



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master II

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème

Caractérisation phytochimique, physicochimique et évaluation
des activités biologiques *d'Atriplex halimus*.

Présenté par :

Melle BELHADI Lynda.

Melle BELLIL Sara.

25/09/2022

Devant le jury :

Présidente : Mme BENAHMED DJILALI A. Professeur à l'UMMTO.

Promotrice : Mme BENAZZOUZ K. Maître de Conférences B à l'UMMTO.

Examinatrice : Mme DERMECHE S. Maître de Conférences B à l'UMMTO.

Année universitaire : 2021/2022



Remerciements

Avant toute chose on remercie dieu tout puissant de nous avoir donner le courage ; la volonté et la santé afin d'achevé ce modeste travail.


Nous exprimons notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à notre promotrice Madame Benazzouz k. Maitre de conférences B à la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'UMMTO pour ses précieux conseils, sa disponibilité, sa gentillesse et son encouragement tout au long de notre travail.

Nous tenons à remercier sincèrement Madame DERMECHE S. Maitre de conférences B à la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'UMMTO, qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail et de faire partie de ce jury.

Nous adressons nos remerciements à Madame BENAHMED DJILALI A. Professeure à la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'UMMTO, qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ce mémoire.

On adresse également un grand merci aux ingénieures des laboratoires de microbiologie et physico-chimique commun de la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques pour leur aide et leur générosité.

Enfin, A tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.





Dédicace

**L'amour d'une mère est plus profond que l'océan
L'amour d'un père est plus haut que la montagne**

MAMAN ;

**Les mots ne peuvent pas exprimer l'amour et la gratitude que je
veux exprimer merci de m'avoir toujours poussé à aller de l'avant.**

PAPA ;

**Tes conseils et ton éducation m'ont toujours guider merci d'avoir
fait de moi ce que je suis aujourd'hui.**

MES CHERES SŒURS ET CHER FRERE ;

**Merci d'avoir été toujours à mes côtés par votre amour vous avez
guidé mes pas.**

A LA MEMOIRE DE MES DEFUNTES TANTES

**J'aurais tellement voulu partager cette joie avec votre présence
Reposez en paix**

A TOUS MES CHERS AMIS ;

**Merci pour les moments partager tout au long de notre cursus
universitaire et vos encouragements, je vous souhaite pleins de
réussites à l'avenir.**

A ma chère binôme SARA ;

Pour son soutien tout au long de ce travail de fin d'étude.

LYNDA





Dédicace

JE DÉDIE CE TRAVAIL :

***À mes chers parents ma mère et mon père
Pour leurs encouragements, leur tendresse,
leur amour inconditionnel, leur confiance
et leur soutien durant toute ma vie.***

Merci d'avoir toujours été là pour moi.

***À mes adorables sœurs et mon frère pour
leurs encouragements permanents et leur
soutien moral qui me poussent toujours vers
l'avant.***

***À mes amis, pour tous les moments de
bonheur qu'on a partagé, je vous souhaite
plus de succès.***

***À ma chère binôme Lynda, pour son
soutien et sa patience tout au long de ce
projet.***

SARA



Liste des figures

Figure 1 : Photographie de l' <i>Atriplex halimus</i> L.....	3
Figure 2 : Les différents parties d' <i>Atriplex halimus</i>	4
Figure 3 : Plantes d' <i>Atriplex halimus</i>	5
Figure 4 : Structure de base des acides benzoïques et cinnamiques.	9
Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes.	9
Figure 6 : Structure de base des tanins hydrolysable	10
Figure 7 : Structure de base des tanins condensés.	11
Figure 8 : Structure des coumarines.....	11
Figure 9 : <i>Sitophilus oryzae</i> L. sous une loupe binoculaire.....	13
Figure 10 : Différents stades de vie de <i>Sitophilus oryzae</i>	14
Figure 11 : Dégâts des adultes de <i>S. oryzae</i> sur les grains de blé dur.....	15
Figure 12 : Aspect des parties aériennes d' <i>A. halimus</i>	18
Figure 13 : Poudre d' <i>A. halimus</i>	20
Figure 14 : L'extrait aqueux d' <i>A. halimus</i>	23
Figure 15 : Évaluation de l'activité insecticide de l'extrait aqueux par le test d'inhalation.....	30
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	35
Figure 17 : Taux de mortalité des adultes de <i>Sitophilus oryzae</i> traités par inhalation aux différentes doses de l'extrait aqueux d' <i>A. halimus</i>	40
Figure 18 : Résultat du test de répulsion.....	42

Liste des tableaux

Tableau I :Classification de l'espèce <i>Atriplex halimus</i> L.	3
Tableau II :Classification de <i>Sitophilus oryzae</i>	13
Tableau III : Souches bactériennes testées.	19
Tableau IV : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme.	29
Tableau V : Pourcentage de répulsion	32
Tableau VI : Résultats des paramètres physico-chimiques.....	34
Tableau VII : Résultats de criblage phytochimique de la partie aérienne d' <i>Atriplex halimus</i>	34
Tableau VIII : Teneur en polyphénols totaux dans l'extraitéthanolique.	36
Tableau IX : Caractéristiques morphologique observées des bactéries testées.....	37
Tableau X : Diamètres des zones d'inhibition (en mm).	38
Tableau XI : Taux de mortalité des adultes de <i>Sitophilus oryzae</i> traité par l'extrait aqueux d' <i>A.halimus</i> dans le temps en fonction de la dose.	39

Liste des abréviations

A. halimus: *Atriplex halimus*.

AFNOR: Association Française de Normalisation.

AH: *Atriplex halimus*.

ATCC: American Type Culture Cells.

AX-25: Amoxicillin.

BHIB: Bouillon Coeur-cervelle.

Cn10: Gentamicin

CTX 30 : Cefitaxime.

CX 30 : Cefoxitin.

DMSO: Diméthylesulfoxyde.

E. coli: *Escherichia coli*.

EAG: Equivalent d'acide gallique.

GN: Gélose nutritive.

K30: Kanamycin

Mc: Mortalité corrigé.

MH: Mueller Hinton.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

P. aeruginosa: *Pseudomonas aeruginosa*.

PR: Pourcentage de répulsion.

S. aureus: *Staphylococcus aureus*.

S. oryzae: *Sitophilus oryzae*.

UFC: Unité Formant de Colonie.

Table des matières

INTRODUCTION	1
I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	3
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA PLANTE.....	3
I.1. Systématique	3
I.2. Description Morphologique	4
I.3. Composition Chimique	5
I.4. Répartition géographique	5
I.4.1. Dans le monde.....	5
I.4.2. En Algérie	5
I.5. Tolérances	6
I.6. Utilisations de la plante.....	6
I.6.1. En alimentation humaine	6
I.6.2. En économie	6
I.6.3. En phytothérapie	6
I.7. Activités biologiques d' <i>Atriplex halimus</i>	7
I.7.1. Activité antibactérienne	7
I.7.2. Activité insecticide	7
CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES	7
II.1. Classification des métabolites secondaires	8
II.1.1. Composés phénoliques	8
II.1.2. Alcaloïdes	12
II.1.3. Terpénoïdes	12
CHAPITRE III : GENERALITES SUR <i>SITOPHILUS ORYZAE</i>	13
III.1. Systématique	13
III.2. Description.....	13
III.3. Biologie	14

III.4. Dégâts.....	15
III.5. Méthodes de lutte.....	15
III.5.1. Lutte chimique.....	15
III.5.2. Lutte biologique.....	15
III.5.3. Lutte physique	17
II.ETUDE EXPÉRIMENTALE	18
CHAPITREIV: MATERIEL ET METHODES.....	18
IV.1. Matériel	18
IV.1.1. Produits chimiques et milieux de culture.....	18
IV.1.2. Matériel végétal.....	18
IV.1.3. Matériel Biologique.....	19
IV.2. Méthodes	19
IV.2.1. Préparation de l'échantillon	19
IV.2.2. Caractérisations physico-chimiques de la poudre d' <i>Atriplex. halimus</i> ...	20
IV.2.3. Etude phytochimique d' <i>Atriplex halimus</i>	22
IV.2.4. Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	25
IV.2.5 Analyse quantitative par spectrophotométrie.....	25
IV.2.6. Tests des activités biologiques	26
CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSION.....	33
V.1. Résultats des paramètres physico-chimiques	33
V.2. Résultats des caractéristiques phytochimiques	33
V.3. Le rendementde l'extrait éthanolique.....	35
V.4. Teneur en polyphénols totaux.....	35
V.5. Test de l'activité antibactérienne	37
V.5.1. Vérification de la pureté des souches	37
V.5.2. Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne	37
V.6. Activité insecticide.....	38

V.6.1.Résultats de l'évaluation de l'activité insecticide des extraits aqueux et éthanolique d' <i>Atriplex halimus</i> contre les adultes de <i>Sitophilus oryzae</i>	39
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.	44
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis la nuit des temps, les hommes ont utilisé diverses ressources trouver dans leur environnement, afin de traiter et soigner différentes maladies et améliorer leur santé.

Les plantes médicinales sont les plus utilisés en phytothérapie, leurs propriétés antimicrobiennes sont connues depuis l'antiquité et la valeur de ces plantes est liée à leurs composées phytochimiques (Mohamed et *al.*, 2009).

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) environ 65 à 80% de la population mondiale dans les pays en développement ont recours aux préparations traditionnelles à base des plantes pour satisfaire leurs besoins en soins de santé primaire (Haddouchi et *al.*, 2016).

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une grande variété de molécules bioactives qui le rend un sujet d'intérêt scientifique (Falleh et *al.*, 2008). Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en pharmacologie. Parmi ces composés, on retrouve essentiellement les métabolites secondaires telle que les coumarines, alcaloïdes, acides phénoliques, tanins, lignanes, terpènes et flavonoïdes, qui sont surtout illustrés en thérapeutique (Bahorun, 1997).

De nombreuses études épidémiologiques et expérimentales récentes suggèrent que les composés flavoniques très abondants dans les plantes médicinales et alimentaires possèdent un pouvoir antioxydant et antibactérien remarquable; ils pourraient ainsi jouer un rôle dans la prévention des maladies infectieuses, cardiovasculaires et cancéreuses (Johnson, 1999 ; Nicoli et *al.*, 1999).

Plusieurs contraintes, notamment d'ordre phytosanitaire pénalise la phœniculture, fait qui réduit la quantité de la production et altère la qualité des récoltes par l'attaque de certains ravageurs dont *Sitophilus oryzae* (Mehaoua, 2014). Cet insecte est un ravageur qui s'attaquent aux grains et si aucune protection n'est faite après sept mois de stockage, la perte des denrées peut être totale (Ngamo and Hance, 2007). Il est donc nécessaire d'utiliser des moyens de lutte capables d'assurer le maintien d'un équilibre biologique favorable à une production agricole d'un haut niveau (Toutain, 1979). C'est pourquoi, dans une optique de développement durable, la lutte chimique est de plus en plus remplacée par la lutte biologique par les

biopesticides qui a un avenir prometteur bien qu'elle soit déjà assez ancienne (Silvy et Riba, 1993).

La flore algérienne regorge de plusieurs espèces de plantes qui sont dotées de réelles propriétés pharmacologiques. Dans le cadre de la valorisation de notre patrimoine naturel, nous nous sommes intéressés à l'étude d'une plante médicinale utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne connue sous le nom Guettaf « *Atriplex halimus* » afin d'évaluer ses activités biologiques. C'est une plante halophyte appartenant à la famille des Chénopodiacées qui pousse en terrain salé, riche en fibres alimentaire (cellulose), protéines, vitamine (C et B) et sel minéraux (calcium, phosphore, sodium, potassium, magnésium) (Chikhi, 2013).

Ce présent travail de recherche s'articule sur deux grandes parties:

❖ Partie de synthèse bibliographique qui regroupe trois chapitres:

- Le premier chapitre: Généralités sur la plante *Atriplex halimus*.
- Le deuxième chapitre: Métabolites secondaires.
- Le troisième chapitre: Généralités sur *Sitophilus oryzae*.

❖ Etude expérimentales:

- Le matériel et les méthodes utilisés dans notre travail.
- Les résultats obtenus et leurs discussions.

❖ Enfin, Une conclusion générale qui résumera l'ensemble du travail réalisé.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES

SUR LA PLANTE

Définition

Atriplex est un arbuste appartenant à la famille des Chénopodiacées, et il y a environ 417 espèces dont 48 vivent en région méditerranéenne (Figure 1) (Le Houerou, 1992).



Figure 1 : Photographie de l'*Atriplex halimus* L. (Martinez et al., 2003).

I.1. Systématique

La classification de l'espèce *Atriplex halimus* L. dans le règne végétal est la suivante (Tableau I) (Quezel et Santa, 1963 ; Dupont et Guignard, 2007).

Tableau I : Classification de l'espèce *Atriplex halimus* L.

Embranchement	Spermaphytes(Phanérogames)
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Apétales
Ordre	Centrospermales
Famille	Chénopodiacées (Amaranthacées)
Genre	<i>Atriplex</i>
Espèce	<i>Atriplex halimus</i> L.

Noms Vernaculaires :

Nom commun : Arrocheou pourpier de mer.

Nom en arabe : Guettaf.

Nom en anglais : Salt buch méditerranéen.

Nom en kabyle : Armass.

I.2. Description Morphologique

Atriplex halimus est une plante halophyte très ramifié d'une hauteur de 1 à 3 m, formant des touffes pouvant atteindre 1 à 3 m de diamètre, elle présente une photosynthèse C4 qui lui permet un métabolisme à haut rendement photosynthétique. Elle est composée d'une racine principale de 50 à 90 cm de profondeur, ainsi que de quelques racines secondaires (Figure 2a) (Le Houérou, 1992). Les tiges d'*Atriplex halimus* sont ligneuses et très ramifiées (Bonnier et Douin, 1996). Généralement, elles sont bien dressées et se termine par une touffe rectangulaire de couleur blanche grisâtre (Figure 2b) (Duperat, 1997). Les feuilles sont durables de 2 à 6 cm de long, elles sont alternées, pétiolées, de forme ovale, de couleur vert argentée, plus au moins charnues, luisantes, recouvertes de poils vésiculaires et très riche en sels (Figure 2c) (Duperat, 1997). Tandis que les fleurs sont monoïques jaunâtres. Selon (Talamali et al., 2003), il existerait deux architectures florales de base : l'une est constitué de fleurs mâles et l'autre de fleurs femelles. A partir de ces de types, des fleurs bisexuées peuvent apparaitre (Figure 2d). Les graines sont verticales de 2mm de diamètre environ, de couleur brun foncé et elles sont entourées de péricarpe membraneux (Figure 2e) (Neigre, 1961 ; Baba Sidi-Kaci, 2010). Les fruits sont composés par deux bractéoles, ils sont arrondis, lisses ou tuberculeuse, droite ou recourvés (Figure 2f) (Ozenda, 1983).

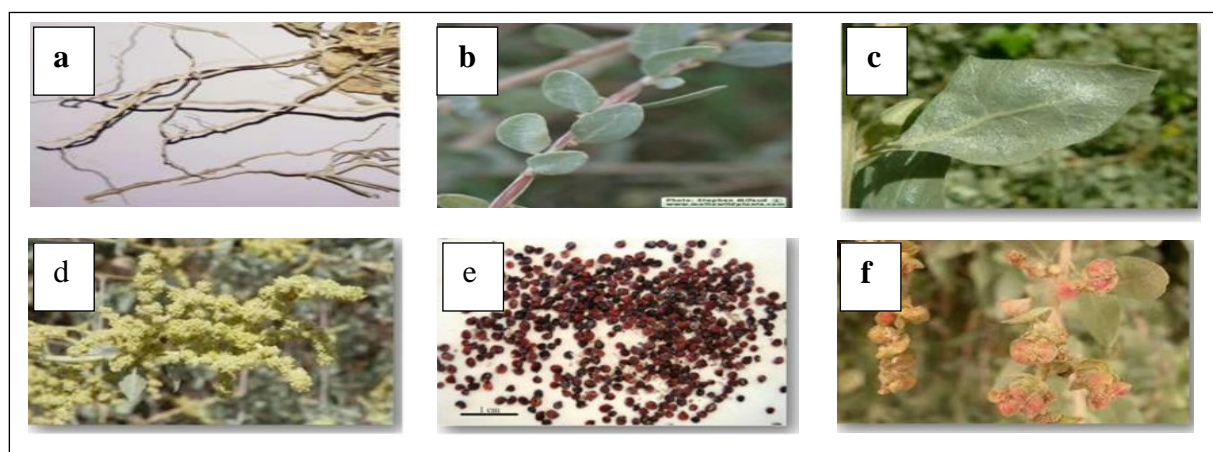


Figure 2 : Différentes parties d'*Atriplex halimus*, (a) : racines (Le Houérou, 1992) ; (b) : tige (Bonnier et Douin, 1996) ; (c) : feuille (Duperat, 1997) ; (d) : fleure (Talamali et al., 2003) ; (e) : graine (Neigre, 1961 ; Baba Sidi-Kaci, 2010) ; (f) : fruit (Ozenda, 1983).

Il existe deux variantes de cette espèce(Figure 3)

- La Subsp *Halimus* : s'étend des zones semi-arides aux zones humides, facilement identifiable grâce à son port droit.
- La Subsp *Schweinfurthii* : très répandue dans les zones arides et désertiques, présente un port broussailleux enchevêtré(Nedjimi et *al.*,2013).



Figure 3 : Plantes d'*Atriplex halimus* : sous-espèce *Schweinfurthii* (à gauche) et *Halimus* (à droite) (Walker et *al.*, 2014).

I.3. Composition Chimique

La composition chimique d'*Atriplex halimus* dépend de plusieurs paramètres, tels que le climat, l'âge de la plante et la saison. Cette matière végétale est très riche en protéines, fibres, sels minéraux, en vitamines A, C, et D et en métabolites secondaires comme les saponines, alcaloïdes et flavonoïdes (Benhammou et *al.*, 2009 ; Nedjimi et *al.*,2013).

I.4. Répartition géographique

I.4.1. Dans le monde

A. halimus est distribué de la région méditerranéenne à l'Asie occidentale, y compris le Sud du Portugal, la France, le Sud et Est de l'Espagne (les îles Canaries), l'Italie, la Grèce, Malte, la Turquie, Chypre, Israël, la Syrie, le Liban, Jordanie, Tunisie, Maroc, Algérie, Libye, Égypte et Arabie saoudite (Walker et *al.*, 2014).

I.4.2. En Algérie

L'Algérie possède une flore riche et diversifiée, *Atriplex halimus* est spontané dans les sols bioclimatiques semi-arides et arides. Les plus grandes superficies correspondent aux zones dites steppiques (Tébessa, Batna, M'sila, Boussaâda, Biskra, Djelfa, Tiaret, Saida) (Benrebiha, 1987 ;Chahma, 2006). Les chotts (lacs salés et sebkhas) sont les spots les plus préférentiels de cette plante.

I.5. Tolérances

Atriplex est connu pour ses intérêts environnementaux défavorables. Cette plante tolère le stress salin, en raison de sa pression osmotique vacuolaire élevée due à de fortes concentrations en sels (Essafi et *al.*, 2007). Elle résiste aussi à la sécheresse, car elle contient un système racinaire très développé, il se fixe sur les couches supérieures du sol pour combattre la désertification (Belkhodja et Bidai, 2004). Même si le contenu hydrique est bas la plante reste vivante. Cette espèce développe une résistance au froid (Mulas&Mulas, 2004).

I.6. Utilisation de la plante

I.6.1. En alimentation humaine

Atriplex halimus est connu pour la valeur nutritionnelle et énergétique de ses feuilles molles, pour le bétail et aussi comme nourriture pour les nomades et la population locale des steppiques. Au printemps, dans certaines régions d'Algérie et de Tunisie, les jeunes pousses de guettaf sont consommées par l'homme et cuites comme des épinards. Sa teneur élevée en fibres favorise la digestion, améliore la plénitude de l'estomac et hydrate les matières fécales (Nedjimi et *al.*, 2013).

I.6.2. En économie

La plantation d'*Atriplex* se manifeste comme l'un des meilleurs moyens de réhabiliter pour les zones désertiques et de les remettre à la production. Cette dernière est utilisée comme plante fourragère car son feuillage persistant riche en protéines est très apprécié par les animaux durant la longue période de sécheresse. Par ailleurs, elle peut contribuer à la valorisation des sols dégradés et à l'amélioration des productions végétales et animales dans plusieurs terres démunies (Le Houérou, 1992).

I.6.3. En phytothérapie

En médecine traditionnelle, *A. halimus* est utilisé pour des fins thérapeutiques : Les feuilles sont utilisées pour traiter les maladies cardiovasculaires, le diabète, l'hypertension, le rhumatisme, les douleurs rénales, les lithiases et dans le traitement de l'acidité gastrique etc. (Said et *al.*, 2002 ; Bellakhdar, 2006). D'après (Said et *al.*, 2007) *A. halimus* a des propriétés antioxydantes et Hypoglycémiantes.

I.7. Activités biologiques d'*Atriplex halimus*

I.7.1. Activité antibactérienne

Certains travaux sont basés sur l'étude de l'activité antibactérienne des extraits de cette Plante, ils indiquent son efficacité contre de multiples souches bactériennes pathogènes (Abdel Rahman et *al.*, 2011 ; Ounaissia et *al.*, 2020 ; Ziane et *al.*, 2020). Ce qui prouve son utilisation en médecine traditionnelle pour traiter les infections bactériennes.

I.7.2. Activité insecticide

Consiste à l'utilisation des substances naturelles extraites de la plante (des préparations phytosanitaires), afin de démontrer son pouvoir insecticide contre les insectes ravageurs.

Un travail s'est basé sur une étude toxicologique de l'extrait aqueux d'*A. halimus* dans le but de déterminer son effet insecticide sur les œufs et les larves L5 de *Ectomeylois ceratoniae* Zeller (Boukhalfa et Bouraya, 2019). Ce qui révèlent des effets toxiques perceptibles sur cet insecte, il pourrait être une bonne alternative aux pesticides chimiques, tout en préservant la santé humaine et l'environnement.

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES

Les plantes ont acquis la capacité de synthétiser et d'accumuler un nombre élevé de petites molécules de structure variée, connues sous le nom de métabolites secondaires. Ils sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction (Dixon, 2000).

Les métabolites secondaires ont une répartition limitée. Ils sont typiquement produits dans un organe, tissu ou type cellulaire spécifique à des stades particuliers du développement, en faible quantité et sont emmagasinés surtout dans les vacuoles (Raven et *al.*, 2003).

II.1. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont repartis en plusieurs grandes familles chimiques : Les composés phénoliques, Les terpénoïdes, Les alcaloïdes, Les saponines (Mamadou. 2011).

II.1.1. Composés phénoliques

Constituent l'une des grandes familles de molécules largement répandues dans le règne végétal (Lugasi et *al.*, 2003). Ce sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, à partir des racines jusqu'aux fruits (Yusuf, 2006). Ces composés jouent un rôle fondamental car sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux (Sculbert et *al.*, 2000).

Des travaux plus anciens ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation organogène, dormance des bourgeons, floraison, tubérisation. Les polyphénols sont aussi connus pour leurs effets protecteurs contre le rayonnement UV, l'effet attracteur sur les insectes et pour leur propriétés antifongiques et antibactériennes (Heimeur et *al.*, 2004). Ils interviennent dans la qualité alimentaire des fruits en déterminant la saveur (Dubois et *al.*, 1977).

En effet les polyphénols ont des propriétés bénéfiques pour la santé comme la prévention et le traitement de certains cancers, traitements des maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neuro dégénératives (Middleton et *al.*, 2000 ; Ksouri et *al.*, 2007). Certains d'entre eux sont utilisés comme additifs pour les industries agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (Burta et *al.*, 2008).

Les principales classes des composants phénoliques sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins et les coumarines.

II.1.1.1. Acides phénoliques

Ce sont des acides phénoliques simples composés d'un noyau aromatique substitué de groupement hydroxyles et d'une fonction acide et parfois de groupement méthyles. Ils sont rarement présents à l'état libre, généralement liés avec des molécules organiques donnant des esters avec les sucres et les alcools acides, et donnant les phénol amides avec les monos ou diamines (Macheix et *al.*, 2005). Ces composés se répartissent en deux groupes : Les acides hydroxycinnamiques et les acides hydroxybenzoïque (Figure 4). Ils sont présents dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales et chez toutes les céréales (Guignar, 2001).

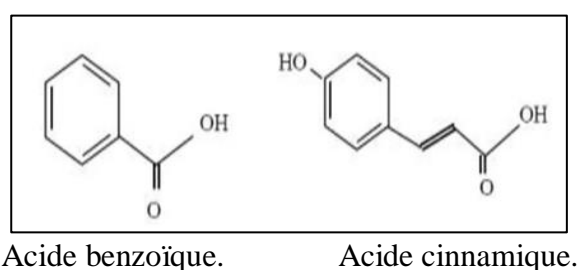


Figure 4 : Structure de base des acides benzoïques et cinnamiques (Bruneton, 2009 ; Sarni-Manchado et Cheyner, 2006).

II.1.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus large des composés phénoliques, ils sont classés en flavonols, flavones, flavanones, chalcones, flavanes, isoflavones et anthocyanes (Fraga et Oteiza, 2011). Ils ont en commun la structure diphenylpropane (Figure 5). Du fait, leurs propriétés antioxydantes liées à leurs structures polyphénoliques.

Les flavonoïdes ingérés avec nos aliments sont réputés pour protéger l'organisme contre les effets délétères des apports environnementaux oxydant (Stoclet et Schini-Kerth, 2011).

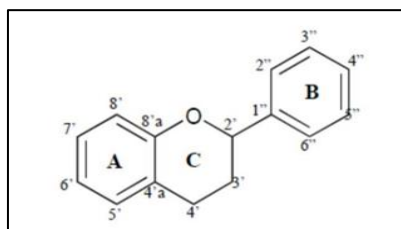


Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes.

Le métabolisme et la pharmacocinétique des polyphénols, et plus particulièrement les flavonoïdes ont fait l'objet d'intenses recherches. Ces dernières ont montré que les flavonoïdes sont rapidement absorbés dans le tractus intestinal et détectés dans le plasma, ce qui suggère qu'ils sont disponibles pour exercer leurs effets biologiques (Spencer et *al.*, 2004).

Une panoplie d'études *in vitro* ont montré que les flavonoïdes peuvent moduler l'activité d'une grande variété d'enzymes impliquées dans des voies importantes qui régulent la division et la prolifération cellulaire, l'agrégation des plaquettes, la détoxification, l'inflammation et la réponse immunitaire (Middleton et *al.*, 2000).

II.1.1.3. Tanins

Les tanins constituent une complexe famille de principes actifs qu'on les trouve dans l'ensemble des végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles, etc.). Ils ont la capacité de former des complexes avec des macromolécules (les protéines, etc.) et des liaisons entre les fibres de collagènes, d'où viennent la plupart de leurs propriétés (Paolini et *al.*, 2003).

Chez les végétaux supérieurs, il existe deux catégories de tanins, d'origine biosynthétiques différentes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Macheix et *al.*, 2005).

✓ Tanins hydrolysables

Sont des esters d'acide gallique, qui se lient aux molécules de glucose (Bruneton, 1993 ; Hopkins, 2003) et d'acides phénols, qui sont facilement fragmentés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol (acide ellagique) (Figure 6) (Bruneton, 2009).

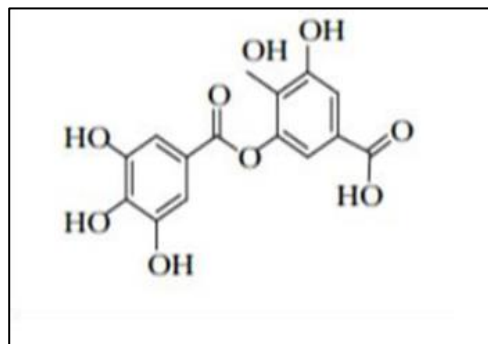


Figure 6 : Structure de base des tanins hydrolysable (Bruneton, 1993)

✓ Tanins condensés

Sont des composés phénoliques hétérogènes, se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères qui sont formés par condensation des molécules de flavonoïdes entre elles. Ils ont tous comme précurseurs des flavonoïdes (C6- C3-C6) et diffèrent entre eux par le type de liaison, le plus souvent épicatechine et catéchine (Figure 7) (Bruneton, 2009).

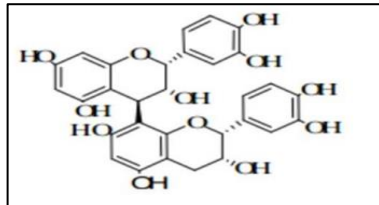


Figure 7 : Structure de base des tanins condensés (Bruneton, 2009).

Les tanins jouant un rôle de protection contre les prédateurs (herbivores et insectes). La propriété astringente des tanins est à la base des autres propriétés (vulnérable, antidiarrhéique...), elle permet la cicatrisation, l'imperméabilisation de la peau et des muqueuses, favorise la vasoconstriction des petits vaisseaux (Paolini *et al.*, 2003).

II.1.1.4. Coumarines

Les coumarines sont des lactones des acides cinnamiques (Figure 8). Ils sont largement distribués dans le règne végétal et possèdent des propriétés très diverses. Les coumarines et leurs dérivés sont utilisés pour des fins pharmaceutique, agricole et cosmétique (Yamashita *et al.*, 2005), ils ont des activités antithrombotiques et anti-inflammatoires (Cowan, 1999). Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires (Harbone *et al.*, 1982).

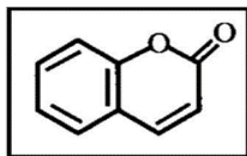


Figure 8 : Structure des coumarines (Cowan, 1999).

II.1.2. Alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique. Ils possèdent une activité pharmacologique significative.

On trouve des alcaloïdes en tant que métabolites secondaires, principalement chez les végétaux et les champignons. Habituellement, les alcaloïdes sont des dérivés des acides aminés. Les alcaloïdes ont souvent une forte activité biologique, toxique ou thérapeutique, les plus souvent cités sont notamment: la quinine, la morphine, la strychnine, la cocaïne, la colchicine, l'ergotinine, l'éphédrine, l'atropine, la nicotine et la caféine. Ils agissent directement sur le système nerveux avec des effets sur la conscience et la motricité. L'action sur le système nerveux peut aller jusqu'à une action antispasmodique et mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique (Bruneton, 1999).

II.1.3. Terpénoïdes

Le terme terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé Hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte ; leur formule brute est $(C_5H_x)_n$ dont le X est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et peut prendre des valeurs 1 à 8 (Sun *et al.*, 2016).

La plus importante des activités biologiques des triterpènes est celle d'anti-inflammatoire non-stéroïdienne (Grigoraş, 2012).

CHAPITRE III : GENERALITES
SUR SITOPHILUS ORYZAE.

Les charançons granivores des céréales sont les insectes les plus fréquents dans les stocks de céréales de tous les pays du monde. Ils font partie de la famille des Curculionidés (Cruz et al., 2016).

Le genre *Sitophilus* renferme deux espèces, *Sitophilus granarius* et *Sitophilus oryzae* qui sont devenues cosmopolites avec le développement du commerce des grains (Lavoisier, 2010). Ces charançons connus sous le nom de calandres des grains, sont les insectes les plus nuisibles aux grains entreposés, de blé, de riz etc. (Lavoisier, 2010).

III.1. Systématique

Selon Balachowsky (1962), la classification de *Sitophilus oryzae* est la suivante (Tableau II) **Tableau II** :Classification de *Sitophilus oryzae*.

Embranchement	Arthropoda
Sous embranchement	Hexapoda
Classe	Insecta
Sous classe	Pterygota
Ordre	Coleoptera
Famille	Curculionidae
Genre	<i>Sitophilus</i>
Espèce	<i>Sitophilus oryzae</i> L.



Figure 9 :*Sitophilus oryzae* L. sous une loupe binoculaire (GX20) (photo personnelle, 2022).

III.2. Description

C'est un insecte caractérisé par la présence d'un rostre. L'adulte mesure 2,5 à 4,5 mm, de couleur brun à brun noirâtre avec quatre grandes tâches orangées sur les élytres qui sont ponctuées et striées. Les stries élytrales sont grossièrement ponctuées et les inter-stries finement ponctuées. Il possède des ailes postérieures membraneuses et peut voler. La larve est longue de 2,5 à 3mm, de couleur blanche, de forme subcirculaire, apode et très peu velue et se développe à l'intérieure de la graine (Camara, 2009).

III.3. Biologie

Les femelles pondent leurs œufs dans des galeries creusées dans le grain. A l'éclosion qui survient quelques jours plus tard, les larves néonates se nourrissent du grain et s'y nymphosent, apparaissant sous forme d'adulte parfait (Figure 10). Le cycle complet dure de 26 à 35 jours dans les zones tropicales (Seck, 2009).

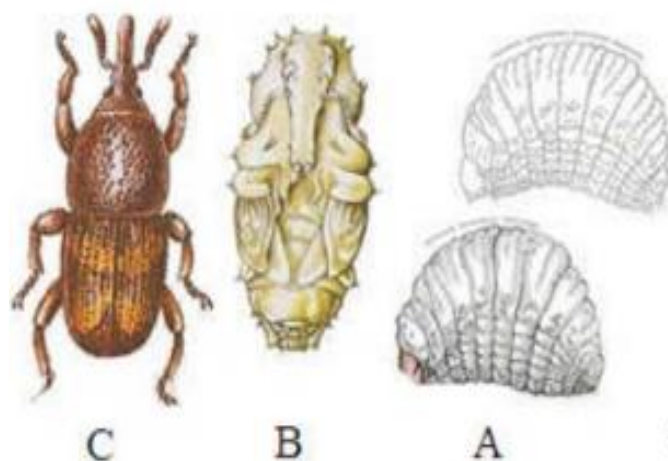


Figure 10 : Différents stades de vie de *Sitophilus oryzae*, (A) : larve ; (B) : nymphe ; (C) : adulte (Walter, 2002).

III.4. Dégâts

Les charançons du riz représentent des ravageurs de premier plan pour les céréales emmagasinées sur lesquelles ils provoquent des pertes pondérales, une détérioration de la qualité et permettent l'installation d'infections cryptogamiques (Appert, 1985). Leur plat de prédilection est constitué par les grains de blé, d'orge, de maïs et de riz (Figure 11).



Figure11 : Dégâts des adultes de *S. oryzae* sur les grains de blé dur (Belhocine, 2017).

III.5. Méthodes de lutte

III.5.1. Lutte chimique

L'utilisation des produits phytosanitaires pour la lutte contre les ravageurs des denrées stockées est le moyen le plus utilisé et le plus efficace. Mais, ces pesticides de synthèse bien qu'efficaces provoquent non seulement des problèmes de résistance chez les insectes ravageurs mais entraîneraient aussi des effets nocifs sur l'environnement et la santé humaine (Camara, 2009). Face aux nuisances de la lutte chimique, il a été développé plusieurs autres formes de lutte contre les insectes.

III.5.2. Lutte biologique

Cette méthode entre dans le cadre du développement durable et de la sauvegarde des écosystèmes. Elle vise à réduire les populations des insectes ravageurs, en utilisant leurs ennemis naturels qui sont soit des prédateurs, soit des parasites ou des agents pathogènes, ainsi que des produits naturels d'origine végétale comme des poudres minérales des huiles végétales, huiles essentielles..., issue du domaine de la phytothérapie. De nombreux parasites et prédateurs de *Callosobruchus maculatus* ont été identifiés, tels que les Hyménoptères

parasitoïdes qui se développent dans les greniers au détriment des œufs, des larves et des nymphes de bruches, les plus efficaces sont : *Dinarmusbasalis* et *Eupelmusvilleti*, *Teretriosoma nigrescens* (Coléoptère), prédateur naturel du grand capucin (Sanon et *al.*,1999).

➤ **Utilisation des plantes insecticides**

L'usage des plantes indigènes dans la conservation des récoltes a été pratiqué avant même l'apparition des insecticides de synthèse. Les plantes sont utilisées contre les ravageurs pour leurs effets répulsifs, de contact ou inhalatoires(Gueye et *al.*,2011).

➤ **Huiles essentielles**

Les huiles essentielles des plantes font partie ces dernières années des voies les plus explorées dans la régulation des ravageurs . Leur application dans la protection des stocks a fait l'objet de nombreux travaux. Leur toxicité s'exprime de différentes manières : activités ovicides , larvicides , antinutritionnelles et inhalatoires (Kéïta et *al.*, 2000 ; Regnault -Roger, 2002).

Les effets répulsifs de ces huiles essentielles pourraient dépendre de la composition chimique et du niveau de sensibilité de l'insecte (Casida, 1999). Dans ce contexte, de nombreux travaux ont été réalisé pour évaluer l'effet de la composition chimique sur l'activité répulsive des huiles essentielles (Ko et *al.*, 2009 ; Nério et *al.*, 2010). Dans la majorité des cas, le pouvoir répulsif a été attribué aux composés majoritaires des huiles essentielles. D'après (Obeng-Ofori et Reichmuth , 1997), l'Eugénol composé majoritaire de l'huile essentielle d'*Ocimum suave* a été très répulsif pour les quatre espèces de coléoptères : *Sitophilus granarius*, *Sitophilus zeamais*, *Tribolium castaneum* et *Prostephanus truncatus* avec des taux de répulsion de 84% pour *Prostephanus truncatus* et 83% pour *Sitophilus zeamais* et 82% pour *Tribolium castaneum* et *Sitophilus granarius*.

Selon Nerio et *al.* (2010) les activités répulsives des huiles essentielles sont liées généralement à la présence des monoterpènes et des sesquiterpènes. Dans certains cas, les composés peuvent agir en synergie améliorant leur efficacité. Ainsi, d'après plusieurs études telles que celles réalisées par Mc Carron et *al.* (1995) et Tripathi et *al.* (2001) les monoterpènes ont des activités répulsives contre les insectes des denrées stockées.

III.5.3. Lutte physique

Elle concerne toutes les techniques mécano-thérapeutiques susceptibles de rendre le stock sain. En général, ces techniques ne sont pas efficaces contre les formes cachées. Elles sont recommandées pour pallier aux problèmes des résidus chimiques liés aux différents traitements chimiques appliqués aux denrées stockées. Ainsi plusieurs techniques ont été expérimentées et ont eu des succès divers : le traitement par le froid et le chaud, le stockage étanche ou sous atmosphère contrôlée et les radiations ionisantes (Benayad, 2013).

II. ETUDE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE IV : MATERIEL ET METHODES.

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau des laboratoires pédagogiques des analyses physicochimiques (I et II) et microbiologique de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

L'Objectif de cette étude est de déterminer les propriétés physico-chimiques et les caractéristiques phytochimiques préliminaires de la plante *Atriplex halimus*, et d'évaluer son activité antibactérienne vis-à-vis de certains microorganismes pathogènes et son activité insecticide.

IV.1. Matériel

IV.1.1. Produits chimiques et milieux de culture

Produits chimiques

Les différents produits chimiques utilisés dans ce travail sont cités en Annexe I, les autres verreries et appareillages en Annexe II.

Milieux de culture

Pour la partie antibactérienne, les milieux de culture utilisés sont portés en Annexe III.

IV.1.2. Matériel végétal

➤ Echantillonnage

La plante étudiée est récoltée à la fin du mois de février et début du mois de mars dans la région de Beni Yanni de la wilaya de Tizi-Ouzou.

Le matériel végétal utilisé est constitué de la partie aérienne (feuilles et tiges) de la plante *Atriplex halimus* (Figure 12).



Figure 12 : Aspect des parties aériennes (feuilles et tiges) d'*A.halimus*(photo personnelle,2022).

IV.1.3. Matériel Biologique

✓ Souches bactériennes testées

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de la plante étudiée a été réalisée sur trois souches bactériennes de référence (Tableau III). Le choix de ces souches est en fonction de leur différence pariétale (Gram + et Gram -), leur pathogénicité et de leur résistance naturelle aux antibiotiques.

Tableau III : Souches bactériennes testées.

Souches	Genre	Famille
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Gram +	Micrococcaceae
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gram -	Enterobacteriaceae
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Gram -	Pseudomonadaceae

IV.2. Méthodes

IV.2.1. Préparation de l'échantillon

La partie aérienne de la plante *A. halimus* a été préalablement séchée, puis broyée à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre est conservée dans des flacons stériles et stockée à l'abri de la lumière et d'humidité jusqu'à son utilisation (Figure 13).



Figure 13: Poudred'*A. halimus* (Photo personnelle, 2022).

IV.2.2. Caractérisations physico-chimiques de la poudre d'*A. halimus*

IV.2.2.1. Détermination de l'humidité (AFNOR,1986)

➤ Mode opératoire

Peser 5g de la poudre dans une capsule en porcelaine. Puis sécher dans l'étuve pendant 15min à $105 \pm 2^\circ\text{C}$. Retirer la capsule de l'étuve, les refroidir dans le dessiccateur pour éviter toute réhydratation, après refroidissement, les peser à l'aide d'une balance de précision 0,001. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La teneur en eau a été déterminée par la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{M1-M2}{M} \times 100$$

Soit :

H : Humidité (%) ;

M1 : Masse de la capsule + la matière fraîche avant séchage en g.

M2 : Masse de l'ensemble après séchage en g.

M : Masse de la prise d'essai.

Matière sèche % = $100 - H \%$

IV.2.2.2. Teneur en cendres (NF V 05-113, 1972)

Les cendres constituent les résidus de composés minéraux après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique.

➤ Principe

L'échantillon est calciné à 550°C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention de cendres blanchâtres.

➤ **Mode opératoire**

Dans des capsules en porcelaine, peser 1g de l'échantillon. Puis les placer dans un four a moufle réglé à 550±15°C pendant 5 heures jusqu'à obtention d'une couleur grise claire ou blanchâtre ;

Retirer les capsules du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.

➤ **Expression des résultats**

La matière organique est calculée selon la formule suivante :

$$MO (\%) = \frac{M1-M2}{P} \times 100$$

Soit :

MO : Matière organique (g) ;

M1 : Masse de la capsule + la prise d'essai (g) ;

M2 : Masse de la capsule + cendres (g) ;

P : Masse de la prise d'essai (g) ;

La teneur en cendres (Cd) est déterminée comme suit :

$$Cd = 100 - MO \%$$

IV.2.2.3. Potentiel d'hydrogène (pH) (NF V 05-108, 1970)

➤ **Principe**

Il définit l'acidité du produit considéré, mesuré à l'aide d'un pH-mètre.

➤ **Mode opératoire**

10 ml d'eau distillée chaude sont ajoutés à 2g de la poudre, le mélange est broyé puis filtré et laisser refroidir.

Etalonner le pH-mètre, en utilisant des solutions tampons (pH=4 ; pH=7 ; pH=10).

Prélever comme prise d'essai un volume V de l'échantillon suffisamment important pour permettre l'immersion de l'électrode.

PS : il faut rincer l'électrode avec l'eau distillée avant et après chaque mesure.

➤ **Expression des résultats**

La valeur du pH est lue directement sur le pH-mètre. Les mesures du pH ont été répétées deux fois.

IV.2.2.4. Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101, 1974)

➤ Principe

Il consiste en un titrage avec une solution de NaOH en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré.

➤ Mode opératoire

Mettre 10g de poudre dans une fiole conique 50ml d'eau distillée chaude récemment bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène ; ensuite chauffer le contenu au bain marie pendant 30 min. Après refroidissement, transvaser quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 250ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée récemment bouillie, refroidie et bien mélanger puis filtrer.

Prendre un volume $V_0 = 25\text{ml}$ auquel on ajoute 0,25 à 0,5 ml de phénolphtaléine. Tout en agitant, verser à l'aide d'une burette la solution NaOH (0,1N) jusqu'à l'obtention d'une coloration rose persistante pendant 30 secondes. Faire la lecture sur la burette graduée pour avoir le volume de NaOH ayant décoloré la solution.

➤ Expression des résultats

L'acidité titrable est exprimée en gramme d'acide citrique pour 100ml d'échantillon.

Cette première a été déterminée selon la formule suivante :

$$A (\%) = \frac{250 \times V_1 \times 100}{M \times V_0 \times 10} \times 0,07$$

V_0 : Volume de la prise d'essai en millilitres ;

V_1 : Volume de la solution d'hydroxyde de sodium (0,1 N) en millilitres ;

0,07 : Facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent d'acide citrique.

M : Matière sèche en gramme prélevé.

IV.2.3. Etude phytochimique d'*Atriplex halimus*

Cette étude a été initiée par un criblage (ou screening) phytochimique afin de mettre en évidence les différentes classes de métabolites secondaires contenues dans la partie aérienne (feuilles et tiges) d'*Atriplex halimus*, suivi par une extraction et estimation quantitative par un dosage spectrophotométrique (contenu en polyphénols).

IV.2.3.1 Préparation de l'infusion

Une quantité de 20g de matière végétale est macéré dans 100ml d'eau distillée. Porter le mélange a l'ébullition pendant 15min ; après refroidissement et filtration, le filtrat est ajusté à 100ml d'eau distillée. L'infusé obtenu est récupéré et conservé pour la recherche des différents composés chimiques constituant cette plante (Figure14).

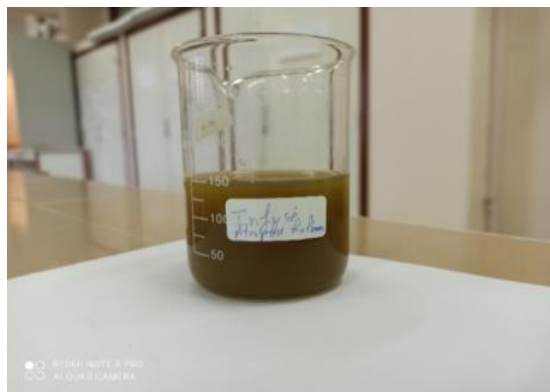


Figure 14 : L'extract aqueux d'*A. halimus* (Photo personnelle, 2022).

IV.2.3.2. Tests phytochimiques préliminaires

Ces tests phytochimiques qualitatifs, sont basés sur des réactions de colorations ou de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe des principes actifs (Dohou et *al.*, 2003 ; Kumar et *al.*, 2007).

IV.2.3.2.1. Recherche des anthocyanes

Introduire dans un Erlenmeyer 5ml de l'infusé, ajouter quelques gouttes d'HCl. Une réaction positive donne une coloration rouge.

IV.2.3.2.2. Recherche des tanins

Quelques gouttes de la solution de FeCl₃ (5%) sont ajoutées à 5ml de l'infusé. La présence des tanins est identifiée par une coloration verdâtre de la solution.

IV.2.3.2.3. Révélation des tanins galliques

On sature le filtrat par l'acétate de sodium (CH₃COONa), puis on lui ajoute quelques gouttes de FeCl₃. La réaction est dite positive lorsque la coloration bleu foncé apparaît.

IV.2.3.2.4. Révélation des flavonoïdes

A 5ml de l'infusé, on ajoute 5ml d'HCl, un copeau de Mg et 1ml d'alcool iso-butanol. La réaction est positive lorsque la coloration rouge violette orangé.

IV.2.3.2.5. Recherche des quinones libres

On ajoute 2ml d'HCl (1N) à 2g de la poudre végétale, plus 20ml de chloroforme, puis on laisse le mélange reposer pendant 3h. Après on filtre le mélange. On ajoute au filtrat 5ml d'ammoniaque (1/2). La réaction est positive lorsque la coloration rouge violette apparait.

IV.2.3.2.6. Révélation des saponosides

Dans deux tubes à essai fermés, on met dans l'un 5ml d'HCl à 0,1N, dans l'autre 5ml de NaOH à 0,1N. On introduit dans chacun 2 à 3 gouttes d'infusé. Ensuite bien agiter verticalement pendant 30s et laisser reposer pendant 15min.

Une réaction positive est déterminée par la présence d'une mousse persistante.

Deux cas sont possibles :

1^{er}cas : En présence des saponines stéroïdiennes, on obtient dans les deux tubes le même volume de la mousse.

2^{eme} cas : Si la plante contient des saponines triterpéniques, en milieu basique il y'aura formation d'une mousse quelque fois plus grande par stabilité et par volume.

IV.2.3.2.7. Révélation des glycosides

On ajoute quelques gouttes d'H₂SO₄ à 2g de poudre végétale. Une coloration rouge brique ensuite violette se manifeste en présence des glucosides.

IV.2.3.2.8. Recherche des coumarines

➤ Préparation de l'extrait

20 ml de la solution (alcool-éthylque-eau distillée) sont ajoutés à 2g de la poudre. Après ébullition pendant 15min à reflux, la solution est filtrée puis refroidit.

➤ Identification

On ajoute 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH (10%) à 3 ou 5 ml du filtrat, et quelques gouttes d'HCl à 10% jusqu'à l'obtention d'un milieu faiblement acide. L'apparition d'un trouble indique la présence des coumarines.

IV.2.3.2.9. Recherche des phénols

2ml de l'éthanol est ajouté à 2 ml de l'extrait, L'ajout de quelques gouttes de FeCl₃ permet l'apparition d'une coloration bleue noirâtre qui indique la présence des phénols (Iqbal Hussain et *al.*, 2011).

IV.2.4. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

IV.2.4.1. Méthode d'extraction

IV.2.4.1.1 Préparation de l'extrait éthanolique par macération

20g de matériel végétal finement broyé et soumis à l'extraction par macération à froid dans 200 ml d'un mélange éthanol/eau (70/30 ; v/v) pendant 24h et à l'obscurité totale avec agitation de temps en temps. Après filtration, la solution obtenue subit une évaporation à l'air libre jusqu'à obtention d'un résidu sec. Ce dernier est repris avec 5 ml de DMSO et conservé à 4°C pour des analyses ultérieures.

IV.2.4.1.2. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement en extrait sec est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids du matériel végétal utilisé pour l'extraction en gramme (Abe et *al.*, 2010). Le rendement est calculé selon la formule ci-dessous ;

$$R (\%) = (\text{Masse de l'extrait sec} / \text{Masse du matériel végétal utilisé}) \times 100$$

IV.2.5 Analyse quantitative par spectrophotométrie

IV.2.5.1. Dosage des polyphénols totaux

➤ Principe

Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀) de ce réactif est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans l'extrait analysé, qui est estimée par spectrophotométrie UV à une longueur d'onde de 760 nm (Singleton et *al.*, 1999).

➤ Mode opératoire

200µl de l'extrait éthanolique est mélangée avec 1ml du réactif de Folin–Ciocalteu (1/10), après 4 minutes 800µl de carbonate de sodium à 7,5% sont ajoutés puis ajusté le

volume à 3 ml avec l'eau distillée. Les tubes sont placés à l'obscurité à 37°C pendant 2 heures et l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV.

➤ **Expression des résultats**

La concentration des polyphénols dans l'échantillon est déterminée par la courbe d'étalonnage effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (0-100µg / ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes que l'extrait (Clémentine et *al.*, 2012).

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG / g MS).

IV.2.6. Tests des activités biologiques

IV.2.6.1 Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de notre plante a été évaluée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé décrite par (Benjelali *et al.*, 1986). Il s'agit de mesurer les zones d'inhibitions issues de l'effet des extraits phénoliques vis-à-vis les souches pathogènes testées.

✓ **Préparation des milieux de culture**

Le milieu utilisé pour la culture des souches bactérienne est celui de Mueller Hinton (MH). Car il est considéré comme le milieu de référence pour les tests antibactériens selon les recommandations nationales et internationales (EUCAST, 2003 ; NCCLS, 2003), du fait qu'il contient tous les éléments nécessaires pour une bonne croissance des bactéries.

✓ **Préparation des disques**

Des disques de papier Wattman de 6mm de diamètre ont été préparés et stérilisés. Ils sont mis dans un tube à essai et conservés jusqu'au moment de leurs utilisation.

✓ **Revivification des souches bactériennes**

Pour permettre aux bactéries stressées de récupérer leurs potentialités ; 1 ml de la suspension bactérienne a été prélevé et additionner à 9 ml du BHIB. Les tubes sont mis à l'étuve pendant 24h à 37°C.

✓ **Préparation de pré-culture**

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries (trois cadrans) dans des boites de Pétri préalablement coulées de gélose nutritive, puis incubées

à

37°C pendant 18heures afin d'obtenir une culture jeune en phase exponentielle de croissance.

✓ **Vérification de la pureté des souches bactériennes**

La pureté des souches (*S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*) est vérifiée par la coloration de Gram.

➤ **Coloration de Gram :**

La coloration de Gram est une coloration différentielle microbiologique, elle est établie par Hans Christian Gram en 1884. Elle permet de distinguer le type de gram des bactéries, la forme des cellules ainsi que leurs modes de regroupement.

✓ **Principe**

La coloration de Gram est une méthode qui permet de classer les bactéries selon la composition et la structure de leur paroi. Elle repose sur le traitement d'un frottis bactérien fixé par la chaleur par un colorant primaire violet de gentiane, suivis par une fixation de la coloration avec du Lugol. Les cellules colorées sont ensuite soumises à l'action de l'alcool.

Les cellules bactériennes réagissent selon deux façons :

- Les bactéries dite gram négatif se décolorent rapidement : la paroi devient poreuse suite à la dissociation des lipides ce qui entraîne la décoloration du cytoplasme
- Les bactéries à Gram positif gardent leur coloration violette car la composition de la paroi et en majorité protéinique ce qui empêche l'action de l'alcool.

✓ **Mode opératoire**

En suivant la méthode décrite par (Delarras,2007), ce test s'effectue ainsi :

1. Préparation du frottis : déposer sur une lame une goutte d'eau sur laquelle on dépose un prélèvement provenant d'une culture jeune. Bien étaler en une couche mince homogène. Par la suite, une fixation s'effectue par passage de frottis dans la flamme 4 à 5 fois ;
2. Recouvrir le frottis avec le colorant primaire (violet de Gentiane) et laisser agir pendant 1 minute. Le colorant est rejeté sans rinçage ;
3. Verser le Lugol et laisser agir 1 min, suivi d'un rinçage à l'eau distillée ;
4. Décolorer à l'alcool entre 15 et 30 secondes, rincer à l'eau ;
5. Recouvrir avec la Fushine pendant 1 minute ;
6. Laver à l'eau courante ;
7. Sécher la lame et observer à l'immersion sous microscope optique au grossissement 1000.

Le même protocole est appliqué sur l'ensemble des souches bactériennes étudiées.

✓ **Standardisation des suspensions bactériennes :**

Dans la zone stérile du bec bunsen et à partir d'une culture pure et fraîche de 18h, nous avons raclé à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester, puis ont été mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile (NaCl 0,9%).

La suspension bactérienne est bien homogénéisée et standardisée à une densité optique (DO) de 0.08 à 0.10 à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620 nm, qui correspond à 10^7 UFC/ml.

IV.2.6.1.1. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode des disques

➤ **Principe**

Afin de déterminer l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de la plante étudié, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé (Nair et Chanda, 2005, Perez et *al.*, 1990). C'est une méthode similaire à celle de l'antibiogramme qui consiste à déterminer la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un produit.

➤ **Mode opératoire**

Des boîtes de Pétri de 90mm de diamètre, sontensemencées par écouvillonnage, en tournant chaque fois la boîte environ 60° de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

Les disques de papier Wattman imbibés de 20 µl de l'extrait à tester sont déposés à la surface du milieuensemencé à l'aide d'une pince stérile en y appuyant légèrement dessus. Ainsi qu'un antibiogramme est réalisé avec des disques d'antibiotiques appropriés comme des témoins positifs (Tableau IV). Chaque essai est répété trois fois dans les mêmes conditions d'expérimentation.

Tableau IV : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme.

<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Gentamycin (CN10)	Gentamycin (CN 10)	Gentamycin (CN10)
Cefoxitin (CX 30)	Amoxicillin (AX 25)	Kanamycin (K 30)
Cefotaxime (CTX 30)	/	/
Kanamycin (K 30)	/	/

➤ **Lecture des résultats**

Après incubation des boîtes de Pétri à 37°C pendant 24 heures, toute activité antibactérienne se manifesterait par la formation des halos d'inhibition autour du disque où la culture est absente ; le diamètre sera mesuré en millimètres et comparé avec des diamètres de référence relatifs aux antibiotiques utilisés.

Les résultats obtenus sont symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis l'extrait testé (PONE et *al.*, 2003).

- Souche non sensible (-) ou résistante : diamètre < à 0,8cm ;
- Souche sensible (+) : diamètre compris entre 0,9 à 1,4cm ;
- Souche très sensible (++) : diamètre compris entre 1,5 et 1,9cm ;
- Souche extrêmement sensible (+++) : diamètre > à 2,0cm.

IV.2.6.2. Evaluation de l'activité insecticide

IV.2.6.2.1. Préparation de l'extrait

L'extrait végétal est obtenu par chauffage jusqu'à ébullition de 200g de poudre de la plante étudiée dans un récipient contenant 700ml d'eau distillée, pendant 30min tout en agitant de temps à un autre, puis filtré et constituant le premier jus. Le marc restant du jus 1

est versé à son tour dans un autre récipient contenant 300ml d'eau distillée et laisser macérer pendant 30 min avec agitations. Ainsi le deuxième jus obtenu après filtration, sera mélangé avec le jus 1 pour obtenir un extrait final prêt à l'emploi (Pasquier et Gerbinot in Belhadi, 2005).

IV.2.6.2.2. Test d'inhalation

➤ Principe

Ce test consiste à étudier la longévité des adultes de *Sitophilus oryzae* et cela en dénombrant les individus morts toutes les 24 heures pendant 5 jours.

➤ Mode opératoire

Nous introduisons des doses de l'extrait préparé (20µl, 40µl, 60µl) sur du papier filtre découpé au préalable en cercle de 2mm de diamètre suspendu à l'aide d'un fil à la face interne du couvercle des bocaux, puis nous mettons à l'intérieur 10 individus et 5g de graines de blé et nous fermons hermétiquement les bocaux (Figure 15).

Nous utilisons des étiquettes pour chaque dose de l'extrait, Deux répétitions sont réalisées avec un témoin sans extrait.

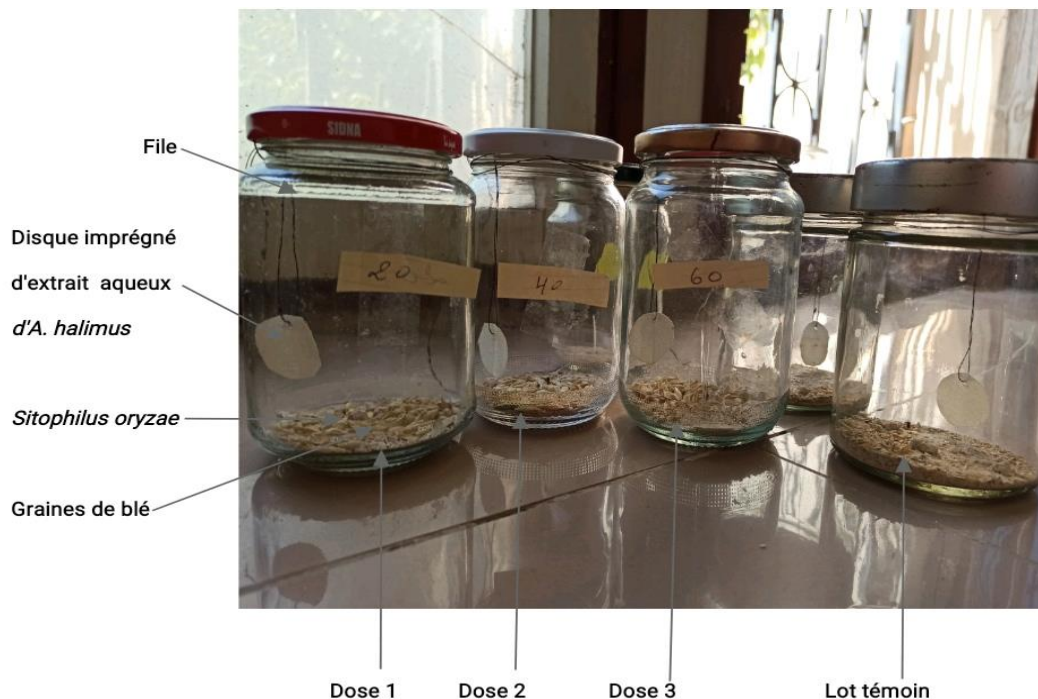


Figure 15 :Évaluation de l'activité insecticide de l'extrait aqueux par le test d'inhalation(Photo personnelle,2022).

➤ **Expression des résultats**

La mortalité observée est corrigée en rapport avec celle des témoins, selon la formule(d'Abbout,1925).

$$Mc \% = (P1 - P2) 100 / P1.$$

Mc% : pourcentage de mortalité corrigé

P1 : Nombre d'individus vivant dans la population témoins.

P2 : Nombre d'individus vivant dans la population traitée.

IV.2.6.2.3. Test de répulsion

➤ **Principe**

Ce test consiste à étudier l'effet répulsif de l'extrait éthanolique sur les adultes de *Sitophilus oryzae*.

➤ **Mode opératoire**

Découper en deux parties égales un disque de papier filtre de 10 cm de diamètre, un demi disque est traité par l'extrait éthanolique dilué dans de l'eau distillée et l'autre demi disque ne reçoit que de l'eau distillée puis les deux disques sont rassemblés par une bande adhésive et placés dans une boîte de Pétri. Ensuite, 10 Charançons sont disposés au centre de la boîte.

➤ **Expression des résultats**

Après 30min nous comptons le nombre de charançons présents sur la partie traitée et sur la partie non traitée.

Le pourcentage de répulsion (PR) est calculé comme suit :

$$PR \% = (Nc - Nt) / (Nc + Nt) \times 100$$

Nc : nombre d'insectes présents sur le demi disque traité avec l'eau distillée.

Nt : nombre d'insectes présents sur le demi disque traité avec de l'extrait éthanolique.

Le pourcentage de répulsion moyen est calculé et attribué à l'une des différentes classes répulsives selon le classement de Mc Donald et *al.*, (1970) (Tableau V).

Tableau V :Pourcentage de répulsion selon le classement de Mc Donald et *al.*, (1970).

Classe	Intervalle de repulsion	Propriétés
Classe 0	$PR \leq 0,1\%$	Trés faiblement répulsif
Classe I	$0,1\% \leq PR \leq 20\%$	Faiblement répulsif
Classe II	$20\% \leq PR \leq 40\%$	Modérément répulsif
Classe III	$40\% \leq PR \leq 60\%$	Moyennement répulsif
Classe IV	$60\% \leq PR \leq 80\%$	Répulsif
Classe V	$80\% \leq PR \leq 100\%$	Trés répulsif

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSION.

V.1. Résultats des paramètres physico-chimiques

Les résultats de quelques paramètres physico-chimiques des parties aériennes de l'espèce *Atriplex halimus* sont cités dans le tableau ci-dessous. Ils sont présentés sous forme de la moyenne des trois essais \pm l'écart type.

Tableau VI : Résultats des paramètres physico-chimiques.

Paramètres physico-chimiques	Résultats
Humidité (%)	10 \pm 00
Matière sèche (%)	90 \pm 00
Matière organique (%)	75 \pm 0,028
Teneur en cendres (%)	25 \pm 0,028
pH	6,8 \pm 0,035
Acidité titrable (%)	5,11 \pm 0,32

V.2. Résultats des caractéristiques phytochimiques

Le criblage phytochimique sert à détecter certains constituants dans la partie aérienne de l'*Atriplex halimus* L. Ce premier s'effectue par des tests et selon des réactions phytochimiques, ces réactions sont basées sur des changements de couleur et des précipitations spécifiques, indiquent la présence ou non de ces constituants (Tableau VII)

Tableau VII : Résultats de criblage phytochimique de la partie aérienne d'*Atriplex halimus*.

Les composés chimiques	Couleur ou caractère	Résultat
Anthocyanes	Rouge	–
Tanins	Bleu-noir	+++
Tanins galliques	Bleu foncé	+++
Flavonoïdes	Rouge orangé	+++
Quinones libres	Rouge violette	–
Saponosides	La présence ou non d'une mousse persistante Saponines stéroïdiennes : même volume Saponines tri-terpéniques : milieu Basique >	+
Glycosides	Rouge brique ensuite violette	+++
Coumarines	L'apparition d'un trouble	–
Phénols	Bleu noirâtre	+++

Légende : (-) : négatif ; (+) : faiblement positif ; (++) : Positif ; (+++) : Fortement positif

D'après les résultats obtenus, la partie aérienne d'*Atriplex halimus* L. contient des tanins, tanins galliques, flavonoïdes, saponosides ainsi que les glycosides et des phénols, mais à des proportions différentes. Ce qui met en évidence la présence des métabolites secondaires qui possèdent des activités biologiques intéressantes. Mais elle est dépourvue des anthocyanes, des quinones libres et des coumarines.

Les travaux portés sur les tests phytochimiques de l'*Atriplex halimus* L. ont démontré l'abondance des phénols, des tanins catéchiques, des saponines et l'absence des alcaloïdes (Hadjadj, 2017), ces résultats concordent avec ceux obtenus dans notre étude.

De même les résultats trouvés par Sekkoum (2011), ont montré que l'*Atriplex halimus* L. contient des saponines, tanins et dépourvue des alcaloïdes. Ainsi une étude faite par Benhammou et al. (2009) a montré que l'extrait méthanolique des feuilles d'*Atriplex halimus* L. collectée de Béchar sud-ouest Algérien contient une teneur élevée en phénols totaux ($10,12 \pm 2,24$ mg GAE/g DW) les tanins ($0,5 \pm 0,14\%$) saponines ($0,33 \pm 0,14\%$) et les alcaloïdes.

Pour la plupart de nos résultats sont en accord avec les travaux qui ont été faite sur la plante étudiée. Ces différences sont peut-être dues à la période de récolte, la méthode et les conditions d'extraction appliquées et le type de solvant utilisé.

Ces résultats indiquent la richesse de cette espèce en substances bioactives principalement les polyphénols. Ces molécules bioactives telles que les saponosides et les flavonoïdes sont douées de propriétés insecticides et de nombreuses propriétés thérapeutiques.

V.3. Rendement de l'extrait éthanolique

Le rendement de notre extrait éthanolique de la partie aérienne d'*Atriplex halimus* est de 20%. Il est supérieur à celui obtenu par Belhadj-Tahar et al. (2015) (région de Laghouat), qui ont trouvé un rendement de 5,96%, et inférieur à celui obtenu par Benhammou et al. (2009) (région de Bechar) qui ont obtenu un rendement de 24 %.

Cette variabilité des valeurs peut être due à plusieurs facteurs tels que, la méthode d'extraction appliquée, la polarité de solvant utilisé (eau et l'éthanol) et le stade de croissance. Ceci rejoint les observations faites par plusieurs études qui ont signalées l'importance de l'effet des solvants et ses polarités sur le rendement d'extraction (Hayouni et al., 2007 ; Clara et al., 2010 ; Khlifi et al., 2011 ; Ben El Hadj Ali et al., 2014).

V.4. Teneur en polyphénols totaux

Les concentrations d'extrait en polyphénols totaux sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/gMS), la teneur en polyphénols est calculée via l'équation de la courbe linéaire d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 16, Tableau VIII).

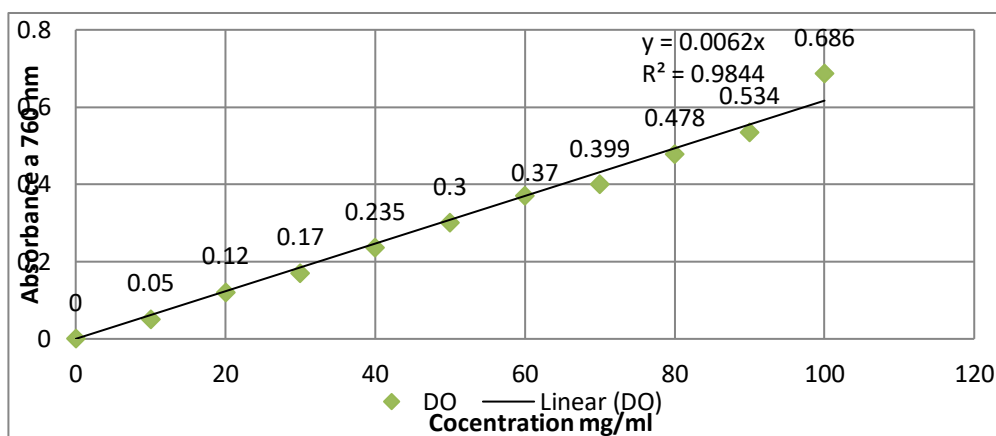


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau VIII : Teneur en polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique

Echantillon	Teneur en phénols totaux (mg EAG/g MS)
Extrait éthanolique	22,1 ± 0,01

La teneur en polyphénols totaux d'extrait éthanolique d'*Atriplex halimus* L. étudié est égale à 22,1 mg.

Les résultats obtenus montrent la richesse de l'extrait d'*Atriplex halimus* L. en polyphénols totaux.

Cette quantité est supérieure à celle trouvée au niveau des racines (18,67 mg AG/mg d'extrait lyophilisé) par Benamar et al. (2008). Nous pouvons dire que, la partie aérienne est riche en polyphénol totaux par rapport aux racines.

Les résultats que nous avons obtenus sont supérieurs à ceux de Samira et al. (2015) avec une valeur de l'ordre 3,648 mg EAG/g MS et de Rached (2009), qui a enregistré une valeur de 16.50mg EAG/g ES.

La variabilité des teneurs en composés phénoliques chez des espèces végétales est due probablement à la composition phénolique des extraits (Hayouni et al., 2007), aux facteurs génotypiques (El-Waziry, 2007), les conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques) (Ksouri et al., 2008), la nature du sol et le type du microclimat (Atmani et al., 2009) et aussi des étages bioclimatiques où poussent ces plantes.

En effet plusieurs facteurs interviennent dans le processus d'évaluation des polyphénols totaux des plantes. Ces teneurs varient qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre. Parmi ces facteurs :

- La méthode d'extraction (Lee et *al.*, 2003), le patrimoine génétique, la période de récolte et le stade de développement de la plante (Miliauskas et *al.*, 2004), les facteurs climatiques (température élevée...etc.), environnementaux (Zone géographique, sol, salinités.) et les maladies, etc (Fallah et *al.*, 2008 ; Ebrahimi et *al.*, 2008).

V.5. Test de l'activité antibactérienne

V.5.1. Vérification de la pureté des souches

- **Coloration de Gram**

Les caractéristiques morphologiques que nous avons observées sous microscope optique au cours de l'identification bactérienne sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau IX : Caractéristiques morphologique observées des bactéries testées.

Espèce bactérienne	Gram	Aspect morphologique
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	Négatif	Bacille en rose
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	Négatif	Bacille en rose
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	Positif	Cocci en grappe en violet

V.5.2. Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été testée sur trois souches bactériennes, réalisée par la méthode de diffusion des disques imprégnés d'extrait de plantes sur milieu solide (Mueller Hinton). C'est une méthode qualitative basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition. Des antibiotiques ont été utilisés comme témoins positifs

Cette méthode a permis d'obtenir les résultats mentionnés dans le tableau ci-dessous et l'annexe VI.

Les résultats obtenus sont résumés sous forme de moyenne \pm l'écart type.

Tableau X : Diamètres des zones d'inhibition (en mm).

Extrait Bactérie	AH	Cn10	K30	AX-25	CTX 30	CX 30
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	06±00 (-)	28±00 (+++)	-	08±2,081 (+)	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	09±00 (+)	21±1,527 (+++)	13±1,527 (+)	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	12±00 (+)	26±1,154 (+++)	18±1,154 (++)	-	06±00 (-)	12±00 (+)

AH: *Atriplex halimus*; Cn10: Gentamicin; K30: Kanamycin; AX-25: Amoxicillin; CTX 30 : Cefitaxime ; CX 30 : Cefoxitin.

Résistante (-) ; sensible (+) ; Très sensible (++) ; Extrêmement sensible (+ ++).

D'après ces résultats l'extrait éthanolique d'*Atriplex halimus* a un faible effet sur *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de 12 mm et sur *Pseudomonas aeruginosa* où nous avons enregistré une zone d'inhibition de 9 mm. Par contre, aucun effet n'a été signalé sur *Escherichia coli* (6 mm).

Peu de travaux sur l'activité antibactérienne des extraits de cette plante

Les résultats obtenus par Abdel Rahman et *al.* (2011) sont en concordance avec nos résultats et montrent que l'extrait éthanolique présente un effet contre *Staphylococcus aureus*, tandis que *Escherichia coli* était résistante.

V.6. Activité insecticide

La valorisation des plantes à effet insecticide prend de plus en plus de l'ampleur au niveau des programmes de recherches dans le monde entier et particulièrement en Afrique. Ces plantes sont exploitées sous plusieurs formes, soit sous forme de poudres végétales, d'huiles essentielles, d'huiles végétales ou d'extraits végétaux.

Le recours aux produits chimiques d'origine botanique apparaît comme la meilleure alternative de lutte propre contre les insectes nuisibles. C'est dans ce contexte que plusieurs

chercheurs ont testés l'effet insecticide de *Peganum harmala* caractérisée par son pouvoir insecticide, antinutritionnel et perturbateur physiologique contre les insectes nuisibles (Abbassi et al., 2005 ; Jbilou et al., 2006). L'effet insecticide vis-à-vis du *Criquet pèlerin*, moustiques et drosophiles (Kemassi, 2014 ; Habbachi et al., 2013 ; Habbachi et al., 2014) mais avec des rapidités d'action variables. Govindara et Kumari (2013), ont testés avec succès l'activité larvicide des huiles essentielles d'*Artemisia vulgaris* (Asteraceae) sur *Aedes aegypti*. Ainsi que les travaux de Benayad (2008) montrent l'effet de *Lavandula angustifolia* sur les larves du *Sitophilus oryzae*, *Rhizopertha dominica*, qui sont des ravageurs des denrées alimentaires stockées.

V.6.1. Résultats de l'évaluation de l'activité insecticide de l'extrait aqueux d'*Atriplex halimus* contre les adultes de *Sitophilus oryzae*

V.6.1.1. Par inhalation

Les résultats de traitement de *Sitophilus oryzae* par l'extrait aqueux d'*Atriplex halimus* sont résumés au niveau du tableau et la figure ci-dessous.

Nous remarquons que l'extrait aqueux d'*Atriplex halimus* affecte significativement la survie des adultes de *Sitophilus oryzae*. Dans les lots traités, la survie des adultes diminue graduellement du premier au quatrième jour et ceci proportionnellement à la concentration de l'extrait utilisé et la durée d'exposition, alors que dans le lot témoin aucune mortalité n'a été observée.

Tableau XI : Taux de mortalité des adultes de *Sitophilus oryzae* traité par l'extrait aqueux d'*A. halimus* dans le temps en fonction de la dose.

Temps \ Dose	24h	48h	72h	96h
20µl	0	0	0	0
40µl	0	10%	20%	20%
60µl	20%	30%	30%	30%

Nous constatons que pour la plus faible dose (20µl) aucune mortalité n'a été enregistrée pendant les 96 heures. L'effet fumigeant de l'extrait *Atriplex halimus* commence à apparaître à la dose 40µl après 48h d'exposition avec 10% de mortalité, alors qu'il apparaît après seulement 24h d'exposition pour la dose 60µl avec 20% de mortalité.

Nous avons donc remarqué que l'activité insecticide par inhalation de l'extrait testé est maximale à la dose de 60 μ l. La mortalité obtenue la plus élevée est de 30%.

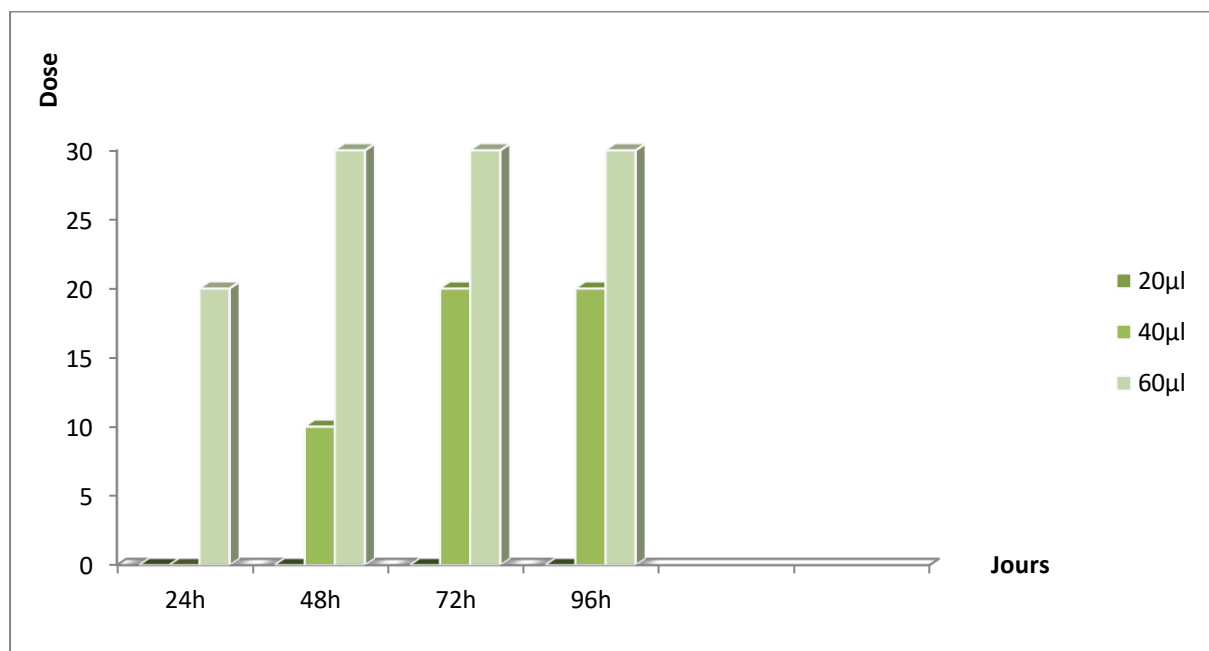


Figure 17 : Taux de mortalité des adultes de *Sitophilus oryzae* traités par inhalation aux différentes doses de l'extrait aqueux d'*A. halimus*.

Selon Ketoh et *al.* (2004) la recommandation de l'organisation Mondiale de la Santé (1995) en faveur de l'élimination des fumigeant classiques dans les pays développés, et dans les pays en développement ouvre la voie à la recherche de nouveaux produits à faible répercussion écologique. Le recours au monde végétal et aux molécules qui ont permis aux plantes de se protéger contre les ennemis naturels devient donc indispensable (Regnault-Roger et *al.*, 2008). Les huiles essentielles sont des insecticides naturels qui tout en étant aussi actifs, sont biodégradables (Tchoumboungang et *al.*, 2009).

Dans cette étude, l'extrait aqueux d'*Atriplex halimus* testé à révéler une activité insecticide remarquable à l'égard des adultes de *Sitophilus oryzae*. L'activité insecticide des huiles essentielles extraites des plantes aromatiques fait l'objet de nombreuses recherches en vue de réduire les pertes occasionnées par les insectes ravageurs des graines stockées.

D'après, Derradji-Heffaf (2013), les huiles essentielles d'*Artemisia campestris* et de *Thymus algeriensis* testé sur *Sitophilus oryzae* ont enregistré des taux de mortalités de 100% au bout de 72h, avec la plus grande dose qui est de 16 μ l, alors que l'huile de *Teucrium polium* n'a provoqué aucune mortalité. Cette inefficacité est due à la pauvreté de cette huile essentielle en monoterpènes.

L'huile essentielle d'eucalyptus a provoqué 66,23% de mortalité après 48h. Au cinquième jour, 100% de mortalité est atteint. Alors que, pour le thym, ce même taux n'a été

enregistré qu'après 6 jours de traitement. Quant à la Citronnelle, c'est l'huile qui s'est montrée la moins efficace étant donné 73,68% de mortalité a été enregistrée après 6 jours.

Dans le même contexte, Sahaf et *al.* (2007) ont constaté une forte activité insecticide de l'huile essentielle de *Carum copticum* (Apiaceae) sur *Sitophilus oryzae* avec un taux de mortalité de 100% à une concentration de 185,2 µl / l pendant 12h d'exposition. La différence de sensibilité de *Sitophilus oryzae* à l'égard de ces huiles essentielles peut être due à plusieurs facteurs dont la résistance de cette espèce à certains composés de ces huiles essentielles. En effet, des travaux de Shaaya et *al.* (1997) ; Sékou Moussa et *al.* (2000) ; Kim et *al.* (2003) ; Ngassoum et *al.* (2003) ; Ngamo et *al.* (2001) et de Lee (2002), révèlent que l'effet des huiles sur les insectes n'est pas systématique car on observe des réponses différentes suivant l'espèce d'insecte et l'huile essentielle.

Par ailleurs, Selon Ngamo et Hance (2007), une huile essentielle n'exerce pas forcément la même activité aux différents stades du cycle biologique d'un insecte, comme il existe une grande variation dans la sensibilité des espèces d'insectes pour une même huile essentielle. Selon Bostanian et *al.* (2005), les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou, ils sont moins efficaces avec des insectes à carapace dure tels que les coléoptères et hyménoptères adultes.

L'activité insecticide pourrait dépendre également du sexe de l'insecte. En effet, plusieurs auteurs ont démontré que les mâles d'*Acanthoscelides obtectus* sont plus sensibles aux huiles essentielles par rapport aux femelles (Regnault-Roger et Hamraoui, 1994 ; Papachristos et Stamopoulos, 2002).

Les modes d'action des huiles essentielles sont encore à confirmer malgré les études relativement nombreuses réalisées à ce sujet (Isman, 2000). Selon Furet et Bellenot (2013), les mécanismes toxiques des huiles sur les adultes sont d'ordre physiologique ou physique. Ainsi, il a été signalé également que, l'action rapide des huiles essentielles ou de ses constituants contre les insectes ravageurs est un indicatif d'une action neurotoxique (Kostyukovsky et *al.*, 2002 ; Priesley et *al.*, 2003 ; Isman et *al.*, 2007).

V.6.1.2. Par répulsion

Ce test consiste à étudier l'effet répulsif de l'extrait éthanolique d'*Atriplex halimus* sur les adultes de *Sitophilus oryzae*.

Les résultats de ce test sont présentés dans la figure suivante :

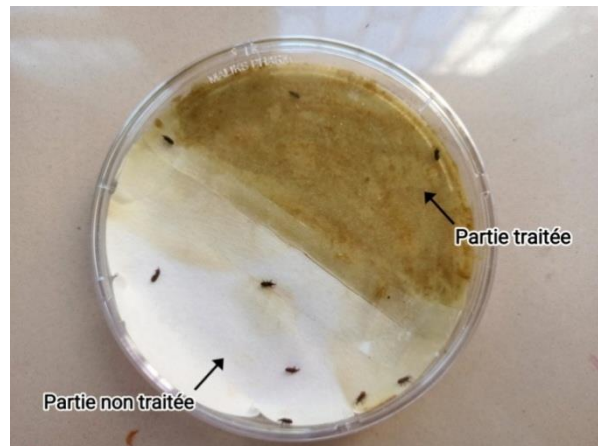


Figure 18 :Résultat du test de répulsion(Photo personnelle, 2022).

Ces résultats montrent qu'il y'a un refuge des adultes de *Sitophilus oryzae* dans la partie traitée avec l'extrait éthanolique.

D'après ces résultats, nous pouvons noter que l'extrait éthanolique étudié d'*Atriplex halimus* est classé dans la classe II selon Mc Donald et al. (1970) comme modérément répulsive avec un taux PR (%) = 40%.

L'effet répulsif de certaines huiles végétales a été constaté par de nombreux chercheurs. C'est ainsi que Odeyemi et al. (2008) ont noté un taux de répulsion de 100% de l'huile essentielle de *Mentha longifolia* contre *Sitophilus zeamais*. De même, Aggarwal et al. (2001) ont évalué l'activité répulsive du L-menthol et de ses dérivés acyl contre *Callosobruchus maculatus*, *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* et *Rhizopertha dominica* qui ont donné des taux de répulsion de 100 %, 82 %, 78 % et 72 % respectivement à une concentration de 20 µg/ml.

D'après Mishra et Tripathi (2011), les huiles essentielles de *Schzygium aromaticum*, *Aegle marmelos*, *Corriandrum sativum* et *Citrus reticulata* extraites par hydrodistillation ont montré une répulsivité importante contre *S. oryzae* et *T. castaneum* même à faible concentration, mais sa répulsivité a été plus marquée envers *S. oryzae*.

Selon Bendjeddou et Halaimia (2019), les résultats obtenus après application de l'extrait éthanolique de *L. angustifolia* révèlent un pouvoir répulsif appartenant à la classe IV pour *R. dominica* et la classe V pour *S. granarius*, selon le classement de Mc Donald (1970). De plus, on note que cet extrait induit une augmentation de l'activité répulsive en fonction des concentrations appliquées et une diminution en fonction du temps d'exposition. Par ailleurs, la répulsion de ce produit est plus importante chez *S. granarius* comparativement à *R. dominica*.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée durant ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante comme des agents chimiques contre les maladies, les herbivores et les prédateurs, aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants.

Notre travail est une contribution à la valorisation d'une plante médicinale de sud algérien *Atriplex halimus* connue sous le nom de « Guettaf ». Pour objectif de réaliser une caractérisation phytochimique, physicochimique ainsi d'évaluer son activité antibactérienne et insecticide.

L'analyse phytochimique de l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*Atriplex halimus* a révélé la présence de ces composés chimiques: flavonoïdes, tannins, tanins galliques, glycosides, phénols et des saponosides. Ainsi cette plante possède des propriétés physicochimiques caractéristiques tels que la teneur en eau (10%), en cendres (25%), un pH neutre (6,8) et l'acidité (5,11%).

Le dosage de polyphénols effectué sur l'extrait éthanolique de la plante montre une teneur appréciable qui est de l'ordre de 22,1mg EAG/ g MS.

L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique d'*Atriplex halimus* a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats montrent que *Atriplex halimus* possède une activité contre les deux souches: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec des diamètres d'inhibition de 12 mm et 9 mm respectivement, par contre ne possède aucune activité vis-à-vis *Escherichia coli* ATCC 25922.

L'évaluation de la toxicité de l'extrait d'*Atriplex halimus* sur l'insecte des denrées stockées *Sitophilus oryzae*, a montré une efficacité remarquable avec un taux de mortalité de 30% par inhalation, et de 40% par répulsion. Nos résultats suggèrent que l'extrait d'*A. halimus* possède une activité insecticide contre *Sitophilus oryzae*, il pourrait être une bonne alternative aux pesticides chimiques, tout en préservant la santé humaine et l'environnement.

Enfin, il ressort du présent travail que l'*Atriplex halimus* L. est un produit effectivement intéressant et riche en possibilités thérapeutiques. Nos résultats restent préliminaires et ouvrent la porte pour de nouvelles études.

CONCLUION ET PERSPECTIVES

De cet effet, et comme perspectives nous suggérons :

- Déterminer la composition chimique des extraits qui ont donné des effets bénéfiques.
- Comprendre les mécanismes moléculaires derrière ces effets bénéfiques in vitro et in vivo.
- Etudier la toxicité de ces molécules et détermination de l'intervalle de sécurité où ils seront bénéfiques sans effets secondaires nocifs.
- L'inclusion de ces molécules dans le développement des médicaments antibactérien et antioxydants.
- D'étudier *Atriplex halimus* de chaque région pour savoir qu'elle est la plus efficace.
- Etudier et déterminer la composition chimique des huiles essentielles de cette espèce.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abbassi, K., Mergaoui, L., Atay-Kadiri, Z., Ghaout, S., & 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. baetica*, 16, 31-46.
- Abdel Rahman S.M., Abd-Ellatif S.A., Deraz S.F., Khalil A.A. 2011. Antibacterial activity of some Wild medicinal plants collected from western Mediterranean coast, Egypt: Natural alternatives for infectious disease treatment. *African Journal of Biotechnology*. 10(52) : 10733- 10743.
- Abe E., Delye S.G., Alvarez J.C. 2010. Extraction liquide-liquide : théorie, applications, difficultés Liquid-liquid extraction : theory, applications and difficulties *Annales de Toxicologie Analytique*. 22(2) : 51- 59.
- Afnor (1986). Association française de normalisation Recueil de norme françaises des fruits et produits dérivés Afnor 3 Ed, Paris
- Aggarwal K.K., Tripathi A.K., Ahmad A., Prajapati V., Verma N., Kumar S. 2001. Toxicity of L-menthol and its derivate against four storage insects. *Insect Sci. Appl.* 21 : 229-235.
- Amina Belhocine Etude comparative de l'activité d'un pesticide chimique et des huiles essentielles vis-à-vis du charançon du Riz (*Sitophilus oryzae*). -2017.
- Appert J., 1985. Le stockage des produits vivriers et semenciers. Ed. Maisonneuve et Larousse, Paris, pp. 123-225.
- Atmani D. Antioxydant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants; *Food Chem.* 112, 303–309 (2009).

B

- Baba Sidi-Kaci S. 2010. Effet du stress salin sur quelques paramètres phoenologiques (biométrie, anatomie) et nutritionnels de l'*Atriplex* en vue d'une valorisation agronomique. Thèse de magistère, université Kasdi Merbah, Ouargla, 20 p.
- Bahorun T. 1997. Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius*, 6, 83-94.
- Balachowsky A. S., 1962. Entomologie appliquée à l'agriculture, Tome 1. Volume 1 : Coléoptères. Edition. Masson et Cie, Paris.
- Belakhdar.D, 2006. « Plantes médicinales au Maghreb et soins de base précis de phytothérapie » Ed. Le fennec, Maroc, Pp. 386.
- Belhadi A., 2005. Impact de quelques plantes sur certains paramètres biologiques et physiologiques du *Criquet pèlerin* – thèse Mog. Just – Nat. Agro. EL- Harrach. Alger. 514 P.
- Belhadj Tahar, S. Hadj-Mahammed, M. et Yousefi, M., (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de l'*Atriplex halimus* L et de l'*Haloxylon scoparium* pomel du Sahara septentrional. *Annales des Sciences et Technologie*, 7(11) : 258-264.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Belkhodja.M ; Bidai.Y, 2004. Réponse des graines d'*Atriplex halimus* L. à la salinité au stade de la germination. Sécheresse, 15 (4) : 331-335
- Ben el Hadj A., Bahri R., Chaouachi M., Boussaïd M., Harzallah-Skhiri F. 2014. Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of *Thymus numidicus* Poir. *Organs, Industrial Crops and Products* 62 :188-195.
- Benamar.H, 2008 Screening de plantes pour leur activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase et analyse phytochimique, thèse de magistère.
- Benayad N., 2013. Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse. Thèse de doctorat Chimie Organique Université Mohammed V, pp 47, 48.
- Bendjeddou et Halaimia 2019. Etude de l'efficacité comparée des extraits hydroalcooliques d'une plante médicinale à l'égard des ravageurs des denrées stockées, 6-19.
- Benhammou N., bekkara F. A., panovska T. K. 2009. Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Comptes rendu chimie*, 12(12), 1259-1266.
- Benjilali B ; Toutaoui E.A., Esmaili-Alaoui M. (1986). Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Planta médicinales et phytothérapie*, 20, 155-167.
- Benrebaha F Z., 1987. Contribution à l'étude de la germination de quelques espèces d'*Atriplex* locales et introduites. Mémoire de magister en sciences agronomiques, Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger : 5- 20.
- Bonnier G et Douin R. (1996). Ha grande flore en couleur in vitro : Bulletin de liaison du réseau de coopération sur l'*Atriplex* N°2.octobre 1996.
- Bostanian N. J., Akalach M., and Chiasson H., 2005. Effects of a *Chenopodium* based botanical insecticide/acaricide on *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) and *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae). *Pest Manag. Sci*, 61, pp : 979-984
- Bruneton J.1999. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Tec et Doc. Paris.
- Bruneton.J, 1993. Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Lavoisier TEC et DOC, Paris. 2ème édition. P : 268-277.
- Bruneton.J, 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition. Lavoisier Tec et Doc., Paris, 1240 p.
- Burta, O., Tirlea, F., Burta, O.L., Qadri, S.M. (2008). Phytotherapy in cardiovascular diseases: From ethnomedicine to evidence-based medicine. *Journal of Biological Sciences*, 8, 242- 247.

C

- Camara A., 2009.Lutte contre *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera : Curculionidae) et *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera : Tenebrionidae) dans les stocks de Riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en Basse-Guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales. Thèse de doctorat en sciences de l'environnement. Université du Québec. 72p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Casida J.H., 1990, Pesticide mode of action, evidence for implications of a finite number of biochemical targets. In: Casida J.E. (ed.). Pesticides and alternatives. Innovative chemical and Biological Approaches to Pest Control. Amsterdam : Elsevier, pp. 11-22.
- Cavalier A., 1976- cours de phytopharmacie. Edition institut National agronomique, alger. Tome 1,90p.
- Chehma A. (2006). Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algériens. Ed. Labo. Sys. Univ. Ouargla, 141p.
- Chikhi I, Allali H, Dib M-A, Medjdoub H, Tabti B. 2013. Antidiabetic activity of aqueous lead extract of *Atriplex halimus* L (Chenopodiaceae) in streptozotocin-inced diabetic rats. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 4, 181-184.
- Clara G., Ana Cristina F., Jesus B., Ana M.M., Jose S.U., Jose G.B., Jose A.C. Antonio M.F.P. 2010. Composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* volatiles: Comparison between supercritical fluid extraction and hydrodistillation 33: 2211-2218.
- Clémentine.B ; Mathieu.S ; Elena, V ; Ilonka, S, 2012. Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachishypogaea* L.), Revue de Génie Industriel.p 37.
- Cowan, 1999. Plant Products as antimicrobial agents, Clin. Microbiol. Rev,12 : 564-582.
- Cruz,J, D. Joseph Hounhouigan ET Francis Fleurat-Lessard avec la collaboration de francis troude 2016 La conservation des grains après récolte Quæ CTAP resses agronomiques 2016 pages 165 et 168.

D

- Dahou N., Yamni K., Tahrouch S., Hassani L.M.I., Bodoc A., Gmira N.2003. Screening phytochimique d'une endémique Ibéro-marocain, *Thymelaea lytroides*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux 142 : 61- 78.
- Delarras C., 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Edition Lavoisier : Tec & Doc. Paris.
- Derradji-Heffaf F., (2013) - la composition chimique et activité insecticide de trois extraits végétaux à l'égard de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera : curculionidae). Thèse de doctorat, E.N.S.A. Alger, 90p.
- Dixon, Robert M. W. 2000. A Typology of Causatives: Form, Syntax and Meaning. In Dixon, R.M.W. Dixon and Aikhenvald, Alexandra Y. (eds.), Changing Valency: Case Studies in Transitivity, 30-83. Cambridge : Cambridge University Press.
- Dubois, G.E., Grosbay, G.A., Saffron, P. (1977). Nonnutritive Sweeteners: Taste structure relationships with for some new simple dihydrochalcones. Science, 195, 397-399.
- Duperat M., 1997 : Le guide des arbres et arbustes de France. Ed, sélection du Reader's Diges, 255 P.
- Dupont F., Guignard J.L. 2007. Abrège botanique systématique moléculaire. 14révisée, Masson.

E

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A., et Yousefzadi M. 2008. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food chemistry*, 110 : 927-931.
- Eléments d'agronomie saharienne (de la recherche au développement). INRA, Paris, Ann. Agro. Saha. 279p.
- El-Waziry A.M.; Nutritive value assessment of ensiling or mixing Acacia and Atriplex using in vitro gas production technique; *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 3(6): 605-614.
- Essafi.N. E ; Mounsif.M ; Abousalim.A; Bendaou. M ; Brhadda.N, 2007. Effet du stress hydrique sur la valeur nutritive d'*Atriplex halimus* L. *Sécheresse*, 18 (2) : 123-128.
- Eucast. (2003). « Determination of minimum inhibitory concentrations (MIC) of Antibacterial agents by agar dilution ». European Commette for antimicrobial susceptibility testing (EUCAST) of the European society of clinical microbiology and infection diseases (ESCMID). Definitive Document E. 3.1.2000.

F

- Fallah, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. et Abdelley, C. (2008). Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies* 331 : 372-379.
- Fraga C-G, Oteiza P-I. 2011. Dietary flavonoïdes: Role of (-) -epicatechin and related procyanidins in cell signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 51, 813–823.
- Furet A., Bellenot D. (2013). Les huiles essentielles dans la protection des cultures : une voie en cours d'exploitation, *Unilet infos n°145* : 17-20.

G

- GovindarajS et Ranjitha-Kumari B.D., 2013. Composition and larvicidal activity of *Artemisia vulgaris* (L.) stem essential oil against *Aedes aegypti*. *Jordan Journal of Biological Science*, (6) 1, 11-16.
- Grigoraş.C-G, 2012. Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs. Thèse doctorat Université Vasile Alecsandri de Bacău Disciplines : Chimie. Génie de l'Environnement.
- Guèye M.T., Seck D., Wathelet J-P. & Lognay G., 2011. Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale : synthèse bibliographique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 15(1) : 183-194.
- Guignard.J. L, 2001. In *Botanique systématique moléculaire*. 12ème Edition Masson (Paris). 304

H

- Habbachi W., Benhissen S., Ouakid M.L., Farine J. P et Bairi A. 2014. Toxicity of aqueous extracts from Mediterranean plants on *Culex pipiens* (Mosquitoes). Case of *Daphnegnidium* (Thymelaeaceae) and *Peganum harmala* (Zygophyllaceae). *Wulefenia journal*. Vol 21, No. 12 ; Dec 2014. 244-252.
- Habbachi, W., Benhissen, S., Ouakid, M. L et Farine J.P., 2013. Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganum harmala*(L.) (Zygophyllaceae) sur la mortalité et le

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

développement larvaire de *Drosophila melanogaster* (Diptera - Drosophilidae). Algerian journal of arid environment, 3 (1), 82-88.

- Haddouchi F, Chaouche T-M, Halla N. 2016. Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. Phytothérapie.
- Hadjadj Soumia, 2017. Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien, thèse de Magister.
- Hamida Boukhalfa et Khalissa Bouraya Caractérisation phytochimique et activité insecticide des plantes spontanées du Sahara Septentrional Est Algérien : cas de *Atriplex halimus*. L et *Astragalus gombo*. Coss et Dur. -2019.
- Harbone J-B. 1982. The Natural Coumarins: Occurrence, Chemistry and Biochemistry. Plant Cell & Environment, 5, 435-436.
- Hayouni E.A., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M. 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chemistry 105(3) :1126- 1134.
- Heimeur, N., Idrissi Hassani, L.M., Amine Serghini, M. (2004). Les polyphénols de *Pyrus mammosensis* (Rosaceae). Reviews in Biology and Biotechnology, 3, 37-42.
- Hopkins. G, 2003. Physiologie végétale. Traduction de la 2e édition, par Serge Rambour Révision scientifique de Charles-Marie Evrard, Américain p 267-283.

I

- Iqbal Hussain; Moneeb.Ur Rehman Khattak; Riazullah; Zia Muhammad; Naeem Khan; Farhat Ali Khan; Zahoor Ullah and Sajjad Haider, 2011: Phytochemicals screening and antimicrobial activities of selected medicinal plants of Khyber Pakhtunkhwa Pakistan African. Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 5(6), pp. 746-750.
- Isman M. B., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop protection. 19 : pp. 603-608.
- Isman, M., C. Machial, S. Miresmailli and L. Bainard, 2007. Essential Oil Based Pesticides: New Insight from Old Chemistry. In: Pesticide Chemistry, Ohkawa, H., H. Miyagawa and P. Lee (Eds.). Wiley-VCH, Weinheim, Germany, pp : 201-209.

J

- Jbilou, R., Ennabili, A., & Sayah, F. (2006). Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera : Tenebrionidae). African Journal of Biotechnology, 5(10).
- Johnson I., 1999. Antioxydants et anticancéreux, Biofutur, Vol. 186, 14-17.

K

- Keïta S.M. et al., 2000. Effect of various essential oil on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). J. Stored Prod. Res., 36, 355-364.
- Kemassi, A., Bouziane, N., Boual, Z., & El Hadj, M. O. (2014). Activité biologique des huiles essentielles de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) et de *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) sur *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Phytothérapie, 12(6), 348- 353.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Ketoh G. K., Glitho I. A., Koumaglo H. K. 2004. Activité insecticide comparée des huiles essentielles de trois espèces du genre *Cymbopogon* genus (Poaceae). J. Soc. Ouest-Afr. Chim., 18 : 21-34.
- Khlifi D., Hamdi M., El Hayouni A., Cazaux S., Souchard J.P., Couderc F., Bouajila J. 2011. Global chemical composition and antioxidant and anti-tuberculosis activities of various extracts of *Globularia alypum* L. (Globulariaceae) leaves. *Molecules* 16 : 10592-1060.
- Kim S.I., Roh Y.J., Kim H.D., Lee S.H. & Ahn J.Y. (2003). Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *Journal of Stored Products Research* .39 : 293-303.
- Kostyukovsky, M., A. Rafaeli, C. Gileadi, N. Demchenko and E. Shaaya (2002). Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest Manag. Sci.* 58 : 1101-1106.
- Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A., Abdelly C. 2008. Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus Biologies* 331 (11) : 865- 873.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakilemaritima*. *Plant. Physiol Bioch.*, 45, 244-249.
- Kumar U., Kumar B., Brandari A., & Kumary. (2010). Phytochemical in vestigation and comparaison of antimicrobial screening of clove and cardamom. *International journal of pharmaceutical sciences and Research*. 1, 138-147.

L

- Lavoisier ,2010. Dictionnaire d'entomologie pages 86 et 87.
- Lee S.E. (2002). Biochemical mechanisms conferring cross-resistance to fumigant toxicities of essential oils in a chlorpyrifos-methyl resistant strain of *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Silvanidae). *Journal of Stored Products Research*, 38 : 157-166.
- Lee Y. et al. (1995). Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annum*) cultivars; *Journal of Food Science* 60 (3); p: 473-476.
- LeHouéron H.N. 1992. The role of saltbushes (*Atriplex* spp.) in arid land rehabilitation in the Mediterranean Basin: a review. *Agroforestry systemes*, 18 : 2. pp. 107-148.
- Lugasi.A; Hovari.J; Sagi.K. V et Biro.L, 2003. The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acta. Biologica Szegedientis*. 1 (4) : 119-125.

M

- Macheix JJ, Fleuriet A, Jay-Allemand C, 2005. Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. 1ere Edition, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Mamadou, 2011. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia Smith*, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Other. Université Blaise Pascal - Clermont Ferrand II, France.
- Martinez J.P., Ledent J.F., Bajji Met Kinet J-M. Effect of water stress on growth, Na⁺ and K⁺ accumulation and water use efficiency in relation to osmotic adjustment in two populations of *Atriplex halimus* L. Journal of Plant Growth regulation. 41(1). 2003, pp. 64-65.
- McCarron M., Mills A.J., Whittaker D., Sunny T.P., Verghese J. 1995. Comparison of the monoterpenes derived from green leaves and fresh rhizomes of *Curcuma longa* L. From India. J. Flav. Fragr., 10 : 355-357.
- McDonald, L. L., Guy, R. H. and Speirs, R. D., 1970. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. Marketing Research Report Number 882 (Washington: Agricultural Research, Service, US Department of Agriculture pp. 8.
- Mehaoua M. S. 2014. Abondance saisonnière de la pyrale des dattes (*Ectomyelois ceratoniae* Zeller., 1839), bioécologie, comportement et essai de lutte. Thèse Doctorat Science Agro, université Mohammed Kheider, Biskra, 109 p.
- Middleton.E; Kandaswami.C; Theoharides.T.C, 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacol. Rev., 52(4), 673-751.
- Miliauskas. G., Venskutonis P.R., et Van Beek T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. Food chemistry., 85 : 231-237.
- Mishra BB, Tripathi SP, Tripathi CPM., 2011. Contact Toxicity of essential oil of *Citrus reticulata* fruits peels against stored grain pests *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) and *Tribolium castaneum* (Herbst). World Journal of Zoology. 6 (3) :307-311.
- Mohamed, IR; Abdu, MI; Iyeghe-Erakpotobor, GT; Sulaiman, kA, 2009. Qualité d'ensilage de gamba enrichie de légumineuses tropicale et sa préférence par les lapins. Rés. J. Appl. Sci., 4(1): 20-.25
- Mulas M., et Mulas G. potentialités d'utilisation stratégique plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification. Short and medium-term Priority Environmental Action programme (SMAP). Université des Etudes De Sassari Groupe De recherche sur la désertification. 2004, pp. 112.

N

- Nair, R., Chanda, S., 2005. Antibacterial activity of *Punica granatum* in different solvents. Ind. J. Pharm. Sci. 67 : 239-243.
- NCCLS (2003) Comité National pour les normes de laboratoire clinique. Méthodes de dilution des tests de sensibilité aux antimicrobiens pour les bactéries à croissance aérobie. 6e édition, Wayne, Pennsylvanie,
- Nedjimi B., Guit B., Toumi M., Beladel B., Akam A., Daoud Y. 2013: *Atriplex halimus* subsp. *Schweinfurthii* (Chenopodiaceae): Description, écologie et utilisations pastorales et thérapeutiques, Fourrages, 216, 333-338.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Negre R.1961. Petite flore des régions aride du Maroc occidental tome (1). Ed C.N.R.S, Paris, 179 p.
- Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E.E., (2010). Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, 101(1) : 372–378.
- Ngamo L.S.T., & Hance T., 2007.Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura*. 25 (4) : 215-220.
- Ngamo Tinkeu L.S., Ngassoum M-B., Jirovetz L., Ousman A., Nukenine E.C., & Mukala O., 2001.Protection of stored maize against - *Sitophilus zeamais* (Motsch.) by use of essential oils of spices from Cameroon. *Medlinden Faculteit Landbouww Universite it Gent*, 66/2a : 473-478.
- Ngassoum M.B., Ngamo T.L.S., Mapongmetsem P.M., Jirovetz L. & Buchbauer G. (2003). Investigations on medicinal aromatic plants from Cameroon: GC/FID, GC/MS and olfactoric analyses of essential oils of *Ocimum suave* Wild. (Lamiaceae). *Acta Pharmaceutica Turcica*, 45 : 69-75.
- Nicoli M.C., Anese M. & Parpinel M., 1999.Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables, *J. Trends Food Sci. Technol.*, Vol. 10, 94-100.

O

- Obeng-Ofori D. & Ch. Reichmuth (1997). Bioactivity of eugenol, a major component of essential oil of *Ocimum suave* (Wild.) against four species of stored-product Coleoptera, *International Journal of Pest Management*, 43: 89-94.
- Odeyemi O. O., Masika P., Afolayan A. J. 2008.Insecticidal activities of essential oil from the leaves of *Mentha longifolia* L. subsp. *Capensis* against *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). *Afri. Entomol.* 16 :220-225.
- Osmand. (1969). The tolerances of sheepto sodium chloride in food or drinking water. *Aust.J. Agric.Res.*17.503-51.
- Ounaissia K., bennadja S., aliane L., djahoudi, A. 2020. Phytochemical screening and antibacterial activity of methanolic extracts of the aerial parts of *Atriplex halimus* L. from Biskra (Algeria). *International journal of agricultural and natural sciences*, 13(1), 26-33.
- Ozenda P. Flore du Sahara. Centre national de la recherche scientifique Paris.1983, pp.225.

P

- Paolini.V; Dorchies.Ph; Hoste.H, 2003.Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. *Alter. Agri.*, 17-19.
- Papachristos, D. P. AND Stamopoulos, D. C., 2002. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.*, 38 : pp117-128 et 285-295.
- Perez, C., Paul, M., Bazerque, P., 1990.An antibiotic assay by the agar well diffusion method. *Acta Biol. Med. Exp.* 15 : 113-115.
- 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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

human GABA A receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *British Journal of Pharmacology*, 140(8), 1363-1372.

Q

- Quezel P., Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS, Paris.

R

- Rached.W, 2009. Évaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique, thèse de magistère.
- Raven.PH ; Evert.RF; Eichhorn.SE ; Bouharmont.J, 2003. Biologie végétale, Traduction de la 7e édition américaine par J.
- Regnault-Roger C., & Hamraoui A., 1994. Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), bruchid of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by some aromatic essential oils. *Crop Protection*, 13 (8), pp : 624-628.
- Regnault-Roger C., Philogène B. J. R., Vincent C., 2008. Biopesticides d'origine végétale. 2ème Ed, Lavoisier, 546p.
- Regnault-Roger C., 2002. De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire ? In: Philogène B.J.R,Regnault-Roger C. Vincent C.,coord. Biopesticides d'origine végétale. Paris : Lavoisier-Éditions Tec & Doc, 19-39.

S

- Sahaf B. Z., S. Moharramipour, M. H. Meshkatalasadat. 2007. Chemical constituents and fumigant toxicity of essential oil from *Carum copticum* against two stored product beetles. *Insect Science*, 14: 213-218.
- Said.O; Fulder.S; Khalil.K; Azaizeh.H; Kassis.E et Saad.B, 2007.Maintaining A Physiological Blood Glucose Level with Glucose Level, A Combination of Four Antidiabetes Plants Used in the Traditional Arab Herbal Medicine. *ECAM*, p 1-8.
- Said.O; Khalil.K; Fulder.S; Azaizeh.H, 2002.Ethno pharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *Journal of Ethno pharmacology*, 83, 251-265.
- Samira.B T ; Mahfoud.H M ; Mohamed. Y, 2015. Etude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de *Atriplex halimus* L et de l'*Haloxylon scoparium* pomel du Sahara septentrional. *Annales des Sciences et Technologie*. Vol. 7, N° 1.
- Sanon A., Gauthier N. & Huignard J., 1999. Compétition interspécifique entre deux espèces de parasitoïdes de larves de *Bruchidae*, *Eupelmus vuilleti* et *Dinarmus basalis*. Importance de la densité et de la qualité des hôtes sur le succès parasitaire des deux espèces. *Ann. Soc. Entomol.*, 35 : 421-426.
- Sarni-Manchado.P et Cheynier.V, 2006. Structures phénoliques et goût. In : « les polyphénols en agroalimentaire ». Ed. Tec &Doc. Lavoisier. Paris. 89-134.
- Scalburt.A; Williamson.G, 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphénols. *Journal of Nutrition*. (130) : 2073S-2085S.
- Seck D., 2009. Stockage, conservation et transformation des récoltes en zones tropicales. Notes de cours, 31p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Sekkoum.Khaled, 2011. Composition phytochimique et effet, in vitro, des extraits de quelques plantes médicinales du Sud-Ouest Algérien sur la cristallisation lithiasique oxalocalcique.
- Sékou Moussa K., Vincent C., Schmit J-P., Ramaswamy S. & Belanger A. (2000). Effect of various essential oils on *Callobruchus maculatus*. *Journal of Products Research*, 36 : 355-364.
- Shaaya E., Kostjukovski M., Eilberg J. & Sukprakarn C. (1997). Plants oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 33 (1) : 7-15.
- Silvy C. Riba G.1993. Biopesticides contre maladies, insectes, mauvaises herbes. Les dossiers de l'environnement N°19. Disponible sur : <http://www7.inra.fr/dpenv/sribad19.htm> (consulté le 07/11/2014).
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R.M., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. Orlando Academic Press : 152-178.
- Spencer. P; Abd-el-Mohsen.M.M; Rice-Evans, 2004. Cellular uptake and metabolism of flavonoids and their metabolites: implications for their bioactivity. *Arch. Biochem. Biophys.*, 423, 148-166.
- Stoclet J.-C, Schini-Kerth V. 2011.Flavonoïde alimentaire et santé humaine. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 69, 78-90.

T

- Talamali A., Bajji M., Le Thomas A., Kinet J. M., et Dutuit P. Flower architecture and sex determination: how does *Atriplex halimus* play with floral morphogenesis and sex genes? *Journal of New Phytologist*. 157(1). 2003, pp. 105-113.
- Tchoumboungang F., Dongmo P. M. J., Sameza M. L., Mbanjo E. G. N., Fotso G. B. T., Zollo P. H. A., Menut C., 2009.Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 13(1), pp : 77- 84.
- Tripathi, A.K. V. Prajapati, K.K. Aggarwal, S.P.S. Khanuja, and S. Kumar. 2001.«Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored product beetles»: *J Econ. Entomol* Toutain G. 1979., 93 : 43-47.

W

- Walker D-J, Lutts S, Sanchez-Garcia M, Correal E. 2014.*Atriplex halimus* L. Its biology and uses. *Journal of Arid Environments*, 100, 11-121.
- Walter E., 2002. Urban Entomology Pests of stored food products. California division of agricultural sciences, 275-309.

Y

- Yamashita K, Tanaka T, Hayashi M. 2005.Use of isopropyl alcohol as a solvent in Ti (O-i-Pr) 4-catalyzed Knöevenagel reactions. *Tetrahedron*, 61, 7981-7985.
- Yusuf. Y, 2006. *Trends Food Sci. Tech*. P17, 64-71.

Z

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Ziane L., Djellouli M., Miloudi A. 2020. Antibacterial activity and gas chromatography mass spectrometry studies of Algerian *Atriplex halimus* L. Asian journal of pharmaceutical and clinical research 13(3).

ANNEXES

ANNEXES

Annexe I: Différents produits chimiques utilisés.

Solvants	Produit	Utilisation
	Ethanol CH ₃ -CH ₂ -OH (96%)	Extrait éthanolique
	Eau distillée	Préparation des extraits
	L'eau physiologique 0,9%	La suspension bactérienne
	Dimethylsulfoxyde DMSO XC ₂ H ₆ OS	Dilution de l'HE pour l'activité antibactérienne
Réactifs	Acide chlorhydrique HCl	Screening phytochimique
	Chlorure ferrique FeCl ₃	Recherche des tanins
	Acétate de sodium (CH ₃ COONa)	Révélation des tanins galliques
	Copeau de magnésium Mg	Recherche des flavonoïdes
	Alcool iso-butanol	
	Chloroforme CHCl ₃	Recherche des quinones libres
	Ammoniaque NH ₄ OH	
	Acide acétique NaOH	Révélation des saponosides
	Acide sulfurique H ₂ SO ₄	Révélation des glycosides
	Solution alcool-éthylique-eau distillée	Révélation des coumarines
	Solution alcoolique de KOH	
	Réactifs de Folin- Ciocalteu	Dosage des polyphénols totaux
	Acide gallique	
	Carbonate de sodium	

Annexe II : Appareillages et verreries utilisés au laboratoire.

ANNEXES


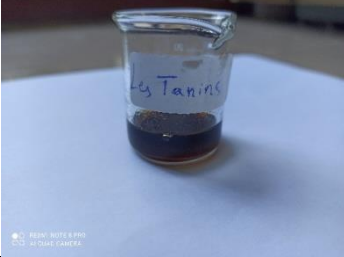



Appareillages	Verreries
Etuve a 37°C	Flacons
Spectrophotomètre	Tubes à assai
Bain marie	Fioles
Autoclave	Béchers
Plaque chauffante	Entonnoirs
Balance de precision 0,001g	Pinces
Four a moufle	Micropipettes
pH mètre	Anses
Agitateur	Papier filtres
Une loupe binoculaire (G×20)	Pipette Pasteur
Microscope optique (G×1000)	Ecouvillons
Réfrigérateur	Erlenmeyer
Bec bunsen	Papier wattman
	Boites de Pétri
	Passoire

Annexe III : Les milieux de culture.





Milieuxde culture utilisés	La gélose Mueller Hinton (MH).
	Gélose nutritive (GN).

Annexe IV :Résultats du criblage phytochimiquesde la partie aérienne d'*Atriplex halimus*.

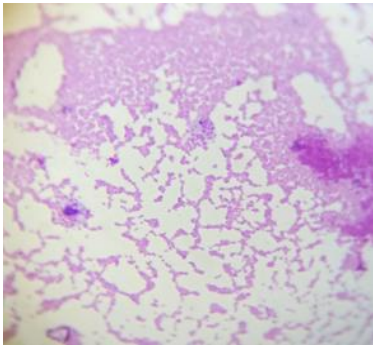
ANNEXES

Les composés chimique	Résultats
Anthocyanes	
Tanins	
Tanins galliques	
Flavonoïdes	
Quinones libres	

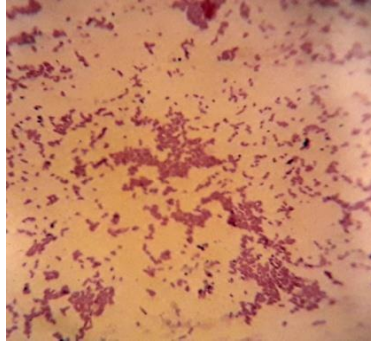
ANNEXES

<p>Saponosides</p>	
<p>Glycosides</p>	
<p>Coumarines</p>	
<p>Phénols</p>	

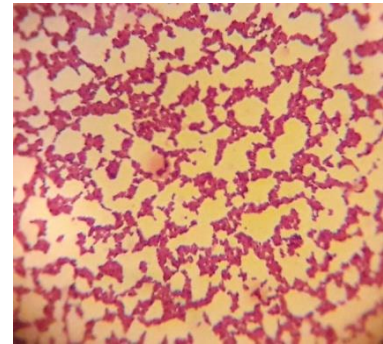
ANNEXES



Escherichia coli
(GX1000).

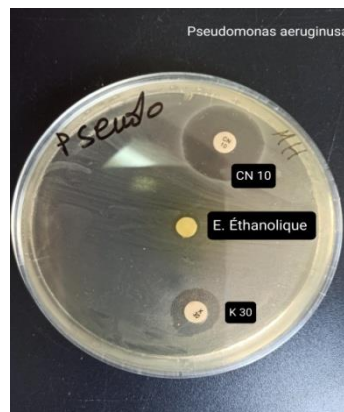
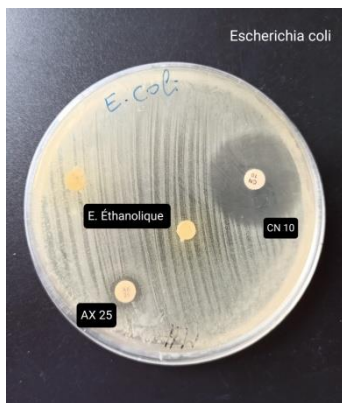


Pseudomonas aeruginosa
(GX1000).



Staphylococcus aureus
(GX1000).

Annexe V: Observation microscopique de la coloration de gram des souches bactérienne testées au microscope optique (GX1000).



Annexe VI : Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique d'*Atriplex halimus* L.

Résumé

Les extraits naturels issus des végétaux contiennent une variété de molécules biologiquement actives. Notre intérêt s'est porté sur *Atriplex halimus* L. espèce végétale utilisée en phytothérapie, dans le but de réaliser une caractérisation phytochimique, physicochimique ainsi d'évaluer son activité antibactérienne et insecticide.

L'examen phytochimique réalisé sur la partie aérienne d'*Atriplex halimus* a mis en évidence la présence des flavonoïdes, tannins, tanins galliques, glycosides, phénols et des saponosides. Les anthocyanes, les quinones libres et les coumarines sont absents. L'estimation quantitative des polyphénols totaux a montré que l'extrait éthanolique d'*Atriplex halimus* L. est riche en polyphénols totaux ($22,1 \pm 0,01$ mg EAG/g MS).

Les analyses physicochimiques ont montré une faible teneur en eau (10%), ainsi en cendres (25%), pH neutre (6,8) et l'acidité de 5,11%.

L'évaluation de l'activité antibactérienne montrent que l'extrait possède une activité contre *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, Par contre aucun effet n'a été signalé sur *Escherichia coli* ATCC 25922.

L'évaluation de l'activité insecticide de l'extrait éthanolique d'*Atriplex halimus* sur l'insecte des denrées stockées *Sitophilus oryzae*, montrent un effet toxique vis-à-vis de ce ravageur où nous avons enregistré un pourcentage de mortalité de 30 % par le test d'inhalation et un pourcentage de répulsion de 40 %.

Mots clés : *Atriplex halimus*, étude phytochimique, analyses physicochimiques, activité antibactérienne, activité insecticide, *Sitophilus oryzae*.

Abstract

Natural plant extracts contain a variety of biologically active molecules. Our interest focused on *Atriplex halimus* L. a plant species used in herbal medicine, with the aim of carrying out a phytochemical and physicochemical characterization as well as evaluating its antibacterial and insecticidal activity.

The phytochemical examination carried out on the aerial part of *Atriplex halimus* revealed the presence of flavonoids, tannins, gallic tannins, glycosides, phenols and saponosides. Anthocyanins, free quinones and coumarins are absent. Quantitative estimation of total polyphenols showed that the ethanolic extract of *Atriplex halimus* L. is rich in total polyphenols (22.1 ± 0.01 mg EAG/g DM).

Physicochemical analyzes showed a low water content (10%), as well as ash (25%), neutral pH (6.8) and acidity of 5.11%.

The evaluation of the antibacterial activity shows that the extract has activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 On the other hand, no effect has been reported on *Escherichia coli* ATCC 25922.

The evaluation of the insecticidal activity of the ethanolic extract of *Atriplex halimus* on the insect of stored foodstuffs *Sitophilus oryzae*, show a toxic effect vis-à-vis this pest where we recorded a mortality rate of 30%. by the inhalation test and a repellency percentage of 40%.

Keywords : *Atriplex halimus*, phytochemical study, physicochemical analyses, antibacterial activity, insecticidal activity, *Sitophilus oryzae*.