

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques



N° d'enregistrement :
/...../...../...../...../

THESE

**En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat ès sciences
en Biologie**

**Cholinestérases et toxicité d'extraits de quelques
plantes acridicides ou acridifuges chez *Schistocerca
gregaria* (Forskål, 1775)**

Présentée par

Madame HAMID OUDJANA Aïcha

Le 03/06/2017

Devant le jury

OULD EL HADJ-KHELIL Aminata	Professeure	Univ. Ouargla	Présidente
OULD EL HADJ Mohamed Didi	Professeur	Univ. Ouargla	Directeur de thèse
ZAIDI Rachida	Professeure	Univ. Bejaia	Examinatrice
OUAKID Mohamed Laid	Professeur	Univ. Annaba	Examineur
BOURAS Noureddine	Professeur	Univ. Ghardaïa	Examineur
SALHI Nesrine	MCA	Univ. Ouargla	Examinatrice

Année universitaire 2016/2017

Dédicaces

A la mémoire de mon défunt père qui ma beaucoup encouragé et soutenu dans mes études
j'espère que tu es fier de moi là où tu es,

A ma très chère mère,

A mon mari pour son sacrifice et son effort consenti,

A mes adorables enfants Salaheddine et Mounir,

A toute ma famille et ma belle famille réunies,

Ce modeste travail est dédié.

Remerciements

Qu'il me soit permise de remercier ici profondément tout d'abord, *Dieu* tout Puissant pour m'avoir permis d'arriver à ce stade.

Mes remerciements les plus vifs s'adressent à mon directeur de thèse, Monsieur OULD EL HADJ Mohamed Didi, Professeur au département de biologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université Kasdi Merbah Ouargla, qui m'a accordé l'honneur de diriger ce travail, pour ses enseignements, sa précieuse aide, ses encouragements, ses précieux conseils, son soutien, pour sa patience et sa compréhension, encore merci.

Mes sincères remerciements vont également à Madame OULD EL HADJ-Khelil Aminata, Professeure au département de biologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université Kasdi Merbah Ouargla, de me faire l'honneur de présider le jury et d'apprécier mon travail. Mes remerciements s'adressent aussi aux membres du jury en particulier Monsieur OUAKID Mohamed Laid, Professeur au département de Biologie à l'université de Annaba, je lui rends hommage pour avoir accepté de faire partir du jury. J'adresse mes sincères remerciements à Madame ZAIDI Rachida, Professeure au département de Biologie à l'université de Bejaia, pour avoir accepté d'être rapporteur de ce travail. Je tiens à remercier aussi Monsieur BOURAS Noureddine, Maître de conférences au département de Biologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université de Ghardaïa, merci pour votre aide. Mes gratitudes vont à Mademoiselle SALHI Nesrine, Maître de conférences au département de Biologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université Kasdi Merbah Ouargla. Permettez moi ainsi de vous exprimer ma profonde gratitude, ma vive reconnaissance et mes profonds respects.

Je ne pourrais oublier de remercier Monsieur KEMASSI Abdellah, Maître de conférences au département de biologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université de Ghardaïa, pour ses conseils, ses suggestions et ses encouragements, une fois de plus merci.

Je remercie également les membres du laboratoire Protection des Ecosystèmes en zone arides et Semi-arides, pour leur sympathie et leur aide sur le plan scientifique et humain.

Je tiens aussi à exprimer ma gratitude à monsieur HADJ MAHAMED Mahfoud, Professeur de l'université Kasdi Merbah Ouargla et à Monsieur HAMDI AISSA Lakhdar, Maitre assistant à l'université Kasdi Merbah Ouargla, qui m'ont encouragé et conseillé lors de la réalisation de ce travail.

Un merci spécial pour mes collègues et amis de l'université Kasdi Merbah-Ouargla et de l'université de Ghardaïa qui ont contribué par leur soutien et amitié, chacun à sa façon, à la progression de mon travail.

Mes remerciements vont également à l'adresse de toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine catalysée par l'acétylcholinestérase.....	07
2	Structure tridimensionnelle d'un monomère de l'acétylcholinestérase du <i>Torpedo californica</i>	08
3	Différentes formes asymétriques.....	09
4	Localisation des liaisons disulfures dans la forme A12.....	10
5	Différentes formes globulaires.....	11
6	Site catalytique d'acétylcholinestérase (ES: site estérasique, AS: site anionique).....	12
7	Mécanisme d'hydrolyse de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase.....	13
8	Différents types et diversité moléculaire des cholinestérases.....	15
9	Structure de l'Acétylcholine.....	17
10	Synthèse de l'Acétylcholine.....	17
11	Molécule de la Nicotine extraite de <i>Nicotiana tabacum</i> (L., 1753) (Solanaceae).....	21
12	Molécule de Pyrethrini extraite de <i>Chrysanthemum roseum</i> (Grierson, 1974) (Asteraceae) et <i>Chrysanthemum cinerariaefolium</i> (L., 1753) (Asteraceae).....	21
13	Molécule de Precocéne anti hormone juvénile extraite de <i>d'Ageratum houstonianum</i> (Mill, 1768) (Asteraceae).....	22
14	Molécule de Roténone extraite de <i>Derris</i> sp.et de <i>Lonchocarpus nicou</i>	23
15	Molécule de Forskoline extraite de <i>Coleus forskohlii</i> et molécule de Octopamine.....	24
16	Chlordiméforme et caféine.....	25
17	Poids initial des individus femelles et mâles de <i>S. gregaria</i> traités par les huiles essentielles de <i>Cleome arabica</i> et de <i>Colocynthis vulgaris</i>	44
18	Temps de mortalité chez les individus femelles et mâles de <i>S. gregaria</i> traités par les huiles essentielles de <i>Cleome arabica</i> et <i>Colocynthis vulgaris</i>	47
19	Rythme cardiaque chez les individus femelles et mâles de de <i>S. gregaria</i> traités par les huiles essentielles de <i>Cleome arabica</i>	49
20	Activité d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de de <i>S. gregaria</i> traités par les huiles essentielles de <i>Cleome arabica</i>	52

21	Taux de protéines chez les individus femelles et mâles de de <i>S. gregaria</i> traités par les huiles essentielles de <i>Cleome arabica</i>	54
22	Activité spécifique d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de <i>S. gregaria</i> traités par les huiles essentielles de <i>Cleome arabica</i>	55
23	Rythme cardiaque chez les individus femelles et mâles de <i>S. gregaria</i> traités par les huiles essentielles de <i>Colocynthis vulgaris</i>	57
24	Activité d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de <i>S. gregaria</i> traités par les huiles essentielles de <i>Colocynthis vulgaris</i>	59
25	Taux de protéines chez les individus femelles et mâles de <i>S. gregaria</i> traités par les huiles essentielles de <i>Colocynthis vulgaris</i>	62
26	Activité spécifique d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de <i>S. gregaria</i> traités par les huiles essentielles de <i>Colocynthis vulgaris</i>	63

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Analyse de la variance appliquée au rythme cardiaque chez les individus femelles et mâles de <i>Schistocerca gregaria</i> traités par les extraits foliaires de <i>Cleome arabica</i>	50
2	Analyse de la variance appliquée sur l'activité d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de <i>Schistocerca gregaria</i> traités par les extraits foliaires de <i>Cleome arabica</i>	52
3	Analyse de la variance appliquée sur le taux de protéines chez les individus femelles et mâles de <i>Schistocerca gregaria</i> traités par les extraits foliaires de <i>Cleome arabica</i>	54
4	Analyse de la variance appliquée de l'activité spécifique d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de <i>Schistocerca gregaria</i> traités par les extraits foliaires de <i>Cleome arabica</i>	56
5	Analyse de la variance appliquée au rythme cardiaque chez les individus femelles et mâles de <i>Schistocerca gregaria</i> traités par les extraits foliaires de <i>Colocynthis vulgaris</i>	58
6	Analyse de la variance appliquée sur l'activité d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de <i>Schistocerca gregaria</i> traités par les extraits foliaires de <i>Colocynthis vulgaris</i>	60
7	Analyse de la variance appliquée sur le taux de protéines chez les individus femelles et mâles de <i>Schistocerca gregaria</i> traités par les extraits foliaires de <i>Colocynthis vulgaris</i>	62
8	Analyse de la variance appliquée de l'activité spécifique d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de <i>Schistocerca gregaria</i> traités par les extraits foliaires de <i>Colocynthis vulgaris</i>	64
9	Test de corrélation entre les mesures neurochimiques (Activité d'enzyme cholinestérase, activité spécifique et taux de protéines) et les mesures physiologiques ou comportementales (taux de mortalité et rythme cardiaque) chez les individus femelles et mâles de <i>Schistocerca gregaria</i> traités par les extraits foliaires de <i>Cleome arabica</i>	65
10	Test de corrélation entre les mesures neurochimiques (Activité d'enzyme cholinestérase, activité spécifique et taux de protéines) et les mesures physiologiques ou comportementales (taux de mortalité et rythme cardiaque) chez les individus femelles et mâles de <i>Schistocerca gregaria</i> traités par les extraits foliaires de <i>Colocynthis vulgaris</i>	66

Liste des photos

N°	Titre	Page
1	<i>Colocynthis vulgaris</i> (Oued Bouchen, Région de Ghardaïa, Octobre 2010).....	31
2	<i>Cleome arabica L.</i> (Oued N'Saa, région de Ghardaïa, Octobre 2010).....	32

Introduction	01
Chapitre I.- Aperçu sur les cholinestérasés et la phytotoxicité	06
I.1.- Cholinestérasés.....	07
I.1.1.- Structure de la Cholinestérase	08
I.1.2.- Site actif et mécanisme catalytique.....	12
I.1.3.- Biosynthèse des cholinestérasés	14
I.1.4.- Acétylcholine.....	16
I.1.5.- Récepteurs cholinergiques de l'acétylcholinestérase.....	18
I.1.5.1.- Récepteurs cholinergiques nicotiniques.....	18
I.1.5.2.- Récepteurs cholinergiques muscariniques	18
I.1.5.3.- Effet post synaptique.....	18
I.1.6.- Rôle physiologique des cholinestérasés.....	19
I.2.- Cholinestérase et phytotoxicité.....	19
I.2.1- Cibles moléculaires des toxines naturelles des plantes.....	20
I.2.1.1.- Système nerveux.....	20
I.2.1.1.1.- Sites récepteurs à l'acétylcholine.....	21
I.2.1.1.2.- Canaux sodium du neurone.....	21
I.2.1.2.- Systèmes hormonaux.....	22
I.2.1.3.- Systèmes biochimiques intracellulaires.....	22
I.2.1.3.1.- Enzymes respiratoires.....	23
I.2.1.3.2.- Inhibiteurs de l'acétylcholinestérase.....	23
I.2.1.4.- Seconds messagers.....	24
I.2.2.- Produits acridicides ou acridifuges d'origine végétale.....	25
Chapitre II.- Méthodologie de travail	27
II.1.- Principe adopté.....	28
II.2.- Matériels utilisés.....	28
II.2.1.- Matériels biologiques.....	28
II.2.1.1.- Cholinestérase.....	29
II.2.1.2.- <i>S. gregaria</i>	29
II.2.1.2.1.- Choix des stades.....	30
II.2.1.2.2.- Elevage.....	30
II.2.1.3.- Choix des plantes.....	30
II.2.1.3.1.- <i>Colocynthis vulgaris</i> (Hadja).....	31

II.2.1.3.1.1.- Position systématique.....	31
II.2.1.3.1.2.- Intérêt socioéconomique.....	32
II.2.1.3.2.- <i>Cleome arabica</i> L. (N°Til).....	32
II.2.1.3.2.1.- Position systématique.....	33
II.2.1.3.2.2.- Intérêt socioéconomique.....	33
II.2.1.4.- Récolte et séchage.....	34
II.3.- Méthodes d'extractions.....	34
II.3.1.- Extraction des huiles essentielles.....	35
II.3.1.1.- Principe.....	35
II.3.1.2.- Mode opératoire.....	35
II.3.2.- Extraction de l'enzyme acétylcholinestérase.....	36
II.3.2.1.- Principe.....	36
II.3.2.2.- Mode opératoire.....	36
II.4.- Étude de la toxicité.....	37
II.4.1.- Méthode de traitement.....	37
II.4.2.- Constitution des lots et traitement des insectes.....	37
II.5.- Dosage de protéines.....	38
II.5.1.- Principe de dosage.....	38
II.5.2.- Mode opératoire.....	39
II.6.- Dosage de l'activité enzymatique.....	40
II.6.1.- Principe de dosage.....	40
II.6.1.1.- Mode opératoire.....	40
II.7.- Exploitation des résultats.....	41
Chapitre III. Résultats et discussion.....	42
III.1.- Effets des extraits végétaux sur le comportement de l'insecte.....	43
III.2.- Effets des extraits végétaux sur le temps de mortalité.....	46
III.3.- Effet des huiles essentielles des feuilles de <i>C. arabica</i> sur le criquet pèlerin.....	48
III.3.1.-Effet sur le rythme cardiaque.....	48
III.3.2.- Effet sur l'activité de l'acétylcholinestérase.....	51
III.3.3.- Effet sur le taux de protéines.....	53
III.3.4.- Effet sur l'activité spécifique.....	55
III.4.- Effet des huiles essentielles des feuilles de <i>C. vulgaris</i> sur le criquet pèlerin.....	56
III.4.1.- Effet sur le rythme cardiaque.....	56

III.4.2.- Effet sur l'activité de l'acétylcholinestérase.....	59
III.4.3.- Effet sur le taux de protéines.....	61
III.4.4.- Effet sur l'activité spécifique.....	63
III.6.- Analyse de la corrélation.....	64
Conclusion	68
Perspectives	71
Références bibliographiques	72
Résumés	94

Introduction

Le règne végétal est soumis à une agression constante par les phytophages depuis des millénaires. Le succès ou l'échec de ses prédateurs est fonction des obstacles physiques et chimiques qui caractérisent les plantes. Une véritable sélection s'est opérée qui a conduit, d'une part, à l'élimination des phytophages incapables de franchir les barrières physiques ou de s'adapter à la présence des composés chimiques qu'ils devaient inévitablement rencontrer dès leurs premiers contacts avec la plante et d'autre part à l'existence de végétaux contenant toute une gamme de composés capables d'anéantir le phytophage ou de limiter les dégâts causés par ce dernier. Ceci a conduit à un équilibre dynamique entre plus d'un demi-million d'espèces d'insectes phytophages et de quelques 200.000 espèces végétales (PHILOGENE, 1991).

Dans le monde, plusieurs espèces acridiennes sont susceptibles de causer des dégâts au patrimoine agronomique, ses ravageurs peuvent à la faveur de conditions écologiques, pulluler et commettre des dégâts aux cultures. Trois espèces d'entre elles sont néanmoins du fait de leur grégarisme, considérées comme très dangereuses. Il s'agit du criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forskål, 1775), du criquet marocain (*Docostaurus maroccanus* Thunberg, 1815) et du criquet migrateur (*Locusta migratoria migratorioides* Reiche et Fairmaire, 1850). Toutefois le criquet pèlerin est l'espèce la plus redoutée en raison de la capacité des essaims à se déplacer sur de très grandes distances et d'envahir les cultures. Il bénéficie de ce fait d'une organisation particulière (BELHARAT *et al.*, 1999).

Le criquet pèlerin représente l'espèce acridienne la plus importante en raison, de sa grande mobilité (les essaims peuvent parcourir 1000 km en quelques jours), de son aire d'invasion très vaste, de son grand potentiel reproducteur induisant, son aptitude à multiplier très rapidement ses effectifs, de sa capacité à consommer chaque jour son propre poids de nourriture fraîche, de sa grande polyphagie le conduisant à s'attaquer à une très large gamme de cultures et à leur causer des dégâts très sévères (DURANTON et LECOQ, 1990). L'étendue de l'habitat permanent du criquet pèlerin est considérable, 30 millions de kilomètres carrés. Il couvre d'immenses zones désertiques. Son aire d'invasion englobe 55 pays, présentant une grande diversité de sites géographiques (ROY, 2001). Pour OULD EL HADJ (1992) le Sahara, comme la plupart du territoire algérien a connu naguère des invasions d'une ou plusieurs espèces de sauterelles, dont *Schistocerca gregaria* s'avère être l'espèce la plus redoutée. Pour lutter contre ce ravageur, on s'est servi de composés relativement simples à base d'arsenic, de soufre, de chaux, de dérivés du pétrole, de substances à base de fluor ou extraits de plantes comme la nicotine. Ils se caractérisent par leur toxicité relativement élevée pour les organismes non-visés et surtout pour leur rémanente, c'est-à-dire leur lente décomposition dans l'environnement (PHILOGENE, 1991). Cependant depuis la seconde guerre mondiale, l'utilisation de plus en plus importante de pesticides

chimiques, est apparue comme le moyen le plus efficace pour contrôler les organismes nuisibles. L'utilisation des insecticides de synthèse, est la principale cause des gains de productivité en agriculture (VINCENT et CODERRE, 1992). La chimie organique a orienté ses recherches vers trois groupes de produits insecticides: les organo-halogénés, principalement les organochlorés, les organophosphorés et les carbamates. Ces substances regroupant, la plupart des insecticides encore utilisés aujourd'hui, ont une action rapide (GASTOU, 1972; PHILOGENE, 1991). Toutefois, l'usage de ces 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 cibles (SMIRNOFF, 1991; THIAM, 1991; ABOUZAÏD *et al.*, 1991; RAMADE, 1991; OULD EL HADJ *et al.*, 2007). Les effets secondaires de la lutte chimique sont aussi catastrophiques que le fléau lui-même (ABBASSI *et al.*, 2005).

Plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées. C'est donc à partir d'observations empiriques, constatant que certaines plantes se protégeaient mieux que d'autres contre des prédateurs qui importunaient aussi les hommes, que se sont développés les premiers usages phytosanitaires des végétaux (REGNAULT-ROGER *et al.*, 2008).

Plusieurs familles végétales sont connues pour leur pouvoir insecticide parmi lesquelles, le neem *Azadirachta indica* et *Melia volkensii* (Meliacées) ont fait preuve d'une action remarquable sur plusieurs insectes nuisibles dont en particulier le criquet pèlerin. D'autres espèces végétales telles que *Citrullus colocynthis* (Cucurbitacées) se distinguent par un pouvoir répulsif vis à vis des criquets dont les extraits provoquent également des mortalités sur les larves du criquet pèlerin (GHAOUT, 1990; SCHMUTTERER, 1990; WILPS *et al.*, 1993; OULD EL HADJ, 1997; SENGOTTAYAN *et al.*, 2007).

L'utilisation des extraits végétaux en tant qu'insecticides naturels présente par conséquent un intérêt purement écologique puisque peu nocifs à l'égard de l'environnement. D'autres métabolites inhibent l'activité de plusieurs enzymes chez les insectes, donc les institutions de recherches se sont orientées vers la lutte biologique. C'est un procédé de lutte, consistant à détruire les insectes nuisibles par l'utilisation rationnelle de leurs ennemis naturels appartenant soit au règne animal, soit au règne végétal (ABOU THIAM, 1991; TAIL, 1998; BARBOUCHE *et al.*, 2001; ISMAN, 2005; SPIT *et al.*, 2012). Les métabolites primaires sont synthétisés normalement par l'organisme pour sa croissance et sa reproduction, ils sont communs à tous les organismes vivants, ils traduisent l'uniformité du monde vivant. Les produits de métabolismes primaires, substances indispensables à la vie de la plante, résultent de la

photosynthèse (WHITTAKER et FEENY, 1971). Cependant un métabolite secondaire est une molécule telle que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les alcaloïdes, que produisent les organismes en dehors des voies métaboliques strictement nécessaires à assurer la survie, cette gamme de composés est très développée chez les végétaux et constitue un moyen de lutte contre des concurrents écologiques (allélopathie) ou des prédateurs (production des substances toxiques ou des mauvais goûts contre un herbivores) (SEIGLER, 1998). Ils ont une fonction défensive induite ou constitutive et n'interviennent pas directement dans les processus de croissance et de développement et, représentent de 1 à 3% de la matière sèche. Les huiles ont été utilisées très tôt dans la lutte contre les insectes sous forme d'émulsions. Ce sont à la fois des insecticides de contact qui agissent par leurs propriétés physiques et chimiques ou comme des adjuvants pour des molécules liposolubles et dans certains cas des synergistes (REGNAULT-ROGER *et al.*, 2008). Les activités biologiques des huiles essentielles décrites sur les insectes sont variées: larvicides, adulticides, répulsifs ou inhibiteurs de croissance. La plupart des huiles essentielles agissent en perturbant la structure de la membrane cellulaire mais, pour certaines, des effets neurotoxiques ont pu être mis en évidence, dus à des interactions avec des neurotransmetteurs tels que l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) et l'octopamine, ou par inhibition de l'acétylcholinestérase. La fonction de la cholinestérase dans l'organisme est l'hydrolyse spécifique du neurotransmetteur acétylcholine dans les synapses cholinergiques (ROBERT et VINCENT, 1997), ce qui évite toute accumulation de neurotransmetteur qui perturbe la transmission de l'influx nerveux (ECKERT *et al.*, 1999) et le comportement de l'être vivant et entraîne sa mort en l'empêchant de se mouvoir et de nourrir (GASTOU, 1972; PHILOGENE, 1991).

Les études de l'effet toxique des extraits végétaux ont souvent porté sur la mortalité, les effets en termes de consommation des plantes traitées par les extraits de plantes, la capacité de digestion et de conversion digestive, la croissance pondérale, le développement ovarien et sur la physiologie de l'insecte. Parmi les travaux qui ont traité ces paramètres, il faut citer ceux de OULD EL HADJ (2003) recherchant l'effet des extraits de trois plantes acridifuges (*Melia azedarach*, *Azadirachta indica*, *Eucalyptus globulus*) sur les larves du cinquième stade et les adultes de *S. gregaria*. KEMASSI (2008) a utilisé les extraits de 6 plantes acridifuges (*Ephedra alata*, *Euphorbia guyoniana*, *Peganum harmala*, *Ziziphus lotus*, *Citrullus colocynthis*, *Cleome arabica*) sur les larves et les adultes de la même espèce acridienne. LEBBOUZE (2010) a testé l'effet *C. arabica* sur les larves et les adultes de *S. gregaria*. BOUZIANE (2012) a également testé l'effet des extraits de deux plantes (*Euphorbia guyoniana*, *Peganum harmala*) sur *S. gregaria*. La possibilité d'utiliser les substances secondaires des plantes contre les insectes nuisibles en général et contre le criquet pèlerin en particulier, a suscité beaucoup de travaux dont l'étude de OULD EL

HADJ *et al.* (2003) sur la toxicité des extraits de *Melia azedarach* (Meliaceae), d'*Azadirachta indica* (Meliaceae) et d'*Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), vis à vis des larves L₅ et des adultes de *S. gregaria* a révélé la présence de substances qui inhibent ou diminuent fortement la prise de nourriture chez cet acridien. KEMASSI (2014) a étudié la toxicité des extraits foliaires d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. (Euphorbiaceae), *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) et de *Capparis spinosa* L. (Capparidaceae), chez les larves du cinquième stade et les imagos de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Acrididae). Toutefois, des travaux traitant de l'effet des métabolites secondaires des végétaux sur l'activité de l'enzyme acétylcholinestérase et sur quelques paramètres biochimiques chez le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Acrididae) sont rares.

Face à ce constat, la présente étude recherche l'effet des extraits foliaires de *Cleome arabica* (Capparidaceae) et *Citrullus colocynthis* (Schard) (Cucurbitaceae), deux espèces végétales spontanées du Sahara septentrional algérien, connues pour leur action acridifuge ou acridicide et réputées toxiques sur le plan comportemental, physiologique et neurochimique chez le criquet pèlerin *Schistocera gregaria* (Forskål, 1775) (Acrididae).

Le présent document est structuré en trois parties. Une partie bibliographique rassemblant les données de la littérature sur les cholinestérases, les insecticides et les bioinsecticides inhibiteurs de cholinestérase, leur toxicité et les méthodes de leur évaluation. Une deuxième partie est réservée à la méthodologie. Une troisième partie porte sur les résultats et la discussion des essais expérimentaux portant sur la toxicité. Une conclusion et des perspectives achèvent la présente étude.

Chapitre I.-
Aperçu sur les cholinestérases et la
phytotoxicité

Le présent chapitre présente une synthèse bibliographique qui englobe des données sur l'enzyme cholinestérase, mais aussi la toxicité de quelques substances d'origine végétale.

I.1.- Cholinestérases

L'importance du système nerveux est évidente. C'est un facteur de coordination entre les différents tissus et un facteur de régulation du fonctionnement tissulaire. C'est pourquoi les recherches sur la transmission de l'influx nerveux revêtent un grand intérêt, indépendamment de leur aspect documentaire. Les neurones sont séparés par un intervalle appelé la fente synaptique. La transmission de l'influx nerveux à travers cette synapse se fait à l'aide d'une substance chimique qui est le neurotransmetteur (TOMASSOLIE, 2010).

L'existence de cholinestérase a été postulée par DALE en 1914 et démontré par LOEWI et NAVRATIL en 1926 (MASSOULIE *et al.*, 1993). Le terme cholinestérase a été proposé pour décrire une enzyme capable d'hydrolyser rapidement l'acétylcholine et autres esters de la choline (LEJUS *et al.*, 1998). Les cholinestérases sont des hydrolases de serine qui agissent préférentiellement sur les esters de choline (GIRARD, 2006). Il se distingue deux types: l'acétylcholinestérase (EC: 3.1.1.7) et la butyrylcholinestérase. Ces deux types se distinguent principalement par leur spécificité vis à vis du substrat, ainsi l'acétylcholinestérase ou cholinestérase vraie hydrolyse l'acétylcholine (neurotransmetteur naturel), tandis que la butyrylcholinestérase ou pseudocholinestérase (EC: 3.1.1.8) hydrolyse à la fois la butyrylcholine et l'acétylcholine (BOTTI *et al.*, 1999; MASSOULIE et BON, 1982). L'acétylcholinestérase est l'enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et en acide acétique (fig. 1) dans les fentes synaptiques et dans certaines cellules comme les globules rouges. Pour FORET (2007), aucun rôle physiologique n'est signalé pour la butyrylcholinestérase (MARCEL *et al.*, 1998; BOTTI *et al.*, 1999; NACHMANSOHN et ROTHENBERG, 1945). L'acétylcholinestérase est retrouvée principalement dans le sang et au niveau des synapses neuronales (TOMASSOLIE, 2010). L'acétylcholinestérase semble avoir plus de fonctions que la butyrylcholinestérases (GIRARD, 2006).

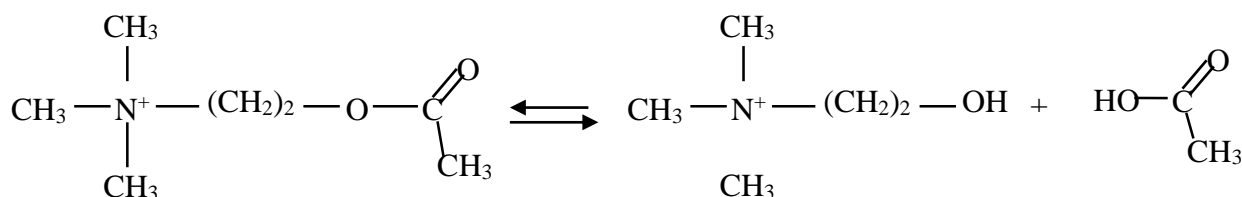


Figure 1.- Réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine catalysée par l'acétylcholinestérase (COLLETIER et WEIK, 2007)

Les acétylcholinestérasés (AChE) sont des protéines. Ces enzymes se retrouvent dans les tissus du système nerveux ainsi que dans le cerveau, les globules rouges et le plasma de plusieurs vertébrés (CAMIRÉ, 2007), au sein des synapses dites cholinergiques qui utilisent le neurotransmetteur acétylcholine (ACh) (JACQUES-PHILIPPE, 2006). Elles sont impliquées dans le mécanisme de la transmission de l'influx nerveux dans l'organisme (CAMIRÉ, 2007).

De telles synapses sont retrouvées au niveau des jonctions neuromusculaires, ainsi que dans les zones du cortex en charge des fonctions cognitives (mémoire, orientation, jugement, etc.) (JACQUES-PHILIPPE, 2006).

I.1.1.- Structure de la Cholinestérase

La structure de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase montre un centre actif comme une gorge de caractère hydrophobe au fond de l'enzyme. Elle contient le site catalytique et le site de liaison avec l'acétylcholine où le clivage de ce dernier se produit (SUSSMAN *et al.*, 1991). La première structure tridimensionnelle résolue de l'acétylcholinestérase est du poisson torpille *Torpedo californica* (SUSSMAN *et al.*, 1991) (fig. 2). Cette structure présente un dimère fixé dans la membrane par un ancrage de type glycosyl phosphatidylinositol. Chaque monomère est constitué de 15 hélices et de 11 feuillets. Les deux monomères sont reliés par les cystéines. Cette structure a révélé une position enfouie du site actif au fond d'une gorge profonde d'environ 20Å et très étroite (5Å). Plus tard, la résolution des structures d'acétylcholinestérase de différentes espèces a confirmé ces résultats (BOURNE *et al.*, 1995). Chez les insectes la première structure tridimensionnelle d'acétylcholinestérase est celle de *Drosophila melanogaster* résolue. Elle montre une forte similitude de repliement avec la structure d'acétylcholinestérase du *Torpedo californica* malgré la faible homologie de séquence entre les deux (ORDENTLICH *et al.*, 1993).

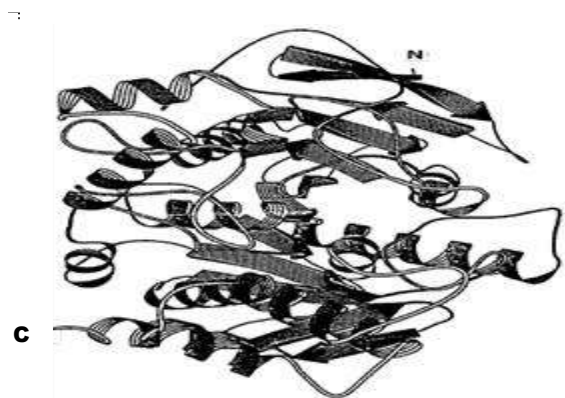


Figure 2.- Structure tridimensionnelle d'un monomère de l'acétylcholinestérase du *Torpedo californica* (SUSSMAN *et al.*, 1991)

Selon SILMAN et FUTERMAN (1987) l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase existent sous plusieurs formes moléculaires différentes par leur coefficient de sédimentation, reflétant des différences dans leur structure quaternaire qui est formées de plusieurs chaînes polypeptidiques appelées sous unités ou protomères. Chaque protomère porte un site actif (MOUSSARD, 2002) et dans leur solubilité qui présente aussi des différences dans le degré et le mode d'attachement dans les structures cellulaires.

Les sous-unités d'enzyme cholinestérase sont composées de deux protéines différentes. La première est commune, correspond au domaine catalytique d'environ 500 résidus, la deuxième est un petit peptide C-terminal de moins de 50 résidus (MASSOULIE *et al.*, 2005). Ces formes peuvent être classées en deux formes, une forme asymétrique (A) provenant de l'asymétrie provoquée par la queue collagénique filamenteuse liée aux sous unités catalytiques (TAYLOR, 1991) et une forme globulaire (G) (SILMAN et FUTERMAN 1987; BACOU et VIGNERON, 1988). Les formes asymétriques (fig. 3) sont des structures hétéromériques, résultent de l'association du collagène avec les sous-unités d'acétylcholinestérase. Ils présentent une structure arborescente. Le tronc de l'arbre est une molécule de collagène, et trois branches de ponts disulfures, émergent du tronc. Chacune peut fixée une enzyme à la membrane basale. L'enzyme elle-même se constitue de quatre sous unités protéiques ou protomères, chacune disposant d'un site actif. Chaque arbre enzymatique offre douze sites actifs A12; huit sites actifs A8 ou quatre sites actifs A4 (MASSOULIE, 2002; PATRICK, 2003).

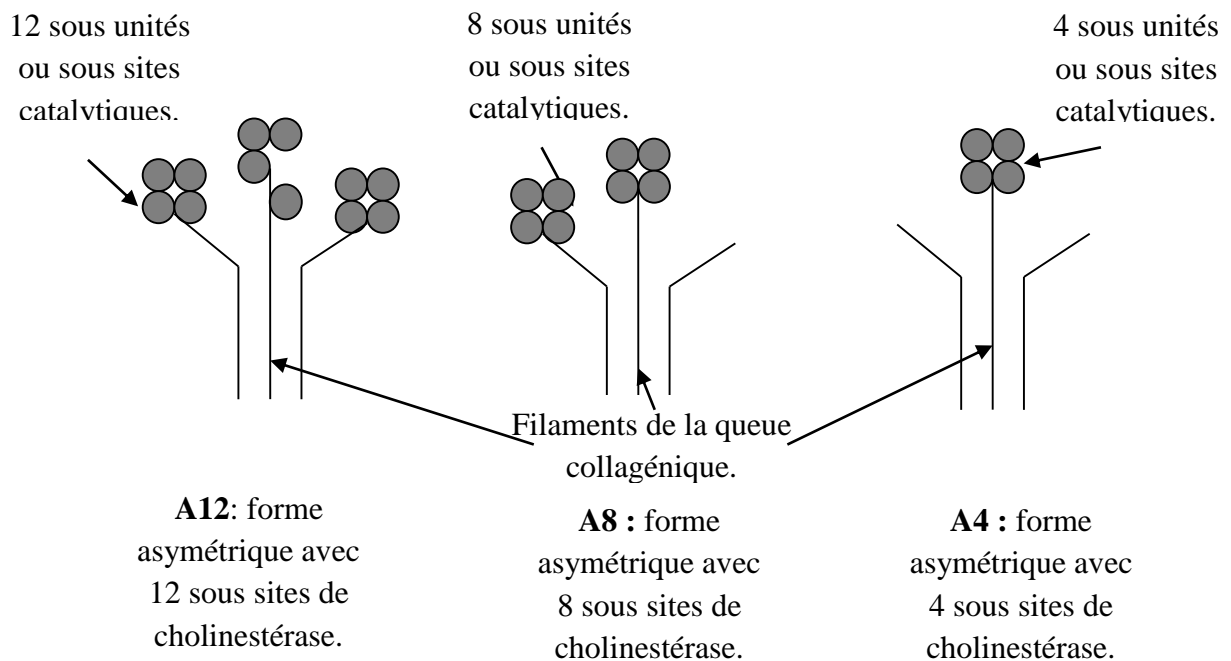


Figure 3.- Différentes formes asymétriques (SILMAN et FUTERMAN, 1987)

La masse de chaque sous unité catalytique est de 80.000 dalton et la queue pèse approximativement 100.000 daltons avec 50 nm de longueur (MASSOULIE et BON, 1982). Cependant dans les molécules de la queue collagénique, chaque peptide parmi les trois rassemblées dans la queue, est lié covalentement par des ponts disulfures à un dimère (fig. 4) qui est à son tour associé par des interactions quaternaires à un autre dimère utilisant des liaisons par des ponts disulfures ce qui aboutisse à la formation d'une enzyme tétramère (MASSOULIE et BON, 1982; SILMAN et FUTERMAN, 1987; TAYLOR, 1991). Le collagène à une forte résistance à la déformation, ce qui confère à ces enzymes asymétriques une stabilité structurale (MOUSSARD, 2002). La structure allongée du collagène permet l'ancrage de l'enzyme dans la jonction synaptique (TALESA *et al.*, 1995; SILMAN et FUTERMAN, 1987).

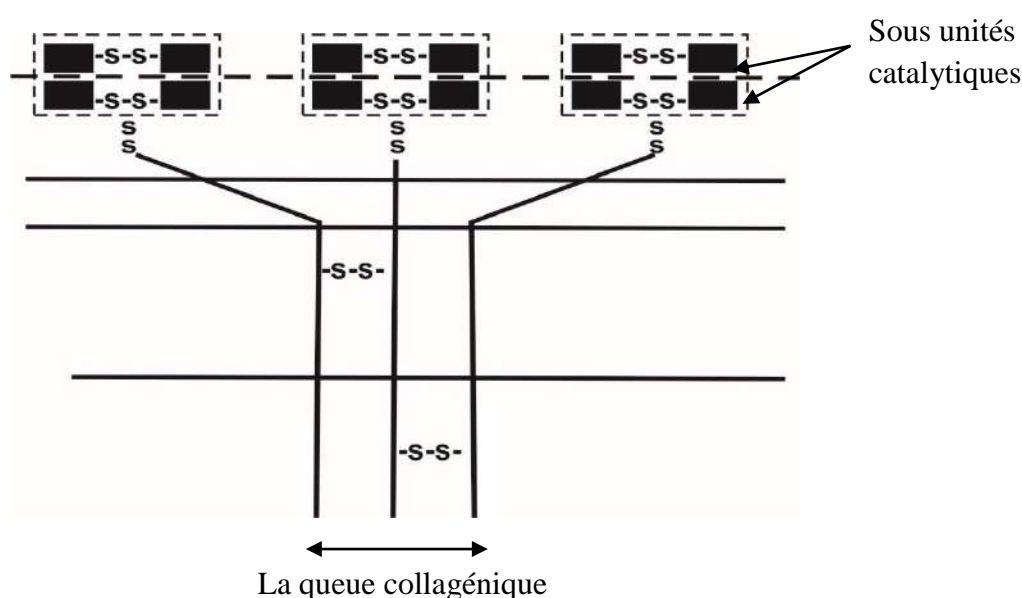


Figure 4.- Localisation des liaisons disulfures dans la forme A12
(SILMAN et FUTERMAN, 1987)

Les observations de RAMIREZ *et al.* (1984) rapportent l'existence dans le muscle squelettique et dans d'autres tissus de deux classes d'acétylcholinestérase asymétriques: une classe de forme I-A et une classe de forme II-A. La classe de forme I-A pouvant être solubilisée en haute force ionique alors que la forme de classe II-A est solubilisée à une forte force ionique seulement si un agent chélateur tel que l'EDTA est présent, ce qui suggère le rôle direct de Ca²⁺ dans les interactions de la forme de classe II-A avec le site d'attachement. Ainsi certains résidus d'hydroxylysine sont glycosylés (MOUSSARD, 2002).

L'acétylcholinestérase contient presque 15% de carbohydrates, principalement du mannose, du galactose, de l'hexosamine et de l'acide sialique (MASSOULIE et

BON, 1982). Les formes G peuvent avoir un, deux ou quatre sous unités catalytiques qui prennent respectivement les désignations G₁, G₂ et G₄. Elles peuvent être subdivisées selon leurs propriétés hydrodynamiques en:

- forme globulaire hydrophobe,
- forme globulaire hydrophile. (fig. 5)

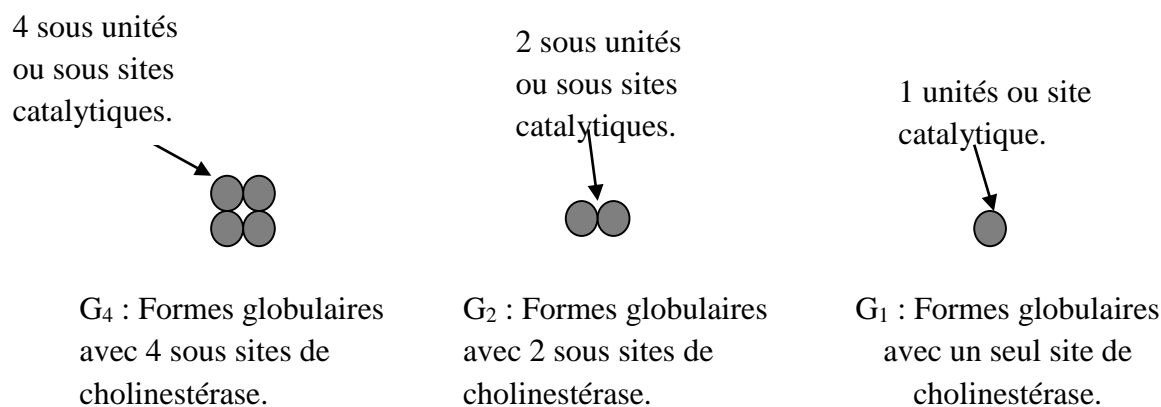


Figure 5.- Différentes formes globulaires (SILMAN et FUTERMAN, 1987)

Les formes hydrophobes sont seulement solubles en présence d'un détergent ce qui leur confère le critère principal pour les protéines intégrales dans la membrane. Le caractère hydrophobe découle soit a l'attachement d'un **glycosyl-phosphatidylinositol** (GPI) à la terminaison carboxylique d'un dimer qui comporte deux sous unités catalytiques, localisant l'enzyme à la surface extérieure de la membrane ou par le biais d'une protéine trans membranaire riche en proline, appelée (PRIMA: Proline Rich Membrane Anchor) qui fixe l'acétylcholinestérase de type G₄ à la membrane cellulaire (PERRIER *et al.*, 2002; SILMAN et FUTERMAN, 1987).

Les formes globulaires hydrosolubles sont dans certains cas des espèces lytiques dérivées des formes asymétriques ou des formes hydrophobes de G (SILMAN et FUTERMAN, 1987). Cependant, un nombre moins élevé de formes sont observées pour la butyrylcholinestérase; seules les formes hydrophiles et asymétriques ont été identifiées (BADIOU *et al.*, 2007; GNAGEY *et al.*, 2008). Chez les invertébrés l'acétylcholinestérase existe sous deux types globulaires qui peuvent être hydrophile (buffer-solubles) ou amphiphile (membrane-bound).

La forme amphiphile est souvent majoritaire. Les formes globulaires hydrophiles et amphiphiles sont localisés chez beaucoup d'invertébrés comme les Coléoptères, les Lépidoptères, les Diptères, les Hyménoptères, les Plécoptères, les Epheméroptères, et d'autres taxons aquatiques, avec les proportions des deux états qui

varient pour chaque espèce (BADIOU *et al.*, 2007; GNAGEY *et al.*, 2008). Certains auteurs ont décrit l'existence d'une seule acétylcholinestérase membranaire (LENOIR-ROUSSEAU, 1985; LESTER et GILBERT, 1987) alors que d'autres ont montré la présence de variantes biochimiques distinctes (STEELE et SMALLMAN, 1976; MELANSON *et al.*, 1985; HALL et KANKEL, 1976). Chez l'abeille, en particulier *Apis mellifera*, l'acétylcholinestérase amphiphile (membranaire) existe sous deux formes membranaires, AChEm1 et AChE m2 et une forme soluble majoritaire, AChEsol1 AChEs1 (BELZUNCES *et al.*, 1988; BADIOU *et al.*, 2007). Les deux formes membranaires représentent 95% de l'activité totale (BELZUNCES *et al.*, 1988). Toutefois, l'acétylcholinestérase chez l'insecte se trouve dans une forme principale en un dimère globulaire de 150 kDa lié par une liaison disulfure. Il est glycosylé et lié à la membrane par l'intermédiaire d'un glycosyl-phosphatidylinositol (GPI) ancrage, chez la drosophile. Chaque sous-unité est composée de deux peptides de 18 et de 55 kDa, liés par une liaison non-covalente. Ces peptides contiennent le principal site actif sérine ancré à la membrane par un glycosyl-phosphatidylinositol (GPI) (ISHAAYA, 2001).

I.1.2.- Site actif et mécanisme catalytique

Le site actif est une région particulière de l'enzyme où se déroule la réaction enzymatique. Il possède une taille restreinte par rapport à la taille globale de l'enzyme et il contient un site catalytique qui peut être décomposé en deux parties, le sous-site estérasique et le sous-site anionique (fig. 6). Le sous-site anionique est responsable de la stabilisation du substrat lors de catalyse par fixation de l'ammonium quaternaire de la partie choline de l'acétylcholine. 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 et par une série d'interaction hydrophobes avec les trois groupes méthyles (GIES et LANDRY, 1986; SUSSMAN *et al.*, 1991).

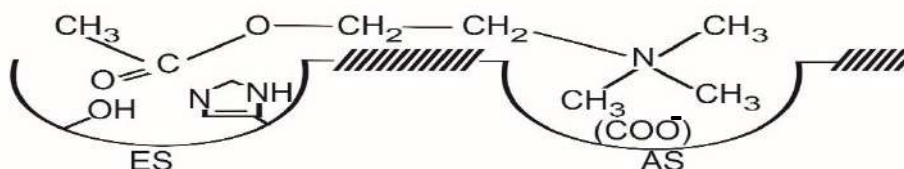


Figure 6.- Site catalytique d'acétylcholinestérase (ES: site estérasique, AS: site anionique (PENASSE, 1974; SUSSMAN *et al.*, 1991)

Cette interaction est stabilisante, mais en réalité un transfert de charge entre la charge positive de l'ammonium quaternaire de l'acétylcholine et les électrons π du

noyau indole du tryptophane est un mécanisme beaucoup plus important. Ce site est composé d'une majorité de résidus aromatiques (résidus Trp84, Glu199 et Phe330) et il est estimé que plus de 50% de l'énergie de stabilisation provient de ce dernier (MOHAMED, 2007). Le sous site estérasique ou site catalytique est situé à une distance d'environ 5Å du précédent, reconnaît l'ester et, catalyse sa rupture (PENASSE, 1974; ROSENBERRY, 1975; LEJUS *et al.*, 1998). Dans le site actif se trouve la machinerie catalytique de l'enzyme. Celle-ci comprend, la triade catalytique (résidus Ser 200, His 440 et Glu 327) responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholinestérase (AXELSEN *et al.*, 1994; JOHNSON et MOORE, 2006; COLLETIER *et al.*, 2006). La sérine catalytique attaque le groupement carbonyle de l'acétylcholinestérase et forme l'intermédiaire tétraédrique; ce dernier se décompose rapidement, libérant la choline et laissant l'enzyme acétylée. Une molécule d'eau permet ensuite la déacétylation, régénérant ainsi l'enzyme libre (BADIOU *et al.*, 2007). L'acétylcholinestérase contient une triade catalytique de résidus d'acides aminés. Des études sur l'enzyme isolée de raie électrique *Torpedo californica*, ont montré qu'au cours de l'hydrolyse une charge négative d'acide glutamique Glu 327 tire un atome d'hydrogène provenant d'un histidine H 440 adjacent et qui à son tour tire un atome d'hydrogène provenant du site actif sérine S 200. Cela active les résidus sérine et permet une puissante attaque nucléophile sur le substrat d'où résulte un enzyme intermédiaire acylés (fig. 7).

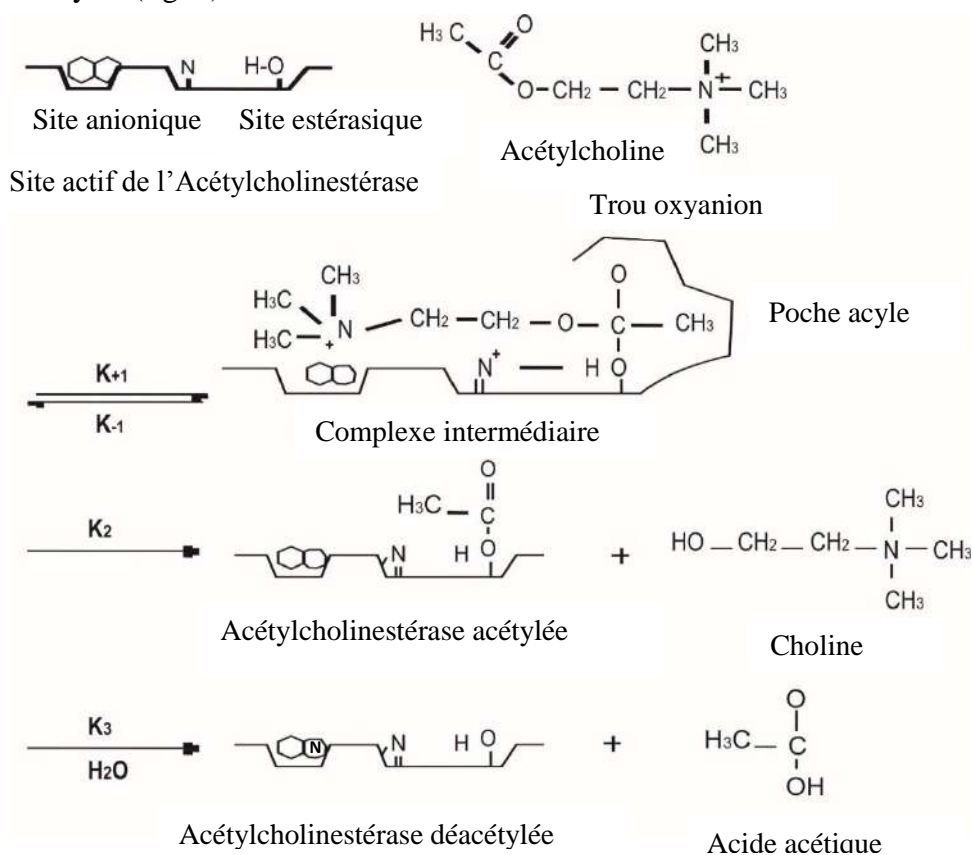


Figure 7.- Mécanisme d'hydrolyse de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase

(BADIOU, 2007)

La dernière étape de la catalyse, a besoin d'un résidu dans le voisinage du site actif pour activer une molécule d'eau qui attaque les acides liés à la fraction active et transforme la résultante complexe dans un état de transition avec une nouvelle conformation tétraédrique et un niveau d'énergie élevé. Elle conduit à l'hydrolyse et une réduction du niveau d'énergie dans le système de la molécule clé d'eau impliquée dans la catalyse est maintenue en place par Glu 443 et Glu 199 (ISHAAYA, 2001; MAURICIO *et al.*, 2006; MARCEL *et al.*, 1998; COLLETIER et WEIK, 2007). La liaison covalente, ainsi formée est ensuite hydrolysée et de l'acétate ou dans le cas de la butyrylcholinestérase un butyrate est libéré.

I.1.3.- Biosynthèse des cholinestérasés

Les invertébrés possèdent un nombre variable de gènes codant pour les cholinestérasés, par exemple, la drosophile possède un seul gène et *Caenorhabditis elegans* (Maupas, 1900) (Rhabditidae) possède quatre gènes distincts. Les vertébrés possèdent deux gènes codant pour les cholinestérasés: un gène codant pour l'AChE et un gène codant pour la butyrylcholinestérasés, sauf dans certaines espèces de poissons (GIRARD, 2006).

La butyrylcholinestérase est synthétisée par les hépatocytes. L'enzyme est présente dans la plupart des tissus à l'exception des érythrocytes. Sa demi-vie est située entre 8 et 12 jours (LEJUS *et al.*, 1998).

L'acétylcholinestérase est synthétisée et réglementée par les deux cellules présynaptiques et postsynaptique. Ainsi, les vertébrés possèdent deux gènes l'un pour l'encodage d'acétylcholinestérase et l'autre pour la butyrylcholinestérase, le même gène, codant pour tous les sous-unités catalytiques. Le polymorphisme extensive du gène résulte du traitement alternatif de l'ARNm primaire produit et aux modifications en post traductionne (MASSOULIE et BON, 1982; SILMAN et FUTERMAN, 1987; TAYLOR, 1991).

Le traitement alternatif de l'ARNm primaire produit et les modifications en post traductionnel, peuvent produire des protéines qui possèdent les mêmes acides aminés dans le domaine catalytique, mais différents peptides dans la partie C terminal. Ces peptides ne semblent pas affecter l'activité catalytique du cholinestérase mais ils déterminent leur fonction physiologique (MASSOULIE, 2002).

Les différents types de variant génétiques d'acétylcholinestérase qui peuvent exister chez les vertébrés, selon la partie C terminale, sont schématiquement représentés sur la figure 8, et se récapitulent:

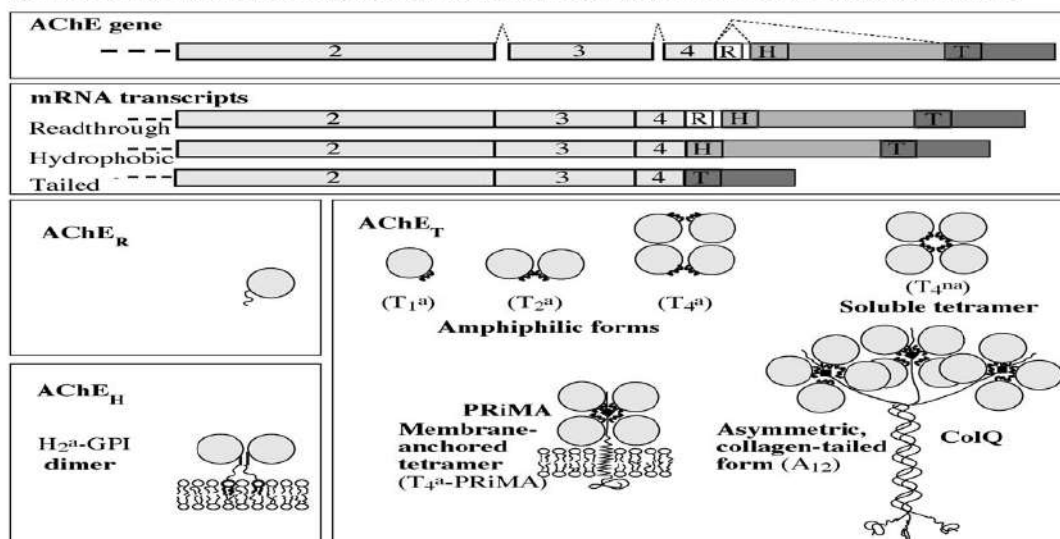


Figure 8.- Différents types et diversité moléculaire des cholinestérases
(MASSOULIE *et al.*, 2005)

- acétylcholinestérase type R (Readthrough),
- acétylcholinestérase type H (Hydrophobique),
- acétylcholinestérase type T (Tailed),
- acétylcholinestérase type S (Soluble).

L'acétylcholinestérase de type R (Readthrough), produit des monomères solubles G1. Ils ont été caractérisés dans la torpille et chez les mammifères. Ils sont exprimés au cours du développement et induits par le stress dans le cerveau de souris. L'acétylcholinestérase type H (hydrophobique), sa partie C terminal contient des peptides hydrophobes et un ou deux cystéines, sert de signale pour le clivage et l'addition d'un glycosyl- phosphatidyl inositol (GPI), chez la torpille. Les GPI-dimères sont ancrés dans le cerveau et dans les organes électriques, et représentent la forme unique dans les muscles dorsaux tandis que chez les mammifères. Ils sont exprimés à la surface des cellules sanguines (érythrocytes et/ ou de plaquettes) (BRENNER *et al.*, 2002; MASSOULIE *et al.*, 2005).

L'acétylcholinestérase type T (Tailed), est le type qui produit plusieurs formes de structure oligomériques, y compris l'homo-oligomères (monomères G1, dimères G2 et tétramères G4) ainsi que des associations hétéromériques tétramères associées soit avec un collagène pour avoir les formes asymétriques (A4, A8, A12), soit avec la proline ancrée dans la membrane. Les sous-unités catalytiques de type T existent dans tous les vertébrés pour l'acétylcholinestérase et représentent le seul type de la butyrylcholinestérase (BERTRANT *et al.*, 1998; MASSOULIE, 2002; MASSOULIE *et al.*, 2005). L'acétylcholinestérase type S (Soluble), présente des monomères qui sont

secrétées par les glandes de venin. Bien que l'acétylcholinestérase est abondante dans le venin des serpents, il ne semble pas contribuer à leur toxicité (MASSOULIE, 2002; MASSOULIE *et al.*, 2005). Un ou plusieurs gènes codent l'acétylcholinestérase chez les invertébrés. Il y a quatre gènes chez *Caenorhabditis elegans* (Maupas, 1900) (Rhabditidae) un nématode, deux gènes chez le puceron du coton *Aphis gossypii* (Glover 1877) (Aphididae) et le moustique *Culex pipiens* (Linné, 1758) (Culicidae) (BADIOU *et al.*, 2007).

ZIMMERMAN et SOREQ (2006) notent que les polypeptides d'acétylcholinestérase sont synthétisés dans le réticulum endoplasmique où ils sont glycosylés, certains étant ensuite assemblés en dimères ou tétramères. Les formes oligomériques sont transportées vers l'appareil de Golgi où elles acquièrent des sucres complexes et plus tard assemblés dans des formes asymétriques. La relation métabolique entre les diverses formes moléculaires de l'acétylcholinestérase n'est pas claire, mais il y a une preuve suggérant que la simple forme de l'acétylcholinestérase peut être précurseur de formes plus complexes. Pour prouver l'hypothèse d'acétylcholinestérase monomérique comme précurseur de forme, les cultures ont été traitées avec le méthane sulfonyl fluoride qui inactive de manière irréversible 97% l'activité totale cellulaire de l'enzyme. L'acétylcholinestérase nouvellement synthétisée, apparaissant dans les cultures au cours de cette période comprend presque entièrement de la forme monomérique (92%), après 120-130 mn. On observe une diminution de 55% des monomères marqués et une augmentation de 36% en tétramères marqués, et une augmentation de 36% de formes asymétriques marquées. Dans une deuxième série d'expériences sur les différentes formes asymétriques, il a été observé une diminution de 55% de formes monomères, une augmentation de 58% de formes tétramères, une augmentation globale de 81% de formes asymétriques marquées, et une augmentation de 38 % de formes A12 marquées. Ces données fournissent la première preuve que les formes complexes de l'acétylcholinestérase sont assemblées à partir de précurseurs monomères (BROKMAN *et al.*, 1986).

I.1.4.- Acétylcholine

L'influx nerveux ne pouvant pas traverser la fente synaptique, une forme indirecte de communication s'y établit, la neurone présynaptique libère un neurotransmetteur qui diffuse dans la fente synaptique et exerce des effets sur les récepteurs situés dans la membrane plasmique du neurone postsynaptique (ECKERT *et al.*, 1999; TORTORA, 2003).

L'acétylcholine est une molécule organique de petite taille de formule brute $C_7H_{16}O_2N_1$. Sa masse molaire est de 146,2 g/mol. Elle présente une fonction ester et

une fonction ammonium quaternaire (fig. 9) (RUSSELL *et al.*, 2016). Elle est utilisée comme neuromédiateur par les motoneurons chez les vertébrés, par les neurones pré-ganglionnaires du système nerveux autonome et par beaucoup de neurone du système nerveux central. Elle est le neurotransmetteur de beaucoup de neurones chez les invertébrés particulièrement dans le système nerveux des Mollusques et des neurones sensoriels des Arthropodes.

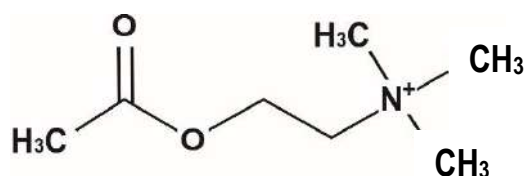


Figure 9.- Structure de l'Acétylcholine
(COLLETIER *et al.*, 2006)

L'acétylcholine est le médiateur chimique de la plupart des terminaisons nerveuses parasympathiques ou cholinergiques. Elle est responsable d'une diminution de la tension artérielle périphérique (KARLSON, 1971). La synthèse de l'acétylcholine se fait dans le cytosol de la terminaison nerveuse. Elle se réalise par une enzyme spécifique, **la choline acétyltransférase**, elle-même dans le corps cellulaire est véhiculée jusqu'au niveau des terminaisons synaptiques par le flux axonal (MURRAY *et al.*, 1996; RICHARD *et al.*, 1997). La choline-acétylase permet la condensation de l'acétylcoenzyme A et de la choline. Cette réaction exige un apport d'énergie sous forme d'ATP (FORET, 2007; KARLSON, 1971).

L'acétylcholine après synthèse est incorporée et stockée dans de petites particules liées à la membrane et appelées vésicules synaptiques (MURRAY *et al.*, 1996). Chaque vésicule synaptique peut contenir plusieurs milliers de molécules de neurotransmetteur (fig. 10) (TORTORA, 2003).

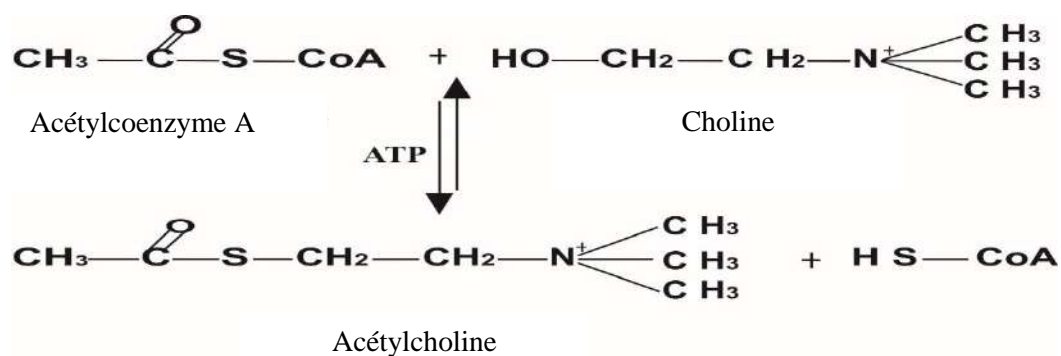


Figure 10.- Synthèse de l'Acétylcholine (PRENTICE, 2003)

La libération de l'acétylcholine par les terminaisons nerveuse nécessite l'ouverture de canaux Ca^{2+} , l'entrée de Ca^{2+} , la mobilisation des vésicules et leur fusion avec la membrane neuronale, afin de libérer leur contenu dans l'espace synaptique ganglionnaire. Ensuite l'acétylcholine se fixe sur les récepteurs ou est scindée par l'enzyme acétylcholinestérase en fragment acétate et choline. La choline libérée est reprise par la terminaison nerveuse cholinergique, grâce à un système spéciale de transport (PAGE *et al.*, 1999; PICCIOTTO *et al.*, 2012).

I.1.5.- Récepteurs cholinergiques de l'acétylcholinestérase

Il existe chez les insectes deux grandes catégories de récepteurs à l'acétylcholine: les récepteurs cholinergiques de types nicotiques et les récepteurs cholinergiques de types muscariniques. Les récepteurs à acétylcholine sont nommés nicotinique et muscarinique, respectivement, en accord avec la substance qui a historiquement permis leur mise en évidence (nicotine et muscarine) (GANONG, 2003; SHERWOOD, 2006; BODEREAU *et al.*, 2008).

I.1.5.1.- Récepteurs cholinergiques nicotiques

Les récepteurs cholinergiques nicotiques sont présents sur le corps cellulaire des neurones postganglionnaire dans tous les ganglions du système nerveux autonome. Ils répondent à l'acétylcholine produite par les neurones préganglionnaire sympathiques et parasympathiques (SCHORDERET, 1992; SHERWOOD, 2006).

I.1.5.2.- Récepteurs cholinergiques muscariniques

Les récepteurs cholinergiques muscariniques sont situés dans la membrane des cellules effectrices (muscle cardiaque, muscles lisses, glandes) et sont stimulés par la liaison de l'acétylcholine libérée par les fibres postganglionnaires du système parasympathique (SCHORDERET, 1992; SHERWOOD, 2006).

I.1.5.3.- Effet post synaptique

L'acétylcholine diffuse à travers la fente synaptique et se fixe sur son récepteur, un canal ionique transmembranaire qui s'ouvre lors de la fixation d'acétylcholine. Le flux de Na^+ entrant et de K^+ sortant de la cellule postsynaptique qui en résulte dépolarise la membrane postsynaptique, ce qui libère suffisamment de neurotransmetteur et produit un potentiel d'action postsynaptique. L'acétylcholine est

rapidement dégradée, avant l'arrivée d'un autre influx nerveux, sous l'action de l'acétylcholinestérase (VOET et VOET, 2005).

I.1.6.- Rôle physiologique des cholinestérases

L'acétylcholinestérase 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 (ROBERT et VINCENT, 1997).

L'élimination des molécules d'acétylcholine de la fente est essentielle car son action doit être limitée au temps (ECKERT *et al.*, 1999). Le rôle physiologique de la butyrylcholinestérase demeure hypothétique. Elle est capable d'hydrolyser l'acétylcholine. Elle peut participer à l'hydrolyse du neurotransmetteur pendant la différenciation cellulaire au cours du développement embryonnaire. Le sujet déficient en butyrylcholinestérase ne présente pas d'anomalie métabolique ou d'effet adverse tant qu'il ne reçoit ni mivacurium ni succinylcholine (LEJUS *et al.*, 1998). La fonction de l'acétylcholinestérase dans l'organisme est l'hydrolyse spécifique du neurotransmetteur acétylcholine dans les synapses cholinergiques (GANONG, 2003).

I.2.- Cholinestérase et phytotoxicité

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 (ESSAID, 1991; RAVEN *et al.*, 2000; SAUVION *et al.*, 2013).

Les métabolites secondaires sont classés en trois grandes classes:

- Les composés aromatiques ou poly phénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tannins) et les quinones.
- Les terpenoïdes et leurs dérivés,
- Les alcaloïdes.

Ces molécules très diversifiées, illustrent l'extraordinaire richesse métabolique des plantes supérieures. C'est cette richesse en molécules très diversifiées qui permet les tentatives d'une classification chimique des végétaux ou chimio-taxonomie. Cette classification consiste à établir des corrélations entre la présence de certains types de

métabolites secondaires et les entités taxonomiques (MERGHEM, 2009). Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories: les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques. Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils y jouent différents rôles, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante. Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Les composés phénoliques, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires. Ils ont de nombreuses applications pharmaceutiques (KON, 2009). Les métabolites secondaires prénylés, du point de vue pharmacologique sont généralement plus efficaces que leurs analogues. La prénylation, fixation d'une chaîne latérale (pentenyle, geranyle et farnesyle) à une molécule acceptante occupe une place importante dans la biosynthèse d'un spectre des métabolites secondaires aromatiques à propriétés pharmacologiques reconnues à travers les différentes classes de ces composés. Ils constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses. L'usage et le développement des techniques spectrales: la résonance magnétique nucléaire (RMN) à une ou à plusieurs dimensions, la spectroscopie de masse (SM), la spectroscopie UV-Visible et la chromatographie liquide haute performance (HPLC) permettent de préciser et de quantifier un plus grand nombre de structures des métabolites secondaires (FERRARI, 2002; LHUILLIER, 2007; KON, 2009).

I.2.1- Cibles moléculaires des toxines naturelles des plantes

Les insectes utilisent globalement les mêmes mécanismes physiologiques que les vertébrés. Un nombre très important de cibles a été utilisé par les plantes. Les systèmes fondamentaux touchés sont: nerveux (sites récepteurs et canaux ionique), hormonaux (hormone juvénile et ecdysone), biochimiques (enzymes de la respiration, du muscle) et seconds messagers (CLEMENT, 1990).

I.2.1.1.- Système nerveux

Le système nerveux sert à commander les muscles, les viscères, et assure grâce au comportement, le maintien de l'individu dans des conditions optimales pour

l'espèce. Il contient trois parties: le système nerveux central, le système sympathique, le système périphérique (RACCAUD-SCHOELLER, 1980).

I.2.1.1.1.- Sites récepteurs à l'acétylcholine

La première allomone décrit a été la nicotine (fig. 11). Cet alcaloïde est synthétisé principalement par le tabac *Nicotiana tabacum* (L., 1753) (Solanaceae) (à raison de 2 à 8 % du poids sec en association avec l'acide citrique et l'acide maléique. Sa cible principale est le récepteur à l'acétylcholine. Incorporé dans le milieu alimentaire de *Spodoptera Frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Noctuidae), sa dose létale 100 est de 0,02%. Cette molécule a donc un effet puissant sur la plupart des ravageurs. Malgré tout, de nombreuses espèces d'insectes sont capables de la détoxifier (CLEMENT, 1990).

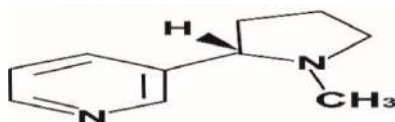


Figure 11.- Molécule de la Nicotine extraite de *Nicotiana tabacum* (L., 1753) (Solanaceae) (CLEMENT, 1990)

I.2.1.1.2.- Canaux sodium du neurone

En 1924, STAUDINGER et RUZICKA ont isolé et déterminé 6 molécules à partir de fleurs séchées de *Chrysanthemum roseum* (Grierson, 1974) (Asteraceae) et *Chrysanthemum cinerariaefolium* (L., 1753) (Asteraceae), appartenant à la famille des pyréthroïdes (fig. 12).

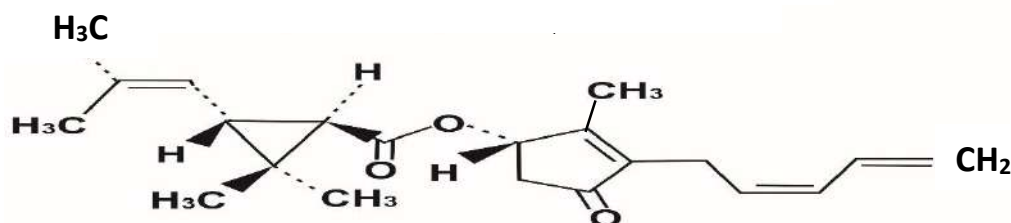


Figure 12.- Molécule de Pyrethrin extraite de *Chrysanthemum roseum* (Grierson, 1974) (Asteraceae) et *Chrysanthemum cinerariaefolium* (L., 1753) (Asteraceae) (CLEMENT, 1990)

L'effet de ces molécules était déjà connu depuis 2 000 ans puisque les chinois les utilisaient en poudre pour tuer les insectes. A partir de ces substances naturelles, notamment sur l'extraits de *C. cinerariaefolium* (Trevir, Sch. Bip., 1844) (Asteraceae), ELLIOT *et al.*, 1967 ont réussi à synthétisé des analogues qui possèdent une toxicité faible pour les mammifères et ne présentent pas de risques pour l'utilisation sur les cultures vivrières et alimentaires. Ces composés fortement insecticides (la bioéthérméthrine en 1967, la dècaméthrine en 1974) sont actuellement parmi les insecticides commerciaux les plus puissants. Ces toxines empêchent la fermeture des canaux sodium ouverts durant l'activité nerveuse normale et induisent des bouffées répétitives de potentiels d'action, bloquant le système nerveux et tuant rapidement l'insecte (RACCAUD-SCHOELLER, 1980; CLEMENT, 1990; KUMAR, 1991).

I.2.1.2.- Systèmes hormonaux

Exemple de précosène (fig. 13) a été isolé en 1976 d'*Ageratum houstonianum* (Mill, 1768) (Asteraceae). Cette molécule induit chez les insectes une métamorphose précoce réversible, son action est antihormone et plus particulièrement anti-hormone juvénile. Cette molécule détruisait les Corpora allata des insectes en formant des époxydes hautement réactifs. Les glandes sont atrophiées, l'hormone juvénile n'est pas sécrétée et les insectes meurent (CLEMENT, 1990; GIRARDIE, 1991).

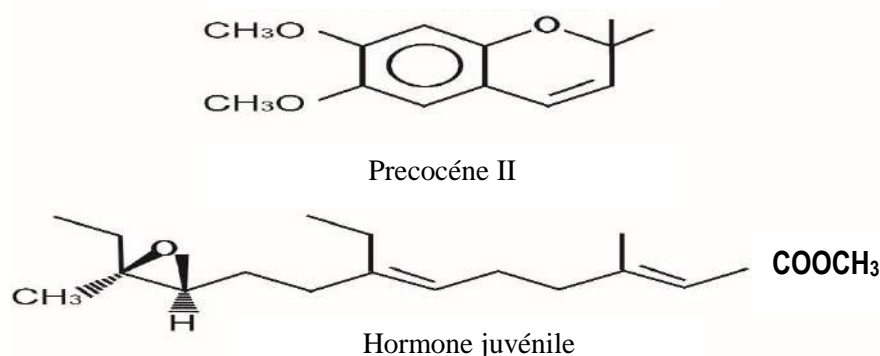


Figure13.- Molécule de Precocène anti hormone juvénile extraite de *d'Ageratum houstonianum* (Mill, 1768) (Asteraceae) (CLEMENT, 1990)

I.2.1.3.- Systèmes biochimiques intracellulaires

Le système biochimique au niveau de la cellule englobe toutes les voies biologiques nécessaires pour la survie de la cellule ainsi que les biomolécules actives responsables de métabolisme cellulaire.

I.2.1.3.1.- Enzymes respiratoires

Le français GEOFFREY (1895) a isolé de la racine de *Derris* sp. et de *Lonchocarpus nicou* deux espèces de la famille des Fabaceae, une toxine respiratoire: la roténone (fig. 14). La configuration absolue de cette molécule n'a été déterminée qu'en 1961 et son rôle précis dans les années suivantes. On sait maintenant qu'elle bloque les transferts d'électrons entre le NAD et le co-enzyme Q. La roténone stoppe la respiration et l'activité cardiaque. Les insectes sont paralysés progressivement (CLEMENT, 1990; GIRARDIE et GRANIER. 1973; LAWSON, 2006).

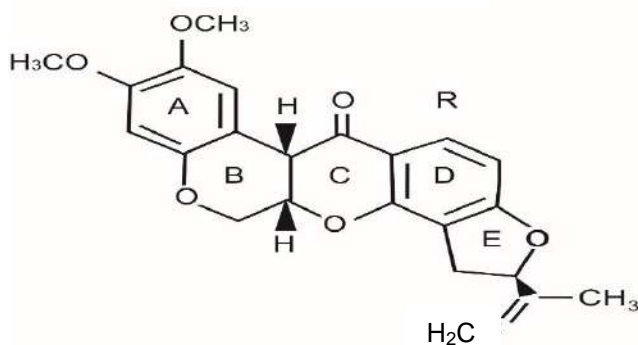


Figure 14.-Molécule de Roténone extraite de *Derris* sp. et de *Lonchocarpus nicou*.
(CLEMENT, 1990)

I.2.1.3.2.- Inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

Les inhibiteurs d'acétylcholinestérase empêchent la dégradation de l'acétylcholine libérée (GIES et LANDRY, 1986). 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 (GASTOU, 1972; ROBERT et VINCENT, 1997; ECKERT *et al.*, 1999; BENOIE *et al.*, 2005).

Parmi les toxines naturelles pouvant inhiber l'acétylcholinestérase se trouvent notamment la fasciculine (MARCHOT *et al.*, 1993; RADIC *et al.*, 1994, 1995; EASTMAN *et al.*, 1995), un peptide trouvé dans le venin des serpents «mambas» (*Dendroaspis*, Schlegel, 1848) et la d-tubocurarine qui interagit aussi avec le récepteur nicotinique, un des deux types de récepteurs synaptiques à acétylcholine. Ces deux inhibiteurs se fixent avec une haute affinité au site périphérique de l'enzyme et l'inhibe donc en bloquant physiquement l'accès au site actif. En ce qui concerne la fasciculine,

ce mode d'inhibition a été structuralement confirmé (BOURNE *et al.*, 1995; HAREL *et al.*, 1995; KRYGER *et al.*, 2000).

Il se retrouve également, parmi les inhibiteurs naturels de l'acetylcholinestérase, différents alcaloïdes (par exemple la galanthamine, la gallamine ou l'(-)-huperzine A), dont certains sont utilisés dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (KRYGER *et al.*, 2000).

I.2.1.4.- Seconds messagers

Les messagers primaires (hormones et neurotransmetteurs) agissent sur les cellules en intervenant sur les membranes et non directement à l'intérieure des cellules. Cette interaction chimique induit la mise en marche d'un enzyme: l'adénylate cyclase qui transforme l'ATP en AMP cyclique qui devient alors le second messenger intracellulaire.

Une plante *Coleus forskohlii*, synthétise la Forskoline qui agit sur les cellules d'insectes en activant la sous-unité catalytique de l'adénylate cyclase. Elle augmente alors le taux d'AMP cyclique dans les muscles car elle mime l'action de l'octopamine qui est une amine biogène utilisée uniquement par les insectes (fig. 15).

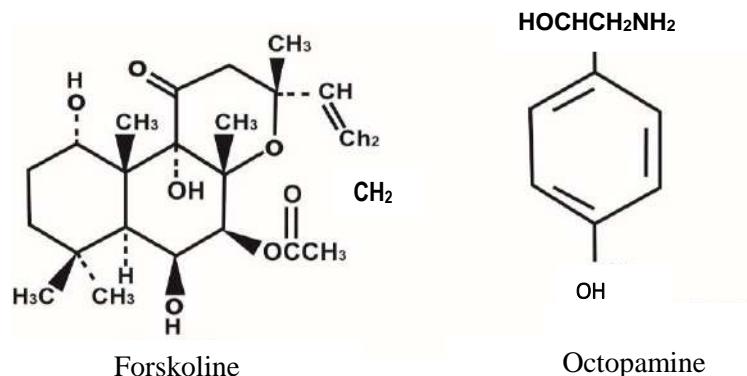


Figure 15.- Molécule de Forskoline extraite de *Coleus forskohlii* et molécule de Octopamine (CLEMENT, 1990)

Ce type d'action est très intéressant car il y a spécificité de récepteur et la désorganisation concerne uniquement le système cellulaire des insectes. On peut en outre amplifier l'action de ce stimulateur de l'AMPc en empêchant sa dégradation normale par les phosphodiesterase. C'est le cas de la caféine. Cette technique (insecticide augmentant les taux d'AMPc et blocage de sa dégradation par la caféine) a été utilisée avec succès avec le chlordiméforme (fig. 16), insecticide mimant l'octopamine (CLEMENT, 1990).

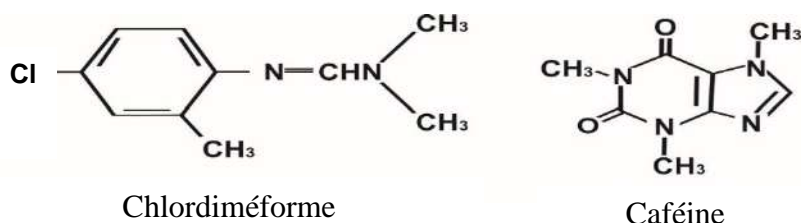


Figure 16.- Chlordiméforme et caféine (CLEMENT, 1990)

I.2.2.- Produits acridicides ou acridifuges d'origine végétale

Chez certaines plantes, des produits chimiques sont présents dans leurs tissus et peuvent ainsi intoxiquer des espèces nuisibles. La possibilité d'utiliser ces substances insecticides ou antiappétantes en lutte biologique contre les acridiens a suscité ces dernières années de nombreux travaux.

Ces plantes appartiennent à plusieurs familles botaniques: les Meliaceae avec *Melia azedarrach* L., 1753 et *Azadirachta indica* A. Juss., 1830, les Apocynaceae avec *Nerium oleander* L., 1753, les Oleaceae avec *Olea europea* L., 1753, les Compositae avec *Inula viscosa* L., 1753 et les Labiateae avec *Salvia officinalis* L., 1753 (DOUMANDJI et DOUMANDJI, 2006).

Les tests réalisés par l'utilisation des extraits végétaux ont porté sur les feuilles d'olivier *Olea europea* L., 1753, qui ne sont pas consommées par *L. migratoria* Linnaeus, 1758 dont les individus diminuent de poids puis meurent. Ces feuilles ont un effet répulsif et anti-appétant pour le criquet migrateur. Des polyphénols totaux ont été extraits de ces feuilles. La pulvérisation de cette solution sur les feuilles de blé a provoqué une diminution du poids ainsi que la mortalité de 100% des individus ayant consommé le végétal traité. D'autres plantes ont été testées sur des acridiens. Il s'agit de **mélia** *Melia azedarach* L., 1753, **de laurier rose** *Nerium oleander* L., 1753, *Sapindus utilis* L., 1753, *Inula viscosa* L., 1753 l'inule visqueuse et de **la sauge** *Salvia officinalis* L., 1753. Ces végétaux présentés à l'état frais ou en extraits, se sont révélés acridifuges et acridicides. Ils inhibent la prise de nourriture et causent la mortalité des acridiens après leur consommation même en très faible quantité.

L'huile de neem inhibe la croissance et le développement des acridiens. Le poids des larves traitées reste nettement inférieur à celui des témoins. Leur durée de développement embryonnaire est prolongée. Les larves qui survivent ne muent pas et meurent. Des taux de malformations et de mortalité allant jusqu'à 70% sont observés, ainsi qu'une diminution du nombre d'œufs par femelle, d'oothèques par femelle et

d'œufs par oothèque. Le traitement à l'huile de neem (*Azadirachta indica* A. Juss., 1830) a également réduit significativement l'hémogramme, les protéines hémolympathiques et cuticulaires. En plus, il ralentit les battements cardiaques et le rythme respiratoire des insectes traités (DOUMANDJI *et al.*, 2006).

Chapitre II.-

Méthodologie de travail

Le présent chapitre traite du principe adopté, le matériel biologique, la préparation des extraits végétaux, l'étude de la toxicité et la méthode d'exploitation des résultats.

II.1.- Principe adopté

La plante doit s'adapter avec ses propres ressources à tous les stress qui la guettent. Elle va donc élaborer des substances chimiques appelées principes actifs, qui vont lui permettre de lutter contre toutes les agressions environnementales. C'est ce que l'on désigne par «les métabolites secondaires» (GOETZ *et al.*, 2009). Ces substances naturelles qui présentent un large spectre d'action en pharmacologie comme bactéricides, fongicides, acaricides, nématicides, peuvent aussi être utilisées comme insecticides de remplacement.

L'utilisation des extraits de plantes comme insecticides, est connue depuis longtemps (ISMAN, 2005; SPIT *et al.*, 2012). La présente étude porte sur l'effet toxique d'extraits bruts d'huiles essentielles isolées des parties aériennes de quelques plantes spontanées endémiques du Sahara septentrional Est algérien chez le criquet pèlerin. Il s'agit d'une évaluation de la réponse biologique du Criquet pèlerin mis en présence d'extraits bruts foliaires de *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) et de *Colocynthis vulgaris* (L.) Schrad (Cucurbitaceae) et de rechercher leurs activités acridicides ou acridifuges. Les paramètres d'étude portent sur la physiologie, le comportement de l'insecte après traitement, les variations neurotoxiques qui peuvent être envisagées par un dosage de l'activité de l'enzyme acétylcholinestérase (WEILL *et al.*, 2003), ce qui est nécessaire pour le contrôle temporel de la transmission synaptique (MASSOULIE, 2002). La neurotransmission régulée par l'acétylcholine est fondamentale pour un système nerveux fonctionnel (GIRARD, 2006). ECKERT *et al.*, (1999) notent que l'élimination des molécules d'acétylcholine de la fente est essentielle car son action doit être limitée dans le temps.

II.2.- Matériels utilisés

Il sera développé dans les matériels utilisés, le matériel biologique, le matériel de traitement et la technique de traitement adopté.

II.2.1.- Matériel biologique

Le matériel biologique se compose d'imagos du Criquet pèlerin issus d'un élevage de masse réalisé au laboratoire de Protection des Écosystèmes en Zones Arides

et Semi-arides (ECOSYS) de l'université Kasdi Merbah-Ouargla (Algérie), d'extraits bruts de cholinestérase et des parties aériennes de *C. vulgaris* et *C. arabica* récoltées dans la région de Ghardaïa située au Sahara septentrional Est algérien.

II.2.1.1.- Cholinestérase

Les cholinestérases sont des enzymes qui appartiennent à la classe des hydrolases de serine qui agissent préférentiellement sur les esters de choline. Il se distingue deux types: acétylcholinestérase et butyrylcholinesterase (BOTTI *et al.*, 1999).

L'acétylcholinestérase est l'enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et en acide acétique dans les fentes synaptiques et dans certaines cellules comme les globules rouges FORET (2007), tandis qu'aucun rôle physiologique n'est signalé pour la butyrylcholinesterase (MARCEL *et al.*, 1998; BOTTI *et al.*, 1999; NACHMANSOHN et ROTHENBERG, 1945).

Selon ISHAAYA (2001), les vertébrés possèdent l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinesterase. Elles peuvent être différenciées par leur substrat préféré, tandis que les arthropodes possèdent une seule enzyme, présentant les caractéristiques des deux types de cholinestérases. Il s'agit généralement de l'acétylcholinestérase (ISHAAYA, 2001; BOTTI *et al.*, 1999).

Pour GIES et LANDRY (1993) 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. Ceci perturbe le comportement de l'être vivant et entraîne sa mort en l'empêchant de se mouvoir et de se nourrir (GASTOU, 1972; PHILOGENE, 1991).

A cet effet, il s'avère nécessaire de s'intéresser au développement de biomarqueurs que représentent les indicateurs biochimiques, physiologiques ou histologiques d'exposition ou l'effet d'un organisme à des contaminants. Le dosage d'enzyme cholinestérase peut servir à évaluer la toxicité d'une substance xénobiotique sur le comportement chez *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775).

II.2.1.2.- *S. gregaria*

Le criquet pèlerin est l'insecte migrateur dont les invasions couvrent dans le monde les plus vastes surfaces (MALLAMAIRE et ROY, 1968).

II.2.1.2.1.- Choix des stades

Le choix des individus adultes se justifie. 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).

II.2.1.2.2.- Elevage

Les individus utilisés proviennent des périmètres céréaliers de la région d'Adrar (Sahara central). L'élevage est réalisé au laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Kasdi Merbah-Ouargla (Algérie).

Les insectes sont des imagos du criquet pèlerin élevés dans une cage parallélépipédique avec support en bois de dimensions 120x60x70 cm³. La cage est recouverte d'une toile moustiquaire et, possède une porte coulissante en bois pour permettre les différentes manipulations.

Le régime alimentaire se compose d'éléments nutritifs très convoités par ce locuste. Il s'agit du chou *Brassica oleracea* L. (Brassicaceae), du gazon *Stenotaphrum americanum* L. (Poaceae) à l'état frais ainsi que du blé dur *Triticum durum* L. (Poaceae) et son de blé (OULD EL HADJ *et al.*, 2004; AZIZI *et al.*, 2010). Les individus sont soumis à une température de 30°C ± 5°C., un éclairage continu et une humidité relative de 60 ± 2%. Le nettoyage des cages se fait quotidiennement

II.2.1.3.- Choix des plantes

Les propriétés insecticides des métabolites d'origine végétale comme la nicotine, la roténone et le pyrèthre sont connues. Certes, l'avènement des insecticides de synthèse a mis en veilleuse les recherches sur les produits naturels d'origine végétale. La lutte contre les insectes entre donc dans une nouvelle phase puisque cette proche (botanique) fournit des moyens de lutte en meilleure harmonie avec l'environnement, moyen provenant des organismes à protéger eux-mêmes.

En se basant sur la liste des plantes appréciées ou délaissées par les acridiens, proposée par RUNGS (1945) suite à des observations sur terrain, le choix a porté sur deux plantes spontanées *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) et de *Colocynthis vulgaris* (L.) Schrad (Cucurbitaceae), connues pour leurs qualités acridifuges ou acridicides.

II.2.1.3.1.- *C. vulgaris* (Hadja)

La plante *Colocynthis vulgaris* (photo 1) malgré leur forte occurrence sur terrain conjointement avec le Criquet pèlerin, n'a jamais été consommée par les imagos et son absence dans les excréments de *S. gregaria* peut s'expliquer par son inappétence (GUENDOUZ-BENRIMA, 2005).



Photo 1.- *C. vulgaris* (Oued Bouchen, Région de Ghardaïa, Octobre 2010)

II.2.1.3.1.1.- Position systématique

C. vulgaris ou bien *Colocynthis vulgaris* est une plante vivace à longues tiges rampantes qui s'étalent sur le sol et pouvant dépasser 1 m de long. C'est une plante hispide mais à poiles non piquantes. Les feuilles sont profondément découpées dont les marges sont souvent enroulées au début de dessiccation. Pendant la période de floraison, vers le mois d'avril-mai, il apparaît des fleurs composées de cinq pétales jaune claire. La coloquinte présente des fruits sphériques lisses de couleur verte tacheté, puis jaunâtre à maturité. Il présente un goût amer très prononcé (OZENDA, 1991). D'après QUEZEL et SANTA (1963), OZENDA (1991), la systématique de *C. vulgaris* est la suivante:

Embranchement	Spermaphyte
Sous Embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dilleniidae
Ordre	Violale
Famille	Cucurbitaceae
Genre	Colocynthis
Espèce	<i>Colocynthis vulgaris</i> L. Schrad

II.2.1.3.1.2.- Intérêt socioéconomique

Les feuilles et les fruits de *C. vulgaris* sont utilisés en infusion, en cataplasme pour les indigestions, des dermatoses et des infections génitales (UICN., 2001). En médecine traditionnelle, la pulpe du fruit traite les piqûres de scorpions et les morsures de serpents venimeux. Le fruit est également utilisé pour le traitement des furoncles, des hémorroïdes et comme purgatif. Le goudron végétal extrait des graines est utilisé pour le traitement de la gale (CHOPRA *et al.*, 1960). D'autres usages sont connus localement, mais on insiste sur l'extrême virulence de son poison qui réduit considérablement son emploi (BENCHELAH *et al.*, 2000). *C. vulgaris* est également utilisée par les populations locales pour soigner les dermatoses des dromadaires. Renfermant un alcaloïde puissant ayant un effet violemment purgatif, ainsi que de l' α -élatérine mais pas de β -élatérine (isomère actif). La colocynthine ou la citrulene qui est un glucoside, se compose d'un alcaloïde et d'un alcool cristallisable, le citrullol (CHOPRA *et al.*, 1960; BENCHELAH *et al.*, 2000) qui lui confère des vertus médicinales mais la rend également dangereuse (BENCHELAH *et al.*, 2000). Les racines contiennent de l' α -élatérine et les graines une huile jaune brunâtre qui renferme notamment un alcaloïde, un glucoside et de la saponine. Il existe un composé triterpène tétracyclique appelé cucurbitacine isolé des feuilles et des fruits de coloquinte et qui présente des effets anti-appétants. C'est un antagoniste des hormones stéroïdiennes des insectes (CHOPRA *et al.*, 1960; TESSIE *et al.*, 1975; GAMLATH *et al.*, 1988 et DINAN *et al.*, 2004).

II.2.1.3.2.- *Cleome arabica* L. (N'Tile)

C. arabica (photo 2) est une espèce saharienne caractérisée par certaines actions thérapeutiques et toxiques dues à ses composés (BOURRICHE *et al.*, 2005).



Photo 2.- *Cleome arabica* L. (Oued N'Saa, région de Ghardaïa, Octobre 2010)

II.2.1.3.2.1.- Position systématique

C. arabica est une plante vivace de 30 cm de hauteur, à tiges dressées et ramifiées, *C. arabica* présente de petites feuilles poilues, 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 5cm de longueur située à la base de pétiole. C'est une plante à odeur fétiche, toxique et présente des effets hallucinogènes. Les glandes stipées sécrètent une substance visqueuse (GUBB, 1913; OZENDA, 1991).

D'après QUEZEL et SANTA (1963); OZENDA (1991), la systématique de *C. arabica* est la suivante :

Embranchement	Spermaphyte
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédone
Sous classe	Dilleniidae
Ordre	Capparale
Famille	Capparidaceae
Genre	Cleome
Espèce	<i>Cleome arabica</i> L.

II.2.1.3.2.2.- Intérêt socioéconomique

Selon MAIRE (1933) et OZENDA (1991), les chameaux refusent cette plante et les chèvres et les moutons n'en mangent que très peu. *C. arabica* est une plante spontanée médicinale. Les indigènes l'utilisent comme diurétique et contre les rhumatismes. En médecine traditionnelle, *C. embylocarpa* est utilisé comme sédatif ou associé à *Juniperus phoenicia* pour soulager les douleurs, avec *Hammada scoparium* pour les maux de tête et avec *Artemisia herba alba* comme traitement gastrique, colique et contre la grippe et le vomissement (UICNR, 2005).

Les feuilles et les racines de certains genres de *Cleome* tels que *C. rosea*, *C. viscosa*, *C. gymandra* et *C. africana* sont utilisées dans plusieurs régions du monde en pharmacopée traditionnelle contre les diarrhées. Elles présentent des propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes, anti-arthritiques, anti-prolifératives, anti-oxydants, anti-néoplasiques. L'extrait aqueux de *C. viscosa* est employé comme analgésique, antipyrétique et comme hypoglycémie. Certaines espèces comme *C. hitra* sont utilisées comme pesticides à des fins agronomiques, divers groupes de composés secondaires dont les triterpènes, les anthraquinones, les flavonoïdes, les saponines, les stéroïdes, les

résines, les lectines, les glycosides et autres composées phénoliques et alcaloïdes ont été isolés des Capparidaceae notamment des espèces du genre *Cleome*. En pharmacopée certains indigènes utilisent *C. arabica* comme diurétique et contre les rhumatismes (NAGAYA *et al.*, 1997; PARIMALA DEVI *et al.*, 2002; SUDHAKAR *et al.*, 2006; SIMÕES *et al.*, 2006 et NARENDHIRAKANNAN *et al.*, 2007).

Les feuilles de *C. arabica* sont utilisées en médecine traditionnelle comme un bechic et un sédatif. BOURICHE *et al.* (2005) signalent que *C. arabica* est une plante toxique qui provoque des troubles nerveux chez les animaux.

II.2.1.4.- Récolte et séchage

Les deux espèces végétales retenues pour la préparation des extraits sont recueillies à partir de leur biotope d'existence naturelle loin des endroits anthropisés dans le but d'éviter toute action de l'homme. Elles sont collectées **aux stade de fructification**, dans des Oued de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien). *C. arabica* est récoltée à Oued N'Saa et *C. vulgaris* à Oued-Bouchen. La récolte a eu lieu en Octobre 2010.

Les techniques de séchage peuvent variées: séchage au soleil, séchage à l'ombre, séchage artificiel. Lors du séchage, une plante aromatique pourrait perdre une partie de ses huiles essentielles par volatilisation et par entrainement avec la vapeur d'eau éliminée. Ces pertes sont d'autant plus importantes que la durée de séchage est longue et que la température est trop élevée. Le séchage à l'ombre permet la continuité et l'accélération de la biosynthèse des huiles essentielles même après la récolte du matériel végétal (BOURKHISS *et al.*, 2009; DJEDDI, 2012). Afin d'éliminer la poussière et toute matière susceptibles d'être coller à la partie aérienne, elles sont rincées à l'eau courante. Elles sont ensuite séchées à l'air libre et à l'ombre à la température ambiante. Les deux espèces végétales (*C. arabica* et *C. vulgaris*), sont séchées séparément. La durée de séchage diffère d'une plante à une autre, mais elle ne dépasse guère une semaine. Après séchage les feuilles sont broyées et emmagasiner dans des bouteilles hermétique à 25°C.

II.3.- Méthodes d'extractions

Les méthodes d'extraction portent sur l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation des feuilles de *C. arabica* et de *C. vulgaris*, et sur l'extraction d'enzyme cholinestérase des parties céphaliques du criquet pèlerin et celle du taux de protéines.

II.3.1.- Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles des feuilles de *C. arabica* et de *C. vulgaris* porte le principe et le mode opératoire de la technique d'extraction.

II.3.1.1.- Principe

Les huiles essentielles sont des substances liquides qui dégagent une odeur aromatique agréable. Elles sont volatiles à une température normale. Les huiles essentielles qui sont des résidus du métabolisme de la plante, sont emmagasinées dans des cellules spéciales, des glandes ou des canaux situés dans la profondeur des tissus ou à la surface de l'épiderme. La proportion de ces substances dans la plante dépend de l'âge de celle-ci, de la saison, du climat etc. (BERNARD *et al.*, 1988; PIBIRI, 2005; DJEDDI, 2012).

Il est adopté une hydrodistillation pour extraire les huiles essentielles. Cette méthode est traditionnellement la plus couramment utilisée (environ 80% des cas) car elle est la plus économique (KALOUSTIAN et HADJI MIRAGLOU, 2012). Elle est indiquée particulièrement pour l'extraction des huiles essentielles légères. La matière végétale est dispersée dans de l'eau et placée dans un ballon chauffé à ébullition, ce qui entraîne la formation de vapeurs qui vont entraîner les constituants volatiles. Ses vapeurs s'élèvent et passent dans le réfrigérant qui est constamment refroidi à une température comprise entre 15°C et 18°C (EL KALAMOUNI, 2010; TALEB TOUDERT, 2015).

Une température basse favorise la formation de gouttelettes. Au contact des parois du réfrigérant les vapeurs chaudes se condensent et s'écoulent au goutte à goutte dans un récipient ou elles forment le distillat. Ce dernier est un mélange de deux phases non miscibles (huiles essentielles et eau). Le surnageant constitué d'huiles essentielles est récupère (BRUNETON, 1993). D'une façon générale, la distillation est un procédé de séparation basé sur la différence de compositions entre un liquide et la vapeur engendrée. La technique implique la condensation de vapeurs et la récupération des fractions liquides résultantes (BRUNETON, 1993; EL KALAMOUNI, 2010; TALEB TOUDERT, 2015).

II.3.1.2.- Mode opératoire

Dans un ballon de 2 litres, mettre 100g de feuilles séchées avec 400ml d'eau

distillée. L'eau est portée à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon, en prenant garde de ne pas chauffer jusqu'à sec. La vapeur d'eau entraîne les produits organiques volatiles qui se condensent à l'aide d'un réfrigérant. Après décantation, les huiles essentielles sont récupérées (BOUKHATEM *et al.*, 2010; EL HAIB, 2011). Le produit ainsi obtenu servira pour le traitement des insectes.

II.3.2.- Extraction de l'enzyme acétylcholinestérase

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

II.3.2.1.- Principe

L'extraction d'une enzyme contenue dans un tissu commence par la destruction de l'organisation cellulaire 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 (LEBAS, 2012). L'acétylcholinestérase est présente en forte concentration au niveau du cerveau, notamment dans le réseau de neuropil (BELZUNCES *et al.*, 1988; EN-BO *et al.*, 2003).

A cet effet, l'étude porte sur des homogénats céphaliques du criquet pèlerin. Chez l'insecte, la forme amphiphilique globulaire intégrée dans la membrane cellulaire et généralement répandue. Elle représente une activité totale de 93% à 97%, alors que la forme hydrophile présente 7% à 3%, chez l'abeille. Le mode d'attachement des formes amphiphiles dans de nombreuses espèces d'invertébrées, telles que la *Drosophile melanogaster*, les parasites Plathelminthes et les abeilles *Apis mellifera*, est de glycoposphatidyl inositol (GPI) ancrage, qui peuvent être selon BADIOU *et al.* (2007) convertis par une phosphatidylinositol-phospholipase spécifique à une forme soluble (SILMAN et FUTERMAN, 1987; PERRIER *et al.*, 2002; BADIOU *et al.*, 2007; GNAGEY *et al.*, 2008). La tête de chaque individu est prélevée à l'aide d'une lame de bistouri. L'extraction est réalisée selon la méthode décrite par LIU *et al.* (2007). Les étapes doivent être réalisées à froid afin d'éviter l'altération de l'enzyme ou l'hydrolyse au cours de l'extraction.

II.3.2.2.- Mode opératoire

Les têtes coupées des criquets sont homogénéisées dans un mortier porter à

l'avance dans un congélateur. L'homogénat est récupéré dans 0,5 ml d'eau glace et 1 ml d'un mélange de 0,1M tampon phosphate (pH 7.5) contenant 0,1% d'un détergent : le Tween. Il permet d'éliminer les impuretés et les lipides membranaires. Une sédimentation est effectuée par centrifugation à 10.000 g pendant 20 mn à l'aide d'une centrifugeuse type SIGMA 1-15 numéro de série 90247. Le surnageât renfermant l'enzyme est récupéré à l'aide d'une micropipette. Il est conservé à -20°C pour une étude ultérieure.

II.4.- 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.4.1.- Méthode de traitement

La méthode de traitement est par pulvérisation. RACHADI (1991) définit 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.

II.4.2.- Constitution des lots et traitement des insectes

Pour un suivi à long terme et afin d'éviter les effets de masse, les interférences ou les perturbations; les insectes sont placés individuellement dans des cages parallélépipédiques en bois (0,30 m x 0,15 m x 0,15 m) dont les faces sont en tissu gaze.

Le dispositif expérimental se compose d'insectes mâle et femelle de *S. gregaria*. Chaque lot expérimental est constitué de 60 individus dont 30 mâles et 30 femelles. Par extrait d'espèce végétale, il est utilisé deux lots avec un lot pour le témoin et l'autre pour le traitement ce qui fait un total de 120 individus pour chaque extrait végétal à étudier. Pour les tests des huiles essentielles de *C. arabica* et *C. vulgaris*, il sera utilisé 240 individus de criquet du désert.

Parallèlement, un lot témoin positif constitué de 60 individus dont 30 mâles et

30 femelles, sera utilisé. Il sera traité par un insecticide de synthèse organophosphoré homologué en Algérie, ayant pour nom commercial le MALATOX EC50 (EC: émulsion concentrée) (MADR, 2007). La matière active de cet insecticide de synthèse est le Malathion (Diméthoxy-thioxo-phosphoranylthio- 2 succinate d'éthyle). L'insecticide présente une action de choc très élevée. Il agit par contact et par ingestion sur les insectes. Il est stable en présence de la lumière et instable en présence d'humidité.

Le choix a porté sur le MALATOX EC50, car sa persistance d'action est d'environ 8 jours. La dose utilisée est de 8g/l qui correspond à un volume de formulation de 400ml Malatox EC 50 /hl. Cette dose correspond à la concentration utilisée en lutte anti-acridienne (GASTOU, 1972; MADR, 1996; MADR, 2007).

Le témoin positif permet de comparé la réponse comportementale et neurochimique entre un traitement chimique par un inhibiteur de cholinestérases et un traitement biologique par les huiles essentielles foliaires des plantes testées. Les extraits bruts des huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris* et *C. arabica*, de même que le MALATOX EC50, sont pulvérisées directement en ultra bas volume (UBV ou ULV) sur les adultes de *S. gregaria*. La pulvérisation est effectuée à une température de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ et une humidité relative de $65\pm 3\%$. Il est noté aussitôt après traitement l'activité motrice et après chaque à 15 minutes les battements cardiaques par observation directe grâce à une loupe binoculaire après immobilisation de l'insecte et écartement des ailes et des élytres. Il consiste à compter le nombre d'ouverture du stigmate méta-thoracique par minute (OULD EL HADJ, 2004). L'expérimentation est suivie pendant deux heures ou jusqu'à la mort de l'insecte.

II.5.- Dosage de protéines

Pour le dosage de protéines, il est réalisé selon la méthode de LOWRY *et al.* (1951).

II.5.1.- Principe de dosage

Le dosage des protéines est réalisé sur l'extrait brut céphalique des individus femelles et mâles de *S. gregaria*, afin de déterminer l'activité enzymatique spécifique qui exprime la quantité de substrat hydrolysée en unité de temps et de protéines présentes dans le milieu réactionnel.

La méthode est basée sur la réaction de Biuret dans laquelle les liaisons

peptiques des protéines réagissent en conditions alcalines avec le cuivre en générant des ions Cu^+ qui réagissent avec le réactif de Folin. Dans la réaction de Folin-Ciocalteu, un colorant est réduit par l'oxydation des acides aminés aromatiques catalysée par le cuivre. Cette réduction induit un renforcement de la couleur bleue, dont l'intensité est fonction du contenu de la tyrosine et du tryptophane (composés aminés aromatiques) (CERCADO QUEZADA, 2009).

Le but est de déterminer la concentration en protéines de l'échantillon en se basant sur une solution standard dont les différentes dilutions ont des concentrations en protéines connues. Les protéines sont mises en évidence par une réaction colorée et la coloration est d'autant plus intense que la concentration en protéines est importante (BOCQUET *et al.*, 2006).

La méthode de LOWRY est une méthode photométrique, permet l'étude quantitative du taux de protéines, de fait que le réactif de folin-ciocalteu (acide phosphomolybdique et phosphotungstique) mis en présence d'une protéine est réduit en un complexe bleu de molybdène. La réaction est due aux groupements oxydés des acides aminés constitutifs, principalement des groupements phénoliques de tryptophane et de la tyrosine.

LOWRY a augmenté la sensibilité du dosage en faisant précéder la réaction d'un prétraitement par un réactif au cuivre en milieu basique. La teneur en protéines (mg/ml) est obtenue grâce à une courbe d'étalonnage réalisée en utilisant le sérum albumine bovine (BSA) dans les mêmes conditions expérimentales.

II.5.2.- Mode opératoire

Les réactifs sont préparés un jour avant la manipulation, afin de stabiliser la composition des produits chimiques mélangés et les liaisons chimiques des réactifs utilisés. Les solutions à préparer sont:

- 0,5g de CuSO_4 dans 100 ml d' H_2O distillée,
- 1g de tartrate de Na et K dans 100 ml CuSO_4 distillée,
- solution A: 10g de Na_2CO_3 dans 500 ml CuSO_4 + 2g de NaOH,
- solution B: 2ml de CuSO_4 0,5% +2ml de tartrate de Na et K 1%,
- solution C: 50ml de A +1ml de B.

Ainsi 500ul d'extrait brut céphalique sont dilués au 1/100, sont introduits dans un tube à essai avec 250ul de solution C. Le mélange est incubé à température ambiante pendant 10 minutes ensuite 100ul de réactif de Folin Cioclteu sont ajoutés. Le mélange est incubé à la température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes.

La densité optique est lue à 750nm contre le blanc avec des cuves de chemin optique 1cm. L'albumine est utilisée comme étalon.

II.6.- Dosage de l'activité enzymatique

Le dosage de l'activité enzymatique permet de suivre la cinétique enzymatique ce qui traduit pour la présente étude l'effet des extraits foliaires des plantes *C. arabica* et *C. vulgaris* sur la réaction d'hydrolyse d'acétylcholine chez le criquet, catalysée par les cholinestérases.

II.6.1.- Principe de dosage

L'activité enzymatique se traduit par la quantité de matière transformée en nano mole par minute (PELMONT, 2005; VAUBOURDOLLE, 2013). Le dosage est réalisé par la méthode d'ELLMAN *et al.* (1961).

Le principe de cette méthode est d'avoir des produits colorés de l'hydrolyse par l'acétylcholinestérase et par conséquence détectables par photométrie. Le substrat utilisé est l'acetylthiocholine qui peut être hydrolysé par l'acétylcholinestérase. Les produits obtenus sont de l'acide acétique et la thiocholine, ce dernier réagit avec le réactif d'Ellman qui comporte un composé chromogène l'acide dithionitrobensoïque DTNB présent dans le milieu, donne avec la thiocholine une couleur jaune. Son intensité est proportionnelle à la concentration du substrat, et peut être mesurée à 412 nm par spectrophotométrie basées sur la loi de Beer-Lambert (ISTAMBOULIE *et al.*, 2009).

II.6.1.- Mode opératoire

Le mélange réactionnel est préparé directement dans la cuve de mesure du spectrophotomètre. Ils comportent le tampon phosphate (0,1M et pH 7), homogénéiser avec 500µl d'extrait brut céphalique du criquet. Les mesures sont effectuées juste après addition d'un mélange d'acetylthiocholine et DNTB. La lecture de la DO contre le blanc se réalise à une longueur d'onde égale à 412 nm. La densité optique est notée après chaque minute, pendant 10 mn à 25°C. Le spectrophotomètre est de type SHIMADZU numéro de série A109345. L'activité enzymatique spécifique qui désigne l'activité cholinestérasique par rapport à la quantité de protéines dans le milieu se calcule suivant l'équation (BOUSSOUFA *et al.*, 2012; HAMDI-OURFELLA et SOLTANI, 2014):

$$A = \frac{\Delta Do \cdot V}{\varepsilon \cdot d \cdot X \cdot P \cdot \Delta t}$$

ΔDo : variation de la densité optique à 412nm durant t_2-t_1 min,

Δt : temps en minutes,

ε : coefficient d'extinction spécifique du DNTP à 412nm pour une réponse en μ moles transformés, $\varepsilon = 1,36 \cdot 10^4$ (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),

P : concentration en protéine (μ g/ml),

A : en nanomole /min /mg.

II.7.- Exploitation des résultats

Les traitements des données obtenues fait appel à des approches statistiques. Les résultats obtenus pour chaque paramètre seront interprétés statistiquement à l'aide du logiciel «MINITAB version 13.31.FR- copyright 2000». D'après DAGNELIE (1975) l'analyse de la variance consiste à étudier la comparaison des moyennes à partir de la variabilité des échantillons. L'analyse de la variance ANOVA est utilisée pour l'analyse des résultats après le test de normalité. Il permet suivant le niveau de la signification de déterminer l'influence des facteurs étudiés ou des interactions entre les facteurs. Afin de rechercher les relations entre les différents paramètres étudiés et l'influence d'un variable sur un autre, un test de corrélation est réalisé.

La probabilité inférieure à 0,01 donne un effet hautement significatif, à 0,05 un effet significatif et pour une probabilité supérieure à 0,05, il est considéré que l'effet n'est pas significatif.

Chapitre III.-
Résultats et discussion

Le troisième chapitre présente les résultats et la discussion retenus avant et après traitement des individus adultes du criquet pèlerin traités par les huiles essentielles foliaires de *C. arabica* et de *C. vulgaris* sur le plan comportementale, physiologique et neurochimique.

Les paramètres étudiés sont non seulement la mesure du temps de la mortalité, le rythme cardiaque, le taux de protéines, mais aussi l'étude de la cinétique enzymatique de cholinestérase réalisé par la mesure de l'activité d'enzyme cholinestérase et l'activité spécifique en fonction du taux de protéines.

III.1.- Effets des extraits végétaux sur le comportement de l'insecte

Durant les traitements aux huiles essentielles des feuilles de *C. arabica* et de *C. vulgaris*, il est à noter que les individus mâles et les individus femelles de *S. gregaria* ne présentent aucune réponse durant les dix premières minutes. Au cours du temps des changements de comportement discontinus sont observés.

Il y a une hyperactivité avec des sauts répétés qui peuvent être liés à l'excitation de l'insecte suite au traitement. Chez certains individus, il est remarqué apparaître un dégagement de sécrétions buccales de couleur verdâtre.

Les manifestations d'intolérance générale aux extraits des plantes, apparaissent après 30 à 60 minutes d'exposition des individus au traitement par les huiles essentielles des feuilles de *C. arabica* et, après 30 à 40 mn d'exposition des individus traités par les huiles essentielles de *C. vulgaris*. Elles se traduisent par une augmentation de l'activité locomotrice suivie d'une agitation des pattes postérieures.

L'agitation se généralise ensuite à tout le corps avec une chute remarquable de l'activité motrice et une augmentation des mouvements respiratoires chez les individus de cet acridien. Les symptômes deviennent plus sévères avec le temps et évoluent vers une paralysie totale de l'insecte suivie de la mort.

L'intensité des symptômes diffère d'un individu à un autre, toutefois les individus femelles semblent être plus résistants que les individus mâles du criquet pèlerin traités par les huiles essentielles de *C. arabica* et de *C. vulgaris*. Les individus témoins positifs du criquet pèlerin traités par un insecticide (Malatox EC 50) présentent les mêmes manifestations avec une hyperactivité observée 30 à 40 mn après traitement.

Il semble que le poids joue un rôle dans la résistance des individus puisque les femelles présentent un poids très important par rapport aux mâles (fig. 17).

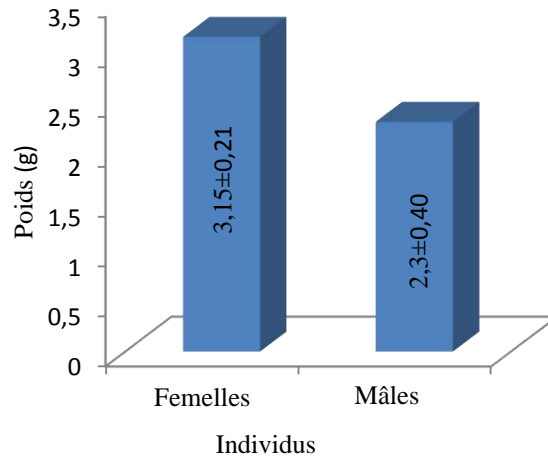


Figure 17.-Poids initial des individus femelles et mâles de *S. gregaria* traités par les huiles essentielles de *Cleome arabica* et de *Colocynthis vulgaris*

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, soit des monoterpènes avec leurs phénols reliés, et des terpènes plus complexes, dont les sesquiterpènes (CHIASSON et BELOIN, 2007); (BAKKALI *et al.*, 2007); (HARMEL *et al.*, 2008).

PRICE et BERRY(2006) signalent que les actions physiologiques des huiles essentielles sur les insectes sont moins connues, mais diverses huiles essentielles ou leurs constituants provoquent des symptômes similaires à un mode d'action neurotoxique. SIRAMON *et al.* (2009) notent que certaines huiles essentielles sont signalées pour leur mode d'action neurotoxique, quelles que soient les voies d'administration (orale, topique, respiratoire et à travers l'épiderme). Le commun symptôme de neurotoxicité inclue l'hyperactivité, des convulsions, des tremblements et la paralysie.

Des symptômes d'intoxication similaires, sont observés chez *Locusta migratoria* (Linné, 1758) (Acrididae) (MORETAU, 1991), le poisson *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) (Cyprinidae) (BRETAUD *et al.*, 2001), l'abeille domestique *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) (Apidae) (SUCHAIL *et al.*, 2003), après traitement par un insecticide inhibiteur de cholinestérase.

OULD EL HADJ (2004), OULD EL HADJ *et al.* (2003, 2006), KEMASSI (2008), KEMASSI *et al.* (2012a, b, 2013), ont observé les mêmes signes d'intoxication chez le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Acrididae). Chez des individus de termites souterrains *Coptotermes formosanus Shiraki* (Shiraki, 1909)

(Rhinotermitidae) pulvérisés par les huiles essentielles foliaires de la plante *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae) (Dehnh,1832), des symptômes les plus courants d'un mode d'action neurotoxique, sont noté tels que des convulsions, des tremblements (y compris hyper extension des jambes) et effet de choc au bout de quelques minutes, traduit par une paralysie, moribonde et finalement la morts (SIRAMON *et al.*, 2009).

Des symptômes d'intoxications des huiles essentielles végétales chez *S. gregaria* (Forskål, 1775) (Acrididae) sont mis en évidence la présence par LABOUZ (2010). ACHEUK et DOUMANDJI-MITICHE (2013) ont remarqué chez les larves de cinquième stade de *Locusta migratoria cinerascens* (Fabricius, 1781) (Orthoptera, Acrididae), traités par des extraits foliaires de *Pergularia tomentosa* (Asclepiadaceae), des symptômes de neurotoxicité rapides et persistantes 10 à 15 mn après le traitement. Certaines substances volatiles sont sécrétées à la surface des plantes, ces composés peuvent être attractifs ou substances répulsives, exemple des sesquiterpènes volatils qui sont relargués par les trichomes glandulaires et ont pour effet de perturber le comportement de l'insecte qui tente de fuir (HARMEL *et al.*, 2008).

LE BRAS (1995) signale que la première phase d'intoxication dite clonique ou convulsive, se traduit par une agitation extrême des pattes et des palettes natatoires chez les invertébrés aquatiques; agitation qui augmente avec le temps et le degré d'intoxication pour atteindre le stade de tétanie, suivie par la paralysie qui est une phase critique, puis par la mort.

Pour NGAMO et HANCE (2007), les huiles essentielles exercent des effets physiologiques et autres physiques. Les effets physiologiques peuvent affecter les neurotransmetteurs des invertébrés dont l'octopamine qui a un effet régulateur sur les battements des cœurs, la motricité, la ventilation, le vol et le métabolisme des invertébrés. Ainsi des études complémentaires sur des cultures de cellules de cerveau de la blatte américaine *Periplaneta americana* Linnaeus, 1758 (Blattidae) et de la mouche du vinaigre *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Drosophilidae) et la noctuelle de la tomate *Helicoverpa armigera* Hubner, 1808 (Noctuidae) montrent que l'eugénol à la concentration de $2,5 \cdot 10^{-5}$ M minimise l'action de l'octopamine et provoque un accroissement de taux de calcium intracellulaire. Un insecte soumis à l'action toxique d'un inhibiteur de cholinestérase, se retrouve en position d'un système nerveux complètement bloqué et pour cause, le principe actif de l'insecticide prend la place de l'acétylcholine et se fixe à son site d'interaction. Il en résulte un blocage des sites d'acétylcholinestérase car la composition moléculaire de l'insecticide ne permet pas l'hydrolyse qui normalement libérerait le site enzymatique et l'amorce d'une nouvelle réaction. Ainsi par leurs volatilités et leurs petites tailles, beaucoup des constituants des huiles essentielles interagissent avec les récepteurs d'odeur des

insectes, déclenchant des comportements variés: fuite, attraction, oviposition, etc. (REGNAULT-ROGER *et al.*, 2012; TRIPATJI *et al.*, 2009). Les monoterpènes contenus dans les huiles essentielles sont des neurotoxiques qui agissent sur différentes cibles en fonction de leur nature chimique. Le terpinène-4-ol et le 1,8-cineole contenus dans l'huile essentielle extraite des feuilles de thé provoquent une inhibition de l'acétylcholinestérase (BOUCHIKHI TANI, 2011; REGHAULT *et al.*, 2008).

RYAN et BYRNE (1988) rapportent que les composés qui inhibent ou inactivent l'enzyme acétylcholinestérase provoquent une accumulation d'acétylcholine dans les sites cholinergiques. L'acétylcholine accumulé est responsable d'une stimulation continue des fibres nerveuses cholinergiques, au niveau du système nerveux central et périphérique, suivi d'une paralysie et la mort.

PRIESTLEY *et al.* (2003) rapportent que le thymol présent en solution dans plusieurs huiles essentielles végétales, perturbe le fonctionnement des synapses ou le neurotransmetteur acide gamma aminobutyrique (GABA). Il se fixe sur les récepteurs GABA associés aux canaux chlores situés sur la membrane des neurones post-synaptiques et perturbe ainsi l'activité régulatrice de ces cellules, ce qui explique l'agitation de l'insecte après traitement.

Les travaux de PRICE et BERRY (2006) sur la blatte américaine *Periplaneta americana* Linnaeus, 1758 (Blattidae) laissent remarquer que l'huile essentielle eugénol provoque une inhibition presque complète de l'activité électrique neuronale. De même le citral et le géraniol provoquent plutôt sur ces neurones un effet biphasique en fonction de la dose utilisée. A faible dose, ces deux composés induisent un accroissement de l'activité électrique spontanée, puis une décroissance à forte dose. Ainsi l'effet neurotoxique des huiles essentielles notamment linalool et l'estragol de la plante *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) sur l'activité électrique des neurones d'insecte. Ces différentes études confirment que l'activité insecticide est due à plusieurs mécanismes synergiques qui affectent des cibles multiples et perturbent ainsi plus efficacement l'activité locomotrice et cellulaire.

III.2.- Effets des extraits végétaux sur le temps de mortalité

Les résultats relatifs aux temps de mortalités des individus mâles et femelles de *S. gregaria* traités par des huiles essentielles foliaires de *C. arabica* et de *C. vulgaris*, sont consignés sur la figure 18. Les femelles et les mâles traités par l'insecticide de synthèse (Malatox EC50), ont présentés un temps de mortalité respectivement de 177±2,08mn et 129,67±2,54mn. Le traitement des insectes femelles et mâles du criquet du désert avec les huiles essentielles des feuilles de *C. arabica* entraîne un temps de

mortalité égal à $185 \pm 4,58$ mn chez les femelles et $135 \pm 4,00$ mn chez les mâles. Les femelles et les mâles traités avec les huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris* montrent un temps de mortalité plus courts que les individus traités par les huiles essentielles de *C. arabica* avec $179 \pm 3,60$ mn pour les femelles et $133 \pm 2,64$ mn pour les mâles. Le temps de mortalité est plus long chez les individus femelles par rapport aux individus mâles quel que soit l'extrait foliaire de *C. arabica* ou de *C. vulgaris*. Les femelles sont généralement morphologiquement de plus **grands poids** par rapport aux mâles (fig. 17).

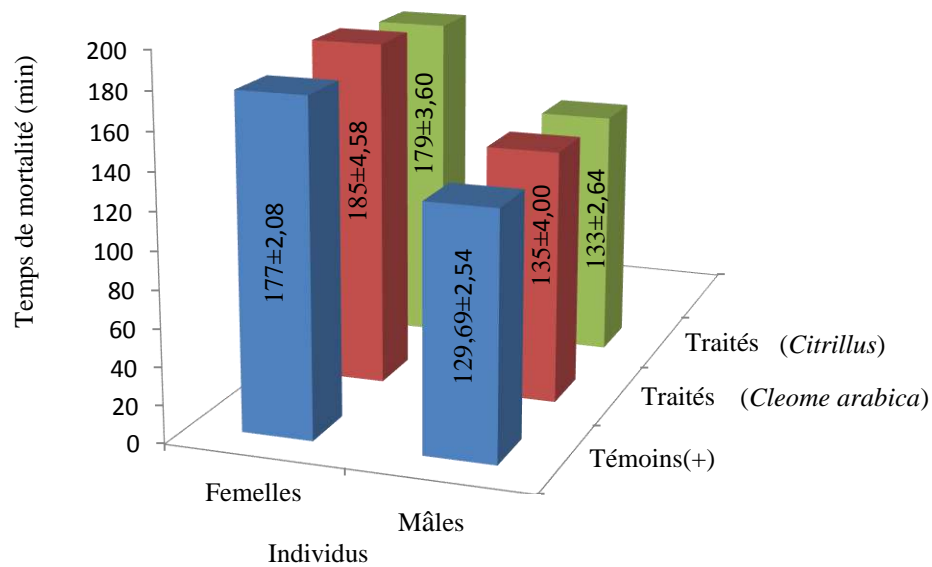


Figure 18.- Temps de mortalité chez les individus femelles et mâles de *S. gregaria* traités par les huiles essentielles de *Cleome arabica* et *Colocynthis vulgaris*

Plusieurs travaux ont étudié l'effet des huiles essentielles brutes sur le temps de mortalité chez le criquet pèlerin.

KEMASSI (2014) à signalé que les huiles essentielles brutes de *C. arabica* et de *C. spinosa*, présentent un fort pouvoir insecticide vis-à-vis du Criquet pèlerin, mais avec des rapidités d'action variables. Ainsi la même étude montre que l'extrait végétal de *C. arabica* est le plus toxique, 100% de mortalité n'est atteinte qu'après 53 mn 3'' pour les individus mâles et pour les imagos femelles, la mortalité de 100% n'est atteinte qu'après 56 mn 3''. Ainsi LABBOUZ (2010) note un temps de mortalité plus long chez les femelles et les mâles de *S. gregaria* traités par les huiles essentielles de *C. arabica*. Les individus adultes laissent apparaître un taux de mortalité total de 66.66% en 6 jours. La taille et le stade de développement des animaux influent sur la toxicité (RIVIERE, 1998). LE BRAS (1990) signale une corrélation entre le poids et la taille d'un individu et la concentration de l'insecticide appliqué, les insectes d'un poids et d'une taille faible sont plus sensibles que ceux d'un poids élevé et d'une taille plus

grande. En général l'absorption étant un phénomène de surface, les individus de petite taille ayant un rapport surface/masse corporelle supérieur à celui des individus adultes, qui conduit à une concentration cytosolique, après absorption plus élevée, ce qui peut induire une toxicité plus importante ou différente que chez l'adulte. Les effets toxiques des huiles essentielles dépendent de l'espèce d'insecte, de la plante et du temps d'exposition (KIM *et al.*, 2003). Les mâles d'*A.obtectus* sont plus sensibles aux huiles essentielles comparativement aux femelles (REGNAULT-ROGER et HAMRAOUI, 1994; PAPACHRISTOS et STAMOPOULOS, 2002). SUCHAIL *et al.* (2003) montrent que dans la plupart des cas, lorsqu'un xénobiotique (substance étrangère à l'organisme considéré), pénètre dans un organisme, ce dernier essaye de l'éliminer en changeant sa structure moléculaire pour le rendre plus soluble et donc plus facilement excrétable. Cette métabolisation conduit en général à la formation de métabolites moins toxiques. Elle peut aussi dans certains cas, aboutir à la formation de métabolites toxiques voir plus toxiques que le produit parent.

III.3.- Effet des huiles essentielles des feuilles de *C. arabica* sur le criquet pèlerin

Les huiles essentielles des extraits foliaires de *C. arabica* montrent des changements physiologiques et neurotoxiques chez les adultes du criquet pèlerin, par rapport aux individus témoins.

III.3.1.- Effet sur le rythme cardiaque

Les résultats des battements cardiaques des individus avant et après traitement sont mentionnés sur la figure 19. Il apparaît des variations du rythme cardiaque avant et après traitement à intervalle de 10 minutes jusqu'à 120 minutes, chez les individus femelles et mâles de cet insecte. Avant traitement aux huiles essentielles des feuilles de *C. arabica*, le rythme cardiaque des différents individus est de $58,72 \pm 3,01$ battements /mn pour les femelles du lot témoin, et $75,11 \pm 3,25$ battements /mn pour les mâles du lot témoin. Au vu des résultats, les valeurs notées pour le rythme cardiaque semblent diminuer 10 minutes après traitement. Chez les individus traités avec les huiles essentielles des feuilles de *C. arabica* ainsi que les individus des témoins positifs traités avec le Malatox EC 50. Les résultats sont pour les individus femelles et mâles, de $65 \pm 3,00$ battements /mn après 10 minutes, $51,66 \pm 6,50$ battements /mn après 30 minutes, à $55 \pm 4,35$ battements /mn après 60 minutes, à $35,6 \pm 4,34$ battements /mn après 120 mn, chez les individus femelles, et de $67 \pm 3,60$ battements /mn après 10 mn, $36,55 \pm 3,76$ battements /mn après 30 mn, à $30,66 \pm 1,52$ battements /mn après 60 mn, à $49 \pm 3,60$ battements /mn après 120 minutes, chez les individus mâles du Criquet du

désert. Pour les individus témoins positifs traités par l'insecticide organophosphoré, le rythme cardiaque diminue considérablement 10 minutes après traitement, il va de $70,11 \pm 7,28$ battements /mn après 10 minutes jusqu'à $5,33 \pm 1,15$ battements /mn après 120 minutes chez les individus femelles et de $72,78 \pm 3,53$ battements /mn après 10 minutes jusqu'à une valeur nulle du rythme cardiaque chez les individus mâles après 120 mn, les mâles après 120mn présentent une ouverture continue des stigmates, cette ouverture semble être due à une paralysie très sévère des muscles. Il est à noter que la diminution des pulsations cardiaques est plus perceptible chez les individus témoins positifs traités par l'insecticide de synthèse par rapport aux individus traités par l'extrait brut de *C. arabica*.

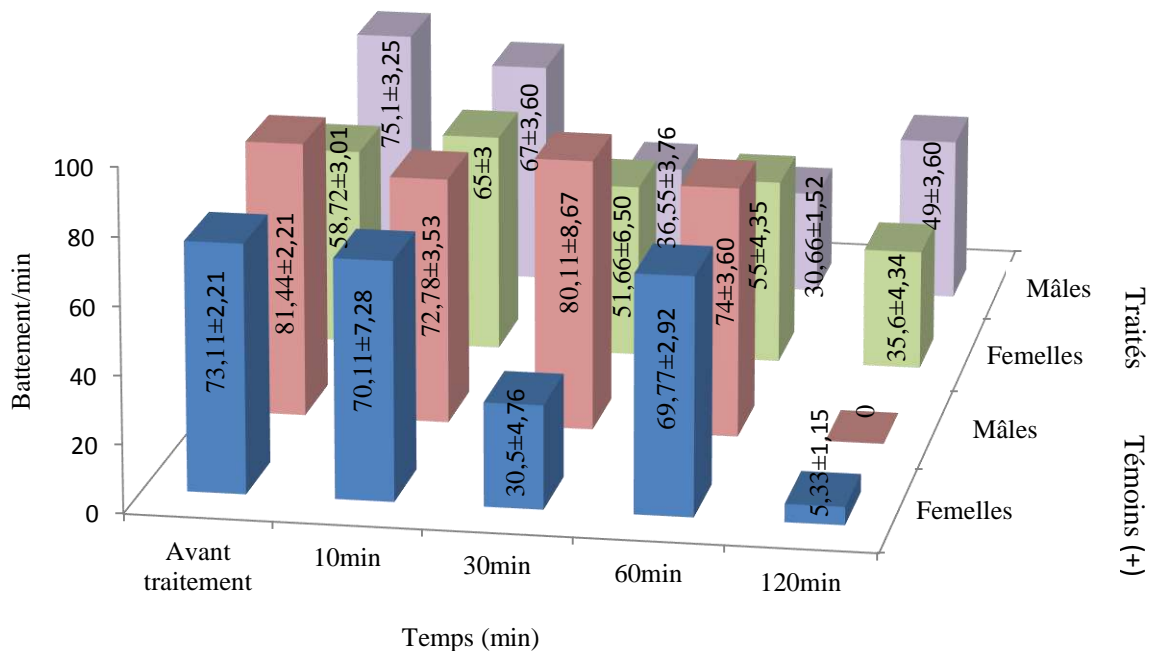


Figure 19.- Rythme cardiaque chez les individus femelles et mâles de de *S. gregaria* traités par les huiles essentielles de *Cleome arabica*

L'analyse de la variance pour les valeurs du rythme cardiaque enregistrées chez les mâles et chez les femelles de criquet pèlerin traités par les huiles essentielles de *C. arabica*, montrent une différence significative chez les femelles ($F=19,20$; $P=0,012$) et une différence hautement significative chez les mâles ($F=34,59$; $P=0,004$) dix minutes après traitement, une différence hautement significative chez les femelles ($F=31,51$; $P=0,005$) et très hautement significative chez les mâles ($F=326,95$; $P=0,000$) trente minutes après traitement, une différence hautement significative chez les femelles ($F=48,60$; $P=0,002$) et très hautement significative chez les individus mâles ($F=1200,05$; $P=0,000$) soixante minutes après traitement et une différence très

hautement significative chez les femelles (F=210,76; P =0,000) et chez les mâles (F=180,71; P=0,000) cent vingt minutes après traitement (tab. 1).

Tableau 1.- Analyse de la variance appliquée au rythme cardiaque chez les individus femelles et mâles de *Schistocerca gregaria* traités par les extraits foliaires de *Cleome arabica* (DL: Degré de liberté; SC: Somme des carrés; CM: Carré moyen; F obs.: F observé ou calculé; P: Probabilité; S: Signification; NS: Effet non significatif; **: Effet hautement significatif)

Extrait végétal	Sexe	Temps	Source	DL	SC	CM	F	P	S
Huiles essentielles de <i>Cleome arabica</i>	Femelles	10 min après traitement	Facteur	1	96,00	96,00 5,00	19,20	0,012	*
			Erreur	4	20,00				
			Total	5	116,00				
		30 min après traitement	Facteur	1	682,7	682,7 21,7	31,51	0,005	**
	Erreur		4	86,7					
	Total		5	769,3					
	60 min après traitement	Facteur	1	486,0	486,0 10,0	48,60	0,002	**	
		Erreur	4	40,0					
		Total	5	526,0					
	120 min après traitement	Facteur	1	2098,14	2098,14 9,95	210,76	0,000	***	
		Erreur	4	39,82					
		Total	5	2137,96					
	Mâles	10 min après traitement	Facteur	1	294,00	294,00 8,50	34,59	0,004	**
			Erreur	4	34,00				
			Total	5	328,00				
		30 min après traitement	Facteur	1	2970,38	2970,38 9,09	326,95	0,000	***
Erreur			4	36,34					
Total			5	3006,72					
60 min après traitement		Facteur	1	3800,17	3800,17 3,17	1200,05	0,000	***	
		Erreur	4	12,67					
	Total	5	3812,83						
120 min après traitement	Facteur	1	1536,00	1536,00 8,50	180,71	0,000	***		
	Erreur	4	34,00						
	Total	5	1570,00						

RAVEN *et al.* (2003) signalent que beaucoup des terpénoïdes présents dans les huiles essentielles des végétaux sont des poisons, qui peuvent provoquer des crises cardiaques. Utilisés en médecine, les terpénoïdes cardiotoniques peuvent ralentir ou stimuler les battements du cœur. Ainsi un déséquilibre de la balance hormonale peut avoir des effets considérables sur la physiologie et le comportement de l'insecte et contribue ainsi à son empoisonnement (MORETEAU, 1991).

Il est constaté que le degré d'apparitions des symptômes d'intoxication est en forte relation avec la dose retenue ainsi que l'état physiologique de l'insecte. La

diminution progressive du rythme au cours du temps peut être due à l'hyper sécrétion d'un neuropeptide chez le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*, le SchistoFLRF amide (HPro-Asp-Val-Asp-His-Val-Phe-Leu-Arg-Phe-NH₂). Cette hormone selon GIRARDIE (1991) est produite par les deux cellules de type A du ganglion sous oesophagien du Criquet pèlerin. Elle agit par action biphasique sur le cœur du criquet, d'abord cardioaccélérateur puis cardioinhibiteur, ainsi elle inhibe selon PFAFF *et al.*(2002), le neuropeptide adipokinétique AKH responsable de la régulation du stress au niveau du criquet. La nature lipophile de l'huile essentielle peut dégrader la couche cireuse appeler cuticule et causer des pertes en eau. La cuticule est sécrétée par l'épiderme et comporte plusieurs couches dont la couche externe, composée de cires donnant les propriétés hydrofuges à la cuticule. Les molécules de cette couche cireuse présentent une rangée de groupes aliphatiques vers l'extérieur créant ainsi une couche hydrofuge et imperméable. Les trachées et les sacs d'air des insectes sont induits de cette couche cireuse et sont affectés par l'huile essentielle ce qui peut entraîner l'asphyxie (CHIASSEON et BELOIN, 2007; BOSTANIAN *et al.*, 2005).

ENAN (2000) et ROEDER (1999) ont fait le lien entre l'application de l'eugénol, de l' α -terpinéol et de l'alcool cinnamique et le blocage des sites accepteurs de l'octopamine. Ils concluent que l'effet peut varier d'un terpène à l'autre et que les huiles essentielles peuvent agir en tant qu'agonistes ou antagonistes du neurotransmetteur. La fréquence à laquelle bat le cœur varie selon l'état physiologique et l'activité de l'insecte (OULD EL HADJ, 2004). Elle fluctue en fonction du stade de développement et même à l'intérieur d'un même stade. Le rythme cardiaque augmente en fonction de la température mais aussi par les mouvements respiratoires.

III.3.2.- Effet sur l'activité de l'acétylcholinestérase

Les résultats d'étude de l'activité cholinestérasique traités par l'extrait des feuilles de *C. arabica*, sont regroupés sur la figure 20. Il apparaît, des variations de l'activité cholinestérasique entre les individus femelles et les individus mâles témoins de *S. gregaria* qui sont respectivement de $20,34 \pm 4,17$ nanomole /mn /ml et $22,61 \pm 1,35$ nanomole /mn /ml. Pour les individus de témoin positif, traités par l'insecticide organophosphoré, l'activité d'enzyme acétylcholinestérase est de $59,23 \pm 3,88$ nanomole /mn /ml chez les femelles et de $53,53 \pm 1,34$ nanomole /mn /ml chez les mâles. Chez les individus traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. arabica* l'activité d'acétylcholinestérase est de $33,18 \pm 2,76$ nanomole /mn /ml pour les individus femelles et de $24,77 \pm 2,66$ nanomole /mn /ml pour les individus mâles. L'analyse de la variance de l'effet de l'extrait foliaire de la plante *C. arabica* sur l'activité d'enzyme cholinestérase montre une différence significative dans les valeurs de l'activité d'enzyme cholinestérase rapportées chez les individus femelles et les individus mâles

des lots traités avec un facteur F égale à ($F = 19,70$; $P = 0,011$) et ($F = 2,32$; $P = 0,02$) respectivement, comparativement aux individus femelles et mâles du lot témoins (tab. 2).

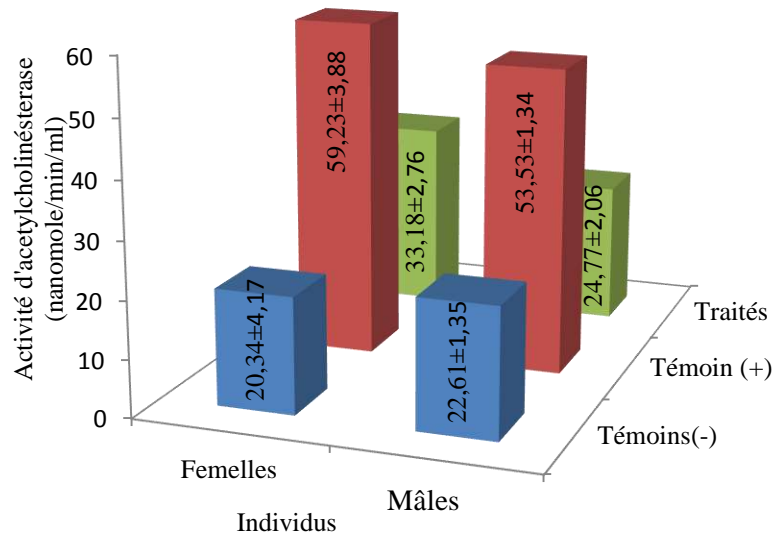


Figure 20.- Activité d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de de *S. gregaria* traités par les huiles essentielles de *Cleome arabica*

Tableau 2.- Analyse de la variance appliquée sur l'activité d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de *Schistocerca gregaria* traités par les extraits foliaires de *Cleome arabica* (DL: Degré de liberté; SC: Somme des carrés; CM: Carré moyen; F obs.: F observé ou calculé; P: Probabilité; S: Signification; -: Effet non significatif; **: Effet hautement significatif)

Extrait végétal	Sexe	Source	DL	SC	CM	F	P	S
Huiles essentielles de <i>Cleome arabica</i>	Femelles	Facteur	1	247,0	247,0	19,70	0,011	*
		Erreur	4	50,2	12,5			
		Total	5	297,2				
	Mâles	Facteur	1	7,06	7,06	2,32	0,002	**
		Erreur	4	2,17	3,04			
		Total	5	19,24				

Il semble que le traitement soit avec un insecticide de synthèse ou avec les huiles essentielles des feuilles de *C. arabica* entraîne une élévation de l'activité d'enzyme acétylcholinestérase, l'augmentation est plus perceptible chez les individus femelles et mâles traités par l'insecticide organophosphoré. La majorité des études ont porté sur l'effet anticholinestérasiques des alcaloïdes, tels que la physostigmine et galantamine. Jusqu'à présent, plus de 35 alcaloïdes ont été rapportés comme ayant une activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase. Les autres grandes classes de composés

signalés à avoir une telle activité sont les terpénoïdes, les glycosides et les coumarines (REGNAULT-ROGER *et al.*, 2008).

Selon MORETEAU (1991), les individus traités par les insecticides organophosphorés présentent une phase d'hyper-activité avant d'arriver au stade de prostration.

MORETEAU et CHAMINADE (1983) signalent que l'intoxication comporte une phase d'hyperexcitation suivie d'une phase d'incoordination des mouvements et d'ataxie locomotrice ce qui signifie que l'activité cholinestérasique augmente au début avant d'arriver au stade de diminution qui résulte d'une inhibition irréversible de l'enzyme cholinestérase.

Les enzymes de détoxification comme les estérases, les oxydases ou les transférases, semblent encore actifs et capables de dégrader l'insecticide après 120 minutes d'exposition avant l'arrivée de la substance toxique aux cibles (cholinestérase) et que la concentration des substances actifs dans le site d'action n'a pas atteint encore le seuil toxique (LISKA, 1998; VIALA et BOTTA, 2007). Pour RACCAUD-SCHOELLER (1980) une telle hyperactivité, peut être à l'origine de la chute des glucides circulant et contribuent à la mort de l'insecte dans le temps.

III.3.3.- Effet sur le taux de protéines

Les résultats relatifs aux valeurs du taux de protéines chez les individus mâles et femelles de *S. gregaria* traités par des huiles essentielles brutes des feuilles de *C. arabica* sont rassemblés sur la figure 21. Un taux de protéines plus élevé chez les individus femelles témoins de $61,67 \pm 5,07$ μg de protéines /ml par rapport aux mâles avec $48 \pm 2,64$ μg de protéines /ml est enregistré. Les individus traités par le Malatox EC50 montrent une augmentation avec $74,86 \pm 4,96$ μg de protéines /ml pour les femelles et $83,98 \pm 2,78$ μg de protéines /ml pour les individus mâles. Les individus traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. arabica* enregistrent $73,33 \pm 1,97$ μg de protéines /ml chez les femelles et $82,7 \pm 3,15$ μg de protéines /ml chez les mâles. Une augmentation du taux de protéines est signalée après traitement par les huiles essentielles de *C. arabica*.

L'analyse de la variance pour les valeurs du taux de protéines enregistrées pour les femelles et les mâles de criquet pèlerin traités par l'extrait foliaire de *C. arabica*, montre une différence significative chez les individus femelles avec un facteur $F = 13,78$; $P = 0,021$ et une différence très hautement significative chez les individus mâles avec un facteur $F = 213,08$; $P = 0,000$ (tab. 3).

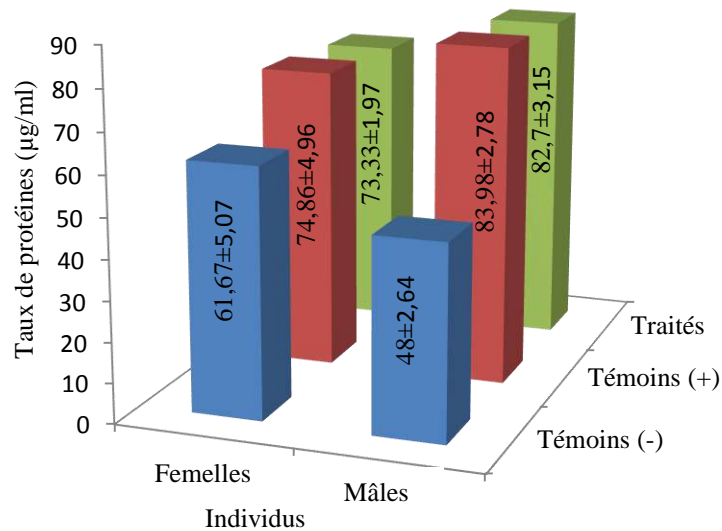


Figure 21.- Taux de protéines chez les individus femelles et mâles de de *S. gregaria* traités par les huiles essentielles de *Cleome arabica*

Tableau 3.- Analyse de la variance appliquée sur le taux de protéines chez les individus femelles et mâles de *Schistocerca gregaria* traités par les extraits foliaires de *Cleome arabica* (DL: Degré de liberté; SC: Somme des carrés; CM: Carré moyen; F obs.: F observé ou calculé; P: Probabilité; S: Signification; NS: Effet non significatif; ** : Effet hautement significatif)

Extrait végétal	Sexe	Source	DL	SC	CM	F	P	S
Huiles essentielles de <i>Cleome arabica</i>	Femelles	Facteur	1	204,1	204,1	13,78	0,021	*
		Erreur	4	59,2	14,8			
		Total	5	263,3				
	Mâles	Facteur	1	1806,14	1806,14	213,08	0,000	***
		Erreur	4	33,90	8,48			
		Total	5	1840,04				

MADACI *et al.* (2008) notent une augmentation du taux de protéines chez les vers blancs *Rhizotrogini*, (Coleoptera scarabaeidae) nourries par la partie aérienne de la plante *Nerium oleander* (Apocynaceae), une augmentation du taux de protéines avec $71,69 \pm 5,26$ mg de protéines par mg de têtes par rapport aux individus témoins qui présentent un taux de protéines égal à $27,12 \pm 6,86$ mg de protéines par mg de têtes. Cependant une diminution du taux de protéines, est enregistrées chez des larves de cinquième stade de *Locusta migratoria cinerascens* (Fabricius 1781) (Orthoptera: Acrididae), traités par l'extrait foliaire des alcaloïdes de *Pergularia tomentosa* (Asclepiadaceae). Il se situe entre $45,3 \pm 1,5$ et $53,9 \pm 0,8$ µg / µl, respectivement, pour le deuxième et le dix-huitième jour (ACHEUK et DOUMANDJIMITICHE, 2013). MORETEAU et CHAMINADE (1983) notent que les insecticides provoquent

la libération de certaines hormones chez les insectes, parmi ces hormones, RACCAUD-SCHOELLER (1980) décrit la libération d'hormones hyper glycémiantes de nature peptidique chez *Schistocerca gregaria*, ce qui peut contribuer à l'augmentation du taux de protéines. Pour MORETAU (1991), l'action des inhibiteurs de cholinestérase sur le système nerveux s'accompagne de perturbations au niveau des organes endocrines. Le taux élevé de protéines après 30 minutes d'exposition semble être due à la phase d'hyperactivité engendrant, une hyper sécrétion des régulateurs peptidiques du rythme cardiaque (GIRARDIE, 1991).

III.3.4.- Effet sur l'activité spécifique

Les résultats d'étude de l'activité spécifique chez les individus femelles et mâles de *S. gregaria* traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. arabica*, sont mentionnés sur la figure 22. Les valeurs de l'activité spécifique chez les individus femelles et les mâles témoins notées respectivement, sont de $0,32 \pm 0,02$ nanomole /mn /mg et $0,47 \pm 0,04$ nanomole /mn /mg. Le traitement avec l'insecticide organophosphoré entraîne une augmentation de l'activité spécifique avec $0,79 \pm 0,02$ nanomole /mn /mg chez les femelles et $0,63 \pm 0,026$ nanomole /mn /mg chez les mâles. Ainsi les huiles essentielles des feuilles de *C. arabica* entraîne une augmentation de l'activité spécifique moins élevée par rapport aux individus traités par le Malatox EC50, soit $0,45 \pm 0,043$ nanomole /mn /mg pour les individus femelles et $0,29 \pm 0,026$ nanomole /mn /mg pour les individus mâles.

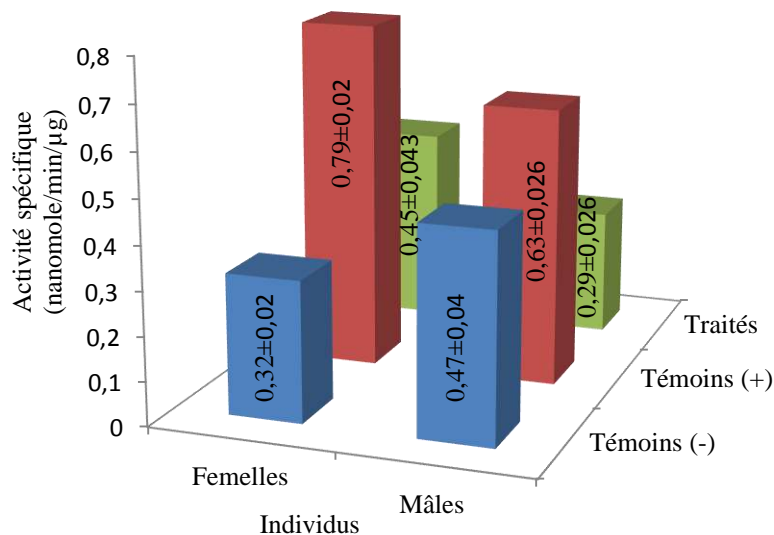


Figure 22.- Activité spécifique d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de *S. gregaria* traités par les huiles essentielles de *Cleome arabica*

L'étude de la variance sur l'activité spécifique d'enzyme cholinestérase chez les femelles et les mâles de *Schistocerca gregaria* traités par les huiles essentielles

foliaires de *C. arabica* indique un effet hautement significatif chez les femelles et les mâles avec un facteur $F = 22,04$; $P = 0,009$ pour les femelles et un facteur $F = 69,43$; $P = 0,001$ pour les mâles (tab. 4).

Tableau 4.- Analyse de la variance appliquée de l'activité spécifique d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de *Schistocerca gregaria* traités par les extraits foliaires de *Cleome arabica* (DL: Degré de liberté; SC: Somme des carrés; CM: Carré moyen; F obs.: F observé ou calculé; P: Probabilité; S: Signification ; NS: Effet non significatif; **: Effet hautement significatif)

Extrait végétal	Sexe	Source	DL	SC	CM	F	P	S
Huiles essentielles de <i>Cleome arabica</i>	Femelles	Facteur	1	0,02535	0,02535 0,00115	22,04	0,009	**
		Erreur	4	0,00460				
		Total	5	0,02995				
	Mâles	Facteur	1	0,048600	0,048600 0,000700	69,43	0,001	**
		Erreur	4	0,002800				
		Total	5	0,051400				

III.4.- Effet des huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris* sur le criquet pèlerin

Les individus adultes de criquet pèlerin traités par les huiles essentielles foliaires de *C. vulgaris* montrent des changements physiologiques et neurochimiques probablement dus à l'effet toxique des substances contenues dans l'extrait de cette plante.

III.4.1.- Effet sur le rythme cardiaque

Les résultats d'étude du suivi du rythme cardiaque des individus mâles et femelles de *Shistocerca gregaria*, traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris* sont regroupés sur la figure 23. Il apparaît des variations du rythme cardiaque avant et après traitement à intervalle de 10 minutes jusqu'à 120 minutes, chez les individus femelles et mâles de cet insecte. Avant traitement aux huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris*, le rythme cardiaque des différents individus est de $89 \pm 0,80$ battements /mn pour les femelles du lot témoin, et $75 \pm 0,78$ battements /mn pour les mâles du lot témoin. Le rythme cardiaque chez les individus traités soit par l'insecticide Malatox EC 50, soit par les huiles essentielles diminue chez la majorité des individus, la diminution est plus perceptible chez les individus femelles et mâles traités par l'insecticide de synthèse. Pour les individus femelles et mâles traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris*, il est noté $77,42 \pm 2,96$ battements /mn

après 10 minutes, $59 \pm 3,00$ battements /mn après 30 minutes, $50 \pm 5,29$ battements /mn après 60 minutes, $35 \pm 2,64$ battements /mn chez les individus femelles. Chez les individus mâles du Criquet du désert, les battements sont de $60 \pm 4,58$ battements /mn après 10 mn, $68 \pm 2,00$ battements /mn après 30 mn, $70 \pm 3,00$ battements /mn après 60 mn, $52 \pm 3,23$ battements /mn après 120 mn.

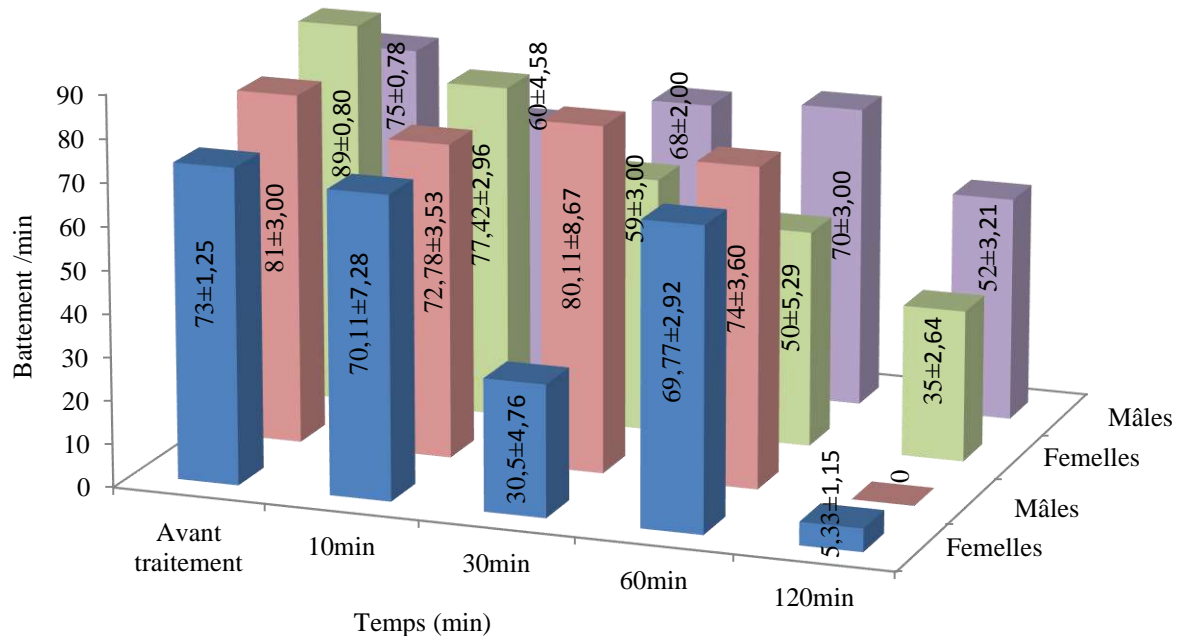


Figure 23.- Rythme cardiaque chez les individus femelles et mâles de *S. gregaria* traités par les huiles essentielles de *Colocynthis vulgaris*

L'analyse de la variance effectuée sur le rythme cardiaque des individus femelles et mâles de *Schistocerca gregaria* traités par les extraits foliaires de *C. vulgaris* ne montre aucun effet sur les femelles ($F=5,99$; $P=0,071$) dix minutes après traitement tandis que les mâles dans le même intervalle de temps laissent apparaître un effet très significatif ($F=52,92$; $P=0,002$). L'effet très significatif chez les femelles traitées à l'extrait foliaire, est noté trente minutes après traitement ($F=58,80$; $P=0,002$) avec un effet très significatif chez les mâles ($F=63,38$; $P=0,001$), de même les femelles et les mâles montrent un effet très significatif soixante minutes après traitement.

Les valeurs du facteur sont de $F=54,72$; $P=0,000$ pour les femelles et de $F=27,92$; $P=0,006$ pour les mâles. Après cent vingt minutes les individus traités notent selon les résultats d'analyse de la variance un effet très hautement significatif, chez les femelles et les mâles le facteur F est de $F=541,50$; $P=0,000$ et $F=180,0$; $P=0,000$ respectivement (tab. 5).

Tableau 5.- Analyse de la variance appliquée au rythme cardiaque chez les individus femelles et mâles de *Schistocerca gregaria* traités par les extraits foliaires de *Colocynthis vulgaris* (DL: Degré de liberté; SC: Somme des carrés; CM: Carré moyen; F obs.: F observé ou calculé; P: Probabilité; S: Signification; NS: Effet non significatif; **: Effet hautement significatif)

Extrait végétal	Sexe	Temps	Source	DL	SC	CM	F	P	S
Huiles essentielles de <i>Colocynthis vulgaris</i>	Femelles	10 min après traitement	Facteur	1	29,26	29,26 4,89	5,99	0,071	-
			Erreur	4	19,54				
			Total	5	48,80				
		30 min après traitement	Facteur	1	294,00	294,00 5,00	58,80	0,002	**
	Erreur		4	20,00					
	Total		5	314,00					
	60 min après traitement	Facteur	1	793,5	793,5 14,5	54,72	0,002	**	
		Erreur	4	58,0					
Total		5	851,5						
Mâles	120 min après traitement	Facteur	1	2166,00	2166,00 4,00	541,50	0,000	***	
		Erreur	4	16,00					
		Total	5	2182,00					
	10 min après traitement	Facteur	1	661,5	661,5 12,5	52,92	0,002	**	
Erreur		4	50,0						
Total		5	711,5						
30 min après traitement	Facteur	1	253,50	253,50 4,00	63,38	0,001	**		
	Erreur	4	16,00						
	Total	5	269,50						
60 min après traitement	Facteur	1	181,50	181,50 6,50	27,92	0,006	**		
	Erreur	4	26,00						
	Total	5	207,50						
120 min après traitement	Facteur	1	1290,67	1290,67 7,17	180,09	0,000	***		
	Erreur	4	28,67						
	Total	5	1319,33						

Les huiles essentielles peuvent agir en tant qu'agonistes ou antagonistes d'un neurotransmetteur appelé l'octopamine, un neurotransmetteur spécifique au système nerveux des invertébrés, un effet régulateur sur les battements de cœur, la motricité, la ventilation, le vol et le métabolisme des invertébrés (CHIASSON et BELOIN, 2007). Une augmentation du rythme cardiaque chez des individus femelles et mâles du Criquet pèlerin parasités par *Trombidium parasitica*, est noté (SWEETMAN, 1936). L'augmentation du rythme cardiaque au début de l'exposition peut être attribuée à la réaction de l'organisme de l'acridien essayant de lutter contre l'action toxique.

III.4.2.- Effet sur l'activité de l'acétylcholinestérase

Sur la figure 24 les résultats relatifs à l'étude de l'activité de l'enzyme cholinestérase chez les individus traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris*, sont regroupés. Il apparaît, des variations de l'activité cholinestérasique entre les individus femelles et les individus mâles témoins de *S. gregaria* qui sont respectivement de $28,43 \pm 4,57$ nanomole /mn /ml et de $23,92 \pm 2,15$ nanomole /mn /ml. Le traitement par l'insecticide de synthèse, entraîne une élévation de l'activité cholinestérasique plus perceptible chez les individus femelles par rapport aux individus mâles, l'activité est de $59,23 \pm 3,88$ nanomole /mn /ml chez les femelles et de $54,53 \pm 1,34$ nanomole /mn /ml chez les mâles. Les femelles et les mâles traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris* montrent une diminution de l'activité d'enzyme cholinestérase, les mâles présentent le maximum de diminution avec $8,08 \pm 1,94$ nanomole /mn /ml par rapport aux individus femmes qui enregistrent $16,34 \pm 1,44$ nanomole /mn /ml. Il semble que chez les individus (femelles et mâles) traités par le Malatox EC50, sont encore dans la phase d'hyper activité ce qui explique l'augmentation de l'activité de cholinestérase tandis que les femelles et mâles traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris* sont déjà dans la phase d'inactivation d'enzyme cholinestérase ce qui traduit un pouvoir très toxique de la plante.

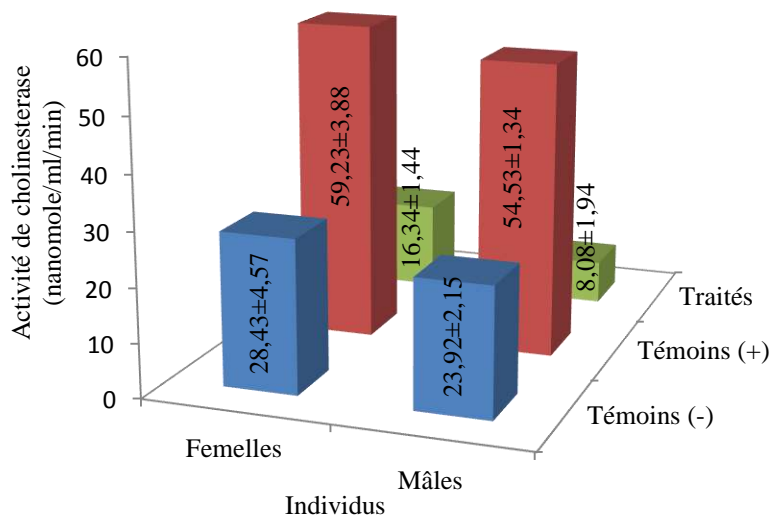


Figure 24.- Activité d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de *S. gregaria* traités par les huiles essentielles de *Colocynthis vulgaris*

L'analyse de la variance enregistre une différence hautement significative de l'activité d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles traités par l'extrait foliaire de *C. vulgaris*. Les facteurs F rapportés chez les femelles et les mâles

sont de $F = 19,05$; $P = 0,012$ et de $F = 89,31$; $P = 0,001$ respectivement (tab. 6).

Tableau 6- Analyse de la variance appliquée sur l'activité d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de *Schistocerca gregaria* traités par les extraits foliaires de *Colocynthis vulgaris* (DL: Degré de liberté; SC: Somme des carrés; CM: Carré moyen; F obs.: F observé ou calculé; P: Probabilité; S: Signification ; -: Effet non significatif; ** : Effet hautement significatif)

Extrait végétal	Sexe	Source	DL	SC	CM	F	P	S
Huiles essentielles de <i>Colocynthis vulgaris</i>	Femelles	Facteur	1	219,4	219,4 11,5	19,05	0,012	*
		Erreur	4	46,1				
		Total	5	265,4				
	Mâles	Facteur	1	377,15	377,15 4,22	89,31	0,001	**
		Erreur	4	16,89				
		Total	5	394,04				

L'inhibition des cholinestérases par les huiles essentielles des végétaux est observée chez plusieurs plantes. SENGOTTAYAN *et al.* (2007), rapportent que 25 g d'extraits de *Punica granatum* L. (Lythracées), de *Thymus vulgaris* L. (Lamiacées) ou d'*Artemisia absinthium* L. (Astéracées), provoquent une inhibition significative de l'activité de l'enzyme acétylcholinestérase chez les nématodes. Des huiles essentielles de *Cymbopogon giganteus* (Poaceae) et de *Cymbopogon nardus* (Poaceae) chez les stades immatures de *Callosobruchus maculatus* et de *Callosobruchus subinnotatus* (Coleoptera : Bruchidae), montrent un effet neurotoxique sur les embryons ou les jeunes larves des bruches (NYAMADOR *et al.*, 2010). Cet effet neurotoxique serait lié aux composés monoterpéniques contenus dans les deux huiles essentielles testées qui agiraient sur les insectes comme des neurotoxines. Ils notent l'inhibition de l'acétylcholinestérase par les monoterpènes.

L'inhibition de l'activité de l'enzyme cholinestérase est l'un des importants mécanismes d'action des insecticides. Les monoterpènes dans plusieurs huiles essentielles sont des inhibiteurs compétitifs de l'acétylcholinestérase (SIRAMON *et al.*, 2009). L'inhibiteur compétitif entre en compétition directe avec le substrat au site actif de l'enzyme et empêche celle-ci de former le produit, par conséquent un inhibiteur compétitif entraîne la diminution de la concentration en enzyme libre disponible pour se lier au substrat, ce qui provoque un déséquilibre chez l'insecte (VOET et VOET, 2004; LANSING *et al.*, 2010). HOWES et HOUGHTON (2003) signalent que de nombreuses huiles essentielles notamment leurs monoterpènes, présentent un effet inhibiteur sur l'acétylcholinestérase, exemple des huiles essentielles de *Melissa*

officinalis (Lamiacées) et *Rosmarinus officinalis* (Lamiacées) qui peuvent inhiber l'acétylcholinestérase érythrocytaire in vitro. Parmi les monoterpènes qui sont signalés à inhiber l'acétylcholinestérase, MUKHERJEE *et al.* (2007) notent le geraniol, 3-carene, α caryophyllène et le limonène. Ils signalent que le site actif hydrophobe de l'acétylcholinestérase est rapporté pour être sensible à des interactions hydrophobes, ce qui favorise l'interaction avec plusieurs monoterpènes cycliques (Exp : 1,8-cineole et α -pinène) et acycliques (Exp : geraniol et linalool) constitués d'un squelette hydrocarboné hydrophobe, qui peut contribuer à leur activité anti-cholinestérase.

Les monoterpènes contenant dans les huiles essentielles sont des neurotoxiques qui agissent sur différentes cibles en fonction de leur nature chimique. Le terpène -4-ol et le 1, 8-cineoli contenus dans les huiles essentielles extraites des feuilles de thé provoquent une inhibition de l'acétylcholinestérase. Ces neurotoxiques sont utilisés dans la lutte contre les poux (perturbe le fonctionnement des synapses inhibitrices ou le neurotransporteur). Ils peuvent rendre l'inhibition totale et persistante même 24 heures après un traitement (De même REGNAULT-ROGER *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2003). Les femelles présentent un taux d'inhibition plus important que les mâles, cela peut être dû selon PIART (1978) à la susceptibilité des femelles de fixer l'insecticide dans leurs ovocytes, qui semble présenter un milieu riche en lipides. Ils fixent beaucoup plus les insecticides de nature lipophile.

MORETEAU (1991) rapporte que les insecticides notamment les inhibiteurs de cholinestérase provoquent la libération de certaines hormones chez les insectes. Cette libération peut être une étape dans l'action létale des insecticides. La toxicité peut varier non seulement en fonction de la concentration de la substance toxique, mais aussi des biotransformations subies par cette substance dans l'organisme. Elles peuvent entraîner soit un phénomène d'intoxication ou de détoxification. Néanmoins, la morphologie de l'insecte, notamment la présence de la cuticule diminue la vitesse d'action des insecticides agissant par contact. L'imperméabilité des produits est en relation avec l'épaisseur et la scléroténisation de la cuticule (VIALA et BOTTA, 2007).

III.4.3.- Effet sur le taux de protéines

Les taux de protéines chez les individus mâles et femelles de *Shistocerca gregaria* traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris* sont rassemblés sur la figure 25. Un taux de protéines plus élevé chez les individus femelles témoins de $41,66 \pm 3,58$ μg de protéines /ml par rapport aux mâles avec $35 \pm 3,60$ μg de protéines /ml. Pour les criquets femelles et mâles ayant reçu un traitement par le Malatox EC 50

/l, le taux de protéines semble montrer une augmentation par rapport au taux enregistré chez les témoins. Cette augmentation est beaucoup plus marquée chez les individus mâles avec $83,98 \pm 1,34 \mu\text{g}$ de protéines /ml que chez les individus femelles qu'elles enregistrent $74,86 \pm 3,88 \mu\text{g}$ de protéines /ml. De même les individus traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris* montrent une augmentation du taux de protéines plus perceptible chez les mâles avec $46,11 \pm 1,94 \mu\text{g}$ de protéines /ml par rapport aux femelles qui enregistrent $45 \pm 1,44 \mu\text{g}$ de protéines /ml.

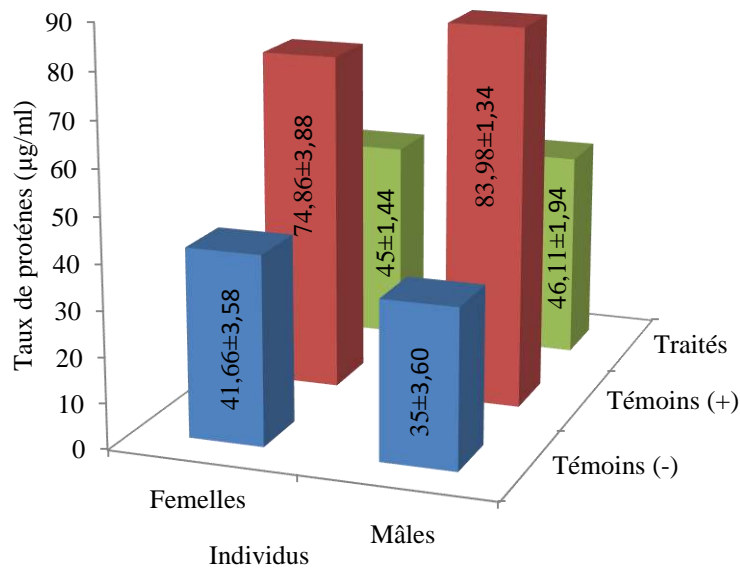


Figure 25.- Taux de protéines chez les individus femelles et mâles de *S. gregaria* traités par les huiles essentielles de *Colocynthis vulgaris*

Tableau 7- Analyse de la variance appliquée sur le taux de protéines chez les individus femelles et mâles de *Schistocerca gregaria* traités par les extraits foliaires de *Colocynthis vulgaris* (DL: Degré de liberté; SC: Somme des carrés; CM: Carré moyen; F obs.: F observé ou calculé; P: Probabilité; S: Signification ; NS: Effet non significatif; ** : Effet hautement significatif)

Extrait végétal	Sexe	Source	DL	SC	CM	F	P	S
Huiles essentielles de <i>Colocynthis vulgaris</i>	Femelles	Facteur	1	16,70	16,70	19,05	0,012	*
		Erreur	4	39,77	9,94			
		Total	5	56,47				
	Mâles	Facteur	1	184,82	184,82	21,48	0,001	**
		Erreur	4	34,42	8,61			
		Total	5	219,24				

La toxicité des insecticides semble être à l'origine d'une altération des protéines. Cette altération peut être très importante selon la dose administrée et avec le

temps, ceci est attribué à une chute du taux de protéines. Le mode d'action du lindane qui est un insecticide de synthèse neurotoxique, chez le criquet migrateur *Locusta migratoria*, se traduit par des altérations importantes touchant, le réticulum endoplasmique lisse et des altérations ultra structurales observées au niveau des feuillettes et des glandes. Le lindane, lors d'une intoxication aiguë, provoque une inhibition de l'activité glandulaire (MORETEAU, 1991).

III.4.4.- Effet sur l'activité spécifique

Les valeurs de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase sont regroupées sur la figure 26. Les individus femelles et mâles témoins, ont une activité spécifique égale à $0,68 \pm 0,055$ nanomole/mn/mg. L'activité spécifique chez les individus femelles et mâles respectivement traités par l'insecticide organophosphorés est de $0,79 \pm 0,02$ nanomole /mn/mg et $0,64 \pm 0,026$ nanomole /mn/mg, elle apparait très élevée par rapport aux individus témoins. Les individus femelles et mâles traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris* montrent une chute de l'activité spécifique, plus marqué chez les mâles avec $0,17 \pm 0,03$ nanomole /mn/mg, que chez les individus femelles qu'elles enregistrent $0,36 \pm 0,036$ nanomole /mn/mg. L'effet est hautement significatif chez les femelles traitées par l'extrait brut de *C. vulgaris*. La valeur de F est de $F = 67,43$; $P = 0,001$ tandis que les mâles traitées par l'extrait brut de *Colocynthis vulgaris* montrent un effet très hautement significatif pour leurs facteur F avec $F = 487,69$; $P = 0,000$ (tab. 8).

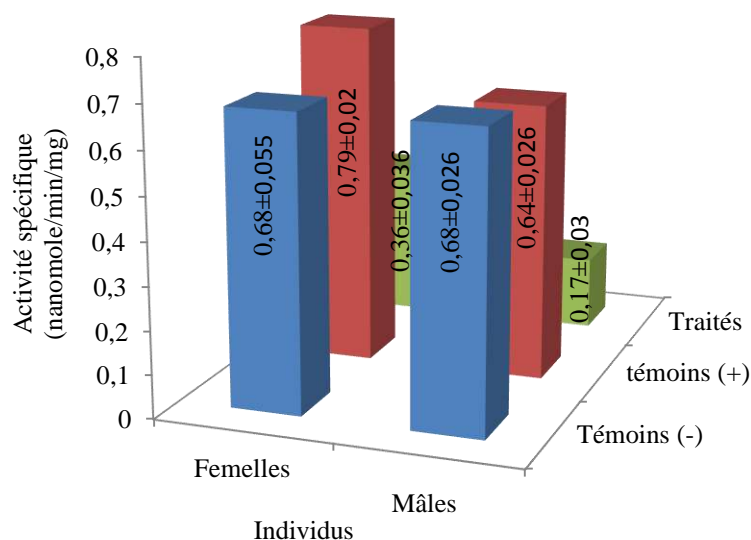


Figure 26.- Activité spécifique d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de *S. gregaria* traités par les huiles essentielles de *Colocynthis vulgaris*

Tableau 8.- Analyse de la variance appliquée de l'activité spécifique d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles et mâles de *Schistocerca gregaria* traités par les extraits foliaires de *Colocynthis vulgaris* (DL: Degré de liberté; SC: Somme des carrés; CM: Carré moyen; F obs.: F observé ou calculé; P: Probabilité; S: Signification ; NS: Effet non significatif; ** : Effet hautement significatif)

Extrait végétal	Sexe	Source	DL	SC	CM	F	P	S
Huiles essentielles de <i>Colocynthis vulgaris</i>	Femelles	Facteur	1	0,15360	0,15360 0,00220	69,82	0,001	**
		Erreur	4	0,00880				
		Total	5	0,16240				
	Mâles	Facteur	1	0,390150	0,390150 0,000800	487,69	0,000	***
		Erreur	4	0,003200				
		Total	5	0,393350				

L'activité spécifique est liée, au taux de protéines et à l'activité cholinestérasique qui est inversement proportionnelle à la dose de la toxine. GHENABZIA (2009) signale une diminution de l'activité spécifique chez les femelles et les mâles de criquet pèlerin traités par un insecticide de synthèse inhibiteur de cholinestérase appelé Méthomyl. L'activité cholinestérasique spécifique chez les mâles est de $5,93 \pm 2,52$ nmol/mn/mg et de $7,14 \pm 3,18$ nmol/mn/mg pour les femelles. La vitesse d'une réaction catalysée par une enzyme peut être affectée par tout facteur chimique ou physique, qui touche la capacité catalytique de l'enzyme en modifiant sa structure tridimensionnelle (température, pH, molécules régulatrices spécifiques se fixant sur l'enzyme....) (RAVEN *et al.*, 2011).

III.5.- Analyse de la corrélation

Afin de chercher l'existence d'une relation probable entre les paramètres neurochimiques et les paramètres comportementales et de mesurer l'intensité de cette relation, on fait appel au test de corrélation.

L'étude de la corrélation entre les mesures neurochimiques dont l'activité d'enzyme cholinestérase, l'activité spécifique d'enzyme cholinestérase et le taux de protéines et les mesures comportementales qui englobent le temps de mortalité et le rythme cardiaque, chez les individus femelles et les individus mâles de *Schistocerca gregaria* traités par les huiles essentielles de *Cleome arabica* montrent plusieurs corrélations (tab. 9).

Tableau 9.- Test de corrélation entre les mesures neurochimiques (Activité d'enzyme cholinestérase, activité spécifique et taux de protéines) et les mesures physiologiques ou comportementales (taux de mortalité et rythme cardiaque) chez les individus femelles et mâles de *Schistocerca gregaria* traités par les extraits foliaires de *Cleome arabica* (TP: test de Person, P: probabilité, S: signification, PC: Pas de corrélation, *: corrélation significative, **: corrélation hautement significative, ***: corrélation très hautement significative)

		Mesures neurochimiques								
		Activité d'enzyme cholinestérase			Activité spécifique d'enzyme cholinestérase			Taux de protéines		
		R	P	S	R	P	S	R	P	S
Mesures comportementales	Temps de mortalité	0,920	0,009	**	0,908	0,012	*	-0,866	0,026	*
	Rythme cardiaque avant traitement	0,867	0,025	*	0,814	0,049	*	0,793	0,060	Ns
	Rythme cardiaque (10min) après traitement	-0,248	0,636	Ns	0,217	0,680	Ns	0,135	0,799	Ns
	Rythme cardiaque (30min) après traitement	0,881	0,020	*	0,758	0,081	Ns	0,784	0,065	Ns
	Rythme cardiaque (60min) après traitement	0,959	0,002	**	0,846	0,034	*	0,820	0,046	*
	Rythme cardiaque (120min) après traitement	-0,643	0,168	Ns	-0,972	0,001	**	0,987	0,000	***

L'activité d'enzyme cholinestérase présente une corrélation hautement significative avec le temps de mortalité (F=0,920; P=0,009), tandis que la corrélation avec le rythme cardiaque apparaît 30 mn après traitement (F=0,881; P=0,020) et 60 mn après traitement (F=0,959; P=0,002) avec l'extrait de *Cleome arabica*.

Une corrélation hautement significative est enregistrée entre l'activité spécifique d'enzyme cholinestérase et le temps de mortalité (F=0,908; P=0,012). Après 120 mn le rythme cardiaque montre une corrélation hautement significative et négative (F=-0,972; P=0,001) avec l'activité spécifique.

Le taux de protéines présente une corrélation significative et une corrélation négative avec le temps de mortalité (F=-0,866; P=0,026), mais pour le rythme cardiaque la corrélation apparaît significative et négative 60 mn après traitement (F=-0,820; P=0,046) et très hautement significative 120 mn après traitement (F=0,987;

P=0,000).

L'analyse de la corrélation entre les différents paramètres neurochimiques et comportementales chez les individus traités par l'extrait foliaire de *Colocynthis vulgaris* montre plusieurs relations entre les mesures (tab. 10).

Tableau 10.- Test de corrélation entre les mesures neurochimiques (Activité d'enzyme cholinestérase, activité spécifique et taux de protéines) et les mesures physiologiques ou comportementales (taux de mortalité et rythme cardiaque) chez les individus femelles et mâles de *Schistocerca gregaria* traités par les extraits foliaires de *C. vulgaris* (TP: test de Person, P: probabilité, S: signification, PC: Pas de corrélation, *: corrélation significative, **:corrélation hautement significative, ***:corrélation très hautement significative)

		Mesures neurochimiques								
		Activité d'enzyme cholinestérase			Activité spécifique d'enzyme cholinestérase			Taux de protéines		
		R	P	S	R	P	S	R	P	S
Mesures comportementales	Temps de mortalité	0,967	0,002	**	0,941	0,005	**	-0,243	0,643	PC
	Rythme cardiaque avant traitement	-0,867	0,025	*	-0,847	0,033	*	0,268	0,607	PC
	Rythme cardiaque (10min) après traitement	0,979	0,001	**	0,842	0,035	*	-0,328	0,526	PC
	Rythme cardiaque (30min) après traitement	-0,768	0,075	**	-0,924	0,008	**	0,436	0,388	PC
	Rythme cardiaque (60min) après traitement	-0,948	0,004	**	-0,853	0,031	*	0,200	0,704	PC
	Rythme cardiaque (120min) après traitement	-0,880	0,021	*	-0,922	0,009	**	0,412	0,417	PC

L'activité d'enzyme cholinestérase présente une corrélation hautement significative avec le temps de mortalité (F=0,967; P=0,002), ainsi une corrélation significative est enregistrée entre l'activité de cholinestérase et le rythme cardiaque avant traitement (F=-0,867; P=0,025), suivie d'une corrélation hautement significative 10 mn après traitement (F=0,979; P=0,001), une corrélation hautement significative et négative 30 mn après traitement (F=-0,768; P=0,005), une corrélation hautement

significative et négative 60 mn après traitement ($F=-0,948$; $P=0,004$), et une corrélation significative et négative 120 mn après traitement ($F=-0,880$; $P=0,021$).

De même l'activité spécifique d'enzyme cholinestérase présente des corrélations avec les mesures neurochimiques, ce qui traduit une relation entre les variables, la corrélation est très hautement significative entre le temps de mortalité et l'activité spécifique ($F=0,941$; $P=0,005$).

La corrélation est significative et négative avec le rythme cardiaque avant traitement ($F=-0,847$; $P=0,033$), 10 mn après traitement elle devient significative ($F=0,842$; $P=0,035$), tandis qu'après 30 mn la corrélation est hautement significative et négative ($F=-0,924$; $P=0,008$).

La corrélation entre l'activité spécifique et le rythme cardiaque 60 mn après traitement est significative et négative ($F=-0,853$; $P=0,031$), mais après 120 mn elle apparaît hautement significative et négative ($F=-0,922$; $P=0,009$).

Le test de corrélation entre le taux de protéines et le temps de mortalité ainsi qu'entre le taux de protéines et le rythme cardiaque n'a présenté aucune corrélation, ce qui signifie que la variation entre ces paramètres est indépendante.

Au vu des résultats, il est à noter l'existence d'une relation stricte entre les effets produits par l'extrait foliaire de *Cleome arabica* et de *Colocynthis vulgaris*, sur les paramètres neurochimiques et les paramètres comportementales chez les criquets. Le manque de cohérence peut provenir du fait que le rythme cardiaque n'est pas seulement dépendant de l'intégrité du système cholinergique, mais qu'il se trouve également sous le contrôle d'autres mécanismes physiologiques régulant les activités musculaires, respiratoires et circulatoires qui peuvent tous être affectés par l'exposition aux insecticides (BREATUD *et al.*, 2001).

Conclusion

L'étude de la toxicité des huiles essentielles de *Cleome arabica* (Capparidaceae) et de *Colocynthis vulgaris* (Cucurbitaceae), deux plantes spontanées du Sahara septentrional Est algérien sur l'activité cholinestérasique, chez les adultes du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775), a porté sur 300 individus de criquet du désert. Ce sont des insectes mâle et femelle de *S. gregaria*.

Le comportement des individus femelles et des individus mâles traités par les extraits foliaires de *C. arabica* et de *C. vulgaris*, montre un déséquilibre par rapport aux individus témoins. Il se traduit par des manifestations d'intolérance générale au produit apparaissant au bout de 30 à 60 minutes d'exposition chez les individus traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. arabica* et après 30 à 40 minutes chez les individus traités par les huiles essentielles de *C. vulgaris*. Toutefois, les femelles semblent moins sensibles à l'effet toxique des huiles essentielles de *C. arabica* et de *C. vulgaris* par rapport mâles.

Le temps de mortalité le plus court est enregistré chez les individus femelles avec $185 \pm 4,58$ min et chez les individus mâles avec $135 \pm 4,00$ min traités avec les huiles essentielles de *C. vulgaris*. La mortalité est plus notable chez les individus mâles traités par les huiles essentielles brutes foliaires des deux plantes acridifuges (*C. arabica* et de *C. vulgaris*) par rapport aux individus femelles.

Le nombre des pulsations cardiaques diminue chez les femelles et chez les mâles traités avec les extraits foliaires de *C. arabica* et de *C. vulgaris*. La diminution apparaît après 10 minutes chez les adultes traités, elle est pour les individus traités par les huiles essentielles de *C. arabica* de $65 \pm 3,00$ battements /mn chez les femelles et de $67 \pm 3,60$ battements /mn chez les mâles et arrive au maximum de diminution 120min après traitement avec $35,6 \pm 4,34$ battements /mn chez les femelles et $49 \pm 3,60$ battements /mn chez les mâles. Pour les individus traités par les huiles essentielles de *C. vulgaris*, le rythme cardiaque, dix minutes après traitement est de $77,42 \pm 2,96$ battements /mn chez les femelles et de $60 \pm 4,58$ battements /mn chez les mâles et arrive à $35 \pm 2,64$ battements /mn et $52 \pm 3,23$ battements /mn après 120 minutes chez les individus femelles et mâles respectivement.

Les huiles essentielles brutes foliaires des deux plantes acridifuges (*C. arabica* et de *C. vulgaris*), montrent deux heures après traitement une perturbation de la cinétique de l'enzyme cholinestérase. Les mesures neurochimiques laissent apparaître une chute de l'activité cholinestérasique chez les femelles de $16,34 \pm 1,44$ nanomole /mn /ml et chez les mâles de $8,08 \pm 1,94$ nanomole /mn /ml du criquet pèlerin traités par les huiles essentielles de *C. vulgaris*. Cette diminution est plus perceptible pour les mâles par rapport aux femelles. Une hyperactivité de cholinestérase avec un maximum

de $33,18 \pm 2,76$ nanomole /mn /ml pour les individus femelles et un minimum de $24,77 \pm 2,66$ nanomole /mn /ml pour les individus mâles, est notée chez les individus de ce criquet traités par les huiles essentielles brutes de *C. arabica*.

De même, après traitement par les huiles essentielles brutes de *C. arabica* et de *C. vulgaris*, le taux de protéines céphaliques montre une augmentation qui atteint $73,33 \pm 1,97 \mu\text{g}$ de protéines /ml pour les individus femelles et $82,7 \pm 3,15 \mu\text{g}$ de protéines /ml chez les individus mâles. Pour les individus traités par les huiles essentielles de *C. vulgaris*, il est de $46,11 \pm 1,94 \mu\text{g}$ de protéines /ml et de $45 \pm 1,44 \mu\text{g}$ de protéines /ml chez les mâles et chez les femelles respectivement. Cette augmentation du taux de protéines est plus perceptible chez les individus mâles par rapport aux individus femelles.

L'activité spécifique d'enzyme cholinestérase augmente chez des individus traités par les huiles essentielles de *C. arabica*. Elle est de $0,45 \pm 0,043$ nanomole /min /mg pour les individus femelles et de $0,29 \pm 0,026$ nanomole /min /mg pour les individus mâles. Une chute de l'activité spécifique plus marquée est perceptible chez les individus femelles et mâles traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris*. Elle est pour les individus mâles de $0,17 \pm 0,03$ nanomole /min/mg et pour les individus femelles de $0,36 \pm 0,036$ nanomole /min/mg.

Le témoin positif du criquet pèlerin traités par l'insecticide de synthèse inhibiteur de cholinestérase, présent les mêmes manifestations avec une hyperactivité observée 30 à 40 mn après traitement.

L'analyse de la variance montre cent vingt minutes après traitement un effet très hautement significatif des huiles essentielles de *C. arabica* et des huiles essentielles de *C. vulgaris* sur le rythme cardiaque chez les individus femelles ($F=541,50$; $P = 0,000$) et chez les individus mâles ($F = 180,0$; $P = 0,000$) du criquet pèlerin. Ainsi l'analyse révèle un effet significative des extraits foliaires de *C. arabica* sur l'activité d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles ($F = 19,70$; $P = 0,011$) et chez les individus mâles ($F = 2,32$; $P = 0,02$) des lots traités et un effet hautement significative de l'extrait foliaire de *C. vulgaris* sur l'activité d'enzyme cholinestérase chez les individus femelles ($F = 19,05$; $P = 0,012$) et chez les individus mâles ($F = 89,31$; $P = 0,001$).

Le test de corrélation révèle une influence des variations neurochimiques sur les variations comportementales chez les individus femelles et les individus mâles de criquet pèlerin traités par les huiles essentielles de *C. vulgaris* et de *C. arabica*, la variation de l'activité d'enzyme cholinestérase est corrélée avec la variation du rythme cardiaque et le taux de mortalité.

Perspectives

Les huiles essentielles des plantes acridifuges étudiées montrent un déséquilibre chez les femelles et chez les mâles adultes du criquet pèlerin sur le plan comportementale et neurochimique, d'où la nécessité d'exploitation des métabolites secondaires qui constituent une approche alternative de la lutte chimique, il est souhaitable en perspective de:

- Approfondir les études sur d'autres paramètres physiologiques et biochimiques notamment le taux des glucides, le taux des lipides et l'activité des enzymes de détoxification chez le criquet (P450, glutathion S transférase...).
- Identifier et rechercher la dose létale du principe actif.
- Rechercher après traitement la structure en trois dimensions 3D de l'enzyme cholinestérase pour identifier le mécanisme de fixation de principe actif sur le site actif de l'enzyme.
- Faire une étude phytochimique des extraits pour identifier le principe actif responsable,
- Faire des essais en plein champ,
- Réaliser la même étude sur d'autres stades larvaires du criquet pèlerin,
- Rechercher l'effet des huiles essentielles utilisées sur d'autres insectes utiles comme les Coccinelles (Coléoptères), les vers à soie ou les bombyx du mûrier (Lymantriidés) et les fourmis (Hyménoptères).

Références bibliographiques

ABBASSI K., MERGAOUI L., ATAY-KADIRI Z., GHAOUT S. et STAMBOULI A., 2005.- Activités biologiques des feuilles de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) en floraison sur la mortalité et l'activité génésique chez le criquet pèlerin. Zool. Bætica, vol. 16: 31-46.

ABOU THIAM, 1991-Problématique de l'utilisation des insecticides chimiques dans la lutte anti-acridienne au Sahel. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris: 193-206.

ABOUZAÏD H., BOURCHICH L. et FOUTLANE A., 1991.- Effet des insecticides utilisés pour la lutte antiacridienne au Maroc sur les eaux utilisées pour l'alimentation en eau potable. La lutte antiacridienne. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris: 229-238.

ACHEK F., DOUMANDJI-MITICHE B., 2013.- Insecticidal activity of alkaloids extract of *Pergularia tomentosa* (Asclepiadaceae) against fifth instar larvae of *Locusta migratoria cinerascens* (Fabricius 1781) (Orthoptera: Acrididae). International Journal of Science and Advanced Technology, vol. 3(6):8-13.

AXELSEN P., HAREL M., SILMAN I., SUSSMAN J., 1994.- Structure and dynamics of the active site gorge of acetylcholinesterase: Synergistic use of molecular dynamics simulation and X-ray crystallography. Proteinscience, vol. 3: 188-197.

AZIZI N., EL GHADRAOUI L., PETIT D., FADIL F., MOHIM A., 2010.- A simple diet for the rearing success of the Desert Locust, *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae). Bulletin de la Société entomologique de France, vol. 4: 445-450.

BACOU F. et VIGNERON P., 1988.- Polymorphisme de l'acétylcholinestérase et de la myosine au cours du développement des muscles rapide et lent dénervés chez le lapin nouveau-né. Reproduction Nutrition Développement, vol. 28 (3B):757-768.

BADIOU A., MELED M., BELZUNCES L., 2007.- Honeybee *apis mellifera* acetylcholinesterase. Journal of insect biochem, vol. 9(11): 12-18.

BAKKALI F., AVERBECK S., AVERBECK D., IDAMOR M., 2007.- Biological effects of essential oils. Food and Chemical Toxicology, vol. 46: 446-475.

BARBOUCHE N., HAJJEM B., LOGNAY G. et AMMAR M., 2001.-Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui l'herit.*

(Solanaceae) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (forsk.). Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 5 (2): 85-90.

BELHARAT M., BENDDINE F., BENKARA A., BOUDIFA A., CHARA B., GRABA A., GUENDOOUZ E., KHEDDAM M., NEZZAL T., TOUZENE N., 1999.- Instrument de développement de la protection phytosanitaire. Ed. INPV, Alger: 31p.

BELZUNCES L., ROUSSEAUX J., BOUNIAS M., 1988.- Properties of acétylcholinestérase, from *apis mellifera* heads. Journal of insect biochem., vol. 18: 811-819.

BENCHELAH A., C., BOUZIANE H., MAKHA M., OUAHES C., 2000.- Fleurs du Sahara, Voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili. Ed. Ibis Press, Paris: 256 p.

BENOIT M., BONICELLI B., GUICHARD L., DELORME R., FALOYA V., RUELLE B., 2005.- Pesticides, agriculture et environnement. Ed. INRA, Paris: 15-16.

BERNARD T., PERINEAU F., BRAVO R., DELMAS M. et GASET A., 1988.- Extraction des huiles essentielles: chimie et technologie. Informations Chimie, vol. 298: 179-184.

BERTRAND C., COUSIN X., HAUBRUGE E., TOUTANT J., CHATONNET A., 1998.-L'acétylcholinestérase des poissons, cible des organophosphorés et des carbamates. Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture, 350-351, Paris: 535-546.

BOCQUET N., PRADO DE CARVALHO L., CARTAUD J., NEYTON J., LE POUPON C., TALY A., GRUTTER T., CHANGEUX J., CORRINGER P., 2006.- A prokaryotic proton-gated ion channel from the nicotinic acetylcholine receptor family. Nature, vol. 445:116-119.

BODEREAU B., 2008.-Recepteurs nicotiniques neuronaux d'insectes et insecticides: caracterisation de facteurs cellulaires impliqués dans la modulation de l'efficacité des neonicotinoides. Thèse de doctorat, Université d'Angers, France : 190p.

BOSTANIAN N. J., AKALACH M., CHIASSON H., 2005.-Effects of a Chenopodium-based botanical insecticide/aca-ricide on *Orius insidiosus*(Hemiptera: Anthoc-oridae) and *Aphidius colemani*(Hymenoptera: Braconidae). Pest Management Science, vol. 61:979-984.

- BOTTI S., FELDER C., LIFSON S., SUSSMAN J., SILMAN I., 1999.-** A modular treatment of molecular traffic through the active site of cholinesterase. *Journal of biophysique*, vol. 77: 2430-2431.
- BOUCHIKHI TANI Z., 2011.-**Lutte contre la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. Thèse de doctorat, Université Aboubakr belkaïd, Tlemcen: 169p.
- BOUKHATEM M. N., HAMAI M., SAIDI F., HAKIM Y., 2010.-** Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature & Technologie*, vol. 03:37-45.
- BOURICHE H., MILES E.A., SELLOUM L. and CALDER P., 2005.-** Effect of *Cleome Arabica* leaf extract, rutin and quercetin on soybean lipoxygenase activity and on generation of inflammatory eicosanoids by human neutrophils. *Prostaglandins, leukotriene and essential fatty acids*, vol. 72: 195-201.
- BOURKHISS M., HNACH M., BOURKHISS B., OUHSSINE M., CHAOUCH A., SATRANI B., 2009.-** Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Agro solutions*, Vol. 20(1): 44-48.
- BOURNE Y., TAYLOR P. et MARCHOT P., 1995.-** Acetylcholinesterase Inhibition by Fasciculin: Crystal Structure of the Complex. *Cell.*, Vol.83: 503-512.
- BOUSSOUFA D., GHAZALI N., MASMOUDI W., EL CAFSI M., 2012.-** Suivi saisonnier de l'activité acetylcholinesterase et de quelques métaux traces chez le bivalve *Donax trunculus* du golfe de Tunis. *Journal de la Société Chimique*, Vol. 14: 83-94.
- BOUZIANE N., 2012.-** Toxicité comparée des extraits d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. (Euphorbiaceae) et de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) récoltés au Sahara Septentrional Est algérien sur les larves et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Mémoire de Magister en Sciences Agronomiques- Protection des Végétaux, Université Kasdi Merbah-Oaïgla, 74 p.

BRETAUD S., SAGLIO P., TOUTANT J., 2001.- Effets du carbofuran sur l'activité de l'acétylcholinestérase cérébrale et sur l'activité de nage chez *Carassius auratus* (*cyprinidae*). *Revue Internationale d'Ichtyologie*: 33-40.

BRENNER T., HAMRA-AMITAY Y., EVRON T., BONEVA N., SEIDMAN S SOREQ H., 2002.-The role of readthrough acetylcholinesterase in the pathophysiology of myasthenia gravis. *The FASEB Journal* vol. 17 (2): 214-222.

BROCKMAN S., USIAK M., STEVEN A., 1986.- Assembly of monomeric acetylcholinesterase into tetrameric and asymmetric forms. *The journal of biological chemistry*, vol. 261(3): 423-510.

BRUNETON J., 1993.- Pharmacognosie, phytochimie: Plantes médicinales. Ed. Lavoisier, Paris: 915 p.

CAMIRÉ M., 2007.- Effets de l'exposition chronique aux pesticides sur le statut physiologique du poisson d'eau douce. Ed. UQAM, Québec: 107p.

CERCADO QUEZADA B., 2009.-Traitement de déchets issus de l'industrie agro-alimentaire par pile à combustible microbienne. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique, Université de Toulouse: 193p.

CHOPRA C., ABROL B. K. et HANDA K. L., 1960.- Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique: 1ère partie. Recherche sur les zones arides XIII. Ed. UNESCO, Rome, 97 p.

CHIASSON H., BELOIN B., 2007.-Les huiles essentielles, des biopesticides « Nouveau genre ». *Revue de Antennae*, vol. 14(1):3-6.

CLEMENT J.L., 1990.- Les substances naturelles insecticides des plants: rôles et utilisations dans la lutte contre les ravageurs des cultures. Bois et forêts des tropiques, CIRAD, n° 224, Montpellier: 34-39.

COLLETIER J., FOURNIER D., GREENBLATT H., STOJAN J., SUSSMAN J., ZACCAI G., SILMAN I., WEIK M., 2006.- Structural insights into substrate traffic and inhibition in acetylcholinesterase. *European Molecular Biology Organization*, vol. 25(12): 2746–2756.

COLLETIER J. P. et WEIK M., 2007.- Exploration structurale du paysage conformationnel de l'acétylcholinestérase par cristallographie cinétique. *Revue Ann. Pharm.*, vol. 65(2): 108-118.

DAGNELIE P., 1975.- Théorie et méthodes statistiques. Les méthodes de l'inférence statistique. Ed. Les presses agronomiques de Gembloux, S.B.L., Belgique:463 p.

DINAN T.G., O'BRIEN S., LAVELLE E., SCOTT L.V., 2004.- Further neuroendocrine evidence of enhanced vasopressin v₁ receptor responses in melancholic depression. *Psychol Med*, vol. 34(1): 169-172.

DJEDDI S., ARGYROPOULOU C., CHATTER R., 2012.- Analgesic properties of secondary metabolites from Algerian *Centaurea pullata* and Greek *C. grisebachii* ssp. *Grisebachii*. *Journal of Applied Sciences Research*, vol. 8(6): 2876-2880.

DOUMANDJI M.B. et DOUMANDJI S., 2006.- Quelques agents biologiques susceptibles d'être utilisés en lutte antiacridienne. *Revue des Régions Arides*, session 5: 41-45.

DURANTON J. et LECOQ M., 1990.- Le criquet pèlerin au sahel. Collection acridologie opérationnelle, CIRAD/ PRIFAS, session 6, Montpellier: 83p.

EASTMAN J.R., JIN W., KYEM W., TOLEDANO P., 1995.-Raster procedures for multi-criteria, Multi-objective decisions. *Photogrammetric Engineering & Remote Sensing*, 61(5): 539-547.

ECKERT R., RANDALL D., BURGGREN W., FRENCH K., 1999.- Physiologie animale. Ed. De Boeck Université, Paris: 260p.

EL HAIB A., 2011.-Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de doctorat, Université de Toulouse: 195p.

EL KALAMOUNI C., 2010.- Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat en sciences des Agroressources. Université de Toulouse: 263p.

ELLMAN G. L., COURTNEY K. D., ANDRES V. et FEATHERSTONE R. M., 1961.-A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology and Physiology*, vol. 7(2): 91-95.

STAUDINGER H., RUZICKA L., 1924.-Insektentötende stoffe vi. untersuchungen über cyclo-pentanolonderivate und ihr vergleich mit dem pyre-thron. *Helvetica Chim. Acta*, 7: 377-390.

ENAN E., 2000.- Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C : Toxicology&Pharmacology*, vol 30 (3): 325-337.

EN-BO., HE YAN-PING., ZHU KUN YAN., 2003.- Comparative studies of acetylcholinesterases purified from two field populations of oriental migratory locust (*Locusta migratoria manilensis*): implications of insecticide resistance. *Journal of pesticide biochemistry and physiology*, vol. 78:67-77.

ESSAID A. R., 1991.- La lutte anti acridienne. Ed. John libbey Eurotext, Paris: 313p.

FERRARI J., 2002.- Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des *Thymelaeaceae* et investigation phytochimique de l'une d'elles: *Gnidia involucrata Steud.* ex A. Rich. Institut de Pharmacognosie et Phytochimie, Université de Lausanne: 228p.

FORET R., 2007.- Dico de bio. Ed. De boeck universite, Bruxelles: 14-16.

GAMLATH B., GUNATILAKA A. A., ALVI A., RAMAN A., BALASUBRAMANIAM S., 1988.- Cucurbitacins of *Colocynthis vulgaris*. *Phytochemistry*, vol. 27 (10): 3225-3229.

GANONG W. F., 2003.- Review of Medical Physiology. Ed. McGraw-Hill, New-york: 912 p.

GASTOU M., 1972.- La protection des plantes. *Revue Purpan*, vol. 84: 124-175.

GHAOUT S., 1990.- Contribution à l'étude des ressources trophiques de *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orthoptera, Acrididae) en mauritanie occidentale et teledetection de ses biotopes par satellite.Thèse de doctorat, Université Paris XI Orsay: 241p.

GHENABZIA I., 2009.- Cholinestérase et toxicité par les carbamates chez *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Thèse de Magister, Ouargla: 100p.

GHONEIM K., 2015.-Distured acetylcholinesterase activity in haemolymph and fat bodies of *Schistocerca gregaria* (forskål) (Orthoptera: acrididae) by extracts of Pomegranate *punica granatum* linn. and toothpick weed *ammi visnaga* l. *Revue Knowledge Economy*, vol. 2(1):39-53.

GIES J. P. et LANDRY Y., 1986.- Récepteur muscarinique et régulation de la contractilité bronchique. *Revue Allergol.*, vol 26(2): 69-76.

GIRARD E., 2006.- Altérations génétiques des cholinestérases chez des souris: conséquences morphologiques et fonctionnelles à la jonction neuromusculaire. Thèse de doctorat, Institut de Neurobiologie Alfred Fessard, Paris : 14-18 p.

GIRARDIE A., 1991.- Régulation endocrinienne du développement de la reproduction et du polymorphisme phasaire. Ed. Aupelf-uref, John Libbey Euro text, Paris: 119-127.

GIRARDIE A. et GRANIER S., 1973.- Système endocrine et physiologie de la diapause imaginale chez le Criquet égyptien *Anacridium aegyptium*. *Journal of Insect physiology*, vol. 19: 2341-2358.

GNAGEY A. L., FORTE M., ROSENBERRY T. L., 2008.- Isolation and characterization of acetylcholinesterase from *Drosophila*. *Journal of Biological chemistry*, vol. 262 (27):13290-13298.

GOETZ S. J., BACCINI A., LAPORTE N., JOHNS T., WALKER W. S., KELLNDORFER J. M., HOUGHTON R. A., SUN M., 2009.- Mapping and monitoring carbon stocks with satellite observations: A comparison of methods. *Carbon Balance Manage*, 4(2): 85p.

GUBB A. S., 1913.- La flore Saharienne: Un aperçu photographique. Ed. Adolphe, Jourdane, Alger: 129 p.

GUENDOZ-BENRIMA A., 2005.- Régime alimentaire de *Schistocerca gregaria* (Forsk., 1775) à l'état solitaire dans quelques biotopes du Sud algérien. Thèse de doctorat, INA, Alger: 212p.

HALL J. C., KANKEL D. R., 1976.- Genetics of Acetylcholinesterase in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 83(3): 517-535.

HAMDI OURFELLA A. N., SOLTANI N., 2014.- Qualité des sols dans deux sites du Nord -Est Algérien: utilisation d'une espèce bioindicatrice de la pollution des sols (Soil quality of two sites in Northeast Algeria: use of a bioindicator species of soil pollution). *J. Mat er. Environ. Sci.* 5 (S2): 2527-2533.

NGAMO L.S.T., HANCE T. H., 2007.- Diversité des ravageurs, des denrées et méthodes alternatives de luttés en milieu tropical. *Tropicultura*, 25(4): 215-220.

HAREL M., KLEYWEGT G.J., RAVELLI R.B. G., SILMAN I., SUSSMAN J.L., 1995.-Crystal structure of an acetylcholinesterase-fasciculin complex: interaction of a three-fingered toxin from snake venom with its target. *Structure*, vol. 3(12):1355-1366.

HARMEL N., FRANCIS F., HAUBRUGE E., GIORDANENGO P., 2008.- Physiologie des interactions entre pomme de terre et pucerons: vers une nouvelle stratégie de lutte basée sur les systèmes de défense de la plante. *Cahiers Agricultures*, vol. 17(4): 395-400.

ELLIOT M., FAMHAM M., JANES N. F., NEEDHAM P. H., PEARSON B. C., 1967.- 5-Benzyl-3-furylmethyl chrysanthemate: a new potent insecticide. *Nature* 213: 493-494.

HOWES, M.J., HOUGHTON, P.J., 2003.- Plants used in Chinese and Indian traditional medicine for improvement of memory and cognitive function *Pharmacology. Biochem. Behav*, vol. 75(5): 513-527.

ISHAAYA I., 2001.- Biochemical sites of insecticide action and resistance. Ed. Springer, Germany: 220-240.

ISMAN M. B., 2005.- Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world, *Annu Rev Entomol*, vol. 50: 45-66.

ISTAMBOULIE G., DURBIANO R., FOURNIER D., MARTY J. L., NOGUER T., 2009.- The use of Artificial Neural Networks for the selective detection of two organophosphate insecticides: Chlorpyrifos and chlorfenvinfos. *Talanta*, vol. 79(2): 507-511.

COLLETIER J. P., SANSON B., NACHON F., GABELLIERI E., FATTORUSSO C., CAMPIANI G., WEIKM M., 2006.-Conformational Flexibility in the Peripheral Site of *Torpedo californica* Acetylcholinesterase Revealed by the Complex Structure with a Bifunctional Inhibitor. *Journal of the American Chemical Society*, vol. 128(14): 4526-4527.

JOHNSON G., MOORE S.W., 2006.- The Peripheral Anionic Site of Acetylcholinesterase: Structure, Functions and Potential Role in Rational Drug Design. *Current Pharmaceutical Design*, vol. 12(2): 217-225.

KALOUSTIAN J., HADJI MIRAGLOU F., 2012.- La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie. Ed. Springer-Verlag, Paris : 210p.

KARLSON P., 1971.- Biochimie. Ed. Doin, deuxièmes édition, Paris: 409-412.

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 *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Thèse de magister, Université Kasdi Merbah, Ouargla, 164 p.

KEMASSI A., 2014.-Toxicité comparée des extraits d'*Euphorbia guyoniana* (Stapf.) (Euphorbiaceae), *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) et de *Capparis spinosa* L. (Capparidaceae) récoltés de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional) sur les larves du cinquième stade et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera-Cyrtacanthacridinae). Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah, Ouargla: 230p.

KEMASSI A., OULD EL HADJ-KHELIL A., BOUAL Z., HAMID OUDJANA A. et OULD EL HADJ M. D., 2012a.- Activités biologiques des huiles essentielles brutes foliaires de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera-Cyrtacanthacridinae). PhytoChem & BioSub Journal, vol. 6 (2): 71-77.

KEMASSI, A., Z. BOUAL, A. LEBBOUZ I., DADI BOUHOUN M., SAKEUR M. L., OULD EL HADJ-KHELIL, OULD EL HADJ M.D., 2012b.- Étude de l'activité biologique des extraits foliaires de *Cleome arabica* L. (Capparidaceae). Lebanese Science Journal, vol. 13(2): 81-97.

KEMASSI A., BOUAL Z., BOUZIANE N., OULD EL HADJ-KHELIL A. and OULD EL HADJ M.D., 2013.- Biological activity of essential oils leaves from one Sahara plant: *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) on the desert locust. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, vol. 2(8): 389-395.

KIM K. S., LEE S., LEE Y. S., JUNG S. H., PARK Y., SHIN K. H. et KIM B. K., 2003.- Anti-oxidant activities of the extracts from the herbs of *Artemisia apiacea*. Journal of Ethnopharmacol, vol. 85(1): 69-72.

KON K., 2009.-Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes-extraction, identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse de doctorat, Université de Bamaco: 188p.

KRYGER G., HAREL M., GILES K., TOKER L., VELAN B., LAZAR A., KRONMAN C., BARAK D., ARIEL N., SHAFFERMAN A., SILMAN I.,

SUSSMAN J., 2000.- Structures of recombinant native and E202Q mutant human acetylcholinesterase complexed with the snake-venom toxin fasciculin-II. *Biological Crystallography*, section D56:1385-1394.

KUMAR R., 1991.- La lutte contre les insectes ravageurs. Ed. Karthala, Paris: 199-201.

LEBBOUZ I., 2010.- Activités biologiques des extraits foliaires de *Cleome arabica* L.(Capparidaceae) chez *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Mémoire de magister, Université de Biskra, 115 p.

LANSING S., MARTIN J.F., BOTERO R.B., DA SILVA T.N., DA SILVA E.D., 2010.- Methane production in low-cost, unheated, plug-flow digesters treating swine manure and used cooking grease. *Bioresource Technology*, vol.101(12): 4362-4370.

LAWSON A. M., 2006.- Etude phytochimique d'une fabacee tropicale, *Lonchocarpus nicou* evaluation biologique préliminaire. Thèse de doctorat, université de limoges: 202p.

LE BRAS S., 1990.-Modification de la sensibilité au lindane d'*Asellus aquaticus* L. en fonction de la variation de facteurs biotiques (poids et métabolisme) et abiotiques (concentration de l'insecticide et température). *Revue des sciences de l'eau*, vol.3(2): 183-193.

LE BRAS., 1995.- Variation de la charge énergétique en adénylate (CEA) d'*Asellus aquaticus* L.(Crustacé, isopode) après une contamination pendant 48h. par du lindane. *Revue des sciences de l'eau*, vol.8(4): 493-503.

LEBAS G., 2012.-Etude du métabolisme carboné et azoté de *Miscanthus x giganteus*. Thèse de doctorat, Université de Picardie Jules Verne, France: 218.

LEE S., PETERSON C.J., COATS J.R., 2003.- Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. *J Stored Prod. Res.*, vol. 39(1):77-85.

LEJUS C., BLANLOEIL Y., SOURON R., 1998.- Les cholinestérases. *Ann Fr Anesth. Reanim.* 17(9):1122-1135.

LENOIR-ROUSSEAU J. J., 1985.-Les arthropods possèdent une même forme moléculaire majoritaire d'acétylcholinestérase. *C.R. Soc. Biol.*, vol. 179: 741-749.

- LESTER D., GILBERT L., 1987.-** Characterization of acetylcholinesterase activity in the larval brain of *Manduca sexta*. *Insect Biochem.*, vol. 17(1): 99-109
- LHULLIER A., 2007.-** Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia hook.f ex oliver*, *Agauria polyphylla baker* (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla baker* (Monimiaceae) et *Embelia concinna baker* (Myrsinaceae). Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse: 214P.
- LISKA D. J., 1998.-** The detoxification enzyme systems. *Revue Alternative Medicine*, vol. 3(3): 187-198.
- LIU H., YI M., SHI X., LIANG P., GAO X., 2007.-** Substrate specificity of brain acetylcholinesterase and its sensitivity to carbamate insecticides in *Carassius auratus*. *Fish physiol. Biochem.*, vol. 33(1): 29-34.
- LOWRY H., ROSEBROUGH N., FARR A., RANDA R., 1951.-** Protein measurement with the folin-phenol reagent. *Biol. Biochem*, vol. 193(1): 265-275.
- MADACI B., MERGHEM R., DOUMANDJI B., 2008.-** Effet du *Nerium Oleander*, laurier-rose, (*Apocynacees*) sur le taux des proteines, l'activite de l'ache et les mouvements des vers blancs rhizotrogini, (*Coleoptera Scarabaeidae*). *Sciences & Technologie*, C(27): 73-78.
- MADR, 1996.-** Index des produits phytosanitaires a usage agricole.Ed. INPV, Alger: 40-44.
- MADR, 2007.-** Index des produits phytosanitaires a usage agricole. Ed. INPV, Alger : 74-76.
- MAIRE R., 1933.-** Études sur la flore et la végétation du Sahara central. Mém. de la société d'histoire naturelle de l'Afrique du nord, Mission du Hoggar II, Alger, 361 p.
- MALLAMAIRE A. et ROY G., 1968.-** La lutte contre le Criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk., 1775) en Afrique occidentale française. Ed. O.R.S.T.O.M., Paris: 113P.
- MARCEL V., PALACIOS L., PERTUY C., MASSON P., FOURNIER D., 1998.-** Two invertebrate acetylcholinesterases show activation followed by inhibition with substrate concentration. *Biochem. j.*, vol.329(2): 328-330.

- MARCHOT P., KHELIF A., Ji Y. H., MANSUELLE P., BOUGIS P. E., 1993.-** Binding of 125I-fasciculin to rat brain acetylcholinesterase. The complex still binds diisopropyl fluorophosphate. *J. Biol. Chem.* Vol. 268(17): 12458-12467.
- MASSOULIE J., PEZZEMENTI L., BON S., KREJCI E. et VALLETTE F.M., 1993.-** Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Prog Neurobiol.*, 41(1): 31-91.
- MASSOULIE J., BON S., PERRIER N., FALASCA C., 2005.-** The c-terminal peptides of acetylcholinesterase: cellular trafficking oligomerization and functional anchoring. *Chemicobiological interactions*, vol.157-158, Paris:3-14.
- MASSOULIE J. et BON S., 1982.-** The molecular forms of cholinesterase and acetylcholinesterase in vertebrates. *Journal of Neuroscience*, vol. 5: 57-106.
- MASSOULIE J., 2002.-** The origin of the molecular diversity and functional anchoring of cholinesterases. *Neuro-signals*, vol. 11(3):130-143.
- MAURICIO C., SANTANNA R., DOS-SANTOS-VIANA A., NASCIMENTO-JUNIOR N., 2006.-** A semi empirical study of acetylcholine hydrolysed by drosophila melanogaster acetylcholinesterase. *Bio organique chemistry*, vol.34(2): 77- 89.
- MELANSON S.W., YUN C. H., PEZZEMENTI M. L., PEZZEMENTI L., 1985.-** Characterization of acetylcholinesterase activity from *Drosophila melanogaster*. *Comp. Biochem. Physiol.*, vol. 81(1): 87-96.
- MERGHEM R., 2009.-** Elément de biochimie végétale. Ed. Bahaeddine, Constantine : 149-158.
- MOHAMED M., ABDEL-GAWAD A., GHAZY A., 2007.-** Purification and characterization of an acetylcholinesterase from the infective juveniles of *Heterorhabdits bacteriophora*. *Comparative biochemistry and Physiology*, vol.146(3) :314-324.
- MORETAU B., 1991.-** Etude de certains aspects de la physiotoxicologie d'insecticides de synthèse chez le Criquet migrateur: *Locusta migratoria*. Ed. aupelf-uref, Paris : 167-178.
- MORETEAU B. et CHAMINADE N., 1983.-** Effets de quatre insecticides de contact (Lindane, Fenthion, Baygon, Deltamethrine) sur la glycémie et la tréhalosémie au cours du dernier stade larvaire de *Locusta migratoria* L. (*Orthopt. Acrididae*). *Annales de la Société entomologique de France*, vol. 19(4): 433-439.

MOUSSARD C., 2002.- Biochimie structurale et métabolique. Ed. de boeck, Bruxel: 20-22.

MUKHERJEE P., KUMAR V., MAL M., HOUGHTO P., 2007.- Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, vol.14(4): 289-300

MURRAY R., GRANNEN D., MAYES P., RODWELL V., 1996.- Harper biochimie. Ed. Mc Graw-Hill, Paris: 712 p.

NACHMANSOHN D. et ROTHENBERG M., 1945.- Studies on cholinesterase: on the specificity of the enzyme in nerve tissue. *Journal of biological chemistry*, vol. 158: 653-666.

NAGAYA H., TOBITA Y., NAGAE T., ITOKAWA H., TAKEYA K., AHMED F. HALIM A. F. and ABDELHALIM O. B., 1997.- Cytotoxic triterpenes from *Cleome africana*. *Phytochemistry*, vol. 44 (6): 1115-1119.

NARENDHIRAKANNAN R. T., SUBRAMANIAN S., KANDASWAMY M., 2007.- Anti-inflammatory and lysosomal stability actions of *Cleome gynandra* L. studied in adjuvant induced arthritic rats. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 45(6): 1001-1012.

NYAMADOR S., KETOH G., KOUMAGLO H., GLITHO I., 2010.- Activités Ovicide et Larvicide des Huiles Essentielles de *Cymbopogon giganteus* Chiov. et de *Cymbopogon nardus* L. Rendle sur les stades immatures de *Callosobruchus maculatus* F. et de *Callosobruchus subinnotatus* Pic. (Coleoptera: Bruchidae). *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, vol. 029: 67-79.

ORDENTLICH A., BARAK D., KRONMAN C., FLASHNER Y., LEITNER M., SEGALL Y., ARIEL N., COHEN S., VELAN B., SHAFFERMAN A., 1993.- Dissection of the human acetylcholinesterase active center determinants of substrate specificity. *J Biol Chem*, vol. 268(23): 17083- 17095.

OULD EL HADJ M. D., 1992.- Bioécologie des sauterelles et sauteriaux dans trois zones d'études au Sahara. Mém. Ing. Scie. Agro. Inst. Natio. Agro. INA, El Harrach, Alger:85 p.

OULD EL HADJ M., 2004.- Le problème acridien au Sahara algérien. Thèse de doctorat, INA, Alger: 260 p.

OULD EL HADJ M., TANKARI DAN-BADJO A., HALOUANE F., DOUMANDJI S., 2003.- Etude comparative de la toxicité des extraits de trois plantes acridifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* Forskal, 1775 (*Orthoptera-Cyrtacanthacridinae*). Courier du Savoir, vol. 03: 81-86. Annales de l'INRAT, n° 76, Tunisie: 73-92.

OULD EL HADJ M.D., TANKARI DAN-BADJO A., HALOUANE F., DOUMANDJI S., 2006.- Toxicité comparée des extraits de trois plantes acridifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* Forskål, 1775 (*Orthoptera-Cyrtacanthacridinae*). Sécheresse vol. 17 (3). Paris: 407-414.

OULD EL HADJ M. D., ABDI M., DOUMANDJI S., 2007.- Impact du traitement d'un acridicide sur l'entomofaune associée en palmeraie dans la cuvette de Ouargla (nord-est sahara septentrional algérien). Revue EPPOS, Vol. 43, Italie: 26-34.

OULD EL HADJ A., 1997.- Biologie et écologie de *Schistocerca gregaria* (Forsk) (*OrthopteraAcrididae*) et de ses plantes-hôtes en Mauritanie : Effets des Triterpènes de *Citrulluscolocynthis* Schrader, Thèse de troisième cycle. Université Mohammed V, Faculté des Sciences, Rabat, Maroc: 98 p.

OZENDA P., 1991.- Flore et végétation du Sahara. Ed. CNRS, 3ème édition augmentée, Paris: 662 p.

PAGE., CURTIS., SUTTER., WALKER. et HOFFMAN., 1999.- Pharmacologie intégrée. Ed. DeBoeck: 44-45.

PAPACHRISTOS D. P. et STAMOPOULOS D. C., 2002.- Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *canthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera : Bruchidae). *Jour. Stored. Prod. Res.*, vol. 38: 117-128.

PARIMALA DEVI B., BOOMINATHAN R. and MANDAL S. C., 2002.- Evaluation of anti-diarrheal activity of *Cleome viscosa* L. extract in rats. *Phyt. Mede.*, vol. 9(8): 739-742.

PATRICK G., 2003.- Chimie pharmaceutique. Ed. De Boeck, Bruxelles: 256 p.

PELMON J., 2005.- Biodégradations et métabolismes. Ed. EDP sciences, Paris: 606 p.

PENASSE L., 1974.- Les enzymes : cinétique et mécanisme d'action. Ed. Masson et Cie, Paris: 1-3.

PERRIER A., MASSOULIE J., KREJCI E., 2002.- PRIMA: The membrane anchor of acetylcholinesterase in the brain. *Neuron*, Vol. 33(2), Paris: 276-285.

PFAFF D., ARNOLD A., FAHRBASH S., ETGEN A., RUBIN R., 2002.- Hormones, Brain and Behavior. Ed. Academic press, Californie: 705p.

PHILOGENE B.J.R., 1991.- L'utilisation des produits naturels dans la lutte contre les insectes : problèmes et perspectives. Ed. aupelf-uref, john libbey eurotext, Paris: 269-278.

PIART J., 1978.- Etude expérimentale des phénomènes de dégradation de certains insecticides organiques de synthèse. Cahiers ORSTOM. Série Biologie: Entomologie Agricole, ORSTOM, vol.13(1): 101-109.

PIBIRI M. C., 2005.- Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, 160 p.

PICCIOTTO M. R., HIGLEY M. J., MINEUR Y. S., 2012.- Acetylcholine as a Neuromodulator: Cholinergic Signaling Shapes Nervous System Function and Behavior. *Neuron Rev.*, vol. 76(1):116-29.

PRICE D.N., BERRY M.S., 2006.- Comparison of effects of octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut, and dorsal unpaired median neurons of cockroaches. *J Insect Physiol*, vol. 52(3): 309-319.

PURVES D., AUGUSTINE G. J., FITZPATRICK D., KATZ L. C., LAMANTIA A. S., MCNAMARA J. O., WILLIAMS S. M., 2011.- Neuroscience. Ed. Sunderland, Etas-Unit: 759p.

PRIESTLEY C.M., WILLIAMSON E.M., WAFFORD K.A., SATTELLE D.B., 2003.- Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA A receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster* .vol. *Br.J. Pharmacol.* 140(8):1363-1372.

QUEZEL P., SANTA S., 1963.- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. Centre national de la Recherche Scientifique, Paris: 569 p.

- RACCAUD-SCHOELLER J., 1980.-** Les insectes physiologie développement. Ed. Masson, Paris: 287.
- RACHADI T., 1991.-** Précis de lutte antiacridienne: les pulvérisations d'insecticides. Ed. CIRAD/ PRIFAS, Montpellier: 312p.
- RADIC Z., DURAN R., VELLOM D.C., CERVENANSKY Y. L. C., TAYLOR P., 1994.-** Site of fasciculon interaction with acetylcholinesterase. J. Biol. Chem., 269(15): 11233-11239.
- RADIC Z., QUINN D.M., VELLOM D.C., CAMP S., TAYLOR P., 1995.-** Allosteric control of acetylcholinesterase catalysis by fasciculon. J. Biol. Chem., 270(35): 20391-20399.
- RAMADE F., 1991.-** Caractères écotoxicologiques et impact environnemental potentiel des principaux insecticides utilisés dans la lutte anti-acridienne. La lutte antiacridienne. Ed. AUPEL-UREF, Paris: 179-191.
- RAMADE F., 2007.-** Introduction à l'écotoxicologie, Ed. Lavoisier, Ile de France: 618 p.
- RAMIREZ G., GOMEZ-BARRIOCANAL J., BARAT A., RODRIGUEZ-BARRAJO C., 1984.-** Meet on cholinesterases: Fundamental and applied aspects. Ed. Walter de Gruyter, Berlin:115-128.
- RAVEN P. H., RAY F. E., SUSAN E. E., 2003.-** Biology of Plants. Ed. W. H. Freeman and Company, Worth Publishers, New York: 944 p.
- RAVEN P., EVERT R., EICHHORN S., 2000.-** Biologie végétale. Ed. De Boeck Université, Belgique : 944p.
- RAVEN P., JOHNSON G., B., MASON K. A., LOSOS J. B., 2011.-** Biologie. Ed. De Boeck Supérieur, Belgique : 1406p.
- REGNAULT-ROGER C., PHILOGÈNE B. J. R., VINCENT C., 2008.-** Biopesticides d'origine végétale. Ed. 2eme, Lavoisier, Ile de France: 546 p.

REGNAULT-ROGER C., VINCENT C., ARNASON J. T., 2012.- Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World. *Annual Review of Entomology*, vol. 57(1): 405-424.

REGNAULT-ROGER C., HAMRAOUI A., 1994.- Reproductive inhibition of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), *bruchid of kidney bean* (*Phaseolus vulgaris* L.) by some aromatic essential oils. *Crop Protection*, vol. 13(8): 624-628.

RICHARD D., ANSELME B., BAEHR J., CHAFFARD J., MEREUX J., PERILLEUX E., VALET P., 1997.- *Physiologie des animaux*. Ed. Nathan, Tome 1, Paris: 352 p.

RIVIERE J.L., 1998.- Évaluation du risque écologique des sols pollués. Ed. Tec et Doc, Paris: 230 p.

ROBERT C. et VINCENT P., 1997.- *Biologie et physiologie humaines*. Ed. Vuibert, Paris:130-146.

ROEDER T., 1999.- Octopamine in invertebrates. *Progress in Neurobiology*, vol. 59(5): 533-561.

ROSENBERRY T., 1975.- Catalysis by Acetylcholinesterase: Evidence that the Rate-Limiting Step for Acylation with Certain Substrates Precedes General Acid-Base Catalysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(10): 3834-3838.

RUNGS C. I. A., 1945.- Bulletin semestriel de l'office national de lutte antiacridien n°2. Ed. O.N.A.A., Paris: 76-87.

RUSSELL P. J., HERTZ P.E., MILLAN B., 2016.- *Biologie: The dynamic science*. Ed. Cengage Learning, Etas-Unit:1520p.

RYAN M.F., BYRNE O., 1988.- Plant–insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *J Chem Ecol.*, vol. 14(10): 1965-1975.

SAUVION N., CALATAYUD P., THIERY D., MARION-POLL F., 2013.- *Interactions insectes-plantes*, Ed. Quae, Versailles: 752p.

SCHMUTTERER H., 1990.- Properties and Potential of Natural Pesticides from the *Neem Tree, Azadirachta Indica*. *Annual Review of Entomology*, Vol. 35, Californie: 271-297.

SCHORDERET M., 1992.- Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Ed. Frisson Roche et latkine. Paris: 920 p.

SHERWOOD L., 2006.- Physiologie Humaine. Ed. De Boeck Supérieur, Belgique: 768 p.

SEIGLER D. S., 1998.- Plant Secondary Metabolism. Ed. Kluwer Academic Publishers, Londres: 759p.

SENGOTTAYAN S. N., CHOI M.Y, PAIK C.H., SEO H.Y., KIM J.D., KANG S.M., 2007.-The toxic effects of neem extract and azadirachtin on the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (BPH) (Homoptera: Delphacidae). Chemosphere, vol. 67(1):80-88.

SENGOTTAYAN S. N., CHOI M.Y, PAIK C.H., SEO H.Y., KALAIVANI K., KIM J.D., 2008.- Effect of azadirachtin on acetylcholinesterase (AChE) activity and histology of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål). Ecotoxicol. Environ. Saf., vol. 70(2): 244-250.

SHERWOOD L., 2006.- Physiologie Humaine. Ed. De Boeck Supérieur, Belgique: 768 p.

SILMAN I., FUTERMAN A., 1987.- Modes of attachment of acetylcholinesterase to the surface membrane. Eur. j. biochem, vol. 170(1-2): 11-23.

SIMÕES C., CARLOS J. P. DE MATTOS, KÁTIA SABINO C. C., CALDEIRADE- ARAÚJO A., MARSEN COELHO G. P. ALBARELLO N., SOLANGE L., FIGUEIREDO F. L., 2006.- Medicinal potential from in vivo and acclimatized plants of *Cleome rosea*. Fitoterapia, vol. 77: 94-99.

SIRAMON P., OHTANI Y., ICHIURA H., 2009.- Biological performance of *Eucalyptus camaldulensis* leaf oils from Thailand against the subterranean termite *Coptotermes formosanus* Shiraki. The Japan Wood Research Society, vol. 55(1):41-46.

SMIRNOFF W. A., 1991.- Réflexion à propos de la lutte biologique contre les insectes nuisibles. La lutte antiacridienne. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris: 279-187.

SPIT J., BADISCO L., VERLINDEN H., VAN WIELENDAAELE P., ZELS S., DILLEN S., VANDEN BROECK J., 2012.- Peptidergic control of food intake and digestion in insects. *Can. J. Zool.*, vol. 90(4): 489-506.

STEELE R.W., SMALLMAN B.N., 1976.- Acetylcholinesterase of the house-fly head. Affinity purification and subunit composition. *Biochim Biophys Acta.*, Vol. 445(1):147-57.

SUCHAIL S., BELZUNCES L., VAISSIÈRE B., 2003.- Toxicité aiguë de l'imidaclopride et de ses métabolites chez l'abeille domestique "*Apis mellifera*". *Abeilles et Fleurs*, vol. 643(1): 27-30.

SUDHAKAR M., RAO C. V., RAO P. M. and RAJU D. B., 2006.- Evaluation of antimicrobial activity of *Cleome viscosa* and *Gmelina asiatica*. *Fitoterapia*, vol. 77(1): 47-49.

SUSSMAN J., HAREL M., FROLOW F., OEFNER C., TOKER A., SILMAN I., 1991.- Atomic structure of acetylcholinesterase from *torpedo californica*. *J. stor science*, vol. 253(5022): 872-879.

SWEETMAN H. L., 1936.-The Biological Control of Insects. Ed. Comstock, Etas unit: 461p.

TAIL G., 1998.- Action de quelques substrats alimentaires sur quelques paramètres biologiques de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775), (Orthoptera-Acrididae) Efficacité entologique de *Pseudomonas fluorescents* (Pseudomonadales) sur quelques aspects physiologiques du criquet pèlerin. Thèse Mag., INA, El Harrach, Alger: 190 p.

TALEB TOUDERT K., 2015.- Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien) Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Calosobruchus maculatus* (Coleoptera Bruchidae). Thèse de doctorat, Université mouloud mammeri, Tizi ousou: 160p.

TALESA V., GRAUSO M., PRINCIPATO G., GIOVANNINI E., ROSI G., 1995.- The nutrition, development and biogenic amine levels in the Eastern Death's. Thèse de magister, Sci. Agro. Inst. Nat. Agro., El harrach: 85p.

TAYLOR P., 1991.- The cholinesterase. *The journal of biological chemistry*, vol. 266(7): 4024-4025.

TESSIE A. M., BOUQUE A. et PARI R. R., 1975.- Sur quelques Euphorbiacées toxiques africaines. *Journal de plantes médicinales et phytothérapie*, T. IX (3): 238-249.

THIAM, 1991.- Problématique de l'utilisation des insecticides chimiques dans la lutte anti-acridienne au Sahel. Ed. AUPEL-UREF, John Libbey Eurotext, Paris: 193-206.

TOMASSOLIE I., 2010.- Synthèse et évaluation de nouveaux dérivés quinoléiques impliqués dans les maladies neurodégénératives. Thèse de doctorat, École doctorale Homme, environnement, santé, France: 255p.

TORTORA G., 2003.- Principes d'anatomie et de physiologie. Ed. De boeck universite, Bruxelles: 169-4290.

TRIPATHI R. D. and TIWARI K. P., 1980.- Genticulatin, a triterpenoid saponin from *Euphorbia geniculata*. Phytochemistry, vol. 19 (10): 2163-2166.

U.I.C.N., 2001.- Connaissance, Valorisation et Contrôle de l'Utilisation de la Flore Sauvage en Médecine Traditionnelle (Plantes Médicinales). Programme Union Internationale pour la Conservation de la Nature pour l'Afrique du Nord. Ministère de l'Agriculture Algérienne, 153 p.

UICNR, 2005.-A guide to medicinal plants in North Africa. Union internationale pour la conservation de la nature et ses ressources, Centre for mediterranean cooperation, Malaga, 256 p.

VAUBOURDOLLE M., 2013.- Toxicologie sciences mathématiques, physiques et chimiques. tome 1. Ed. Le Moniteur, Paris: 923-944.

VIALA A. et BOTTA A., 2007.- Toxicologie. Ed. Lavoisier, Paris: 1094 p.

VINCENT C. et CODERRE D., 1992.- La lutte biologique. Ed. Tec et Doc, Québec: 671 p.

VOET D., VOET J.G., 2004.- Biochimie, Ed. De boeck, 2^{ème} édition, Belgique:1600p.

VOET D. et VOET J.G., 2005.- Biochimie. De Boeck, Belgique: 761-762.

WEILL M., DURAN O., LABBE P., BERTHOMIEU A., RAYMOND M., 2003.- La résistance du moustique *Culex pipiens* aux insecticides. Médecine sciences, vol. 19(12):1190-1191.

WHITTAKER R. H., FEENY P. P., 1971.- Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science*, vol.171(3973): 757-770.

WILPS H., NASSEH O., REMBOLD H., KRALL S., 1993.- The effects of *Melia volkensii* extracts on mortality and fitness of adult *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orth., Cyrtacanthacrinae). *Journal of Applied Entomology*, vol. 116(1-5):12-19.

ZIMMERMAN G. et SOREQ H., 2006.- Readthrough acetylcholinesterase: a multifaceted inducer of stress reactions. *J. Mol. Neurosci.*, vol. 30(1-2):197-200.

Résumés

Cholinestérases et toxicité d'extraits de quelques plantes acridicides ou acrifuges chez *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775)

Résumé.- L'étude de l'effet toxique des huiles essentielles des feuilles de *Cleome arabica* et de *Colocynthis vulgaris*, deux plantes spontanées récoltées au Sahara septentrional Est Algérien, porte sur quelques paramètres neurochimiques et comportementales chez le Criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* après traitement. Les huiles essentielles des deux espèces végétales engendrent, dans un intervalle de temps de deux heures après traitement, un déséquilibre comportemental qui évolue avec le temps chez les individus de cet acridien. Le temps de mortalité le plus court est observé chez les individus mâles traités par les huiles essentielles de *C. vulgaris* avec $133 \pm 2,64$ mn. Le rythme cardiaque des individus traités est modifié et décroît dans le temps chez les femelles et chez les mâles traités avec les extraits foliaires de *C. arabica* et de *C. vulgaris*. Cette diminution après 10 minutes chez les adultes traités par les huiles essentielles de *C. arabica*, est de $65 \pm 3,00$ battements /mn chez les femelles et de $67 \pm 3,60$ battements /mn chez les mâles. 120min après le traitement, elle chute à $35,6 \pm 4,34$ battements /mn pour les femelles et $49 \pm 3,60$ battements /mn pour les mâles. Pour les individus traités par les huiles essentielles de *C. vulgaris*, le rythme cardiaque, 10 minutes après traitement, est de $77,42 \pm 2,96$ battements /mn chez les femelles et de $60 \pm 4,58$ battements /mn chez les mâles. Il n'est que de $35 \pm 2,64$ battements /mn et $52 \pm 3,23$ battements /mn après 120 minutes chez les individus femelles et mâles respectivement. Au vu des résultats, l'activité cholinestérasique montre une diminution chez les individus traités par les huiles essentielles des feuilles de *C. vulgaris*. Elle est de $16,34 \pm 1,44$ nanomole /mn /ml et de $8,08 \pm 1,94$ nanomole /mn /ml respectivement pour les femelles et les mâles de *S. gregaria*. Pour les criquets traités par les huiles essentielles foliaires de *C. arabica*, une hyper activité est observée. Les taux de protéines augmentent après traitement pour les deux extraits foliaires. Ils sont de $46,11 \pm 1,94 \mu\text{g}$ de protéines /ml et de $45 \pm 1,44 \mu\text{g}$ de protéines /ml chez les mâles et chez les femelles respectivement traités par l'extrait de *C. vulgaris*. Cependant, l'activité spécifique augmente pour la plupart des individus traités avec les huiles essentielles de *C. arabica*. Elle est de $0,45 \pm 0,043$ nanomole /min /mg pour les individus femelles et de $0,29 \pm 0,026$ nanomole /min /mg pour les individus mâles. Néanmoins, elle diminue chez les individus traités par les huiles essentielles de *C. vulgaris* ($0,17 \pm 0,03$ nanomole /min/mg chez les mâles et $0,36 \pm 0,036$ nanomole /min/mg chez les femelles). Les individus de *S. gregaria* exposés aux huiles essentielles des extraits foliaires de *C. vulgaris* et de *C. arabica*, sont perceptibles des perturbations au niveau des réponses neurochimiques et comportementales, d'où une toxicité accrue des extraits de ces deux espèces végétales spontanées.

Mots clés: Toxicité, plantes spontanées, acétylcholinestérase, Criquet pèlerin, huiles essentielles.

Cholinesterases and toxicity of extract of some acridicidal or acridifuge plants in *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775)

Summary.- The study of the toxic effect of the leave essential oils of *Cleome arabica* and *Colocynthis vulgaris*, two spontaneous plants collected in the northern east of Algerian Sahara, carried out on some neurochemical and behavioral parameters in the pilgrim locust *Schistocerca gregaria* after treatment. The essential oils of both vegetal species generate, after two hours of treatment, a behavioral imbalance that increased through time in individuals of this locust. The shortest time of mortality is observed in male individuals treated by the essential oils of *C. vulgaris* with 133 ± 2.64 mn. The heart rhythm of the treated individuals is modified and decreased through time in females and males treated with the foliar extract of *C. arabica* and of *C. vulgaris*. This decrease, after 10 minutes in adults treated by the essential oils of *C. Arabica*, is 65 ± 3.00 beats/mn in females and 67 ± 3.60 beats/mn in males. 120 min after treatment, it decreased at 35.6 ± 4.34 beats/mn for females and 49 ± 3.60 beats/mn for males. The heart rhythm 10 minutes after treatment, in individuals treated by the essential oils of *C. vulgaris*, is 77.42 ± 2.96 beats/mn for females and 60 ± 4.58 beats/mn for males. It is only 35 ± 2.64 beats/mn and 52 ± 3.23 beats/mn after 120 minutes, respectively for female and male individuals. Based on obtained results, the cholinesterase activity showed a decrease in individuals treated by the leaves of the essential oils of *C. vulgaris*. It is 16.34 ± 1.44 nanomole /mn/ml and 8.08 ± 1.94 nanomole/mn/ml, respectively for females and males of *S. gregaria*. The locusts treated by leave essential oils of *C. arabica*, showed a higher activity. The rates of protein increased after treatment for both foliar extracts. There is 46.11 ± 1.94 μ g of protein/ml and 45 ± 1.44 μ g of protein /ml respectively, in males and females treated with the leaves extract of *C. vulgaris*. However, the specified activity increased for most of individuals treated with the essential oils of *C. arabica*. It is about 0.45 ± 0.043 nanomole/min/mg for female and about 0.29 ± 0.026 nanomole /min/mg for male individuals. Nevertheless, it decreased in individuals treated by the essential oils of *C. vulgaris* (0.17 ± 0.03 nanomole/min/mg for males and 0.36 ± 0.036 nanomole/min/mg for females). *S. gregaria* individuals exposed to leave essential oils extract of *C. vulgaris* and *C.arabica*, have perceptible disturbances in neurochemical and behavioral responses, resulting in increased toxicity of extracts of these two spontaneous vegetal species.

Key Words: Toxicity, spontaneous plants, acetylcholinesterase, pilgrim locust, essential oils.

الكولين استراز وسمية مستخلصات بعض النباتات الطاردة للجراد او القاتلة للجراد عند

Schistocerca gregaria (Forskål, 1775)

الملخص. -دراسة التأثير السمي للزيوت الأساسية لأوراق *Cleome arabica* و *Colocynthis vulgaris* ، نبتتين بريتين مقتطفتين من شمال شرق الصحراء الجزائرية، تضم بعض العناصر العصبية الكيميائية و السلوكية عند الجراد السائح بعد المعالجة. الزيوت الاساسية للصنفين النباتيين تؤدي في مجال من الوقت يقدر بساعتين بعد العلاج ، لاختلال التوازن في السلوك يتطور مع الوقت عند افراد الجراد. مدة الوفيات الاقل لوحظت عند الافراد الذكور المعالجة بالزيوت الاساسية ل *C. vulgaris* ب $133 \pm 2,64$ دقيقة. دقات القلب عند الافراد المعالجة تتغير وتقل مع الوقت عند الاناث و عند الذكور المعالجة بالمستخلص الورقي ل *Cleome arabica* و *C. vulgaris* هذا النقص بعد 10 دقائق عند البالغين المعالجين بالزيوت الاساسية ل *Cleome arabica* يكون ب 3 $65 \pm$ نبضة في الدقيقة عند الاناث و ب 60 ، 67 ± 3 نبضة في الدقيقة عند الذكور. دقات القلب عند الافراد المعالجة بالزيوت الاساسية ل *C. vulgaris* تصل 10 دقائق بعد العلاج الي $77,42 \pm 2,96$ نبضة في الدقيقة عند الاناث و الي $60 \pm 4,58$ نبضة في الدقيقة عند الذكور ، و يصل الي $35 \pm 2,64$ نبضة في الدقيقة و الي $52 \pm 3,23$ نبضة في الدقيقة بعد 120 دقيقة عند الافراد الاناث و الذكور علي التوالي. حسب النتائج نشاط الكولين استراز يظهر انخفاضا عند الافراد المعالجة بالزيوت الأساسية لأوراق *C. vulgaris* ، يكون ب $34,16 \pm 1,44$ نانومول /دقيقة/مل و ب $8,08 \pm 1,94$ نانومول /دقيقة/مل علي التوالي لدي الاناث و الذكور ل *Schistocerca gregaria* . عند الجراد المعالج بالزيوت الاساسية الورقية ل *Cleome arabica* يلاحظ فرط نشاط للإنزيم . كمية البروتينات تزيد بعد العلاج عند المستخلصين الورقيين. تصل الي $46,11 \pm 1,94$ ميكروغرام من البروتينات في مل و الي $45 \pm 1,44$ ميكروغرام من البروتينات في مل عند الذكور و عند الاناث علي التوالي المعالجة بالمستخلص الورقي ل *C. vulgaris* ، في حين النشاط النوعي يزيد عند معظم الافراد المعالجة بالزيوت الاساسية ل *C. vulgaris* ($0,17 \pm 0,03$ نانومول /دقيقة/ملغ عند الذكور و $0,36 \pm 0,036$ نانومول /دقيقة/ملغ عند الاناث). أفراد *Schistocerca gregaria* المعرضة للزيوت الاساسية للمستخلصات الورقية ل *Cleome arabica* و *C. vulgaris* اظهرت اختلال في الاجابة العصبية الكيميائية و السلوكية، اين تؤكد سمية المستخلصات للصنفين النباتيين البريين.

الكلمات المفتاحية: سمية، نباتات برية، استيل كولين استراز، جراد سائح، زيوت أساسية.

Production scientifique

Production scientifique

Publication Internationale

HAMID OUDJANA A., KEMASSI A., BOUAL Z., HAMDI-AISSA L and OULD EL HADJ M. D., 2015-Acetylcholinesterase and toxicity of foliar raw essential oils of *Cleome arabica* L.(Capparidaceae) at *Schistocerca gregaria* Forskal, 1775' meets the required scientific qualifications to be published in Vol. 30 (no 6, Year 2015) of 'Ciencia eTecnica Vitivinicola' journal (ISSN: 0254-0223) , www.ciencia-e-tecnica.org.

Publication Nationale

HAMID OUDJANA A., HAMDI-AISSA L., OULD EL HADJ M. D., 2009- Cholinestérase et toxicité des organophosphorés chez *Schistocerca gregaria* forskål 1775, Article publié sur la revue de l'annale de la faculté des Sciences et Sciences de l'ingénieur université Kasdi MERBAH Ouargla, vol. 1, n° 3: 101p., <http://www.ouargla-univ.dz/>.

HAMID OUDJANA A., BOUDRAISSA I., MOKADEM S., ROUIBAH M, KEMASSI A., BOUAL Z., OULD EL HADJ-KHELIL A et OULD EL HADJ M. D., 2015- Etude de l'effet des huiles essentielles brutes foliaires de *Colocynthis vulgaris* (L.) Schrad (Cucurbitaceae) sur l'activité cholinestérasique chez les imagos de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775), Journal algerian of arid environment. vol 5, n°2: 42, <http://www.ouargla-univ.dz/>