

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

Université de Ghardaia



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 :

LAKHDARI Nesrine

MOHAMMEDI Manal

Thème

**Etude de l'activité insecticide des extraits
de plante *Ruta graveolens* de la région de
Ghardaïa**

Soutenu publiquement le : 11/06/2023

Devant le jury :

M. AOUADI Abdelhafid	Maître de conférence B	Université de Ghardaia	Président
Mme.BENSANIA Wafa	Maître Assistant A	Université de Ghardaia	Encadreur
Melle. ROUARI Linda	Docteur	Université de Ghardaia	Co-encadreur
Mme.ADDOUN Noura	Maître de conférence B	Université de Ghardaia	Examinatrice

Année universitaire 2022/2023



Remerciements

En préambule à ce mémoire, nous tenons tout d'abord à remercier الله le tout puissant et miséricordieux, qui nous aide et qui nous a donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce Modeste travail

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage et qui m'ont aidée lors de la rédaction de ce mémoire.

Je voudrais tout d'abord adresser toute ma reconnaissance à la directrice de ce mémoire, Madame Bensania Wafa, maitre assistant de département de biologie, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Je tiens à remercier spécialement Mme Rouari Linda, qui fut la première à me faire découvrir le sujet qui a guidé mon mémoire.

J'adresse mes remerciements à monsieur Houadi Abdelhafid, maitre de conférence de département de biologie, d'avoir présider notre soutenance, et madame Addoun Noura, maitre de conférence de département de biologie, Université de Ghardaia.

Nous remercions les plus profonds et spéciaux, les plus sincères, les plus cordiaux vont à l'endroit de M. Bensalah Bachir pour votre aide morale, pour vos conseils et Votre soutien moral Nous avons l'honneur de vous exprimer Nos plus sincères remerciements et sentiments les plus sincères.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mes recherches.

À mes parents et mes proches, qui m'ont soutenu durant les moments de doute et d'abandon, qui ont plus cru en moi.

Dédicaces

À mes chers parents : Abdelmalek. L et Aïia. B

Quoi que je dise ou que je fasse, je n'arrivai jamais à vous remercier comme il se doit. C'est grâce à vos encouragements, vos bienveillances et votre présence à mes côtés, que j'ai réussi ce respectueux parcours.

Je souhaite que vous soyez fière de moi, et que j'ai pu répondre aux espoirs que vous avez fondé en moi.

À mes chers frères : Lineddine, Tedjeddine

À mes sœurs : Nour esimen, malak, maria chahid

À toute ma famille Lakhdari.

Merci pour vos soutiens moraux, vos confiances et vos conseils précieux, qui m'ont aidé dans les moments difficiles.

Je vous souhaite le bonheur et la réussite dans vos vies.

À ma chère copine manal. M et toute sa famille Mohammedi.

À ma chère copine Lilia. B et sa maman.

À la personne qui a assisté avec nous à toutes nos fatigues et efforts et nous a accompagnées dans nos recherches et nous a soutenus par des paroles morales :

Radia. D. Anouar. A.

Merci énormément, que dieu vous bénisse ان شاء الله.

Nesrine. L



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail au Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de vie, et qui m'a donné la force pour réaliser ce travail

Aux deux âmes les plus chers, Mes parents pour leur soutien indéfectible et leur amour inconditionnel tout au long de mon parcours d'études. Leur confiance en moi a été une source de motivation pour atteindre mes objectifs et réussir cette étape importante de ma vie.

Chaque ligne de cette thèse chaque mot et chaque lettre vous exprime sa reconnaissance, le respect, l'estime et le merci d'être mes parents.

A mes chers sœurs (Samra, Sihem, Ahlem, Zahra)

A mes chers frères (Mourad, Hamza)

Pour leur patience, leur conseil pour leur véritable et sincère amour et leurs encouragements.

Sans oublier ma chère copine Ragia et son père Mustafa. D

A mes meilleurs amis : Manal, Bouchra, Marcoua je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit

A mes chers enfants de la famille (Youssef, Anas, Miral)

A ma deuxième famille, la famille Lakhdari que je chéris pour être dans ma vie petite et grande.

A toute ma famille Mchammedi.

Tous ceux qui m'aiment et que j'aime

En fin, merci à mon bras droit Nesrine pour son soutien moral, sa patience aussi et sa compréhension tout au long de la réalisation de ce mémoire

Manal.M



Résumé

Les dégâts causés par les insectes aux stocks de céréales et de légumineuses ont fait l'objet de nombreuses études en Afrique. L'intérêt de ce travail est la lutte biologique contre deux ravageurs les plus connus des céréales stockées et les légumineuses, *Tribolium castaneum* et *Bruchus rufimanus* en utilisant les extraits de la partie aérienne (feuille, tige et fleur) de la plante « *Ruta graveolens* » de la région de Ghardaïa et l'évaluation du pouvoir insecticide de ces extraits par le traitement de contact.

La partie aérienne de la plante a été soumise à une extraction par macération dans deux solvants : acétone et éthanol. L'analyse qualitative réalisée par un screening phytochimique a déterminé la présence des flavonoïdes, des coumarines, des saponosides et des alcaloïdes. L'analyse quantitative déterminé par un dosage spectrophotométrique a montré la richesse des feuilles par les composés phénoliques à savoir les phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins.

Les résultats dans les conditions de laboratoire ont montré que les extraits testé sont un pouvoir insecticide très fort. Cette efficacité est représentée par des paramètres toxicologiques calculés, qui sont à leur tour DL₅₀ et DL₉₀. La sensibilité des adultes était variable et encore plus élevée avec l'augmentation des concentrations d'extrait et avec le temps d'exposition.

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 céréales et des légumineuses.

Mots clés : Lutte biologique, *Tribolium castaneum*, *Bruchus rufimanus*, *Ruta graveolens*, Activité insecticide.

Abstract

Insect damage to grain and pulse stocks has been widely studied in Africa. The interest of this work is the biological control against two best known pests of stored cereals and legumes, *Tribolium castaneum* and *Bruchus rufimanus* using extracts from the aerial part (leaf, stem and flower) of the plant "*Ruta graveolens*" of the region of Ghardaïa and the evaluation of the insecticidal power of these extracts by contact treatment.

The aerial part of the plant was subjected to extraction by maceration in two solvents: acetone and ethanol. The qualitative analysis carried out by phytochemical screening determined the presence of flavonoids, coumarins, saponosides and alkaloids. The quantitative analysis determined by a spectrophotometric assay showed the richness of the leaves by the phenolic compounds namely total phenols, flavonoids and tannins.

The results under laboratory conditions showed that the tested extracts have a very strong insecticidal power. This efficacy is represented by calculated toxicological parameters, which in turn are LD₅₀ and LD₉₀. The sensitivity of adults was variable and even higher with increasing extract concentrations and with exposure time.

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

Key words: Biological control, *Tribolium castaneum*, *Bruchus rufimanus*, *Ruta graveolens*, Insecticidal activity.

الملخص

تمت دراسة الأضرار التي لحقتها الحشرات على مخزون الحبوب والبقوليات على نطاق واسع في إفريقيا. يهدف هذا العمل للمكافحة البيولوجية ضد اثنين من أكثر الآفات المعروفة للحبوب والبقوليات المخزنة، *Tribolium castaneum* و *Bruchus rufimanus* باستخدام مستخلصات من الجزء العلوي (الأوراق، الساق والزهرة) من نبتة "*Ruta Gravolens*" التي تم جنيها من منطقة غرداية و كذا تقييم فاعليتها كمبيدات للحشرات عن طريق المعالجة التلامسية.

تم استخلاص المركبات النشطة لهذه النبتة بنقع الجزء العلوي في مذيبين: الأسيتون و الإيثانول. حدد التحليل النوعي الذي أجراه الفحص الكيميائي النباتي وجود مركبات الفلافونويد والكومارين والصابونوزيدات والقلويدات. كما أظهر التحليل الكمي الذي تم تحديده بواسطة مقايضة الطيف الضوئي ثراء الأوراق بالمركبات الفينولية وهي الفينولات الكلية والفلافونويد والعفص.

أظهرت النتائج في ظل الظروف المعملية أن المستخلصات المختبرة لها فاعلية قوية كمبيدات للحشرات. تم تمثيل هذه الفعالية من خلال المعلمات السمية المحسوبة (LD_{50} و LD_{90}). كما كانت تتزايد حساسية الحشرات مع زيادة تراكيز المستخلص ووقت التعرض.

في سياق مكافحة البيولوجية، يمكن أن يكون استخدام هذه المستخلصات كمبيد فعال للحشرات وحماية مخزونات الحبوب والبقوليات.

الكلمات المفتاحية: مكافحة البيولوجية ، *Tribolium castaneum* ، *Bruchus rufimanus* ، *Ruta gravolens*، نشاط مبيدات الحشرات.

Liste des tableaux

Tableau 1: Screening phytochimique de différents extraits de <i>Ruta graveolens</i>	17
Tableau 2 : Aspect, couleur et odeur des extraits de <i>Ruta graveolens</i>	25
Tableau 3 : Screening photochimique des extraits des parties aériens de <i>Ruta graveolens</i>	28
Tableau 4 : Valeurs de doses létales de l'extrait acétonique des feuilles.....	50
Tableau 5 : Valeurs de doses létales de l'extrait éthanolique des feuilles.	51
Tableau 6 : Valeurs de doses létales de l'extrait acétonique des fleurs.	51
Tableau 7 : Valeurs de doses létales de l'extrait éthanolique des fleurs.....	52
Tableau 8 : Valeurs de doses létales de l'extrait acétonique des tiges.....	52
Tableau 9 : Valeurs de doses létales de l'extrait éthanolique des tiges.	53
Tableau 10 : Valeurs de doses létales de l'extrait acétonique des feuilles.....	53
Tableau 11 : Valeurs de doses létales de l'extrait éthanolique des feuilles.	54
Tableau 12 : Valeurs de doses létales de l'extrait acétonique des fleurs.	54
Tableau 13 : Valeurs de doses létales de l'extrait éthanolique des fleurs.....	55
Tableau 14 : Valeurs de doses létales de l'extrait acétonique des tiges.....	55
Tableau 15 : Valeurs de doses létales de l'extrait éthanolique des tiges.	56

Liste des figures

Figure 1 : Localisation de willaya du Ghardaïa [Google Earth] (Site1).	8
Figure 2 : <i>Ruta graveolens</i> (Photo originale : Lakhdari et Mohammedi, 2023).	9
Figure 3 : Planche botanique de rue (Maifi et Salmi, 2017).	10
Figure 4 : <i>Tribolium castaneum</i> (Site 2)	11
Figure 5 : Cycle du développement de la bruche(Site 3)	13
Figure 6 : vue dorsale de <i>Bruchus rufimanus</i> (Site 3)	14
Figure 7 : Séchage des feuilles, tiges et des fleurs	15
Figure 8 : Macération des poudres de feuilles, tiges et fleurs de <i>Ruta graveolens</i>	16
Figure 9 : Elevage des insectes de <i>Tibolium castaneum</i>	20
Figure 10 : Test de la toxicité sur <i>Tribolium castaneum</i>	21
Figure 11 : Test de toxicité sur <i>Bruchus rufimanus</i>	22
Figure 12 : Rendement d'extraction de différents extraits organiques	26
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	30
Figure 14 : Teneur en phénols totaux des différents extraits de <i>Ruta graveolens</i>	31
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la rutine.	34
Figure 16 : Teneur en flavonoïdes des différents extraits de <i>Ruta graveolens</i>	34
Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la catéchine	36
Figure 18 : Teneur en tannins condensés des différents extraits de <i>R. graveolens</i>	37
Figure 19 : Variation de la teneur en phénols totaux et celles en flavonoïdes et en tanins condensés.	39
Figure 20 : Toxicité de différents extraits organique contre les adultes de <i>Bruchus rufimanus</i>	41
Figure 21 : Toxicité de différents extraits organique contre les adultes de <i>Tribolium castaneum</i>	43
Figure 22 : Cinétique de mortalité des imagos de <i>Bruchus rufimanus</i> traités par de l'extraits acétoniques de différents parties de la plante.	46
Figure 23 : Cinétique de mortalité des imagos de <i>Bruchus rufimanus</i> traités par de l'extraits éthanolique de différents parties de la plante.	47
Figure 24 : Cinétique de mortalité des imagos de <i>Triboluim castaneum</i> traités par de l'extraits acétoniques de différents parties de la plante.	48
Figure 25 : Cinétique de mortalité des imagos de <i>Triboluim castaneum</i> traités par de l'extraits éthanolique de différents parties de la plante.	49

Liste des abréviations

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium

DL₂₅ : Dose létale 25

DL₅₀ : Dose létale 50

DL₉₀ : Dose létale 90

DMSO : diméthylsulfoxyde

EAG:Équivalents d'acide gallique

EC : Equivalent de catéchine

ED : Eau distillé

EQ : Equivalent

ER : Equivalent de rutine

H₂O : Eau

HE : Huile essentiel

MeOH: Méthanol

Mg/ml : **Milligramme** par millilitre

MS : matière sèche

ND : Non déterminé

R : Rendement

UV : Ultra violé

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Présentation de la cadre d'étude.....7

I.2. Matériel biologique.....8

I.2.1. Matériel végétal.....8

I.2.1.1. Présentation de plante (*Ruta graveolens*).....9

I.2.2. Matériel animal.....10

I.2.2.1. Présentation de *Tribolium castaneum*.....11

I.2.2.2. Présentation de *Bruchus rufimanus*.....13

I.3. Méthodologie.....14

I.3.1. Préparation de poudres végétales.....14

I.3.2. Préparation des extraits végétales.....15

I.3.3. Détermination du rendement d'extraction.....16

I.3.4. Criblage phytochimique.....16

I.3.5. Analyses quantitatives.....17

I.3.5.1. Dosage des phénols totaux.....17

I.3.5.2. Dosage des flavonoïdes.....18

I.3.5.3. Dosage des tanins condensés.....19

I.3.6. Etude de la toxicité.....20

I.3.6.1.Elevage de masse de <i>Tribolium castaneum</i> et <i>Bruchus rufimanus</i>	20
I.3.6.2.Tests de toxicité.....	20
I.3.6.3.Exploitation des résultats	22

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Rendement d'extraction.....	25
II.2.Criblage phytochimique.....	28
II.3.Analyses quantitative.....	29
II.3.1.Dosage des phénols totaux.....	30
II.3.2.Dosage des flavonoïdes.....	33
II.3.3.Dosage des tanins condensés.....	36
II.4.Toxicité	39
II.4.1. <i>Bruchus rufimanus</i>	39
II.4.2. <i>Tribolium castaneum</i>	42
II.5.Cinétique de la mortalité.....	44
II.5.1. <i>Bruchus rufimanus</i>	44
II.5.2. <i>Tribolium castaneum</i>	45
II.6.Efficacité de l'activité :	50
II.6.1. <i>Bruchus rufimanus</i>	50
II.6.2. <i>Tribolium castaneum</i>	53
Conclusion.....	58
Références bibliographiques.....	60

Introduction

Introduction

L'Organisation des Nations Unies (ONU) a déclaré 2016 l'Année internationale des légumineuses et encourage l'introduction de ces aliments hautement nutritifs dans les régimes alimentaires du monde entier. Le but de cet article est d'attirer l'attention sur les nombreux avantages des légumineuses (**Rio, 2017**). Toutefois, les légumineuses sont la principale source de protéines végétales dans de nombreux pays en développement en particulier l'haricot (**Djameleddine, 2014**). Les haricots sont une riche source de protéines et d'acides aminés essentiels qui complètent parfaitement les céréales. Ils sont également une bonne source de glucides, de micronutriments, de vitamines, de sels minéraux et de fibres alimentaires de haute qualité. Subséquemment, ils méritent une plus grande place dans notre "alimentation saine" moderne (**Damerdji et Bouklikha, 2009 ; Rio, 2017**).

Pareillement, les céréales forment la famille des aliments que nous devons inclure dans notre alimentation. C'est juste qu'il faille bien les choisir et les varier au maximum tout en veillant à privilégier les grains entiers. Ils ont constitué la base de l'alimentation humaine pendant des milliers d'années et, aujourd'hui encore, ils fournissent la majorité des calories à des milliards de personnes (**Birlouez, 2022**).

En Algérie, les légumineuses figurent une bonne place aux côtés des céréales dans les rations alimentaires quotidiennes. 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 (**Djameleddine, 2014**). Au fur et à mesure du développement du ravageur, les dégâts se sont étendus à un grand nombre de cultures, les plus sensibles étant les plantations semi-pérennes (graminées, fraises, ananas, bananes, piments, plantes ornementales, etc.), la canne à sucre, les haricots et les arachides, etc. Ou encore des cultures qui ne peuvent pas être cultivées en dehors de la période infestée (riz, pommes de terre, choux, etc.) (**Quilici et al., 1992**).

Les dégâts causés par les insectes aux stocks de céréales et de légumineuses ont fait l'objet de nombreuses études en Afrique. Leurs actions sont d'autant plus néfastes dans de nombreux pays africains où les récoltes ne suffisent pas aux besoins alimentaires et nutritionnels des populations. *Caryedon serratus* (olivier), *Callosobruchus maculatus* (F.), *Acanthoscelides obtectus* (Say) sont les plus grands ravageurs des légumineuses en

Afrique. Quant aux céréales, les plus connues et économiquement intéressantes sont *Sitophilus zeamais* et *Tribolium castaneum* (Herbst) (Cissokho *et al.*, 2015).

Un excellent système des ravageurs et de modèle génétique pour les coléoptères, l'ordre le plus grand et le plus diversifié d'organismes eucaryotes, est le Tribolium rouge de la farine (*Tribolium castaneum*). Les coléoptères comprennent de nombreuses espèces de ravageurs des cultures économiquement importantes qui causent des pertes agricoles importantes. Semblable à la drosophile de l'ordre des diptères, le Tribolium possède des caractéristiques souhaitables dans un organisme modèle génétique, notamment la facilité de culture, le temps de génération court, la grande taille du couvain et l'efficacité de la manipulation génétique (Wang *et al.*, 2007).

Tribolium castaneum a une longue histoire en tant qu'espèce modèle dans de nombreux domaines différents, mais des liens améliorés entre la génétique, la génomique, le comportement, l'écologie et la lutte antiparasitaire sont nécessaires pour réaliser le plein potentiel de cette espèce en tant que modèle. Le *T. castaneum* a été le premier coléoptère dont le génome a été séquencé, et un nouvel assemblage du génome et une annotation améliorée, combinés à des outils de recherche génomique facilement disponibles, ont facilité son utilisation accrue dans un large éventail de recherches en génomique fonctionnelle (Campbell *et al.*, 2022).

Egalement, cet insecte a été un modèle pour le développement de tactiques de surveillance et de gestion des ravageurs, y compris l'évaluation des mécanismes de résistance aux insecticides. L'application des approches de génomique fonctionnelle à la recherche comportementale, écologique et de lutte antiparasitaire en est encore à ses balbutiements, mais offre un outil puissant qui peut lier le mécanisme à la fonction et faciliter l'exploitation de ces relations pour mieux gérer cet important ravageur alimentaire (Campbell *et al.*, 2022).

Autant, *Bruchus rufimanus* c'est le ravageur le plus redouté. Il se développe au stade larvaire à l'intérieur des graines de légumineuses du genre *Vicia*, devenant ainsi invendable et non comestible (Laborius et Saba, 1977 ; cité par Mezani, 2016). Compte tenu de l'importance alimentaire et agronomique de la féverole, il est nécessaire d'envisager des méthodes de lutte appropriées pour réduire les dommages aux cultures causés par les populations de *B. rufimanus*. Le développement des variétés plus

résistantes aux insectes est un bon substitut pour le contrôle chimique dans les villages, en Kabylie et dans d'autres régions d'Algérie (**Mezani, 2016**).

La bruche du haricot est un insecte cosmopolite potentiellement omniprésent capable d'infester sa plante hôte, *Phaseolus vulgaris* L., aussi bien au champ qu'en entrepôt. Il peut également s'attaquer à d'autres légumineuses qui n'étaient pas des hôtes à l'origine ; ceux-ci comprennent le niébé (*Vignaun guiculata* L.), la féverole (*Vicia faba* L.) et le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) qui sont aussi des cultures vivrières d'importance économique dans les pays en développement (**Aggounet al., 2018**). Si l'on s'intéresse aux dégâts causés par la bruche, les imagos ne vivent que quelques jours. Ils se nourrissent de pollen et ne causent pas de dégâts importants. Par contre, ce sont surtout les larves qui s'incrument dans le grain et laissent un trou circulaire reconnaissable. Les grains endommagés perdent leur saveur (**Aoudjit, 2014**).

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 leur permet aussi de se développer dans des environnements écologiques très différents (**Bourarach et al., 1994**). 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* et *Tribolium castaneum* (**Hamdani, 2012**).

Pour apporter des solutions, les industriels se tournent le plus souvent vers les insecticides de synthèse. Tandis que, la résistance des insectes, les intoxications et les pollutions liées à l'utilisation d'insecticides posent de sérieux problèmes d'environnement et de santé publique. Ainsi, ces dernières années, de nombreuses études ont été menées pour proposer des méthodes de conservation alternatives, peu coûteuses et respectueuses de l'environnement (**Cissokho et al., 2015**).

Afin de réduire l'utilisation de pesticides chimiques et de protéger l'environnement, les pesticides naturels tels que les plantes à effet insecticide et les substances inertes (sable, cendre, terre de diatomées, etc.) méritent une attention particulière. Actuellement, plusieurs travaux, basés sur un examen détaillé et actualisé des documents, visent à inventer des méthodes alternatives de lutte contre les ravageurs 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**).

Les substances naturelles qui présentent un large spectre d'action en pharmacologie comme anti-paludisme, bactéricides, fongicides, acaricides, etc., peuvent être aussi utilisées comme insecticides alternatifs. D'ailleurs, l'utilisation des extraits de plantes comme insecticides, est connue depuis longtemps. En effet, le pyréthrine, la nicotine et la roténone sont déjà connus comme agents de lutte contre les insectes (**Benhissen *et al.*, 2019**).

Les extraits des plantes comme insecticides ont des avantages intéressants comme leur action rapide, leur biodégradabilité, une faible toxicité sur les mammifères, la sélectivité et un impact minimal sur les plantes. Autant, et comme ils ont des mécanismes d'action différents, le développement d'une résistance chez les insectes est limité. Toutefois, leurs coûts élevés, leur faible disponibilité ainsi que la rareté des données de résultats fiables concernant la composition et la toxicité de ces extraits tous considérant comme des limites d'utilisation (**Hamdani, 2011**).

Le comportement naturel des plantes vis-à-vis des insectes a permis de concentrer les travaux de recherche actuels pour le développement des bio-pesticides d'origine végétale. Les plantes se défendent contre les ennemis 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 contre les insectes nuisibles (**Hamdani, 2011**).

Les molécules actives peuvent varier d'une famille à l'autre et au sein d'une même famille, et pour un insecte donné, la sensibilité peut varier d'un stade à l'autre (**Guèye, 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. Parfois 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 médicinaux, tandis que d'autres produisent des substances toxiques. C'est le cas du *Ruta*, qui est un grand guérisseur, tandis que sa tige et ses feuilles contiennent les alcaloïdes qui les rendent très toxiques. Il est donc nécessaire de connaître et de pouvoir identifier chaque partie ou organe d'une plante (**Bouraada et al., 2017**).

La famille des Rutacées comprend environ 700 espèces spontanées, présent dans les régions tempérées et chaudes. Le genre *Ruta* compte environ une soixantaine dont certaines sur la Méditerranée : *Ruta angustifolia* Pers. *Ruta chalepensis* L; *Ruta montana* L. Cependant, *Ruta graveolens* est cultivée dans tout le Maghreb (**Bouabida et Dris, 2020**).

Ruta graveolens, plus connue sous le nom de « rue », est originaire vers l'Europe du Sud et l'Afrique du Nord (**Parray et al., 2012**). La rue est un sous-arbrisseau aromatique de la région méditerranéenne (**Rebiai, 2017**). Il est souvent utilisé dans la médecine traditionnelle comme antiseptique, stimulant, abortif, antirhumatismal, vermifuge, antispasmodique, antiépileptique et pour favoriser l'apparition des menstruations. Sur le plan biologique, il a été rapporté que *R. graveolens* possède un large éventail d'activités pharmacologiques, notamment une activité antioxydante, insectifuge, larvicide, antimicrobienne, anti-androgénique, anti-dépressive, anti-hyperglycémiant, anti-hyperlipédique, anti-inflammatoire, anti-tumorale et cytotoxique sur les lignées cellulaires cancéreuses humaines (**Attia et al., 2018**).

Récemment, les études phytochimiques ont attribué ces activités biologiques à la présence de certains métabolites tels que les alcaloïdes, les coumarines, les flavonoïdes, les cétones et les terpénoïdes. De plus, les composés oxygénés y compris les cétones, les aldéhydes, les alcools et les esters ont prévalu dans les HE de feuilles, fruits, fleurs, tiges et racines de *R. graveolens* (**Attia et al., 2018**).

Dans le cadre de la valorisation 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 parties aériennes (feuilles, tiges et fleurs) de *Ruta graveolens* de la région de Ghardaïa vis-à-vis les ravageurs des céréales et légumineuses : *Tribolium castaneum* et *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*, des insectes (*Tribolium castaneum*, *Bruchus rufimanus*), la méthode d'extraction de la rue, caractérisation phytochimiques des différents extraits et l'évaluation de l'activité insecticide par l'étude d'un test de toxicité contre deux insectes nuisibles de stocks.

*La deuxième partie est consacrée à l'exploitation des résultats obtenus par cette expérimentation et la discussion des résultats.

*Ce travail se termine par une conclusion.

Chapitre I.

Matériel et méthodes

Chapitre I : Matériel et méthodes

Actuellement, il existe un intérêt considérable pour le développement des produits naturels qui sont relativement moins dommageables pour la santé et l'environnement par rapport aux insecticides conventionnels existants, en tant qu'alternatives aux insecticides synthétiques non sélectifs pour lutter contre les ravageurs d'importance médicale et économique.

C'est dans ce constat, la présente étude recherche la toxicité des extraits de la partie aérienne d'une plante spontanée dont *Ruta graveolens* (Rutaceae) collectées de la région de Ghardaïa vis-à-vis des ravageurs des aliments stockés, dont *Tribolium castaneum* et *Bruchus rufimanus*. Le critère d'évaluation de l'étude de la toxicité portent essentiellement sur la mortalité et la rapidité d'action des extraits testés. Ainsi, ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de département de biologie, Université de Ghardaïa.

I.1. Présentation du cadre d'étude

Nous avons réalisé notre travail dans la région de Metlili - Ghardaïa qu'est située à 40 Km au nord de la wilaya. Elle se localise au niveau de 32°32'13" de latitude Nord et 3°36'20" de longitude Est (*Figure 01*).

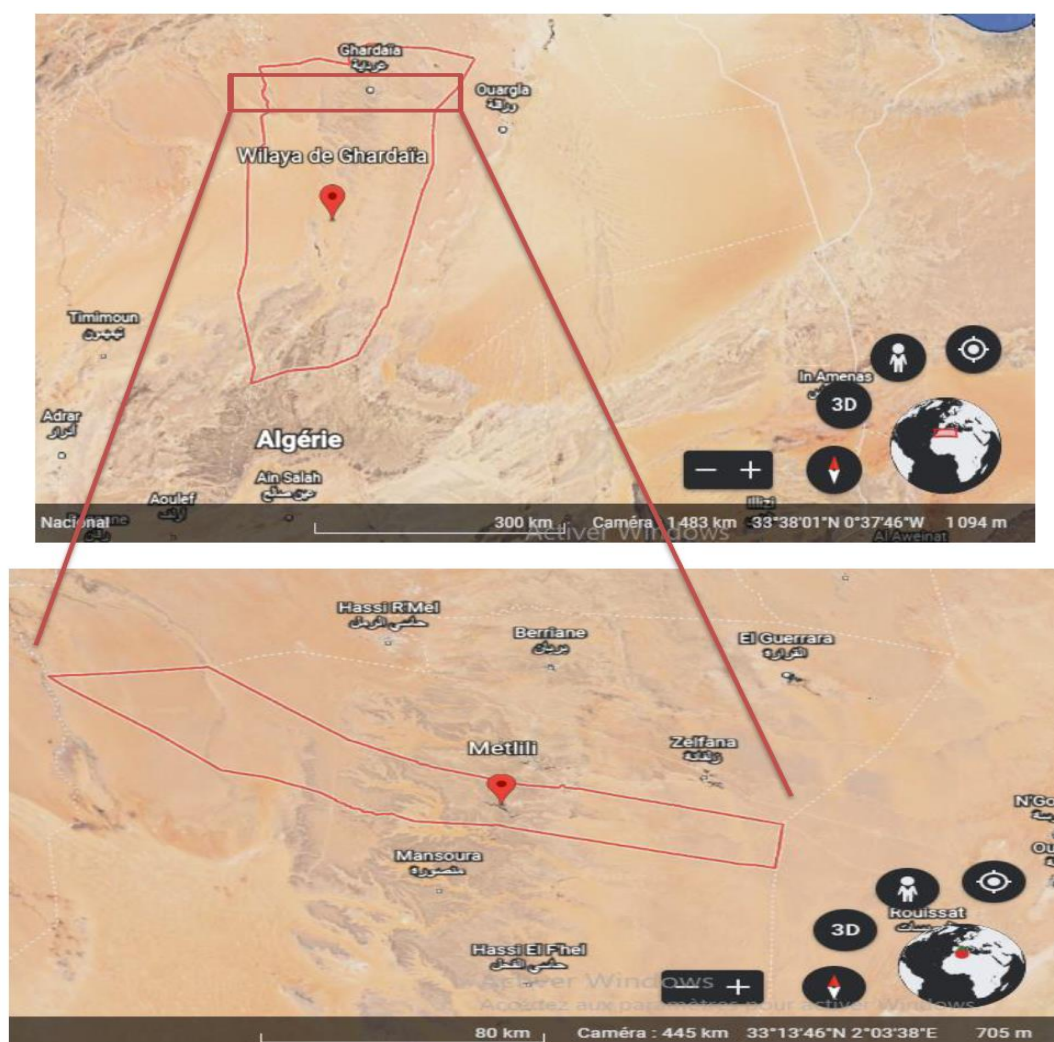


Figure 1 : Localisation de la région de Metlili, wilaya du Ghardaïa [Google Earth] (Site1).

I. 2. Matériel biologique

I.2.1. Matériel végétal

Les extraits des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle des molécules naturelles bioactives, ils font l'objet de plusieurs études pour leur éventuelle utilisation comme alternative à la protection des denrées alimentaires.

L'Algérie, occupe une position géographique particulière lui accordant une large bande de végétation très variée notamment les plantes aromatiques et médicinales. Parmi les quelles se trouve la plante *Ruta graveolens*. Les critères de choix de cette plante reposent sur la disponibilité de la plante en Algérie en particulier dans la wilaya de Ghardaïa et sur son usage pharmacopée traditionnelle locale.

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

Ruta graveolens est une plante aromatique appartenant à la famille des Rutacées, souvent appelée « Fidjel » par la population locale (Arnaout Ou Gharnaout et Chirouf, 2014). Cette plante se caractérise par une odeur forte, âcre et piquante de l'huile contenue dans les poches craquelées à la surface des feuilles. Ruta vient du grec « rhyté » signifiant sauver, empêcher, ou de « reô » signifiant couler, en référence bien sûr à sa vertu pénétrante ; gravelons du latin « gravis » signifiant fort, le verbe « ollaire » signifie sentir, ayant ainsi une odeur forte et désagréable (Gouami et Nebili, 2020).



Figure 2 : *Ruta graveolens* (Photo originale : Lakhdari et Mohammedi, 2023).

Elle a longtemps 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. Il agit comme agent menstruel sous l'action de la rutine et stimule les fibres basales de l'utérus. À en juger par les recherches actuelles sur les médicaments, d'autres applications médicamenteuses de *R. graveolens* ont révélé des effets antioxydants, anti-inflammatoires, anti-diabétiques, anti-bactériens, antifongiques, anti-androgènes,

insecticides et autres (Gouami et Nebili, 2020). La rue est toxique à forte doses (Samah et Chourouk, 2021).

R. graveolens, communément appelée « rue du jardin », est un arbuste du genre *Ruta* de la famille des Rutacées. C'est une plante méditerranéenne semi-arbustive, d'environ un mètre d'hauteur, avec une base ligneuse très ramifiée. Ses feuilles vert foncé, semi-persistantes, sont alternes, pennées et un peu charnues. La floraison dure de mai à août. Ses fleurs sont réunies en corymbe composé de 4 à 5 pétales jaune-vert soudés à la base, d'un nombre égal de sépales et de 8 à 10 étamines. La plante est hermaphrodite. Le fruit est une capsule déhiscente qui libère de petites graines noires à maturité. Le mode de dispersion des graines est la pression atmosphérique (Rebiai, 2017).



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

I.2.2. Matériel animal

Afin d'évaluer le pouvoir insecticide des extraits de la partie aérienne de la plante *Ruta graveolens* (Rutaceae), deux espèces animales de classe d'insectes de l'ordre de Coléoptère ont été choisies, dont *Tribolium castaneum* et *Bruchus rufimanus*.

Le choix de deux insectes se justifie par l'importance des dégâts de ces ravageurs sur les denrées alimentaires stockées d'importance économique. Ainsi, son élevage est facilement réalisé au laboratoire.

I.2.2.1. Présentation de *Tribolium castaneum*

Une colonie de laboratoire de *Tribolium castaneum* est née dans un grenier du Kansas, plus de 30 ans. *T. castaneum* ou le tribolium rouge de la farine est un ravageur très destructeur des produits stockés des matières premières ou transformés, ainsi des cas de résistance à la plupart des produits de contrôle ont été trouvés (Perkin *et al.*, 2016). C'est un adulte creusant à travers les produits stockés et marchant entre les restes de nourriture et un abri similaire aux installations de stockage, de transformation et de vente au détail ou aux véhicules de livraison. Ainsi, il ne se produit que dans les zones de stockage à haute température des zones de climat tropical où il est assez abondant (Caballero-Gallardo *et al.*, 2014).

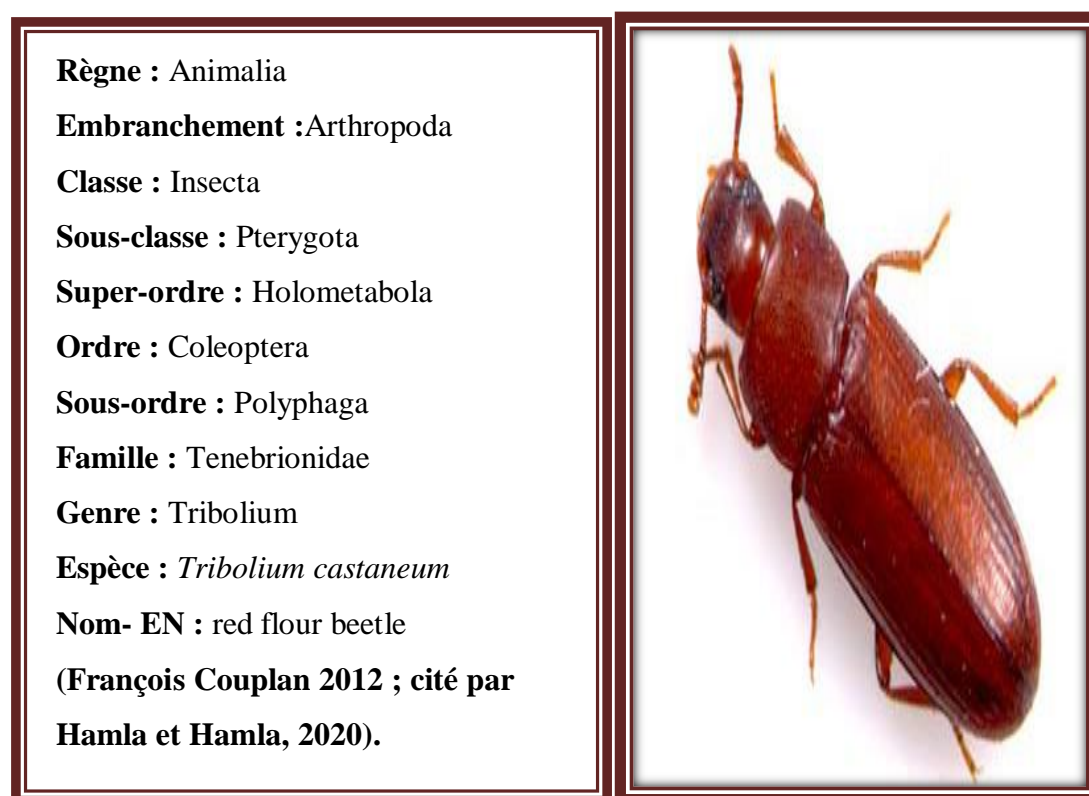


Figure 4 : *Tribolium castaneum* (Site 2)

Tribolium castaneum est une espèce animale de la classe des insectes appartenant à l'ordre des Coléoptères qui est plus riche en espèces, plus de 350000 espèces réparties sur environ 500 familles et sous-familles dont la famille des Tenebrionidae. En Algérie, le genre *Tribolium* est représenté dans des entrepôts par deux espèces *T. castaneum* et *T. confusum* (**Herouini, 2020**).

Les adultes de *T. castaneum* mesurent généralement entre 3 et 4 mm et sont d'une teinte uniforme de brun rougeâtre. Elle est étroite, longue, et suffisamment aplatie avec des arêtes parallèles. De minuscules perforations recouvrent le haut du thorax et la tête. Les élytres de *T. castaneum* sont enfilés sur toute leur longueur, le dernier morceau de l'antenne se terminant par une masse lâche trisegmentée aux yeux rouges. Il est très difficile de distinguer les mâles des femelles sauf au stade nymphal (**Delobel et Tran, 1993**). Les adultes et les larves de cet insecte ne pénètrent pas dans les grains avant d'être attaqués par des organismes primaires nuisibles qui leur ouvrent la porte ou lorsque les grains sont cassés (**Camara, 2009**).

La disponibilité de la nourriture peut affecter le cycle de développement de *T. castaneum* et sa durée de vie peut être considérablement prolongée en fonction des facteurs environnementaux. Généralement, la femelle pond entre 500 et 800 œufs et le temps moyen du développement de l'œuf à l'adulte est de 37 jours à 25°C (**Kassimi, 2014 ; Dave et al., 2001**). La longévité moyenne est de 200 jours à 30°, 2 à 3 mois à 35°, 250 jours à 25°, sur les grains de blé, plus d'une année sur la farine (**Delobel et Trane, 1993**).

Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), les insectes nuisibles dont *Tribolium castaneum* 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**).

I.2.2.2. Présentation de *Bruchus rufimanus*

La bruche du haricot, *Bruchus rufimanus* (Coléoptères; Bruchinae) est l'une des espèces les plus importantes de la population du haricot (*Phaseolus vulgaris* L.). On le trouve dans les régions tropicales et subtropicales. Il existe au Cameroun, où il fait des ravages dans les champs et dans les dépôts de stockage. Cardona et Karel donnent un taux de perte annuel de 7 à 73% pour les haricots stockés en raison de l'infestation par *A. obtectus* au Nigeria (Ndomo *et al.*, 2009).

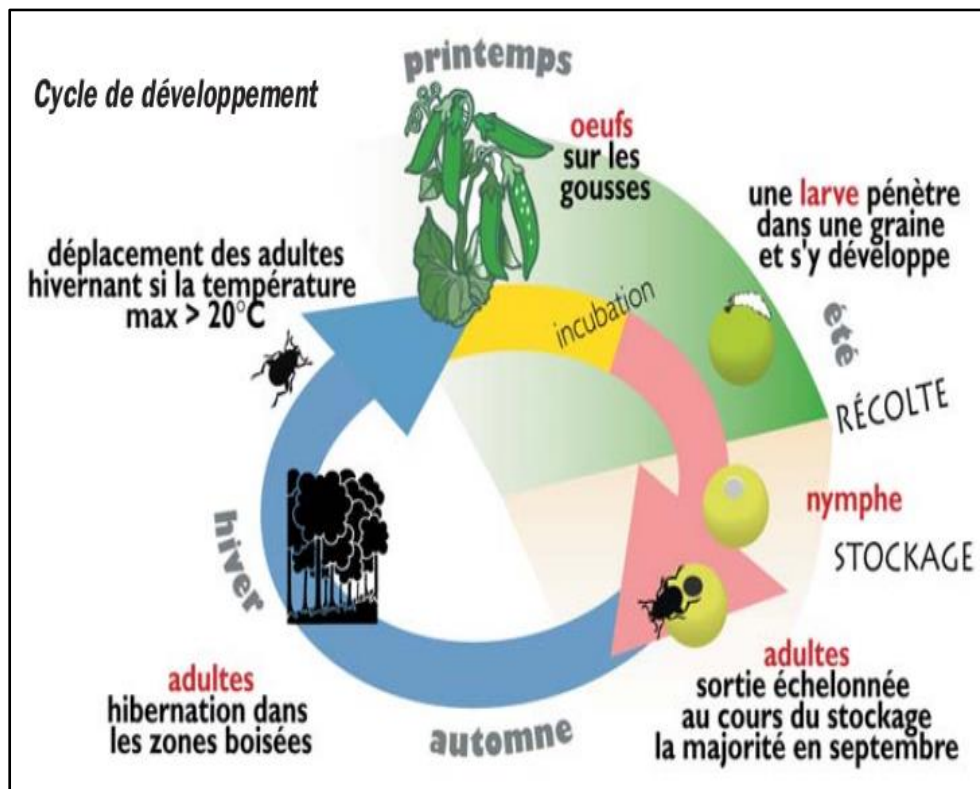


Figure 5 : Cycle du développement de la bruche (Site 3)

La période de reproduction du bruchidé est toujours en phase avec celle de sa plante hôte. Les bruches quittent un champ de fèves lorsqu'il n'y a plus de fleurs ouvertes et donc plus de pollen disponible. Il est important que la persistance des traitements insecticides soit bonne jusqu'à la fin de la floraison (Garrabos *et al.*, 2007). Les larves et les adultes du bruché du haricot se nourrissent de deux types d'aliments différents, mais proches en ce qui concerne la composition en hydrates de carbone: les larves consomment des graines de *Phaseolus vulgaris* et *P. coccineus*. Les adultes s'alimentent principalement avec le pollen de diverses plantes dont le fève, ce qui l'aide à atteindre la maturité sexuelle (Leroi *et al.*, 1984).

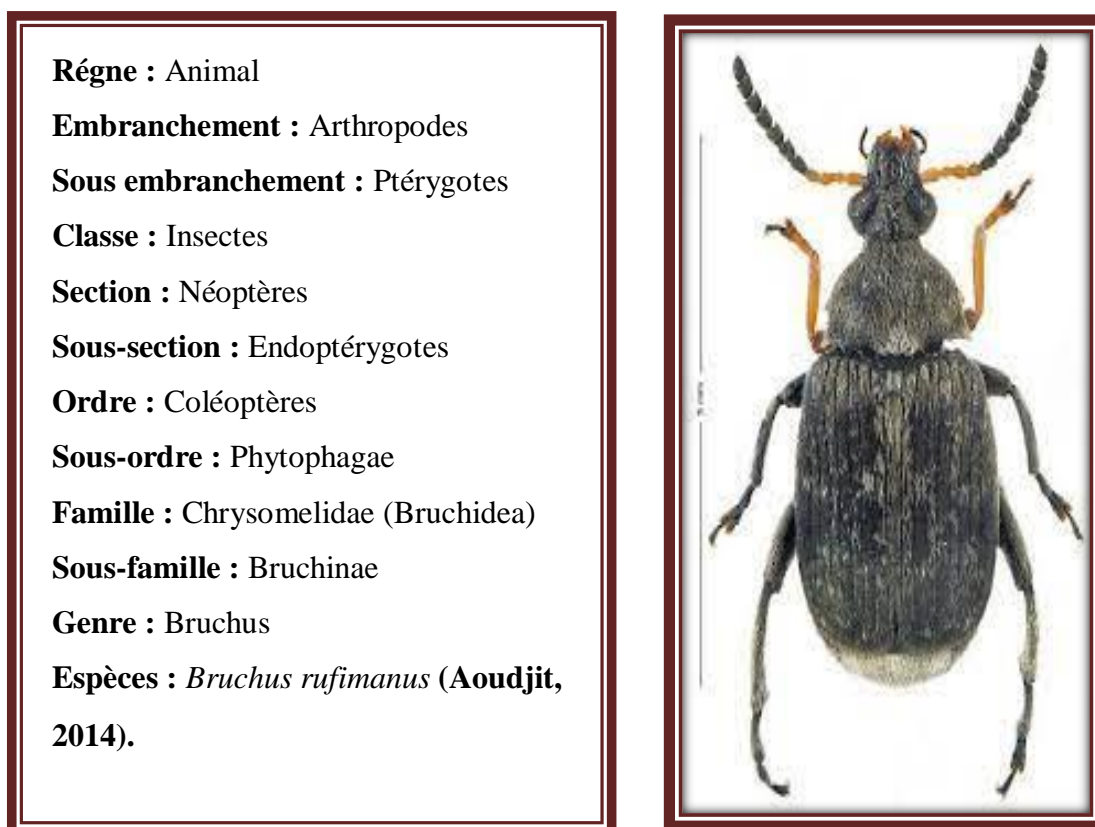


Figure 6 : Vue dorsale de *Bruchus rufimanus* (Site 3)

En général, les adultes mesurent entre 3 à 4 mm de long. Ils sont globulaires avec de longues pattes. Les élytres n'atteignent pas l'extrémité de l'abdomen, de sorte que les derniers tergites sont laissés libres. Ainsi, il y a des poils jaunâtres (soies) sur le dessus du dernier tergite abdominal et de 3 ou 4 denticules sur le bord interne de la face ventrale du fémur postérieur (Site 3).

I.3. Méthodologie

I.3.1. Préparation de poudre végétale

Au niveau de la région de Metlili – Wilaya de Ghardaïa, les parties aériennes (feuilles, tiges et fleurs) de *Ruta graveolens* ont été collectées durant le mois du février 2023 d'une manière manuelle et aléatoire.

Le matériel végétal fraîchement collecté a été nettoyé par l'eau distillée de la poussière et de la saleté, puis séché dans une étuve à 35°C pendant 48 h. Après, il a été réduit en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique. Les poudres ainsi récupérées ont

été bien conservées dans des bouteilles en verre portant des étiquettes, en vue de procéder aux différentes manipulations.



Figure 7 : Séchage des feuilles, tiges et des fleurs (Photo originale : Lakhdari et Mohammadi, 2023).

I.3.2. Préparation des extraits

Pour extraire les principes actifs du matériel végétal, une technique d'extraction solide-liquide est couramment utilisée ; dont elle est basée sur l'extraction par dissolution des composants solides dans un liquide (Velickovic *et al.*, 2006).

Dans cette étude, une extraction solide-liquide par une macération est réalisée dans deux solvants, qui sont l'éthanol et l'acétone. La macération consiste à laisser le matériel végétal en contact prolongé avec le solvant à froid à fin d'extraire le maximum des composés bioactifs et de préserver l'intégrité des molécules (Faye *et al.*, 2022).

De ce fait, une quantité de 20 g des poudres végétales (feuilles, tiges et fleurs) est mise en contact avec ces solvants (éthanol, acétone) à un rapport solide/liquide de 1/10 : p/v pendant 48 heures à l'obscurité et à une température ambiante pour chaque solvant et chaque organe. Les six extraits obtenus ont été filtrés sur papier filtre, ensuite évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatifs (Heidolph) pour éliminer les solvants de chaque extrait. Les résidus obtenus sont conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leur utilisation ultérieure.



Figure 8 : Macération des poudres de feuilles, tiges et fleurs de *Ruta graveolens*
(Photo originale : Lakhdari et Mohammedi, 2023).

I.3.3. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement des extraits éthanolique et acétonique est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse de la matière végétale. Il est calculé par 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.

I.3.4. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique est un ensemble des tests qui consistent à mettre en évidence la présence ou l'absence des différentes classes des métabolites. Ces tests sont des analyses qualitatives basées sur des précipitations ou des réactions colorimétriques, mettant en évidence la présence ou l'absence de principes actifs (Habera et Laoudi, 2019).

Les molécules mises en évidence sont les tanins, les flavonoïdes, les coumarines, les quinones libres, les terpénoïdes, les stéroïdes, les alcaloïdes et les composés réducteurs. 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*.

Groupes chimiques	Protocole	Résultats positifs
Tanins	Quelque gouttes de Fe Cl ₃ à (1%) a été ajouté à 0,1 mL d'extrait + incubation pendant 15 min à 50°C.	Coloration verdâtre ou bleu noir (Evans <i>et al.</i> , 2002).
Flavonoïde	Dans un tube à essais, 0,1 mL d'extraits est mélangé avec 0,1 mL d'HCl.	Coloration rouge en milieu acide et violet en milieu basique (Rébéreau-Gayon, 1968).
Coumarine	Volume de 0,2 mL d'extrait est ajouté à 0,3 mL d'NaOH (10%).	Coloration jaune (Diallo, 2000).
Quinones libres	L'ajout de quelques gouttes de NaOH(1%) à 0,2 mL d'extrait	Une couleur vire au jaune, rouge ou violette (Dohou, 2004).
Alcaloïdes	Dans un tube à essais, 0,2 mL d'extrait est ajouté à 0,2 mL d'HCl.	Précipitation blanc (Chaouch et Dadamoussa, 2001).
Terpénoïdes	0,5 mL d'extrait est ajouté à 0,2 mL chloroforme et 0,1 mL d'acide sulfurique.	Coloration violette ou mauve (Saha et Bandyopadhyay, 2007).
Stéroïdes	0,5 mL d'extrait est ajouté à 0,5 mL d'anhydride acétique et 0,05 mL de H ₂ SO ₄ .	Observation d'une couleur violette vire au bleu puis au vert (Harborne, 1998).
Composés réducteur	L'ajout d'un 0,1 mL d'extrait à 0,2 mL eau distillée et 0,2 mL liqueur Fehling.	Précipitation de rouge brique (EL-Haoud <i>et al.</i> , 2018).

I.3.5. Analyses quantitatives

I.3.5.1 Dosage des phénols totaux

Principe

Le dosage des phénols totaux dans les extraits des parties aériennes de *Ruta graveolens* a été fait par une méthode colorimétrique à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu décrite par **Singleton et Rossi (1965)**. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Le réactif Folin-Ciocalteu est un mélange d'acide phospho-molybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) et d'acide phospho-tungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) qui est réduite en milieu alcalin par l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). L'intensité de la coloration bleue est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu dont donne un maximum d'absorption à 760 nm (Kaanin et Harfi, 2012).

Mode opératoire

Dans des tubes à essais, 100 μ l d'extrait a été mélangé avec 500 μ l du réactif de Folin-Ciocalteu dilué dix fois, puis laisser le mélange à température ambiante dans l'obscurité pendant 5 minutes. Ensuite, 2 ml de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (2%) a été ajouté sous une agitation vigoureuse. Après une incubation de 30 min, à température ambiante dans l'obscurité, les absorbances des mélanges sont mesurées à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS (SpectroScan 40), contre un blanc qui comporte les mêmes composants à l'exception de l'extrait testé.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme étalon à différentes concentrations. Toutes les mesures sont effectuées en duplicata. Les concentrations des phénols totaux contenus dans les extraits des parties aériennes de *Ruta graveolens* sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage d'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par un gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g MS).

I.3.5.2. Dosage des flavonoïdes

Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée selon la méthode adaptée de Lamaison et Carnat (1991) avec le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (Bahorun, 1997). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), entraînant ainsi la formation d'un complexe jaunâtre qui absorbe à une longueur d'onde 409 nm (Boulekbatche, 2005).

Mode opératoire

Dans un tube à essai, 1 ml d'extrait est mélangé avec 1 mL d'une solution de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2%. Après incubation de 20 min, à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 409 nm dans le même spectrophotomètre contre un blanc. La rutine est utilisée comme standard pour préparer une gamme étalon en suivant le même mode opération que les extraits étudiés. Toutes les opérations sont effectuées en duplicata.

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les différents extraits sont calculées, en se référant à la courbe d'étalonnage de la rutine. Les résultats sont exprimés en mg équivalent la rutine par un gramme de la matière végétale sèche (mg ER/g MS).

I.3.5.3. Dosage des tanins condensés

Principe

La quantification des tanins condensés a été effectuée avec l'usage de la vaniline-HCl selon la méthode décrite par **Sun *et al.* (1998)**. La méthode consiste à dépolymériser les tanins en milieu acide, et après une réaction avec la vanilline, à les transformer en anthocyanidols de couleur rouge facilement analysables à 510 nm (**Beddou, 2015**).

Mode opératoire

Brièvement, à 0,2 mL de l'extrait, 1 mL de la solution fraîchement préparée de vanilline 1% (p/v) en acide acétique glacial et HCl (98 : 2, v/v) a été ajouté. Après incubation à 30 °C pendant 20 min, la lecture de l'absorbance est faite à 510 nm par un spectrophotomètre UV-Visible. Une courbe d'étalonnage a été réalisée avec la catéchine (de 0 à 1 mg/mL) en suivant le même protocole que les extraits étudiés. Toutes les opérations sont effectuées en duplicata.

Les concentrations des tanins condensés dans les différents extraits sont calculées, en se référant à la courbe d'étalonnage de la catéchine. Les résultats sont exprimés en mg équivalent la catéchine par un gramme de la matière végétale sèche (mg EC/g MS).

I.3.6. Etude de la toxicité

I.3.6.1 Elevage de masse de *Tribolium castaneum* et *Bruchus rufimanus*

L'élevage des insectes 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. Les imagos de *Tribolium castaneum* sont échantillonnés dans un stock de farine contaminé. Tandis que, les imagos de *Bruchus rufimanus* sont échantillonnés dans un stock d'haricot contaminé. Les insectes ont été maintenus en élevage de masse dans des boîtes de plastiques.

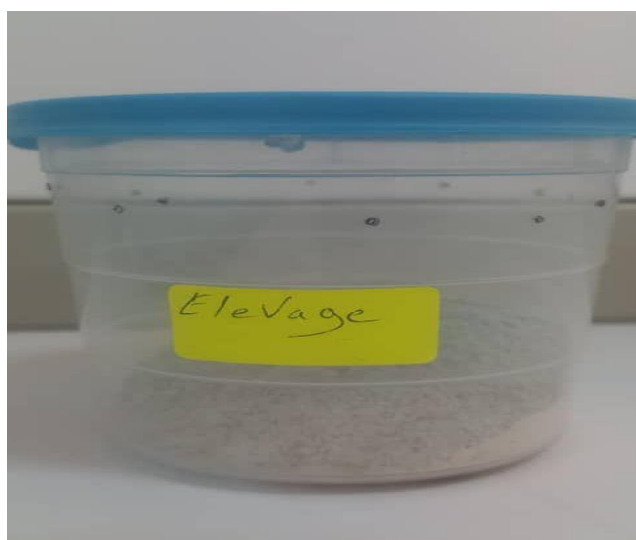


Figure9 : Elevage des insectes de *Tibolium castaneum* (Photo originale : Lakhdari et Mohammedi, 2023).

I.3.6.2. Tests de toxicité

L'évaluation de l'activité insecticide des six extraits des parties aériennes de la plante de *Ruta graveolens* vis-à-vis les deux ravageurs *Tribolium castaneum* et *Bruchus rufimanus* est effectuée selon le mode de traitement à savoir le contact.

Alors, à partir des six extraits de *Ruta graveolens* obtenus, trois concentrations ont été sélectionnées à savoir 9, 12 et 15 mg/ML. En appliquant le mode de traitement par le contact, quatre lots ont été constitués dont l'un est témoin négatif 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 réalisés.

Test de la toxicité sur *Tribolium castaneum

Les différentes concentrations des extraits éthanolique et acétonique des feuilles, des tiges et des fleurs de *Ruta graveolens* sont pulvérisés directement dans une boîte Pétrie tapissée par du papier-filtre. Alors que le lot témoin négatif est constitué d'insectes traités par un mélange (DMSO+ eau). Chaque boîte reçoit 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 30 individus répartis équitablement sur trois boîtes de Pétri (Répétition) soit 10 individus/boîte.

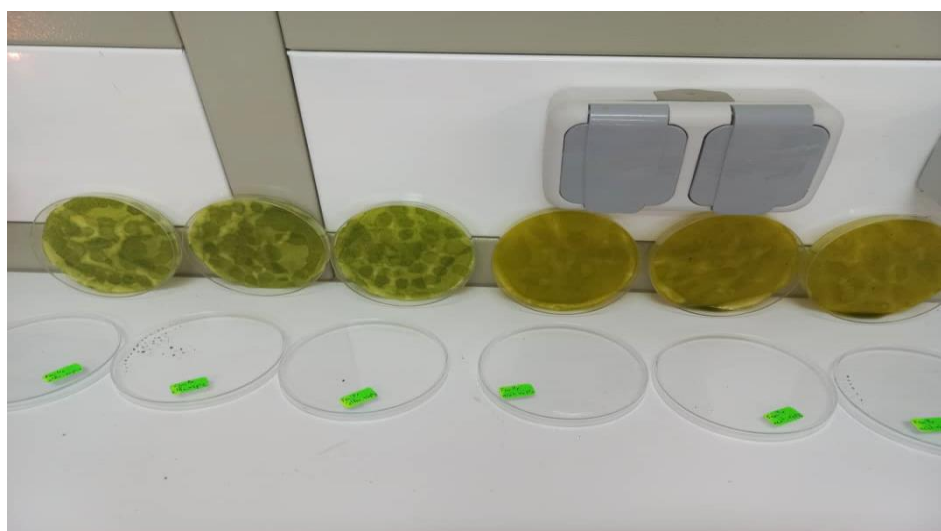


Figure 9 : Test de la toxicité sur *Tribolium castaneum* (Photo originale : Lakhdari et Mohammedi, 2023).

Les insectes des lots traités et témoin ont été maintenus dans les mêmes conditions que celles décrites pour l'élevage des insectes. La mortalité des insectes a été enregistrée à un intervalle du temps de 2 heures avec une durée d'observation de 72 heures et après chaque 24 h dans les 4 jours ultérieurs.

Test de la toxicité sur *Bruchus rufimanus

Egalement, l'évaluation de la toxicité par contact des extraits éthanolique et acétonique de *Ruta graveolens* est déterminée par application directe sur *Bruchus rufimanus* (Figure 10). L'unité expérimentale considéré est toujours des boites de Pétri.

Les mêmes doses sont utilisées, de l'ordre de 9, 12 et 15mg/ML. Les constitutions des lots expérimentaux sont les mêmes que le test de la toxicité sur *Tribolium castaneum*, tandis que chaque lot regroupe 15 individus répartis équitablement sur trois boîtes de Pétri (Répétition) soit 5 individus/boîte. Le lot témoin négatif est constitué d'insecte traité par un mélange (DMSO+ eau).

Les insectes des lots traités et témoin ont été maintenus dans les mêmes conditions d'élevage de masse sur l'haricot. La mortalité des insectes a été enregistrée à un intervalle du temps de 2 heures avec une durée d'observation de 72 heures et après chaque 24 h dans les 4 jours ultérieurs.

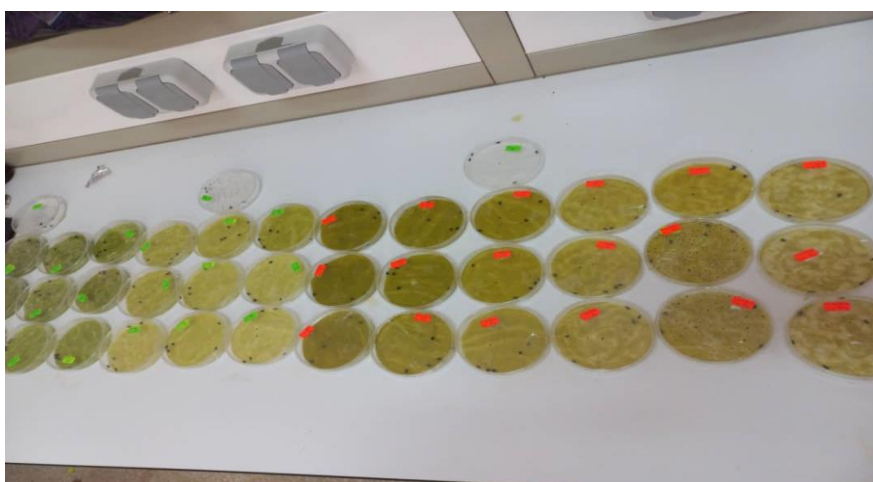


Figure 10 : Test de toxicité sur *Bruchus rufimanus* (Photo originale : Lakhdari et Mohammedi, 2023).

I.3.6.3. Exploitation des résultats

Il est important d'estimer les concentrations létales (CL50 et CL90), pour analyser les effets toxicologiques des extraits de *Ruta graveolens* (Maifi et Salmi, 2017).

Afin de vérifier le degré de toxicité des extraits de *Ruta graveolens* vis-à-vis les deux ravageurs *Tribolium castaneum* et *Bruchus rufimanus*, les paramètres toxicologiques suivants sont étudiés dont le pourcentage de la mortalité observée et les doses létaux DL₅₀ et DL₉₀.

***Taux de mortalité**

La mortalité est le premier critère du jugement de l'efficacité d'un traitement chimique ou biologique. Les pourcentages de mortalité des individus tués par les extraits éthanolique et acétonique de *R. graveolens* sont calculés en appliquant la formule suivante :

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

(Herouini, 2021).

***Dose létale (DL)**

L'efficacité d'un toxique se mesure par la DL₅₀ qui représente la concentration de la substance toxique, administrée en une seule fois, qui entraînant la mort de 50% d'individus traités et par la et DL₉₀ qui 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 dans le temps. Ainsi, elles sont des indicateurs 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. Il est utilisé la formule de SCHNEIDER et la table des probits (Herouini, 2021).

$$\text{Formule de SCHNEIDER : } MC = [M2 - M1 / 100 - M1] \times 100$$

- MC : % de mortalité corrigée
- M2 : % de mortalité dans les boites traitées.
- M1 : % de mortalité dans les boites témoins.

Chapitre II.

Résultats et discussion

Chapitre II : Résultats et discussion

Notre étude rentre dans le cadre de recherche des méthodes alternatives pour la lutte contre les insectes des denrées stockées notamment les céréales et légumineuses, pour la survie des agricultures et pour avoir un bon stockage ; bonne conservation. Le but principal est de rechercher à un insecticide naturel pour limiter les inconvénients d'utilisation des insecticides chimiques et leurs effets secondaires.

II.1. Rendement d'extraction

Les extraits des parties aériennes de *Ruta graveolens* ont été préparés par une macération à froid, qui est une excellente méthode pour maintenir l'intégrité des composés bioactifs sensibles aux fluctuations de température pendant une durée déterminée (Lecheheb, 2010). Deux solvants, l'éthanol et l'acétone, ont été utilisés pour faire cette macération. De ce fait, six extraits sont obtenus à partir des feuilles, des tiges et des fleurs de rue qui présentant généralement un aspect pâteux pour tous les extraits avec une couleur vert foncé (Tableau 2).

Tableau 2 : Aspect, couleur et odeur des extraits de *Ruta graveolens*

Organe	Extrait	Aspect	Couleur	Odeur
Feuille	Acétonique	Pâteux	Verte plus foncé	Désagréable
	Ethanolique	Pâteux	Verte foncé	Désagréable
Fleur	Acétonique	Pâteux	Verte plus foncé	Désagréable
	Ethanolique	Pâteux	Verte foncé	Désagréable
Tige	Acétonique	Pâteux	Verte plus foncé	Désagréable
	Ethanolique	Pâteux	Verte foncé	Désagréable

Selon la littérature, la couleur des extraits est due à la présence des pigments de différentes natures, tels que les chlorophylles, les caroténoïdes, les anthocyanes, les

flavones, les flavonoles, les lycopènes, les flavo-xanthine et les lutéines (**Nezam El-Din et al., 1982 ; Gross et al., 1983**).

Les résultats d'extraction par macération ont été exprimés en pourcentage après avoir été calculés par rapport à la masse de départ de poudre de rue. La figure (II) rapporte les résultats de divers extraits étudiés.

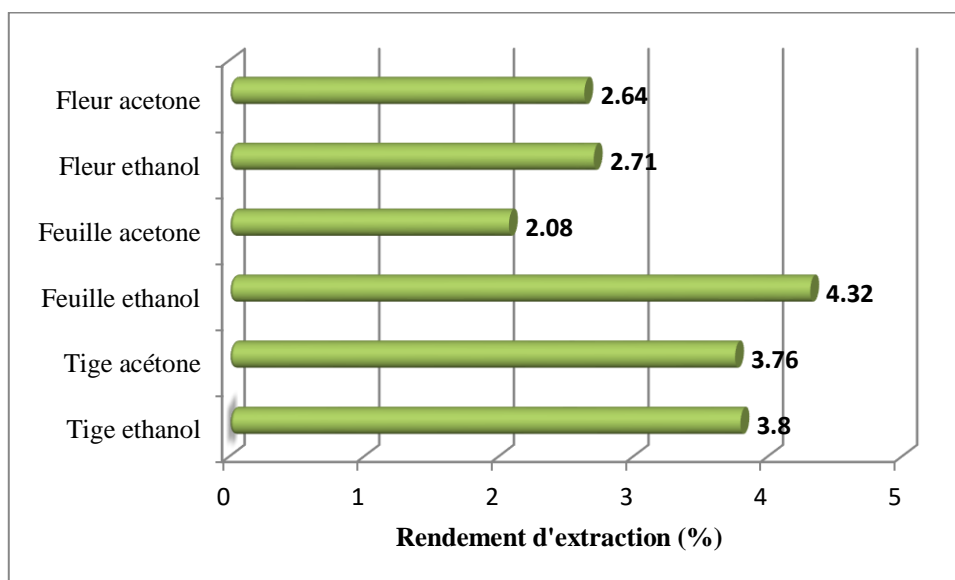


Figure 11 : Rendement d'extraction de différents extraits organiques

D'après les résultats, qui sont résumés dans l'histogramme ci-dessus (**Figure II**), les rendements des extraits des parties aérienne (feuille, tige, fleur) de la plante utilisée *Ruta graveolens*, obtenue par extraction par macération (éthanolique), sont de 4,32%, 3,80%, 2,71% respectivement. Alors que l'extraction (acétonique) est de 2,08%, 3,76%, 2,64% respectivement. L'extrait le plus rentable était l'extrait éthanolique des feuilles, qui avait un rendement de 4,32%, tandis que le plus faible était l'extrait acétonique des feuilles, qui avait un rendement de 2,08%.

Il ressort de ces résultats que les extraits d'éthanol de la partie aérienne ont noté les teneurs d'extraction les plus élevés par rapport les extraits d'acétone. Ce qui est expliqué par la grande solubilité des molécules bioactives des feuilles, des tiges et des fleurs dans l'éthanol qui permette d'extraire le maximum de ces molécules bioactives.

Selon une étude mener 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 l'expérience de **Gali (2014)** sur *Ruta chalpensis* a montré un rendement très fort de l'acétone 9,31% et de l'éthanol 16,7%. Ainsi, un rendement de 20,83% a été déclaré par **Charif et Allou (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**).

Dans la présente étude, la méthode utilisée est la macération qui a été effectuée durant deux jours 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. Le solvant le plus approprié est un mélange aqueux contenant de l'éthanol et de l'acétone. Il est bien connu que l'éthanol est un bon solvant pour extraire les composés phénoliques. Ainsi, la solution aqueuse d'acétone est bénéfique pour extraire les flavanols de poids moléculaire plus élevé (**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 ainsi qu'aux méthodes d'extraction appliquées (**Falleh, 2008 ; Abdiet Tirouche, 2022**).

D'autres facteurs peuvent avoir une influence sur le rendement d'extraction, 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).

II.2. Criblage phytochimique

La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a présenté une solution alternative pour tous les produits chimiques. Dans ce but, on a effectué un criblage phytochimique par la mise en place d'un ensemble de réactions de caractérisation de différents composés chimiques à savoir : les composés phénoliques (tanins, flavonoïdes, coumarines et quinones libres), les composés terpéniques (terpénoïdes et stéroïdes), les composés azotés (alcaloïdes) et les composés réducteurs.

Les tests ont été réalisés sur les différents extraits préparés à partir de la partie aérienne de *Ruta graveolens* en utilisant deux solvants (éthanol et acétone) et des réactifs spécifiques de révélation. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau (3) et exprimés selon le type de réaction suivant, qui sont en relation avec l'intensité du précipité ou de coloration :

Tableau 3 : Screening photochimique des extraits des parties aériens de *Ruta graveolens*.

	Feuille éthanol	Fleur éthanol	Tige éthanol	Feuille acétone	Fleur acétone	Tige acétone
Tanins	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
Flavonoïdes	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Quinones libres	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Coumarines	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
Stéroïdes	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
Terpénoïdes	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Composé réducteurs	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Alcaloïdes	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)

D'après le tableau au-dessus, nous remarquons une grande variation dans la distribution des groupes chimiques entre les organes de la partie aérienne de *Ruta graveolens* ainsi selon le solvant d'extraction utilisé. Il est à noter l'apparition des flavonoïdes, des tanins et des coumarines pour la plupart des extraits.

Tandis que, les terpénoïdes et les alcaloïdes sont faiblement présents dans l'extrait éthanolique des tiges et des fleurs et on note leur absence totale dans l'extrait d'éthanol des feuilles et les extraits acétonique. La recherche des quinones libres et des composés réducteurs s'est montrée négative dans tous les extraits analysés. Mais celle des stéroïdes a été positive seulement dans l'extrait acétonique des tiges.

Ces résultats sont en d'accord avec **Gouami et Nebili (2020)**, où ils ont constaté la présence des flavonoïdes (flavoneles, flavone, anthocyanes), tanins catéchique, les stéroïdes, des terpènes, des alcaloïdes et des huiles essentielles. En revanche à l'absence des tanins galliques, les quinones, et les saponines. Comparativement aux résultats de *Ruta graveolens*, **Attou (2011)** note presque les mêmes compositions chimiques avec *Ruta chalepensis*.

II.3. Analyses quantitatives

Les différents extraits de *R. graveolens* ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV-visible pour la détermination de leur contenu en phénols totaux, flavonoïdes et tanins. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que des propriétés insecticides et antibactériennes des plantes leur sont attribuées.

Des droites d'étalonnages ont été tracées pour cet objectif, qui sont réalisées avec des solutions d'étalons à différentes concentrations. Les teneurs des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins ont été rapportées en milligramme d'équivalents de l'étalon utilisé par gramme de la matière sèche (mg EE/g MS) et déterminées par l'équation de type : $y = a x + b$.

II.3.1. Dosage des phénols totaux

La méthode de dosage que nous avons utilisée est celle de Folin-Ciocalteu, universellement employée par les laboratoires de recherche. Cette méthode est très satisfaisante sur le plan de faisabilité et de reproductibilité (Merouane *et al.*, 2014). Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (WO_4^{2-}) et phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) du réactif de Folin-Ciocalteu par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation des produits de réduction de couleur bleu qui présentent un maximum d'absorption à 760 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de phénols totaux présents dans l'échantillon (Li *et al.*, 2007). Une courbe d'étalonnage (figure 13) a été tracée pour cet objectif, et réalisée avec l'acide gallique à différentes concentrations.

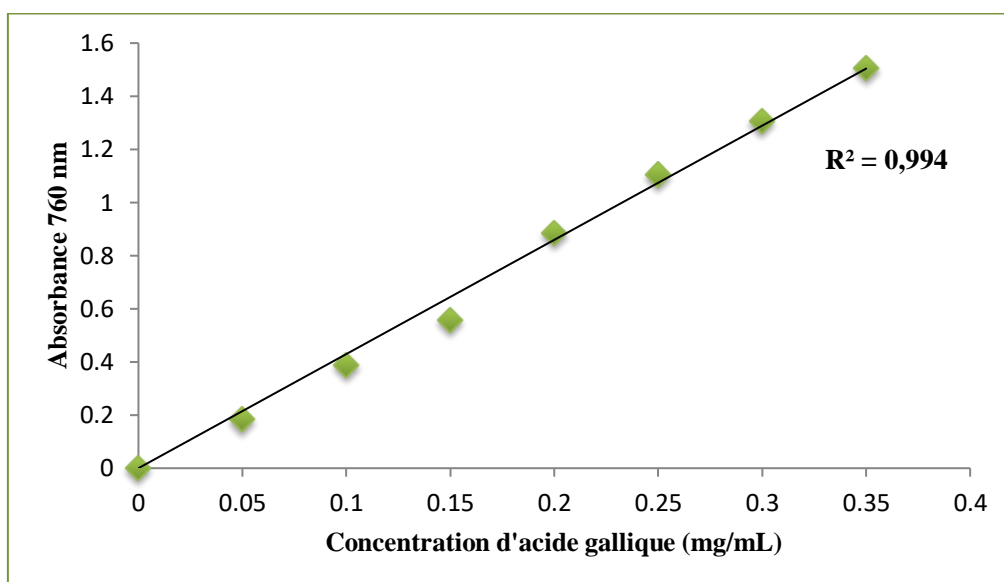


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats obtenus pour le dosage des phénols totaux sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS). Les teneurs en phénols totaux des différents extraits de *R. graveolens* sont présentées dans la figure (12).

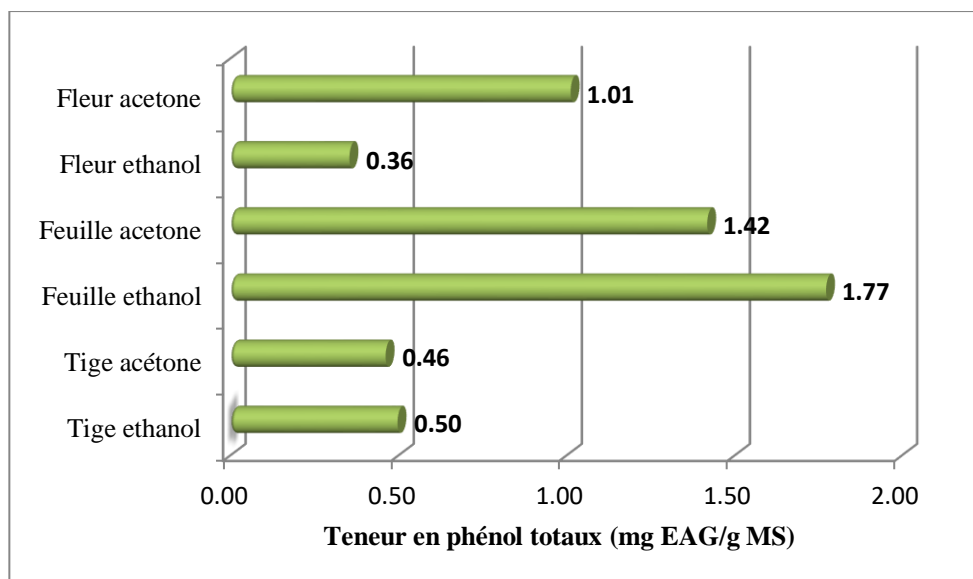


Figure 13 : Teneur en phénols totaux des différents extraits de *Ruta graveolens*

L'examen de ces résultats montre que les teneurs en phénols totaux varient considérablement entre les différents extraits et en relation étroite avec l'organe étudié et parfois avec la nature du solvant d'extraction utilisé. Les teneurs en phénols totaux des différents extraits varient entre 0,36 et 1,77 mg EAG/Gms. La teneur la plus élevée est enregistré dans l'extrait éthanolique des feuilles, elle est de l'ordre de Le taux le plus faible des phénols totaux est enregistré pour l'extrait éthanolique des fleurs ($0,36 \pm 0,005$ mg EAG/g).

Généralement, la partie aérienne des plantes est très connue par sa richesse en composés phénoliques puisque ces composés interviennent dans la protection de cette partie vis-à-vis différents types de stress (lumineux, hydrique, thermique, salin, etc.) (Macheix *et al.*, 2005). Cependant, ce n'est pas de notre cas où des faibles teneurs de phénols totaux sont enregistrées qui peut être expliqué par le fait que les conditions biotiques au moment de la récolte ne sont pas favorables à la synthèse intense de ces composés.

Par ailleurs, les conditions d'extraction et les solvants utilisés ont des effets remarquables sur le taux des composés phénoliques extraits. En effet, les extraits éthanoliques et acétoniques comportent des taux comparables en phénols totaux pour

les organes feuilles et tiges. Ceci pourrait être dû à la nature des composés phénoliques extraits par ces deux solvants ; qu'ils possèdent ainsi une polarité moyenne à forte qui permettra de solubiliser la plupart des phénols comme les flavonoïdes aglycones et les acides phénoliques et les tanins (**Evans, 2006**). Par contre un taux très élevé des phénols totaux a été noté dans l'extrait d'acétone des fleurs ce qui indique la différence de la composition phytochimique entre les fleurs et les autres organes aériennes dont les fleurs contiennent des composés plus extractibles dans l'acétone que l'éthanol. On peut conclure que le contenu phénolique dans les extraits examinés, dépend du solvant utilisé pour l'extraction ainsi la nature chimique des composés majoritaires présents dans les feuilles, tiges et fleurs de rue.

Autant, les pourcentages du rendement d'extraction ne reflètent pas évidemment les teneurs en phénols totaux, cette constatation est valable pratiquement pour la plus part des extraits. Par exemple, les extraits acétoniques et éthanoliques des tiges ont présenté des faibles teneurs en phénols totaux malgré qu'il sont noté des valeurs importantes en rendement d'extraction. Par contre, l'extrait d'acétone des fleurs qu'il a enregistré une teneur très élevée en phénols totaux à l'égard son rendement d'extraction parmi les faibles.

Ces taux sont nettement inférieur à celui trouvé par **Belaid et Bellil (2017)** qu'ils ont étudié les feuilles de *Ruta graveolens* de Mostaganem ($4,163 \pm 0,394$ mg EAG/g). Ainsi, **Djeridane et al. (2006)** ont rapporté que les feuilles de *R. graveolens* contenaient 3.13 mg GAE/g de polyphénols totaux.

La comparaison des teneurs en phénols totaux avec celles rapportées par *Ruta sp.* A montré la richesse de ces espèces par rapport *R. graveolens*. Selon l'étude de **Charif et Allou (2015)**, la teneur en phénols totaux des feuilles de *Ruta chalepensis* est de $160,21 \pm 7,29$ µg EAG/mg d'extrait. Tant que les teneurs en polyphénols d'extrait méthanolique de *Ruta montana* L. et de *Ruta tuberculata* Forsk. Sont $26,62 \pm 1,93$ et $20,36 \pm 0,48$ µg EAG/ mg respectivement (**Chaibeddra, 2014**).

Le dosage des phénols totaux se fait par l'utilisation du réactif de Folin–Ciocalteu, parce qu'il est simple à mettre en œuvre ce qui possède une grande longueur d'onde (760 nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les

interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré (**Huang et al., 2005**). Néanmoins, la méthode de Folin-Ciocalteu est peu spécifique et n'indique pas toujours les valeurs précises des teneurs en phénols totaux puisque le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques dont peut réagir avec les acides aminés : tyrosine et tryptophane des protéines, les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose, l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites ; ce qui provoque après des problèmes d'interférence pendant toute évaluation phénolique (**Boizot et Charpentier, 2006**).

De plus, la variation dans la composition en phénols totaux pourrait être relié aux facteurs extrinsèques (tels que des facteurs géographiques et climatiques, sécheresse, nature du sol, pollution, agressions et maladies) et les facteurs intrinsèque (génétique, l'organe de la plante utilisé et la variété), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires comme les polyphénols. Ainsi que la variation de teneurs en polyphénols semble être liée à la zone géographique, la méthode d'extraction choisie, les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. Mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une influence (**Falleh et al., 2008 ; Ksouri et al., 2009 ; Baba Ouyoub, 2017**).

II.3.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques naturels les plus importants, qu'ils ont été identifiés dans presque toutes les parties de la plante : les feuilles, les racines, les tiges, les fleurs, les graines et l'écorce (**Lee et al., 1994**). La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode de **Lamaison et Carnat (1991)** en utilisant le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) comme réactif. Cette méthode est simple, peu coûteuse et elle est basée sur la formation d'un complexe jaunâtre très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. Ce complexe absorbe la lumière UV à une longueur d'onde de 409 nm (**Lagnika, 2005**).

L'estimation des teneurs des flavonoïdes des extraits de la partie aérienne de *R. graveolens* a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage de la rutine (figure 14).

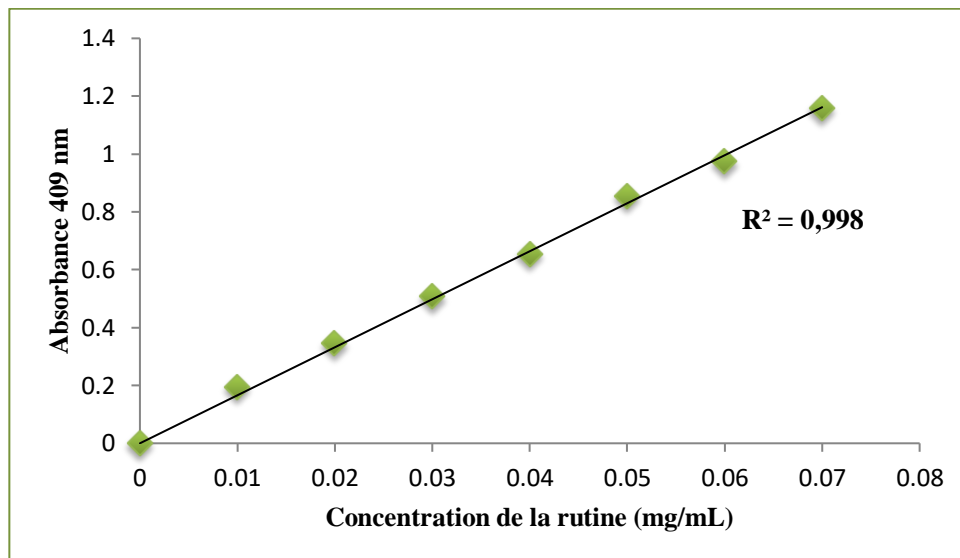


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la rutine.

Les taux des flavonoïdes des extraits ont été obtenus à partir de la courbe d'étalonnage de la rutine, exprimant en milligramme équivalent de rutine par gramme de matière sèche (mg ER/g MS). Les résultats de la quantification des flavonoïdes des différents extraits sont représentés dans la figure (15).

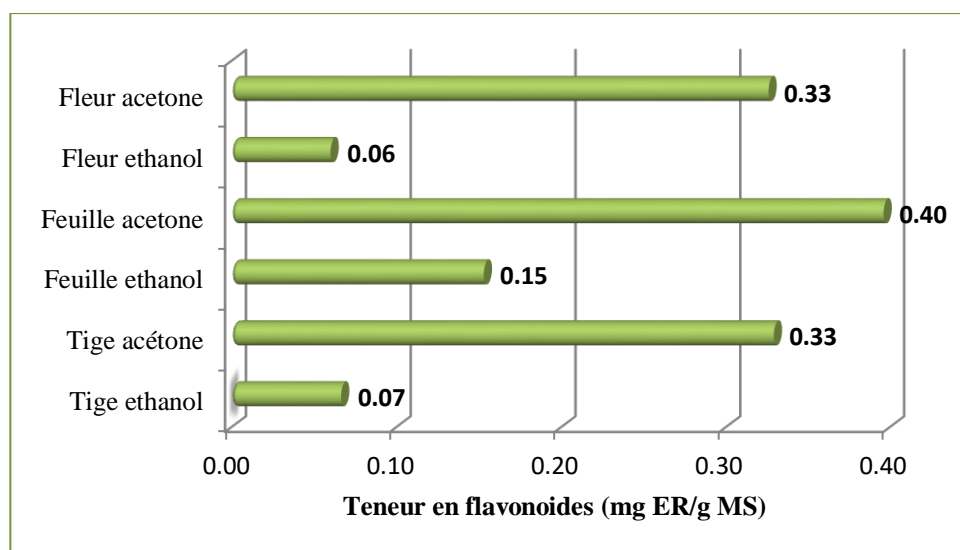


Figure 15 : Teneur en flavonoïdes des différents extraits de *Ruta graveolens*

D'après ces résultats, on constate une variabilité des teneurs en flavonoïdes qui toujours dépendent de la polarité du solvant d'extraction et l'organe étudié. En effet, les teneurs en flavonoïdes des différents extraits varient entre 0,06 et 0,40 mg ER/g MS. Les teneurs les plus élevées sont obtenues avec l'extrait acétonique des feuilles, qui a un taux égal à $0,40 \pm 0,03$ mg ER/g MS, suivi par ceux des extraits acétonique des tiges et des fleurs qui sont de même taux de 0,33 ER/g MS. La teneur la plus faible est enregistrée pour l'extrait éthanolique des fleurs, qui est égale à $0,06 \pm 0,005$ mg ER/g MS.

Au regard de ces résultats, nous pouvons constater que les extraits d'acétone de la partie aérienne de *R. graveolens* sont plus riche en flavonoïdes par rapport aux ceux d'éthanol. Ceci, est peut-être expliqué par la nature des composés flavonoïdiques qui sont extraits préférentiellement par l'acétone. Malgré quel'éthanol est bien cité parmi les meilleurs solvants permettant d'extraire le maximum des composés phénoliques.

En outre, les pourcentages des flavonoïdes par rapport le contenu en phénols totaux sont compris entre 8.63 et 71.10 %. Nos résultats laissent apparaître que les flavonoïdes sont moins de la moitié de la quantité des phénols totaux pour la majorité des extraits investigués. Cela nous guide que nos extraits sont pauvre en ces composés et le reste pourrait être d'autres composés phénoliques possédant d'autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (Acide phénoliques, coumarines, stilbènes..) présentent en quantités importantes.

A titre de comparaison de notre étude avec la littérature, ces résultats sont inférieur à celui des feuilles de *R. graveolens* de Mostaganem étudié par **Belaid et Bellil (2017)** qu'ils ont trouvé un teneur en flavonoïdes de $1,397 \pm 0,033$ mg EQ/g E. Tandis que, nos teneurs sont comparables à celle trouvée par **Diwan et al. (2012)** qui ont trouvé 0.4 mg EQ/g E.

Selon l'étude de **Charif et Allou (2015)**, la teneur en flavonoïdes des feuilles de *Ruta chalepensis* est de $17,97 \pm 0,05$ µg EQ/mg d'extrait. Tant que les teneurs d'extrait méthanolique de *Ruta montana* L. et de *Ruta tuberculata* Forsk. Sont $44,54 \pm 1,40$ et $19,67 \pm 0,34$ µg EQ/mg respectivement (**Chaibeddra, 2014**).

Généralement, les variations des spectres d'absorption des flavonoïdes sont en fonction des modifications chimiques : hydroxylation, méthylation, glycosylation, condensation avec d'autres molécules, phénoliques ou non. De plus, les caractéristiques physicochimiques du milieu sont également des causes de modifications profondes des spectres d'absorptions : PH, teneurs en métaux, interférence avec d'autres composés, et à la solubilité qui dépend non seulement de la polarité du solvant d'extraction mais aussi du nombre et de la position des groupements hydroxyles libres, au poids moléculaire et même du nombre, du type et de la position de la liaison des glucides avec les flavonoïdes (Bourgou *et al.*, 2016 ; Telli, 2017).

II.3.3. Dosage des tanins condensés

La quantification des tanins condensés a été effectuée par la méthode de Sun *et al.*, (1998) en utilisant la vaniline-HCl. Cette méthode est basée sur la formation des anthocyanidols de couleur rouge facilement analysables à 510 nm (Beddou, 2015).

La quantification des teneurs des tanins condensés des extraits de la partie aérienne de *R. graveolens* a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage de la catéchine (figure 16).

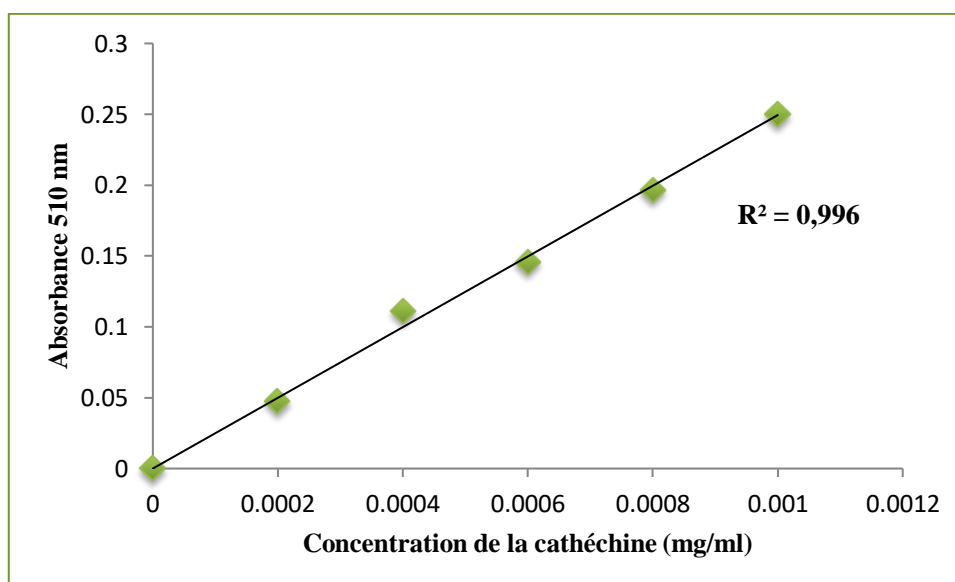


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

La figure 17 représente la variabilité des concentrations des tanins condensés pour les différents extraits de *R. graveolens*. Les résultats sont exprimés en mg équivalents de catéchine à l'aide d'une courbe étalon.

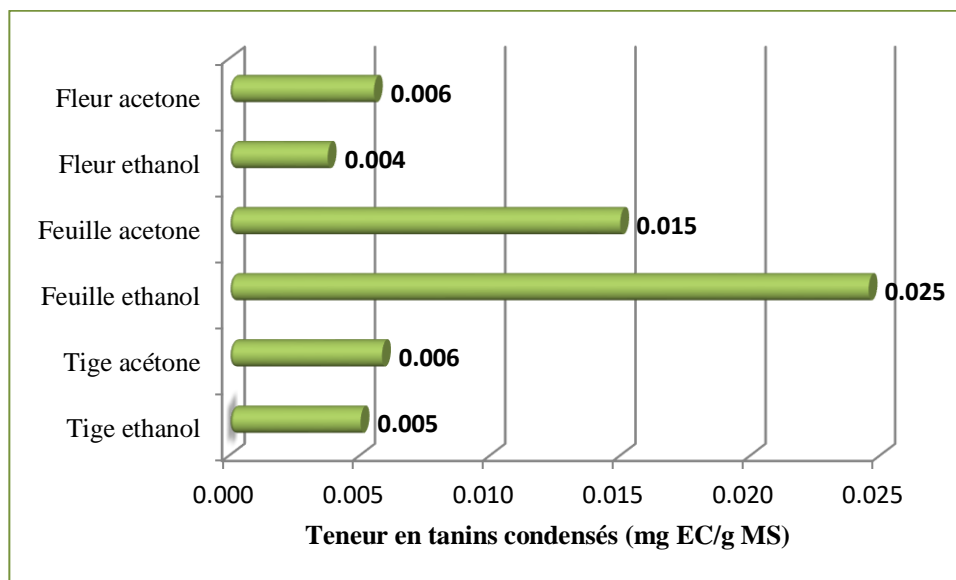


Figure 17 : Teneur en tannins condensés des différents extraits de *R. graveolens*

L'analyse quantitative des tannins condensés montre que les teneurs en ces composés des différents extraits varient entre $0,004 \pm 0,0003$ et $0,025 \pm 0,0005$ mg EC/g MS. La valeur maximale est obtenue avec l'extrait éthanol des feuilles ($0,025$ mg EC/g MS), tandis que la valeur la plus faible a été enregistrée pour l'extrait éthanol des fleurs ($0,004$ mg EC/g MS).

Les extraits des tiges et des fleurs obtenus par les deux solvants d'extraction ont généralement les teneurs les plus faibles en tanins condensés. Ainsi, ces extraits ont montré des teneurs proches entre les deux solvants d'extraction. Ce qui indique que ces solvants ont la même capacité de solubiliser les tanins condensés trouvés dans chaque organe. Toutefois, les extraits des feuilles ont les plus riches soit par les phénols totaux, les flavonoïdes ou les tanins condensés. La richesse de cette organe, qui est le siège de la photosynthèse, en composés phénoliques peut être expliquée par le fait que ces composés interviennent dans la protection de cette organe vis-à-vis différents types de stress (lumineux, hydrique, thermique, salin. etc.) (Telli, 2017).

Les tanins condensés, ou tanins non hydrolysables, forment un groupe des composés phénoliques provenant de la condensation de flavane-3-ols (éventuellement de flavane-3,4-diols) dérivés de la (+) -catéchine ou de ses nombreux isomères. Ils sont des composés plus en moins complexes selon la nature des constituants impliqués et selon le type de condensation. Par traitement acide à chaud, elles se transforment en pigments rougeâtres, anthocyanidols. Leur extraction dépend de leur degré de polymérisation, du solvant utilisé et des conditions de l'extraction (**Macheix et al., 2005 ; Sebrou et Haouari, 2018**).

Selon **Baba Ouyaba (2017)**, la solubilité des tanins condensés est affectée par la présence des liaisons covalents de type C-C entre les unités flavan-3-ols. Alors, on peut dire que les faibles teneurs en tanins condensés des extraits des tiges et des fleurs peuvent être dues à la faible solubilité de ces molécules dans les deux solvants sélectionnés pour l'extraction ou par la pauvreté réelle de ces organes en tanins condensés.

Pour le présent travail, la quantification des tanins condensés a été suivie par la méthode de vanilline-HCl qui est basée sur la réaction du cycle A d'anthocyanidines avec un aldéhyde aromatique (vanilline). Cette méthode est rapide mais elle manque de reproductibilité due au type du solvant utilisé, la nature et la concentration de l'acide, le temps de la réaction, la concentration de la vanilline et le type de standard utilisé (**Telli, 2017**).

Pour le but de définir le type de corrélation entre les teneurs en phénols totaux et celles en flavonoïdes et en tanins condensés, nous avons tracé des courbes portant la variation de la teneur des phénols totaux en fonction ces deux composés (**Figure 18**).

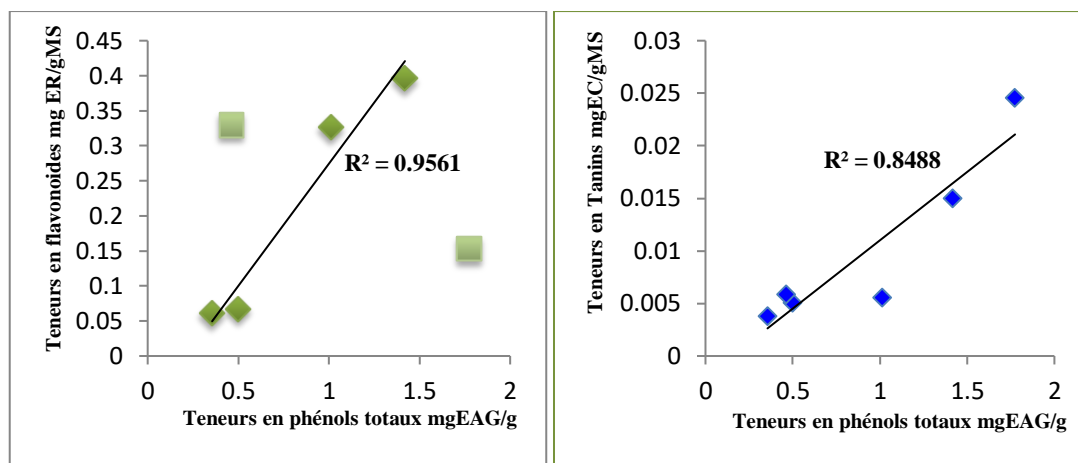


Figure 18 : Variation de la teneur en phénols totaux et celles en flavonoïdes et en tanins condensés.

D'après les graphes représentés dans la figure 18, il existe une bonne corrélation de plus 80% entre la teneur des extraits en phénol totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés. Ces résultats peuvent être traduits par le fait que la quantité des flavonoïdes et des tanins condensés varie proportionnellement avec le contenu en phénols totaux pour tous les extraits.

II.4. Toxicité

L'étude de la toxicité de différents extraits organiques par contact vis-à-vis les adultes des insectes étudiées est testés au laboratoire. L'utilisation des doses croissantes des extraits de la plante *Ruta graveolens* provoquent la mort des individus traités.

II.4.1. *Bruchus rufimanus*

Suivant la figure suivante qui présente l'effet toxique de différents extraits organique de différentes parties contre les adultes *Bruchus rufimanus*, la toxicité se diffère d'un extrait organique à l'autre et même d'une partie végétale à l'autre.

En effet, les concentrations 9, 12, 15 mg/mL d'extraits acétonique et éthanolique des feuilles ont déterminé une mortalité de 100% à l'égard des adultes du bruche après 12h de temps d'exposition. La mortalité à l'ordre de 60% est obtenue

après l'utilisation de concentration de 9 mg/mL d'extrait acétonique après 12 h de temps d'exposition.

La mortalité maximale est de l'ordre de 100% a été enregistrée par l'utilisation des extraits organiques acétonique et éthanolique des fleurs. La concentration 12 mg/mL des mêmes extraits provoque des taux de mortalité ne dépassent pas 60% pendant les 72 h de temps d'exposition. Les taux de mortalité obtenus par la concentration 12 mg/mL de l'extrait éthanolique des fleurs sont plus élevées que celles obtenus par l'extrait acétonique de la même partie.

Il est remarquable que les doses 12, 15 mg/mL d'extrait acétonique de tige présente un taux de mortalité de l'ordre de 100% pendant les 72 h d'exposition. Cependant, la concentration 9 mg/mL provoque une mortalité qui ne dépasse pas 46% pendant les mêmes temps d'exposition.

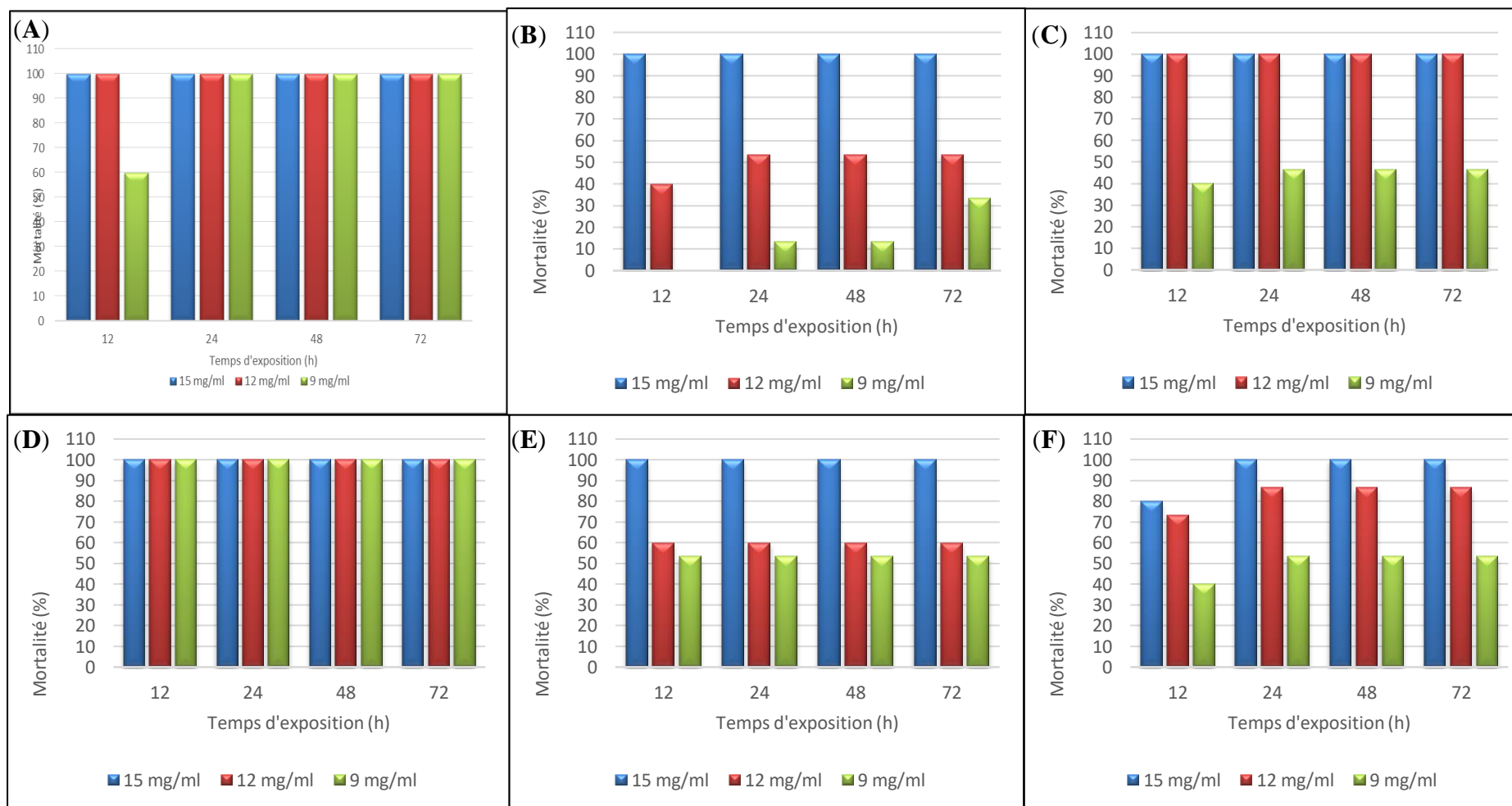


Figure 19 : Toxicité de différents extraits organique contre les adultes de *Bruchus rufimanus*. (A) : Extraits acétonique des feuilles ; (B) : Extraits acétonique des fleurs ; (C) : Extraits acétonique des tiges ; (D) : Extraits éthanologique des feuilles ; (E) : Extraits éthanologique des fleurs ; (F) : Extraits éthanologique des tiges.

II.4.2. Tribolium castaneum

La figure suivante représente le taux de mortalité de différents extraits organiques de différentes parties de plantes contre les imagos de *Tribolium castaneum*.

Toutes les concentrations appliquées de l'extrait acétonique des feuilles provoquent une mortalité qui ne dépasse pas 10% après 72 h de temps d'exposition. Néanmoins, la concentration ne provoque aucune mortalité pendant les 12 h d'exposition. La concentration 15 mg/mL de l'extrait éthanolique de la même partie provoque une mortalité de l'ordre de 10% qui s'enregistre après 72 h.

Les extraits acétonique et éthanolique de des fleurs ne présente aucune toxicité sauf la concentration 15 mg/mL avec des taux de mortalité très faibles.

En effet, la concentration 15 mg/mL de l'extrait éthanolique des tiges, présente une mortalité de l'ordre de 30%, alors que celle de l'extrait acétonique présente une mortalité qui ne dépasse pas 10%. La concentration 9 mg/mL de deux extraits organiques ne présente aucune mortalité pendant les 72 h d'exposition.

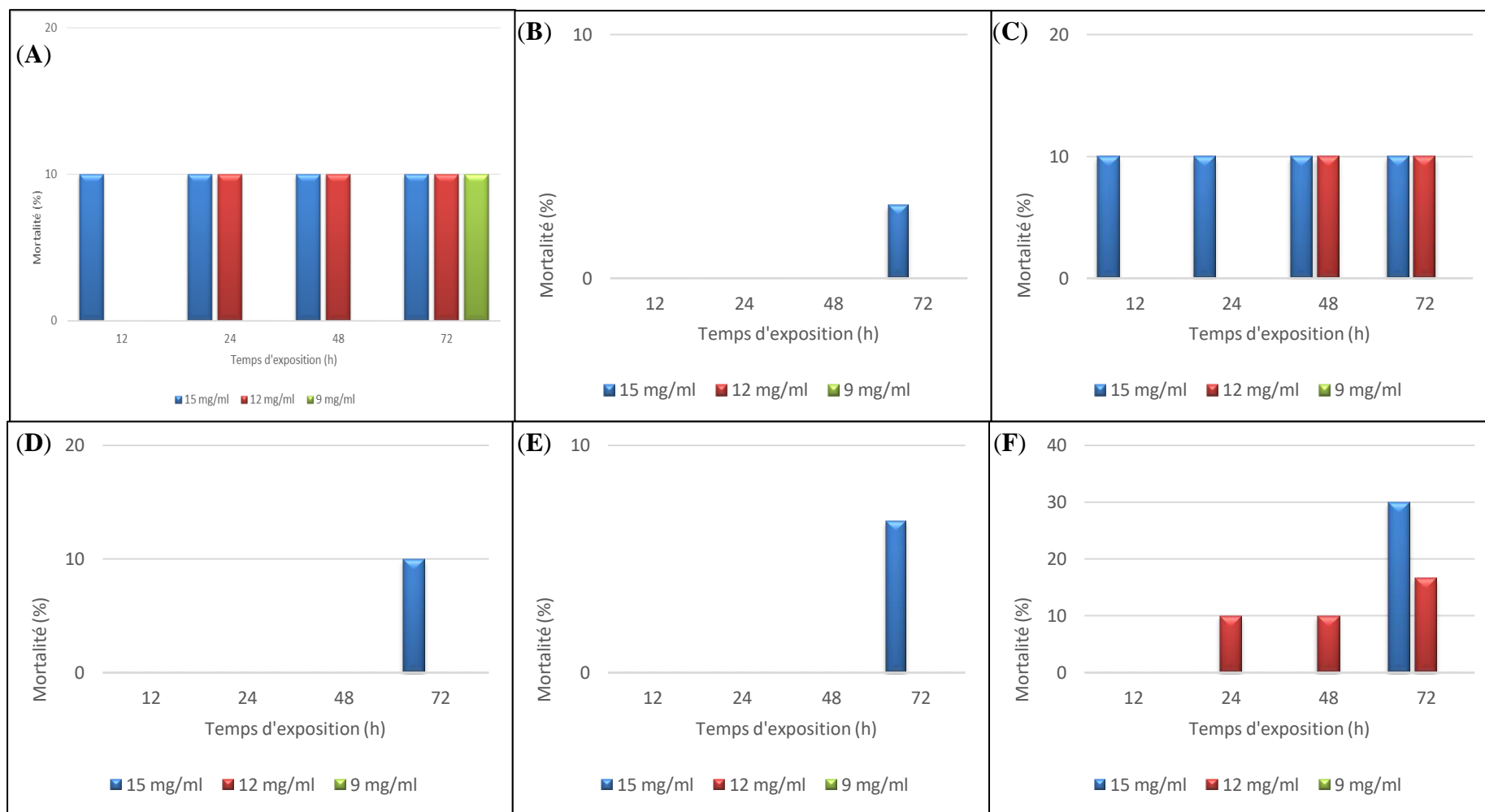


Figure 20 : Toxicité de différents extraits organique contre les adultes de *Tribolium castaneum*. **(A) :** Extraits acétonique des feuilles ; **(B) :** Extraits acétonique des fleurs ; **(C) :** Extraits acétonique des tiges ; **(D) :** Extraits éthanolique des feuilles ; **(E) :** Extraits éthanolique des fleurs ; **(F) :** Extraits éthanolique des tiges.

II.5. Cinétique de la mortalité

Les adultes des insectes traités par les différents extraits organiques de différentes parties 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.

II.5.1. *Bruchus rufimanus*

D'après la figure 21 qui représente l'évolution temporelle de la toxicité des extraits acétoniques de différentes parties contre les imagos de *Bruchus rufimanus*. La toxicité des extraits acétoniques de différentes parties de la plante présente une certaine stabilisation après 24 h de l'exposition. L'obtention d'une mortalité de l'ordre de 100% ne dépasse les 8 h d'exposition pour tous les extraits acétoniques testés. Toutes les concentrations de l'extrait acétonique des feuilles présentent un effet remarquable similaire pendant les 12 h de l'exposition. Le départ de l'effet est enregistré après 12 h de pour la concentration 9 mg/mL de l'extraits acétonique des fleurs. Ce dernier présente une toxicité qui se diffère d'une concentration à l'autre avec un ordre croissant. La concentration 15 mg/mL de cet extrait présente une toxicité qui ne dépasse pas 75%. En revanche la concentration 9mg/mL n'enregistre une toxicité de l'ordre de 100% sauf que l'utilisation de l'extraits acétonique des feuilles. En effet, l'effet toxique de deux concentrations 15 mg/ml et 12 mg/mL est presque identique pour l'extraits acétoniques des tiges.

L'évolution temporelle de la toxicité des extraits éthanolique de différentes parties contre les imagos de *Bruchus rufimanus* a été présentée dans la figure 22. Il est remarquable que stabilité de la toxicité des extraits est remarquable après 24 h, 72 h et 96 h d'exposition pour les extraits des feuilles, fleurs et tiges respectivement. Toute la concentration testée de l'extrait des feuilles provoque une mortalité de l'ordre de 100% après 12 h d'exposition avec un effet similaire entre ces concentrations pendant les 168 h de l'exposition. Cet ordre de mortalité n'a enregistré sauf qu'avec la concentration 15 mg/mL pour l'extraits des fleurs et tiges.

Le départ de l'effet est enregistré a été enregistrés après 2 h d'exposition pour les concentrations 15 mg/mL et 12 mg/mL de tous les extraits végétaux testés. La

concentration 12 mg/mL présente un effet toxique similaire avec celle de la concentration 9 mg/mL pour l'extrait des fleurs. En revanche la concentration 12 mg/mL de l'extrait des tiges, provoque une toxicité similaire avec celle de la concentration 15 mg/mL.

II.5.2. Tribolium castaneum

La figure 23 présente la cinétique de la mortalité des individus de *Tribolium castaneum* traités par de l'extraits acétoniques de différentes parties de la plante à savoir : Feuilles, Fleurs e tiges. Les résultats montrent que les mortalités maximales ne dépassent pas des taux de l'ordre de 10%, 20% et 30% pour les extraits de des feuilles, fleurs et tiges respectivement pendant les 168 h de l'exposition. Les concentrations 12 mg/ml et 9mg/ml de l'extrait des fleurs ne provoquent aucune mortalité. Le départ de l'effet est enregistré a été enregistrés après 8 h, 10 h, 48 h d'exposition pour les extraits des feuilles, tiges et fleurs respectivement.

L'évolution temporelle de la mortalité des individus de *Tribolium castaneum* traités par de l'extraits éthanoliques de différentes parties de la plante (Feuilles, Fleurs et tiges) a été présenté dans la figure 24. Les résultats montrent que les mortalités maximales ne dépassent pas des taux de l'ordre de 30% pour les extraits de des feuilles et tiges, alors que l'extrait des fleurs provoque une mortalité qui ne dépasse pas 20% pendant les 168 h de l'exposition. La concentration 9mg/ml ne provoque aucune mortalité avec tous les extraits sauf avec des très faibles taux après 120 h de l'exposition vis-à-vis l'extrait des feuilles. En effet, la concentration 12 mg/ml ne provoque aucune mortalité pour l'extrait des fleurs. Le départ de l'effet est enregistré a été enregistrés après 48 h pour les extraits de des feuilles et fleurs tiges, alors que l'extrait des tiges présente un départ de toxicité après 12 h d'exposition.

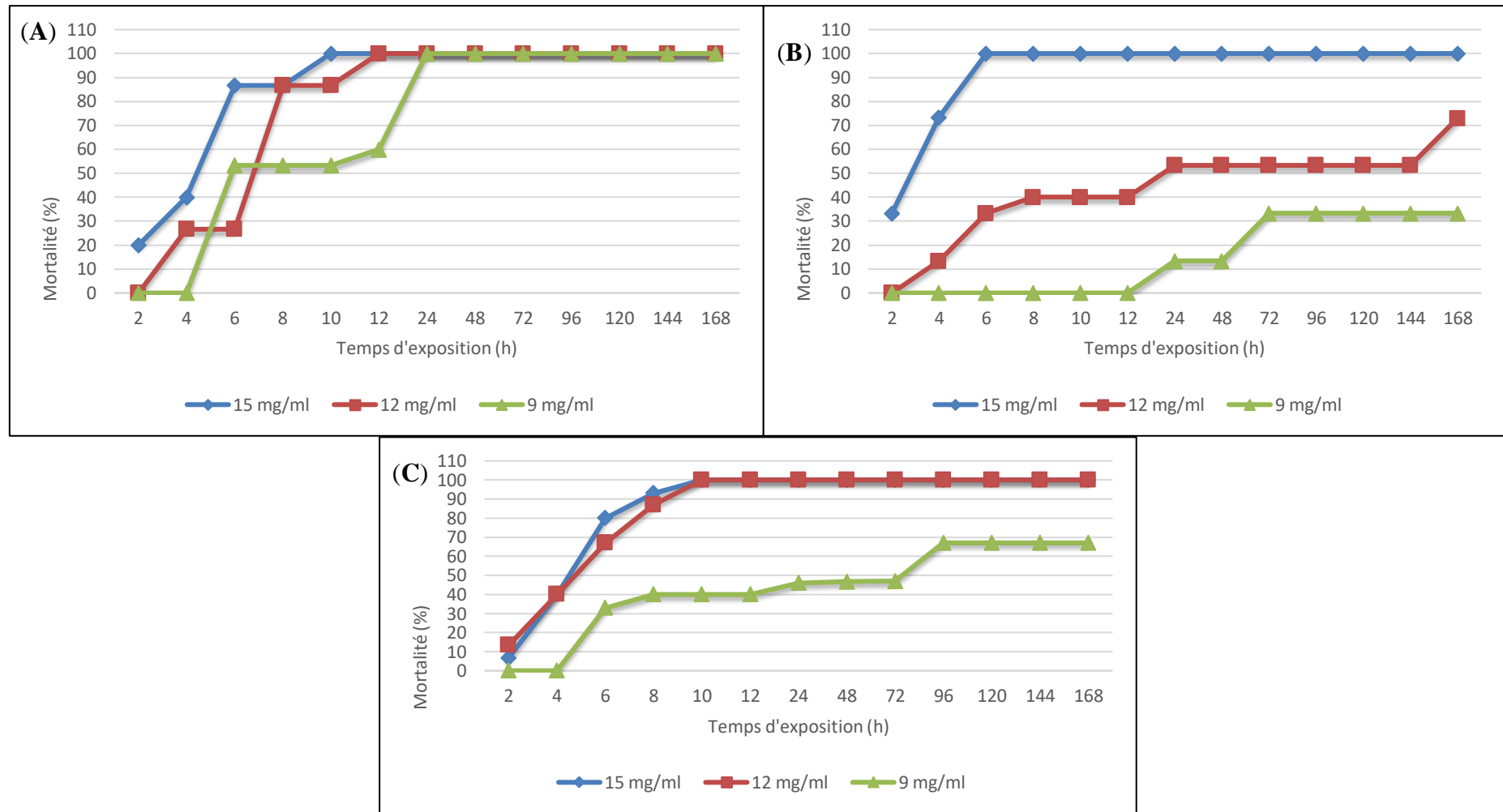


Figure 21 : Cinétique de mortalité des imagos de *Bruchus rufimanus* traités par de l’extraits acétoniques de différentes parties de la plante. **(A) :** Extrait des feuilles ; **(B) :** Extrait des fleurs ; **(C) :** Extraits des tiges.

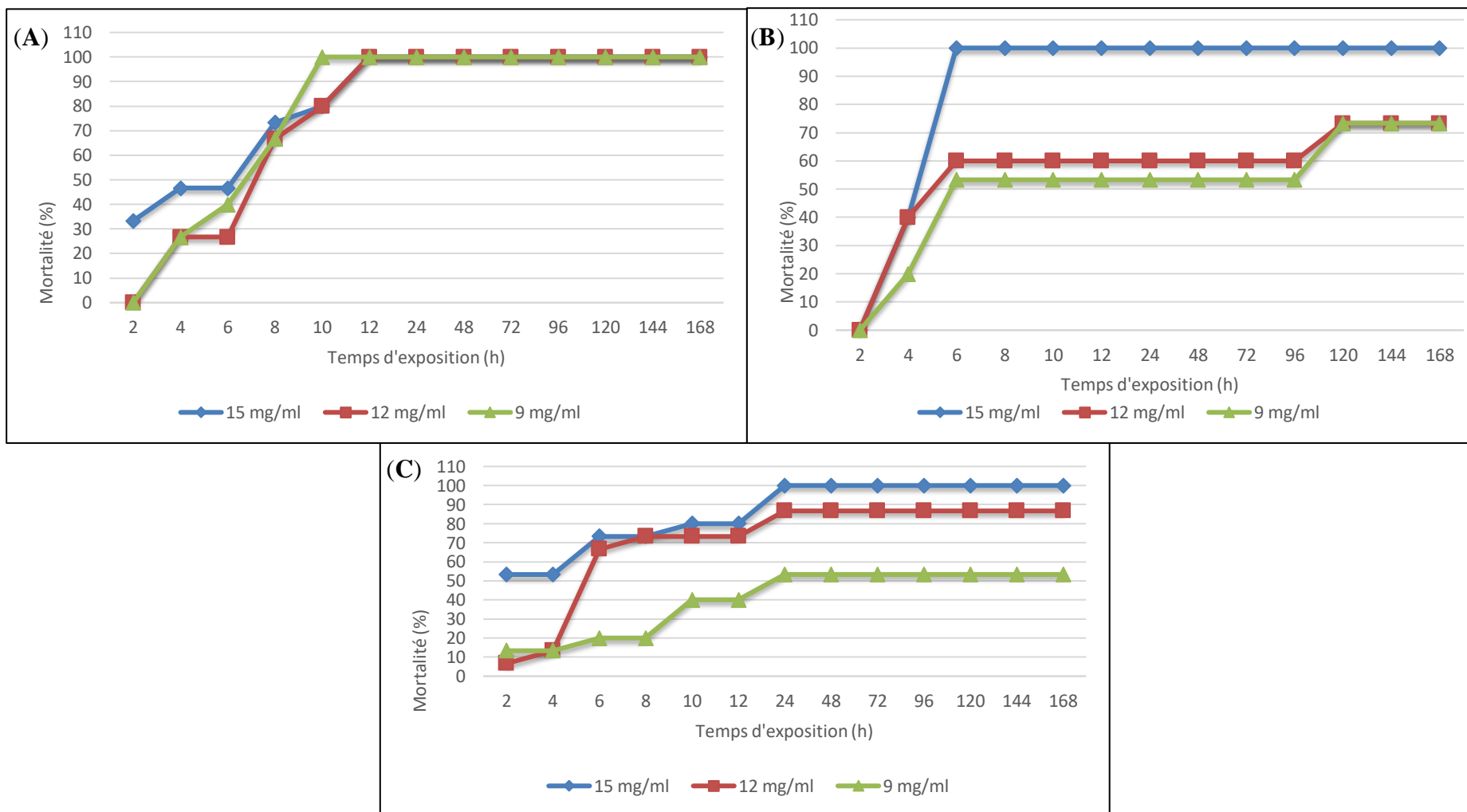


Figure 22 : Cinétique de mortalité des imagos de *Bruchus rufimanus* traités par de l'extraits éthanolique de différentes parties de la plante. (A) : Extrait des feuilles ; (B) : Extrait des fleurs ; (C) : Extraits des tiges.

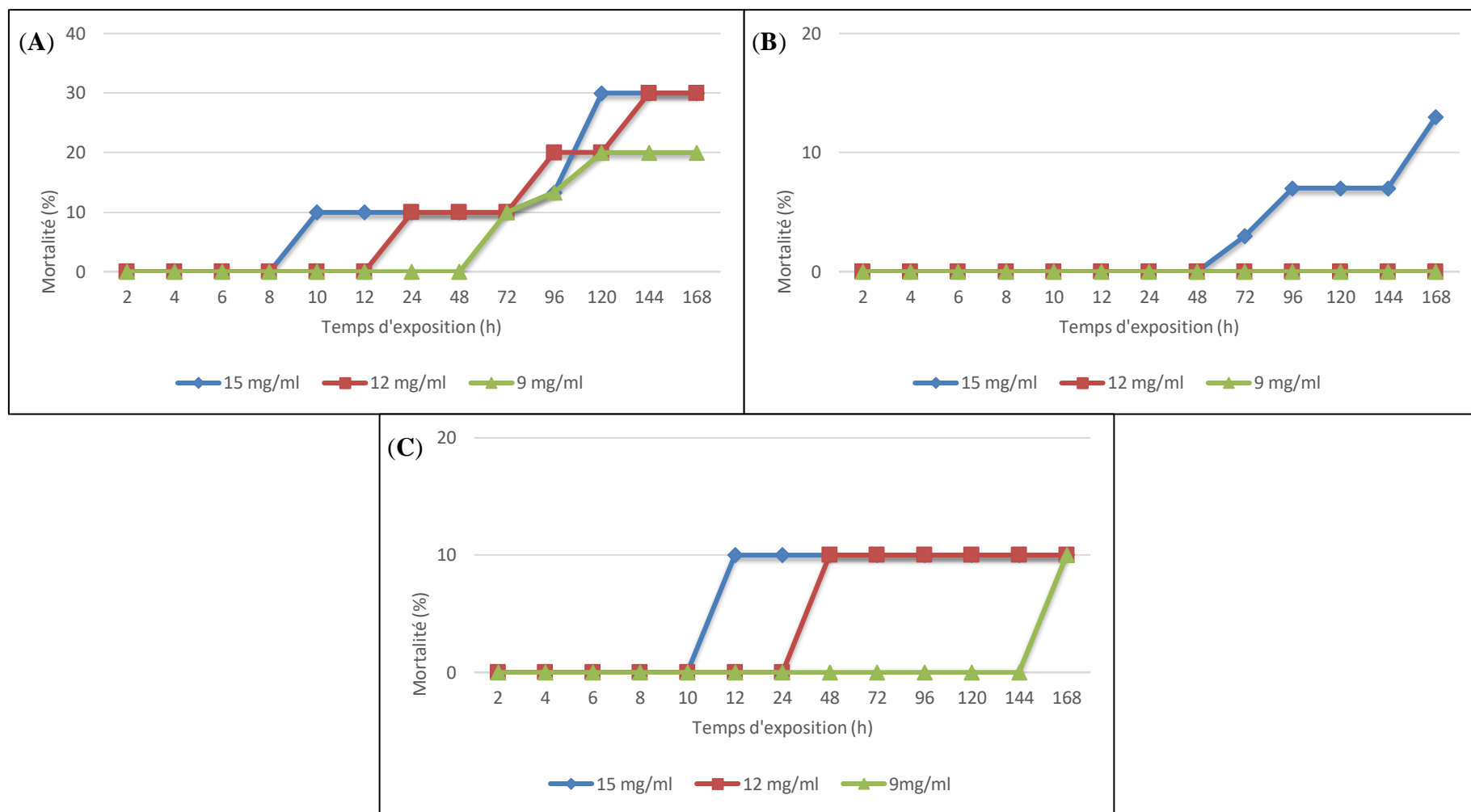


Figure 23 : Cinétique de mortalité des imagos de *Tribolium castaneum* traités par de l'extraits acétoniques de différentes parties de la plante.
 (A) : Extrait des feuilles ; (B) : Extrait des fleurs ; (C) : Extraits des tiges.

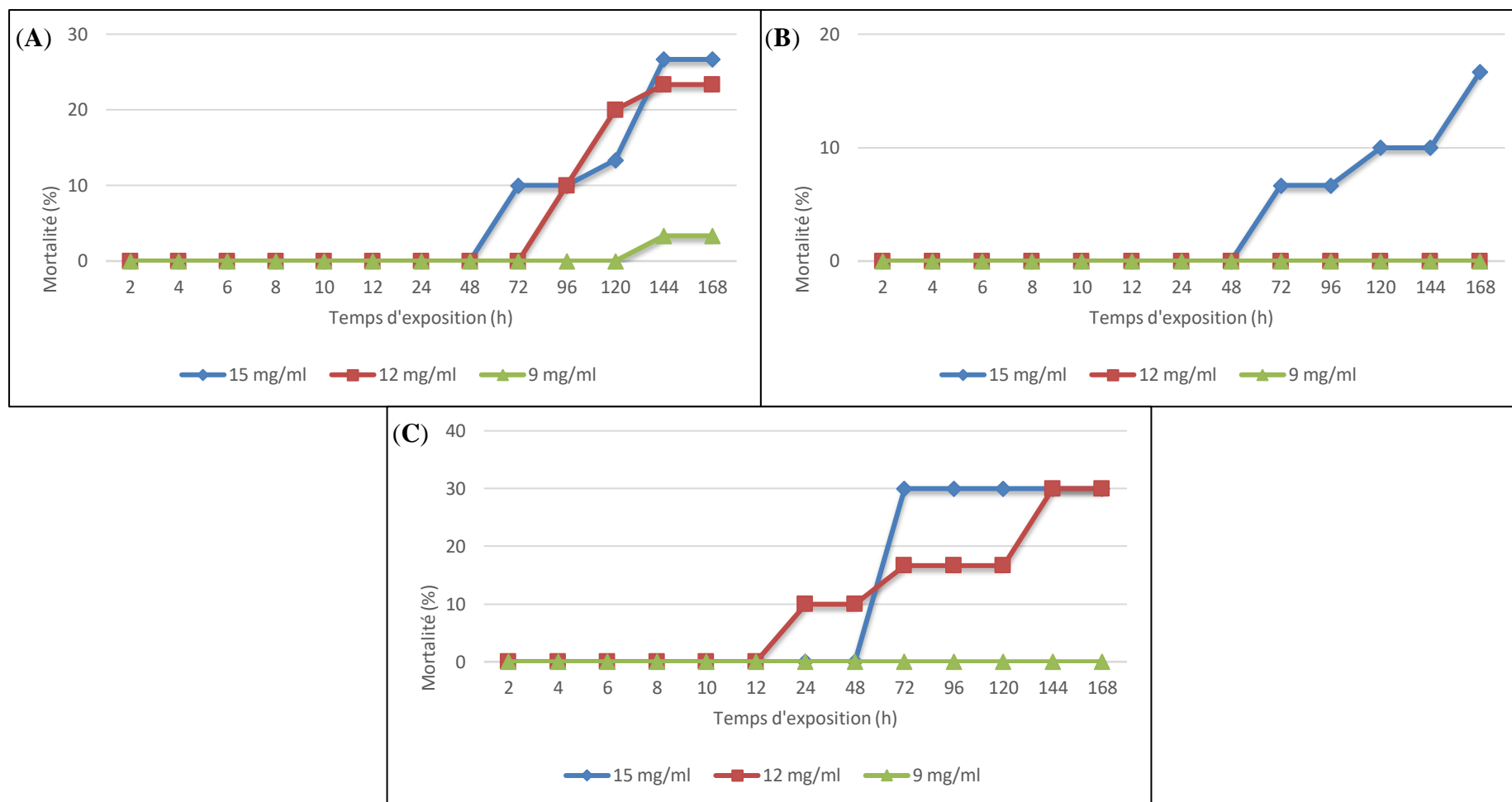


Figure 24 : Cinétique de mortalité des imagos de *Tribolium castaneum* traités par de l'extraits éthanolique de différentes parties de la plante. (A) : Extrait des feuilles ; (B) : Extrait des fleurs ; (C) : Extraits des tiges.

II.6. Efficacité de l'activité

II.6.1. *Bruchus rufimanus*

Les résultats de la régression établis ainsi que leurs paramètres de l'extrait acétonique des feuilles ont été déterminé dans le tableau suivant. Les valeurs de DL₅₀ qui se varient de 9,1669 mg/mL au 11,1433 mg/mL, alors que les valeurs de DL₉₀ se varient de 11,0331 mg/mL au 16,9801 mg/mL.

Tableau 4 : Valeurs de doses létales de l'extrait acétonique des feuilles.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/ml]	DL ₅₀ [mg/ml]	DL ₉₀ [mg/ml]
6 h	$y = 8,544x - 4,8303$	0,3234	8,7941	11,1433	16,9801
12 h	$y = 20,686x - 17,448$	0,7826	8,2875	9,1669	11,0331
24 h	ND	ND	ND	ND	ND
48 h	ND	ND	ND	ND	ND
72 h	ND	ND	ND	ND	ND

Le tableau suivant représente la régression de l'extrait éthanolique de même partie de la plante. Ces résultats montrent que l'effet toxique de cet extrait est appréciable pendant les 6 h avec des valeurs de DL₅₀ de 22,4197 mg/mL et les valeurs de DL₉₀ de 221,9024 mg/mL.

Tableau 5 : Valeurs de doses létales de l'extrait éthanolique des feuilles.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/ml]	DL ₅₀ [mg/ml]	DL ₉₀ [mg/ml]
6 h	$y = 1,354x + 3,0974$	0,0829	5,0795	22,4197	221,9024
12 h	ND	ND	ND	ND	ND
24 h	ND	ND	ND	ND	ND
48 h	ND	ND	ND	ND	ND
72 h	ND	ND	ND	ND	ND

D'après les résultats de la régression établis de l'extrait acétonique des fleurs indiquées dans le tableau suivant, cet extrait présente un effet toxique pendant les 72 h avec des valeurs de DL₅₀ qui se varient de 10,9447 mg/mL au 12,4120 mg/mL. Les valeurs de DL₉₀ se varient de 12,6358 mg/mL au 13,1220 mg/mL.

Tableau 6 : Valeurs de doses létales de l'extrait acétonique des fleurs.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/ml]	DL ₅₀ [mg/ml]	DL ₉₀ [mg/ml]
6 h	$y = 65,544x - 72,857$	0,9944	12,0513	12,4120	13,1220
12 h	$y = 65,615x - 72,878$	0,9894	12,0183	12,3778	13,0854
24 h	$y = 31,798x - 31,794$	0,9424	10,6748	11,3588	12,7556
48 h	$y = 31,798x - 31,794$	0,9424	10,6748	11,3588	12,7556
72 h	$y = 25,788x - 24,512$	0,8455	10,1302	10,9447	12,6358

Les résultats de la régression établis ainsi que leurs paramètres de l'extrait éthanolique des fleurs, ont été regroupés dans le tableau suivant. Il apparaît que l'effet toxique de cet extrait est remarquable pendant les 72 h avec des valeurs de DL₅₀ et de DL₉₀ de l'ordre de 10,4131 mg/mL et 12,4026 mg/mL respectivement.

Tableau 7 : Valeurs de doses létales de l'extrait éthanolique des fleurs.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/ml]	DL ₅₀ [mg/ml]	DL ₉₀ [mg/ml]
6 h	$y = 21,344x - 19,066$	0,7707	9,4725	10,4131	12,4026
12 h	$y = 21,344x - 19,066$	0,7707	9,4725	10,4131	12,4026
24 h	$y = 21,344x - 19,066$	0,7707	9,4725	10,4131	12,4026
48 h	$y = 21,344x - 19,066$	0,7707	9,4725	10,4131	12,4026
72 h	$y = 21,344x - 19,066$	0,7707	9,4725	10,4131	12,4026

La régression de l'extrait tiges acétonique est présente dans le tableau suivant. Ces résultats montrent que l'effet toxique de cet extrait est appréciable pendant les 72 h avec des valeurs de DL₅₀ qui se varient de 9,6065mg/mL au 11,0925 mg/mL. Les valeurs de DL₉₀ se varient de 13,2892 mg/mL au 15,4000 mg/mL.

Tableau 8 : Valeurs de doses létales de l'extrait acétonique des tiges.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/mL]	DL ₅₀ [mg/mL]	DL ₉₀ [mg/mL]
6 h	$y = 11,068x - 7,717$	0,9776	9,2488	11,0925	15,4000
12 h	$y = 25,119x - 22,819$	0,7826	9,0408	9,8082	11,4054
24 h	$y = 23,56x - 20,93$	0,7826	8,8028	9,6065	13,2892
48 h	$y = 23,56x - 20,93$	0,7826	8,8028	9,6065	13,2892
72 h	$y = 23,56x - 20,93$	0,7826	8,8028	9,6065	13,2892

Le tableau suivant présente la régression établis de l'extrait éthanolique des tiges appliquées sur le ravageur *Bruchus rufimanus*. Les résultats montrent que cet extrait présente un effet toxique pendant les 72 h avec des valeurs de DL₅₀ qui se varient de 10,0263 mg/mL au 11,7211 mg/mL. Les valeurs de DL₉₀ se varient de 11,9267 mg/mL au 15,5792 mg/mL.

Tableau 9 : Valeurs de doses létales de l'extrait éthanolique des tiges.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/mL]	DL ₅₀ [mg/mL]	DL ₉₀ [mg/mL]
6 h	$y = 12,682x - 9,8118$	0,8652	10,0254	11,7211	15,5792
12 h	$y = 9,5064x - 5,755$	0,9207	9,4933	10,5314	15,4586
24 h	$y = 21,677x - 19,166$	0,9812	9,1263	10,0263	11,9267
48 h	$y = 21,677x - 19,166$	0,9812	9,1263	10,0263	11,9267
72 h	$y = 21,677x - 19,166$	0,9812	9,1263	10,0263	11,9267

II.6.2. *Tribolium castaneum*

Le tableau suivant présente l'équation de régression de l'extrait feuille acétonique sur les adultes de *Tribolium castaneum*. Ces calculs montrent que cet extrait cause un effet toxique avec des valeurs de DL₅₀ qui se varient de 14,8196 mg/mL au 16,6882 mg/mL. Les valeurs de DL₉₀ se varient de 16,5098 mg/mL au 18,6449 mg/mL.

Tableau 10 : Valeurs de doses létales de l'extrait acétonique des feuilles.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/mL]	DL ₅₀ [mg/mL]	DL ₉₀ [mg/mL]
6 h	ND	ND	ND	ND	ND
12 h	$y = 31,155x - 35,321$	0,7159	15,7315	16,6882	18,6449
24 h	$y = 32,575x - 35,748$	0,7826	13,9905	14,8196	16,5098
48 h	$y = 32,575x - 35,748$	0,7826	13,9905	14,8196	16,5098
72 h	ND	ND	ND	ND	ND

La régression de l'extrait éthanolique feuille sur est présente dans le tableau suivant. Ces résultats montrent que l'effet toxique de cet extrait est moyen toxique avec des valeurs de DL₅₀ de 16,6882 mg/mL. Les valeurs de DL₉₀ de 18,6449 mg/mL.

Tableau 11 : Valeurs de doses létales de l'extrait éthanolique des feuilles.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/mL]	DL ₅₀ [mg/mL]	DL ₉₀ [mg/mL]
6 h	ND	ND	ND	ND	ND
12 h	ND	ND	ND	ND	ND
24 h	ND	ND	ND	ND	ND
48 h	ND	ND	ND	ND	ND
72 h	$y = 31,155x - 35,321$	0,7159	15,7315	16,6882	18,6449

Le tableau suivant présente l'équation de régression de l'extrait acétonique des fleurs sur les adultes de *Tribolium castaneum*. Ces résultats déterminent que la toxicité de l'extrait représentée avec des valeurs de DL₅₀ et de DL₉₀ de l'ordre de 18,1345 mg/mL et de 20,6616 mg/mL respectivement.

Tableau 12 : Valeurs de doses létales de l'extrait acétonique des fleurs.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/mL]	DL ₅₀ [mg/mL]	DL ₉₀ [mg/mL]
6 h	ND	ND	ND	ND	ND
12 h	ND	ND	ND	ND	ND
24 h	ND	ND	ND	ND	ND
48 h	ND	ND	ND	ND	ND
72 h	$y = 26,136x - 29,63$	0,7159	16,9161	18,1345	20,6616

Les résultats de la régression établis ainsi que leurs paramètres de l'extrait éthanolique des fleurs sur le *Tribolium castaneum*, ont été déterminé dans le tableau suivant (**tableau 13**). Il apparaît que l'effet toxique représenté avec une valeur de DL₅₀ de 17,0936 mg/mL, et celle de DL₉₀ avec ordre de 19,2061 mg/mL.

Tableau 13 : Valeurs de doses létales de l'extrait éthanolique des fleurs.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/mL]	DL ₅₀ [mg/mL]	DL ₉₀ [mg/mL]
6 h	ND	ND	ND	ND	ND
12 h	ND	ND	ND	ND	ND
24 h	ND	ND	ND	ND	ND
48 h	ND	ND	ND	ND	ND
72 h	$y = 29,529x - 33,478$	0,7159	16,0648	17,0936	19,2061

La régression de l'extrait acétonique des tiges est représenté dans le tableau suivant. Ces résultats montrent que l'effet toxique de cet extrait est appréciable pendant 72 h avec des valeurs de DL₅₀ qui se varient de 9,5187 mg/mL au 10,6107 mg/mL. Les valeurs de DL₉₀ se varient de 9,5198 mg/mL au 10,6119 mg/mL.

Tableau 14 : Valeurs de doses létales de l'extrait acétonique des tiges.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/mL]	DL ₅₀ [mg/mL]	DL ₉₀ [mg/mL]
6 h	ND	ND	ND	ND	ND
12 h	$y = 31155x - 35321$	0,7159	10,6100	10,6107	10,6119
24 h	$y = 32575x - 35748$	0,7826	9,5181	9,5187	9,5198
48 h	$y = 32575x - 35748$	0,7826	9,5181	9,5187	9,5198
72 h	$y = 32575x - 35748$	0,7826	9,5181	9,5187	9,5198

La régression de l'extrait éthanolique des tiges sur est présente dans le tableau suivant. Ces résultats montrent que l'effet toxique de cet extrait est représenté avec des valeurs de DL₅₀ qui se varient de 10,263 mg/mL au 13,9355 mg/mL. Les valeurs de DL₉₀ se varient de 11,9267 mg/mL au 15,2652 mg/mL.

Tableau 15 : Valeurs de doses létales de l'extrait éthanolique des tiges.

Temps d'exposition	Equation	R ²	DL ₂₅ [mg/mL]	DL ₅₀ [mg/mL]	DL ₉₀ [mg/mL]
6 h	ND	ND	ND	ND	ND
12 h	ND	ND	ND	ND	ND
24 h	$y = 1,4205x - 0,4276$	0,0015	9,1263	10,0263	11,9267
48 h	$y = 1,4205x - 0,4276$	0,0015	9,1263	10,0263	11,9267
72 h	$y = 39,052x - 42,987$	0,8499	13,2757	13,9355	15,2652

L'intérêt de notre travail c'est la lutte biologique contre les deux ravageurs des céréales « *Tribolium castaneum* » et des légumineuses « *Bruchus rufimanus* » en utilisant les extraits de la partie aérienne (feuilles, tiges et fleurs) de la plante « *Ruta graveolens* », avec l'évaluation du pouvoir insecticide des extraits par contact contre les deux ravageurs des denrées alimentaires stockées.

Nos résultats montrent que les extraits éthanoliques, acétoniques de la plante sélectionnée (*Ruta graveolens*) ont un pouvoir insecticide contre les imagos de *Tribolium castaneum* et *Bruchus rufimanus*, atteignant parfois un maximum de 100%. Il a signalé que la mortalité a été directement liée aux concentrations avec une relation positive. La différence significative de la toxicité de différents extraits s'augmente au cours de temps d'exposition, ce qui a été confirmé par (Maifi et Salmi, 2017) et (El banna, 2006).

Plusieurs travaux scientifiques montrent l'activité insecticide des plantes (*Origanum vulgare*, *Olea europaea* L., *Melia azedarach* L.) contre les deux ravageurs *Tribolium castaneum* et *Bruchus rufimanus* (Bounechada et Arab, 2011 ; Hamla et Hamla, 2020; Souilem et Cherifa, 2022).

Les résultats de notre plante choisie *Ruta graveolens* ont déterminé des taux de mortalité totale de différentes concentrations sur les imagos de *Bruchus rufimanus*, ces résultats étaient similaires à celle de Chebili et Chebiri (2021) qu'il a montré que la plante *Mentha apiperita* a une efficacité sur le ravageur *Bruchus rufimanus* arrivé à une mortalité 100%.

Les extraits sont efficaces à l'égard de *T.castaneum*, *B. rufimanus*. Tandis que, l'extrait éthanolique présente le taux de mortalité le plus important que les extraits acétonique pendant les premiers jours après une application par contact. En conséquence, l'efficacité des extraits est meilleurs vis-à-vis les adultes des deux insectes pendant 72h heure au moins.

Nos résultats montrent que l'effet toxique de l'extrait tige éthanolique (par exemple) est appréciable pendant 72 h avec des valeurs de DL₅₀ qui se varient de 9,5187 mg/mL au 10,6107 mg/mL. Les valeurs de DL₉₀ se varient de 9,5198 mg/mL au 10.6119 mg/mL.

Les différences de valeurs de dose létale (DL₅₀, DL₉₀) entre les différents extraits de la partie aérienne (feuilles, tiges et fleurs) de la plante de *Ruta graveolens* peuvent être dues à des différences de composition chimique entre les organes sélectionnés pour cette étude et à la nature des métabolites secondaires de chaque extrait de plante. Plusieurs travaux confirment la contribution des alcaloïdes au pouvoir insecticide des extraits de plantes (**Bencheikh, 2021 ; Souilem et Cherifa, 2022**).

Conclusion et perspectives

Conclusion

Pour assurer une meilleure contribution, tout en préservant au maximum le milieu naturel, de nouvelles méthodes préventives ainsi que de nouveaux produits sont constamment recherchés. Les substances naturelles qui présentent un large spectre d'action en pharmacologie comme anti-paludisme, bactéricides, fongicides, acaricides, etc., peuvent être aussi utilisées comme insecticides alternatifs.

La présente étude vise à évaluer l'efficacité de six extraits de *Ruta graveolens* récolté au niveau de la région de Metlili –Ghardaïa contre deux ravageurs des denrées stockées *Tribolium castaneum* et *Bruchus rufimanus* d'importance de sécurité alimentaire en déterminant les paramètres de létalité. De plus, nous nous sommes intéressés à la détermination par spectrophotométrie les teneurs de certaines molécules bioactives telles que les phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés.

L'extraction par macération à froid de la partie aérienne de *Ruta graveolens* dans deux solvants (éthanol, acétone) a montré des faibles rendements, qui étaient variés entre 1.05 % et 12.40 %. L'extrait le plus rentable était l'extrait acétonique des feuilles, alors que l'extrait éthanolique des tiges a montré le rendement le plus faible.

L'analyse qualitative réalisée par un screening phytochimique a montré la présence de plusieurs familles des composés naturelles, flavonoïdes, des tanins et des coumarines pour la plupart des extraits. Il a en outre révélé des quantités plus faibles des terpénoïdes et des alcaloïdes. Par contre, les tests de recherche des quinones libres et des composés réducteur sont été négatifs.

Les analyses quantitatives des composés phénoliques testés montrent que l'extrait éthanolique des feuilles accuse les teneurs les plus élevées en phénols totaux et en tannins condensés avec des valeurs en respectives de $1,77 \pm 0,018$ mg EAG/g et $0,025 \pm 0,0005$ mg EC/g de matière végétale sèche. Par ailleurs, on a révélé que l'extrait d'acétone des feuilles est le meilleur extracteur des flavonoïdes ($0,40 \pm 0,03$ mg ER/g). Tandis que, l'extrait d'éthanol des fleurs a été enregistré les teneurs les plus faibles en composés phénoliques.

La variation de la teneur des flavonoïdes et des tanins condensés en fonction de la teneur en phénols totaux des différents extraits a révélé l'existence d'une bonne corrélation avec un coefficient de corrélation $R^2= 0,95$, $R^2= 0,84$ respectivement, dont la quantité des flavonoïdes et des tanins condensés est variée proportionnellement avec le contenu en phénols totaux.

L'étude de l'activité insecticide affirmer que les extraits végétaux obtenus à partir la partie aérienne (feuilles, fleurs et tiges) de *Ruta graveolens* ont un effet toxique vis-à-vis les adultes de *Tribolium castaneum* et *Bruchus rufimanus* après l'application des traitements par contact. Le pourcentage de la mortalité observée augmente en fonction de l'augmentation de la concentration utilisée.

Les bio insecticides ou les extraits des plantes et leur développement sont affilié dans le cadre de d'agriculture et le progrès durable. L'Algérie possède une grande diversité des plantes qui sont caractérisés par sa richesse en métabolites secondaires à des caractère thérapeutique et aussi utilisés comme des méthodes alternatives pour la lutte contre les ravageurs alimentaires.

En perspective, il serait souhaitable :

-Etudier l'acte des extraits de *Ruta graveolens* sur certain paramètre biologique et physiologique tell que la reproduction et la durée de cycle biologique des deux ravageurs.

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

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

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

Références bibliographiques

Références bibliographiques

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 del'Algérie).

Aggoun, S., & Akliouat, F. (2018). Activité insecticide de l'huile essentielle de Romarin (*Rosmarinus officinalis L.*) sur la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus Say (Coleoptera: Chrysomelidae)* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Allouni, R. (2018). Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologique de la plante *Ruta montana*. 126P. these de doctorat, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie.

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).

Arab, R. (2018). Effet insecticide des plantes *Melia azedarach L.* et *Peganum harmala L.* sur l'insecte des céréales stockées *Tribolium castaneum* herbst: Coleoptera, tenebrionidae (Doctoral dissertation).

Arnaout Ou Gharnaout, B. & Chirouf, S., 2014. (2014). Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de deux plantes médicinales (*Beta vulgaris* « var. cicla » et *Ruta chalepensis*).

Attia, E. Z., Abd El-Baky, R. M., Desoukey, S. Y., Mohamed, M. A. E. H., 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.

Baba Ouyoub, F. (2017). Evaluation des activités biologiques de quelques extraits de *Zizyphus lotus* de la région de Ghardaïa. Mémoire de master. Université de Ghardaïa, Algérie. pp 46.

Bahorun, T. (1997). Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius : 83-94.

Basset, C., et Boumaagouda, R. (2020). Activité biologique des extraits hydroéthanoliques combinés de *Origanum vulgare* et *Ruta graveolens* sur un ravageur. Mémoire Master. Université laarbi tebessi tebessa

Beddou, F. (2015). Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. & Dur. Thèse Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Algérie. pp 143

Bencheikh, A. Effet de l'inhalation des huiles essentielles des deux plantes (Rutacée et Lamiacée) sur *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae) (Doctoral dissertation, UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA).

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.

Birlouez, E. (2022). Petite et grande histoire des céréales et légumes secs. Quae.

Bitat, R., & Bounaas, J.(2020). *Erodium atlanticum* Extraction et étude théorique.

Boizot N, Charpentier J. P., (2006).- Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA. 79-82.

Bouabida, H., & Dris, D. (2020). Effect of rue (*Ruta graveolens*) essential oil on mortality, development, biochemical and biomarkers of *Culiseta longiareolata*. *South African Journal of Botany*, 133, 139-143.

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.

Bourgou, S., Beji, R. S., Medini, F., & Ksouri, R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of New Sciences*, 28.

Caballero-Gallardo, K., Pino-Benitez, N., Pajaro-Castro, N., Stashenko, E., & Olivero-Verbel, J. (2014). Plants cultivated in Choco, Colombia, as source of repellents against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17(4), 753-759.

Camara, A., (2009). Lutte contre *Sitophilu soryzae* L. (Coleoptera:Curculionidae) et *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) dans les stocks de riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en Basse-Guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales. Thèse de doctorat : sciences de l'environnement. Montréal : Université du Québec à Montréal, 154p.

Campbell, J. F., Athanassiou, C. G., Hagstrum, D. W., & Zhu, K. Y. (2022). *Tribolium castaneum*: a model insect for fundamental and applied research. *Annual Review of Entomology*, 67, 347-365.

Chaibeddra, Z., (2014). Etude comparative des substances bioactives chez *ruta montana* L. et *ruta tuberculata* forsk. Magister. Université El Arbi Ben M'Hidi-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 Mouloud Mammeri).

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.

Damerджи, A., & Bouklikha, 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.

Dave A., Colin J., Demianyk P.G., Fields D.S., Jayas J.T.M., William E.M., Blaine T.,Noel D.G.W., (2001). Protection des céréales, des oléagineux et des légumineuses à grain entreposés à la ferme contre les insectes, les acariens et les moisissures. (éd. rev.) (Manitoba) Canada. 59 p.

Delobel, A., Tran, M., (1993). Coléoptères de denrées alimentaire entreposées. Paris: Ed. Orstom/CTA .424p.

Dia, C. A. K. M., Sarr, A. G. R. J., Kafom, A., Diome, T., Ngom, D., Thiaw, C., ... & Sembene, M. (2017). Identification morphométrique des populations de *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera, Tenebrionidae) inféodées à trois céréales à Widou Thiengoli. *Journal of Applied Biosciences*, 119, 11929-11942.

Diwan, R., Shinde, A., & Malpathak, N. (2012). Phytochemical composition and antioxidant potential of *Ruta graveolens* L. in vitro culture lines. *Journal of Botany*, 2012.

Djameleddine, L. (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.

Djemai Zoughlache, S., (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L. Magister thesis, Université de Batna 2.

Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plant's extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.*, 97: 654-660.

Dohou N., (2004). - Approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de thymeleae lythroïdes, thèse de doctorat, Maroc, 59 p.

Evans. W.C., (2006). Pharmacognosy, V.C Saunders, 585 pp. Extraction et comparaison de l'activité bactéricide et insceticide d'huile essentielle de *ruta montana*

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M.et Abdelly,C. (2008).Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities .C. R. Biologies. 331: 372 -379.

Faye, P. G., Ndiaye, E. M., Ndiaye, B., Cisse, O. I. K., Ayessou, N. C., & Cisse, M. (2022). Effet de la macération, de l'infusion et la décoction sur l'extraction aqueuse des polyphénols des feuilles séchées de *Combretum Micranthum*. *Afrique SCIENCE*, 21(3), 114-126.

Gali, L., (2014). Activités antioxydants et antimicrobienne des extraits de deux variétés de *Ruta chalepensis* L. 70 pages. mémoire de magistère, Département de la Biologie Physico-chimique Laboratoire de la Biotechnologie Végétale et Ethnobotanique, Université Abderrahmane Mira, Bejaia, Algérie.

Garrabos, P., Bouttet, D., & Hémet, A. (2007). Contre la bruche, intervenir au bon moment. *Perspectives Agricoles*, 330, 61-63.

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., Habero, O. et 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. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 15(1).

Habera, F., & Laoudi, K. (2019). Screening phyto-chimique et étude des activités biologiques : anti-oxydante, antibactérienne et insecticide des polyphénols et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* (armoïse blanche), contribution à la caractérisation d'extrait aqueux par RP-HPLC (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Haddouchi, F., & Benmansour, A. (2008). Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire*, 3(8).

Hadj Salem, J. (2009). Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique (Doctoral dissertation, Vandoeuvre-les-Nancy, INPL).

Hamdani Fatima Zahra, 2011. Master en Génie des procédés organiques

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) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

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)

Huang, D., Ou B., Prior, R. L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural&Food Chemistry*. 53:1841-1856.

Souilem, I., & Cherifa, M. L. (2022). Étude de l'activité insecticide des extraits des feuilles de l'olivier de la région de Ghardaïa (Doctoral dissertation, université de Ghardaia).

Kaanin, G. & Harfi, L. (2012). Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de l'huile du noyau de datte : essai d'incorporation dans une margarine de table, Mémoire d'ingénieur d'état, Université Abderrahmane MIRA de Béjaïa-Alger.

Kassem, N., (2014). Activité biologique des poudres et des huiles essentielles de deux plantes aromatiques (*Pseudocytisus integrifolius* Salib et *Nepeta nepetella* L.) sur les ravageurs du blé et des légumes secs. Thèse de doctorat en biologie, option biologie animale, Université de Tlemcen.

Ksouri R., Falleh H., Megdiche W., Trabelsi N., Hamdi B. & Chaieb K., (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L and related polyphenolic constituents. *Food Chem Toxicol*; 47:2083–91.

Lagnika, L. (2005). "Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises" Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, page : 249

Lamaison, C., Freytet P. J., & Carnat, A. (1991). "Medicinal Laminaceae with Antioxidant Properties, a Potential Source of Rosmarinic Acid," *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, Vol. 66, No. 7, pp. 185-188.

Lassoued, F. (2019). Effet de l'extrait méthanolique de *Ruta graveolens* sur les biomarqueurs à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).

Lee, A. K., Sze, C. C., Kim, E. R., & Suzuki, Y. (2013). Developmental coupling of larval and adult stages in a complex life cycle: insights from limb regeneration in the flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Evodevo*, 4(1), 1-17.

Lee, Y.J., Erdos, G., Hou, Z., Kim, S.H., Kim, J.H., Cho, J.M., & Corry, P.M. (1994) Mechanism of quercetin-induced suppression and delay of heat shock gene expression and thermotolerance development in HT-29 cells. *Molecular and cellular biochemistry*. 137: 141-154

Leroi, B., Chararas, C., & Chipoulet, J. M. (1984). Etude des activités osidasiques du tube digestif des adultes et des larves de la bruche du haricot, *Acanthoscelides obtectus*. *Entomologia experimentalis et applicata*, 35(3), 269-273.

Li, H., Cheng, K.W., Wong C., Fan K.W., Chen, F. and Jiang, Y. (2007) Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102 ; 771-776.

Macheix j, Fleuriet A, jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux (un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques).Edition techniques et documentation Lavoisier.

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).

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 dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).

Mecheri Fatiha, A. N. (2017). Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens* sur la croissance des quelques microorganismes pathogènes.universite mohamed bougara de boumerdes faculte des scienses.29.

Merouane, A., Noui, A., Ali, K. N. B., & Saadi, A. (2014). Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International journal of biological and chemical sciences*, 8(4), 1865-1870.

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 (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Ndomo, A. F., Tapondjou, A. L., Tendonkeng, F., & Tchouanguép, F. M. (2009). Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say)(Coleoptera; Bruchidae). *Tropicultura*, 27(3), 137-143.

Nezam, A. & Ali, L. (1982). Study on the pigment contents of some varieties of date. *J. Res. for. Agric. Water Res. (Iraq)*, 2: 1.

Nour el houda Cherif, H. A. (2015). Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *ruta chalepensis* de la région de bordj bou arreridj (Doctoral dissertation).

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), 239-52.

Perkin, L., Elpidina, E. N., & Oppert, B. (2016). Expression patterns of cysteine peptidase genes across the *Tribolium castaneum* life cycle provide clues to biological function. *PeerJ*, 4, e1581.

Quilici, S., Vercambre, B., & Bonnemort, C. (1992). Les insectes ravageurs.

Raghav, S. K., Gupta, B., Agrawal, C., Goswami, K., & Das, H. R. (2006). Anti-inflammatory effect of *Ruta graveolens* L. in murine macrophage cells. *Journal of ethnopharmacology*, 104(1-2), 234-239.

Rebiai, G. (2017). Etude de l'activité larvicide d'une plante *Ruta graveolens* à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).

Rio, C. (2017). Les légumes secs, aliments de choix à valoriser. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 52(2), 71-77.

Benhissen, S., Habbachi, W., Rebbas, K., & Masna, F., (2019). Bioactivity of foliar extracts of *Ruta Chalepensis* L. (Rutaceae) on larval mortality of *Culiseta Longiareolata* (Diptera, Culicidae). *Lebanese Science Journal*. 20(1): 1-9.

Samah, M., & Chourouk, T. (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).

Santos R. D., Shetty K., Lourenco A. & Miglioranza L., (2012). Phenolic compound and total antioxidant activity determination in rosemary and oreganoextract. DOI: 10.5433/1679- 0359.2012v33, N2, p655.

Singleton, V. L. & Rossi J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.* 16: 144-158

Sun B, Ricardo-da-Silva J. M. Spranger I., 1998.- Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.* 46 (10): 4267-4274.

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 leucotrichus* et *Anvillea radiata*. Thèse de Magister. Université de Kasdi Merbah-Ouargla.

Trease, E. & Evans, W. C. (1987). *Pharmacognosie*, Billiaire Tindall. 13^e édition. London: 61-62.

Wang, L., Wang, S., Li, Y., Paradesi, M. S., & Brown, S. J. (2007). Beetle Base: the model organism database for *Tribolium castaneum*. *Nucleic acids research*, 35(suppl_1), D476-D479.