

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
سكيكدة - 1955 أوت 20 جامعة  
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



**Faculté des Sciences**  
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Mémoire Présenté en Vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Option : Biochimie Appliquée**

**Intitulé**

**Evaluation *in vivo* des effets du fongicide agricole Tebuconazole et de l'extrait éthanolique de *Ruta montana* sur quelques paramètres hématologiques**

**Présenter par :**

**Bouchareb Soundous**

**Bouhekoua Abir**

**Zeghida Hanane**

**Ziat Zohra**

**Membre de jury :**

<b>Slimani Souheila</b>	<b>Pr</b>	<b>Président</b>	<b>Université 20 Août 1955- SKIKDA</b>
<b>Belambri Sahra Amel</b>	<b>MCA</b>	<b>Directeur de mémoire</b>	<b>Université 20 Août 1955- SKIKDA</b>
<b>Geuddah Doria</b>	<b>MCB</b>	<b>Examineur</b>	<b>Université 20 Août 1955- SKIKDA</b>

**Année universitaire 2021/2022**

# Remerciement

*Avant toutes choses, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné  
la force et la patience.*

*Nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances vont au **Dr. Belambri Sahra  
Amel**, pour avoir encadrées et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique,  
Sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle Nous a accordée  
durant la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions également **monsieur Aouzal Badis** qui nous a aidés, motivés  
et soutenus tout au long de notre voyage.*

*Nous souhaitons aussi exprimer notre gratitude et nos vifs remerciements aux membres de  
jury, en l'occurrence **Pr Slimani Souheila**, et **Dr. Geuddah Doria** pour avoir accepté  
de juger et d'examiner les travaux de recherche de ce mémoire.*

*Aux personnels du laboratoire de l'université de Skikda.*

*Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici  
l'expression de nos très vifs remerciements.*

## **Dédicace :**

*Louange à Dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour tant attendu.*

*A mon cher père **Mouhamed**, Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, merci pour tout amour, tendresse, soutien et prières tout au long de mes études.*

*A ma chère mère **Fenazi Fatiha**, Je voudrais te remercier pour tous sacrifice ton amour, ta générosité, ta compréhension. Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime que j'ai toujours eu pour toi.*

*A mon âme sœur **Imen** et son marie **Soufiene**, Je sais enfin se que sais que le bonheur d'avoir une grande sœur sur laquelle on peut compter. Je dis merci à deux pour leur encouragement et je souhaite bonheur, réussite pour eux.*

*A mes chères sœurs jumelles **Safa** et **Marwa**, merci pour le soutien et l'encouragement que Dieu le tout puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.*

*A mes amies **Marwa** et **Hanane**, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*A mes collègues d'étude **Zahra** et **Abir**, à toute ma famille, à mes amis de promotion et de résidence, aux amis d'enfance et à tous ceux qui m'ont soutenus et me soutiennent encore.*

*Du fond du cœur Merci, et que Dieu vous protège.*

**Bouchareb Soundous**



## DEDICACE

Avant toute chose, je remercie Allah le miséricordieux.

A ma chère mère **Bouchareb Fadila**

*Qui a la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur*

A mon cher père **Brahim**

*Qui ont toujours souhaité notre réussite et qui m'ont permis d'atteindre mes objectifs dans mes études et dans ma vie.*

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à mes frères **Amir** et **Soufiane** ; mes chères sœurs **Sara** et **Maria** je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.*

*A **Ramzi** qui s'est tenue à mes côtés et m'a soutenu à chaque pas, mon fiancé que j'aime  
Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amies sœurs de cœur **Soundous** et **Maroua**.*

*A mes collègues d'étude **Soundous**, **Zahra** et **Abir**. A mes amies que j'ai vécues avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université. A tous mes amies de la promotion de Master en Biologie. A tous ceux qui ont pris place dans mon cœur et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.*

**Zeghida Hanane**





## *Dédicace*

*Je dédie cette thèse à ma chère maman **Saadi Wanassa** la plus belle  
maman dans le monde, à mon soutien dans la vie mon père **Boudjemaa** qui  
m'ont accompagné toute ma vie, il n'y a pas de mot ou de dédicace qui  
puisse exprimer mon profond amour.*

*Sans oublier de dédie également ce travail à mes frères **KhaireEddine**,  
**Khaled**, et **Aziz**.*

*À mes amies **Asma**, **Yousra**, **Khwla** et **Wafa** qui ont toujours été avec moi.*

*À mes collègue d'étude **Soundous**, **Hanane** et **Zahra**, et a tous ceux  
qui ont cru en mon succès.*

***BouhekouaAbir***



***Dédicace***

***Merci***

*À mes chers parents **Ahmed et Hafida Garri***

*À mes chères sœurs **Samia, Siham, Khadija et Zolikha***

*À mes chers frères **Mohamed, Nour Addin, Youssaf,***

***Khalad, Ali, Moussa et Marwan***

*À mes amis **Mouna et Selma***

*À toute ma famille*

*Pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.*

***Ziat Zohra***

## Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'éventuel effet protecteur de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Ruta montana* (Fidjel) utilisée en médecine traditionnelle en Algérie contre les effets du pesticide tebuconazole sur quelques paramètres hématologiques chez les rats *Albino Wistar* de sexe mâle. Les résultats obtenus indiquent que le tebuconazole a provoqué une augmentation du nombre de neutrophile de près de 66%, un effet qui a été réduit par l'extrait étudié de près de 28%. Par ailleurs, le tebuconazole a induit une diminution significative ( $p < 0.01$ ) du nombre de monocytes qui était d'environ 34%, tout comme l'extrait étudié administré seul (29%). Le pesticide étudié a également réduit de manière significative ( $p < 0.01$ ) le nombre des globules rouges ainsi que le tau d'hémoglobine chez les rats, et l'extrait éthanolique étudié fut sans effet contre cette réduction. Par contre, le tebuconazole n'a eu aucun impact sur le nombre des lymphocytes et des éosinophiles, contrairement à l'extrait étudié qui a réduit le nombre de ces cellules de près de 7% et de 37% respectivement. Nous avons également observé que l'extrait de *Ruta montana* induit une augmentation non négligeable du nombre de basophile ( $p < 0.05$ ) de près de 46%, alors que le traitement par le tebuconazole est sans effet sur le nombre des basophiles tout comme le nombre des plaquettes qui est resté inchangé suite au traitement par le pesticide ou l'extrait. A l'issue de cette étude, il est possible de déduire que le fongicide tebuconazole employé en agriculture aurait un effet perturbateur de quelques paramètres hématologiques (Nombre de neutrophiles, monocytes, globules rouges ainsi que le tau de l'hémoglobine) et que des effets similaires pourraient être attribués l'extrait éthanolique de *Ruta montana* (perturbation du nombre de lymphocytes, monocytes, éosinophiles et des basophiles) et ces données ne permettent pas d'attribuer un effet protecteur notoire à la plante *Ruta montana* contre les effets du tebuconazole.

**Mots clés :** effet protecteur, paramètres hématologiques, tebuconazole, *Ruta montana*.

## **Abstract**

The objective of this study is to evaluate the possible protective effect of the ethanolic extract of the aerial part of *Ruta montana* (Fidjel) used in traditional medicine in Algeria against the effects of the pesticide tebuconazole on some hematological parameters in *Albino Wistar* male rats. The results obtained indicate that tebuconazole caused an increase in neutrophil count of almost 66%, an effect that was reduced by the extract studied by almost 28%. In addition, tebuconazole induced a significant decrease ( $p < 0.01$ ) in the number of monocytes which was about 34%, as did the studied extract administered alone (29%). The pesticide studied also significantly reduced ( $p < 0.01$ ) the number of red blood cells as well as the hemoglobin rate in rats, and the ethanolic extract studied had no effect against this reduction. On the other hand, tebuconazole had no impact on the number of lymphocytes and eosinophils, unlike the extract studied which reduced the number of these cells by nearly 7% and 37% respectively. We also observed that *Ruta montana* extract induces a significant increase in the number of basophils ( $p < 0.05$ ) of nearly 46%, while treatment with tebuconazole has no effect on the number of basophils as well as the number of platelets that has remained unchanged following treatment with the pesticide or extract. At the end of this study, it is possible to deduce that the fungicide tebuconazole used in agriculture would have a disruptive effect of some hematological parameters (Number of neutrophils, monocytes, red blood cells as well as the tau of hemoglobin) and that similar effects could be attributed to the ethanolic extract of *Ruta montana* (disruption of the number of lymphocytes, monocytes, eosinophils and basophils) and these data do not allow to attribute a notorious protective effect to the plant *Ruta montana* against the effects of tebuconazole.

**Keywords:** Hematological parameters, protective effect, tebuconazole, *Ruta montana*.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير الوقائي المحتمل للمستخلص الإيثانولي للجزء الجوي من *Ruta montana* (Fidjel) المستخدم في الطب التقليدي في الجزائر ضد التأثيرات مبيدات حشرية تيبوكونازول Tebuconazole على بعض المقاييس الدموية في ذكور جرذان ألبينو ويستار *Albino Wistar*. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن التيبوكونازول تسبب في زيادة عدد العدلات بنسبة 66% تقريبًا ، وهو تأثير قلل بالمستخلص المدروس بنسبة 28% تقريبًا. علاوة على ذلك ، تسبب تيبوكونازول في انخفاض معنوي ( $p < 0.01$ ) في عدد الخلايا الوحيدة التي كانت حوالي 34% ، تمامًا مثل المستخلص المدروس بمفرده (29%). كما أن المبيد الذي تمت دراسته أدى إلى انخفاض معنوي ( $p < 0.01$ ) في عدد خلايا الدم الحمراء وكذلك الهيموجلوبين في الفئران ، ولم يكن للمستخلص الإيثانولي المدروس أي تأثير ضد هذا الانخفاض. من ناحية أخرى ، لم يكن للتيبوكونازول أي تأثير على عدد الخلايا الليمفاوية والحمضات ، على عكس المستخلص المدروس الذي قلل من عدد هذه الخلايا بنحو 7% و 37% على التوالي. لاحظنا أيضًا أن مستخلص *Ruta montana* يؤدي إلى زيادة غير طفيفة في عدد الخلايا القاعدية ( $p < 0.05$ ) بنسبة 46% تقريبًا ، في حين أن العلاج بالتيبوكونازول ليس له أي تأثير على عدد الخلايا القاعدية تمامًا مثل عدد الصفائح الدموية المتبقية. دون تغيير بعد العلاج بالمبيد أو المستخلص. في نهاية هذه الدراسة ، من الممكن أن نستنتج أن مبيد الفطريات Tebuconazole المستخدم في الزراعة سيكون له تأثير مزعج على بعض معايير الدم (عدد العدلات ، وحيدات ، وخلايا الدم الحمراء وكذلك الهيموغلوبين) وأن هذه الآثار مماثلة. يمكن أن يعزى إلى المستخلص الإيثانولي من *Ruta montana* (اضطراب عدد الخلايا الليمفاوية ، وحيدة الخلية ، والحمضات ، والخلايا القاعدية) ولا تسمح هذه البيانات بإسناد تأثير وقائي سيء السمعة إلى نبات *Ruta montana* ضد تأثيرات Tebuconazole .

**الكلمات الدالة :** الفجل الجبلي ، التيبوكونازول ، تأثير وقائي ، أمراض الدم.

## Liste des Abréviations

**CAS** : Chemical abstract services

**EDTA** : Acide éthylène diamine tétra-acétique

**FNS** : Numération formule sanguine

**GR** : Globule rouge

**NEU** : Neutrophile

**LYM** : Lymphocyte

**MON** : Monocyte

**EOS** : Eosinophile

**BAS** : Basophile

**HGB** : Hémoglobine

**PLT** : Plaquette

## Liste des tableaux et figures

### Liste des tableaux

**Tableau 01** : Description de la matière active

**Tableau 02** : Propriété physique de Tebuconazole

**Tableau 03** : Présente la position systématique de *Ruta montana*

### Liste des figures

**Figure 01** : formule du tebuconazole

**Figure 02** : Photographie *Ruta montana* L

**Figure 03** : Structure de La Rutine isolée du *Ruta montana* du Turquie

**Figure 04** : Structures de quelques furanocoumarines

**Figure 05**: Des rats albinos Wistar au sein de l'animalerie

**Figure 06** : *Ruta montana* L région de Mila

**Figure 07** : Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre de neutrophiles.

**Figure 08** : Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre de lymphocytes.

**Figure 09** : Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre de monocytes.

**Figure 10** : Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre des éosinophiles.

**Figure 11** : Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre de basophiles.

**Figure 12** : Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre de globules rouges.

**Figure 13** : Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le tau d'hémoglobine.

**Figure 14** : Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre de plaquettes.

# Sommaire

Introduction .....	1
<b>I. Les pesticides.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1. Définition.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. Classification des Pesticides.....</b>	<b>2</b>
1.2.1. Premier système de classification.....	2
1.2.2. Deuxième système de classification.....	3
<b>1.3. Principaux usages et rôle des pesticides .....</b>	<b>4</b>
<b>1.4. Les effets néfastes des pesticides .....</b>	<b>4</b>
1.4.1. Effet sur le système immunitaire.....	4
1.4.2. Effets sur le système endocrinien et la reproduction.....	5
1.4.3. Effets cancérigènes .....	6
1.4.4. Effets neurologiques et comportementaux .....	6
<b>1.5. Utilisation du pesticide Tebuconazole .....</b>	<b>6</b>
<b>1.6. Les effets toxiques du tebuconazole .....</b>	<b>7</b>
1.6.1. Effets cancérogènes .....	7
1.6.2. Effets sur la reproduction .....	8
1.6.3. Effets Neurotoxicité.....	8
1.6.4. Effets perturbateurs endocriniens .....	8
<b>II. Plante d'étude : <i>Ruta montana</i> .....</b>	<b>9</b>
2.1. Classification botanique.....	9
2.2. Distributions géographique en Algérie.....	10
2.3. Utilisations traditionnelles de <i>Ruta montana</i> .....	10
2.4. Composition chimique .....	10
2.5. Propriétés pharmacologiques.....	12
2.6. Activités biologiques <i>Ruta montana</i> .....	12
a. Activité antioxydant .....	12
b. Activité antimicrobienne.....	13
c. Toxicité de la plante.....	13
<b>III .Matériel et Méthodes.....</b>	<b>14</b>
3.1 Matériel .....	14
3.1.1. Matériel animal.....	14
3.1.2. Matériel végétal .....	14

3.1.3. Réactifs et solutions de travail.....	15
3.2. Méthodes .....	15
3.2.1. Préparation de l'extrait de la plante.....	15
3.2.2. Etude <i>in vivo</i> des propriétés protectrices de l'extrait étudié contre l'effet du pesticide Tebuconazole .....	15
3.2.3. Prélèvement sanguin chez les rats.....	16
3.3. Analyses statistiques .....	16
IV. Résultats et Discussion.....	17
IV. 1. Résultats.....	17
IV.1.1. Evaluation de l'effet protecteur de la plante étudiée sur les rats traités au tebuconazole.....	17
IV.2. Discussion.....	26
Conclusion et perspectives .....	28
Références bibliographiques.....	29



*Introduction*

## **Introduction**

Le développement de l'agriculture est accompagné par l'utilisation des produits phytosanitaires partout dans le monde. Cette utilisation a montré ses avantages notamment dans l'augmentation des rendements de production par l'élimination ou la réduction des prédateurs des cultures. Toutefois, derrière ces bienfaits, ils peuvent se cacher des effets insidieux dont les méfaits sur l'environnement, sur la qualité des produits agricoles, ainsi que sur la santé des populations (Cisse *et al.*, 2006). L'Algérie est classée parmi les pays qui utilisent une grande quantité de pesticides, selon l'Association Algérienne pour la protection de l'environnement « L'Algérie est un grand consommateur de pesticides, 30000 tonnes sont utilisées chaque année » (CHIALI *et al.*, 2013). L'utilisation des pesticides et plus précisément les fongicides peuvent être très nocifs, et engendre des effets pour la santé humaine car ils sont connus pour de nombreux effets néfastes qui affectent les différents tissus et systèmes biologiques.

Depuis l'antiquité, l'homme a pu compter sur les plantes pour subvenir à ses besoins médicaux car elles possèdent d'innombrables vertus thérapeutiques et sont généralement employées comme remède pour les maladies humaines et animales. En effet, elles présentent des composants aux propriétés curatives considérables et ces dernières années, il a été constaté que dans les pays développés, on de plus en plus recourt aux substances thérapeutiques d'origine naturelle comme substituts aux composés chimiques de synthèse avec les effets néfastes qu'ils présentent en contrepartie.

C'est dans ce contexte que nous avons fixé l'objectif de notre travail qui est d'évaluer d'une manière *in vivo* les effets toxiques du tebuconazole, un fongicide largement employé en agriculture en Algérie, sur le bilan hématologique de rats Albinos *wistar* d'une autre part, et l'éventuel effet protecteur de l'extrait de *Ruta montana* contre ces effets en question.



*Revue bibliographique*

## **I. Les pesticides**

### **1.1. Définition**

Un pesticide est défini comme « une substance ou une association de substances destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales, ou toutes autres espèces végétales ou animales nocives ou gênantes au cours de la production, la transformation ou l'entreposage des produits agricoles » (**FAVIER, 2003**).

Considérés comme "tueurs de fléaux" par certains étymologistes, ce sont des molécules dont les propriétés toxiques permettent de lutter contre des organismes nuisibles à l'homme et/ou à son environnement (**Aprifel, 2004**).

### **1.2. Classification des Pesticides**

En général les substances actives sont classées (**BARRIUSSO et al, 2005**) en fonction de :

- La nature de l'espèce à combattre (premier système de classification).
- La nature chimique de la principale substance active (deuxième système de Classification).

#### **1.2.1. Premier système de classification**

Il repose sur le type de parasites à contrôler. Il existe principalement trois grandes familles d'activités (**MRABET ,2006**) :

- Les Herbicides :

Ce sont les plus utilisés dans le monde en tonnage et en surface ; ils permettent d'éliminer les mauvaises herbes des cultures.

- Les Insecticides :

Ce sont les premiers pesticides utilisés et les plus utilisés en Algérie. Ils sont destinés à détruire les insectes nuisibles.

- Les Fongicides :

Ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent de graves dommages aux végétaux cultivés. Ils combattent la prolifération des champignons pathogènes (**MARGOUM ,2010**).

Outre, ces trois grandes familles, d'autres peuvent être citées en exemple :

- Les taupicides qui permettent de lutter contre les taupes
- Les acaricides qui permettent de lutter contre les acariens
- Les rodenticides qui permettent de lutter contre les rongeurs
- Les nématicides qui permettent de lutter contre les nématodes et les vers
- Les molluscicides qui permettent de lutter contre les mollusques, limaces et escargots de cultures

### **1.2.2. Deuxième système de classification**

Le classement se fait en fonction de la nature chimique de la substance active (MRABET ,2006).

On distingue :

- **Les Pesticides Organiques**

- organochlorés
- organophosphorés
- carbamates
- triazines
- urées substituées
- pyréthrénoïdes

- **Les Pesticides Inorganiques**

En général ce sont des éléments chimiques qui ne se dégradent pas. Leur utilisation entraîne souvent de graves effets toxicologiques sur l'environnement par accumulation dans les sols. Le plomb, l'arsenic et le mercure sont fort toxiques (BOULAND et al., 2004).

- **Les Biopesticides**

Ce sont des substances dérivées de plantes ou d'animaux (BOULAND et al., 2004). Elles peuvent être constituées d'organismes tels que les :

- Moisissures
- Bactéries
- Virus
- Nématodes
- Composés chimiques dérivés de plantes
- Pheromones d'insectes.

La présence de certains groupements fonctionnels et/ou atomes confère aux pesticides certaines propriétés physico-chimiques (ionisabilité, hydrophobie, solubilité, persistance).

Toutefois, il est important de souligner que la connaissance de la famille chimique à laquelle un pesticide appartient ne suffit pas à elle seule à la définition de ses propriétés ni à la prédiction de son comportement dans l'environnement.

### **1.3. Principaux usages et rôle des pesticides**

Le principal usage des pesticides est la protection des cultures, on parle alors de pesticide à usage agricole. Toutefois, ils sont aussi utilisés pour des usages non agricoles, afin de lutter contre des espèces végétales jugées envahissantes pour des raisons de sécurité (infrastructures de transport) ou d'aménagements paysagers (parcs et jardins) (DUGENY, 2010).

Leurs utilisations est une pratique nécessaire pour l'agriculteur afin de lui assurer un bon rendement agricole (qualitatif et quantitatif), permettant de garantir un revenu acceptable et de compenser les pertes de sol consécutives à leur dégradation (FAO, 1998).

L'autre aspect, est celui de l'entretien des espaces de loisirs tels que les jardins d'amateurs, les parcs et les terrains de sport. En effet, les pelouses, les arbustes et les arbres d'ornement peuvent nécessiter des traitements phytosanitaires pour conserver leur attrait et permettre leur fonction récréative (BARRIUSO et al., 2005).

Les pesticides sont aussi des moyens contribuant au confort des habitations. Les opérations de désinsectisation et de dératisation sont couramment pratiquées pour l'entretien des bâtiments, afin d'éliminer des rongeurs (souris, rats...) et d'insectes nuisibles (mouches, moustiques, termites et fourmis) vecteurs de maladies transmissibles (BARRIUSO et al., 2005).

## **1.4. Les effets néfastes des pesticides**

### **1.4.1. Effet sur le système immunitaire**

Plusieurs effets immunotoxiques peuvent survenir suite à une exposition aux xénobiotiques. Ces effets peuvent comprendre : des changements histologiques dans les tissus ou organes du système immunitaire tels que, la moelle osseuse, le thymus, la rate ou les ganglions lymphatiques. Ca peut également engendrer des changements au niveau des fonctions des cellules immunitaires, tels qu'une maturation altérée des cellules immunocompétentes ou encore un dérèglement dans les sous-populations de lymphocytes B et T; une altération des

réponses du système immunitaire comme, la réponse cellulaire, humorale ou non-spécifique. Un changement dans une ou plusieurs de ces composantes a le potentiel d'augmenter la sensibilité de l'hôte à certaines infections ou cancers (**Porter et al. 1999**).

Les effets causés par les pesticides sur le système immunitaire peuvent être dus à deux mécanismes :

Il est possible que le système immunitaire réagisse à la présence de pesticides en fabriquant des anticorps spécifiques, en sécrétant des cytokines ou encore en induisant la prolifération de lymphocytes effecteurs. Ces réactions immunologiques peuvent par la suite provoquer des allergies, des inflammations chroniques ou des maladies auto-immunes. (**Porter et al. 1999**).

L'autre possibilité est que les pesticides peuvent avoir une action directe ou indirecte sur le système immunitaire. Une action directe sur ce système peut survenir à plusieurs niveaux comme, par exemple, en détruisant les membranes des cellules lymphoïdes, en induisant la sécrétion de cytokines ou encore en provoquant des réponses inflammatoires. Une action indirecte survient lorsque les pesticides affectent d'autres systèmes, tels que les systèmes nerveux ou endocrinien, pouvant moduler le système immunitaire (**Porter et al. 1999**).

#### **1.4.2. Effets sur le système endocrinien et la reproduction**

Certains pesticides sont des perturbateurs endocriniens et peuvent être à l'origine d'effets délétères chez l'homme en particulier sur la reproduction.

De nombreux perturbateurs endocriniens agissent via les récepteurs aux œstrogènes et les récepteurs aux androgènes provoquant une perturbation de l'homéostasie œstrogènes/androgènes importante pour le fonctionnement normal des processus impliqués dans la reproduction (**Marques-Pinto et Carvalho, 2013**).

Des études épidémiologiques ont mis en évidence une corrélation entre l'exposition aux pesticides et une incidence plus importante de certaines anomalies du système reproducteur masculin comme une réduction de la qualité du sperme (spermatogenèse affectée), une cryptorchidie (incapacité d'un testicule d'atteindre le scrotum), un hypospadias (ouverture de l'urètre au niveau de la face inférieure du pénis) et du cancer des testicules (**Nordkap et al. 2012**).

### 1.4.3. Effets cancérogènes

Plusieurs études épidémiologiques ont mis en évidence une association positive entre l'exposition aux pesticides et certains cancers comme les cancers du sein, de la prostate, des reins, des poumons, du cerveau mais également des leucémies, des myélomes et des lymphomes non hodgkiniens (McDuffie et al., 2001 ; Freeman et al., 2005 ; Bassil et al., 2007; Cohn et al., 2007; Band et al., 2011; Alavanja et al., 2013).

### 1.4.4. Effets neurologiques et comportementaux

Le développement du système nerveux est sensible aux toxines présentes dans l'environnement. Actuellement, la majorité des pesticides présents sur le marché sont des neurotoxiques et une exposition chronique à certains de ces composés peut conduire à l'apparition de troubles neurologiques (Burns et al. 2013) comme les neuropathies périphériques, la dépression ou le suicide (Parron et al. 2011).

## 1.5. Utilisation du pesticide Tebuconazole

Le tebuconazole est un composé chimique appartenant à la famille des triazoles. Il est utilisé pour ses propriétés antifongiques comme substance active de produits phytopharmaceutiques en tant que fongicide et régulateur de croissance de plantes.

Il est également utilisé comme substance active dans les produits biocides, dans la catégorie des produits de protection.

Formule :

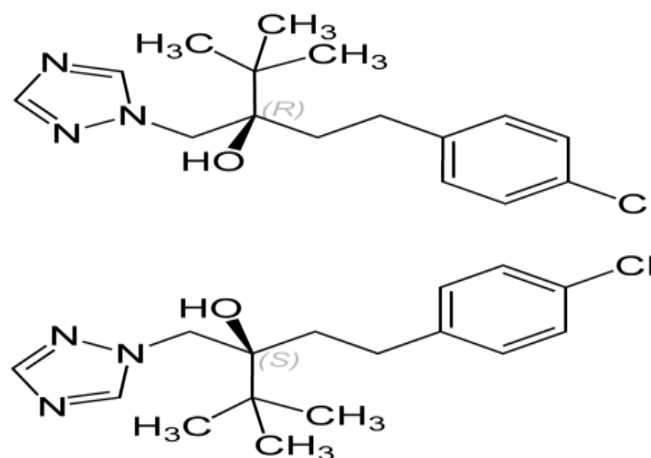


Figure 01 : formule du tebuconazole (Tébuconazole, Mars 2017)

**Tableau 01.** Description de la matière active (**Tébuconazole, Mars 2017**)

Nom	Tebuconazole
Formule chimique	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>3</sub> O
Numéro CAS	107534-96-3
Numéro CE	403-640-2
Synonyme	Tebuconazol (ISO) ; (RS)-1-p-chlorophényl-4,4-diméthyl-3-(1H-1, 2,4-triazol-1-ylméthylethyl) pentan-3-ol ; 1-(4-chlorophényl-4,4-diméthyl-3-(1,2,4-triazol-1-ylméthylethyl) pentan-3-ol

Le tebuconazole est une substance stable à température ambiante, quel que soit le milieu (acide, neutre ou alcalin) qui ne doit pas être stocké avec des oxydants forts (**Tebuconazole. In : Gestis-database on hazardous substances. IFA; ECHA, 2013**).

**Tableau 02 :** propriété physique de Tebuconazole (**Tebuconazole. In: Pesticides properties dataBase (PPDB), ECHA, 2013**)

Etat physique	Cristaux
Solubilité	Eau : 32-36 mg/L à 20 °C
Point de fusion	104 °C
Densité	1.25 g/ml
Coefficient de partage <i>n</i> -octanol/eau (Log Pow)	3,7

## 1.6. Les effets toxiques du tebuconazole

Plusieurs études ont attribués différents effets délétères et toxiques au pesticide tebuconazole :

### 1.6.1. Effets cancérogènes

Selon l'étude de (**Danemark, 2006 ; Danemark, 2007 ; EFSA, 2014**) Le tebuconazole n'est pas cancérogène chez le rat. Chez la souris, le tebuconazole induit des tumeurs hépatocellulaires à la plus forte dose testée (supérieure à la dose maximale tolérable).

L'administration dans l'alimentation de tebuconazole pendant 2 ans n'entraîne pas d'effet cancérogène chez le rat (dose maximale testée 1000 ppm équivalent à 55mg/kg/j).

Chez la souris, il a été rapporté qu'à la plus forte dose testée (1500 ppm équivalent à 180 mg/kg/j) une augmentation statistiquement significative de l'incidence des adénomes hépatocellulaires est observée chez les mâles ainsi qu'une augmentation statistiquement significative de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires dans les deux sexes. Ces tumeurs n'ont cependant pas été considérées comme pertinentes pour l'évaluation des risques pour la santé humaine du fait de leur unique occurrence à une dose excédant la dose maximale tolérable (**Danemark, 2006; Danemark, 2007; EFSA, 2014**)

#### **1.6.2. Effets sur la reproduction**

Le tebuconazole n'entraîne pas de modifications des paramètres de la reproduction dans une étude sur deux générations. Une augmentation de la durée de gestation est cependant observée en présence d'une toxicité générale modérée dans une étude de neurotoxicité pour le développement via l'alimentation chez le rat (**Danemark, 2006 ; Danemark, 2007; EFSA, 2014**)

Dans les études de toxicité pour le développement par voie orale, des effets tératogènes sont observés en l'absence de toxicité maternelle chez la souris et le lapin et en présence d'une faible toxicité maternelle chez le rat. Aux mêmes doses, le tebuconazole provoque des effets embryon et foeto-toxiques chez le rat et le lapin ainsi que des effets foeto-toxiques chez la souris. Dans les études de toxicité pour le développement par voie cutanée, le tebuconazole n'est pas toxique pour le développement chez le rat mais induit des effets tératogènes chez la souris en présence de toxicité maternelle (**Danemark, 2006 ; Danemark, 2007; EFSA, 2014**)

#### **1.6.3. Effets Neurotoxicité**

Le tebuconazole induit des effets neurotoxiques après exposition aiguë par voie orale chez le rat adulte et après administration périnatale chez le jeune présentant aux mêmes doses une forte toxicité générale. (**Danemark, 2006 ; Danemark, 2007; EFSA, 2014**)

#### **1.6.4. Effets perturbateurs endocriniens**

Le tebuconazole a montré un potentiel d'altération des signalisations ostrogénique et androgénique. Son impact sur la stéroïdogénèse serait à l'origine des effets sur le système reproducteur observés chez le rat à des doses provoquant une toxicité générale (**Danemark, 2008 ; Pesticides Research, 2007 et US-EPA, 2015**).

## II. Plante d'étude : *Ruta montana*

*Ruta montana* L est une plante médicinale de la famille des **Rutacées** qui pousse dans le bassin méditerranéen, notamment en Afrique du Nord. En Algérie elle pousse dans les zones montagneuses de l'intérieur jusque sur l'Atlas saharien (Bouira, Boumerdes, Tizi ouzou...) (Fournier, 1948)



Figure 01 : *Ruta montana* L (19 juin 2007 par Daniel Mathieu).

### 2.1. Classification botanique

Tableau 03 : présente la position systématique de *Ruta montana* (Bonnier, 1999 ; Wiart, 2006 ; Takhtajan, 2009)

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta (plantes vasculaires)
Super division	Spermatophyta (plantes à graine)
Division	Magnoliophyta (plantes à fleurs)
Sous division	Angiospermae
Classe	Magnoliopsida (dicotylédons)
Sous classe	Rosidae
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>Ruta</i>
Espèce	<i>Ruta montana</i>

## 2.2. Distributions géographique en Algérie

La Rue pousse spontanément dans les roches des lieux, arides, vieux murs et collines sèches et elle est abondante dans les terrains calcaires dans régions méditerranéennes (**Doerper, 2008**). Cependant, les rues sauvages croissent dans les pays chauds aux lieux rudes, pierreux et montagneux (**Lemery, 1732**). En Algérie, elle est rencontrée dans les zones montagneuses de l'intérieur jusqu'à l'Atlas saharien et les pelouses arides (**Clevely et Richmond, 1997**).

## 2.3. Utilisations traditionnelles de *Ruta montana*

La rue a été principalement employée dans des préparations médicales par les médecins hippocratiques pour le traitement de diverses affections de l'utérus, la perturbation des menstruations, les perturbations possibles pendant la grossesse, l'accouchement, pour expulser le placenta, et contre la fièvre puerpérale (**El Ouarti et al., 2007**). Elle a également été utilisée comme gargarisme contre l'angine de gorge, et pour réduire un gonflement de la rate, pour soigner les blessures, pour tous les problèmes liés à la circulation sanguine, tels que les varices, les œdèmes, les complications de la phlébite, hémorroïdes, fragilité capillaire et la goutte (**El Ouarti et al., 2007**).

La rue a des applications en médecine traditionnelle marocaine, utilisée afin de stimuler l'apparition des menstruations, comme un moyen de contraception, contre l'hypertension, pour traiter l'hystérie, contre les maux d'oreille et les céphalées, appliqué extérieurement comme un cataplasme contre les douleurs rhumatismales (**El Ouarti et al., 2007**).

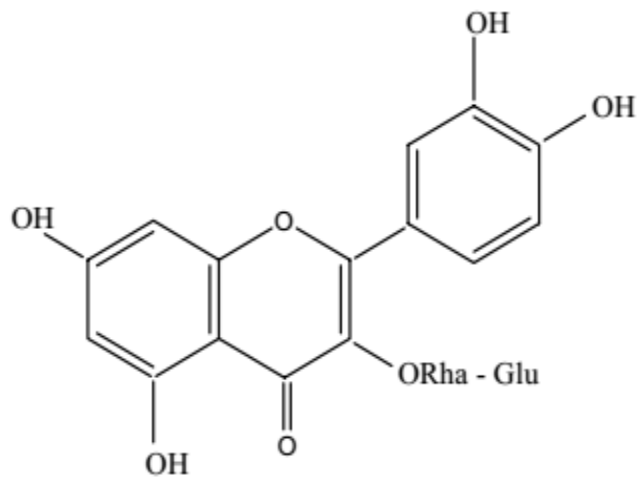
La racine, en décoction, est employée contre les maux d'estomac, les affections de l'appareil respiratoire et les maladies du foie (**El Ouarti et al., 2007**).

La plante séchée et pulvérisée est associée au laurier, à l'armoise blanche, à la lavande, au thym et à la menthe pouliot pour faire une décoction contre les coliques. (**Claisse, 1993**). Son action sensibilisante lui vaut d'être employée dans le vitiligo (**Bensalah et al., 2013**).

Elle est utilisée sous forme de pâte insérée dans le vagin, en décoction seule ou associée aux feuilles de *cannabis* par voie orale pour provoquer l'avortement. (**CALVET, 2005**).

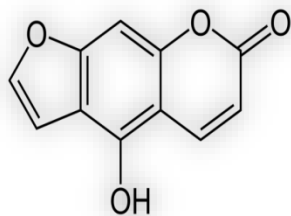
## 2.4. Composition chimique

La Rue contient une huile essentielle riche en cétones (un décan-2-one, nonan 2-one) et des flavonoïdes, principalement la rutine. (**Bellahouel et al., 2008**).

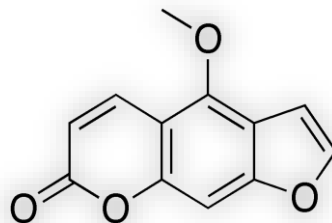


**Figure 02 :** Structure de la Rutine isolée du *Ruta montana* du Turquie (Toker *et al.*, 1998 ; Dobsons, 2000)

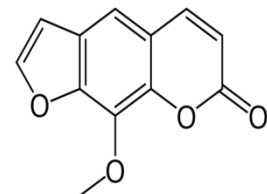
Un groupe de furanocoumarines : bergaptol, bergaptène, xanthotoxine, chalepensine, heraclenol, isopimpinelline, la rutamarine et un dicoumarinyylether (la rutamontine) ont été isolées de cette espèce. (Ulubelen, 1990 et Bellahouel *et al.*, 2008))



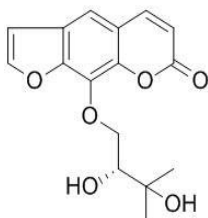
**Bergaptol**



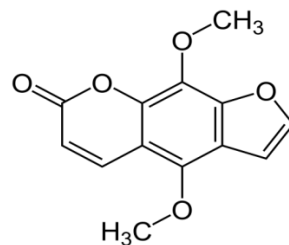
**Bergaptène**



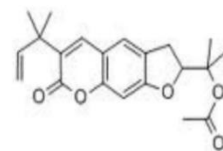
**Xanthotoxine**



**Heraclenol**



**Isopimpinelline**



**Rutamarine**

**Figure 03 :** Structures de quelques furanocoumarines (El Fennouni, 1985).

Deux alcaloïdes connus, le 1-méthyl-4-méthoxy-2-quinolone et l'évolitrine, ainsi que 4 alcaloïdes de type 4-quinolones ont été isolés de *Ruta montana*: 2-(nona-8-one) - (1H)-4-quinolone, 2-(nonan-8-one)-4-méthoxy-quinoléine, 2-(nonan-8-one)-N-méthyl-4-quinolone et 2-(décan-9-one)-N-méthyl-4-quinolone (**Touati et al., 2000**).

La Rue contient également des alcaloïdes acridoniques (époxyde rutacridone, hydroxyrutacridone époxyde) qui se trouvent en plus grande concentration dans les racines, la graveoline, graveolinine, kokusaginine, rutacridone, skimmianine, arborinine, et gamma-fagarine. (**Bezanger-Beauquesne, 1958**).

## **2.5. Propriétés pharmacologiques**

Il a été rapporté que la plante aurait des vertus emménagogue, antispasmodique, sudorifique, hypoglycémique, antirhumatismal, antihelminthique, antiépileptique, antipyrétique (**Agence nationale pour la conservation de la nature, Ministère de l'agriculture, 2001**). La rutine que contient la Rue est connue pour son effet veinotonique et protecteur sur les capillaires (réduction de la fragilité capillaire), et ses propriétés antioxydantes (**Stuart, 2005**).

Il a été rapporté que la méthyl-cétone contenue dans la plante provoque une congestion pelvienne et des contractions utérines conduisant aux hémorragies utérines et à l'avortement en cas de grossesse. (**Stuart, 2005 et Bensalah et al., 2013**).

Les feuilles sont irritantes et vésicantes, propriétés dues à l'huile essentielle et en particulier à la méthylnonylcétone qui est un rubéfiant (**Claisse, 1993**). *Ruta montana* renferme un ou plusieurs principes actifs antimycobactériens (**Hseini et al., 2009**) possédant aussi une activité antifongique, et insecticide (**Stuart, 2005**).

Les flavonoïdes présents dans la rue, possèdent une activité antibactérienne, et des effets cytotoxiques *in vitro*. Ainsi que les furanocoumarines, et quinolones qui agissent comme des constituants phytotoxiques (**Stuart, 2005**).

## **2.6. Activités biologiques *Ruta montana***

### **a. Activité antioxydant**

Il a été rapporté que *Ruta montana* L. A une importante activité antioxydante comme notamment l'extrait d'acétate d'éthyle qui a montré l'activité scavenger plus élevée, tandis que l'extrait aqueux a montré une grande capacité de chélation et d'inhibition du système d'oxydation couplé acide linoléique/ $\beta$ -carotène (**Merghem et Dahamna, 2020**).

### **b. Activité antimicrobienne**

Certaines études ont aussi rapporté une activité antimicrobienne modérée de l'huile essentielle de *Ruta montana*, contre huit espèces microbiennes, dont *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *C. albicans* (Djarri et al, 2013 ; Mohammedi et al, 2020). De plus, une importante activité antifongique de l'huile a été révélée contre *B.cinerea*, *F. solani*, *F. oxysporum* et *A.oryzae* ( Belaidi, 2012)

Du point de vue de la sensibilité des organismes Gram-négatifs et Gram-positifs, Il a été démontré que les bactéries Gram-négatives sont moins sensibles aux extraits végétaux que les bactéries Gram-positives (Cosentino, 1999 ; Soković, 2007) puisque les bactéries Gram-négatives possèdent des doubles membranes qui protègent Contre les agents antibactériens (McGowan, 2006 ; Saunders et Lee, 2013).

### **c. Toxicité de la plante**

Plusieurs études ont mentionné la toxicité de la plante *Ruta montana*. En effet, des cas d'intoxication à la rue sont observés à la suite de tentatives d'avortement au cours desquelles la plante est administrée soit sous forme de décoction buvable, soit sous forme de lavements vaginaux. L'empoisonnement se manifeste par de la gastroentérite, des vertiges, de la somnolence, de la prostration, un petit pouls, de l'hyperthermie (Bellakhdar, 1997). Par contact sur la peau, la rue peut provoquer, en raison de la présence de furocoumarines, des éruptions cutanées prurigineuses et des inflammations avec formation de cloques (Charnot, 1945).

- **Activités mutagène et carcinogène**

Certaines furocoumarines, associées à des rayonnements UV, présentent une activité mutagène, voire létale, vis-à-vis de micro-organismes fongiques ou bactériens (Roelandts, 2002). Leur propriété d'intercalation dans l'ADN est invoquée par les caractères mutagènes et carcinogènes potentiels de ces molécules (Dardalhon et al., 1998).

L'addition des dérivés du psoralène peut affecter également les acides gras insaturés membranaires ainsi que certaines protéines. D'autres furocoumarines activent la croissance de certaines cellules tumorales (Pathak et Fitzpatrick, 1992).



*Matériel et Méthodes*

### III .Matériel et Méthodes

#### 3.1 Matériel

##### 3.1.1. Matériel animal

Cette étude est réalisée sur des rats *albinos Wistar*, de sexe mâle dont le poids varie entre 130g et 225g fournis par l'institut Pasteur, 16047 Alger, Algérie. Ils sont utilisés après une période d'adaptation d'au moins 15 jours au sein de l'animalerie du département des S.N.V. 20 août 1955 Skikda, Algérie, placés dans des cages où ils ont accès libre à l'eau et à l'alimentation.



Figure 05 : Des rats *albinos Wistar* au sein de l'animalerie (photos originales, 2022).

##### 3.1.2. Matériel végétal

La plante utilisée dans cette étude est la partie aérienne de *Ruta montana L*, achetée du marché local de Mila sous forme séchée.



Figure 06 : *Ruta montana L* région de Mila

### 3.1.3. Réactifs et solutions de travail

Les solutions de travail utilisées dans cette étude sont :

- Ethanol 96°
- Formaldéhyde (formole)
- Eau dessillée

## 3.2. Méthodes

### 3.2.1. Préparation de l'extrait de la plante

Après l'identification, la plante est nettoyée, broyée et filtrée à l'aide d'un tamis pour obtenir une poudre fine. La poudre de la plante obtenue (500g) est ajoutée à 1 L d'éthanol (96°) et laissée macérer sous agitation pendant 24h à l'abri de la lumière et de la chaleur. Au bout des 24h, le mélange est filtré à travers du papier wattman, le filtra est débarrassé du solvant par rotation évaporative à 60°C sous vide (Rotavap, DLAB : RE100-Pro) afin d'obtenir l'extrait qui est mis dans l'étuve pendant 24h à 40°C dans une boîte à pétri recouvert d'un papier aluminium troué. L'extrait obtenu est conservé à -20°C jusqu'à utilisation.

### 3.2.2. Etude *in vivo* des propriétés protectrices de l'extrait étudié contre l'effet du pesticide Tebuconazole

Cette étude a été consacrée à l'évaluation *in vivo* des propriétés protectrices des extraits éthanolique de *Ruta montana* contre les effets néfastes connus du fongicide tebuconazol. Pour cela, des rats albinos Wistar ont fait l'objet d'une étude qui a duré 50 jours et ont été répartis en 4 groupes selon les traitements subis comme suit :

**Groupe I** : Il s'agit du groupe de rats témoins qui n'ont eu aucun traitement.

**Groupe II** : Les rats de ce groupe ont reçu par voie orale quotidiennement une dose de 100mg/kg du fongicide tebuconazol pendant 50 jours.

**roupe III** : Les rats de ces groupes ont été traités oralement quotidiennement par une dose de 50 mg/kg pour l'extrait de *Ruta montana* pendant 50jours.

**Groupe IV** : Les rats de ces groupes ont reçu chaque jour oralement 100mg/kg du fongicide tebuconazol et traités une heure après par une dose de 50mg/kg d'extrait de *Ruta montana*.

### **3.2.3. Prélèvement sanguin chez les rats**

A la fin de la durée du traitement (50 jours), les rats ont été anesthésiés légèrement avec du Chloroforme, permettant d'effectuer un prélèvement sanguin de manière intracardiaque. Cette technique consiste à placer l'animal anesthésié, dorsalement (décubitus dorsal) puis une aiguille de calibre 20-25 cm d'une seringue de 10 ml est placée horizontalement à 20-30 degrés du thorax de l'animal qui est ensuite insérée doucement à travers le diaphragme et dans le cœur pour la collecte du sang. L'échantillon du sang est récupéré dans deux tubes, l'un contenant de l'EDTA et l'autre de l'héparine. Les tubes EDTA ont été immédiatement utilisés pour les analyses hématologiques, alors que les tubes héparines ont été centrifugés à 4000 rpm pendant 30 min pour obtenir le sérum. Une quantité entre 1 et 3 ml de sang ont été prélevés.

### **3.3. Analyses statistiques**

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne arithmétique (M) des n valeurs obtenues  $\pm$  l'écart moyen (SEM)  $[M \pm SEM]$ . Le test t de Student est utilisé pour évaluer la signification des effets du tubeconazole et de l'extrait étudié. La différence est considérée statistiquement significative au risque de 5% ( $p < 0.05$ ).



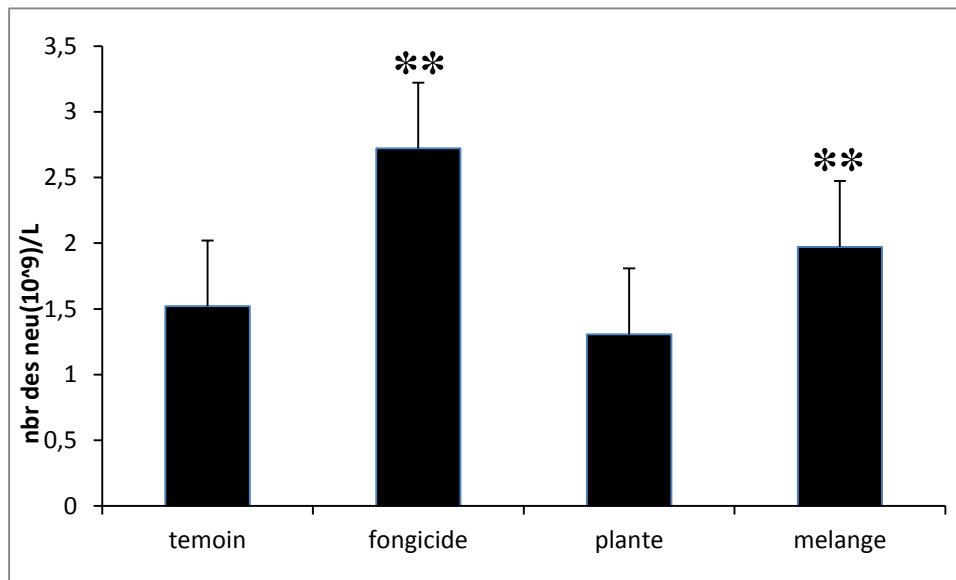
*Résultats et Discussion*

## IV. Résultats et Discussion

### IV. 1. Résultats

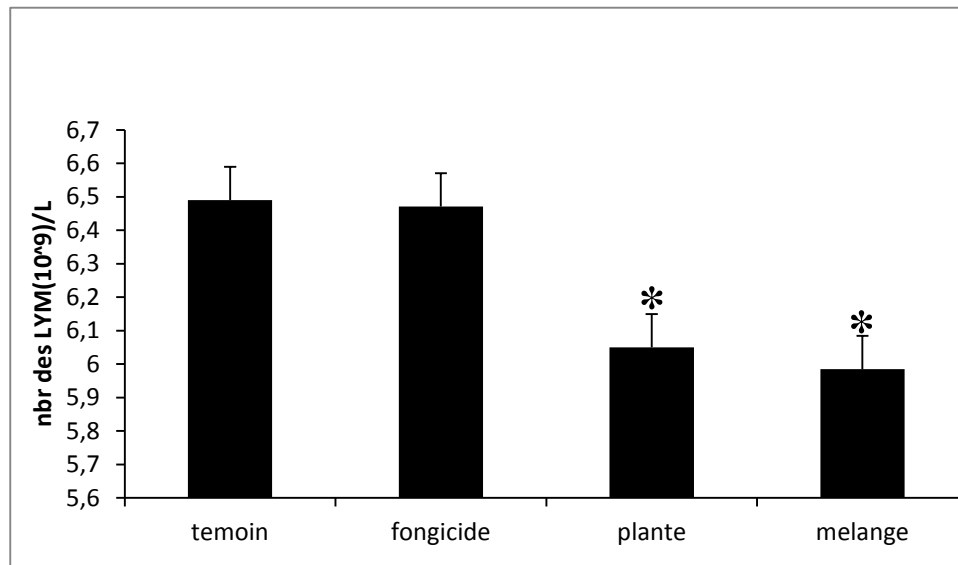
#### IV.1.1. Evaluation de l'effet protecteur de la plante étudiée sur les rats traités au tebuconazole

Les pesticides, en l'occurrence les fongicides comme le tebuconazole sont largement utilisés en agriculture comme moyen de lutte efficace contre les maladies fongiques qui menacent les cultures agricoles y compris les céréales et les cultures maraichères (FREEDMAN, 1995 ; LEYRA *et* VIERLING., 2007). Cependant, plusieurs études ont rapporté son potentiel à risque sur l'homme dans le développement des neuropathologies et aussi en tant que perturbateur endocrinien. Par contre, aucun effet sur les paramètres biochimiques, le système immunitaire et de reproduction n'a été observé dans ces études (Moser *et al.*, 2001 ; Taxvig *et al.*, 2007 ; Kjaerstad *et al.*, 2010). Nous nous sommes alors intéressés dans notre travail à évaluer l'effet du tebuconazole sur quelques paramètres hématologiques des rats ainsi que l'éventuel effet protecteur de *Ruta montana* contre cette toxicité. Pour cela, les rats ont été traités par voie orale par le tebuconazole en association ou non avec la plante étudiée pendant 50 jours. Les résultats obtenus montrent que le nombre de neutrophiles chez les rats traités par le fongicide a significativement augmenté ( $p < 0.01$ ) par rapport au témoin et ce de près de 66%. L'administration de l'extrait de *Ruta montana* à ces rats traités par le tebuconazole a réduit l'effet du pesticide de près de 28% ( $p < 0.05$ ) (Figure 07).



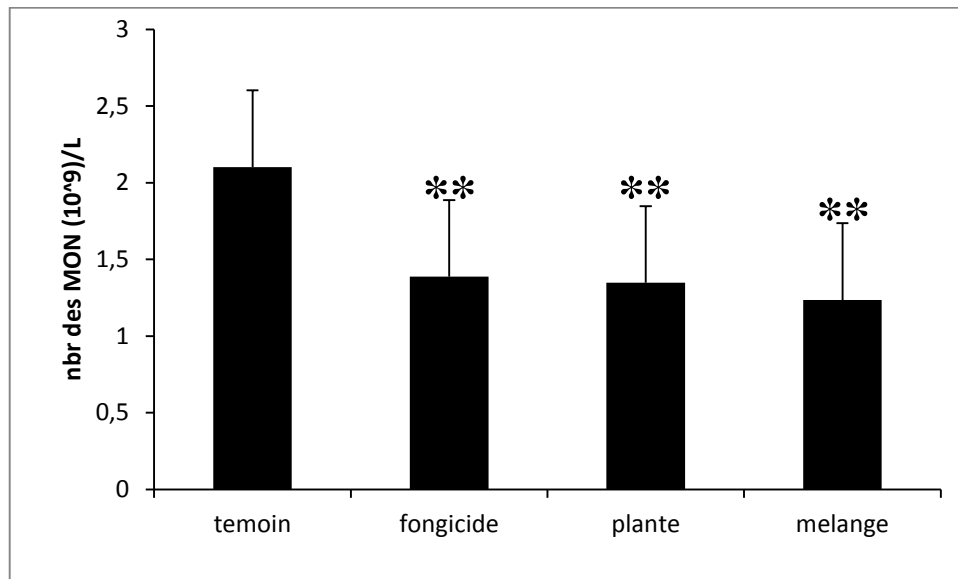
**Figure07** : Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre de neutrophiles. Les rats du groupe témoin ne sont traités par aucune substance, le groupe fongicide sont traités oralement avec 100mg/kg de tebuconazole, le groupe plante sont traités par voie orale par 50mg/kg de l'extrait éthanolique de la plante étudiée. Alors que le groupe mélange ont reçu les deux substances. Chaque histogramme représente la moyenne  $\pm$  SEM (n=10). Témoin vs fongicide, plante ou mélange, \*p<0.05, \*\*<0.01 (teste t de student).

Nous avons également vérifié l'effet de substances étudiées sur le nombre des lymphocytes chez les rats et les résultats issus de nos analyses indiquent que le tebuconazole n'a provoqué aucune variation significative dans le nombre de lymphocytes circulants chez les rats traités ( $6.47 \pm 1.87 \times 10^9/l$ ) comparés aux rats témoins ( $6.49 \pm 0.26 \times 10^9/l$ ) (figure 08). Par contre, les rats traités uniquement par l'extrait de *Ruta montana* a montré une légère diminution ( $p < 0.05$ ) du nombre de lymphocytes ( $5.98 \pm 1.20 \times 10^9/l$ ), et un résultat similaire ( $p < 0.05$ ) a été obtenu avec les rats exposé au pesticide et traités à l'extrait de la plante étudiée ( $6.49 \pm 0.26 \times 10^9/l$ ).



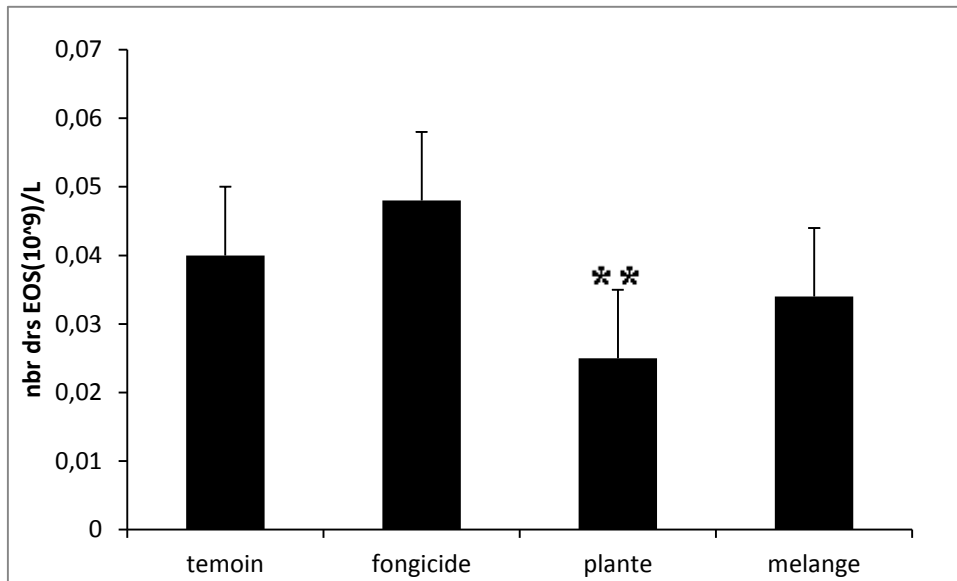
**Figure08 :** Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre de lymphocytes. Les rats du groupe témoin ne sont traités par aucune substance, le groupe fongicide sont traités oralement avec 100mg/kg de tebuconazole, le groupe plante sont traités par voie orale par 50mg/kg de l'extrait éthanolique de la plante étudiée. Alors que le groupe mélange ont reçu les deux substances. Chaque histogramme représente la moyenne  $\pm$  SEM (n=10). Témoin vs fongicide, plante ou mélange, \*p<0.05, \*\*<0.01 (teste t de student).

Concernant le nombre de monocyte, il n'a pas été surprenant de constater que le tebuconazole a grandement diminué le nombre de monocyte circulants ( $1.38 \times 10^9 \pm 0.068$  /l) par rapport au témoin ( $2.102 \times 10^9 \pm 0.260$  /l) L'extrait éthanolique de la plante a donné un résultat similaire ( $1.48 \times 10^9 \pm 0.280$  /l), tout comme le mélange des deux ( $1.23 \times 10^9 \pm 0.179$  /l) (figure 9)



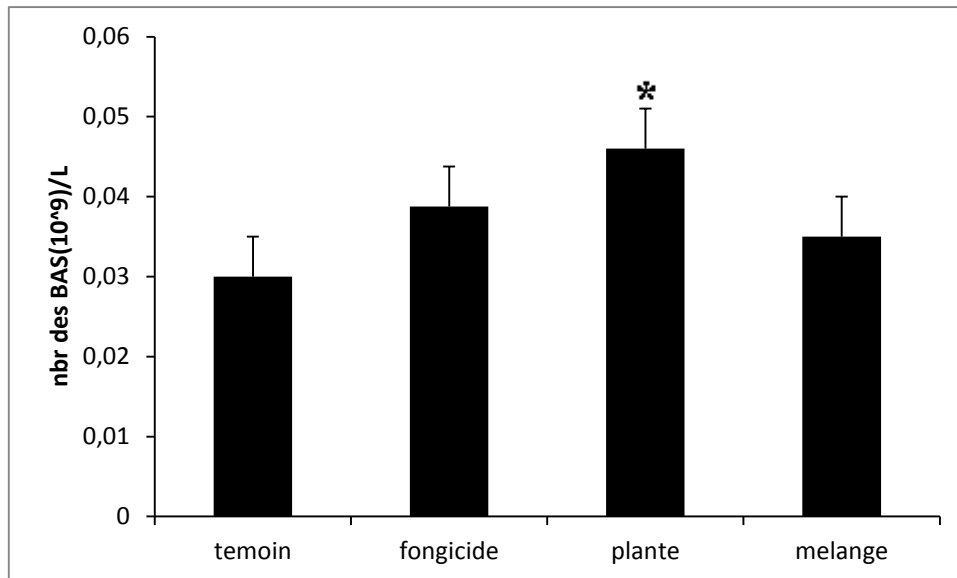
**Figure 09:** Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre de monocytes. Les rats du groupe témoin ne sont traités par aucune substance, le groupe fongicide sont traités oralement avec 100mg/kg de tebuconazole, le groupe plante sont traités par voie orale par 50mg/kg de l'extrait éthanolique de la plante étudiée. Alors que le groupe mélange ont reçu les deux substances. Chaque histogramme représente la moyenne  $\pm$  SEM (n=10). Témoin vs fongicide, plante ou mélange, \* $p < 0.05$ , \*\* $< 0.01$  (teste t de student).

L'analyse des résultats apportés par cette étude révèle un surprenant effet de la plante étudiée sur le nombre des éosinophiles. En effet, le fongicide n'a pas modifié de manière significative le nombre des éosinophiles chez les rats (figure 10), alors que l'extrait éthanolique de la plante étudiée l'a grandement diminué ( $p < 0.01$ ) donnant une diminution de près de  $37.5 \pm 0.005\%$ .



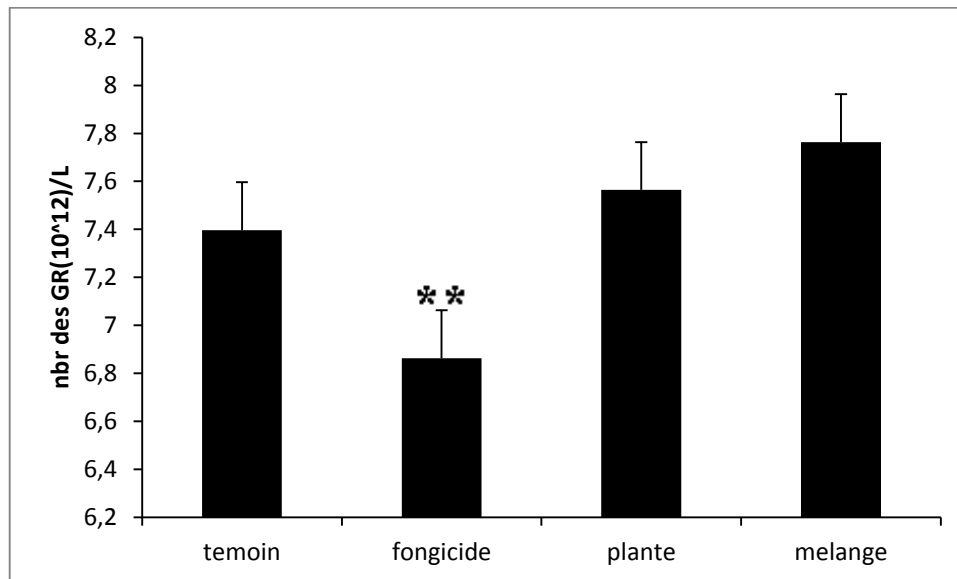
**Figure 10:** Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre des éosinophiles. Les rats du groupe témoin ne sont traités par aucune substance, le groupe fongicide sont traités oralement avec 100mg/kg de tebuconazole, le groupe plante sont traités par voie orale par 50mg/kg de l'extrait éthanolique de la plante étudiée. Alors que le groupe mélange ont reçu les deux substances. Chaque histogramme représente la moyenne  $\pm$  SEM (n=10). Témoin vs fongicide, plante ou mélange, \*p<0.05, \*\*<0.01 (teste t de student).

Le traitement des rats par le tebuconazole n'a pas eu d'effet non plus sur le nombre de basophiles circulants (figure 11), alors qu'encore une fois c'est l'extrait étudié qui modifie la formule sanguine induisant une augmentation des basophiles de près de  $46 \pm 0.015\%$ .



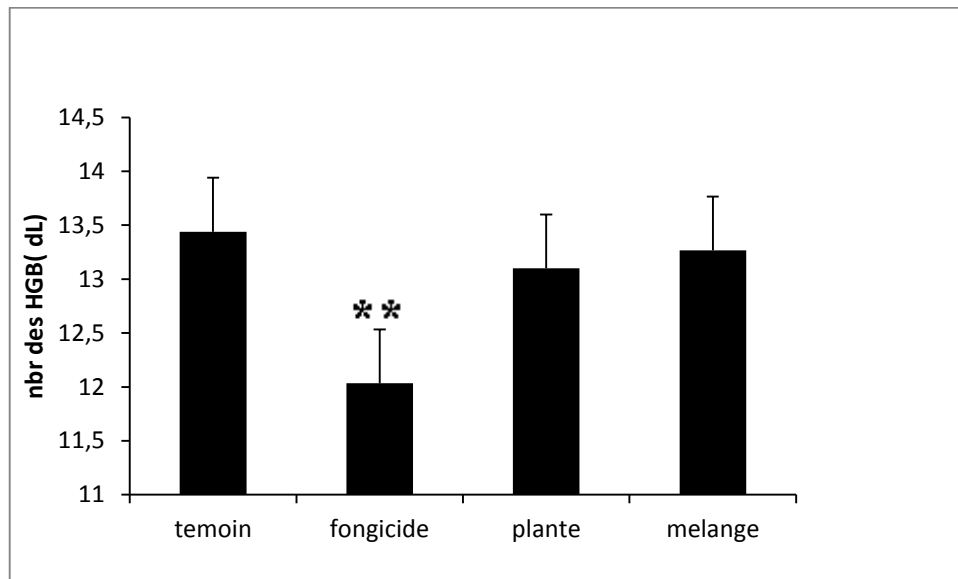
**Figure11** : Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre de basophiles. Les rats du groupe témoin ne sont traités par aucune substance, le groupe fongicide sont traités oralement avec 100mg/kg de tebuconazole, le groupe plante sont traités par voie orale par 50mg/kg de l'extrait éthanolique de la plante étudiée. Alors que le groupe mélange ont reçu les deux substances. Chaque histogramme représente la moyenne  $\pm$  SEM (n=10). Témoin vs fongicide, plante ou mélange, \*p<0.05, \*\*<0.01 (teste t de student).

Les résultats issus de cette étude montrent que le nombre des globules rouges chez les rats traités par le fongicide ( $6.86 \pm 0.65 \times 10^{12}$  cellules/l) est légèrement inférieur à celui du témoin, ( $7.39 \pm 0.36 \times 10^{12}$  cellules/l)(figure 12). L'extrait étudié administré sue n'a eu aucun effet significatif mais il semble avoir rétabli le nombre normal des globules rouges chez les rats traités par le tebuconazole ( $7.76 \pm 0.26 \times 10^{12}$  cellules/l)



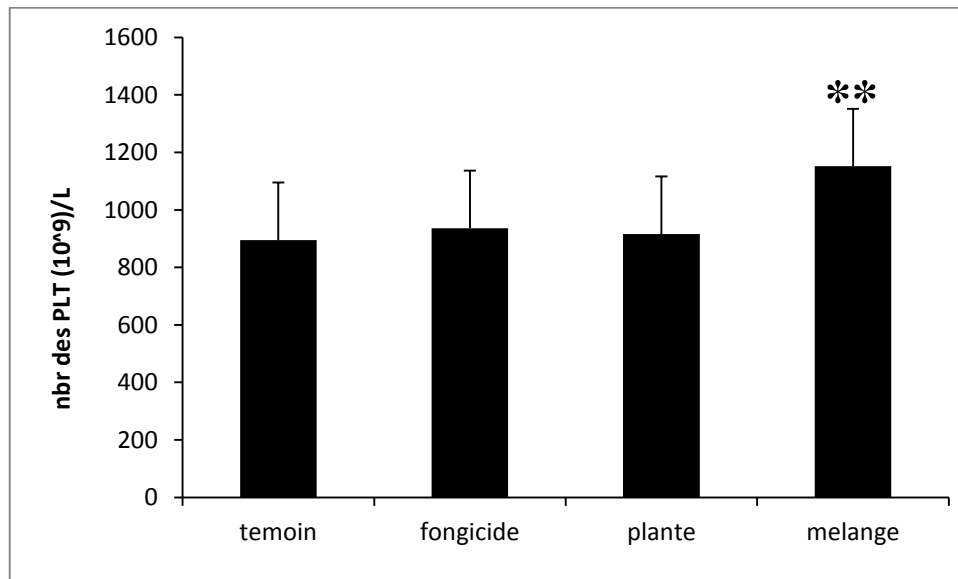
**Figure12:** Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre de globules rouges. Les rats du groupe témoin ne sont traités par aucune substance, le groupe fongicide sont traités oralement avec 100mg/kg de tebuconazole, le groupe plante sont traités par voie orale par 50mg/kg de l'extrait éthanolique de la plante étudiée. Alors que le groupe mélange ont reçu les deux substances. Chaque histogramme représente la moyenne  $\pm$  SEM (n=10). Témoin vs fongicide, plante ou mélange, \* $p < 0.05$ , \*\* $< 0.01$  (teste t de student).

Des résultats semblables ont été obtenus concernant le taux d'hémoglobines des rats traités. En effet, comme pour le nombre des globules rouges, le tebuconazole a réduit le taux d'hémoglobine des rats de près de  $10 \pm 0.83\%$  (figure 13), une réduction que l'extrait étudié semble supprimer chez les rats exposés au tebuconazole (figure 12).



**Figure 13 :** Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le taux d'hémoglobine. Les rats du groupe témoin ne sont traités par aucune substance, le groupe fongicide sont traités oralement avec 100mg/kg de tebuconazole, le groupe plante sont traités par voie orale par 50mg/kg de l'extrait éthanolique de la plante étudiée. Alors que le groupe mélange ont reçu les deux substances. Chaque histogramme représente la moyenne  $\pm$  SEM (n=10). Témoin vs fongicide, plante ou mélange, \* $p < 0.05$ , \*\* $< 0.01$  (teste t de student).

Concernant le nombre de plaquettes chez les rats traités, nous n'avons constaté aucune variation ni chez les rats traités par le fongicide ni chez ceux traités par l'extrait (figure 14), alors que le mélange des deux induit une augmentation de près de 29% ( $p < 0.01$ ).



**Figure 14:** Effet de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* L, le fongicide tebuconazole et le mélange des deux sur le nombre de plaquettes. Les rats du groupe témoin ne sont traités par aucune substance, le groupe fongicide sont traités oralement avec 100mg/kg de tebuconazole, le groupe plante sont traités par voie orale par 50mg/kg de l'extrait éthanolique de la plante étudiée. Alors que le groupe mélange ont reçu les deux substances. Chaque histogramme représente la moyenne  $\pm$  SEM (n=10). Témoin vs fongicide, plante ou mélange, \*p<0.05, \*\*<0.01 (teste t de student).

## IV.2. Discussion

L'usage des pesticides a constitué une avancée importante dans la maîtrise des ravageurs, des maladies parasitaires et des mauvaises herbes en agriculture. Ces produits ont largement facilité les conditions de travail et de production des agriculteurs et ont permis une sécurisation incontestable de la production alimentaire. Cependant, l'usage de ces produits est aussi à l'origine de nuisances induites : pollutions des eaux, induction d'organismes résistants, impact sur la faune et la flore, appauvrissement des sols et surtout leur toxicité incontestable vis-à-vis de l'homme. En Algérie, plusieurs produits phytosanitaires sont employés en agriculture comme notamment le tebuconazole, un fongicide très utilisés dans l'agriculture des céréales et reconnu comme neurotoxique et perturbateur endocrinien notamment chez l'utilisateur (**Tébuconazole, Mars 2017**). Dans ce sens, notre recherche a visé à évaluer la toxicité du tebuconazole et c'en vérifiant son effet sur quelques paramètres hématologiques chez le rat et l'éventuel effet protecteur de l'extrait éthanolique de *Ruta montana* contre cette toxicité.

Les résultats obtenus par ce travail ont révélé que le tebuconazole peut induire une perturbation des paramètres hématologiques chez les rats, tout comme l'extrait éthanolique de la rue, mais ce dernier a pu réduire l'effet du tebuconazole avec certains paramètres. En effet, nos résultats ont montré que le nombre de neutrophiles a augmenté de façon significative chez les rats traités au tebuconazole par rapport au groupe témoin, ceci semblerait indiquer un effet pro-inflammatoire. Par ailleurs, certaines études *in vivo* ont montré une diminution du tau des globules blancs suite à l'exposition au tebuconazole qui pourrait être interprété comme une immunotoxicité du pesticide, qui a en effet montré auparavant, une lymphocytose chez le rat (**Koprucu et al., 2006 ; Boulakoud-Chouabia, 2016**). Alors que dans notre étude, le nombre de lymphocytes, éosinophiles, basophiles et les plaquettes n'a pas été significativement affecté par le tebuconazole.

L'administration orale du fongicide tebuconazole a induit une réduction significative de nombre de globules rouges, du tau d'hémoglobine et des monocytes circulant chez les rats traité. Une diminution du tau d'hémoglobine orienterait vers une induction de l'anémie par le tebuconazole (**DESCROIX et al., 2014**).

Dans cette étude, nous avons évalué aussi les effets protecteurs de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* contre la toxicité du fongicide tebuconazole. Il a été surprenant de constater que l'administration orale de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta montana* elle-même induit une réduction significative du nombre de lymphocytes,

monocytes et éosinophiles circulants chez les rats traités comparés aux rats témoins. Dans ce sens, il a été montré que les lymphocytes ont connu une augmentation significative chez les souris *wiss albinos* femelles et aucun changement de ces paramètres n'a été constaté chez les males traités aux alcaloïdes issus des de *Ruta montana* (Allouni, 2018). De plus, nos résultats montrent que l'extrait éthanolique de *Ruta montana* induit une augmentation significative des nombres de basophiles. Par contre, l'extrait étudié n'a pas altéré le nombre de neutrophiles, globules rouges et de plaquettes ni le tau d'hémoglobines des rats. Par ailleurs, l'étude d'Allouni, 2018 a montré qu'aucune différence significative n'a été trouvée dans les paramètres hématologiques des souris mâles à la fin du traitement par rapport au témoin. Alors que l'étude de shama et al., 2014 a montré que l'administration d'extrait éthanolique et aqueux de graines de *Ruta graveolens L* aux rats induit une diminution significative des globules blancs par rapport au groupe témoins.

Nous avons constaté dans notre étude que le traitement des rats exposés au pesticide par l'extrait de la rue a réduit l'effet du tebuconazole sur le nombre des globules rouges et des neutrophile ainsi que le tau d'hémoglobines, Alors qu'il n'a eu aucun effet protecteur concernant le nombre de basophiles et éosinophiles.



*Conclusion et perspectives*

## **Conclusion et perspectives**

Dans ce travail ; nous nous sommes intéressés à l'évaluation *in vivo* des effets du fongicide agricole Tebuconazole et de l'extrait éthanolique de *Ruta montana* sur quelques paramètres hématologiques. Les résultats obtenus indiquent que le tebuconazole a perturbé les paramètres hématologiques chez le rat. En effet, il a provoqué une augmentation du nombre de neutrophile et une diminution du nombre de monocytes. Il a également réduit le nombre des globules rouges ainsi que le tau d'hémoglobine chez les rats.

L'extrait éthanolique de *Ruta montana* fut sans effet contre cette perturbation induite par le tebuconazole à part l'augmentation du nombre de neutrophile qui a baissé suite au traitement par l'extrait de la plante étudiée. Par ailleurs, l'extrait éthanolique de *Ruta montana* a lui aussi induit quelques perturbations des paramètres hématologique, comme la réduction du nombre de monocytes, des lymphocytes ainsi que des éosinophiles et une augmentation du nombre de basophiles.

A l'issu de cette étude, il est possible de déduire que le fongicide tebuconazole employé en agriculture aurait un effet perturbateur des paramètres hématologiques (Nombre de neutrophiles, monocytes, globules rouges ainsi que le tau de l'hémoglobine) et que des effets similaires pourraient être attribués l'extrait éthanolique de *Ruta montana* (perturbation du nombre de lymphocytes, monocytes, éosinophiles et des basophiles) et ces données ne permettent pas d'attribuer un effet protecteur notoire à la plante *Ruta montana* contre les effets du tebuconazole.

Il serait intéressant d'explorer plus encore les effets du tebuconazole, notamment sur d'autres systèmes biologiques de l'homme et de chercher des protecteurs naturels plus efficaces que *Ruta montana* qui parait être aussi toxique que le fongicide lui-même.



*Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Agence nationale pour la conservation de la nature, Ministère de l'agriculture, 2001.** Connaissance, valorisation et contrôle de l'utilisation de la flore sauvage en médecine traditionnelle (Plantes Médicinales).
- Alavanja, M.C., Ross, M.K., Bonner, M.R., 2013.** Increased cancer burden among pesticide applicators and others due to pesticide exposure. *CA: a cancer journal for clinicians.* 63(2), 120-42.
- Band, P.R., Abanto, Z., Bert, J., Lang, B., Fang, R., Gallagher, R.P., Le, N.D., 2011.** Prostate cancer risk and exposure to pesticides in British Columbia farmers. *The Prostate* 71, 168–183.
- Barriuso. E, Bedos. C, Benoit. P, Calvet. R, M.-P. Charnay et Y, 2005.** Coquet, Les pesticides dans le sol : conséquences agronomiques et environnementales, Édition France Agricole.
- Bassil, K.L., Vakil, C., Sanborn, M., Cole, D.C., Kaur, J.S., Kerr, K.J., 2007.** Cancer health effects of pesticides Systematic review. *Canadian Family Physician* 53, 1704–1711.
- Belaidi, A ;Zellagui, A.; Belkassam, A.; Gherraf, N, 2012.** Environmental impact on the chemical composition and yield of essential oils of Algerian *Rutamontana* (clus.) L and their antioxidant and antibacterial activities. *Adv. Environ. Biol.*, 6, 2684–2688.
- Bellahouel S , Kambouche N, Merah B, Bouayed J, Dicko A, Derdour A, Younos C, Soulimani R.** Chemical composition and antioxidant potential of *Rutamontana* L. essential oil from Algeria. *Journal of Medicinal Food.* **2008**; 11(3):593-5.
- Bellakhdar J., 1997.** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ed Le Fennec, Paris, Ibis Press. 764p.
- Bensalah N, Zaghdoudi I, Zhioua M, Hamouda C, Amamou M, Thabet H.** Quelques spécialités de chez nous : Intoxications par les plantes, le chloralose et le méthanol.2013.
- Bonnier, G.1999.** La Grande flore en couleur; Ed : Belin; Tome 3; p:205 - 206.
- Burns, C.J., McIntosh, L.J., Mink, P.J., Jurek, A.M., Li, A.A., 2013.** Pesticide exposure and neurodevelopmental outcomes: review of the epidemiologic and animal studies. *J Toxicol Environ Health B CritRev* 16, 127–283.
- C.G-B. MARGOUM, 2010.** Thèse de doctorat Reims Champagne-Ardenne.
- Charnot A., Faure L., 1945.** La toxicologie au Maroc. Mémoire de la Soc. Sci. Nat. Du Maroc XLVII, nov, Rabat.826p.

- Claisse R.** Plantes à usage dermatologique de la pharmacopée traditionnelle marocaine. *Médicaments et aliments : L'approche ethnopharmacologique*. **1993**;172-173.
- Clevely, A et Richmond, K.** 1997. Plantes et herbes aromatiques, connaître et préparer, Larousse Paris.
- Cohn, B.A., Wolff, M.S., Cirillo, P.M., Sholtz, R.I.,** 2007. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. *Environmental Health Perspectives* 115, 1406.
- Cosentino, S.; Tuberoso, C.I.G.; Pisano, B.; Satta, M.; Mascia, V.; Arzedi, E.; Palmas, F,** **1999.** In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. *Lett. Appl. Microbiol.*, 29, 130–135.[CrossRef] [PubMed].
- Danemark,** 2006. Draft Assessment Report on the active substance tebuconazole prepared by the rapporteur Member State Denmark in the framework of Directive 91/414/EEC. Volume 3 – Annex B.6. Toxicology and Metabolism, July 2006.
- Danemark,** 2007. Assessment Report on the active substance tebuconazole prepared by the rapporteur Member State Denmark in the framework of Directive 98/8/EC. Product-type PT 8, November 2007.
- Danemark,** 2008. Addendum to Draft Assessment Report on the active substance tebuconazole Volume 3 – Annex B.6. Toxicology and Metabolism, June 2008.
- Dardalhon, M. Massy, B. Nicolas, A. et Averbeck, D. (1998).** Mitotic recombination Localized DNA double-strand breaks are induced after 8-methoxypsoralen and UVA irradiation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Curr Genet*, 34: 30–42.
- Djarri, L.; Ferhat, M.; Merabet, G.; Chelghoum, A.; Laggoune, S.; Semra, Z.; Smati, F.; Kabouche, Z,** **2013.** Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Rutamontana* from Constantine (Algeria). *Der Pharm. Lett.*, 5, 70–73.
- Dobsons, S.** 2000. *Gyogyszereszet*, 44(4), 244.
- Doerper, S.** 2008. Thèse Doctorat « Modification de la synthèse des furocoumarines chez *Rutagraveolens* L. par une approche de génie métabolique », p : 39-41
- DUGENY F., 2010 :** Produits Phytosanitaires, Risques pour l'Environnement et la santé - connaissances des usages en Zone non Agricole, Livre, p. 9.
- ECHA,** 2013. Committee for Risk Assessment RAC Opinion proposing harmonised classification and labeling at EU level of tebuconazole CLH-O-0000002717-69-02/F, June 2013.
- EFSA,** 2014. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance tebuconazole. *EFSA Journal* 2014 ;12(1) :3485.

- El Fennouni, M. (1985).** Les plantes réputées abortives dans les pratiques traditionnelles d'avortement au Maroc, Thèse de doctorat. Université, MOHAMMED V–RABAT. P-90; 91; 92.
- El Ouarti A, Sqalli H, Ennabili A, Ibsouda S, Farah A, Haggoud A, Houari A, Iraqui M.** Evaluation de l'effet antimycobactérien de plantes du centre-nord du Maroc. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*. **2007**;146: 271-288.
- FAVIER A.,** 2003. Le Stress Oxydant, Intérêt Conceptuel et Expérimental dans la compréhension des Mécanismes des Maladies et Potentiel Thérapeutique, l'Actualité chimique, 109 – 115.
- Fournier, P. (1948).** Les plantes médicinales et vénéneuses en France. France : édition Paul Lechvalier, tome III, 356-361.
- FREEDMAN B.,** 1995- Environmental Ecology: The Ecological Effects of Pollution, Disturbance, and Other Stresses. Ed. Academic Press, America. 606p.
- Freeman, L.E.B., Bonner, M.R., Blair, A., Hoppin, J.A., Sandler, D.P., Lubin, J.H., Dosemeci, M., Lynch, C.F., Knott, C., Alavanja, M.C.,** 2005. Cancer incidence among male pesticide applicators in the Agricultural Health Study cohort exposed to diazinon. *American journal of epidemiology* 162, 1070–1079.
- J. BOLAND ; I.KOOMEN ; J. VAN LIDTH ; D.E. JEUDE ; J.OUDEJANS,** 2004. Les Pesticides compositions, utilisation et risques. Editions Agrodok.
- Kjaerstad, M.B., Taxvig, C., Nellemann, C., Vinggaard, A.M. and Andersen, H.R. (2010)** Endocrine disrupting effects *in vitro* of conazole antifungals used as pesticides and pharmaceuticals. *Reprod. Toxicol.* **30**: 573-582.
- Lahsissene H, Kahouadj A, Tijane M & et Hseini S.** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). *Lejeunia, Revue de Botanique*. **2009** ; BE ISSN 0457-4184, N° 186.
- Lemery, N.** 1732. Traité universel de drogues simples, mise en ordre alphabétique, 4ème édition, p : 734-735.
- LEYRAL G., VIERLING E.,** 2007- Microbiologie et toxicologie des aliments: Hygiène et sécurité alimentaires. Ed: 4. Wolters Kluwer, France. 287p.
- Marques-Pinto, A., Carvalho, D.,**2013. Human infertility: are endocrine disruptors to blame? *Endocrine connections* 2, R15–R29.
- McDuffie, H.H., Pahwa, P., McLaughlin, J.R., Spinelli, J.J., Fincham, S., Dosman, J.A., Robson, D., Skinnider, L.F., Choi, N.W.,** 2001. Non-Hodgkin's Lymphoma and

- Specific Pesticide Exposures in Men Cross-Canada Study of Pesticides and Health. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 10, 1155–1163.
- McGowan, J.E., Jr, 2006.** Resistance in nonfermenting Gram-negative bacteria: Multidrug resistance to the maximum. *Am. J. Infect. Control*, 34, S29–S37. [[CrossRef](#)]
- Merghem M, Dahamna D, 2020.** In -Vitro Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Vitro Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Vitro Antioxidant Activity and Total Phenolic Rutamontana L. Extracts , *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*; 10(2):69-75.
- Mohammedi, H.; Mecherara-Idjeri, S.; Hassani, A, 2020.** Variability in essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activities of Rutamontana L. collected from different geographical regions in Algeria. *J. Essent. Oil Res*, 32, 88–101. [[CrossRef](#)]
- Moser, V.C., Barone, S., Smialowicz, R.J., Harris, M.W., Davis, B.J., Overstreet, D., Mauney, M. and Chapin, R.E. (2001)** The effects of perinatal tebuconazole exposure on adult neurological, immunological, and reproductive function in rats. *Toxicol. Sci.* 62: 339-352.
- MRABET K.EL., 2006.** Thèse doctorat "Développement d'une méthode d'analyse de résidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem dans les matrices céréalières après extraction en solvant chaud pressurisé" . Université Pierre et Marie Curie.
- Nordkap, L., Joensen, U.N., Blomberg Jensen, M., Jørgensen, N., 2012.** Regional differences and temporal trends in male reproductive health disorders: semen quality may be a sensitive marker of environmental exposures. *Molecular and cellular endocrinology* 355, 221–230.
- Parrón, T., Requena, M., Hernández, A.F., Alarcón, R., 2011.** Association between environmental exposure to pesticides and neurodegenerative diseases. *Toxicology and applied pharmacology* 256, 379–385.
- Pathak et Fitzpatrick, 1992.** The evolution of photochemotherapy with psoralens and UVA (PUVA): 2000 BC to 1992 AD
- Pesticides Research, 2007.** University of Southern Denmark, Institute of Public Health, Effects of azole fungicides on the function of sex and thyroid hormones. No :111.
- Porter, W.P., Green, S.M., Debbink, N.L. and Carlson, I. 1993.** Groundwater pesticides: interactive effects of low concentrations of carbamates aldicarb and methomyl and the

triazinemetribuzine on thyroxin and somatotropin levels in white rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 40: 15-34.

**R. CALVET**, 2005. Les pesticides dans le sol. Edition France Agricole

### **Références bibliographiques**

**Roelandts, R. (2002)**. Mutagenicity and carcinogenicity of methoxsalen plus UV-A. *Arch Dermatol*, 120: 9- 662.

**Saunders, N.A.; Lee, M.A. Real-Time PCR**, 2013: Advanced Technologies and Applications; Horizon Scientific Press: Salisbury, UK.

**Soković, M.; Marin, P.D.; Brkić, D.; Van Griensven, L.J.L.D, 2007**. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of ten aromatic plants against human pathogenic bacteria. *Food Glob. Sci. Book*, 1, 220–226.

**Takhtajan, A. (2009)**. Flowering Plants; Ed 2: Springer; p: 33 - 41, 375.

**Taxvig, C., Hass, U., Axelstad, M., Dalgaard, M., Boberg, J., Andeasen, H.R. and Vinggaard, A.M. (2007)** Endocrine-disrupting activities *in vivo* of the fungicides tebuconazole and epoxiconazole. *Toxicol. Sci.* **100**: 464-473.

**Toker, G., Turkoz, S et Erdemoglu, N. 1998**. *J. Nat. Prod.*, 20(4), 240.

**Touati D, Rahman A U, Ulubelen A. Alkaloids from *Rutamontana*. *Phytochemistry*. 2000;53 (2): 277- 279.**

**Ulubelen A. A new alkaloid, montanine, from ruta Montana. *Journal of Natural Products*. 1990; 53, N°1: 207-208.**

**US-EPA, 2015**. EDSP Weight of Evidence Conclusions on the Tier 1 Screening Assays for Tébuconazole, June 2015.

**Wiert, C. (2006)**. Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future; Ed: WORLD SCIENTIFIC; p: 401 - 416.