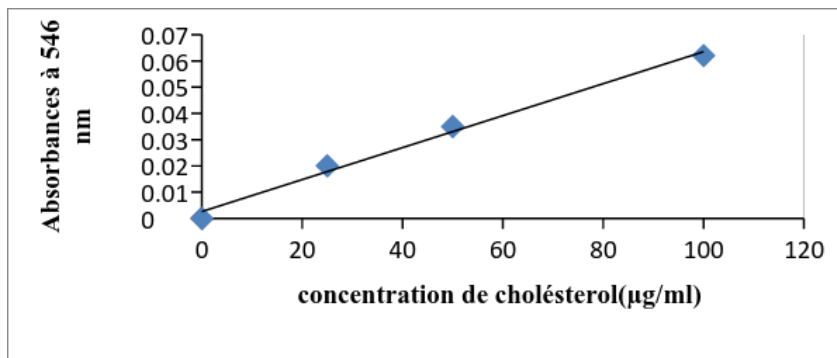


Figure 04- la courbe d'étalonnage des cholestérols

100	50	25	0	Concentration final (ug/ml)
0,062	0,035	0,02	0	A 546 nm

Tableau 05-Équation de régression, coefficient de régression et taux de cholestérol

Taux de cholestérol	Equation de régression et Coefficient de régression	Dose
72,33	$y = 0,0006x + 0,0026$ $R^2 = 0,9914$	Témoin
437,33	$y = 0,0006x + 0,0026$ $R^2 = 0,9914$	20%
25,67	$y = 0,0006x + 0,0026$ $R^2 = 0,9914$	40%
24	$y = 0,0006x + 0,0026$ $R^2 = 0,9914$	60%
22,33	$y = 0,0006x + 0,0026$ $R^2 = 0,9914$	80%
57,33	$y = 0,0006x + 0,0026$ $R^2 = 0,9914$	100%

Annexe VI. Préparation de réactif de bleu de Coomassie

- Dissoudre 10mg de Coomassie Brillant Bleu G-250 dans 5ml d'éthanol à 95%
- Agiter énergiquement pour favoriser la dissolution du colorant
- Ajouter ensuite 10ml d'acide phosphorique à 85%
- Ajuster le volume à 100 ml avec l'eau distillée
- Filtrer pour éliminer le colorant non dissout

la solution est stable 1 à 2 semaine au froid

Résume :

L'étude porte sur l'effet biologique d'extraits aqueux de *Cleome arabica* L.(capparidaceae) récoltée à Aynemilhe région de Ghardaïa , Sahara septentrional sur les adultes de *Drosophila melanogaster* révèlent une toxicité de cette extrait sur cet insecte par contacte et par ingestion .la toxicité par contacte montre un taux de mortalité de 100% est obtenu pour l'extrait pure (100%) et des taux de l'ordre de 72.22% ;61.11% ;44.44% et 5.55% pour les concentration 80% ;60% ;40% ;20% respectivement. la toxicité par ingestion présente un taux mortalité de 100% est obtenu pour l'extrait pure (100%) et de l'ordre 83.33 % ;77.77% ;66.66% ;55.55% pour les concentration 80% ;60% ;40% ;20% respectivement. Le temps létale (TL50) le plus coure par contacte est 1,6718 min pour la dose 100% .pour la toxicité par ingestion le TL50 le plus coure est de 0, 9391 heure pour les concentrations 100 % . La dose létale 50(DL50) évaluée étant de 0,093831mg/ml pour la toxicité par contact et de 0, 070971 mg/ml pour la toxicité par ingestion. le taux de sucre totaux augmente avec la concentration de l'extrait aqueux. L'augmentation maximale est enregistrée pour les doses 40 % avec $99,90 \pm 6,53 \mu\text{g/ml}$. Le taux de glucose augment en fonction de la dose appliquée, le maximum d'augmentation est de $87,44 \pm 1,57 \mu\text{g/ml}$ rapporté pour la concentration 100%. les fortes doses 80% et 100% augmentent le taux de proteïns avec $58,39 \pm 3,08$; $59,24 \pm 0,60$ respectivement. il apparait que les extraits foliaires de *C.arabica* n'a pas d'effet sur le taux de cholestérol in vitro .l'extrait aqueux de *Cleome arabica* possède des propriétés insecticide chez la *D. melanogaster*.

Mots clé : *Cleome arabica*, extrait, *Drosophila melanogaster*, dose létale, temps létale.

Abstract :

The study examines the biological effects of foliar extracts of *Cleome arabica* L. (capparidaceae) harvested from Ghardaïa region northern Sahara on adult *Drosophila Melanogaster* reveal the toxicity of this extract on the insect by contact and ingestion.

For contact assay, a 100% of mortality rate has been obtained for the pure extract (100%) and rates in order of 72.22%, 61.11%, 44.44% and 5.55% for the concentrations of 80%, 60%, 40%, 20% respectively. A 100% of mortality rate has been obtained for pure extract (100%) and 83.33%, 77.77%, 66.66%, 55.55% for the concentration of 80%, 60%, 40%, 20% respectively.

The lethal time (TL50) per contact was 1.6718 min and 1.6728 min, 1.6853min, 1.7544min, 2.8658min for the 100%, 80%, 60%, 40% and 20% doses.

And for ingestion assay was 0, 9391; 0.9669; 1.4708; 1.5790; 1.526 hours for the concentrations 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, respectively.

The lethal dose 50 (LT50) obtained was 0.093831mg / ml per contact; And 0.070971 mg / ml by ingestion

The total sugar level increases with the concentration of the aqueous extract, with $51.69 \pm 9.25 \mu\text{g} / \text{ml}$, $72.33 \pm 0.18 \mu\text{g} / \text{ml}$, $99.90 \pm 6.53 \mu\text{g} / \text{ml}$, $89.64 \pm 6.53 \mu\text{g} / \text{ml}$, $53.62 \pm 7.98 \mu\text{g} / \text{ml}$, $64.64 \pm 0.18 \mu\text{g} / \text{ml}$ reported for concentration 0%, 20%, 40%, 60%, 80% % And 100%, respectively. The maximum increase has been recorded for the 20% and 40% doses.

There was an increase in glucose as a function of the dose applied, the maximum glucose level was 87.44 ± 1.57 for the 100% concentration,

The high doses of 80% and 100% increase the level of proteins with 58.39 ± 3.08 , 59.24 ± 0.60 respectively.

It appears that the cholesterol level reported for the control individuals was $58.17 \pm 1.18 \mu\text{g} / \text{ml}$

Keywords: *Cleome arabica*, extract, *Drosophila melanogaster*, , lethal dose , lethal time.

ملخص:

تركز الدراسة على التأثيرات البيولوجية للمستخلصات نبات مائي من النتيل (*Capparidaceae*) تحصد عين الملح بمنطقة غرداية، شمال الصحراء على البالغين من ذبابة الفاكهة (*Drosophila melanogaster*). تشير سمية هذا المستخلص على الحشرة عن طريق الاتصال والابتلاع.

لرقي سمية المستخرجة عن طريق الاتصال، يتم الحصول على معدل وفيات 100% لاستخراج مستخلص النقي (100%) وحوالي 72.22%، 61.11%، 44.44% و 5.55% للتركيز 80%، 60%، 40%، 20% على التوالي. أما عن طريق الابتلاع فمعدل وفيات 100% لمستخرج نقي (100%) وحوالي 83.33%، 77.77%، 66.66%، 55.55% تركيز 80%، 60%، 40%، 20% على التوالي.

الوقت القاتل (LT50) عن طريق الاتصال هو 1.6718 و 1.6728 دقيقة، 1.6853، 1.7544، 2.8658 دقيقة للتركيز 100%، 80%، 60%، 40% و 20% وهو عن طريق الابتلاع 0.9669، 1.4708، 1.5790، 1.5261، 1 ساعة لتركيز 100%، 80%، 60%، 40%، 20% على التوالي.

الجرعة القاتلة 50 (TL50) يجري تقييمها 0، 093831 مغ / مل عن طريق الاتصال . اما عن طريق الابتلاع 0.070 971 ملغ / مل .

يزداد إجمالي السكر مع تركيز المستخلص المائي، هو من 9.25 ± 51.69 ميكروغرام / مل، 72.33 ± 0.18 ميكروغرام / مل، 6.53 ± 99.90 ميكروغرام / مل، 6.53 ± 89.34 ميكروغرام / مل، 7.98 ± 53.62 ميكروغرام / مل، 0.18 ± 64.64 ميكروغرام / مل أفادت تراكيز 0%، 20%، 40%، 60%، 80% و 100% على التوالي. يتم تسجيل الزيادة القصوى للجرعات 20% و 40%. يبدو زيادة في مستوى الجلوكوز بزيادة الجرعة المطبقة، وأقصى مستويات السكر من 1.57 ± 87.44 لتركيز 100%. زيادة البروتينات 3.08 ± 58.39 ، 0.60 ± 59.24 لتركيز 80% و 100% على التوالي. يبدو أن الكولسترول بلغ من 1.18 ± 58.17 ميكروغرام / مل بنسبة لتركيز 0%.

كلمات البحث: النتيل، مستخلص نباتي، ذبابة الفاكهة، جرعة قاتلة، والوقت القاتل.