

**République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement
Supérieur Et de La Recherche Scientifique**

Université de Ghardaïa



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

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Par :

ABDELALI Sirine Malak

Thème

**Etude de l'activité insecticide des extraits
des feuilles de *Ruta graveolens* récolté de
région de Ghardaïa**

Soutenu publiquement le : 12/06/2024

Devant le jury :

M. BELGUIDOUM Mahdi	Maître de conférence A	Université de Ghardaïa	Président
Mm.BENSANIA Wafa	Maître Assistant A	Université de Ghardaïa	Encadreur
Melle. ROUARI Linda	Maître Assistant B	Université de Ghardaïa	Co-encadreur
Melle. SEDDIKI Malika	Maître Assistant A	Université de Ghardaïa	Examinatrice

Année universitaire 2023/2024



Remerciements



En introduction à ce mémoire, nous souhaitons d'abord exprimer notre gratitude envers الله le tout-puissant et miséricordieux, qui nous soutient et qui nous a accordé la force, le courage et la patience nécessaires pour mener à bien ce véritable travail. Je souhaite exprimer ma gratitude envers toutes les personnes qui ont participé à la réussite de mon stage et qui m'ont apporté leur aide lors de la rédaction de ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers mon encadrante madame *Ben Sania wafaa* et madame *Rouari linda*, qui m'a accompagné tout au long de ce travail. Son soutien et sa précieuse contribution ont été inestimables pour la réussite de ce projet.

J'adresse mes remerciements à monsieur *Belguidoum Mahdi*, maître de conférence de département de biologie, d'avoir présider notre soutenance, et madame *seddiki malika*, maître de conférence de département de biologie, Université de Ghardaïa.

Un grand remerciement s'adresse au *Buchamouda Hicham* notamment pour efforts dans la réalisation des analyses de *HPLC*

Mes vifs remerciements s'adressent aussi aux responsables des laboratoires notamment : *Moulai Omar Ali*, *Ben Hamouda Hicham*, *Moulai Abdallah Bachir*.

Je voudrais également exprimer ma reconnaissance envers mes parents qui m'ont apporté un soutien immense. Leurs encouragements et leur présence ont été une source d'inspiration et de motivation pour moi.

J'ai l'honneur de vous exprimer mes sincères remerciements. Je voudrais également remercier tous les enseignants, les conférenciers et les personnes honorables qui ont guidé ma pensée par leurs paroles, leurs écrits et leurs conseils. Je voudrais également remercier ma famille qui m'a soutenu contre vents et marées et qui a cru en moi plus que un autre.

Enfin, à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail veuillez bien accepter ici l'expression de ma gratitude.

Dédicaces

À mes chers parents : Lakhdar, A et O, F Quici que je dise ou fasse, je ne vous remercierai jamais assez .

*Grâce à votre soutien, vos encouragements, votre gentillesse et votre présence, j 'ai réussi. J'espère que vous êtes fiers de moi et que j 'ai pu vous faire honneur. À mes chers frères : Naser Eddine et behafés
À mes sœurs : Nadjat Zahia Jemaa Nabila Sondos*

À toute ma famille, Abdelali et Feniche. Merci pour votre soutien moral, votre confiance et vos conseils qui m 'ont aidé dans les moments difficiles. Je vous souhaite bonheur et réussite dans vos vies

À mes cher nièces: assma anes abdelnour fouad mcuad souhib mchammed loudjine alaa wassim riad .

À mes cher amis d'enfance Hadjer et Marwa

À mes amies, djomana, Amal, Kawthar, chaimaa, scumaia, Aïsha et Wassima imane nassira amal.

Mes proches: Safia ,meriem, hadjira , Ibtisam, Salsabil

À ma tante et à mes grands-parents, que Dieu ait pitié d'eux.

À toutes les personnes qui m 'ont accompagnée dans cette recherche et qui m 'ont soutenue.

Merçi beaucoup, que Dieu vous bénisse. ان شاء الله.

Sirine masak



Résumé

Les dégâts causés par les insectes aux stocks de céréales et de légumineuses ont fait l'objet de nombreuses études en Afrique. L'objectif principal de ce travail consiste de trouver des substances naturelles avec un effet insecticide contre le ravageur de la fève : *Bruchus rufimanus* en utilisant les extraits des feuilles de la plante *Ruta graveolens* (*Rutaceae*) de la région de Zelfana - Ghardaïa comme une alternative aux pesticides synthétiques pollueurs de l'environnement. Les feuilles de la plante ont été soumises à une extraction par macération dans deux solvants : acétate d'éthyle et éthanol. L'analyse qualitative réalisée par un screening phytochimique a déterminé la présence de plusieurs composés chimique en particulier les flavonoïdes, les tannins, les stéroïdes et les alcaloïdes. L'étude de l'activité insecticide des extraits de *R. graveolens* a montré un effet toxique très fort sur les adultes de *Bruchus rufimanus* avec un traitement par contact, notamment pour l'extrait acétate d'éthyle. Cette efficacité est représentée par des paramètres toxicologiques calculés, à savoir DL₅₀, DL₉₀, TL₅₀ et TL₉₀. La sensibilité des adultes était variable et encore plus élevée avec l'augmentation des concentrations d'extrait et avec le temps d'exposition. Le fractionnement d'extrait d'acétate d'éthyle par des méthodes chromatographiques (chromatographie sur colonne et en couche mince) permet d'obtenir six fractions qu'elles ont confirmé la toxicité des différents composés des feuilles de cette plante. L'identification des substances bioactives contenues dans les fractions d'extrait de *R. graveolens* est effectuée par une chromatographie liquide a haut performance (HPLC) qu'elle a permis de détecter la présence : Acide chlorogenic, Acide tannique, Quercetine, Adonitol, Acide gallique, Acide coumarique, Acide caféique, Acide ascorbique. Dans le cadre de la lutte biologique, l'application de ce produit insecticide ça pourrait être très efficace contre les ravageurs et pour la protection des stocks des légumineuses.

Mots clés: effet insecticide, *Bruchus rufimanus* , *Ruta graveolens*, chromatographie sur colonne, HPLC.

Abstract

The damage caused by insects to cereal and legume stocks has been the subject of numerous studies in Africa. The main aim of this work is to find natural substances with an insecticidal effect against the bean pest *Bruchus rufimanus*, using extracts from the leaves of the *Ruta graveolens* plant (Rutaceae) from the Zelfana - Ghardaïa region as an alternative to synthetic pesticides that pollute the environment. The plant leaves were extracted by maceration with two solvents: ethyl acetate and ethanol. Qualitative analysis using phytochemical screening determined the presence of several chemical compounds, in particular flavonoids, tannins, steroids and alkaloids. The study of the insecticidal activity of *R. graveolens* extracts showed a very strong toxic effect on *Bruchus rufimanus* adults with contact treatment, particularly for the ethyl acetate extract. This efficacy is represented by calculated toxicological parameters, namely LD₅₀, LD₉₀, TL₅₀ and TL₉₀. The sensitivity of adults was variable and even higher with increasing extract concentrations and exposure time. Fractionation of ethyl acetate extract using chromatographic methods (column and thin layer chromatography) yielded six fractions, which confirmed the toxicity of the various compounds in the leaves of this plant. The bioactive substances contained in the *R. graveolens* extract fractions were identified using high-performance liquid chromatography (HPLC) which allows to detect the presence of: Chlorogenic acid, Tannic acid, Quercetin, Adonitol, Gallic acid, Coumaric acid, Caffeic acid, Ascorbic acid. In the context of biological control, the application of this insecticidal product could be very effective against pests and for the protection of legume stocks.

Key words: Insecticidal effect, *Bruchus rufimanus*, *Ruta graveolens*, column chromatography, HPLC.

الملخص

كانت الأضرار التي تسببها الحشرات لمخزون الحبوب والبقوليات موضوع العديد من الدراسات في أفريقيا. الهدف الرئيسي من هذا العمل هو العثور على مواد طبيعية ذات تأثير مبيد للحشرات ضد آفة الفول *Bruchus rufimanus*، باستخدام مستخلصات من أوراق نبات *R. graveolens* (Rutaceae) من منطقة زلفانة - غرداية كبديل للمبيدات الاصطناعية التي تلوث البيئة. استخلصت أوراق النبات بالنقع في مذيبين: أسيتات الإيثيل والإيثانول. وحدد التحليل النوعي باستخدام الفحص الكيميائي النباتي وجود العديد من المركبات الكيميائية، ولا سيما مركبات الفلافونويد والعفص والمنشطات والقلويدات. أظهرت دراسة نشاط المبيدات الحشرية لمستخلصات *R. graveolens* تأثيراً ساماً قوياً جداً على البالغين من نوع *Bruchus rufimanus* مع المعالجة بالتلامس، خاصة بالنسبة لمستخلص أسيتات الإيثيل. وتمثلت هذه الفعالية من خلال متغيرات السمية المحسوبة (DL_{50} , DL_{90} , TL_{50} و TL_{90}). وكانت حساسية البالغين متغيرة بل وأعلى مع زيادة تركيزات المستخلص ووقت التعرض. وقد أسفرت تجزئة مستخلص أسيتات الإيثيل باستخدام طرق كروماتوغرافية (كروماتوغرافيا العمود والطبقة الرقيقة) عن ستة اجزاء (fraction) أكدت سمية المركبات المختلفة في أوراق هذا النبات. تم تحديد المواد النشطة بيولوجياً الموجودة في اجزاء مستخلص نبات *R. graveolens* باستخدام كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء (HPLC) مما يجعل من الممكن اكتشاف وجود: حمض الكلوروجينيك، وحمض التانيك، والكيرسيتين، والأدونيترول، وحمض الجاليك، وحمض الكوماريك، حمض الكافيك، حمض الأسكوربيك. في سياق مكافحة البيولوجية، يمكن أن يكون تطبيق هذا المنتج المبيد للحشرات فعالاً جداً ضد الآفات ولحماية مخزون البقوليات.

الكلمات المفتاحية: تأثير مبيد الحشرات، *Bruchus rufimanus*، *Ruta graveolens*، كروماتوغرافيا العمود، تحليل السائل عالي الأداء، HPLC.

Liste des tableaux

Tableau.....	Titre.....	Page
Tableau 1:	Screening phytochimique de différents extraits de <i>Ruta graveolens</i>	17
Tableau 2:	Les systèmes solvant et les proportions pour la CCM.....	24
Tableau 3 :	Caractérisation organoleptique des extraits de <i>Ruta graveolens</i>	28
Tableau 4 :	Screening photochimique des extraits des feuilles de <i>Ruta graveolens</i>	31
Tableau 5:	Valeurs de doses létales d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de <i>Ruta graveolens</i>	39
Tableau 6:	Valeurs de doses létales d'extrait éthanolique des feuilles de <i>Ruta graveolens</i>	40
Tableau 7:	Valeurs de temps létales d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de <i>Ruta graveolens</i>	40
Tableau 8:	Valeurs de temps létales d'extrait éthanolique des feuilles de <i>Ruta graveolens</i> . .	41
Tableau 9:	Résultat d'intégration d'analyses d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de <i>Ruta graveolens</i> par HPLC	45

Liste des figures

Figure.....	Titre.....	Page
Figure 1 :	Carte de la situation géographique de la région d'étude (Zelfana).	7
Figure 2 :	Feuilles et fleurs de <i>Ruta graveolens</i>	8
Figure 3 :	Planche botanique de rue	10
Figure 4 :	Vue dorsale de <i>Bruchus rufimanus</i>	12
Figure 5 :	Cycle du développement de la bruche (Site1)	13
Figure 6 :	Protocole de préparation des extraits	15
Figure 7 :	Graines des fèves (<i>Vicia faba</i>) infestée.	18
Figure 8 :	Test de la toxicité sur <i>Bruchus rufimanus</i>	19
Figure 9 :	La colonne de chromatographie avant et après l'entassement de l'extrait d'acétate d'éthyle.....	23
Figure 10 :	Migration sur la plaque CCM.	25
Figure 11 :	Plaque CCM sous la lampe UV et après révélation.....	26
Figure 12 :	Thermo Scientific Vanquish UHPLC.....	27
Figure 13 :	Rendement d'extraction de différents extraits de <i>Ruta graveolens</i>	29
Figure 14:	Toxicité d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de <i>Ruta graveolens</i> contre les adultes de <i>Bruchusrufimanus</i>	34
Figure 15:	Toxicité d'extrait éthanolique des feuilles de <i>Ruta graveolens</i> contre les adultes de <i>Bruchusrufimanus</i>	34
Figure 16 :	Cinétique de mortalité des imagos de <i>Bruchus rufimanus</i> traités par l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de <i>Ruta graveolens</i>	37
Figure 17:	Cinétique de mortalité des imagos de <i>Bruchus rufimanus</i> traités par l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Ruta graveolens</i>	38
Figure 18 :	Toxicité des fractions d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de <i>Ruta graveolens</i> contre les adultes de <i>Bruchus rufimanus</i>	43
Figure 19 :	Chromatogramme d'analyses d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de <i>Ruta graveolens</i> par HPLC	44

Liste des abréviations

DL25 : Dose létale 25.

DL50 : Dose létale 50.

DL90 : Dose létale 90.

DMSO : diméthylsulfoxyde.

HE : Huile essentielle.

Mg/ml : Milligramme par millilitre.

MS : matière sèche.

ND : Non déterminé.

R : Rendement.

UV : Ultra violé.

Ruta G: *Ruta graveolens*.

CC: chromatographie sur colonne.

CCM: chromatographie sur couche mince.

Nm: nanomètre.

HPLC: chromatographie liquide a haut performance.

FAO: food and Agriculture Organization of the United Nations.

ONU: Organisation des Nations Unies.

Table des matières

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Présentation de la zone d'étude.....	7
2. Matériel biologique.....	8
2.1. Matériel végétal.....	8
2.1.1. Présentation de la plante (<i>Ruta graveolens</i>).....	8
2.2. Matériel animal.....	10
2.2.1. Présentation de <i>Bruchus rufimanus</i>	11
3. Méthodologie.....	13
3.1. Préparation de la poudre végétale.....	13
3.2. Préparation des extraits.....	14
3.2.1. Mode opératoire.....	14
3.3. Détermination du rendement d'extraction.....	16
3.4. Criblage phytochimique.....	16
3.5. Evaluation de l'activité insecticide.....	18
3.5.1. Etude de la toxicité.....	18
3.5.2. Méthodes d'analyse et exploitation des résultats.....	20
3.6. Fractionnement des extraits.....	21
3.6.1. Chromatographie sur colonne.....	21
3.6.2. Analyse chromatographique sur couche mince.....	23
3.7. Tests de toxicité des fractions obtenues.....	26
3.8. Analyses chromatographiques des extraits par HPLC.....	27

Chapitre II: Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction.....	28
2. Criblage phytochimique.....	31
3. Activité insecticide.....	34
3.1. Taux de mortalité.....	34
3.2. Cinétique de la mortalité.....	37
3.3. Efficacité de l'activité.....	39
3.3.1. Doses létales.....	39
3.3.2. Temps létales.....	40

3.4. Tests de toxicité des fractions obtenues.....	42
3.5. Analyses chromatographiques des extraits par HPLC.....	43
Conclusion.....	46
Références bibliographiques.....	48

Introduction

Introduction

L'histoire de l'être humain est étroitement liée à celle des céréales à paille qu'il a très tôt appris à domestiquer et à cultiver. Les céréales jouent un rôle essentiel dans le système agricole à l'échelle mondiale. On les considère comme la principale source de nourriture pour l'homme et l'animal. (Slama *et al.*, 2005). Elles constituent 50 % de la consommation moyenne d'énergie de l'homme et 60 % des matières premières utilisées dans la production d'aliments composés pour le bétail. (Yahla, 2023). Néanmoins, l'ONU a proclamé 2016 l'année internationale des légumineuses et encourage l'intégration de ces aliments extrêmement nutritifs dans les régimes alimentaires à travers le globe. (Rio, 2017).

On estime que les légumineuses sont les plantes à graines les plus cultivées par l'homme. (Roudane, 2018). Elles jouent un rôle essentiel et forment avec les céréales l'épine dorsale du système alimentaire (Laib et Barkat, 2011). Ainsi, Elles sont la principale source locale de protéines dans les pays en développement et une source d'énergie prometteuse. Effectivement, les légumineuses sont deux ou trois fois plus riches en protéines que les céréales et renferment les 24 acides aminés essentiels à l'alimentation humaine. (Damerdji et Bouklikkha, 2009). Elles offrent aussi de nombreux éléments minéraux indispensables tels que le fer et le calcium. Dans la majorité des pays à faible revenu, les légumineuses représentent environ 10 % de la consommation quotidienne de protéines et 5 % de l'apport énergétique. (Hamdani, 2012).

Selon la FAO, les résidus des légumineuses contiennent une quantité plus importante d'azote et contribuent à enrichir le sol en cet élément. De cette manière, les cultures suivantes peuvent également profiter indirectement de l'azote fixé par ces légumineuses. De cette manière, elles permettent de faire des économies de tonnes d'engrais, et dans les sols très pauvres en azote, comme les zones tropicales, elles peuvent être efficaces comme une alternative à la fertilisation, en particulier dans les pays en développement. (Roudane, 2018).

En Algérie, les légumineuses occupent une position privilégiée aux côtés des céréales dans les repas quotidiens. De cette manière, la culture des légumineuses revêt une grande importance car elle doit répondre aux besoins alimentaires, diminuer les importations et réduire la dépendance économique à l'égard de l'étranger. (Hamdani, 2012).

Cependant, la fève est la légumineuse alimentaire la plus importante, avec une superficie de 58 000 hectares, soit 44,3 % de la superficie totale consacrée à cette catégorie de culture.

(Boussad et Doumandji, 2004). En 2014, elle se situe en première place des légumes secs avec 375441 hectares, soit 48,29% de la superficie totale des légumineuses. **(Zerroudi et Kadi, 2021).**

La fève, également connue sous le nom de (*Vicia faba*), est une légumineuse qui a longtemps été utilisée en agriculture. **(Zerroudi et Kadi, 2021).** Elle est présentée une valeur nutritionnelle très élevée dont elle est riche en protéines (25%) et en glucides (53%)**(Mezani, 2011; Chebili et Chebiri, 2021).** Elle est parmi les légumineuses à graines la plus répandue pour l'alimentation humaine au Maghreb, avec le pois chiche (*Cicer arietinum T.*), le pois (*Pisum sativum C.*), la lentille (*Lens culinaris L.*) et le haricot (*Phaseolus vulgaris L.*). Plus de 80% des surfaces réservées aux légumineuses alimentaires sont occupées par ces espèces, dont plus de 50 % en Chine, 20 % en Afrique du Nord et moins de 10 % en Europe. **(Zerroudi et Kadi, 2021).**

Cependant, ces cultures stratégiques subissent des pertes considérables pendant les premières étapes de la production ainsi qu'après la récolte, en particulier pendant le stockage au quel d'immenses quantités de légumineuses sèches sont perdues chaque année en raison des mauvaises conditions de stockage **(Damerdji et Boukhlikha, 2009; Laib, 2014).** L'homme rencontre de nombreuses difficultés pour conserver ses produits agricoles et alimentaires, ainsi que pour les préserver contre les attaques des insectes, tant dans les plantations que dans les stocks, d'où la réduction de la qualité de nourriture et de sa valeur nutritionnelle **(Doumandji mitiche, 1977; Damerdji et Boukhlikha, 2009).**

Au niveau mondial, différents ennemis attaquent les produits stockés, se répartissant en trois groupes principaux : les moisissures, les insectes et les rongeurs (rats et souris). **(Ndomo et al., 2009; Djelouat, 2021).**

Les dégâts causés par les insectes aux stocks de légumineuses sont immenses et compromettent sérieusement la sécurité alimentaire **(Brice et al., 2016).**

Parmi lesquels, sitone du pois (*Sitona lineatus*) le puceron noir (*Aphis fabae*) et la bruche de la fève (*Bruchus rufimanus*) **(Aoudjit, 2014).** Leurs actions sont d'autant plus préjudiciables dans de nombreux pays en développement, et plus particulièrement dans ceux d'Afrique, en raison des conditions climatiques favorables à leur croissance. **(Ndomo et al., 2009).** Au Nord du Cameroun, les insectes entraînent des pertes considérables lors de la

conservation et de l'entreposage des récoltes en greniers. (**Kouninki, 2007**) et encore au Sénégal et en Afrique occidentale (**Guèye et al., 2011**).

En Algérie, tous les superficies cultivées en fève sont touchés par la bruche, ce qui entraîne de graves dommages où plus de 64% des graines peuvent être infectées. (**Amara et Bouarroudj, 2020**).

Les œufs sont pondus par les adultes sur les gousses, puis la larve creuse un petit trou dans la gousse et pénètre dans la graine en développement où son cycle de vie se déroulera. (**Zerroudi et Kadi, 2021**).

Les bruches (Bruchinae) sont une sous famille des insectes de la famille des Chrysomèles (chrysomelidae) qui sont des coléoptères. Il s'agit d'insectes phytophages qui colonisent dans les cultures pendant la période de floraison de leur plante hôte et ne se reproduisent que sur les gousses vertes. Ce genre sont comporte d'environ 300 espèces se trouvent dans toute la région eurasiatique et en Amérique. *B. rufimanus* est le ravageur le plus redoutable, il se développe à l'état larvaire à l'intérieur des graines des légumineuses du genre *Vicia*, ce qui les rend non commercialisables et inconsommables. (**Mezani, 2016**). Egalement, On les estime comme les plus nuisibles pour les légumineuses potagères et fourragères, en particulier la famille des Fabaceae. Ils ont la capacité de causer des dégâts au champ, mais surtout de nuisibles aux stocks de graines. (**Aziri, 2015**).

La bruche de fève est une espèce monovoltine (une seule génération par an). Les femelles adultes pond les œufs sur les gousses de leur plante hôte. Leur alimentation repose sur le pollen et ils ne causent pas des dégâts importants. En revanche, les larves se développent en consommant les réserves présentes dans les graines pour se nourrir. et laissent un trou circulaire reconnaissable. Les grains endommagés rendant impropres à la consommation (**Aoudjit, 2014; Bachi et Mahmoudi, 2017 ; Chebili et Chebiri, 2021**). Vu l'importance de la fève sur le plan alimentaire et agronomique, il est nécessaire d'envisager des méthodes de lutte appropriées pour limiter ou réduire les dommages aux cultures causés par les populations de *B. rufimanus* (**Mezani, 2016**).

Les infestations d'insectes et d'acariens sont l'une des causes majeures de la détérioration et du déclin de la valeur marchande des aliments entreposés. Malgré les progrès réalisés au niveau des méthodes de gestion appliquées durant l'entreposage et la diversité des produits chimiques (fumigatoires, produits de contact, etc.), les ravageurs animaux continuent

à provoquer d'importants dégâts au niveau des stocks. Cela est en grande partie attribuable à la capacité d'adaptation et de multiplication du ravageur dans des conditions relativement exposées. Il en est résulté une résistance des insectes à de nombreuses molécules chimiques (**Sinha et Watters, 1985**). Cette capacité d'adaptation élevée permet aussi de se développer dans des environnements écologiques très différentes (**Bourarach et al., 1994**).

En outre, les insecticides chimiques peuvent causer une intoxication persistante chez les consommateurs et avoir des conséquences néfastes sur l'écosystème. De plus, lorsqu'il s'agit de stockage à petite échelle, l'emploi de produits chimiques n'est pas toujours rentable en raison des coûts qui sont souvent beaucoup plus élevés que les bénéfices. (**Semacumu et al., 2012**). Il est donc nécessaire de trouver une méthode de contrôle efficace pour limiter les pertes causées par l'un des principaux ravageurs des semences, tels que les Coléoptères : *Bruchus rufimanus* (**Hamdani, 2012**).

Dans le cadre de la recherche à des méthodes alternatives de lutte afin de réduire l'utilisation de pesticides chimiques et de protéger l'environnement, le règne végétal offre beaucoup de possibilités que s'appelle la lutte biologique (**Bounechada et Arab, 2011**). Cette dernière est une méthode vise à éliminer les insectes nuisibles en par l'utilisation de manière rationnelle leurs ennemis naturels. (**Roudane, 2018**).

Actuellement, plusieurs travaux visent à inventer des méthodes alternatives de lutte contre les ravageurs présent dans les aliments stockés, en soulignant le potentiel des insecticides naturels et des substances inertes pour améliorer la protection des cultures sans présenter de danger (**Cissokho et al., 2015**). En effet, plus de 59 familles et 188 genres de plantes sont utilisées pour combattre les insectes nuisibles. Ces plantes contiennent des substances qui ont des propriétés anti-appétantes, répulsives ou même insecticides (**Kouassi, 2001**).

Depuis l'Antiquité, les végétaux et les produits végétaux ont été présentés à afficher non seulement de leurs avantages pharmacologiques, mais d'autres propriétés biologiques. De fait certains organes, tels que les feuilles, les fleurs, les fruits, etc., possèdent des propriétés anti-paludisme, bactéricides, fongicides, acaricides, etc., peuvent être aussi utilisées comme insecticides (**Seri-Kouassi et al., 2004; Bounechada et Arab, 2011 ; Benhissen et al., 2019**).

D'ailleurs, l'utilisation des extraits de plantes comme insecticides ont des avantages intéressants comme leur action rapide, leur biodégradabilité, une faible toxicité sur

les mammifères, la sélectivité et un impact minimale sur les plantes. Autant, et comme ils ont des mécanismes d'action différents, le développement d'une résistance chez les insectes est limité. (**Hamdani, 2012**).

Les plantes se défendent contre les ennemies ravageurs par la production des métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes, les composés phénoliques, les terpènes, les stéroïdes, les huiles essentielles, les lignines, ... qui ont d'importantes propriétés biologiques contres les insectes nuisibles (**Hamdani, 2012**). Par conséquent, les molécules actives peuvent varier d'une famille à une autre et au sein d'une même famille, et que la sensibilité peut différer pour un insecte donné d'un stade à l'autre (**Guèye et al., 2011**). Aussi, les principes actifs sont inégalement répartis dans les différentes parties ou organes de la plante du fait de la spécialisation de ses cellules. Par fois ils sont concentrés dans une seule partie de la plante. Chaque partie de la plante produit des substances différentes à des propriétés différentes. Certaines parties d'une plante produisent des principes actifs, tandis que d'autres produisent des substances toxiques. Il s'agit de l'espèce de la Rue, qui est un grand guérisseur, tandis que sa tige et ses feuilles contiennent les alcaloïdes qui les rendent très toxiques (**Bouraada et al., 2017**).

La rue (*Ruta graveolens*), aussi appelée herbe-de-grâce ou péganion (**Duval, 1992**), est un sous-arbrisseau appartenant à la famille des Rutacées qui comprend environ 1900 espèces on les trouve dans les régions tempérées et chaudes. et considérée comme originaire de la région méditerranéenne (**Al-Anbagi et al., 2021; Salmi et Maifi, 2021**). Cette plante possède des propriétés médicinales, depuis l'Antiquité il est utilisé par les Grecs et les Romains comme médicament pour traiter différentes affections telles que les problèmes oculaires, les rhumatismes, la dermatite, la douleur et de nombreuses affections inflammatoires (**Al-Anbagi et al., 2021**). Sur le plan biologique, il a été rapporté que *R. graveolens* possède un large éventail d'activités pharmacologiques, notamment une activité antioxydante, insectifuge, larvicide, anti-microbienne, anti-dépressive, anti-hyperglycémiant, anti-hyperlipédique, anti-inflammatoire (**Attia et al., 2018**).

Ces activités biologiques ont été attribuées à la présence de grande variété des métabolites secondaires fortement aromatiques en raison de la présence des huiles essentielles. (**Derbal et al., 2023**) a identifiés plus de 100 composés, variant de sa nature et ses teneurs selon l'espèce, le stade de développement et la distribution géographique (**Hammiche et Azzouz, 2013**). Généralement, les feuilles et les jeunes tiges contiennent

saponines, phénols, acides aminés, flavonoïdes et alcaloïdes. Ils contiennent également des glucosides d'acridone, du gravacridondiol, les époxydes d'acridone et la rutacridone. De plus, les composés oxygénés y compris les cétones, les aldéhydes, les alcools et les esters ont prévalu dans les huiles essentielles de feuilles, fruits, fleurs, tiges et racines de cette plante (**Attia et al., 2018**).

Selon les rapports, les huiles essentielles obtenues à partir de fruits, de fleurs et de feuilles sont principalement constituées d'acétate de 2-nonyle, 2-undécanone et 2-nonanone. (**Shamal Badhusha et al., 2020**).

Dans le cadre de la mise en valeur et conservation des ressources biologiques ainsi de l'élargissement du spectre d'activité biologiques des espèces locales, la présente étude vise à évaluer la toxicité des extraits des feuilles de *Ruta graveolens* récoltes de la région de Zelfana wilaya de Ghardaïa vis-à-vis le ravageur des légumineuses : *Bruchus rufimanus*.

Ce travail s'est déroulé selon la démarche suivante :

*Une introduction qui présente des généralités sur le contexte de travail ainsi que l'objectif principal de cette étude.

*La première partie du matériel et méthodes qui est consacrée à la mise en œuvre de la plante *Ruta graveolens*, d'insecte (*Bruchus rufimanus*), la préparation des extraits de Rue, caractérisation phytochimiques des différents extraits, l'évaluation de leur activité insecticide par l'étude d'un test de toxicité contre le principal ravageur de la fève ainsi une semi purification et une essaie de caractérisation des molécules bioactives à un effet insecticide potentiel.

*La deuxième partie se concentre sur l'exploitation des résultats obtenus par cette expérimentation et la discussion des résultats.

*Ce travail se conclut par une conclusion.

Chapitre I

Matériel et méthodes

Aujourd'hui, le développement de produits naturels moins nocifs pour la santé et l'environnement suscite un grand intérêt, notamment l'utilisation de biopesticides d'origine végétale comme alternatives aux pesticides synthétiques pour lutter contre les ravageurs qui ont un impact négatif sur l'économie.

De ce fait, notre recherche a porté sur l'étude de la toxicité des feuilles d'une plante aux propriétés aromatiques et médicinales : la Rue (*Ruta graveolens*), qui est récoltée de la région de Zelfana-Ghardaïa vis-à-vis le ravageur des fèves, dont *Bruchus rufimanus*.

nous avons effectué notre expérimentation durant la période du mois de Février jusqu'au mois de Juin 2024 au Laboratoire pédagogique de l'université de Ghardaïa.

1. Présentation de la zone d'étude

La matière végétale a été récoltée au niveau de la région de Zelfana (Wilaya de Ghardaïa). Cette région est située à 65 Km au Nord de la Wilaya de Ghardaïa et à 658 km au Sud d'Alger. La commune de Zelfana se localise au niveau de latitude 32° 23' Nord, 4° 13' Est et à une altitude de 355m. Elle couvre une superficie de 2220 km², limitée par la commune de El guerara au Nord, par la commune de Metlili au Sud, par la commune d'El Ateuf à l'Ouest et par la wilaya d'Ouargla à l'Est (**Figure 01**).

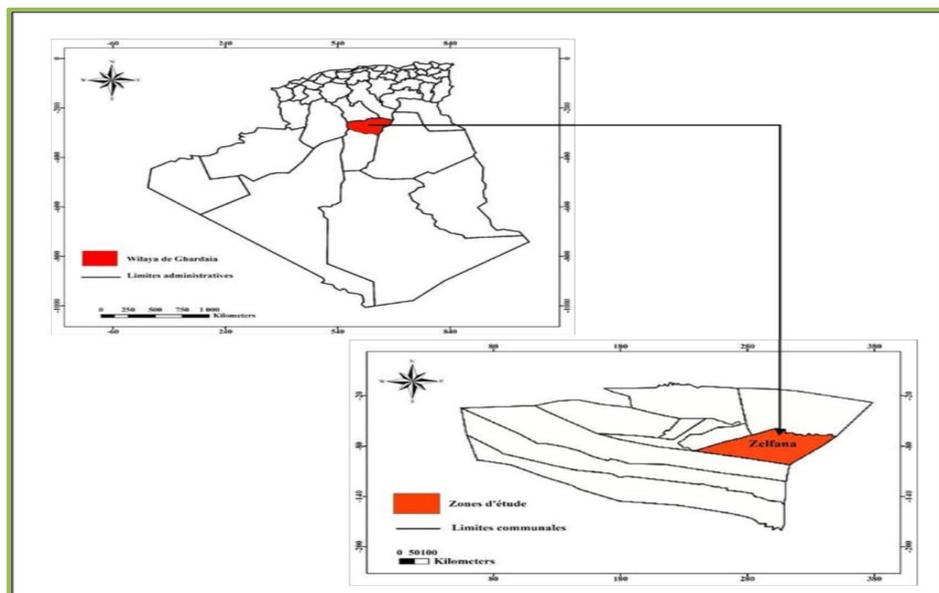


Figure 1 : Carte de la situation géographique de la région d'étude (Zelfana) (Hamel, 2023).

2. Matériel biologique

2.1. Matériel végétal

On a effectué cette étude sur les feuilles de *Ruta graveolens*. La récolte de la plante a été effectué au mois de Février dans la région de Zelfana wilaya de Ghardaïa. Cette espèce a été sélectionnée pour les raisons suivantes :

- Le point commun de l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle (traitement des maladies et des micro-organismes d'origine microbienne).
- Cette espèce est originaire de plusieurs régions du pays et est couramment utilisée comme ressource naturelle.
- Manque de recherche sur les caractéristiques insecticides de leurs extraits organiques.

2.1.1. Présentation de la plante (*Ruta graveolens*)

La famille des Rutacées, également nommée *Rutaceae*, appartient à l'ordre de Sapindales. Elle préfère les sols rocheux bien drainés et résiste au temps sec et appartenant aux pays tropicales et tempérées chaudes de globe (Hammiche et Azzouz, 2013; Salmi et Maifi, 2021). Ainsi, elle contient une très grande variété de plantes aromatiques (Ben Hadj Fredj *et al.*, 2007). L'espèce *Ruta graveolens*, communément appelé «Rue» ou «Sudab» ou «Sadab», est la plante médicinale la plus commune de cette famille (Parray *et al.*, 2012).



Figure 2 : Feuilles et fleurs de *Ruta graveolens* (Asgarpanah et Khoshkam, 2012.)

Le genre *Ruta* a été découvert par C.von Linné (**Mebarkia et Boulaares, 2023**). *Ruta* est dérivée du mot grec 'rhyté' qui signifie sauver, prévenir (**Doerper, 2008**). *graveolens* vient du latin « gravis » signifiant fort, le verbe « olere » c'est-à-dire sentir (**Derbal et al., 2023**), ayant ainsi une odeur forte et désagréable (**Messai et Touahria, 2021**). Ce genre possède un aspect chimique, en raison de la présence de nombreux composés alcaloïdiques. Ainsi, un aspect thérapeutique très intéressant en raison de l'utilisation des différentes espèces en médecine traditionnelle (Afrique, Asie et Amérique du Sud) (**Mebarkia et Boulaares, 2023**). Egalement, il comprend 8 espèces d'arbustes, sous-arbres et plantes vivaces, avec des échelles ou du bois long. En Algérie, ce genre est présenté par quatre espèces différents entre elles par l'allure des feuilles, de la grappe fructifère, des sépales et des bractées (**Alloun, 2013**). Ces espèces sont : *Ruta montana*, *Ruta graveolens*, *Ruta chalpensis* et *Ruta latifolia* (**Abdi et Tirouche, 2022**).

Ruta graveolens appelée communément rue fétide, rue des jardins ou herbe de grâce (**Gouami et Nebili, 2020**). C'est une plante vivace d'origine méditerranéenne, utilisée depuis longtemps en thérapie et en cuisine comme épice. Elle est cultivée pour la qualité aromatique et médicinale de ses feuilles. Elle est caractérisée par son goût amer et sa forte odeur (**Abderrazak et Khmaissia, 2020**). Ainsi, la rue peut se développer dans presque toutes les conditions, mais préfère un environnement sec semi- abrité (**Hamla et Hamla, 2020**).

Elle est un petit sous-arbuste très ramifié à feuilles persistantes ou une plante vivace semi ligneuse, d'environ un mètre de haut (**Gouami et Nebili, 2020; Mebarkia et Boulaares, 2023**). Les tiges deviennent boisé près de la base (**Mebarkia et Boulaares, 2023**). Ses feuilles vert foncé, sont linéaires-ovales ou oblongues de 7,6 à 12,7 cm de longueur. Elles sont disséqués dans l'ordre sous la forme d'une cuillère (**Asgarpanah et Khoshkam, 2012; Salmi et Maifi, 2021; Derbal et al., 2023**). Ses fleurs de couleur jaune sont régulières et petites (**Salmi et Maifi, 2021; Derbal et al., 2023**). Chaque fleur ont un diamètre d'environ 1,3 cm de avec quatre pétales concaves et 8 à 10 étamine (**Asgarpanah et Khoshkam, 2012**). La floraison s'étend de mai à août. (**Derbal et al., 2023**). La plante est hermaphrodite. Les fruits sont secs, arrondis, durs, à 4 ou 5 lobes au sommet, brun grisâtre et rugueux. Les graines sont ovoïdes, arrondies sur le dos, plates à l'avant (**Parray et al., 2012**).

Ruta graveolens est l'une des plantes médicinales et aromatiques qui possèdent des propriétés biologiques très intéressantes qui sont trouvées et utilisées dans divers domaines (**Derbal et al., 2023**).

En raison de la collecte aisée de la plante et de son activité biologique répandue et remarquable, cette plante est devenue un médicament dans de nombreux pays, en particulier dans la région méditerranéenne. Elle a été utilisée comme remède populaire pour diverses affections telles que les problèmes oculaires, les rhumatismes, les dermatites, la douleur et de nombreuses maladies inflammatoires et l'hypertension artérielle. (Gouami et Nebili, 2020). Il a récemment été démontré que *Ruta graveolens* avait des activités antibactériennes, analgésiques, anti-inflammatoires, antidiabétiques et insecticides (Hamla et Hamla, 2020). En revanche, la rue est toxique à forte doses (Messai et Touahria, 2021).

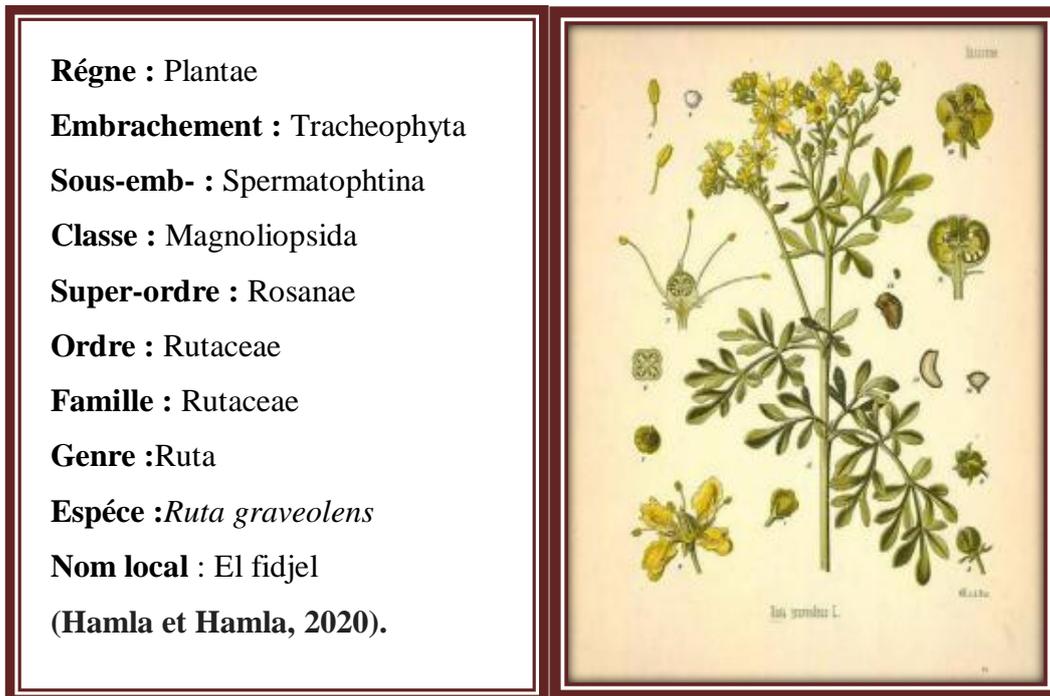


Figure 3 : Plaque botanique de rue (Maifi et Salmi, 2017)

2.2. Matériel animal

Afin d'évaluer le pouvoir insecticide des extraits des feuilles de la plante *Ruta graveolens* (Rutaceae), l'espèce animale de classe d'insectes de l'ordre de Coléoptère a été choisie, dont *Bruchus rufimanus*.

Généralement, la fève (*Vicia faba*) présente une valeur nutritionnelle très élevée ; cependant, sa culture est sujette à des contraintes biotique et abiotique notamment les ravageurs (Chebili et Chebiri, 2021). *Bruchus rufimanus* est un ravageur majeur de *V. faba* présent dans de nombreux pays et particulièrement dans les régions du monde où la féverole est cultivée (Delanglez, 2022). Alors, le choix de cette espèce se justifie par l'importance leurs dégâts sur les

denrées alimentaires stockées d'importance économique, dont en attaquant les graines et en les rendant impropres à la consommation (**Chebili et Chebiri, 2021; Hebbaz et Berramdane, 2022**). Ainsi, son élevage est facilement réalisé au laboratoire.

Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), les insectes nuisibles causent des pertes équivalentes à 35 % de la production agricole mondiale. En raison de leur efficacité et de leur application simple et pratique, l'utilisation d'insecticides chimiques est actuellement la technique la plus largement pratiquée pour lutter contre les ravageurs. Cependant, l'utilisation intensive et négligente de ces insecticides a entraîné la contamination de la chaîne alimentaire et l'apparition d'insectes résistants. L'utilisation de produits chimiques d'origine végétale semble être la meilleure option pour nettoyer et contrôler ces ravageurs (**Bounechada et Arab, 2011**).

2.2.1. Présentation de *Bruchus rufimanus*

Bruchus rufimanus (Coléoptères ; Bruchinae) est un petit coléoptère spécifique de la fève, appelé communément bruche de la fève. La bruche se développe en culture pour se retrouver en fin dans les grains stockés (**Mitache, 2017**). Il serait originaire du Bassin Méditerranéen et plus particulièrement d'Égypte (**Kacha et Kacel, 2015; Zerroudi et Kadi, 2021**). Cette espèce est cosmopolite, sa présence est signalée dans toutes les régions du monde (**Kacha et Kacel, 2015; Bachi et Mahmoudi, 2017**). L'espèce possède une aire de distribution très large qui englobe toutes les régions productrices de *V. faba* à l'échelle mondiale (**Delanglez, 2022**). En d'autres termes, cette distribution géographique est en relation qui existe entre les bruches et leurs plantes hôtes (**Bouziane Assam, 2015**).

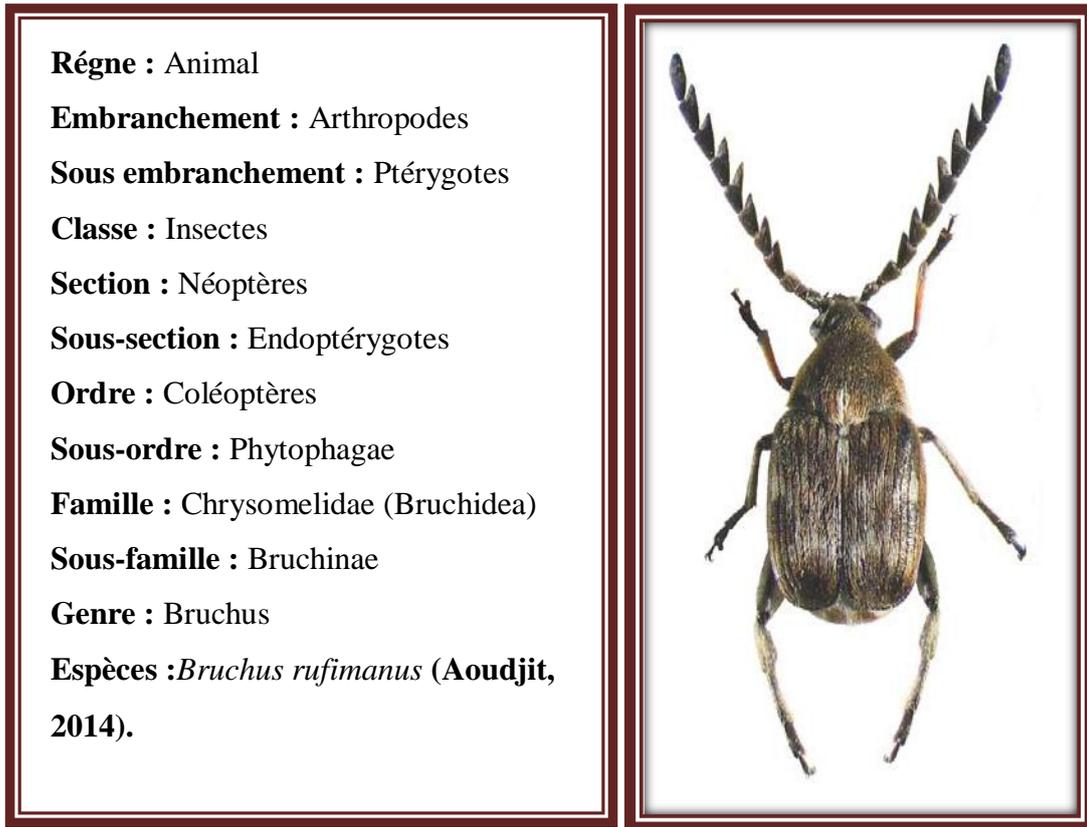


Figure 4 : Vue dorsale de *Bruchus rufimanus* (Delobel, 2008).

D'un point de vue morphologique, les adultes de *B. rufimanus* se distinguent des autres espèces par leur taille comprise entre 3 et 5 mm. L'espèce est caractérisée par un dimorphisme sexuel (présence des mâles et femelles) (Rodrigue Lugendo, 2022). Il présente une forme courte, ramassée et globuleuse moyenne. Au corps généralement trapu et de couleurs ternes (à dominance brunâtre) (Bouziane Assam, 2015). Ses pattes antérieures sont jaunes roux, par contre les pattes moyennes et postérieures sont noirs (Souayah *et al.*, 2002). La tête et le pronotum sont de couleur variant entre jaune et brune.

En mai ou juin, les adultes qui consomment le pollen et les pétales déposent des œufs à la surface des organes floraux. Une femelle peut pondre environ 50 œufs. L'évolution larvaire s'effectue parallèlement à la croissance des graines. Le développement larvaire se déroule pendant deux à trois mois et se poursuit après la récolte (Souayah *et al.*, 2002). Lorsque la larve éclos, elle pénètre dans la gousse puis dans la graine où elle se développe pour donner un adulte. Celui-ci en sortira à la faveur d'un trou bien rond. La plupart ne sortent qu'à la fin de l'Hiver ou au Printemps suivant (Mitache, 2017).

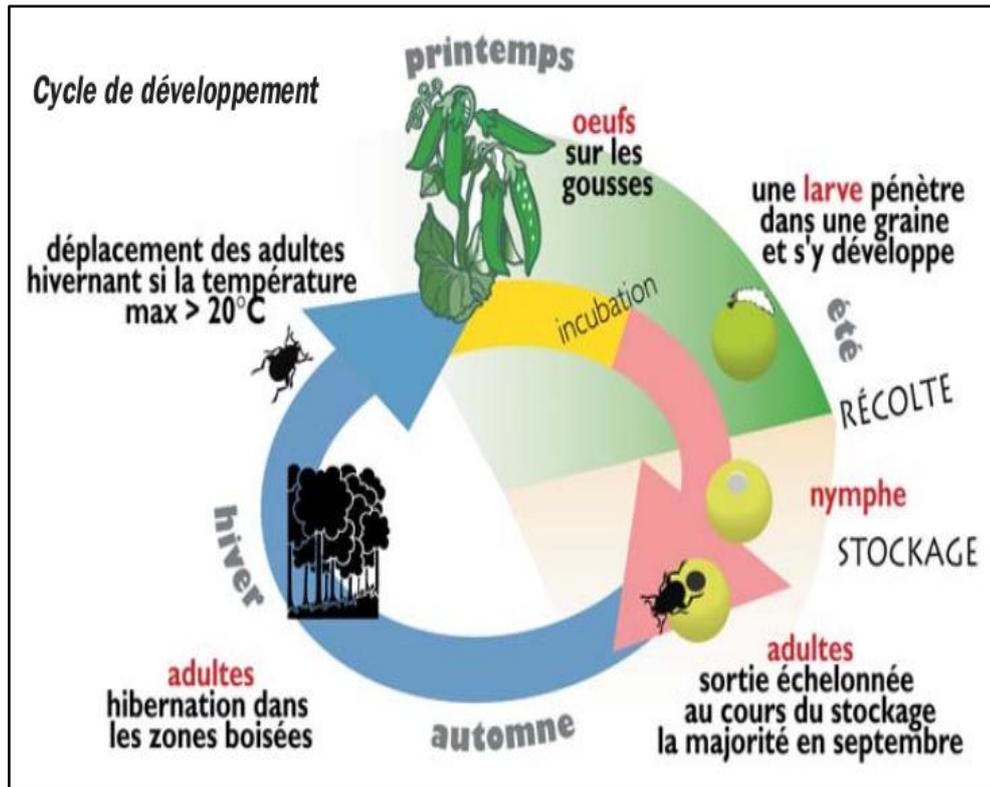


Figure 5 : Cycle du développement de la bruche (Site1)

Ces insectes passent l'Hiver sans se développer dans un état physiologique particulier appelé « diapause » qui leur permet de résister au froid. L'adulte se nourrit de pollen et de nectar de fleurs jusqu'à l'apparition de nouvelles cultures (Souayah *et al.*, 2002).

3. Méthodologie

3.1. Préparation de la poudre végétale

La récolte des feuilles de *Ruta graveolens* a lieu durant le mois de Février dans la région de Zelfana wilaya de Ghardaïa. Les feuilles ont été nettoyées avec l'eau et séchées à l'air libre, à l'abri de l'humidité et à température ambiante.

Après, le matériel végétal sec a été broyé pour donner une poudre qui a été passée sur un tamis de maille environ de 0,5 mm de diamètre afin d'obtenir une poudre fine de granulométrie homogène. La poudre ainsi récupérée a été conservée dans des sachets en papier, propres portant des étiquettes, en vue de procéder à l'extraction.

3.2.Préparation des extraits

L'extraction consiste à séparer les éléments actifs des tissus végétaux ou animaux des éléments inactifs ou inertes en utilisant des solvants sélectifs. Les produits obtenus se présentent principalement sous forme de liquides, semi-solides ou de poudres, exclusivement conçus à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales cette étape vise à extraire le le maximum de métabolites secondaires présents dans la plante séchée, en utilisant des solvants organiques volatils adéquats, ce qui améliore le rendement d'extraction. **(Handa, 2008).**

Dans cette étude, une extraction solide-liquide par une macération est réalisée. Elle consiste la mise en contact du matériel végétal sèche avec le solvant sans ou bien avec agitation, habituellement à des température ambiante. Dans les processus d'extraction et de séparation de molécules spécifiques (molécules actives) présentes dans un milieu solide, l'opération fait souvent appel, d'un point de vue technologique, à la diffusion au sein du solide d'un fluide (liquide) porteur, dit solvant d'extraction. L'extraction est donc une interaction solide-liquide. **(Ben Amor, 2008).**

3.2.1. Mode opératoire

Une quantité de poudre de 50 grammes de feuilles sèches de la plante mettre dans des bocaux en verre et macérée dans deux solvant (éthanol et acétate d'éthyle) dans un volume de 250 ml. Le mélange est agité pendant 24h par un agitateur de marque "wiseCube" à une température ambiante ; le macérât a été ensuite récupéré et filtré une première fois par un papier filtre Whatman. Après, une deuxième filtration a été faite à l'aide d' une pompe sous vide ; ainsi l'opération a été répétée trois fois.

Le filtrat résultant a été évaporé à sec par l'évaporateur rotatif de marque "heidolph" pour débarrasser la solution d'acétate d'éthyle ou d'éthanol. Ultérieurement, les extrait ont été récupérés et garder au réfrigérateur à +4 °C dans des flacons bien fermés portant des étiquettes et emballés par un papier aluminium pour éviter toute altération du produit jusqu'à son utilisation ultérieure.



50 g de la poudre des feuilles

1



Macération dans deux solvants
(éthanol - acétate d'éthyle)

2



Agitation pendant 24h

3



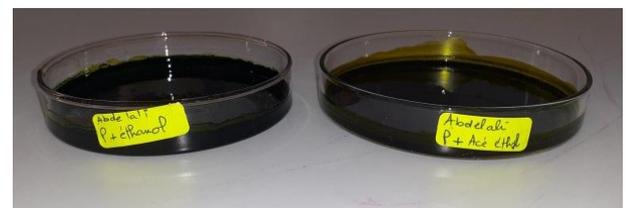
Filtration

4



Evaporation

5



Extrait final

Figure 6 : Protocol de préparation des extraits

3.3.Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction, par les deux solvants : éthanol et acétate d'éthyle, On le définit comme le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse de la matière végétale sèche. Il est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = M/M_0 \times 100$$

R(%) : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec.

M₀ : Masse en gramme de matériel végétale à traiter.

3.4.Criblage phytochimique

Grâce à l'analyse phytochimique, il a été possible de définir *in vitro* les métabolites secondaires présents dans les extraits. C'est grâce aux réactions classiques en solution (**Teinkela et al., 2022**). Cette méthode repose sur des processus de précipitation ou de coloration à l'aide de réactifs spécifiques à chaque famille de composés chimiques, ou encore de formation de mousses, afin de déterminer la présence ou l'absence des grands groupes chimiques. (**Berrani et al., 2015**; **Valentin et al., 2017**).

Les tests phytochimiques réalisés sur les extraits des feuilles de *Ruta graveolens*, ont consisté à rechercher des groupes bioactives synthétisées par cette plante notamment : les alcaloïdes, les flavonoïdes, les quinones, les saponines, les stéroïdes, les tannins et les terpénoïdes (**Valentin et al., 2017**).

Le tableau 1 illustre les différents groupes chimiques recherchés et les réactifs spécifiques utilisés ainsi que les résultats positifs.

Tableau 1: Screening phytochimique de différents extraits de *Ruta graveolens*.

Groupe chimique	Protocole	Résultats positifs
Flavonoïdes	Un volume de 1 mL de chaque extrait a été dégusté avec un volume de 0,4 mL d'une solution de NaOH à 10 %.	La formation d'une couleur jaune intense (Madike et al., 2017).
Tanins	Dans un tube à essai 0,2 mL de l'extrait est mélangé avec quelques gouttes d'une solution de chlorure de fer FeCl ₃ à 1%. Le mélange est incubé pendant 15 min à 50 °C.	Une coloration verdâtre ou bleu noir (Ghedadba et al., 2014)
Terpénoïdes	1 mL d'extrait a été ajouté à 0,4 mL de chloroforme et 0,2 mL d'acide sulfurique.	Apparition d'une couleur mauve ou violette
Anthocyanine	Un volume de 0,5 mL de chaque extrait a été ajouté aux volumes de 0,5 mL de HCl 2N et de 0,5 mL d'ammoniac.	Apparition d'une couleur rose-rouge devenant bleu-violet (Madike et al., 2017).
Coumarines	0,5 mL des 5% infusés placés dans un tube dans lequel sont ajoutés 0,8 mL de NaOH à 10% après agitation de la solution.	Aspect jaune indique la présence de coumarines (Diallo, 2000).
Quinones liber	Dans un tube à essai 0,5 mL de l'extrait est mélangé avec quelques gouttes de NaOH (1%)	Le développe une couleur qui se transforme en rouge jaune ou Violet (Dohou et al., 2003)
Alcaloïdes	Un volume de 0,5 mL de chaque extrait a été ajouté au volume de 0,5 mL d'HCl 1 %. Ce mélange a été chauffé pendant 20 minutes. Après le mélange refroidi, un volume de 1mL de réactif de Mayer a été ajouté goutte à goutte.	La formation d'un précipité verdâtre ou crème (Madike et al., 2017).
Composes rédacteurs	Traité 0,25 mL de l'extrait avec 0,5 mL d'eau distillé et 0,5 mL de la liqueur de Fehling puis les tubes sont chauffés dans le bain-marie à 40°C.	La formation d'un précipité rouge brique.
saponosides	Quelques gouttes d'eau distillée ont été ajoutées au volume de 1 mL de chaque extrait, puis le mélange a été agité. Après 20 min.	La formation d'une mousse de 1 à 2cm = Test positif (Bensaad, 2022)
Stéroïdes	Des volumes de 2,5 mL de chloroforme et de 2,5 mL de H ₂ SO ₄ ont été ajoutés au volume de 0,25 mL de chaque extrait.	Un changement de couleur de violet à bleu ou vert ou un anneau de bleu/vert ou si la couche supérieure est devenue rouge et la couche sulfurique était jaune avec fluorescence verte (Madike et al., 2017).

3.5. Evaluation de l'activité insecticide

L'activité insecticide des extraits des feuilles de *Ruta graveolens* a été évaluée sur la mortalité des adultes du bruche de fève, en utilisant le test par contact. Ces tests de toxicité ont été réalisés selon le protocole expérimental décrit par (Abdelli *et al.*, 2016) avec quelque modification.

3.5.1. Etude de la toxicité

L'objectif de ce travail est l'étude de l'effet toxique des extraits des feuilles de *Ruta graveolens* sur les adultes de *B. rufimanus* dans des conditions de laboratoire à différentes doses, afin de trouver une méthode de lutte alternative fiable pour la protection des denrées stockées contre ce ravageur.

A. Elevage de masse de *Bruchus rufimanus*

Les imagos de *Bruchus rufimanus* sont échantillonnés dans un de stock fève infestées. En effet, au niveau du laboratoire, après la sélection des graines bruchées à partir de la fève contaminée, l'arrachement des bruches se fait manuellement à l'aide d'un ciseaux. Ensuite, les insectes collectées ont été identifiées par M. MEDOUR Salim, maitre de conférence A au Département des Sciences Agronomiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre de l'université de Ghardaïa.



Figure 7 : Graines des fèves (*Vicia faba*) infestée (Originale, 2024).

Dans le souci d'obtenir une population homogène et suffisante d'insectes adultes pour les différents tests d'évaluation de l'action insecticide des extraits des feuilles de *Ruta graveolens*, un élevage de masse des insectes adultes de bruche a été effectué sur des graines de fève dans des bocaux en verre et aérer qui sont gardés à l'obscurité et à une température ambiante. L'élevage d'insecte est maintenu dans les conditions semi contrôlés au niveau du laboratoire pédagogique de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre de l'université de Ghardaïa.

B. Tests de toxicité

Afin d'évaluer l'activité insecticide de des feuilles de *Ruta graveolens* vis-à-vis le ravageur le plus nuisible *Bruchus rufimanus*, des tests de toxicité par contact ont été effectués. Le choix des méthodes d'études sont sélectionnées en fonction des objectifs du travail. De ce fait, plusieurs tests préliminaires ont été effectués afin de choisir trois doses à utiliser.

Alors, en appliquant le mode de traitement par le contact, quatre lots ont été constitués dont l'un est témoin négatifs et les autres sont de traitement. Chaque lot de traitement est traité par une concentration en extrait végétal. Ainsi, pour chaque lot, trois répétitions ont été réalisées.

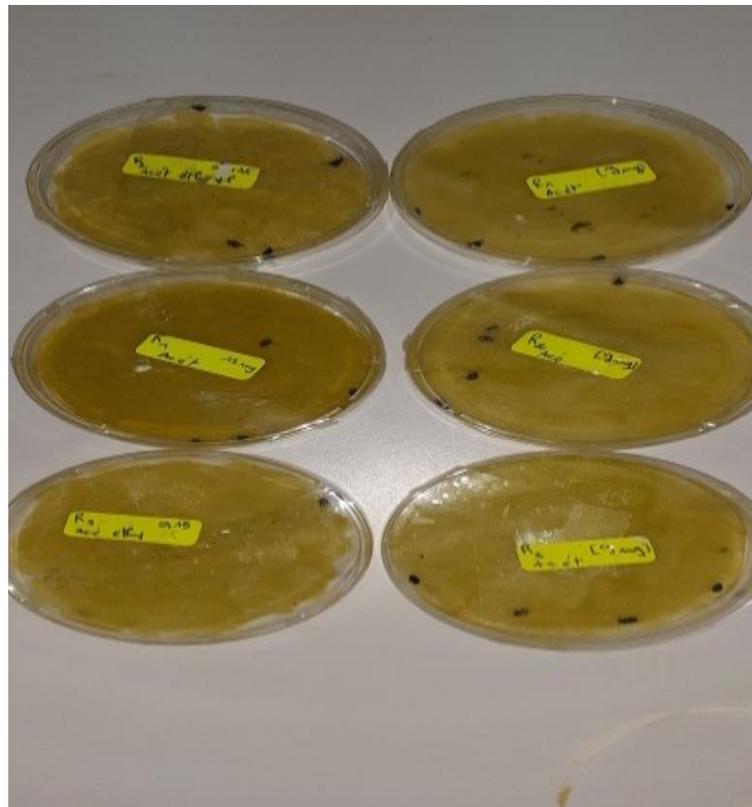


Figure 8 : Test de la toxicité sur *Bruchus rufimanus* (Originale, 2024).

Mode opératoire

Les différentes concentrations (9, 12 et 15 mg/mL) des extraits éthanolique et d'acétate éthyle des feuilles de *Ruta graveolens* sont pulvérisés directement et de manière homogène dans des boîtes de Pétrie tapissées par du papier-filtre. Alors que le lot témoin négatif est constitué d'insectes traités par un mélange de (DMSO+ eau distillée). Chaque boîte reçoit presque 1 mL d'extrait testé à différentes doses ou témoin. A cet effet quatre (4) lots d'insectes ont été constitué pour chaque extrait, dont trois (3) lots pour le traitement et un (1) lot témoin. Chaque lot regroupe 15 individus répartis équitablement sur trois boîtes de Pétri (Répétition) soit 5 individus/boîte.

L'ensemble de boites qui contient les insectes expérimentales ont été maintenus dans les conditions semi contrôlés au niveau du laboratoire (même condition d'élevage de masse sur les fèves). Ainsi, nous avons enregistré la mortalité des insectes à un intervalle du temps de 2 heures avec une durée d'observation de 72 heures et après chaque 24h dans les 3 jours ultérieurs.

3.5.2. Méthodes d'analyse et exploitation des résultats

Généralement, l'étude d'effet toxicologique d'un extrait est estimé par les concentrations létales (DL₅₀ et DL₉₀) (Maifi et Salmi, 2017). Afin d'évaluer la toxicité des extraits de *Ruta graveolens* contre le ravageurs *Bruchus rufimanus*, les paramètres toxicologiques sont déterminés, tels que le taux de la mortalité observée et les doses létales DL₅₀ et DL₉₀.

A. Taux de mortalité

L'efficacité d'un traitement chimique ou biologique a été jugée du premier temps par le taux de la mortalité (Ould el hadj *et al.*, 2006). Les pourcentage de la mortalité des adultes de *B. rufimanus* traités par les extraits végétaux (d'éthanol et d'acétate d'éthyl) sont calculés en appliquant la formule suivante (kemassi *et al.*, 2019):

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

B. Dose létale (DL)

La Dose Létale 50% (DL₅₀) correspond à la quantité d'une substance qui peut entraîner, par la méthode d'administration sélectionnée, la mortalité cumulée de 50% des individus d'une population mise en expérience (El allaoui *et al.*, 2011). Pareillement, la DL₉₀ indique la concentration létale de 90% des individus traités. Les doses létales sont des valeurs

qui nous renseignent sur l'importance de l'effet toxique des extraits testés. Ainsi, elles sont des indicateurs importants de la toxicité d'une substance.

Elles sont déduites à partir de la droite de régression des probits correspondants au pourcentage de la mortalité corrigée en fonction des logarithmes des concentrations appliquées (**Kemassi et al., 2019**).

C. Temps létale (TL)

Elles sont déduites à partir de la droite de régression des probits correspondants au pourcentage de la mortalité corrigée en fonction des logarithmes des temps d'expositions (**Kemassi et al., 2019**).

3.6. Fractionnement des extraits

L'étude de la chimie d'une plante se repose principalement sur l'isolement, la purification et l'identification structurale des métabolites secondaires (**Mokhtari, 2021**). La chromatographie est une technique de séparation physique qui repose sur les variations d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une qui est fixe et l'autre qui est mobile. D'après la méthode chromatographique utilisée, les composants entraînés par la phase mobile peuvent être séparés soit par adsorption et désorption sur la phase stationnaire, soit par leur solubilité différente dans chaque phase. Différentes techniques de séparation chromatographique existent selon l'objectif et la faisabilité de la méthode utilisée. Une chromatographie peut être réalisée sur colonne (C.C), sur couche mince (C.C.M) ou sur papier (C. papier). (**Bentaleb et Kenouz, 2020**).

Dans la présente étude, la séparation des différentes substances bioactives d'extrait des feuilles de *Ruta graveolens* a été réalisée par la chromatographie sur colonne (CC) accompagnée par une chromatographie sur couche mince (CCM).

3.6.1. Chromatographie sur colonne

Elle est la plus couramment employée pour séparer des quantités de mélanges importantes et complexes. En effet, elle permet la séparation des constituants d'un mélange et leur isolement, à partir d'échantillons dont la masse peut atteindre parfois jusqu'à plusieurs grammes (**Bentaleb et Kenouz, 2020**). Elle est basée sur la migration dans un dispositif constitué de deux phases : La phase stationnaire et la phase mobile (**Souilah et al., 2019**).

Principe

Cette méthode repose sur le phénomène d'absorption, où les molécules sont entraînées vers le bas de la colonne à des vitesses différentes, en fonction de leur affinité pour l'absorbant et de leur solubilité dans l'éluant. (Souilah *et al.*, 2019).

La phase solide, généralement l'alumine ou la silice, remplit une colonne de longueur variable : l'échantillon, en solution concentrée, est placé en haut de la colonne et la séparation des composants résulte de l'écoulement continu d'un éluant, traversant la colonne par gravité ou sous l'effet d'une faible pression. On peut utiliser comme éluant un solvant unique ou bien accroître progressivement la polarité de l'éluant afin d'accélérer le déplacement des composés (Bentaleb et Kenouz, 2020).

Mode opératoire

La séparation sur colonne a été effectuée sur l'extrait d'acétate d'éthyle qui montre une grande toxicité par rapport à l'extrait éthanolique. En premier temps, nous avons rempli la colonne avec la phase stationnaire qui a été préparée par l'ajout du dichlorométhane progressivement au gel de silice jusqu'à l'obtention d'une suspension. Cette dernière a été introduite dans la colonne grâce à un entonnoir. Puis, on rince les parois avec l'éluant et on le laisse s'écouler.

Comme une deuxième étape, on fait l'entassement de la colonne par l'extrait afin d'obtenir une grande séparation des molécules selon leur polarité. En effet, une masse d'environ 1g d'extrait est déposée soigneusement en haut de la phase stationnaire. Dans cette étude, le système d'éluant sélectionné est le mélange entre le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle en gradient de polarité. Ce système a été adapté pour séparer les différents composants d'extraits des feuilles de *Ruta graveolens*.

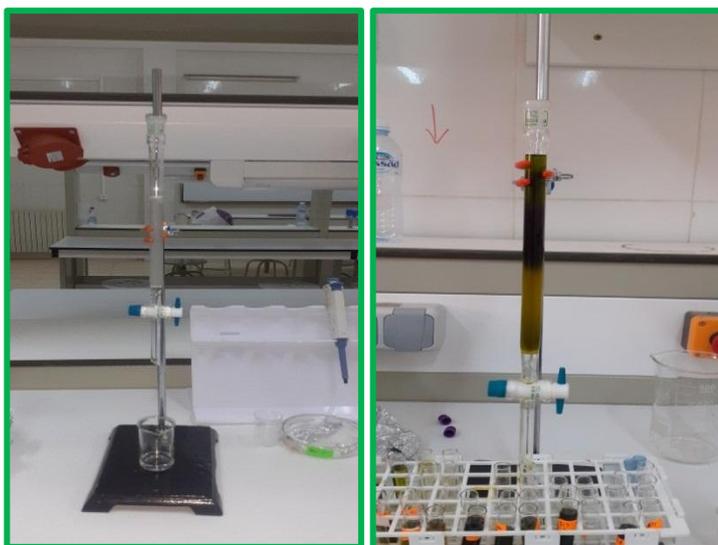


Figure 9 :La colonne de chromatographie avant et après l'entassement de l'extrait d'acétate d'éthyle (**Originale, 2024**).

Le processus d'éluion est réalisé par un gradient de polarité du système dichlorométhane-acétate d'éthyle en commençant par le dichlorométhane 100% ensuite on augmente progressivement la polarité de la phase mobile par l'ajout de l'acétate d'éthyle (9:1 ; 8:2 ; 7:3 ; 6:4 ; 5:5 ; 4:6 ; 3:7 ; 2:8 ; 1:9 et en fin 100% d'acétate d'éthyle). En dernière étape, le méthanol a été ajouté afin de débarrasser les résidus de molécules restantes sur la phase stationnaire de la colonne. Une série de tubes en verre numérotés placée au-dessous de la colonne permettant de récupérer les fractions qui nous avons obtenu. En fin, les fractions concentrées ont été regroupées à l'aide d'une analyse par chromatographie sur couche mince pour toute les fractions obtenues.

3.6.2. Analyse chromatographique sur couche mince

Les chromatogrammes sur couche mince permettent de vérifier la présence et l'état de pureté des produits. Ils sont utilisés pour le suivi et le contrôle des processus de purification (**Mokhtari, 2021**). La phase stationnaire se compose d'une couche mince et uniforme du gel de silice séché, finement pulvérisé et appliqué sur un support approprié (feuille d'aluminium ou de verre) (**Arnaout Ou Gharnaout et al., 2014; Merghit et al., 2021**). D'autre part, la phase mobile est constituée d'un mélange binaire ou tertiaire des solvants selon le type des composés et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire (**Souilah et al., 2019; Mokhtari, 2021**).

Principe

La chromatographie sur couche mince s'appuie sur les phénomènes d'adsorption, d'interactions et de polarité. Un mélange de composés est placé sur un support solide (phase stationnaire) qui est plongé dans un solvant (phase mobile) grâce à la capillarité se déplace au long de la phase stationnaire. La vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la phase stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile (Bentaleb et Kenouz, 2020).

Mode opératoire

Afin de regrouper les fractions obtenues de la séparation par chromatographie sur colonne, nous avons soumises les différentes fractions à la chromatographie sur couche mince (C.C.M) selon les conditions expérimentales suivantes :

Phase stationnaire : est représentée par des plaques d'aluminium recouvertes avec un gel de silice. Ces plaques sont développées dans des cuves en verre saturées avec l'éluant approprié.

Phase mobile : est constituée d'un mélange binaire de différents solvants pour choisir un meilleur système de séparation. Nous avons choisi de tester les systèmes qui sont cités dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Les systèmes solvant et les proportions pour la CCM

Systeme	Proportions
Acétate d'éthyl / dichlorométhane	8/2
Méthanol / dichlorométhane	4/1
Toulène / méthanol	8/2

Le mélange de la phase mobile a été introduit dans la cuve à 1cm de hauteur pour assurer le passage et la continuité de séparation, ainsi la cuve est fermée par un papier d'aluminium pour éviter l'évaporation des solvants.

Après le dépôt de petite goutte de chacun des fractions sur la plaque, la plaque CCM est placée dans la cuve à chromatographie au fond de laquelle se trouve la phase mobile qui nous avons préparé précédemment à base de mélange méthanol / dichlorométhane (4/1). Une fois le chromatogramme développé, la plaque est séchée, à température ambiante, puis examinée sous lumière UV à un longueurs d'onde de = 254 nm.

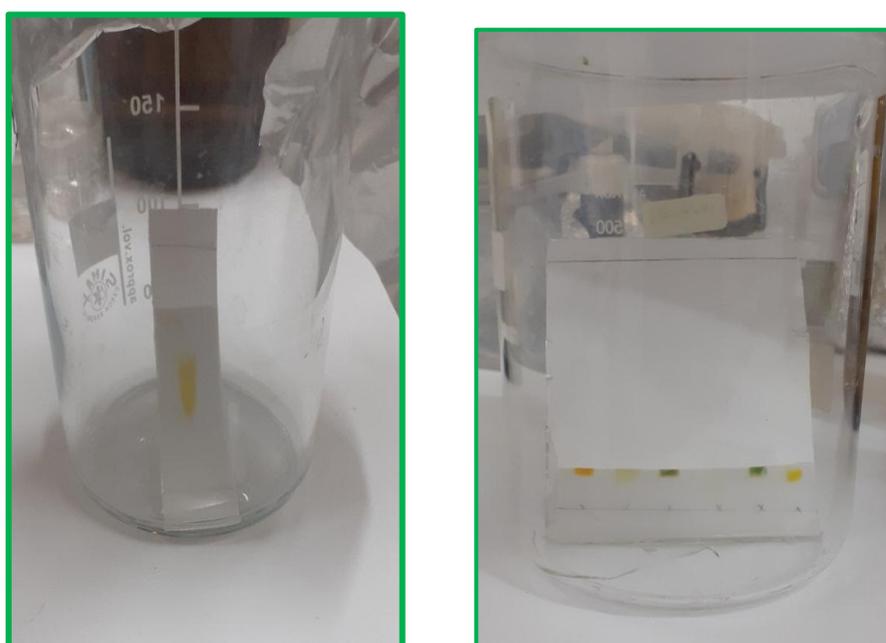


Figure 10 : Migration sur la plaque CCM (Originale, 2024).

Dans la chimie des substances naturelles, la révélation est une étape essentielle utilisé afin de détecter les composés qu'ils contiennent dans un extrait ou une fraction donnée. (Bentaleb et Kenouz, 2020). Pour révéler les tâches apparues sur les plaques, on les pulvérisées par un révélateur chimique, la vanilline, puis on les chauffées à température de 100°C.

L'analyse des fractions par CCM démontre que ces fractions sont riches en métabolites secondaires. Plusieurs systèmes de solvants sont utilisés lors de cette manipulation, et le choix du système dépend de ceux qui offrent les meilleures séparations (Merghit *et al.*, 2021).

Par conséquent, les fractions qui ont le même rapport frontal (Rf) sont regroupées suivant la similitude de leur profil chromatographique en couche mince obtenu après la révélation. Le regroupements des fractions permet d'obtenir six fractions.

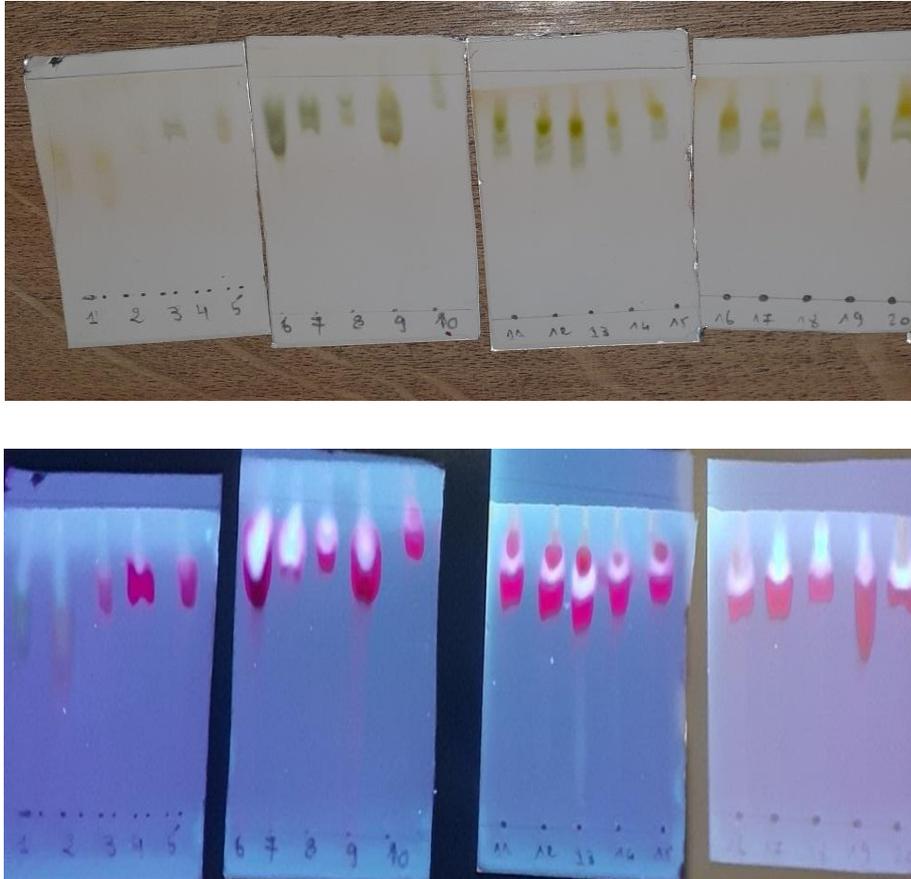


Figure 11 : Plaque CCM sous la lampe UV et après révélation (**Originale, 2024**).

Tests de toxicité des fractions obtenues

Afin d'évaluer l'activité insecticide de six fractions obtenues du fractionnement d'extrait d'acétate d'éthyle de *Ruta graveolens*, on a choisi le même type d'essai (le test par contact).

Le test consiste de traiter les individus de bruches par les différentes fractions obtenues. En effet, dans des petites boîtes de Pétri contenant le papier filtre et des individus, on dispense les différentes fractions de manière homogène. Souvent, chaque lot de traitement contient 5 couples d'insecte tandis que les lots témoins sont réalisés avec des bruches non traitées. Le taux de mortalité a été contrôlé toutes les 24h d'exposition pour l'ensemble de boîtes qui contiennent les insectes.

3.7. Analyses chromatographiques des extraits par HPLC

L'extrait végétale des feuilles de *Ruta graveolens* a été préparé par dissolution de 0.5 mg avec de 5 ml de méthanol (Grade HPLC) puis filtré à travers un filtre, avant l'injection dans HPLC avec un injecteur automatique.

L'analyse chromatographique d'extrait a été effectuée par l'utilisation de HPLC (Thermo Scientific Vanquish UHPLC) au niveau de faculté de ST de l'université de Ghardaia (Figure 12) en utilisant la colonne C-18 avec une phase mobile isocratique pour la séparation des composant. La détection a été effectuée à 250 nm avec volume d'injection de l'ordre de 20 μ l. La température de la colonne et le débit sont respectivement de l'ordre de 25°C et de 0.8 ml/min. La phase mobile était un mélange de méthanol, acétonitrile et eau purifiée (40 : 15 : 45 v/v)

Les pics sont identifiés par les temps de rétention comparés à ceux des standards.

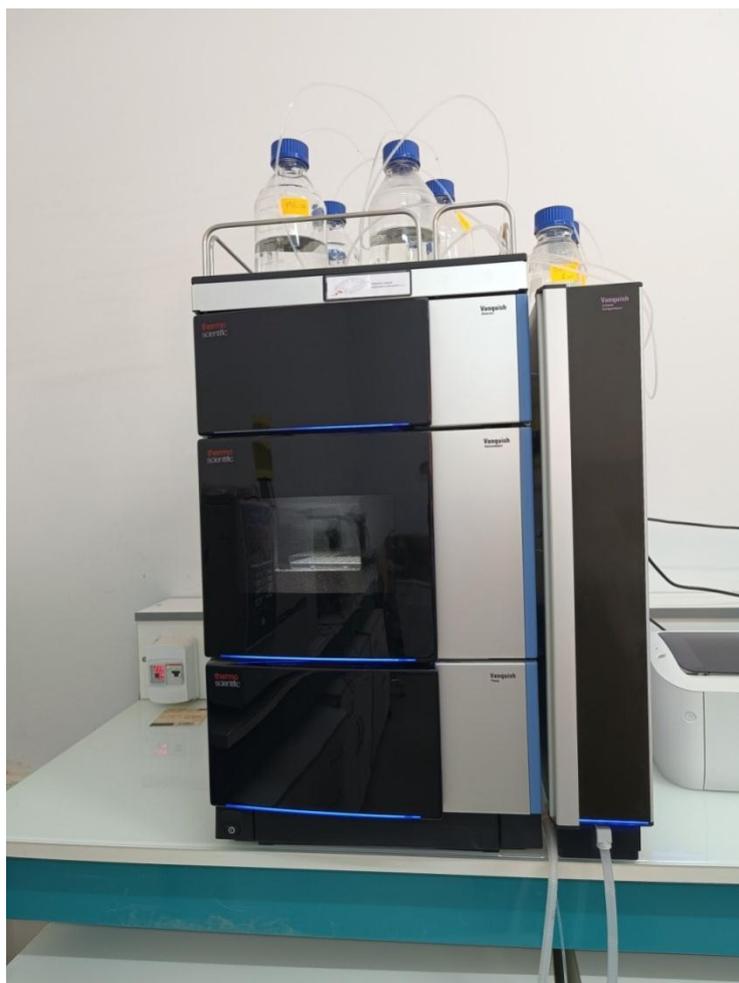


Figure 12 : Thermo Scientific Vanquish UHPLC (Originale, 2024).

Partie II

Résultats et discussion

Notre étude s'inscrit dans le cadre de la recherche de méthodes alternatives pour la lutte contre les insectes des aliments stockés en particulier les céréales et les légumineuses ; pour un but de trouver des substances naturelles à un pouvoir insecticide efficace contre les dégâts causés par la bruche. Ainsi, elles doivent être biodégradables, non nocives pour l'homme et non polluants de l'environnement.

1. Rendement d'extraction

L'extraction des molécules bioactives des feuilles de *Ruta graveolens* se fait par une macération à froid qui permet d'extraire une large gamme des métabolites secondaires et le maximum des molécules chimiques contenues dans les matières végétales par l'utilisation des solvants organiques. Également, elle permet de maintenir l'intégrité des composés bioactifs sensibles aux fluctuations de température pendant une durée déterminée. Dans notre expérimentation, l'opération de l'extraction par macération a été effectuée par deux solvants de différente polarité (éthanol et l'acétate d'éthyle), ce qui permet d'obtenir deux extraits bruts (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Caractérisation organoleptique des extraits de *Ruta graveolens*

Organe	Extrait	Aspect	Couleur	Odeur
Feuille	Ethanol	Pâteux	Verte foncé	Désagréable
	Acétate d'éthyl	Pâteux	Verte plus foncé	Désagréable

Selon la littérature, la couleur des extraits est due à la présence des pigments de différentes natures, tels que les chlorophylles, les anthocyanes, les lycopènes, les flavoxanthine et les lutéines (**Gross et al., 1983; Solovchenko et al., 2019 ; Atia et Troudi, 2023**).

Les rendements d'extraction des extraits obtenus ont été déterminés par rapport au poids de la poudre de matière végétale initiale (feuille de *ruta*). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure suivante (figure 13).

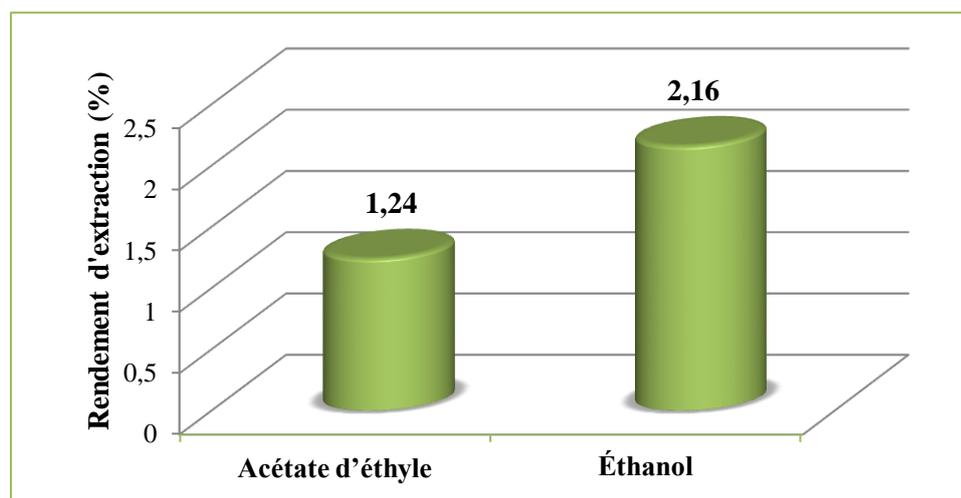


Figure 13: Rendement d'extraction de différents extraits de *Ruta graveolens*

D'après la (Figure 13), le rendement d'extraction des feuilles de *R. graveolens* est de 2,16 % pour l'extrait éthanolique et de 1,24 % pour l'extrait d'acétate d'éthyle. Alors, l'extrait d'acétate d'éthyle a rapporté le rendement le plus faible. Toutefois, l'extrait le plus rentable était l'extrait éthanolique. Ce qui peut être expliqué par la grande solubilité des molécules bioactives des feuilles dans l'éthanol qui permet d'extraire le maximum de ces molécules d'intérêt.

D'après les travaux d'extraction des molécules bioactives de *R. graveolens*, l'étude d'(Attia *et al.*, 2018) qu'ils ont noté un rendement de 0,36 et 0,21% pour les feuilles et les fleurs de cette espèce respectivement.

Selon une étude menée par (Belaid et Bellil, 2017) sur la même espèce, où ont réalisé l'extraction méthanolique des feuilles par sonication, le rendement en extrait brut est de 1.86 % qui est inférieure à celui obtenu par nos extraits. D'après l'étude de (Aljaiyash *et al.*, 2014) cité par (Magoura et Moussaoui, 2020), l'extraction des composés organiques de *Ruta graveolens* par une macération dans un solvant hydro-méthanolique a donné un rendement de 34.18% qui est nettement supérieur à nos résultats.

Egalement, des autres études sont menées sur le genre *Ruta* dont le travail de (Bedjou et Gali, 2014) sur *Ruta chalapensis* a montré un rendement très élevé de l'acétone 9,31% et de l'éthanol 16,7%. Aussi, l'extrait éthanolique de cette espèce a présenté un rendement de 5,4% dans l'étude de (Méradji *et al.*, 2016). Autant, un rendement de 20,83% a été déclaré par (Cherif et Alou, 2015) qu'ils ont effectué une extraction par le méthanol sur la partie aérienne

de la même espèce. De même les rendements d'extrait méthanolique obtenu du *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk. sont de 23,94% et 12% respectivement (**Chaibeddra, 2014**). De plus, le rendement des plantes est variable selon l'origine géographique de la plante, dont le rendement d'extrait hydro-éthanolique de la plante *Ruta graveolens* d'Italie est de 8,3% (**Bendini et al., 2002**).

En outre, (**Mahmoudi et al., 2013**) a déclaré un taux de 0,22% pour l'extrait d'acétate d'éthyle de *R. tuberculata* qui est un faible rendement d'extraction par ce solvant. Malgré que ce solvant a permis d'extraire de 66 % de la partie aérienne d'espèce *Ferula communis* (**Aliouche et Aouadj, 2019**).

Dans la présente étude, la méthode utilisée est la macération qui a été effectuée durant 24 heures à température ambiante. Cette méthode est relativement peu coûteuse, la plus simple, permet d'extraire le maximum des composés bioactifs et aussi permet de préserver leur bio-activité et de maximiser le temps de contact du solvant avec le matériel végétal (**Djemai Zoughlache, 2009**).

Les solvants polaires sont souvent utilisés pour récupérer les molécules bioactives des matrices végétales. Il est bien connu que l'éthanol et l'acétate d'éthyle sont des bons solvants pour extraire les composés phénoliques et les molécules bioactives (**Basset et Boumaagouda, 2020**).

Ruta graveolens est une plante pleine de métabolites secondaires (flavonoïdes, coumarines, alcaloïdes, huiles essentielles...). Les variations de rendement enregistrées pour la rue peuvent être attribuées à divers facteurs, notamment l'origine géographique de la plante, l'environnement (type de climat, sol, etc.), aux conditions et le stade de la récolte et de stockage (**Falleh et al., 2008 ; Abdi et Tirouche, 2022**). Autant, la différence dans le rendement peut se lier au l'organe végétal utilisé à savoir les feuilles, les fleurs, les tiges ou les racines (**Atia et Troudi, 2023**).

D'autres facteurs peuvent avoir une influence sur le rendement d'extraction qu'ils s'agissent les méthodes et les conditions d'extraction appliquées tels que le pH, la température, le ratio solide/liquide, la solubilité des composés bioactifs dans un solvant d'extraction, le temps d'extraction et la nature du solvant (**Macheix et al., 2005; Santos et al., 2012**).

2. Criblage phytochimique

L'étude des composés actifs issus des plantes revêt une importance capitale car elle a offert une alternative à tous les produits chimiques. Afin d'atteindre cet objectif, une analyse phytochimique a été réalisée sur les extraits préparés à partir des feuilles de *Ruta graveolens* en utilisant deux solvants (éthanol et acétate d'éthyle). Les résultats obtenus de l'ensemble de réactions de caractérisation pour différents composés chimiques sont exprimés selon le type de réaction suivant, qui sont en relation avec l'intensité du précipité ou de coloration et sont regroupés dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 : Screening photochimique des extraits des feuilles de *Ruta graveolens*.

	Extrait éthanolique	Extrait acétate d'éthyle
Tanins	(++)	(+)
Flavonoïdes	(++)	(++)
Quinones libres	(-)	(++)
Coumarines	(-)	(+)
Stéroïdes	(+)	(+)
Terpénoïdes	(-)	(-)
Composé réducteurs	(-)	(-)
Alcaloïdes	(+)	(+++)
Saponoside	(-)	(-)
Anthocyanine	(-)	(-)

D'après le tableau 3, nous remarquons une variation dans la distribution des groupes chimiques entre les deux solvants d'extraction utilisés. Il est à noter l'apparition des flavonoïdes, des tanins, des stéroïdes et des alcaloïdes dans les deux extraits des feuilles de *Ruta graveolens*.

Tandis que, les terpénoïdes, les composés réducteurs, les anthocyanines et les saponoside sont notés des résultats négatives dans les deux extraits. En revanche, les résultats de recherche sur les quinones libres et les coumarines ont montré leur absence dans l'extrait éthanolique par contre ils sont présents dans l'extrait d'acétate d'éthyle.

Par conséquent, ces résultats ont déduit la richesse des extraits des feuilles de *Ruta graveolens* par les flavonoïdes et les tanins. Ils sont des composés naturels présents dans de nombreux fruits et légumes qui ont une importante propriété antioxydante. Ils sont considérés comme des pigments. Souvent, ils ont impliqué dans la coloration des fleurs, des fruits, et parfois des feuilles. Dans l'alimentation humaine, ils sont les plus répandus dans les fruits, vins, thés et cacao (**Bouzred et Damak, 2023**). Pareillement, ils sont synthétisés par les plantes soumises à des conditions difficiles (infections, blessures, radiation UV, ...) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits.

Autant, les tanins constituent un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. De ce fait, ils sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, en réduisant ainsi la digestibilité des aliments (**Boucif, 2018**).

Ces résultats sont en d'accord avec (**Diwan et al., 2012**) sur la composition phytochimique de *Ruta graveolens* où ils ont déclaré la présence des flavonoïdes en proportion importante. Des mêmes résultats sont rapportés par (**Gouami et Nebili, 2020**),

Dont ils ont constaté la présence des flavonoïdes (flavoneles, flavone, anthocyanes), tanins catéchique, les stéroïdes, des terpènes, des alcaloïdes et des huiles essentielles. Ainsi, ils ont déclaré l'absence des tanins galliques, les quinones et les saponines.

Comparativement aux résultats de *Ruta graveolens*, (**Attou, 2011**) a noté presque les même composition chimique avec *Ruta chalepensis*. Ainsi, (**Daoudi et al., 2016**) ont montré la richesse d'espèce *Ruta chalepensis* par les flavones, catéchols, Stérois, triterpènes, oses et holosides. Par contre, elle est dépourvue des leucoanthocyanes qui sont caractérisés l'espèce *Ruta montana*.

Les essais phytochimiques effectués par **(Allouni, 2018)** ont dévoilé que les extraits de la partie aérienne de *Ruta montana* sont caractérisés par la présence des tanins et des coumarines qui se trouvent dans toutes les parties de la plante, et en particulier dans les fruits. Néanmoins, le travail de **(Atia et Troudi, 2023)** a montré que les extraits acétonique et d'acétate d'éthyle de *Ruta tuberculata* sont généralement caractérisés par une faible teneur en coumarines et flavonoïdes. Par contre, les travaux de **(Hamdi et al., 2018)** sur la même plante ont révélé que le contenu le plus important en flavonoïdes a été observé dans l'extrait d'acétate d'éthyle. Ainsi, il est très riche en tanin et coumarine **(Benaichi et Bechki, 2023)**.

Les résultats obtenus du test du criblage des flavonoïdes des deux plantes de *R. tuberculata* et *P. tomentosa* ont montré la richesse des extraits acétonique et des extraits aqueux en flavonoïdes. Cette richesse a été notée pour les extraits méthanoliques de deux plantes, par contre ceux d'acétate d'éthyle sont caractérisés par une teneur en flavonoïdes plus faible **(Benaichi et Bechki, 2023)**.

La variation de la composition chimique des plantes peut être influencée par plusieurs facteurs tels que la situation géographique, l'organe prélevé, la période et le moment de prélèvement ainsi que les conditions de stockage **(Telli, 2017)**. De plus, les conditions biotiques et abiotiques, la nature du sol et le type de climat où poussent ces plantes ont influé sur la biosynthèse des métabolites secondaires **(Enneb et al., 2015)**. Similairement, la teneur des molécules bioactives varie selon certains paramètres pendant la croissance de la plante telles que: la salinité, la sécheresse et l'exposition solaire **(Falleh et al., 2008)**.

L'absence des autres familles chimiques peut être expliquée par une différence au niveau de plusieurs paramètres soit géographiques, physicochimiques ou biologiques tels que: la différence du site de récolte y compris l'environnement de la plante, les précipitations, la topographie, la lumière, la saison, le type de sols, le patrimoine génétique, la période de récolte, la procédure d'extraction utilisée, la partie de la plante étudiée ou leurs produits phytochimiques **(Malik et al., 2012; Akhtar et al., 2018 ; Serondo et al., 2022)**.

3. Activité insecticide

3.1. Taux de mortalité

Au niveau du laboratoire, l'étude de la toxicité de différents extraits organiques des feuilles de *Ruta graveolens* a été réalisée par un traitement de contact vis-à-vis les adultes d'insecte étudié. Suivant les figures 14 et 15 qui présente l'effet toxique de différents extraits organiques contre les adultes *Bruchus rufimanus*, l'utilisation des doses croissantes des extraits provoquent la morte des individus traités. Ainsi, la toxicité se diffère d'un extrait organique à l'autre.

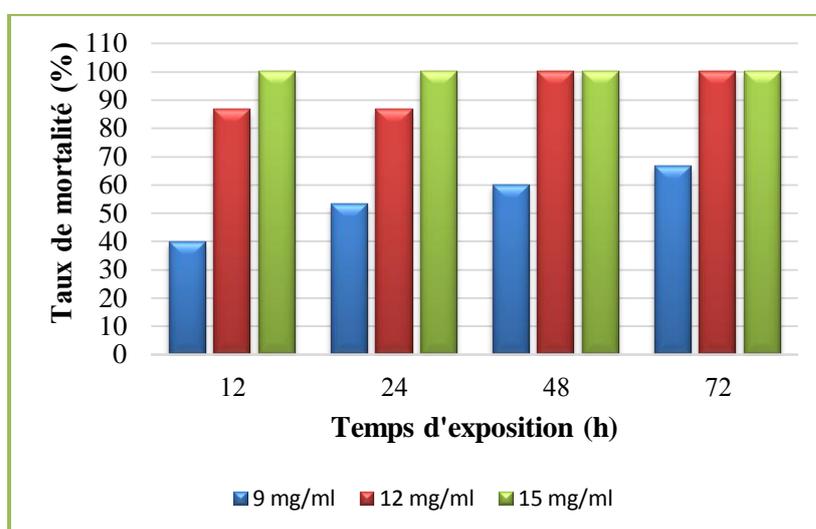


Figure 14: Toxicité d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens* contre les adultes de *Bruchus rufimanus*.

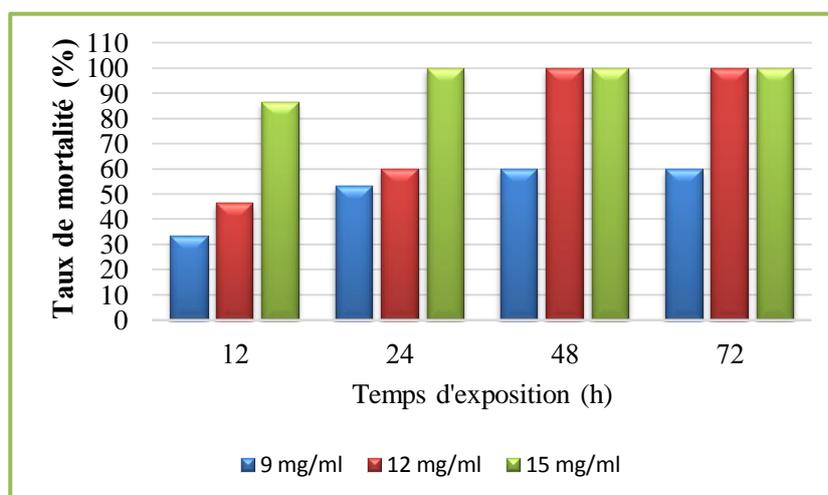


Figure 15: Toxicité d'extrait éthanolique des feuilles de *Ruta graveolens* contre les adultes de *Bruchus rufimanus*.

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité des extraits des feuilles de *Ruta graveolens* ; ainsi les résultats obtenus ont montré que le taux de mortalité des bruches évolue proportionnellement avec la durée d'exposition et les différentes concentrations employées (9, 12 et 15 mg/mL). La mortalité moyenne des bruches dans les lots témoins est nulle dans les 3 premiers jours d'exposition.

Il est remarquable que la concentration 9 mg/mL de deux extraits organiques provoque des taux de mortalité ne dépassent pas 40 % pendant les premiers 12 h de temps d'exposition. Tandis que, la mortalité est de l'ordre de 60% est obtenue après une exposition de 48h.

De plus, les taux de mortalité obtenus par la concentration 12 mg/mL d'extrait d'acétate d'éthyle sont plus élevés que ceux obtenus par l'extrait éthanolique. En effet, une mortalité près de 90 % a été enregistrée pendant les 12h et 24h d'exposition par l'utilisation d'extrait d'acétate d'éthyle. Autant, elle est de l'ordre de 100% après une exposition de 48h. Néanmoins, l'extrait éthanolique provoque des taux de mortalité ne dépassent pas 60 % pendant les premiers 24 h de temps d'exposition.

Toutefois, la concentration 15 mg/mL des extraits a présenté une mortalité de l'ordre de 100% à l'égard des adultes des bruches après 12h de temps d'exposition pour l'extrait d'acétate. Pour l'extrait éthanolique, il est provoqué un taux de mortalité de 100% après un temps d'exposition de 24h.

Les résultats de notre expérimentation montrent que les deux extraits sont efficaces à l'égard de *B. rufimanus*. Tandis que, l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *R. graveolens* a révélé un pouvoir insecticide significatif sur les insectes de l'espèce de *B. rufimanus* par rapport l'extrait éthanolique pendant les premières heures après une application par contact. En conséquence, l'efficacité des extraits est meilleure vis-à-vis les adultes de bruches pendant 24h d'exposition et il est atteint un taux maximal de 100%.

Le test de toxicité par contact de l'extrait d'acétate d'éthyle à l'égard des adultes de bruche a déduit que le taux de la mortalité accroître avec l'augmentation de la concentrations d'extrait. Alors, le taux de la mortalité a été lié avec la variation des doses de traitement et de temps d'exposition. En effet, de même constatation a été noté par (Siradj, 2015) qu'il a étudié l'effet d'huile essentielle d'oranger (*Citrus sinensis*) sur les adultes de *P.*

blanchardi. Les résultats obtenus indiquent que les taux de mortalité, pour des différentes doses, augmentent parallèlement avec les doses et la durée d'expositions.

Généralement, plusieurs travaux scientifiques ont été montrés l'activité insecticide des plantes contre les insectes des denrée stockées tels que : *Melia azedarach* L., *Peganum harmala* L. *Myrtus communis*, *Eucalyptus citrodoria*, *Menthapiperita*, *Origanum vulgare*, *Oleaeuropaea* L., *Melia azedarach* L. (Amara et Bouarroudj, 2020 ;Chebili et Chebiri, 2021; Zerroudi et Kadi, 2021).

A titre de comparaison, les résultats des taux de mortalité totale de différentes concentrations des extraits *Ruta graveolens* sur les imagos de *Bruchus rufimanus* étaient similaires à ceux déterminés par (Zerroudi et Kadi, 2021) qu'ils ont montré que la plante d'eucalyptus (*Eucalyptus citrodoria*) a une efficacité sur le ravageur *B. rufimanus* par un taux de mortalité qui atteint 100%. Aussi, (Bouziane Assam, 2015) a montré un effet toxique très hautement significatif sur la durée de vie de *B. rufimanus* par un test de contact avec l'huile essentielle de *Salvia officinalis* ; il a enregistré une mortalité totale des mâles et des femelles de *B. rufimanus* après 24h d'exposition pour la plus forte dose d'huile. Ainsi, des mêmes résultats ont été déterminés par (Bachi et Mahmoudi, 2017) pour l'huile essentielle de pin maritime.

Autre étude a été menée par (Chebili et Chebiri, 2021) pour les bruches d'haricot traitées par les huile essentielle de *Mentha piperita* par un test d'inhalation. L'inhalation de cette huile présente des niveaux de toxicité notables, entraînant une diminution substantielle de la durée de vie de *B. rufimanus*. À mesure que la dose et la durée d'exposition augmentent, l'impact devient encore plus prononcé. Ainsi, à des doses maximales, une mortalité complète a été observée dans les 24 heures suivant l'exposition. Ces résultats sont semblable avec ceux qui rapportés par (Joseph *et al.*, 2022) pour l'activité répulsive des huiles essentielles de *Z. officinale* et *C. ambrosioi* d'organes frais à l'égard de la bruche d'haricot.

Egalement, le pouvoir insecticide a été montré pour le genre *Ruta* par l'espèce *R. chalepensis* selon l'étude menée par (Benhissen *et al.*, 2019), ils ont marqué la sensibilité des larves du quatrième stade de *C. longiareolata* aux extraits aqueux des feuilles de *R. chalepensis* se qui traduit par des taux de mortalité plus ou moins élevés selon les concentrations utilisées et surtout selon le temps d'exposition aux extraits.

3.2. Cinétique de la mortalité

Les adultes de *B. rufimanus* traités par les différents extraits organiques des feuilles de *Ruta graveolens* ont présenté une variation remarquable des taux de mortalité au cours de l'évolution de temps d'exposition avec un enregistrement de façon régulière pour chaque extrait pendant les 72 h.

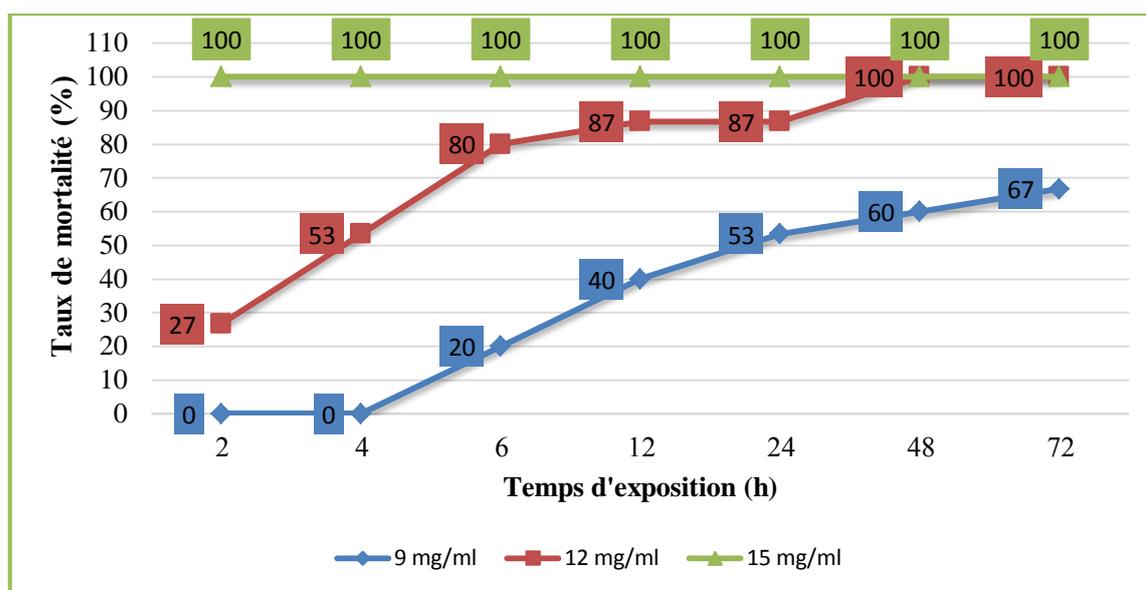


Figure 16 : Cinétique de mortalité des imagos de *Bruchus rufimanus* traités par l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens*.

D'après la figure 16 qui présente l'évolution temporelle de la toxicité d'extrait d'acétate d'éthyle contre les imagos de *Bruchus rufimanus*. La toxicité de cet extrait présente une certaine stabilisation après 24 h de l'exposition. L'obtention d'une mortalité de l'ordre de 100% ne dépasse pas les 2h d'exposition pour la concentration 15 mg/mL d'extrait d'acétate d'éthyle testé. Les concentrations 9 et 12 mg/mL présentent un effet toxique progressif avec le temps d'exposition. Le départ de l'effet est enregistré après 6h de contact pour la concentration 9 mg/mL d'extrait d'acétate d'éthyle. Cette concentration présente une toxicité qui ne dépasse pas 70% pendant 72h d'exposition. En revanche, la concentration 12 mg/mL a présent une toxicité de l'ordre de 100 % après 48h d'exposition. Alors, l'extrait d'acétate d'éthyle présente une toxicité qui se diffère d'une concentration à l'autre avec un ordre croissant.

L'évolution temporelle de la toxicité des extraits éthanolique des feuilles de *Ruta graveolens* contre les imagos de *Bruchus rufimanus* a été présentée dans la figure 17.

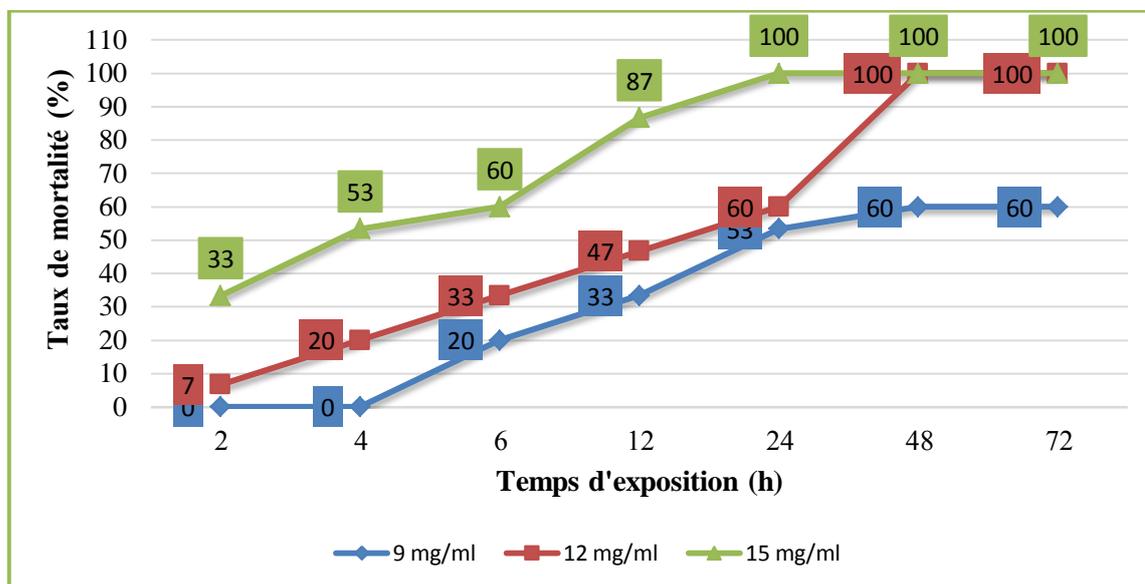


Figure 17: Cinétique de mortalité des imagos de *Bruchus rufimanus* traités par l'extrait éthanolique des feuilles de *Ruta graveolens*.

Il est remarquable que la stabilité de la toxicité des extraits soit remarquée après 48 h d'exposition pour toutes les concentrations testées. En effet, les concentrations 12 mg/mL et 15 mg/mL d'extrait éthanolique provoque une mortalité de l'ordre de 100 % après 48h et 24h d'exposition respectivement.

Le départ de l'effet toxique a été enregistré après 2 h d'exposition pour les concentrations 12 mg/mL et 15 mg/mL. Par contre, la concentration 9 mg/ml présente un effet toxique après un temps d'exposition de 6h. Ainsi, cette concentration expose des taux de mortalité maximale ne dépassent pas 60% pendant les 72 h de l'exposition.

Le suivi de la cinétique de la mortalité après le traitement par contact des adultes de bruches par les deux extraits d'acétate d'éthyle et d'éthanol permet de déduire une augmentation progressive pour les taux de mortalité en parallèle avec le temps d'exposition. Souvent, ont a noté des effets toxiques après 2h d'exposition pour les concentrations 12 mg/mL et 15 mg/mL. Ainsi, cette évolution est stabilisée généralement après 24h de contact.

En conséquence, les taux de la mortalité ont été bien liés avec la variation des doses de traitement et de temps d'exposition.

Ces résultats sont comparables avec le travail d'(**El Idrissi et Amechrouq, 2014**) qu'ils ont étudié l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Dysphania ambrosioides* L. sur *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). Ils ont constaté que la toxicité de l'huile essentielle dépend de la concentration et de la durée d'exposition. De sorte que, la survie des adultes diminue au fur et à mesure que la concentration de l'huile essentielle et la durée d'exposition augmentent.

3.3.Efficacité de l'activité

3.3.1. Doses létales

Sur la base des droites de régression des probits correspondants au pourcentage de la mortalité corrigée en fonction des logarithmes du temps de traitement, on a déterminé les doses létales de 25%, 50% et 90% de la population de *Bruchus rufimanus*. Les résultats de la régression établis ainsi que leurs paramètres de l'extrait de l'acétate d'éthyle ont été déterminés dans le tableau 5 :

Tableau 5: Valeurs de doses létales d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens*.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/ml]	DL ₅₀ [mg/ml]	DL ₉₀ [mg/ml]
6 h	y = 15,479x -10,69	0,9924	9,3331	10,3173	12,4850
12 h	y = 12,834x -7,5682	0,991	8,4484	9,5343	12,0000
24 h	y = 11,302x -5,8193	0,9708	7,9005	9,0634	11,7685
48 h	y = 11,032x -4,9753	0,8102	6,9682	8,0208	10,4815
72 h	y = 10,158x -3,9782	0,8102	6,5691	7,6534	10,2344

D'après le tableau 5, les valeurs de DL₅₀ de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens* se varient de 7,6534 mg/mL à 10,3173mg/mL, alors que les valeurs de DL₉₀ se varient de 10,2344 mg/mL au 12,4850mg/mL.

Tableau 6: Valeurs de doses létales d'extrait éthanolique des feuilles de *Ruta graveolens*.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/ml]	DL ₅₀ [mg/ml]	DL ₉₀ [mg/ml]
6 h	$y = 4,8547 x - 0,5368$	0,9502	10,0385	13,8198	25,3850
12 h	$y = 6,8636 x - 2,1393$	0,868	8,7492	10,9690	16,8636
24 h	$y = 10,972 x - 5,7575$	0,7413	8,2989	9,5598	12,5110
48 h	$y = 11,032x - 4,9753$	0,8102	6,9682	8,0208	10,4815
72 h	$y = 11,032 x - 4,9753$	0,8102	6,9682	8,0208	10,4815

Le tableau 6 présent la régression de l'extrait éthanolique des feuilles de *Ruta graveolens*. Ces résultats montrent que l'effet toxique de cet extrait est appréciable pendant les 6h avec des valeurs de DL₅₀ comprises entre 8,0208 mg/mL et 13,8198 mg/mL. Autant, les valeurs de DL₉₀ varient de 10,8415 à 25,3850 mg/mL.

3.3.2. Temps létaux

Sur la base des droites de régression des probits correspondants au pourcentage de la mortalité corrigée en fonction des logarithmes des concentrations de traitement, on a déterminé les temps létaux de 25%, 50% et 90% de la population de *Bruchus rufimanus*.

Tableau 7: Valeurs de temps létaux d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens*.

Concentration	Equation	R ²	TL ₂₅ [h]	TL ₅₀ [h]	TL ₉₀ [h]
9 mg/mL	$y = 1,1208x + 3,4157$	0,9509	6,4891	25,9146	360,8858
12 mg/mL	$y = 1,8173x + 4,2015$	0	1,1709	2,7504	13,9582
15 mg/mL	ND	ND	ND	ND	ND

D'après les résultats de la régression établis d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens* indiqués dans le tableau 6, cet extrait présente un temps létaux minimal de

2,75h pour une mortalité cumulée de 50% de la population qui a été enregistré pour la dose 12 mg/mL.

Tableau 8: Valeurs de temps létales d'extrait éthanolique des feuilles de *Ruta graveolens*.

Concentration	Equation	R ²	TL ₂₅ [h]	TL ₅₀ [h]	TL ₉₀ [h]
9 mg/mL	$y = 1,0657x + 3,4155$	0,9303	7,1510	30,6772	489,5323
12 mg/mL	$y = 3,1835 x + 1,6789$	0,8654	6,7843	11,0465	72,9206
15 mg/mL	$y = 2,3082 x + 3,7161$	0,8482	1,8375	3,5994	12,9314

Le tableau 8 présent la régression établis de l'extrait éthanolique des feuilles de *Ruta graveolens* appliqué sur le ravageur *Bruchus rufimanus*. Les résultats montrent que cette extrait présente un temps léta minimal de 3,5994h pour une mortalité cumulée de 50% de la population qui a été enregistré pour la dose 15 mg/mL.

L'efficacité insecticide d'espèce *Ruta graveolens* a été confirmée par le travail de (Perera *et al.*, 2019). Ils ont déduit que l'huile essentielle de cette plante a présenté une forte toxicité en fonction de la concentration et l'espèces d'insectes et le temps, dans les quelles l'extrait a causé un mortalité de 100% à des concentrations de 1,52 et 0,46 mg/mL contre les deux espèces *Sitophilus zeamais* et *Corcyra cephalonica*.

Pareillement, la plante de *Ruta graveolens* montré une excellente activité larvicide dans l'étude de (Dris et Bouabida, 2020). En effet, l'huile essentielle de *Ruta graveolens*, aux deux concentrations létale (LC₂₅ et LC₅₀), provoque une diminution significative du poids et du volume, des compositions biochimiques et des indices caloriques des larves de troisième et quatrième stade de *Culex pipiens*. Ainsi, ils ont noté des valeurs LC₅₀ de 9,95 et 11,77 ppm pour L3 et L4 de *Culex pipiens* respectivement ; et la mortalité a été enregistrée après 24 heures d'exposition.

De plus, l'efficacité de l'activité larvicide a été déduit par l'espèce *R. chalepensis* du même genre que *Ruta graveolens*. (Benhissen *et al.*, 2019) ont observé qu'il y'a une sensibilité des larves du quatrième stade de *C. longiareolata* aux extraits aqueux des feuilles de *R. chalepensis* qui se traduit par des taux de mortalité plus ou moins élevés selon les concentrations utilisées et surtout selon le temps d'exposition aux extraits. Pour assurer une

mortalité de 50 % des larves après le premier jour, la concentration d'extrait de *R. chalepensis* doit être égale à 22,17 g/L, et la concentration 46 g/L assurent la mortalité de 90%. Au deuxième jour, les doses létales DL₅₀ et la DL₉₀ sont 8,82 g/L et 14,31 g/L respectivement. Concernant les temps létaux, la concentration 8 g/L de feuilles de *R. chalepensis* peut éliminer 50% de la population de *C. longiareolata* en environ 3 jours et 90% de ces moustiques peuvent être éliminés dans 8 jours de traitement.

Autre étude menée par (Ali *et al.*, (2013) sur l'évaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles de *Ruta chalepensis* sur *Aedes aegypti* et *Anophele. Quadrimaculatus*. Ils ont montré qu'il y'a une activité répulsive sur les larves ; et la toxicité est plus importante sur celles d'*A. quadrimaculatus* (CL₅₀ de 14,9 ppm) que sur *A. aegypti* (LC₅₀ de 22,2 ppm).

Egalement, le travail de (Regnault-Roger et Hamraoui, 1993), sur les larves d'*A. obtectus*, *B. rufimanus* et *C. maculatus* exposées aux extraits de *O. glandulosum*, a montré que cette plante présente une activité contre ces espèces. La mortalité en général est plus élevée en *A. obtectus* pour les mêmes doses/durée d'exposition que en *B. rufimanus* et *C. maculatus*. En plus, après le 6^{ème} jour, tous les insectes expérimentales d'*A. obtectus* ont été morts par toutes les doses testées. Ainsi, *B. rufimanus* et *C. maculatus* semblent être plus résistants que *A. obtectus* aux différentes concentrations. Les DL₅₀ déterminées étaient de 1,44 µL/ 30 g de graines sur *A. obtectus*, de 7,72 µL/ 30 g de graines sur *B. rufimanus*, et de 2,06 µL/ 30 g de graines sur *C. maculatus*.

3.4. Tests de toxicité des fractions obtenues

La figure 18 présente les taux de mortalités de différentes fractions d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens* contre les adultes de *Bruchus rufimanus* en fonction des temps d'expositions.

Ces résultats montrent que les fractions 1 et 4 sont les plus toxiques avec des taux de mortalité de l'ordre de 100% après une heure de l'exposition. Les autres fractions présentent des taux de mortalités variés avec les temps d'expositions. La fraction la moins toxique est la fraction 5 qui a présentée une toxicité de l'ordre de 100 % après 24 de l'exposition de insectes vis-à-vis l'extrait

Tous les fractions récupéré de l'extraits d'acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens* présentent une forte toxicité contre les adultes de *Bruchus rufimanus*.

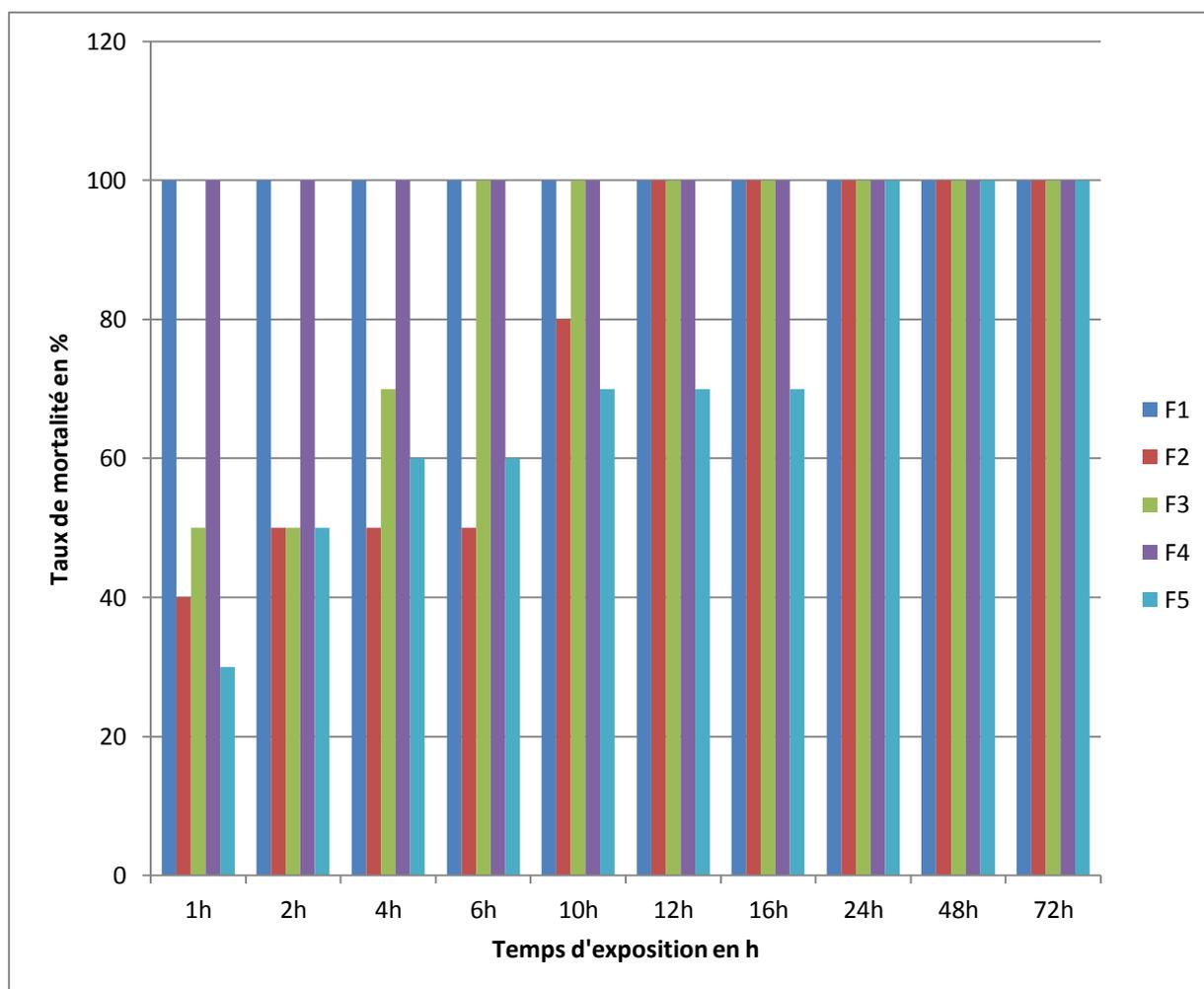


Figure 18 : Toxicité des fractions d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens* contre les adultes de *Bruchus rufimanus*.

3.5. Analyses chromatographiques des extraits par HPLC

D'après les résultats mentionnés dans la figure 19 et le tableau 9, les analyses chromatographiques d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens* par HPLC ont permis de détecter 12 pics. Après l'utilisation des standards, 8 pics ont été déterminés qui sont respectivement selon les temps de rétention : Acide chlorogénique, Acide tannique, Quercétine, Adonitol, Acide gallique, Acide coumarique, Acide caféique, Acide ascorbique.

Nos résultats ressemblent avec ceux de (Ekiert *et al.*, 2014) qui a pu identifier la présence d'acide caféique, acide chlorogénique, acide p-coumarique, acide p-hydroxybenzoïque, acide protocatéchique et acide syringique dans l'extrait méthanolique de *Ruta graveolens*.

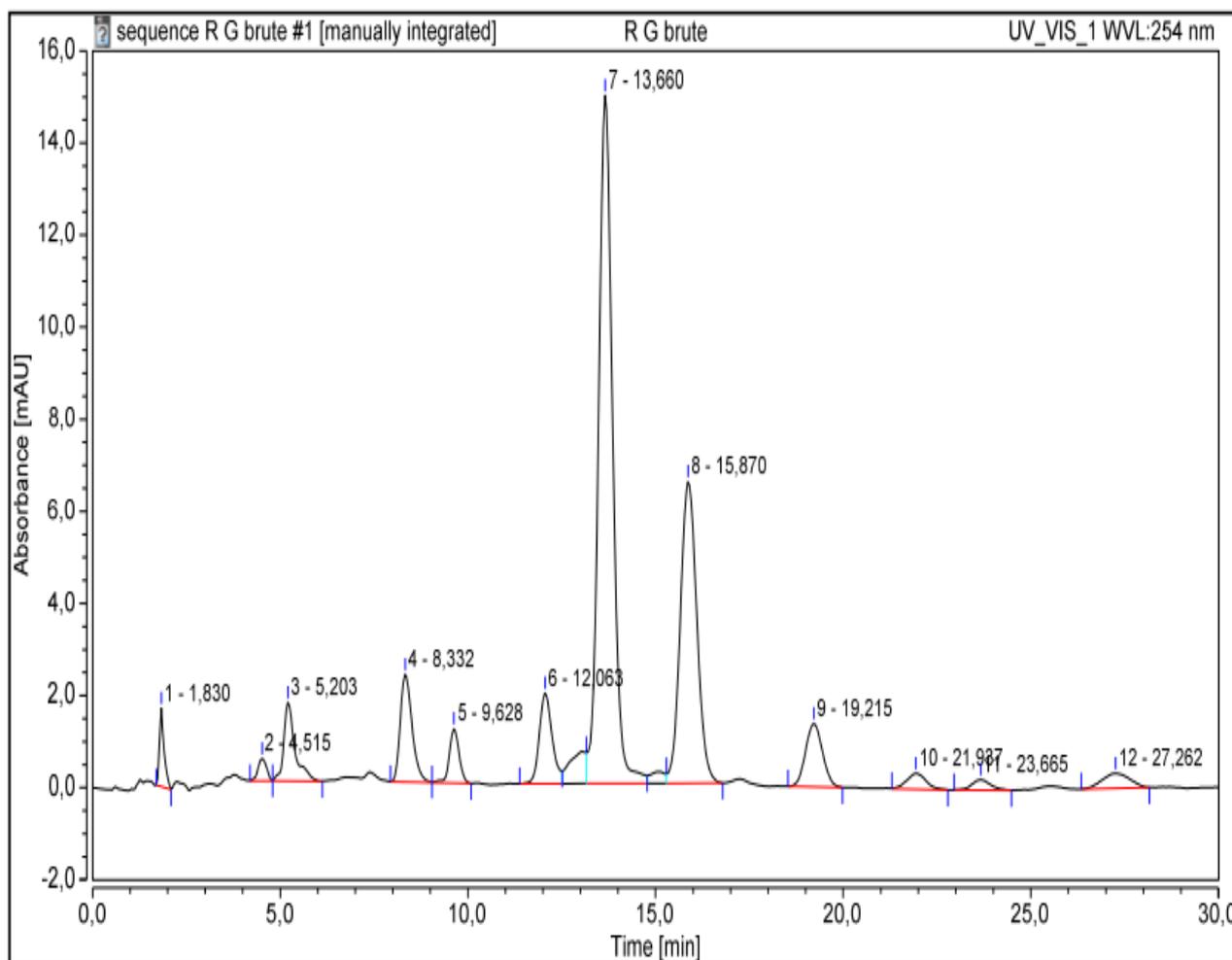


Figure 19 : Chromatogramme d'analyse d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens* par HPLC

(Elansary *et al.*, 2020) a montré que *Ruta graveolens* contenait principalement les acides phénoliques, l'acide chlorogénique et l'acide p-coumarique, ainsi que les flavonoïdes rutoside et quercétine.

Selon (Saeed *et al.*, 2023), Les principaux composés phénoliques des extraits à l'éthanol de *Ruta graveolens* étaient le catéchol et la coumarine, l'hydroquinone, tandis que le résorcinol et la coumarine provenant des extraits à l'acétate d'éthyle.

Le travail de (Frent *et al.*, 2023) a permis de détecter dans l'extrait de *Ruta graveolens* des composés polyphénoliques et flavonoïdes, tels que l'acide chlorogénique, l'acide p-coumarique, l'acide férulique, l'acide synapique, l'isoquercétine, et la quercétine. (Lee *et al.*, 2023), ont indiqué que les extraits de *Ruta graveolens* étaient riches en des composés phénoliques tels que l'acide protocatéchique, la rutine, le psoralène et la xanthotoxine.

(Al-Ajlouni *et al.*, 2015) a montré que HPLC a permis de détecter 5 composants dans l'extrait éthanolique à savoir : Rutin, Psoralen, Xanthotoxin, Bergapten et Imperatorin. (Molnar *et al.*, 2018) a pu extraire la Rutine à partir des feuilles de *Ruta graveolens*. La rutine est le principal glycoside flavonoïde trouvé dans *Ruta graveolens* par méthode chromatographique (Hamad *et al.*, 2012).

Les métabolites phénoliques végétaux tels que l'acide chlorogénique et l'acide tannique portent négativement sur le comportement alimentaire, la croissance, le développement et la reproduction des insectes, et qu'ils peuvent avoir des effets mortels sur des insectes spécifiques. L'acide chlorogénique est un métabolite naturelle a potentiel insecticide présent dans diverses plantes. (Lin *et al.*, 2023).

Tableau 9: Résultat d'intégration d'analyses d'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens* par HPLC

No.	Nom du Peak	Tempsde rétentionmin
1	Acide chlorogenic	1,830
2	Acide tannique	4,515
3	Quercetine	5,203
4	ND	8,332
5	Adonitol	9,628
6	ND	12,063
7	ND	13,660
8	ND	15,870
9	Acide galique	19,215
10	Acide coumarique	21,937
11	Acide caféique	23,665
12	Acide ascorbique	27,262

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion

Pour assurer une meilleure contribution, tout en préservant au maximum le milieu naturel, de nouvelles approches préventives ainsi que de nouveaux produits sont constamment recherchés. Les produits naturels ayant une vaste gamme d'effets pharmacologiques tels que anti-paludisme, bactéricides, fongicides, acaricides, etc., peuvent être aussi utilisées comme insecticides alternatifs depuis longtemps.

La présente étude vise à évaluer l'efficacité des extraits des feuilles de *Ruta graveolens* récolté au niveau de la région de Zelfana –Ghardaïa vis-à-vis le ravageur des denrées stockées *Bruchus rufimanus* d'importance de sécurité alimentaire en déterminant les paramètres de létalité. De plus, nous nous sommes intéressés à la purification et la caractérisation des molécules bioactives des extraits promoteurs.

La macération à froid de la poudre des feuilles de *Ruta graveolens* dans deux solvants (éthanol et acétate d'éthyle) a révélé des faibles rendements, qui étaient de l'ordre 1,24 % et 2,16% pour l'extrait d'acétate d'éthyle et d'éthanol respectivement. Alors, le meilleur extrait était l'extrait éthanolique.

L'analyse qualitative réalisée par un screening phytochimique a montré la présence de nombreux familles des composés naturelles, principalement les flavonoïdes, les tanins les alcaloïdes pour les deux extraits. Il a en outre révélé des quantités plus faibles des stéroïdes. En revanche, les quinones libres et les coumarines sont caractérisés l'extrait d'acétate d'éthyle seulement, dont ils sont absents dans l'extrait éthanolique. Par contre, les tests de recherche des saponosides, des anthocyanine, des terpénoïdes et des composés réducteur sont négatifs.

L'étude de l'activité insecticide des extraits bruts des feuilles de *Ruta graveolens* après l'application des traitements par contact vis-à-vis les adultes de *Bruchus rufimanus* dans les conditions du laboratoire a révélé un bon effet insecticide représentant des taux de mortalité très importants avec une relation dose-réponse. En effet, à forte dose, les extraits des feuilles de *ruta graveolens* provoquent une mortalité totale des bruches.

Le fractionnement d'extrait d'acétate d'éthyle par des méthodes chromatographiques (chromatographie sur colonne et en couche mince) a permis d'obtenir six fractions qu'elles ont confirmé la toxicité des différents composés des feuilles de cette plante.

L'identification des substances bioactives contenues dans les fractions d'extrait de *R. graveolens* est effectuée par une chromatographie liquide a haute performance (HPLC) qu'elle permet de détecter la présence de: Acide chlorogenic, Acide tannique, Quercetine, Adonitol, Acide galique, Acide coumarique, Acide caféique, Acide ascorbique.

Absolument, l'utilisation de bio-insecticides végétaux dans l'agriculture s'inscrit parfaitement dans le cadre du progrès durable. La biodiversité végétale de l'Algerie a été exploitée comme une source formidable des métabolites secondaires aux diverses propriétés en particulier thérapeutiques. Ces composés peuvent être utilisés de manière efficace et respectueuse de l'environnement pour contrôler les ravageurs alimentaires, offrant ainsi une alternative aux produits chimiques synthétiques qui peuvent être nocifs pour la santé humaine et l'écosystème.

En perspective, il serait souhaitable de:

-Etudier l'acte des extraits de *Ruta graveolens* sur certain paramètre biologique et physiologique tel que la reproduction et la durée de cycle biologique de ce ravageur.

-Etudier l'activité insecticide des extraits de *Ruta graveolens* contre d'autres ennemis.

-Appliquer des tests toxicologiques aux extraits des feuilles pour contrôler leur effet toxique sur l'être humain.

-Accomplir des analyses fines pour reconnaître le principe actif et la composition chimique de chaque fraction testée.

Références
bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdelli, M., Moghrani, H., Aboun, A., & Maachi, R. (2016). Algerian *Mentha pulegium* L. leaves essential oil : Chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, 94, 197-205.
- Abderrazak, S., Khmaissia, K. (2020). Rendement en huile essentielle d'une plante médicinale *Ruta graveolens* et l'étude théorique de leur activité biologique sur deux espèces *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* (Diptères) [doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa].
- Abdi, A., Tirouche, R. (2022). Etude du potentiel de rendement en huile essentielle et de l'activité antifongique de la Rue (*Ruta graveolens* L.) de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie).
- Akhtar, N., ul-Haq, I., & Mirza, B. (2018). Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(8), 1223-1235.
- Al-Ajlouni, Z. I., Abbas, S., Shatnawi, M., & Al-Makhadmeh, I. (2015). In vitro propagation, callus induction, and evaluation of active compounds on *Ruta graveolens*. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 13(2), 101-106.
- Al-Anbagi, A. S. M., Al-Mahdawi, M. M. I., & Hammadi, M. (2021). The Effect of Some Nanoparticles Fertilizers on the Chemical Characteristics of Growing *Ruta graveolens* L. Plant in vivo. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 8108-8116.
- Ali, A., Demirci, B., Kiyan, H. T., Bernier, U. R., Tsikolia, M., Wedge, D. E., Khan, I. A., Can Başer, K. H., & Tabanca, N. (2013). Biting deterrence, repellency, and larvicidal activity of *Ruta chalepensis* (Sapindales : Rutaceae) essential oil and its major

- individual constituents against mosquitoes. *Journal of medical entomology*, 50(6), 1267-1274.
- Aliouche, G., Aoudj, S. (2019). Dosage biochimique et étude de l'activité anticoagulante des extraits hydro-alcoolique d'une plante médicinale [Thesis, Abdelhafid Boussouf University centre- Mila].
- Aljaiyash, A. A., Gonaid, M. H., Islam, M., & Chaouch, A. (2014). Antibacterial and cytotoxic activities of some Libyan medicinal plants. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 4(2), 43-51.
- Alloun, K. (2013). Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens* L.), de la sauge (*Salvia officinalis* L.) et de la rue des montagnes (*Ruta montana* L.) [doctoral dissertation].
- Allouni, R. (2018). Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante *Ruta montana* [doctoral dissertation] des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie..
- Amara, L., Bouarroudj, D. (2020). Effet bio-insecticide de l'huile essentielle de Myrte commun (*Myrtus communis*) sur les adultes de la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* BOH (Coleoptera: Chrysomelidae) [doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri].
- Aoudjit, S. (2014). Bioécologie et diapause reproductrice de la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* dans deux parcelles de fève et féverole dans la région de Haizer (Bouira) [doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri].
- Arnaut Ou Gharnaout Besma, C. S. (2014). Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de deux plantes médicinales (*Beta vulgaris* «var. cicla» et *Ruta chalepensis*).

- Asgarpanah, J., Khoshkam, R. (2012). Phytochemistry and pharmacological properties of *Ruta graveolens* L. *J Med Plants Res*, 6(23), 3942-3949.
- Atia, y., Troudi, N. (2023). Criblage phytochimique et évaluation préliminaire des activités biologiques de différents extraits de la plante *Ruta tuberculata* de la zone de Biskra.
- Attia, E. Z., Abd El-Baky, R. M., Desoukey, S. Y., El Hakeem Mohamed, M. A., Bishr, M. M., & Kamel, M. S. (2018). Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils of *Ruta graveolens* plants treated with salicylic acid under drought stress conditions. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(2), 254-264.
- Attou, A. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent.
- Aziri, F. (2015). Activité biologique des poudres des feuilles de deux plantes le myrte (*Myrtus communis* L.) et le laurier rose (*Nerium oleander* L.) sur la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* Say.(Coleoptera: Bruchidae). [doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri].
- Bachi, B., Mahmoudi, N. (2017). L'effet insecticide de l'huile essentielle du pin maritime (*Pinus pinaster*) sur la longévité des adultes mâles de la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* durant la période de diapause [doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri].
- Basset, C., Boumaagouda, R. (2020). Activité biologique des extraits hydroéthanoliques combinés de *Origanum vulgare* et *Ruta graveolens* sur un ravageur secondaire des denrées stockées, *Tribolium confusum* [doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa].
- Bedjou, F., Gali, L. (2014). Activités antioxydants et antimicrobienne des extraits de deux variétés de *Ruta chalepensis* L. Département de la Biologie

Physico-chimique Laboratoire de la Biotechnologie Végétale et Ethnobotanique, Université Abderrahmane Mira, Bejaia, Algérie.

Ben Amor, B. (2008). Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs : Texturation par détente instantanée contrôlée (DIC) [doctoral dissertation, Université de La Rochelle].

Ben Hadj Fredj, M., Fredj, H., Marzouk, B., Cheraief, I., Boukef, K., & Marzouk, Z. (2007). Analysis of Tunisian *Ruta graveolens* L. oils from Jemmel. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 5.

Benaichi, Y., bechki,S. (2023). Contribution à l'évaluation de l'activité antibactérienne de différents extraits des plantes médicinales *Ruta tuberculata* et *Pergularia tomentosa*.

Bendini, A., Toschi, T. G., & Lercker, G. (2002). Antioxidant activity of oregano (*Origanum vulgare* L.) leaves. *Italian journal of food science*, 14(1), 17-24.

Benhissen, S., Habbachi, W., Rebbas, K., & Masna, F. (2019). Bioactivite des extraits foliaires de *Ruta chalepensis* L.(Rutaceae) sur la mortalite des larves de *Culiseta Longiareolata* (Diptera, Culicidae). *Lebanese Science Journal*, 20(1), 1.

Bensaad, M. S. (2022). Etude chimique et évaluation biologique de la plante *Centaurea tougourensis* Boiss. & Reut. De la région des Aurès [doctoral dissertation, Université de Batna 2].

Bentaleb, H., kenouz, C. (2020). Extraction et séparation chromatographique des composés de l'espèce *Centaurea montana*. Université 8 Mai 1945 Guelma

Boucif, H. (2018). Evaluation de l'activité antimicrobienne des différentes extraits de *Ruta tuberculata* Forsk.

Bounechada, M., Arab, R. (2011). Effet insecticide des plantes *Melia azedarach* L. et *Peganum harmala* L. sur *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera : Tenebrionidae).

- Bourarach, K., Sekkat, M., & Lamnaouer, D. (1994). Activité insecticide de quelques plantes médicinales du Maroc. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 14(3), 31-36.
- Boussad, F., Doumandji, S. (2004). La diversité faunistique dans une parcelle de vicia faba (fabaceae) a l'institut technique des grandes cultures d'oued smar. 2eme journée de protection des végétaux, 15 mars 2004. Dép. Zool. agri., Inst. nati. agro., El Harrach, 19.
- Bouziane-Assam, S. (2015). Evaluation de l'effet biocide de l'huile essentielle et de la poudre des feuilles de la sauge (*Salvia officinalis* L. : Lamiacées) sur la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* Boh.(Coleoptera : Bruchinae). [Université Mouloud Mammeri].
- Bouzred, A., damak, I. (2023). Etude préliminaire de l'activité antibactérienne d'une plante médicinale : *Corchorus olitorius* L.
- Brice, K., Adjou Euloge, S., Edwige, D.-A., Konfo, T. R., Christian, A. B. C., & Dominique, S. (2016). Problématique de la conservation du niébé (*Vigna unguiculata* (L), Walp) en Afrique de l'Ouest : Étude d'impact et approche de solution. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 31(1), 4831-4842.
- Chaibeddra, Z. (2014). Etude comparative des substances bioactives chez *ruta montana* L. et *ruta tuberculata* forsk [doctoral dissertation, Oum-El-Bouaghi].
- Chebili, F., Chebiri, S. (2021). Effet biocide de l'huile essentielle de *Mentha piperita* sur les adultes mâles de la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* (Coleoptera : Bruchinae) durant la période de diapause [doctoral dissertation, Université
- cherif, N., Alou, H. (2015). Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *ruta chalepensis* de la région de bordj bou arreridj.
- Cissokho, P. S., Gueye, M. T., Sow, E. H., & Diarra, K. (2015). Substances inertes et plantes à effet insecticide utilisées dans la lutte contre les insectes ravageurs des céréales et

- légumineuses au Sénégal et en Afrique de l'Ouest. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1644-1653.
- Damerdji, A., boukhlikha, A. (2009). Effet de quatre variétés d'haricots sur la durée du cycle de développement de la bruche *Acanthoscelides obtectus* (coleoptera, bruchidae). *Revue Ivoirienne des Sciences et Technologie*, 14, 161 - 173.
- Daoudi, A., Hrouk, H., Belaidi, R., Slimani, I., Ibijbijen, J., & Nassiri, L. (2016). Valorisation de *Ruta montana* et *Ruta chalepensis*: Étude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7(3), 685 - 1063.
- Delanglez, L. (2022). Etude de l'impact de pièges sémiocchimiques en culture de féverole sur *Bruchus rufimanus* Boheman, 1833 (Coleoptera : Chrysomelidae) et sur les auxiliaires de culture.
- Delobel, A. (2008). Les bruches. *Insectes*, 150, 1 -4.
- Derbal, K., Abidi, B., & Ghrieb, A. (2023). Evaluation du potentiel antimicrobien des extraits bioactifs de *Thymus vulgaris* et *Ruta graveolens* [doctoral dissertation, Université Echahid Chikh Larbi Tebessi -Tebessa].
- Diwan, R., Shinde, A., & Malpathak, N. (2012). Phytochemical Composition and Antioxidant Potential of *Ruta graveolens* L. *In Vitro Culture Lines*. *Journal of Botany*, 2012(1), e685427.
- Djelouat, F. (2021). Etude de l'impact des rongeurs sur les stocks céréaliers dans la wilaya de Tiaret [doctoral dissertation, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie].
- Djemai Zoughlache, S. (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L. [Magister, Université de Batna 2].

- Doerper, S. (2008). Modification de la synthèse des furocoumarines chez *Ruta graveolens* L. par une approche de génie métabolique [Phdthesis, Institut National Polytechnique de Lorraine].
- Dohou, N., Yamni, K., S., T., Idrissi Hassani, L. M., Alain, B., & Najib, G. (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bull Soc Pharm Bordeaux*, 142, 61-78.
- Doumandji mitiche, B. (1977). Les pyrales des dattes stockées. Département de Zoologie Agricole.
- Dris, D., Bouabida, H. (2020). Larvicidal activity of an Algerian *Ruta graveolens* essential oil on mosquito species *Culex pipiens*. *Transylvanian Review*. University of Larbi Tbessi, Tebessa, Algeria
- Duval, J. (1992). La culture de la rue. *AGRO-blo*, 3, 6-45.
- Ekiert, H., Piekoszewska, A., Muszyńska, B., & Baczyńska, S. (2014). ACCUMULATION OF P-COUMARIC ACID AND OTHER BIOACTIVE PHENOLIC ACIDS IN IN VITRO CULTURE OF *RUTA GRAVEOLENS* SSP. *DIVARICATA* (TENORE) GAMS. *Medicina Internacia Revuo*, 102(26), 24-31.
- Elansary, H. O., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., El-Ansary, D. O., A. Al-Mana, F., & Mahmoud, E. A. (2020). Polyphenol content and biological activities of *Ruta graveolens* L. and *Artemisia abrotanum* L. in northern Saudi Arabia. *Processes*, 8(5), 531.
- El idrissi, M., Amechrouq, A. (2014). Étude de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Dysphania ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) sur *Sitophilus oryzae* (Coleoptera : Curculionidae) [Study of the insecticidal activity of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) on *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae)]. *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (4)(2014) 989-994, ISSN : 2028-2508.

- El allaoui, A., rhazi filali, F., oumokhtar, B., & Ibijbijen, J. (2011). Evaluation de la toxicité aigue du colorant (Rhodamine B) utilisé dans la fabrication des saucisses traditionnelles dans la ville de Meknès au Maroc. ScienceLib Editions Mersenne, Volume 3, N ° 111116, 1-15.
- Enneb, H., Belkadhi, A., Cheour, F., & Ferchichi, A. (2015). Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis* L.). Journal of New Sciences, 20.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies, 331(5), 372-379.
- Frent, O. D., Vicas, L. G., Duteanu, N., Nemes, N. S., Pascu, B., Teusdea, A., ... & Marian, E. (2023). Formulation, Physico-Chemical Characterization, and Evaluation of the In Vitro Release Capacity of the *Ruta graveolens* L. Phytocomplex from Biodegradable Chitosan and Alginate Microspheres. Applied Sciences, 13(17), 9939.
- Ghedadba, N., Hambaba, L., Mohamed-Cherif, A., Mokhtar, S., N.Fercha, & Bousselfela, H. (2014). Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. Algerian Journal of Natural Products, 2, 64-74.
- Gouami, C., Nebili, I. (2020). Screening phytochimique d'une plante médicinale *Ruta graveolens* et l'étude théorique de son activité biologique sur un modèle biologique *Drosophila melanogaster* [doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa].
- Gross, J., Haber, O., & Ikan, R. (1983). The carotenoid pigments of the date. Scientia Horticulturae, 20(3), 251-257.
- 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.

- Hamdani, D. (2012). Action des poudres et des huiles de quelques plantes aromatiques sur les paramètres biologiques de la bruche du Haricot, *Acanthoscelides obtectus* Say. (Coleoptera : Bruchidae) [Université Mouloud Mammeri].
- Hamdi, A., Viane, J., Mahjoub, M. A., Majouli, K., Gad, M. H. H., Kharbach, M., Demeyer, K., Marzouk, Z., & Heyden, Y. V. (2018). Polyphenolic contents, antioxidant activities and UPLC–ESI–MS analysis of *Haplophyllum tuberculatum* A. Juss leaves extracts. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 1071 -1079.
- Hamel, I. (2023). Caractérisation et cartographie des propriétés physico- chimiques des sols de la région de Ghardaïa (Cas de la palmeraie de ZELFANA) Algérie.
- Hamla, A., Hamla, I. (2020). Etude de l'activité biologique de deux extraits hydroéthanoliques de *Origanum vulgare* et *Ruta graveolens* sur *Tribolium confusum* [doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa].
- Hamad, M. N. (2012). Isolation of rutin from *Ruta graveolens* (Rutaceae) cultivated in Iraq by precipitation and fractional solubilization. *Pharmacie Globale*, 3(4), 1.
- Hammiche, V., Azzouz, M. (2013). Les rues : Ethnobotanique, phytopharmacologie et toxicité. *Phytothérapie*, 11(1), 22-30.
- Handa, S. S. (2008). An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, 1(1), 21-40.
- Joseph, M., Gladrich, M. T. F., Emmanuelle, L. M. J., Makanga, O. L. D. épse, & Attibayeba, A. (2022). Effets Insecticide et Insectifuge des Huiles Essentielles de Cinq Plantes Aromatiques sur la Bruche de Haricot Cultivé en République du Congo. *ESI Preprints*, 12, 361-361.
- Kacha, D., Kacel, F. (2015). Activité insecticide des huiles essentielles de Lamiacées et de Rutacées sur la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* Boh. (Coleoptera : Chrysomelidae :Bruchinae). [Université Mouloud Mammeri].

- Kemassi, A., Herouini, A., Hadj, S. A., Cherif, R., & Elhadj, M. O. (2019). Effet insecticide des extraits aqueux d'*Euphorbia guyoniana* (Euphorbiaceae) récoltée dans Oued Sebseb (Sahara Algerien) sur le *Tribolium castaneum*. *Lebanese science journal*, 20(1), 55-70.
- Kouassi, M. D. (2001). La lutte biologique: une alternative viable à l'utilisation des pesticides?. *VertigO-la revue électronique en sciences de l'environnement*, 2(2).
- Kouninki, H. (2007). Etude des potentialités d'utilisation d'huiles essentielles pour le contrôle de deux insectes ravageurs des grains *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) et *Sitophilus zeamais* (Coleoptera : Curculionidae) au Nord Cameroun [doctoral dissertation, UCL - Université Catholique de Louvain].
- Laib, D. (2014). Etude de l'activité insecticide du champignon endophyte *Cladosporium* sp. Isolé du Laurier rose *Nerium oleander* L.(Apocynaceae, Gentianales) sur la bruche des haricots *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae). *Nature & Technology*, 10, 39.
- Laib, I., Barkat, M. (2011). Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs.
- Lee, C. D., Lee, H. D., Lee, Y., Lee, H. M., & Lee, S. (2023). GC/MS and HPLC/PDA characterization of essential oils and phenolic compounds from the aerial parts of common rue (*Ruta graveolens*). *Journal of Applied Biological Chemistry*, 66, 144-
- Lin, D. J., Zhang, Y. X., Fang, Y., Gao, S. J., & Wang, R. (2023). The effect of chlorogenic acid, a potential botanical insecticide, on gene transcription and protein expression of carboxylesterases in the armyworm (*Mythimna separata*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 195, 105575.152.

- Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- Madike, L. N., Takaidza, S., & Pillay, M. (2017). Preliminary phytochemical screening of crude extracts from the leaves, stems, and roots of *Tulbaghia violacea*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(10), 1300-1308.
- Magoura, M., Moussaoui, Z. (2020). Etude comparative de l'efficacité de quelques extraits organiques des espèces de la plante *Ruta* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).
- Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, 9, 35.
- Maifi, R., Salmi, M. (2017). Etude de l'activité larvicide d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* à l'égard d'une espèce de moustique *Culesita longiareoleta* [doctoral dissertations, Université laarbi tebessi tebessa].
- Malik, F., Hussain, S., Sadiq, A., Parveen, G., Wajid, A., Shafat, S., Channa, R. A., Mahmood, R., Riaz, H., & Ismail, M. (2012). Phyto-chemical analysis, anti-allergic and anti-inflammatory activity of *Mentha arvensis* in animals. *Afr J Pharm Pharmacol*, 6(9), 613-619.
- Mebarkia, I., Boulaares, L. (2023). Activité biologique d'huile essentielle de *Ruta Montana* et *Ruta graveolens* sur le développement à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* [doctoral dissertations, Université Echahid Chikh Larbi Tébessi - Tébessa].

- Méradji, B., Tebbakh, R., & Benterrouche, L. E. (2016). Contribution à l'étude des composés phénoliques des extraits de *Ruta chalepensis* et *Achillea ligustica* et évaluation in vitro de leurs activités biologiques [doctoral dissertations, Université de Jijel].
- Merghit, A., Chennouf, S., & Boudjerida, A. (encadreur). (2021). Extraction des huiles essentielles et d'autres métabolites secondaires d'une plante médicinale algérienne [doctoral dissertations, Université jijel].
- Messai, S., Touahria, C. (2021). Activité larvicide et ovicide de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* chez deux espèces de diptère *Drosophila melanogaster* et *Culiseta longiareolata* [doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa].
- Mezani, S. (2011). Bioécologie de la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* Boh. (Coleoptera : Bruchidae) dans des parcelles de variétés de fèves différentes et de féverole dans la région de Tizi-Rached (Tizi-Ouzou).
- Mezani, S. (2016). Suivi des populations de *bruchus rufimanus* (Coleoptera : Chrysomelidae) dans les lieux de diapause et dans des parcelles de variétés de fève différentes (Aguadulce, Séville et Féverole) dans la région de Tizi-Ouzou [Université Mouloud Mammeri].
- Mitache, M. (2017). caractérisation des graines de populations locales de *VICIA FABA* et évaluation de leur infestation par *BRUCHUS RUFIMANUS* [UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH].
- Mokhtari, M. (2021). Recherche des métabolites secondaires dans les espèces *Thymus algeriensis* et *Diplotaxis eruroides* [doctoral dissertation, UB1].
- Molnar, M., Jakovljević, M., & Jokić, S. (2018). Optimization of the process conditions for the extraction of rutin from *Ruta graveolens* L. by choline chloride based deep eutectic solvents. *Solvent Extraction Research and Development, Japan*, 25(2), 109-116.

- Ndomo, A., Tapondjou, A., Fernand, T., & Tchouanguép, F. (2009). Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera; Bruchidae). *Tropicultura*, 27.
- Ould el hadj, M. didi, Tankari Dan-Badjo, A., Halouane, F., & Doumandji, S. (2006). Toxicité comparée des extraits de trois plantes acridifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* Forskål, 1775 (Orthoptera-Cyrtacanthacridinae). *Sécheresse*, 17, 407-414.
- Parray, S. A., Bhat, J. U., Ahmad, G., Jahan, N., Sofi, G., & Ifs, M. (2012). *Ruta graveolens* : From traditional system of medicine to modern pharmacology: an overview. *Am J Pharm Tech Res*, 2(2), 239-252.
- Perera, A. G. W., Karunaratne, M. M. S., & Chinthaka, S. D. M. (2019). Qualitative Determination, Quantitative Evaluation and Comparative Insecticidal Potential of *Ruta Graveolens* Essential Oil and Its Major Constituents in the Management of Two Stored Pests *Sitophilus Zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) And *Corcyra Cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae).
- Regnault-Roger, C., Hamraoui, A. (1993). Influence d'huiles essentielles aromatiques sur *Acanthoscelides obtectus* Say, bruche du haricot (*Phaseolus vulgaris* L.). *Acta Botanica Gallica*, 140(2), 217-222.
- Rio, C. (2017). Les légumes secs, aliments de choix à valoriser. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 52(2), 71-77.
- Rodrigue Lugendo, A. (2022). Lutte biologique contre la bruche en milieu tropical et tempéré selon deux modèles d'études, *Bruchus rufimanus* Boheman 1833 et *Callosobruchus maculatus* (Fabricius 1775) (COLEOPTERA, Chrysomelidae).

- Roudane, W. (2018). Activité insecticide de l'huile essentielle du Bigradier (*Citrus aurantium* L.) à l'égard de la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Saeed, Y. S., Ali, J. F., & Mohammed, M. A. (2023). Chemical composition, antioxidant, and antibacterial activity of *Ruta graveolens* (Rutaceae). *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 24(6).
- Salmi, R., Maifi, M. (2021). Effet pupicide de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* chez deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* [doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa].
- Santos, R. D., Shetty, K., Cecchini, A. L., & da Silva Miglioranza, L. H. (2012). Phenolic compounds and total antioxidant activity determination in rosemary and oregano extracts and its use in cheese spread. *Semina: Ciências Agrárias*, 33(2), 655-666.
- Semacumu, G., Kulimushi, E., & PATERNE, B. (2012). SEMACUMU, G., Kulimushi, E., & Bahige, P. Etude de l'efficacité des poudres des quelques plantes locales dans la lutte post-récolte contre les insectes ravageurs des grains de maïs (*Zea mays*) en conservation à Goma.. I, 303-316.
- Seri-Kouassi, B. P., Kanko, C., Aboua, L. R. N., Bekon, K. A., Glitho, A. I., Koukoua, G., & N'Guessan, Y. T. (2004). Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* F. du niébé. *Comptes Rendus Chimie*, 7(10), 1043-1046.
- Serondo, H., Mategeko, A., Liberata, N., & Mpiana, P. T. (2022). Criblage phytochimique, évaluation des activités antimicrobiennes et antiradicalaires des extraits de la partie aérienne de *Leucas martinicensis* (Jack.) R.Br. (Lamiaceae) et de ses fractions. *Afrique Science Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 21, 181-193.

- Shamal Badhusha, P., Rupesh Kumar, M., Angitha, A., Blainy, B., Abhishek, K., Sanjay K., G., & Ramesh, B. (2020). Traditional uses, Phytochemistry and Ethanopharmacology of *Ruta graveolens* Linn : A review. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis*, 1-4.
- Sinha, R. N., Watters, F. L. (1985). *Insect pests of flour mills, grain elevators, and feed mills and their control*.
- Siradj, N. (2015). Effet de quelques bio-pesticides vis-à-vis de *Parlatoria blanchardi* Targ. 1892 (Homoptera, Diaspididae); cochenille blanche du palmier, dans la région de Metlili.
- Slama, A., Salem, M., Ben Naceur, M., & Zid, E. (2005). Les céréales en Tunisie : Production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. *Sécheresse*, 16, 225-229.
- Souayah, A., Djoudi, A., & Rouibah, M. (E. (2002). L'influence des insectes sur les denrées dans la wilaya de Jijel et Mila [doctoral dissertation, université de Jijel].
- Souilah, A., Ayad, S., & Boudjerda, A. (encadreur). (2019). Extraction et identification structurale des métabolites secondaires d'une plante médicinale.
- Teinkela, J. E. M., Nzodjou, T. F., Nguemfo, E. L., Assob, J. C. N., & Noundou, X. S. (2022). Screening phytochimique et étude de la toxicité aigüe et subaigüe de l'extrait ethanologique des écorces du tronc de *Canarium schweinfurthii* Engl.(Burseraceae) chez le rat. *Journal of Applied Biosciences*, 174, 18043-18055.
- Telli, A. (2017). Activités anti-oxydante, antimicrobienne et antidiabétique de deux espèces spontanées utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Ouargla : *Amodaucus leucotrichuset Anvillea radiata* [doctoral dissertation].
- Valentin, B., Amuri, B., Serge, M., Kahumba, B., Duez, P., & Lumbu-Simbi, J. (2017). Étude ethnobotanique, phytochimique et évaluation de l'activité antiplasmodiale de 13

plantes réputées antipaludéennes dans la commune du Kenya (Lubumbashi, RDC).
Phytothérapie, 1-10.

Yahla, A. (2023).. L'activité insecticide de la diatomite et de l'huile essentielle d'Ammoide verticillata sur le bioagresseur des gaines stockées Tribolium confusum dans la région de Tissemsilt..

Zerroudi, D., Kadi, D. (2021). Effet de l'huile essentielle d'eucalyptus (Eucalyptus citrodoria) sur la longévité des adultes mâles et femelles de la bruche de la fève (Bruchus rufimanus) (Coleoptera:Bruchidae) durant la période de diapause [Université Mouloud Mammeri].

Webgraphie:

Site 1:Bio-enligne. (2018). Bruche du pois: cycle de développement et lutte biologique. Bio-enligne. <https://www.bio-enligne.com/coleoptere/562-bruche-pois.html>

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
 République Algérienne Démocratique et Populaire
 وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
 Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique

جامعة غرداية
 Université de Ghardaïa

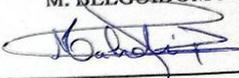
كلية علوم الطبيعة والحياة
 وعلوم الأرض
 قسم البيولوجيا

Faculté des sciences de la nature et
 de la vie et sciences de la terre
 Département de Biologie

Ghardaïa le :/07/2024

Rapport : Correction du mémoire

Enseignant (e) (s) Chargé (e) (s) de la correction :

Nom et prénom l'examinateur 1 et Signature	Nom et prénom de l'examinateur 2et Signature	Nom et prénom de président et Signature
Mme SEDDIKI M. 		M. BELGUIDOM M. 

Thème :

L'activité insecticides des extrait des feuille de ruta gravelons récolte de région de ghardaïa.

Après les corrections apportées au mémoire, l'étudiante :

Meille Abdelali sirine malak

Sont autorisées à déposer le manuscrit au niveau du département.

Signature


Résumé

Les dégâts causés par les insectes aux stocks de céréales et de légumineuses ont fait l'objet de nombreuses études en Afrique. L'objectif principal de ce travail consiste de trouver des substances naturelles à un effet insecticide contre le ravageur de la fève : *Bruchus rufimanus* en utilisant les extraits des feuilles de la plante *Ruta graveolens* (Rutaceae) de la région de Zelfana - Ghardaïa comme une alternative aux pesticides synthétiques pollueurs de l'environnement. Les feuilles de la plante ont été soumises à une extraction par macération dans deux solvants : acétate d'éthyle et éthanol. L'analyse qualitative réalisée par un screening phytochimique a déterminé la présence de plusieurs composés chimique en particulier les flavonoïdes, les tannins, les stéroïdes et les alcaloïdes. L'étude de l'activité insecticide des extraits de *R. graveolens* a été montrée un effet toxique très fort sur les adultes de *Bruchus rufimanus* avec un traitement par contact, notamment pour l'extrait acétate d'éthyle. Cette efficacité est représentée par des paramètres toxicologiques calculés, à savoir DL_{50} , DL_{90} , TL_{50} et TL_{90} . La sensibilité des adultes était variable et encore plus élevée avec l'augmentation des concentrations d'extrait et avec le temps d'exposition. Le fractionnement d'extrait d'acétate d'éthyle par des méthodes chromatographiques (chromatographie sur colonne et en couche mince) permet d'obtenir six fractions qu'elles ont confirmé la toxicité des différents composés des feuilles de cette plante. L'identification des substances bioactives contenues dans les fractions d'extrait de *R. graveolens* est effectuée par un chromatographie liquide a haut performance (HPLC). Dans le cadre de la lutte biologique, l'application de ce produit insecticide ça pourrait être très efficace contre les ravageurs et pour la protection des stocks des légumineuses.

Mots clés: effet insecticide, *Bruchus rufimanus*, *Ruta graveolens*, chromatographie sur colonne, HPLC.

Abstract

The damage caused by insects to cereal and legume stocks has been the subject of numerous studies in Africa. The main aim of this work is to find natural substances with an insecticidal effect against the bean pest *Bruchus rufimanus*, using extracts from the leaves of the *Ruta graveolens* plant (Rutaceae) from the Zelfana - Ghardaïa region as an alternative to synthetic pesticides that pollute the environment. The plant leaves were extracted by maceration in two solvents: ethyl acetate and ethanol. Qualitative analysis using phytochemical screening determined the presence of several chemical compounds, in particular flavonoids, tannins, steroids and alkaloids. The study of the insecticidal activity of *R. graveolens* extracts showed a very strong toxic effect on *Bruchus rufimanus* adults with contact treatment, particularly for the ethyl acetate extract. This efficacy is represented by calculated toxicological parameters, namely LD_{50} , LD_{90} , TL_{50} and TL_{90} . The sensitivity of adults was variable and even higher with increasing extract concentrations and exposure time. Fractionation of ethyl acetate extract using chromatographic methods (column and thin layer chromatography) yielded six fractions, which confirmed the toxicity of the various compounds in the leaves of this plant. The bioactive substances contained in the *R. graveolens* extract fractions were identified using high-performance liquid chromatography (HPLC).

In the context of biological control, the application of this insecticidal product could be very effective against pests and for the protection of legume stocks.

Key words: Insecticidal effect, *Bruchus rufimanus*, *Ruta graveolens*, column chromatography, HPLC.

ملخص:

كانت الأضرار التي تسببها الحشرات لمخزون الحبوب والبقوليات موضوع العديد من الدراسات في أفريقيا. الهدف الرئيسي من هذا العمل هو العثور على مواد طبيعية ذات تأثير مبيد للحشرات ضد آفة الفول *Bruchus rufimanus*، باستخدام مستخلصات من أوراق نبات *Ruta graveolens* (Rutaceae) من منطقة زلفانة - غرداية كبديل للمبيدات الاصطناعية التي تلوث البيئة. استخلصت أوراق النبات بالنقع في مذيبين: أسيتات الإيثيل والإيثانول. وحدد التحليل النوعي باستخدام الفحص الكيميائي النباتي وجود العديد من المركبات الكيميائية، ولا سيما مركبات الفلافونويد والعفص والمنشطات والقلويدات. أظهرت دراسة نشاط المبيدات الحشرية لمستخلصات *R. graveolens* تأثيراً ساماً قوياً جداً على البالغين من نوع *Bruchus rufimanus* مع المعالجة بالتلامس، خاصة بالنسبة لمستخلص أسيتات الإيثيل. وتمثلت هذه الفعالية من خلال متغيرات السمية المحسوبة وهي الجرعة المميتة 50 والجرعة المميتة 90 والجرعة المميتة 50 والجرعة المميتة 90 وكانت حساسية البالغين متغيرة بل وأعلى مع زيادة تركيزات المستخلص ووقت التعرض. وقد أسفرت تجزئة مستخلص أسيتات الإيثيل باستخدام طرق كروماتوغرافية (كروماتوغرافيا العمود والطبقة الرقيقة) عن ستة أجزاء (fraction) أكدت سمية المركبات المختلفة في أوراق هذا النبات. تم تحديد المواد النشطة بيولوجياً الموجودة في أجزاء مستخلص نبات *R. graveolens* باستخدام كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء (HPLC). في سياق مكافحة البيولوجية، يمكن أن يكون تطبيق هذا المنتج المبيد للحشرات فعالاً جداً ضد الآفات ولحماية مخزون البقوليات.

الكلمات المفتاحية: تأثير مبيد الحشرات، *Bruchus rufimanus*، *Ruta graveolens*، كروماتوغرافيا العمود، تحليل السائل عالي الأداء HPLC.