

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET
DE LA VIE

N°:



DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : BIOTECHNOLOGIE

OPTION : BIOTECHNOLOGIE VEGETAL

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par :

HADJADJ Nasrallah

SAOUDI Imen

HAMOUMA Abdenour

Intitulé

**Contribution à l'étude phytochimique et l'activité biologique
D'une Rutaceae**

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. Bendif Hamdi	MCA	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Président
Mme. Khalfa Hanane	MAA	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Rapporteur
Dr. Adoui Nabila	MCB	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examinatrice

Année Universitaire : 2022/2023

DEDICACE

Je remercie Dieu Tout-Puissant, puis ma mère bien-aimée Sakhrawi Yamina, mon
cher père Hamid et mes sœurs Sabrin et Khadidja

Des remerciements particuliers vont à Madame Khalfa Hanane pour tout ce qu'elle
nous a apporté tout au long de notre carrière universitaire, ainsi qu'au chef du
département, Bounar Rabeh, et à Kamal Saghiri, le chef des laboratoires, pour tous
les efforts déployés et partenaires dans ce travail

Islam.

DEDICACE

Louange à ALLAH, le miséricordieux, qui m'a inspiré et comblé de bien faits

Je lui rends grâce Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Toute ma famille, mon père laamri et ma mère Saliha

Mes frères et sœurs, ma cousin Mourad et mon oncle maternels Fateh.

Pour mon partenaire dans ce travail.

Et pour tous les amis qui me soutiennent.

Abdenour.

DEDICACE

Louange à ALLAH, le miséricordieux, qui m'a inspiré et comblé de bien faits

Je lui rends grâce Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Toute ma famille, mon père et ma mère et je les remercie pour leurs précieux conseils, leur soutien moral et leurs encouragements.

Pour mes frères et sœurs, en particulier ma petite sœur Souhila. Pour mon partenaire dans ce travail.

Et pour tous les amis qui me soutiennent

Imane.

REMERCIEMENTS

Avant tout, Nous remercions ALLAH Tout-Puissant qui nous a donné la santé, la Passion, la force et la volonté d'accomplir cette humble œuvre.

Nous tenons à remercier très chaleureusement notre Encadreur Madame: **khalfa Hanane** pour avoir encadré et diriger ce travail avec une grande rigoureuse scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous accordé et pour le suivi régulière, pour l'élaboration de ce travail.

Nous adressons nos remerciements aux membres du jury à Monsieur **BENDiF. H**"
Mme "**Adoui.N**" pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions aussi les techniciens de laboratoire Pour nous avoir
Soutenir pendant la période de formation.

Nous remercions également tous les professeurs et directeurs du SNV, Collègues pour le département de biologie, le pôle universitaire, Mohamed Boudiaf, à M'sila, sans exception.

Toute personne qui a participé de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Résumé	8
Liste des abréviations.....	9
Liste des figures	Erreur ! Signet non défini.
Listes des tableaux	i
Introduction Générale.....	1
Chapitre (I): Présentation de l'espèce <i>Ruta montana</i> L.....	2
I.1. Généralités	2
I.2. Famille Rutaceae	2
I.3. Genre Ruta	2
I.4. Espèce <i>Ruta montana</i> L.....	3
I.4.1. Description botanique	3
I.4.2. Classification Systématique	4
I.4.3. Distributions géographique	5
I.4.4. Propriétés pharmacologiques	5
I.4.5. Utilisation de la plante	6
I.4.6. Toxicité de la plante	7
I.4.7. Composition chimiques	8
I.4.8. Activités biologiques <i>Ruta montana</i> L.....	9
Chapitre (II): Matériels et méthodes	15
II.1. Matériel végétal	15
II.2. Récolte, Séchage et Broyage	16
II.3. Méthodes d'extraction	16
II.3.1. Macération	16
II.3.2. Extraction par Soxhlet:.....	17
II.4. Préparation des Extraits	18
II.4.1. Préparation de l'Extraits bruts par l'extraction type solide-liquide (ESL)	18

II.5. Criblage phytochimique	18
❖ Les tests du criblage phytochimique sont mentionnés comme suivant	19
Les tests biologiques par des réactifs	19
Le but des tests des Réactif	20
II.5.1. Rendements des extraits préparés	20
II.6. Analyse par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	20
II.6.1. L'extrait de méthanol	21
II.6.2. L'extrait d'éther de pétrole	22
II.7. Etude de l'activité biologique	22
II.7.1. Test de l'activité anti-bactérienne	22
II.8. Evaluation de l'activité Anti-moisissures.....	25
II.9. Evaluation de la cytotoxicité:	27
II.9.1. Effet répulsif sur l'insecte des céréales stockées <i>Tribolium castaneum</i>	27
Chapitre (III): Les Resultats et Discussion	15
III. Les résultats	15
III.1. Les résultats des tests phytochimiques.....	15
filtra (b):	16
III.2. Analyse quantitative d'extrait de la plante <i>Ruta montana</i> L. par CCM.....	17
III.1. Activités biologique de la plante :	21
III.1.1. Le potentiel antibactérien des extraits de <i>Ruta montana</i> L.	22
III.2. l'Activité anti moisissures sur sauce tomate	24
III.3. Effet répulsif sur l'insecte des céréales stockées <i>Tribolium castaneum</i>	26
Conclusion	30
Références bibliographiques	31
Annexes	31

Résumé :

Notre travail porte sur l'étude phytochimique et biologique d'extrait brut (EBr) de la partie aérienne de *Ruta montana* L. de la région de M'sila. La plante *Ruta montana* est une plante aromatique, appartenant à la famille des Rutacées, appelée communément par la population locale « Fidjel ». Elle est spontanée, largement répandue en Afrique du nord, particulièrement en Algérie. Elle est encore utilisée dans la médecine traditionnelle comme anti-inflammatoire, antispasmodique et pour le traitement des pathologies cutanées. La partie phytochimique a pour principal objectif la caractérisation de différentes classes de métabolites secondaires. Le criblage phytochimique des extraits des parties aériennes tige, feuille a révélé une présence remarquable de métabolites secondaires : des flavonoïdes, des coumarines, des tanins et alcaloïdes et composés phénoliques et glucides et Sucre de réducteur. La réalisation de cette recherche a nécessité l'utilisation de méthodes et de techniques d'extraction solide-liquide (ESL) et macération, soxhlet et criblage phytochimique différentes des test de criblage phytochimique, chromatographie par CCM, on observe une grande distance et différents couleurs entre les spots

Mots clés: *Ruta montana* L., activité anti_moissusure ,activité biologique , Dosage, activité antibactérienne.

ملخص :

يتناول عملنا دراسة مركبات النباتات والتحليل البيولوجي للمستخلصات الخام (EBr) من الجزء الهوائي لنبات الفيجل (*Ruta montana*) في منطقة مسيلة.

الفيجل هو نبات عطري ينتمي إلى عائلة الرتوش، ويطلق عليه في المنطقة المحلية اسم "Fidjel". وهو منتشر بشكل واسع في شمال أفريقيا، وخاصة في الجزائر. ولا يزال يستخدم في الطب الشعبي كمضاد للالتهابات ومضاد للتشنجات وعلاج للأمراض الجلدية. يهدف الجزء الفيتوكيميائي من الدراسة إلى توضيح مختلف فئات المركبات الثانوية المتولدة. وأظهر بحث الجزء الفيتوكيميائي لمستخلصات الأجزاء الهوائية (الساق والأوراق) وجود مستويات عالية من المركبات الثانوية، مثل الفلافونويدات والكومارينات والتانينات والمركبات القلوية والفينولات والسكريات المختزلة. تتطلب هذه الدراسة استخدام أساليب وتقنيات استخراج المواد الصلبة-السائلة (ESL) والنقع والسوكسليت، بالإضافة إلى فحص مختلف من الجزء الفيتوكيميائي والكروماتوغرافيا بالطبقة الرقيقة (ccm).

، النشاط المضاد للحبوب ، النشاط البيولوجي ، الجرعة ، النشاط المضاد للبكتيريا ، *Ruta montana* L. :الكلمات الأساسية

Liste des abréviations

EBF: Extrait brut de feuilles.

EBF I: Extrait brut de fleurs.

EBT: Extrait brut de tiges.

ATCC: American Type Culture Collection.

MAE : Extraction assistée par micro-onde

CCM : Chromatographie sur couche mince

R% : rendement en %

M_{MV} : masse de la matière végétale séchée et laminé en (g)

M_{EX} : masse de l'extrait obtenu après évaporation en (g)

UV : Ultraviolet

R_f : rendement finale

PR : Le pourcentage de répulsion

T : Tribolium

DMSO : diméthylsulfoxyde

MH : Muller-Hinton

E.Coli : *Escherichia. Coli*

D : diamètre de la zone d'inhibition

S : Sensibilité

I (%) : Pourcentage d'inhibition

ATCC: American Type Culture Collection.

SAR : Structure Activity Relationship

Liste des figures :

Figure 01: <i>Ruta montana</i> (Choucha <i>et al.</i> , 2017).....	3
Figure 2: La flore de <i>Ruta montana</i> (Allouni, 2018	4
Figure 3: Plan général de la partie expérimentale	15
Figure 4: les Trois parties (Tiges, Feuilles, fleurs) de la plante <i>Ruta montana</i>	16
Figure 5: Schéma de la préparation des extraits de différent parties de <i>Ruta montana</i>	17
Figure 6: Extraction de solvant par Soxhlet.....	18
Figure 7: test de plaque CCM de la plante	22
Figure 8: test de l'activité anti-moisissures sur sauce tomate	26
Figure 9: test de répulsion des insectes céréale	28
Figure 10: Les résultants d'analyse par CCM d'extraits d'éthanol de <i>Ruta montana</i> L.....	20
Figure 11: Les résultants d'analyse par CCM d'extraits d'éther de pétrole de <i>Ruta montana</i> L	21
Figure 12: Effet antibactérien de différents extraits de <i>Ruta montana</i> L.....	24
Figure 13: Résultat de l'activité atni-moisissures de sauce tomate.....	25
Figure 14: Le taux de répulsion de l'extrait de tige de <i>Routa montana</i> L+Ethanol.....	26
Figure 15: Le taux de répulsion de l'extrait des fleurs de <i>Routa montana</i> L.+Ethanol	26
Figure 16: Le taux de répulsion de l'extrait des feuilles de <i>Ruta montana</i> L. +Ethanol.....	27
Figure 17: Le taux de répulsion de l'extrait de tige de <i>Ruta montana</i> L.+Ether de pétrol.....	28
Figure 18: Le taux de répulsion de l'extrait de fleurs de <i>Routa montana</i> L.+Ether de pétrole..	28
Figure 19: Le taux de répulsion de l'extrait de feuilles de <i>Routa montana</i> L.+Ether de pétrole .	29

Liste des tableaux :

Tableau 1: Les systèmes utilisés pour l'extrait méthanol.	21
Tableau 2: Les systèmes utilisés pour l'extrait éther de pétrole	22
Tableau 3: Les souches bactériennes sélectionnées:.....	23
Tableau 04 : L'emplacement des solutions dans la microplaque pour le teste d'activité Anti-moisissures. (Akroum et Rouibah, 2020)	26
Tableau 5: Pourcentage de répulsion selon le classement de McDonald et al., (1970).	28
Tableau 6: Résultats des tests phytochimiques de la partie aérienne de <i>Ruta montana</i> L. de filtra (a).....	15
Tableau 7: Résultats des tests phytochimiques de la partie aérienne de <i>Ruta montana</i> L.	16
Tableau 8: Présenter la migration des spots dans l'éthanol.	17
Tableau 9: Présenter la migration des spots dans l'éther de pétrol.	20
Tableau 10: Moyenne des diamètres des zones d'inhibitions des différents extraits de <i>Ruta</i>	22
Tableau 11: le taux d'infection des échantillons de la tomate	25

Introduction

Introduction Générale:

Le mémoire de fin d'études intitulé "Caractérisation phytochimique et biologique de *Ruta montana*" se concentre sur l'étude d'une plante médicinale appelée *Ruta montana* L.. Cette plante, également connue sous le nom de Rue des montagnes, est utilisée depuis des siècles en médecine traditionnelle pour traiter diverses affections telles que les douleurs articulaires, les maux de tête et les affections cutanées.

Le mémoire débutera par une revue de la littérature sur *Ruta montana*, ses utilisations traditionnelles et les recherches antérieures sur ses composés phytochimiques et leur activité biologique. Ensuite, les méthodes de collecte et de préparation des échantillons de plante seront décrites, suivies des techniques de laboratoire utilisées pour caractériser les composés phytochimiques.

Les résultats obtenus à partir de ces analyses seront ensuite présentés et discutés, en mettant l'accent sur les composés phytochimiques les plus abondants et leur activité biologique potentielle. Enfin, les implications de ces résultats pour la médecine traditionnelle et la recherche pharmaceutique seront discutées, ainsi que les perspectives pour de futures études sur *Ruta montana* L.

Ce mémoire de fin d'études vise à approfondir notre compréhension des composés phytochimiques et de l'activité biologique de *Ruta montana*, en fournissant des informations importantes pour la médecine traditionnelle et la recherche pharmaceutique.

L'objectif principal de cette étude est de caractériser les composés phytochimiques présents dans *Ruta montana* L. et d'évaluer leur activité biologique. Pour ce faire, plusieurs techniques de laboratoire seront utilisées, notamment la chromatographie sur couche mince, l'activité bactérienne, l'activité anti-moisissures, l'activité de la toxicité et les tests biologiques in vitro.

Ainsi, cette étude traitera des points suivants :

Après une introduction générale, une partie bibliographique qui représente le premier chapitre porte l'espèce végétale utilisées : *Ruta montana* L..

Le deuxième chapitre porte une partie expérimentale qui étudie l'étude phytochimique et l'activité biologique d'une Rutaceae.

Le troisième chapitre relatif aux résultats qui sont consigné avec une discussion.

Enfin, nous terminons la présente étude par une conclusion générale et annexe

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I. Présentation de l'espèce *Ruta montana* L.

I.1. Généralités

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et la survie de l'humanité. Ils sont utilisés pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine.

En effet, elles sont utilisées de différentes manières, consommé, extrait et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur (**Delattre, 2011**). Nous avons décidé de parler d'une plante plutôt connue qu'on trouve dans nos sols «*Ruta montana*».

I.2. Famille Rutaceae

La famille des *Rutaceae* contient environ de 1500 espèces regroupées en environ 150 genres. On le trouve presque dans tous les pays du monde, avec une forte concentration dans la zone intertropicale et dans les régions tempérées de l'hémisphère Sud (Australie, Afrique du Sud) (**Benkiki, 2006**). Celles-ci sont regroupées en 155 genres, Pratiquement 25 genres et plus de 80 espèces de cette famille ont été jusqu'ici rapportés d'Inde (**Sharma, 1993**).

I.3. Genre *Ruta*

Le nom "*Ruta*" vient du mot grec "*reuo*", qui signifie libérer, montrant sa réputation comme un libérateur des maladies (**Magoura et al., 2020**) Rue ou Herbe de Grâce, est de loin la plus connue de ce genre d'une 60 d'espèces originaires de la Méditerranée et de l'ouest de l'Asie et caractérise la famille des rue Rutaceae (**Al-Sagair, 2004**) les plante de *Ruta* sont d'arbustes, de sous-arbrisseaux, et de vivaces herbacées à souche ligneuse, caducs ou persistants, vivants dans les lieux secs et rocaillieux, de la région méditerranéenne, et du nord-est de l'Afrique jusqu'au sud-ouest de l'Asie (**Attou, 2011**).

En Algérie, il existe 4 espèces qui se diffèrent entre elles par l'allure des feuilles, la grappe fructifère, la bractée et les sépales :

- *Ruta Montana*
- *Ruta chalepensis*
- *Ruta Tuberculata*
- *Ruta Latifolia*(**brassard ,1981**).

Les espèces diffèrent entre elles par l'allure des feuilles, de la grappe fructifère, des bractées et des sépales (**Belazizia&Askri, 2019**).

I.4. Espèces *Ruta montana* :

La rue appelée populairement « fidjel » est une plante annuelle de la famille des rutacées, utilisée depuis longtemps pour des usages thérapeutiques et culinaires. C'est une plante aromatique de la région méditerranéenne (**Benziane, 2007**) caractérisée par des poches sécrétrices qui libèrent une huile essentielle (**Kara, 2018**).

C'est la rue des montagnes (synonymes : *Ruta legitima* Jacq ; *Ruta tenuifolia* Gouan) ou bonne rue appelée vulgairement en Algérie : fidjlet el-djbel الجبل فيجلة (à une odeur fétide très intense, se trouve sur les coteaux arides et dans les endroits secs et pierreux de la région méditerranéenne (**Attou, 2011**).



Figure 01: *Ruta montana* (Choucha et al., 2017)

I.4.1. Description botanique :

Ruta montana connu sous le nom vernaculaire « Fidjel » appartient à la famille des Rutacées (**Claisse, 1993**). Le fidjel est une plante pérennante, vivace, glauque, à tiges dressées, à feuilles très divisées, alternes, couvertes de petites ponctuations qui sont des pochettes à essence. Les fleurs sont jaunes verdâtres, comportant 4 sépales, 4 pétales concaves et 8 étamines (**Baba Aissa, 1999**).

✚ L'appareil végétatif :

- **Racines** : Blanches, fibreuses et à nombreuses radicules (**Thielens, 1862**).
- **Tiges** : Droites, cylindriques, très rameuses, glabres et glauques de 2 à 5 pieds de hauteurs.
- **Feuilles** : Pétiolées, alternes, éparses, composées, d'un vert glauque, à folioles ovales obtuses, épaisses, légèrement dentées sur les bords ou entières.

✚ L'appareil reproducteur :

- **Fleurs** : Jaunes, à cinq pétales concaves qui renferment dix étamines bien plus longues que les pétales et terminées par des anthères presque ronds, pédonculées en corymbe terminal (**Miller, 1785, Villars, 1789**).
- **Fruits** : Des capsules globuleuses à lobes arrondies et pédoncule court (4 mm) et se terminent par 4 ou 5 lobes arrondis, apparents ; libérant à maturité de petites graines noirâtres (**Hammiche, 2013**).
- **Semences** : Réniformes, à embryon renfermé dans un albumen charnu (**Thielens, 1862**). -Odeur nauséabonde et saveur chaude et amère.



Figure 2:La flore de *Ruta montana* (**Allouni, 2018**)

I.4.2. Classification Systématique:

Voilà la systématique de la première plante médicinale *Ruta montana* L. Selon (**Takhtajan, 2009**).

- **Règne** : *Plantae*.
- **Sous règne** : *Tracheobionta*.
- **Super division** : *Spermatophyta*.
- **Division** : *Magnoliophyta*.
- **Classe** : *Magnoliopsida*.
- **Ordre** : *Sapindales*.
- **Famille** : *Rutaceae*.
- **Genre** : *Ruta*.
- **Espèce** : *Ruta montana* L.

I.4.3. Distributions géographique

La rue est une plante originaire du Sud Est de l'Europe. Elle est largement répandue dans le monde entier à cause de ses propriétés ornementales et médicinales, elle est souvent cultivée dans les jardins pour ses qualités décoratives en variété de couleur (**Bezanger et al, 1986**). Elle a été introduite en Grande Bretagne, en Espagne, un peu moins en Italie et en Yougoslavie. L'Espagne est le grand producteur d'huiles essentielles de la Rue. Elle a été introduit en médecine chinoise, il y a près de deux siècles et est devenue très connue par la population (**Rubin, 1988**).

La Rue pousse spontanément dans les rochers, les lieux arides, vieux murs, collines sèches et elle est abondante dans les terrains calcaires et bien exposés au soleil dans les régions méditerranéennes (**Doerper, 2008**), cependant les rues sauvages croissent dans les pays chauds aux lieux rudes, pierreux et montagneux (**Lemery, 1732**).

En Algérie La Rue pousse spontanément dans les roches les lieux arides vieux murs collines sèches et elle est abondante dans les terrines calcaires dans régions méditerranéennes. Elle est présente dans les rocailles pâturages et pelouses du tell communément retrouvées dans les zones montagneuses de l'intérieur jusqu'à l'Atlas saharien (**Quezel et al., 1963**).

I.4.4. Propriétés pharmacologiques :

La plante a des vertus emménagogue, antispasmodique, sudorifique, hypoglycémique, antirhumatismal, antihelminthique, antiépileptique, antipyrétique.

La rutine connue pour son effet veinotonique et protecteur sur les capillaires (réduction de la fragilité capillaire), et ses propriétés antioxydants (**Stuart, 2005**).

La méthyl-cétone contenue dans la plante provoque une congestion pelvienne et des contractions utérines conduisant aux hémorragies utérines et à l'avortement en cas de grossesse, C'est un abortif puissant (**Claisse, 1993**).

Les feuilles sont irritantes et vésicantes, propriétés dues à l'huile essentielle et en particulier à la méthylnonylcétone qui est un rubéfiant (**Lahsissene et al., 2009**).

Rutamontana renferme un ou plusieurs principes actifs antimycobactériens (**Sqalliet et al., 2007**). Possédant aussi une activité antifongique, et insecticide (**Stuart, 2005**).

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

I.4.5. Utilisation de la plante :

I.4.5.1. Usage culinaire :

Les feuilles fraîches ou séchées sont utilisées en petites quantités (très amères) dans les sauces, œufs brouillés ou omelettes, fromages blancs et beurrés aux herbes. Très prisée des Anglo-saxons, *R. montana* L. sert aussi à aromatiser des boissons alcoolisées, la bière mais aussi le vin blanc dont elle rehausse le bouquet. Ainsi les feuilles fraîches peuvent être utilisées pour assaisonner les sauces et les plats de viande mais utilisées modérément à cause du goût amer et des risques de toxicité (Eberhard, 2005).

I.4.5.2. Usage en médecine traditionnelle

R. montana L. est une plante à usage thérapeutique par excellence, les parties les plus utilisées sont les feuilles et les racines. Cette plante est utilisée sous différentes préparations à savoir la décoction, l'infusion et la macération; de plus, ses huiles essentielles ont aussi des vertus médicinales. Une pincée pendant une semaine est la posologie la plus recommandée, pour éviter d'éventuelles intoxications (Daoudi *et al.*, 2015).

La rue a deux types d'effets sur la peau. D'une part, la rue, comme d'autres rutacées et ombellifères, a des produits chimiques qui peuvent causer la dermatite lorsqu'ils sont exposés à la lumière du soleil. D'autre part, il est connu depuis longtemps.

Les piqûres de serpent, les piqûres d'insectes et les réactions allergiques aux plantes sont toutes possibles si le jus de feuille ou la sève de la rue agit comme antidote. Elle a le potentiel de traiter le psoriasis, l'eczéma et d'autres affections cutanées. (Duval, 1992).

La rue est antispasmodique. Les Arabes en mâchant les feuilles, ce qui est sensé à calmer tout trouble d'origine nerveuse. Les feuilles fraîches écrasées en application externe soulagent la sciatique. Traditionnellement, la rue était utilisée dans les cas d'épilepsie. Les victimes de la maladie portaient des feuilles de rue au cou pour prévenir les crises (Ait, 2006).

Circulation sanguine : une des propriétés reconnues de la rue est sa capacité pour abaisser la pression artérielle, ce qui en fait une plante utile pour le traitement des vaisseaux sanguins. La rue accroît également le flot sanguin du système gastro intestinal, protégé dans le cas de coliques ou troubles digestifs (Ait, 2006).

Sens : les anciens reconnaissaient les vertus de la rue dans les cas de trouble de la vue. En homéopathie, le jus extrait des plantes fraîches est utilisé pour renforcer la vue, il conseille pour

soigner les cataractes de dissoudre les fleurs de rue dans un plat d'eau peu profond exposé au soleil. On baigne les yeux plusieurs fois par jour avec le liquide jaune obtenu en pressant les fleurs ayant trempées dans l'eau. Le jus chauffé soulagera les maux d'oreilles **(Ait, 2006)**.

Fertilité : le pouvoir de la rue est redoutable en ce domaine, la plante agissant sur l'utérus. En petites doses, la rue est bonne pour le soulagement des dysménorrhées. A plus forte dose, la rue est abortive et son utilisation a donc été envisagée comme 'pilule du lendemain' Autrefois, la rue était utilisée comme anaphrodisiaque pour encourager à la chasteté **(Ait, 2006)**.

Parasites : la rue est un antihelminthique, un vermifuge et un antiamibien **(Ait, 2006)**.

I.4.5.3. Usage vétérinaire :

La rue a déjà été employée dans de nombreux remèdes vétérinaires surtout pour aider à la délivrance et contre la météorisation chez les bovins, caprins et ovins. D'autre usages, ceux-là empiriques, incluent le traitement des fièvres persistantes des bovins, les parasites intestinaux ; de la morve des chevaux ; des parasites externes et la prévention de la rage. En homéopathie animale, la rue entre dans la composition d'un remède antirhumatismal et d'une poudre calcique **(Ait, 2006)**.

I.4.5.4. Usage agricoles :

La rue, par sa forte odeur et ses composés puissants, est utilisée pour le contrôle des ravageurs, notamment contre les insectes. La rue est toxique pour les mollusques, les poissons et les oiseaux. Elle serait aussi nématocide **(Duval, 1992)**.

I.4.5.5. Cosmétique :

L'huile essentielle de la rue est utilisée dans le domaine de la parfumerie **(Baba Aissa, 1991)**.

I.4.5.6. Ecologique et horticole :

Elle permet la fixation du sol donc le protéger contre l'érosion. On trouve cette plante dans la plupart des jardins pour son parfum, sa saveur, et sa décoration

I.4.6. Toxicité de la plante

Si depuis hippocrate bien des utilisations ont traversé les siècles, la toxicité, mieux connue, a probablement contribué à éliminer plusieurs usages **(Pollio et al., 2008)**.

C'est une plante à manier avec précaution car son huile essentielle est toxique; elle contient des alcaloïdes, de flavonoïdes, de la vitamine C et des furo-coumarines **(LE Moine,**

2001). Les feuilles sont irritantes et vésicantes, propriétés dues aux huiles essentielles particulièrement à la méthylnonylcétone qui est un rubéfiant (**El Haji, 1995**).

I.4.7. Composition chimiques :

La rue est une plante médicinale qui contient plus de 120 composé chimique tels que les alcaloïdes, coumarines, huiles essentielles, flavonoïde, glucide furoquinolines et un peu de tanin repartis sur différentes parties du plant (les racines, les feuilles et les fleurs), beaucoup de ces composés à une activité biologique, par exemple l'huiles essentielles à effet répulsif des insectes et les alcaloïdes, coumarines à des propriétés bactéricide (**hamdani, 2011**).

I.4.7.1. Coumarines :

Les coumarines appartiennent à la classe des composés phénoliques, elles constituent avec les flavonoïdes, les chromones et les isocoumarines, un très vaste ensemble de substances. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un noyau benzopyrane (**Weterman et Grundon, 1983**).

Les coumarines de l'espèce *R. montana* L. se localisent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines, elles sont fréquemment à l'origine des hétérosides (**Bruneton, 1999**).

I.4.7.2. Flavonoïdes :

On trouve chez les *Ruta montana* L., des flavonoïdes glycosylés appartenant en particulier aux groupes des flavones comme la rutine et la quercétine, les deux sont largement répandues chez les Rutaceae (**Schemmer et Leismester, 1989**).

I.4.7.3. Les lignanes :

Les lignanes sont issus du couplage oxydatif intramoléculaire de deux unités phénylpropanoïques, la savinine et la saventinine (**Paulini et Schemmer, 1989**).

I.4.7.4. Les huiles volatiles

Les principaux composés étaient des monoterpènes oxygénés, caractérisés par la grande prévalence de deux composés cétones-undécane-2-one (32,8%) et non-2-one (29,5%) et acétate-nonanol-2-acétate (18,2%) (**Kambouche et al., 2008**).

I.4.7.5. Alcaloïdes :

C'est le nom générique de substances azotées d'origine végétale, de structure souvent complexe et de poids moléculaire élevé. Ce sont des bases primaires, secondaires et tertiaires ou des hydrates d'ammonium quaternaires renfermant des noyaux hétérocycliques (Richter, 1993). Les alcaloïdes constituent, à côté des coumarines, un second groupe de métabolites secondaires largement répandus dans la famille des Rutaceae et plus particulièrement dans le genre *Ruta* (Mohr, 1982).

I.4.8. Activités biologiques *Ruta montana* L. :

I.4.8.1. Activité antioxydante :

De point de vue méthodologique, le test du radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant SH, NH et OH. Il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. Le test est largement utilisé au niveau de l'évolution des extraits hydrophil est très riches en composés phénoliques.

L'activité anti-radicalaire des différents extraits à tester a été déterminée selon méthode décrite par **Mansouri et al. (2005)** qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement stable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde λ de 517 nm. La technique consiste à mettre le radical libre DPPH (de couleur violette), en présence de l'antioxydant (extrait brut méthanolique, extrait alcaloïdique) va être réduit et vire vers le jaune. Ce changement se traduit par une diminution de l'absorbance (**Allouni Rima, 2018**).

I.4.8.2. Activité Antibactérienne :

L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits est réalisée par la méthode de diffusion sur disques, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des extraits sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri.

Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antibactérien des différents extraits sur les bactéries, ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis de cet extrait (**Allouni Rima, 2018**).

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre II. Matériels et méthodes

II.1. Matériel végétal:

Les plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation requière une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés des plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques. L'intérêt porté sur ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années. A cet effet, on s'est intéressé à l'une des espèces de la famille des Rutacées : le ***Ruta montana* L.** et il est important de définir leurs identités, connaître leurs compositions chimiques et rechercher leurs activités biologiques.

Dans cette partie expérimentale, deux axes ont été envisagés : Le premier axe concerne l'étude phytochimique. Dans le deuxième, nous nous sommes intéressés au pouvoir antioxydant et à l'activité antibactérienne des extraits issus de la partie aérienne de cette plante. Ce travail a été effectué selon le plan illustré dans la **Figure 03**

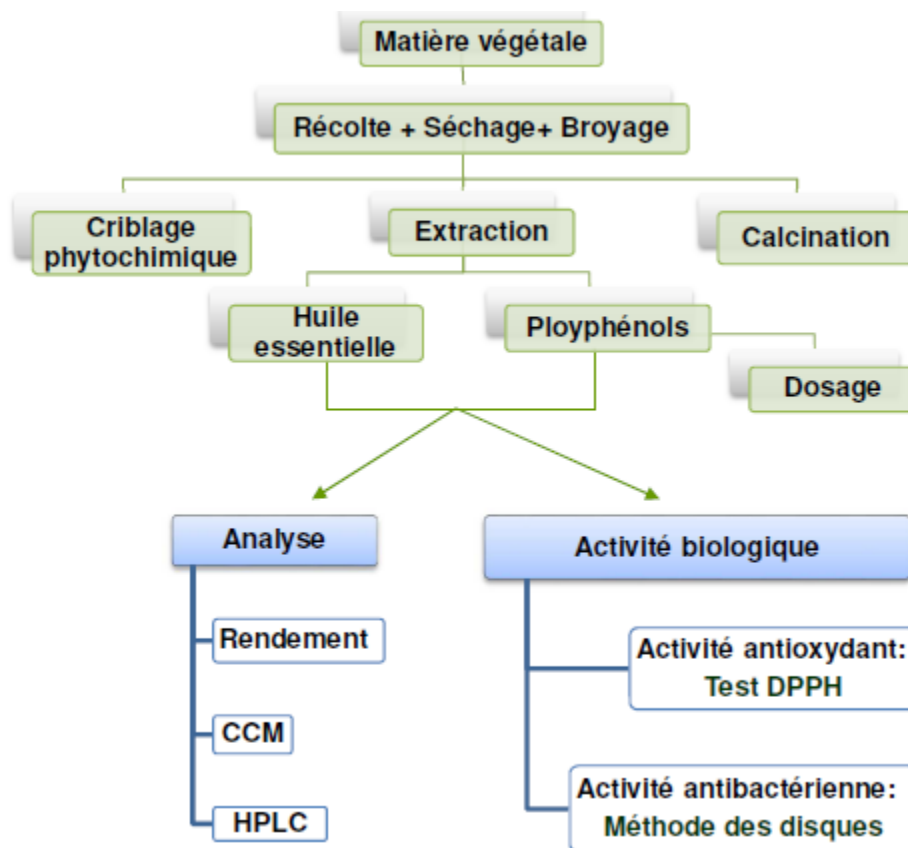


Figure 3: Plan général de la partie expérimentale

II.2. Récolte, Séchage et Broyage :

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne (tige-feuilles-fleurs) de la plante *Ruta montana L.* (Figure 04). Il été récoltée à maturité entre le mois d'Août et Septembre. Ont été obtenus à partir des herboristes de la wilaya de M'sila, à climat semi-arides sèches. Après séchage, puis broyage, cette dernière est réduite en poudre et stockée soigneusement dans un flacon en verre bien fermé dans un endroit sec, en vue de son utilisation ultérieure.



Figure 4:les Trois parties (Tiges, Feuilles, fleurs) de la plante *Ruta montana L.*
(Source Originale, 2023)

II.3. Méthodes d'extraction:

II.3.1. Macération :

La macération est une méthode traditionnelle et couramment employée. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation. Cette procédure, malgré les temps longs d'extraction et l'utilisation d'une quantité considérable de solvants, est relativement peu coûteuse. En plus, elle se déroule à température ambiante, ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules polyphénoliques (spigno.G,2007).

❖ Technique :

Pour extraire les polyphénols de la plante étudiée, on a macéré 200 g de poudre végétale, après séchage et broyage dans un mélange hydro-alcoolique (méthanol/eau 70/30 : V/V) trois fois, avec agitation de temps en temps à la température ambiante et à l'obscurité, en renouvelant le solvant toutes les 24heures. Les extraits hydroalcooliques sont réunis et évaporés sous pression réduite à une température inférieure à 50°C jusqu'à l'obtention d'une solution visqueuse. Le résidu brut obtenu de couleur vert foncée est repris avec 150ml d'eau distillée bouillante pendant une nuit, ensuite le mélange est filtré par simple filtration. Après, on procède à l'affrontement par les solvants organiques de polarité croissante (Torck et Pinkas., 1992).

Le premier est effectué par un solvant apolaire (éther de pétrole) pour éliminer les pigments et dégraisser la matière végétale, Les extractions sont répétées trois fois. **(Figure05)**

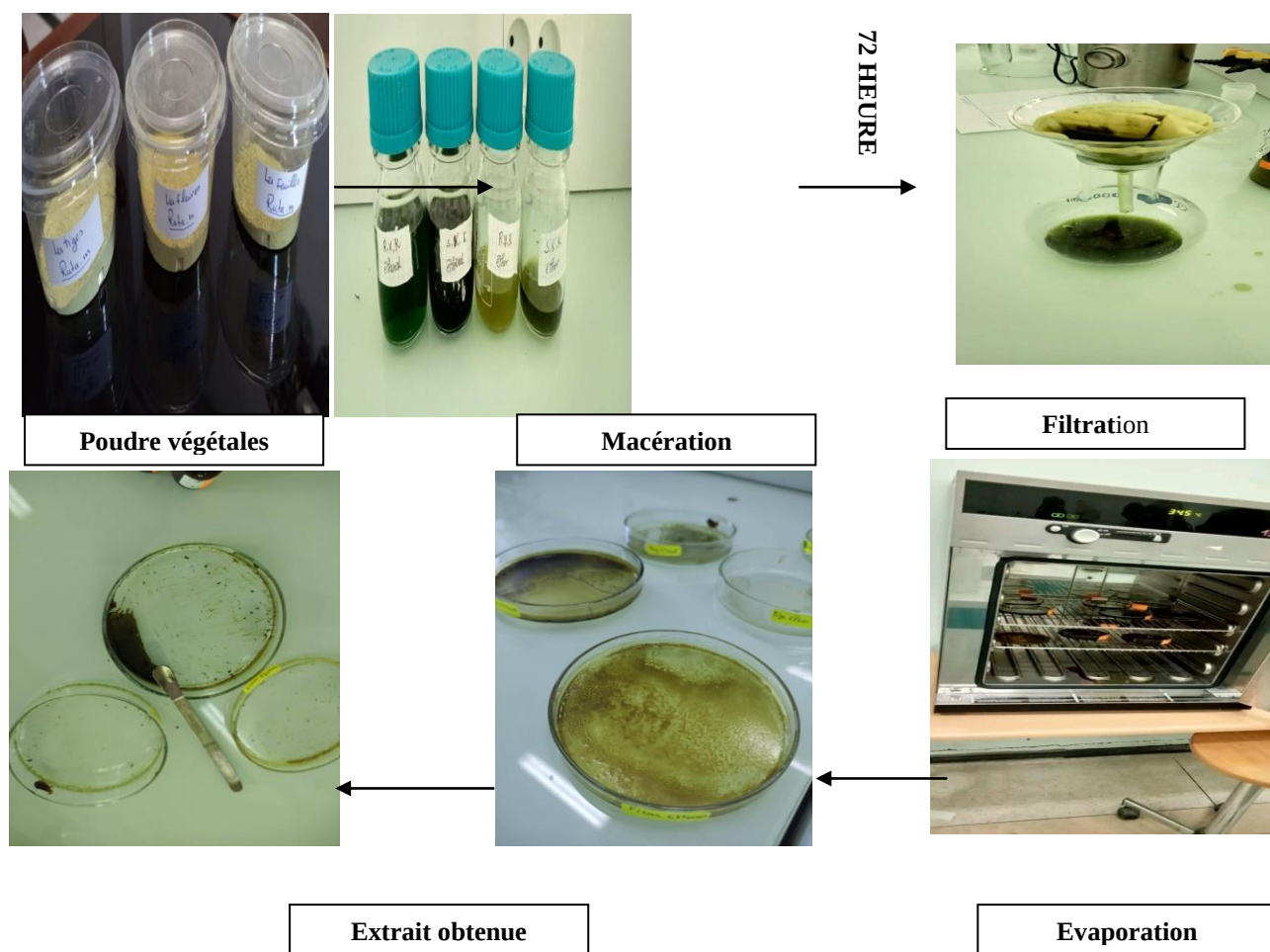


Figure 5:Schéma de la préparation des extraits de différentes parties de *Ruta montana*

II.3.2. Extraction par Soxhlet:

Le solvant d'extraction est porté à ébullition. Ces vapeurs traversent le Soxhlet, sont condensées au niveau du réfrigérant et s'écoulent au travers de l'échantillon dans la cartouche. Ce système de distillation-condensation assure au solvant une circulation en continu dans l'échantillon. Un siphon permet au solvant de s'écouler de la cartouche pour retourner dans le ballon. Le solvant peut donc recommencer un nouveau cycle d'évaporation - condensation. Cette méthode est utilisée pour L'extraction des composés non volatils et semi volatils. **(Figure 06)**

Son principal avantage est que l'échantillon est continuellement extrait avec du solvant renouvelé. Un temps d'extraction long et un volume de solvant nécessaire important sont les principaux inconvénients de cette technique manuelle **(Zoucha et Ay, 2007)**.



Figure 6: Extraction de solvant par Soxhlet

II.4. Préparation des Extraits:

L'extraction est une étape très importante avant l'analyse quantitative et qualitative proprement dite. Afin d'étudier les propriétés biologiques *in vivo* et *in vitro* de *Ruta montana* L. préparation suivante a été réalisé :

Deux quantités de 5g de chaque poudre (feuilles, tiges, fleurs) ont été mises à Une extraction par macération dans 50 ml d'éthanol et 50ml du éther de pétrole (soxlet).

II.4.1. Préparation de l'Extraits bruts par l'extraction type solide-liquide (ESL) :

Environ 5 g de matières végétales (feuilles, tiges, fleurs) ont été extraites avec 50 ml de différents solvants (éther de pétrole, éthanol) basés sur la faible polarité à la forte polarité par la méthode demacération24Hpendant 3 fois. Le mélange a ensuite été filtré sur de la gaze puis sur du papier filtre. Le filtrat résultant a été ajouté et évaporé à sec en utilisant un évaporateur rotatif à une température de 35°C. Les extraits secs ont été conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à utilisation.

II.5. Criblage phytochimique:

Le screening chimique d'une drogue végétale représente toujours la première étape de l'étude chimique et permet d'orienter les recherches ultérieures. Les techniques de détection utilisables pour un "screening" des substances actives doivent être rapides, simples et sensibles afin de ne mettre en œuvre qu'une faible quantité de matière végétale. Ces méthodes sont donc limitées à la détection de quelques groupeschimiques. Les tests phytochimiques sont basés sur des essais de solubilité, de réactions decoloration et de précipitation ainsi que sur des examens en

lumière ultra violette. Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation en vue de mettre en évidence les grands groupes chimiques. A cet effet, plusieurs types de réactifs ont été utilisés.

❖ **Les tests du criblage phytochimique** sont mentionnés comme suivant :

Préparation du filtrat **(a)**: on mélange quelques mg d'extrait (tiges, feuilles, fleurs) sans solvant avec quelques ml de éthanol.

Préparation du filtrat **(b)**: on mélange quelques mg d'extrait (tiges, feuilles, fleurs) sans solvant avec quelques ml de éther de pétrole.

Les tests biologiques par des réactifs:

❖ **Teste de Dragendorff/ Kraut**

Dans un tube à essai on met 0.5 mL du filtrat (a) avec 0.5 mL du réactif de Dragendorff.

Dans un tube à essai on met 0.5 mL du filtrat (b) avec quelques gouttes du réactif de Dragendorff.

- Le résultat positif est l'apparition d'un précipité brun rougeâtre.

❖ **Teste de KOH:**

On met 0.5ml d'extrait aqueux du filtrat (a) avec 0.5mL de solution de KOH.

On met 0.5ml d'extrait aqueux du filtrat (b) avec 2.5ml de solution de KOH.

- Le résultat positif est l'apparition d'une coloration cinnaire.

❖ **Test d'iode:**

Dans un tube à essai, on met 0.5 mL d'extrait du filtrat (a) avec quelques gouttes d'iode.

Dans un tube à essai, on met 0.5 mL d'extrait du filtrat (b) avec quelques gouttes d'iode.

- Le résultat positif est l'apparition d'une couleur bleue violette indique la présence d'amidon.

❖ **Test d'iode Dilué:**

Dans un tube à essai, on met 0.5 mL d'extrait du filtrat (a) avec quelques gouttes d'iode dilué.

Dans un tube à essai, on met 0.5 mL d'extrait du filtrat (b) avec quelques gouttes d'iode dilué

- Le résultat positif est l'apparition d'une couleur rouge passagère.

❖ **Test fihling (A+b):**

Dans un tube à essai, on met 0.5 mL d'extrait du filtrat (a) avec 0.5ml fihling(A+b).

Dans un tube à essai, on met 0.5 mL d'extrait du filtrat (b) avec 0.5ml fihling(A+b).

- Le résultat positif est l'apparition d'une couleur rouge brique.

❖ .Test NH₄OH:

Dans un tube à essai, on met 0.5 mL d'extrait du filtrat (a) avec 0.5ml NH₄OH.

Dans un tube à essai, on met 0.5 mL d'extrait du filtrat (B) avec 5ml NH₄OH.

- Le résultat positif est l'apparition transparente.

Le but des tests des Réactif:

L'objectif du test de Dragendroff/ Kraut: détection des alcaloïdes.

Test de KOH: détection des glucides.

Test d'iode: détection desalcaloïdes.

Test d'iode délué: détection des composés phynoliques.

Test de fihling (A+b):détection des sucres réducteurs.

Test de NH₄OH: détection des flavonoïdes.

II.5.1. Rendements des extraits préparés :

Le rendement signifie la masse de l'extrait obtenu après évaporation du solvant par rapport à la masse initiale de la graine soumise à l'extraction. (la masse sèche du matériel végétal à traiter)

Le pourcentage en extrait bruts sec méthanoïque et aqueux a été calculé par la formule suivante (**Carré, 1953**) :

$$R (\%) = M_1 / M_0 \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

M₁ : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

II.6. Analyse par Chromatographie sur Couche Mince (CCM):

La chromatographie sur couche mince est un outil précieux pour l'analyse enphytochimie. Elle est assez peu onéreuse et son utilisation est très simple. C'est une méthode facile et très rapide, elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption (**Levine S., 1990**). Cette technique d'analyse qui permet un contrôle aisé et rapide, est réalisé avec divers solvants et différents adsorbants. De ce fait nous avons opté pour cette technique dans le but de connaitre la

composition de l'extrait brut, de faire une comparaison entre deux ou plusieurs extraits bruts et de trouver par conséquent, le système de solvant donnant une bonne séparation. La chromatographie est une méthode biochimique très utilisée en biologie notamment dans la séparation et la mise en évidence des constituants d'un mélange (**Benabdallah.H, 2016**).

❖ Principe

Le principe de la chromatographie repose sur la migration des constituants de l'extrait, selon sa solubilité dans l'éluant. Dans le but d'identifier les différentes familles moléculaires présentes dans nos extraits mais aussi vérifier la fréquence du profil chimique.

❖ Mode d'opération:

Pour préparer deux plaques (la première plaque qui contient le réactif d'acide galique et la deuxième plaque qui se contient à le réactif quercétine). D'abord, après dissolution des extraits (EBF), (EBF1) et (EBT) dans un méthanol, nous déposons 10 µl de chaque solution et à l'aide d'une micropipette sur les deux plaques qui étaient activées dans l'étuve à 100°C pendant 5 min à 1 cm du bord inférieur sur la ligne de base, Et nous laissons sécher chaque dépôt. La plaque est ensuite mise dans la chambre de migration contenant la phase mobile. Quand le front du solvant atteint 1 cm du bord supérieur, le chromatogramme est retiré, séché, observé.

Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par son R_f (Rate factor ou rapport frontal) qui est le rapport de la distance parcourue par cette molécule sur celle parcourue par la phase mobile (front du solvant)

$$R_f = \frac{d}{D} = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

II.6.1. L'extrait de méthanol :

Les systèmes d'élution utilisés sont illustrés dans le **tableau 01**, **Figure 07** suivant:

Tableau 1: Les systèmes utilisés pour l'extrait méthanol.

N° de système	Nom de système	Volume (ml)
1	Butanol/Ethyl acétate/Eau	(5/4/1)
2	Acétone/Chloroforme/Méthanol	(7/7/0,5)
3	Heptane/Acétate	(1/ 7)

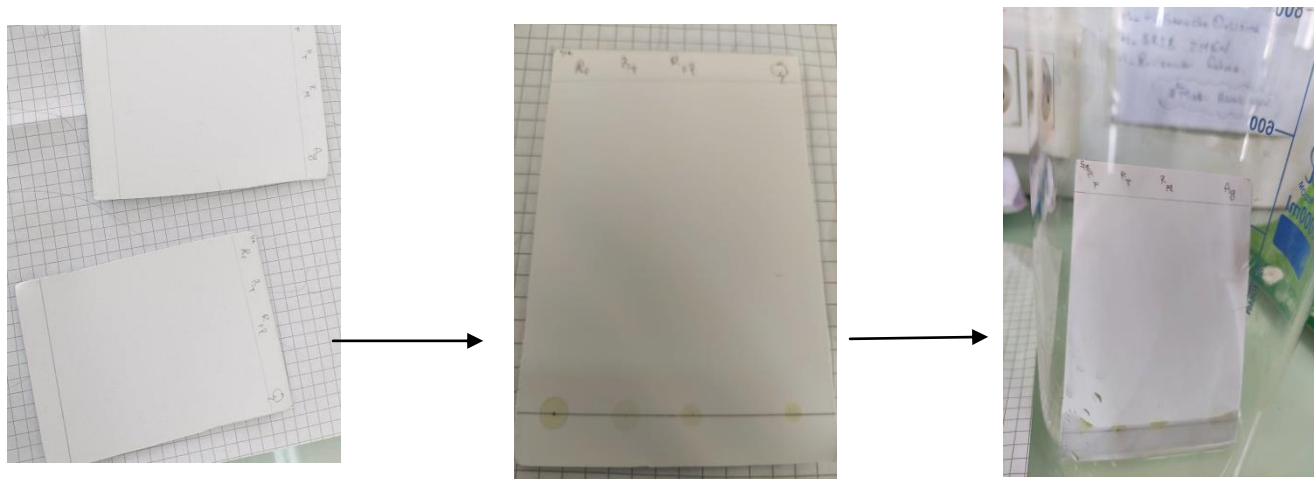


Figure 7: test de plaque CCM de la plante

II.6.2. L'extrait d'éther de pétrole :

Après dissolution des extrait (EBF), (EBFl) et (EBT) dans du éther de pétrole, nous déposons 10 μ l de chaque solution et les réactifs (acide galique et quercetine) à l'aide d'une micropipette sur les deux plaques qu'était activée dans l'étuve à 100°C pendant 5min à 1cm du bord inférieur sur la ligne de base, Et nous laissons sécher chaque dépôt. La plaque est ensuite mise dans la chambre de migration contenant la phase mobile. Quand le front du solvant atteint 1cm du bord supérieur, le chromatogramme est retiré, séché, observé. (**Tableau02**)

Le rapport frontal des spots issus de la séparation a été calculé selon la formule suivante:

$$R_f = \text{Distance parcourue par la molécule} / \text{Distance parcourue par le solvant}$$

Tableau 2: Les systèmes utilisés pour l'extrait éther de pétrole

N° de systèmes	Nom de système	Volume (ml)
1	Heptane/Acétate	(6/2)

II.7. Etude de l'activité biologique :

II.7.1. Test de l'activité anti-bactérienne:

C'est une méthode de mesure in-vitro, du pouvoir antibactérien des composés. La technique utilisée est celle du contact direct qui compte deux méthodes, la méthode des puits et

la méthode de diffusion. Nous avons adopté la dernière, qui est une vieille méthode, mais toujours d'actualité puisqu'elle est encore utilisée fréquemment dans les laboratoires de bactériologie pour la mesure du pouvoir antibactérien des antibiotiques de synthèse (**Quezel et Santa, 1962**). Cette étude a été effectuée au laboratoire de microbiologie de l'Université Mohamed Boudiaf M'sila (Algérie), Sur les souches bactériennes pathogènes suivantes (**Tableau 03**)

Le test a été effectué selon la méthode de diffusion par disques pour but de tester l'activité antimicrobienne des extraits bruts de nôtres plantes étudiée contre les souches ATTC utilisé.

Tableau 3: Les souches bacteriennes sélectionnées:

NOM DE BACTERIES	GRAM	CODE
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	ATCC25935
<i>E. Coli</i>	Gram -	ATCC25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -	ATCC27853
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Gram +	ATCC10876
Salmonella.	Gram -	ATCC13311

II.7.3. Repiquage des espèces bactériennes:

Dans des conditions stériles, on prélève une colonie isolée et représentative de chaque souche utilisée à l'aide d'une pipette pasteur stérile, puis on étale en stries sur des nouvelles boîtes de pétri qui contient de la gélose nutritive et ensuite on les cultive dans l'étuve à 37C pendant 24h et pour le Fusarium L'incubation se fait à 27C pendant 3j. Cela pour obtenir des colonies jeunes qu'on puisse les utilisées.

❖ Préparation des milieux de culture:

Après la préparation de milieu de culture Muller Hinton, on le coule en surfusion dans les boîtes de Pétri de façon à obtenir une épaisseur de 3mm. Laisser refroidir et solidifier le milieu gélosé en plaçant les boîtes avec les couvercles sur une surface horizontale.

❖ Préparation de l'inoculum :

Des colonies bien séparées des espèces bactériennes utilisées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans un Eppendorf qui contient 1ml de l'eau distillée stérile

❖ Ensemencement par écouvillonnage :

A partir de l'inoculum qu'on a déjà préparé, on a plongé un écouvillon stérile dans la suspension et bien sur l'essorer doucement sur les parois, par la suite on a ensemencé toute la gélose de la boîte pour que les bactéries puissent bien se répartir.

❖ Applications de méthode de diffusion par disque :

Tout d'abord, des disques de 6 mm de diamètre préparés par de papier wattman et autoclaves à 120°C pendant 20 minutes. Les souches bactériennes sont ensemencées préalablement en gélose nutritive et incubés à 37°C pendant 24 heures pour optimiser leur croissance et obtenir des colonies jeunes. Ensuite, des colonies bien séparées des souches bactériennes étudiées sont prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et homogénéisées dans l'eau distillée stérile. Le milieu Muller Hinton déjà préparé est coulée dans des boîtes de pétri stériles. Ces dernières sont séchées à une température ambiante avant l'utilisation. Puis, un ensemencement est réalisé par écouvillonnage en stries serrées de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries sur toute la gélose de la boîte. Les disques sont déposés sur le milieu à l'aide d'une pince stérile. Ensuite 15µl d'extrait à tester sont met sur les disques et dans chaque boîte on a déposé trois disques selon les 9 extraits qu'on a avec deux témoin un disque comme témoin négatif (soit de l'éthanol ou l'Ether de pétrole selon notre extraits) et le disque d'antibiotique le chloramphénicol comme témoin positif. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24h.

❖ Lecture des résultats :

L'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance bactérienne autour des disques contenant les extraits testés. La lecture se fait en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle (mm) qui détermine la sensibilité de la souche à l'extrait.

- Non sensible (-) pour $\varnothing < 8$ mm;
- Sensible (+) pour 9-14 mm;

- Très sensible (++) pour Ø 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour Ø >20 mm.

II.8. Evaluation de l'activité Anti-moisissures:

❖ Evaluation de l'activité Anti-moisissure:

De manière générale, les composés antioxydants peuvent piéger les radicaux libres et augmenter la durée de conservation en retardant le processus de peroxydation des lipides, qui est l'une des principales raisons de la détérioration des produits alimentaires et pharmaceutiques pendant le traitement et le stockage (**Ak & Gülçin, 2008**). Les aliments sont exposés à la détérioration par les bactéries et les moisissures et subissent des modifications du goût, de leur couleur et par conséquent la perte de la quantité des nutriments et de la sécurité de ces aliments. L'utilisation des produits chimiques constitue la technique la plus utilisée pour lutter contre les moisissures nuisible. Cependant en raison des nombreux dangers que ces substances causent, l'organisation mondiale de la santé (OMS) à interdire l'usage de certains fongicides chimiques, c'est pour ça l'utilisation des plantes comme source naturel des substances anti-moisissures pourraient être une alternative naturelle aux conservateurs artificiels (**Himed et al., 2020**).

❖ Test de l'activité Anti-moisissures sur une sauce tomate:

L'évaluation de l'activité Anti-moisissures a été déterminée selon la méthode de **Akroum & Rouibah, (2020)**. Une solution de sauce tomate a été préparé à partir de 10 g de tomate concentrée ajouté à 20 ml d'eau. Dans une microplaque à 96 puis voir **Figure (08)**: 160 µl de la sauce tomate a ont été additionnée à 40 µl de différente solution d'extrait de filtra (a).

(Pour chaque extrait prépare: 10mg/ml puis diluer à la moitié: prend 0.5ml/5ml solvants convenable).

Chaque deux rangées de la microplaque contient une solution différente avec plusieurs concentrations: (4 concentration: 10 ; 5 ; 2.5 ; 1.25ml). Les solutions de cuivre (CuSO_4) sont utilisé comme standard (10mg/10ml). L'avant-dernière rangée ne contient que de la sauce tomate comme témoin. La dernière rangée verticalement contient du l'éthanol au lieu des extraits étudiés. (**Tableau 04**)

Nous répétons la même expérience, suivons les mêmes étapes, utilisons le filtra (b) tout en conservant les mêmes concentrations utilisées, et changeons la dernière ligne de l'éthanol à l'éther de pétrole.

• Les résultats ont été mesurés en calculant:

$\text{Pourcentage d'infection} = (\text{Nombre total de puits pour un extrait} / \text{Nombre de puits infectés pour un extrait}) * 100$

La plaque ensuite est incubée pendant 15 jours dans un réfrigérateur et suivi chaque trois jour.

Tableau 04 : L'emplacement des solutions dans la microplaque pour le teste d'activité Anti-moisissures. (Akroum et Rouibah, 2020)

		Ethanol				Ether de pétrole					
Les concentrations		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C=10	A	Sauce tomate		Sauce tomate		Sauce tomate		Sauce tomate		Sauce tomate	
	B										
C=5	C										
	D										
C=2,5	E										
	F										
C=1,25	G										
	H										

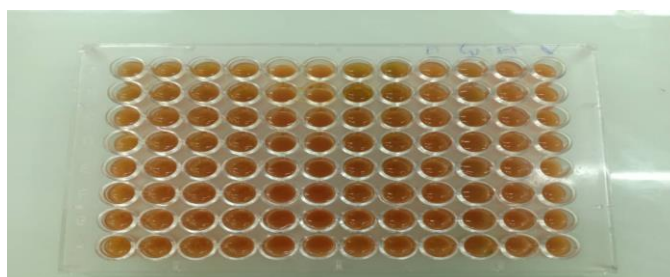


Figure 8: test de l'activité anti-moisissures sur sauce tomate

II.9. Evaluation de la cytotoxicité:

II.9.1. Effet répulsif sur l'insecte des céréales stockées *Tribolium castaneum*.

❖ Matériel Animal:

L'élevage de masse de *Tribolium castaneum* a été effectué dans un bocal en plastique contenant 1000g de semoule de blé dur. Celui-ci se fait dans des conditions de laboratoire à température de 20- 25°C et à une humidité relative comprise entre 65 et 70%.

I.9.2. Test de l'effet répulsif des extraits sur papier filtre

L'effet répulsif des extraits de chaque partie (feuille, fleur, tige) de la plante *Ruta montana* L. à l'égard des adultes de *Tribolium castaneum* a été évalué en utilisant la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre décrite par **Mc Donald et al. (1970)**. Des disques de papier filtre de 9 cm sont découpés en deux parties égales. Quatre doses des solutions (10mg d'extrait tiges, feuilles, fleurs + 2ml éthanol) (10mg d'extrait tiges, feuilles, fleurs + 2ml éther de pétrole) ont été préparées 4 différentes doses par deux différentes dilutions:

❖ Dilution par l'éthanol:

1. Nous prenons 1 ml de la première solution et le mettons dans un nouveau tube à essai et y ajoutons 1 ml d'éthanol.
2. Nous prenons 1 ml de la deuxième solution et le mettons dans un nouveau tube à essai et y ajoutons 1 ml d'éthanol.
3. Nous prenons 1 ml de la troisième solution et le mettons dans un nouveau tube à essai et y ajoutons 1 ml d'éthanol.

❖ Dilution par l'éther de pétrole:

1. Nous prenons 1 ml de la première solution et le mettons dans un nouveau tube à essai et y ajoutons 1 ml d'éther de pétrole.
2. Nous prenons 1 ml de la deuxième solution et le mettons dans un nouveau tube à essai et y ajoutons 1 ml d'éther de pétrole.
3. Nous prenons 1 ml de la troisième solution et le mettons dans un nouveau tube à essai et y ajoutons 1 ml d'éther de pétrole. De chacune des solutions ainsi préparées a été répandue uniformément sur une moitié du disque tandis que l'autre moitié a reçu uniquement 0,5 ml d'éthanol avec la solution qui se contient l'éthanol, l'éther de pétrole avec la solution contenant l'éther de pétrole.

Après 15 minutes, le temps nécessaire à l'évaporation complète du solvant de dilution, les deux parties des disques ont été enveloppées par un ruban adhésif. Le papier filtre reconstitué a été placé dans une boîte de Pétri et un lot de 5 insectes adultes a été placé au centre de chaque disque. Ont été effectuées pour chaque dose (**Figure09**).

Au bout de deux jours, le nombre d'insectes présents sur la partie de papier filtre traitée à extrait (feuilles, fleurs tiges) (**Nt**) et le nombre de ceux présents sur la partie traitée uniquement à l'éthanol ou l'éther de pétrole (**Nc**) ont été relevés.

Le pourcentage de répulsion (PR) a été calculé en utilisant la formule suivante:

$$\text{Pourcentage de répulsion (PR) \%} = [(NC-NT)/(NC+NT)] \times 100$$

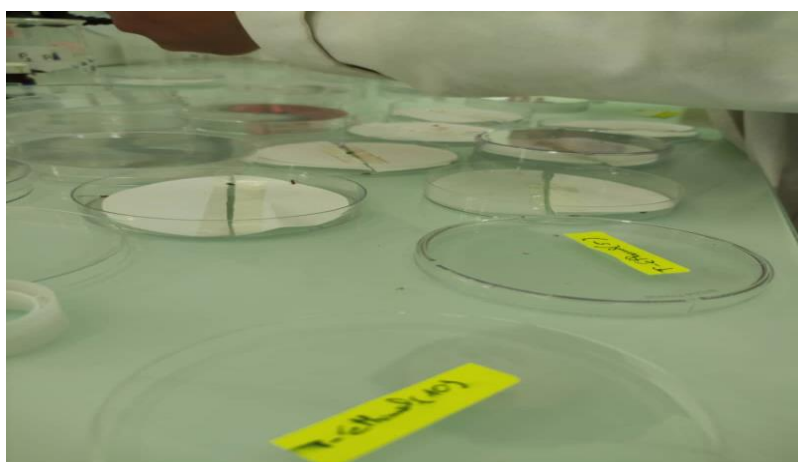


Figure 9: test de répulsion des insectes céréale

Selon le classement proposé par Mc Donald et ses collaborateurs (**Tapondjou et al., 2003**) le pourcentage de répulsion moyen est réparti suivant six classes voir **tableau (05)**, la classe 0 étant celle qui contient moins de 0,1% de répulsion. Ceci est résumé comme suit :

Tableau 5: Pourcentage de répulsion selon le classement de **McDonald et al., (1970)**.

Classes	Intervalle de répulsion	Propriétés
Classe 0	$PR \leq 0,1 \%$	N'est pas répulsive
Classe I	$0,1\% < PR \leq 20\%$	Très faiblement répulsive
Classe II	$20 \% < PR \leq 40\%$	faiblement répulsive
Classe III	$40\% < PR \leq 60\%$	Modérément répulsive
Classe IV	$60\% < PR \leq 80\%$	Répulsive
Classe V	$80\% < PR \leq 100\%$	Très répulsive

Chapitre III. LES RESULTATS ET DISCITION

III. Les résultats et discussion

III.1. Les résultats des tests phytochimiques:

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante et d'avoir une bonne idée sur ses activités pharmacologiques. Ces métabolites lui confèrent la protection contre les bactéries, les champignons et les attaques pesticides et sont donc responsables de l'effort d'activité antimicrobienne contre certains micro-organismes [1]. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et du changement de couleur.

Les résultats obtenus au terme des tests préliminaires pour le criblage phytochimique, réalisés sur la partie aérienne de *Ruta montana* L. Sont résumés dans le **tableau 06 et 07** Ils révèlent la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaires.

Réaction positive : (+) abondant ; Réaction négative : (-) absent

Tableau 6: Résultats des tests phytochimiques de la partie aérienne de *Ruta montana* L. de filtra (a)

Réactif Tests	Dragend roff/ Kraut	KOH	Iode	Iode délué	fihring (A+b)	NH4OH
<u>Alcaloïdes</u>	Positif		Positif			
<u>Glucide</u>		Positif				
<u>Sucres réducteurs.</u>					Positif	
<u>flavonoïdes</u>						Positif

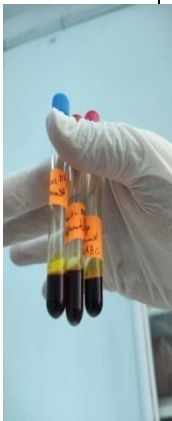
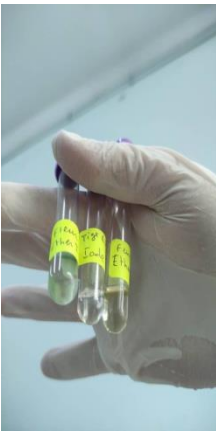
<u>Composes phynoliques.</u>				Positif		
						

Tableau 7: Résultats des tests phytochimiques de la partie aérienne de *Ruta montana*L.
filtra (b):

Réactif Tests	Dragendroff/ Kraut	KOH	Iode délué	fihring (A+b)	NH4OH
<u>Alcaloïdes</u>	Positif				
<u>Glucide</u>		Positif			
<u>Sucres réducteurs.</u>				Négatif	
<u>flavonoïdes</u>					Fleur(+) Tige+feuille (-)
<u>Composes phynoliques.</u>			Fleur(-) Tige+feuille		

			(+)		
					

A la fin de cette étude qualitative des différentes substances bioactives, nous remarquons la présence totale des coumarines, de l'amidon et des composés réducteurs. Par contre nous apercevons l'existence des autres substances naturelles bioactives. D'après ces résultats, nous déduisons que la plante *Ruta montana* L. de la région de M'sila, comme d'autres espèces de la famille Rutaceae, est riche en divers métabolites secondaires, ce qui explique l'intérêt et l'attention particulière portée par les chercheurs, à travers les études scientifiques sur cette plante.

III.2. Analyse quantitative d'extrait de la plante *Ruta montana* L. par CCM:

Pour un essai d'analyse qualitative du contenu phénolique de nos différents extraits à partir des parties (feuille, fleur, tige) de la plante *Ruta montana* L.. On a utilisé chromatographie sur couche mince (CCM) puisqu'elle est l'une des méthodes habituelles pour la séparation et la purification des différents constituants d'un extrait végétal et qui est plutôt simple à mettre en œuvre. Les résultats représentés dans les figures, et les tableaux suivants : La migration des spots dans l'extrait d'éthanol et éther de pétrole :

Tableau 8:Présenter la migration des spots dans l'éthanol.

N° des systèmes	Les Extrait		
	Feuilles	Fleur	Tige

de solvants	N° des spots	RF	Couleurs des spots	N° des spots	RF	Couleurs des spots	N° des spots	RF	Couleurs des spots
1 Butanol-Ethyl acetate- Eau(5.4.1)	1	0.06	Bleu	1	0.06	Bleu	1	0.02	Bleu
	2	0.29	Bleu	2	0.36	Jaune	2	0.33	
	3	0.37	Vert	3	0.40	Bleu	3	0.41	Bleu
	4	0.50	Violet	4	0.45	Bleu	4	0.52	
	5	0.67	Rouge	5	0.50	Vert	5	0.56	Bleu
	6	0.80	bleu	6	0.70	Rouge	6	0.70	Rouge
	7	0.90	rouge	7	0.75	Bleu	7	0.75	Bleu
				8	0.80	Vert	8	0.81	Vert
				9	0.90	Rouge	9	0.90	rouge
2 Acétone- chloroforme- méthanol (7.7.0,5)	1	0.12	Bleu	1	0.12	Bleu	1	0.12	Bleu
	2	0.18	Violet	2	0.18	Bleu	2	0.18	Bleu
	3	0.35	Bleu	3	0.30	Rouge	3	0.29	Vert
	4	0.45	Rouge	4	0.35	Rouge	4	0.30	Rouge
	5	0.50	Rouge	5	0.45	Rouge	5	0.35	Rouge
	6	0.55	Rouge	6	0.50	Vert	6	0.45	Rouge
	7	0.60	Bleu	7	0.52	Jaune	7	0.50	Bleu
	8	0.63	Jaune	8	0.62	Vert	8	0.53	Jaune
	9	0.67	Vert	9	0.65	Bleu	9	0.65	Bleu
	10	0.70	rouge	10	0.67	Rouge	10	0.70	rouge
				11	0.70				
Héptane/Acétate (1/7)	1	0.06	Rouge	1	0.25	Rouge	1	0.25	Rouge
	2	0.12	Rouge	2	0.29	Bleu	2	0.36	Jaune
	3	0.29	Bleu	3	0.53	Bleu	3	0.50	Violet
	4	0.52	Jaune	4	0.65	Vert	4	0.64	Jaune
	5	0.65	Vert	5	0.70	Bleu	5	0.70	Bleu

	6	0.70	Bleu	6	0.84	rouge	6	0.84	Rouge
	7	0.84	Rouge						

Ces résultats montrent l'existence de plusieurs taches de différents facteurs de rétention, ce qui nous a permis de révéler un polymorphisme chimique très important dans les extraits préparés de la plante sélectionnée.

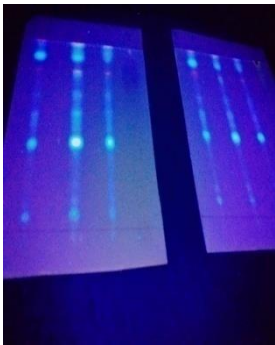
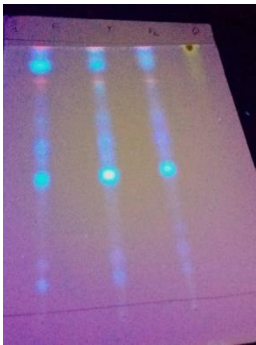
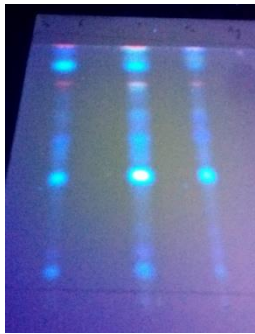
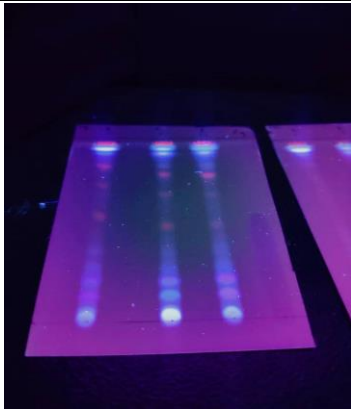
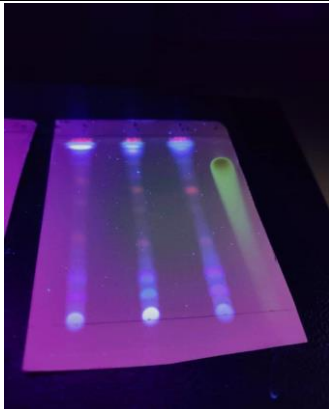
N° des systèmes de solvants	Les résultats		
Système01			
Système02			



Figure 10: Les résultants d'analyse par CCM d'extraits d'éthanol de *Ruta montana* L

- Les solvants éther de pétrole sont généralement utilisés pour dégraisser la drogue végétale. A l'œil nu, les taches apparaissent vertes dans la plaque CCM de ces fractions et sont typiques des chlorophylles, les taches mauves représentent les stérols.
- L'extrait acétate d'éthyle présente une bonne migration. Les taches sont bien distinctes avec un facteur de rétention qui diffère d'une tache à l'autre, tout cela montre que l'extrait analysé manifeste une richesse en composés phénoliques. L'extrait butanolique renferme les composés les plus polaires de type flavonoïdes glycosylés. Partant de leurs fluorescences, les échantillons (AcOET et ButOH) sont riches en flavones, en premier lieu. Celles-ci correspondent aux tâches violettes, brunes et grises. En 2ème lieu, en flavonols et qui présentent la couleur jaune et ses dérivés : jaune pâle, jaune fluorescent, et jaune orangé.

Tableau 9:Présenter la migration des spots dans l'éther de pétrol.

N° des systèmes de solvants	Les Extrait								
	Feuille			Fleur			Tige		
	N° des spots	RF	Couleurs des spots	N° des spots	RF	Couleurs des spots	N° des spots	RF	Couleurs des spots
Heptane-acétate (6,3)	1	0,1	Bleu	1	0,1	Bleu	1	0,1	Bleu
	2	0,29	Bleu	2	0,23	Marron	2	0,23	Marron
	3	0,35	Rouge	3	0,29	Vert	3	0,25	Jaune

	4	0,38	Rouge	4	0,35	Rouge	4	0,30	Vert
	5	0,58	Bleu	5	0,41	Bleu	5	0,35	Rouge
	6	0,62	bleu	6	0,50	Rouge	6	0,41	Bleu
				7	0,58	Bleu	7	0,50	Rouge
				8	0,60	Rouge	8	0,53	Violet
				9	0,62	Bleu	9	0,56	Rouge
				10	0,83	bleu	10	0,58	Bleu
							11	0,62	Bleu

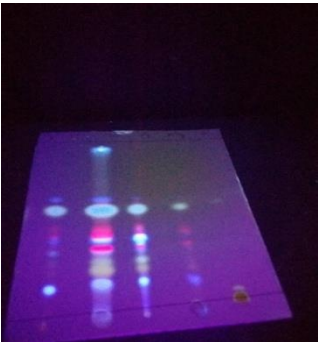
N° des systèmes de solvants	Le résultat	
Sys1		

Figure 11: Les résultants d'analyse par CCM d'extraits d'éther de pétrole de *Ruta montana* L.

III.1. Activités biologique de la plante :

L'étude des activités biologiques des substances bioactives des plantes médicinales se trouve à la base des médecines dites alternatives, de nombreux procédés utilisés dans la conservation des produits alimentaires crus ou cuits et des substances actives exploitées dans les produits pharmaceutiques. L'étude précédente confirme la richesse de la plante médicinale *Ruta montana* L. en métabolites secondaires ce qui nous ainsité à explorer biologiquement leurs extraits.

La présente étude, s'intéresse particulièrement à l'activité antibactérienne des extraits naturels issus de cette plante.

III.1.1. Le potentiel antibactérien des extraits de *Ruta montana* L.:

L'activité antibactérienne des extraits obtenus est déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Elle nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien vis-à-vis de quatre bactéries de références. Les souches bactériennes utilisées sont des souches de référence obtenues de l'American Type Culture Collection (ATCC).

La gentamicine et le DMSO ont servi de témoins positif et négatif, respectivement (**Tableau 10**). L'activité antibactérienne des différents extraits de *Ruta montana* L. a été évaluée contre les bactéries Gram-positives (*B. cereus* et *S. aureus*) et Gram-négatif (*E. coli* et *S. typhimurium*)

en méthode de diffusion sur disque, une technique qualitative basée sur la mesure du diamètre des halos d'inhibition apparents autour des disques chargés d'extraits végétaux.

Tableau 10: Moyenne des diamètres des zones d'inhibitions des différents extraits de *Ruta montana* L. relatives aux différentes souches.

	<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
mg/ml(10µl/disc)	EBF	EBG	EA	EBF	EBG	EA
200	18,66±0,57	20,5±0,5	24,5±0,5	19,66±0,57	19,16±0,28	25±1
100	16,83±0,76	16,83±0,28	22±0,5	17,83±0,76	17,83±0,76	14,5±0,5
50	14,5±0,5	15,5±0,5	18,83±0,28	16±1	15,16±0,28	12±1
25	12,16±0,76	10,66±0,57	15,5±0,86	12,5±0,5	12,5±0,5	9,16±0,76
12.5	8,66±0,57	8,83±0,28	11,5±0,5	11,83±0,76	8,83±0,28	8,66±0,28
6.25	7,33±0,28	7,16±0,76	8,83±0,28	10,83±1,15	7,83±0,76	7,33±0,57
3.12	6,5±0,00	6,5±0,00	6,5±0,00	6,5±0,00	6,5±0,00	6,5±0,00
MCI	3,12 mg/ml			3,12 mg/ml		
DMSO	6			6		

AX	11.9	15
GAZ	11	10

	<i>Salmonella typhimurium</i>		
mg/ml(10µl/disc)	EBF	EBG	EA
200	21,66±2,51	21,66±0,57	22,5±0,5
100	18±1	17,5±0,5	20,66±0,57
50	17±0,5	15±0,16	17,83±0,28
25	12,5±0,5	11,33±0,28	14,16±0,76
12,5	8,83±0,28	9,16±0,28	11,83±0,28
6,25	7,33±0,28	7,83±0,28	9±0,5
3,12	6,5±0,00	6,5±0,00	6,5±0,00
CMI	3,12mg/ml		
DMSO	6		
AX	17		
GAZ	16		
CZ	20		
SXT	21		

Les valeurs sont représentées sous forme **M ± SD**. **CMI**: concentration minimale inhibitrice (mg/ml), **EBF**: extrait brut des feuilles, **EBG**: extrait brut des graines, **EA**: extrait alcaloïdique, **DMSO** : Diméthylsulfoxyde (contrôle négatif), contrôles positifs : **AX** : Amoxicillin, **CAZ** : Ceftazidime, **CZ** : Céfazoline et **SXT** : Co-trimoxazol.

Tous les extraits de *Ruta montana* L. ont empêché la croissance des bactéries testées avec un diamètre de zone d'inhibition qui augmente proportionnellement avec les concentrations des échantillons testés. L'inhibition obtenue sur les souches de bactéries varie de 34,5 à 6,5 ; de 34,46 à 6,5 et de 32,5 à 6,5 mm pour l'extrait alcaloïdique, extrait méthanolique des graine et des feuilles respectivement. Il s'est avéré que toutes les bactéries testées ont été sensibles vis-à-vis des trois extraits notamment *Bacillus cereus*, l'effet de ces extraits est plus important que ceux obtenus avec les antibiotiques standards utilisés.

L'extrait des alcaloïdes totaux semble avoir l'effet inhibiteur le plus élevé que les extraits méthanoliques de *Ruta montana* contre toutes les bactéries testées avec une zone d'inhibition importante enregistrée à 200 mg/ml sur *B. cereus* ($36,5 \pm 1,52$ mm), cet effet est plus considérable que celui obtenu avec les antibiotiques standards. Un effet inhibiteur important par la même concentration contre la croissance d'*E. coli* et *S. typhimurium* avec des zones d'inhibition de ($24,5 \pm 0,5$ mm et $22,5 \pm 0,5$ mm respectivement), ces zones sont proches à ceux enregistrés sous l'action de SXT (24,2 mm et 21 mm respectivement), cependant l'EA inhibe également la croissance de *S. aureus* (25 ± 1 mm).

Tous les extraits de *Ruta montana* L. ont présenté une concentration minimale inhibitrice de 3,125 mg/ml qui permet de donner un diamètre de zone d'inhibition de 6,5 mm.

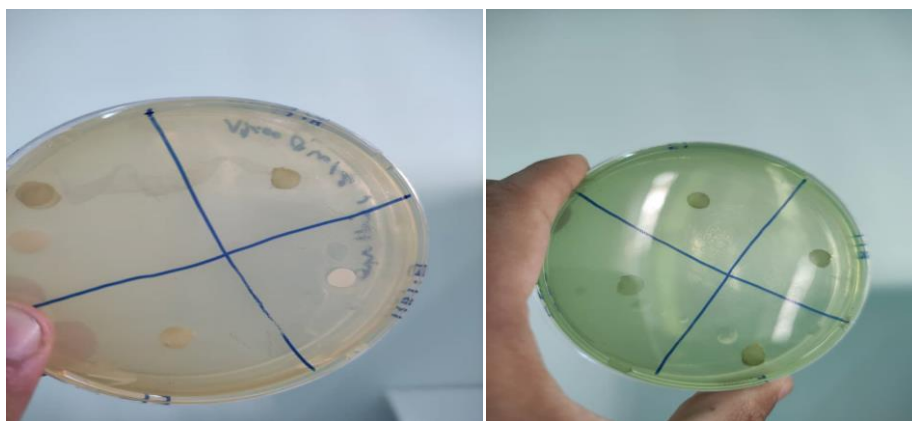


Figure 12: Effet antibactérien de différents extraits de *Ruta montana* L.

III.11. l'Activité anti moisissures sur sauce tomate :

❖ Par extrait d'éther de pétrole:

Ce test a été effectué dans le but d'évaluer l'activité antifongique des extraits de éther de pétrole (feuilles, fleur, tige). Après l'application des extraits étudiés (EBF, EBF 1, EBT) sur le

concentré de tomate et l'observation visuelle pendant une période 15 jours. (**Figure 12 et Tableau 11**)

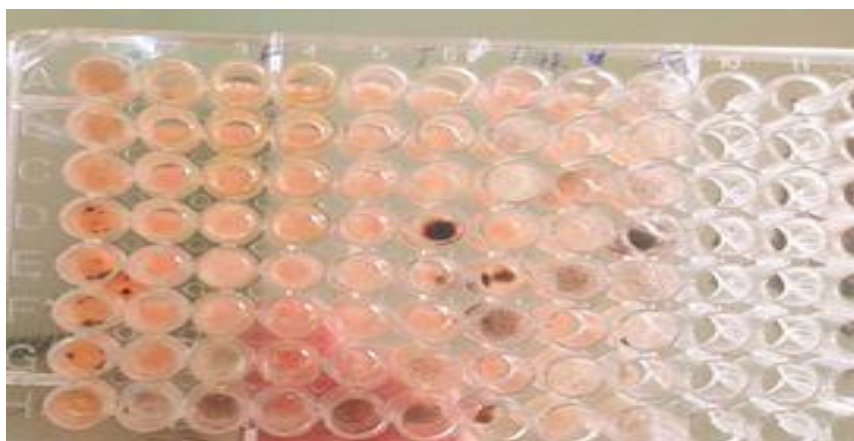


Figure 13: Résultat de l'activité anti-moisissures de sauce tomate.

Tableau 11: le taux d'infection des échantillons de la tomate

EBF	EBF I	EBT	VIDE	ETHER de Pétrol	CUIVER
31,25%	12,5%	31,25%	37,5%	25%	100%

❖ **Par extrait d'éthanol:**

Les résultats montrent qu'il n'y a aucun changement au niveau des échantillons sur lesquels les EBF, EBF I, EBT sont appliqués, et donc tous les extraits de la plante *Ruta montana* L. et le témoin positif (la solution de cuivre) ont manifesté une excellente activité anti-moisissures avec un pourcentage de contamination égale à (0%) Aucune contamination.

On peut conclure que les extraits qu'on a appliqués ont lutté contre toute contamination de moisissures donc probablement ses extraits contiennent des composants ayant une activité anti-moisissures. Cette excellente activité anti-moisissures avec le faible pourcentage de toxicité des extraits étudiés peut être très utile dans l'industrie de la conservation alimentaire pour la fabrication des produits bio-conservateurs.

III.12. Effet répulsif sur l'insecte des céréales stockées *Tribolium castaneum*.

Les pourcentages de répulsion des différentes doses de des différentes d'extraits + Ethanol. sont récapitulés dans les **figure 13 , 14, 15 (Annexe 03)**. Les différentes doses (5 - 2,5 - 1,25 et 0,62 μ L) de extraits (tiges, feuilles, fleurs). Ont occasionné respectivement (20%, 20%, 20%, 60%) (60%, 20%, 60%, 60%) (20%, 20%, 100%, 60%) de répulsion vis-à-vis des adultes de *Tribolium constanum*. Ceci montre clairement que le pourcentage de répulsion augmente en fonction de la dose, l'effet le plus remarquable est enregistré avec la dose 1,25 μ L.

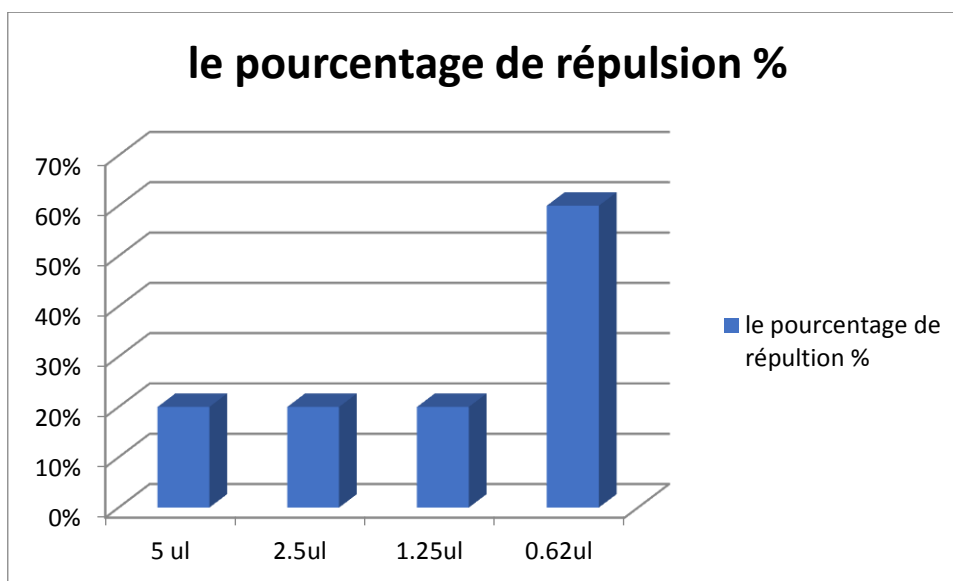


Figure 14:Le taux de répulsion de l'extrait de tige de *Routa montana* L.+Ethanol

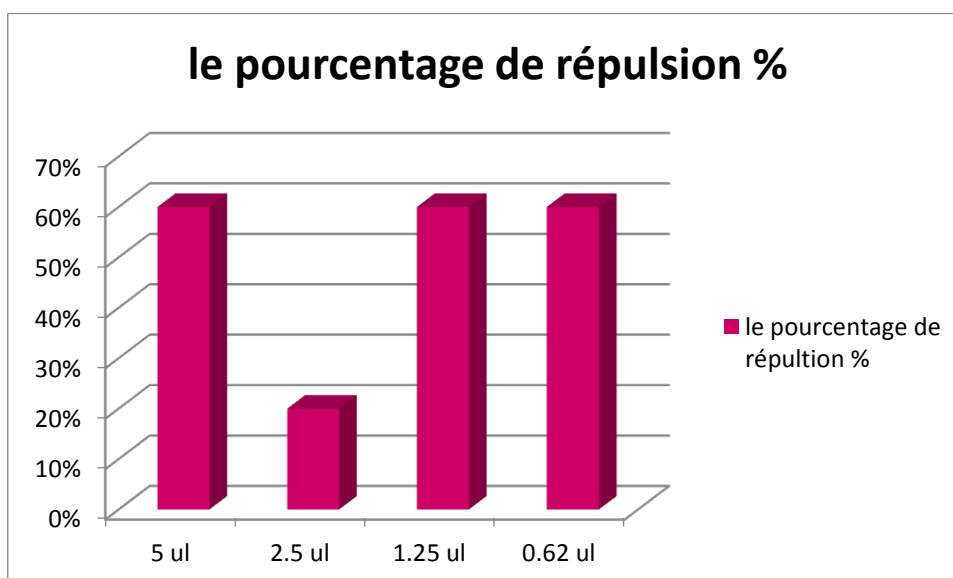


Figure 15:Le taux de répulsion de l'extrait des fleurs de *Routa montana* L. +Ethanol

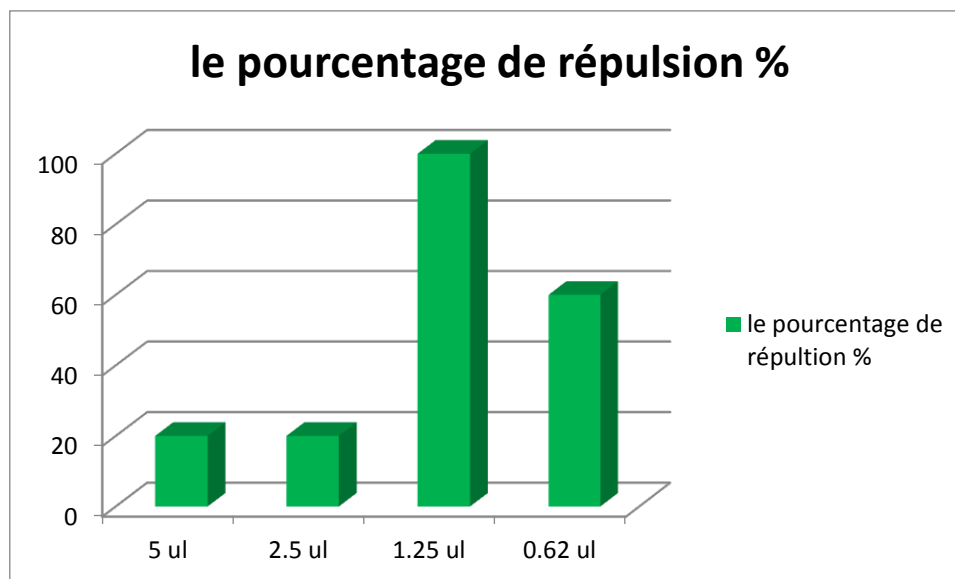


Figure 16:Le taux de répulsion de l'extrait des feuilles de *Ruta montana* L.+Ethanol.

A la lumière de ces résultats, on peut noter que l'extrait des parties des plantes *Ruta montana* L. a également une activité insecticide à l'égard des adultes de *Tribolium constanum* et appartiendrait selon le classement de **McDonald et al., 1970** à la classe **III**(Modérément répulsion) (**annexe 01**) avec un taux de répulsion moyen de 43,33%.

Tableau09: Classement de l'extrait de *R.montaana* L. on leur propriété de répulsion

Extrait	Ethanol
Taux de répulsion (%)	43,33%
Classe de repulsion	III
Effet	Modérément répulsion

Effet répulsif sur l'insecte des céréales stockées *Tribolium castaneum*.

Les pourcentages de répulsion des différentes doses de des différents d'extraits + Ethanol sont récapitulés dans les **figure 16, 17, 18 (Annexe 04)**. Les différentes doses (5 - 2,5 - 1,25 et

0,62µL) des extraits (tiges, feuilles, fleurs). ont occasionné respectivement (20%, 60%, 20%, 100%) (20%, 60%, 20%, 60%) (20%, 60%, 20%, 20%) de répulsion vis-à-vis des adultes de *Tribolium constanum*. Ceci montre clairement que le pourcentage de répulsion augmente en fonction de la dose, l'effet le plus remarquable est enregistré avec la dose 2,5µL.

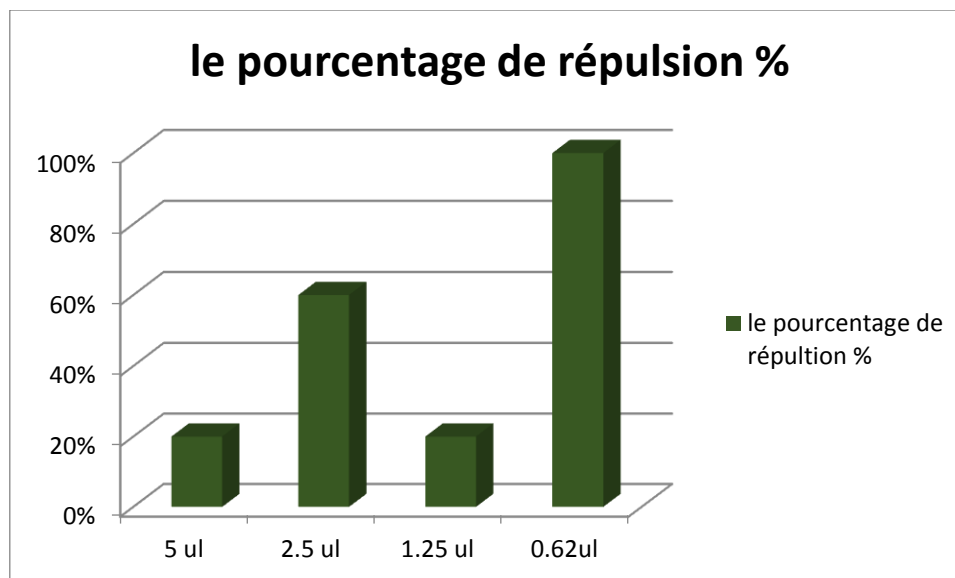


Figure 17:Le taux de répulsion de l'extrait de tige de *Ruta montana* L. +Ether de pétrol

Dans cette étude nous avons tenté d'évaluer l'effet répulsif des extraits de plante *Ruta montana* L. vis-à-vis de l'insecte *Tribolium constanum*. La rareté des travaux et des études traitant effet toxique et répulsif de ces plantes pourraient dépendre de sa composition chimique et du niveau de sensibilité des insectes.

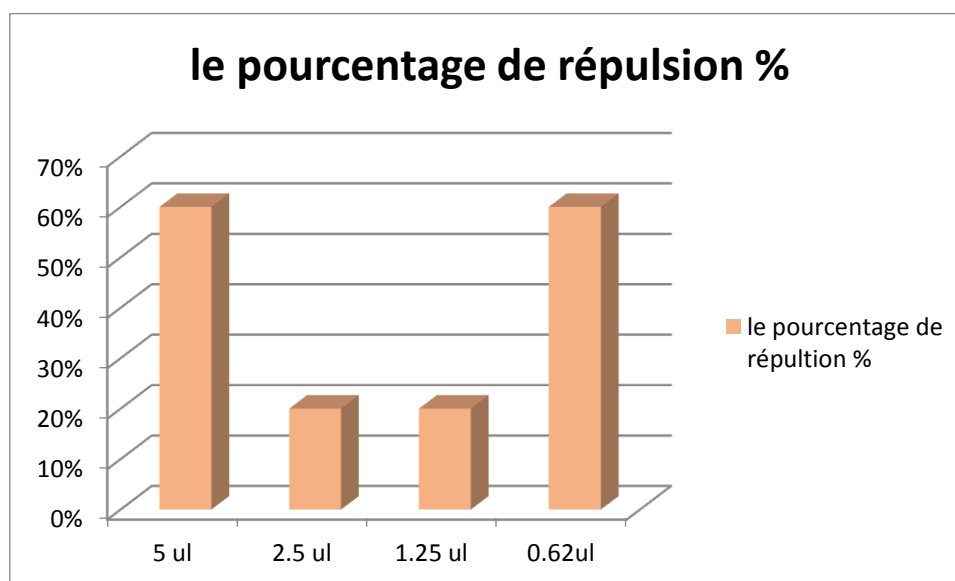


Figure 18:Le taux de répulsion de l'extrait de fleurs de *Routa montana*L. +Ether de pétrole

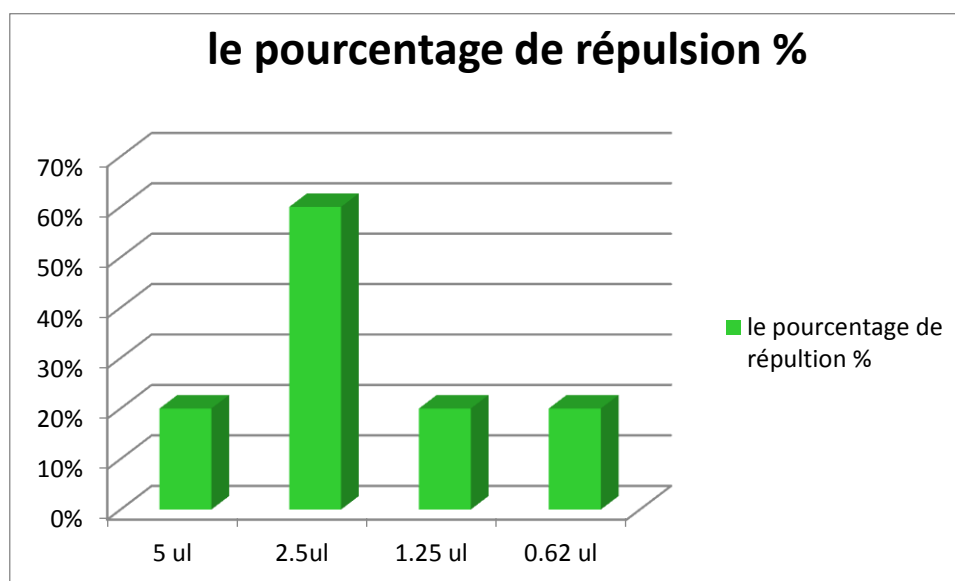


Figure 19: Le taux de répulsion de l'extrait de feuilles de *Ruta montana* L.+Ether de pétrole

A la lumière de ces résultats, on peut noter que l'extrait des parties des plantes *Ruta montana* L. a également une activité insecticide à l'égard des adultes de *Tribolium constanum* et appartiendrait selon le classement de **McDonald et al., 1970** à la classe **III** (Modérément répulsion) (**annexe 01**) avec un taux de répulsion moyen de 40%.

Tableau 10: Classement de l'extrait de *R.montana* L. on leur propriété de répulsion

Extrait	Ether de pétrol
Taux de répulsion (%)	40%
Classe de repulsion	III
Effet	Modérément répulsion

Conclusion :

En conclusion, cette étude a été réalisée dans le but de caractériser phytochimiquement et biologiquement la plante *Ruta montana*, et d'évaluer ses activités biologiques, notamment ses propriétés anti-moisissures et anti-bactériennes. Les principaux résultats et conclusions obtenus sont les suivants :

Caractérisation phytochimique : L'analyse phytochimique de *Ruta montana* L.a révélé la présence de composés bioactifs tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpènes et les tanins. Ces composés sont connus pour leurs activités biologiques diverses.

Activité anti-moisissures : Les extraits de *Ruta montana* L.ont montré une activité inhibitrice significative contre la croissance des moisissures. Cette propriété pourrait être attribuée à la présence des composés phytochimiques tels que les alcaloïdes et les flavonoïdes, qui ont démontré des effets antifongiques dans d'autres études.

Activité antibactérienne : Les extraits de *Ruta montana* L.ont également montré une activité antibactérienne prometteuse contre certaines souches bactériennes testées. Ces résultats suggèrent que la plante pourrait être utilisée dans le développement de nouveaux agents antibactériens.

A la lumière de l'ensemble des résultats indiquent le potentiel de *Ruta montana* L. en tant que source naturelle de composés bioactifs ayant des activités biologiques intéressantes.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- **Ait My, (2006).**Plantes Médicinales De Kabylie. Ed. Ibispress. Paris.
- **Ait Youcef M. (2006).** « Plantes Médicinales De Kabyle ». Préface De Docteur Jean-Philippe Brette. Ed. Ibis. Presse. Paris, P 48-53, P 349, 2006.
- **AllouniR. (2018).**Etude Des Aspects Morphologiques, Phytochimiques Et Pharmacotoxicologiques De La Plante RutaMontana. ThèseDe Doctorat, UniversitéFerhat Abbas, Sétif. P : 3-6.
- **Al-SagairO. (2004).**Experimentally Challenged Reactivity Of The PituitaryAdrenal-Hematological Axis After RutaChalepensisAdministration. The Journal Of AppliedResearch, 4(4), 606-609.
- **AttouK. (2011).**Contribution A L'étude Phytochimique Et Activités Biologiques Des Extraits De La Plante RutaChalepensis (Fidjel) De La Région d'Ain Témouchent. Mémoire De Magister, Universite Abou BekrBelkaid, Tlemcen. P : 3-4.
- **Baba Aissa F. (1991).**Les Plantes Médicinales En Algérie, Ed. Addiwane, Alger, P 184.
- **Bassarde R., Cuissance(1981).** P. Arbres Et Arbustes D'ornement Des Régions Tempérées Et Méditerranéennes .Paris.
- **BenkikiN. (2006).**Etude Phutochimique Des Plantes MedicinalesAlgeriennes:RutaMontana, MatricariaPubescens, HypericumPerfoliatum. ThèseDe Doctorat, UniversitéElHadjLakhdar, Batna. P : 11-12.
- **BenzianeM. (2007).**Screening Photochimique De La Plante Ruta Montana. Extraction De L'huile Essentielle Et De La Rutine. Activité Antioxydant De La Plante. MémoireDe Magister, UniversiteEs-Senia, Oran. P : 38-41.
- **BezangerB. L., PinkasM. etTorckM. (1986).**..Les Plantes Dans La Thérapeutique Moderne, 2eme Ed.
- **BottineauM. (2010).**Botanique, Systématique Et Appliquée Des Plantes A Fleurs. Lavoisier. 772-773.
- **ChouchaH. et KahoulS. (2017).**Etude Du Pouvoir Allélopathique D'huile Essentielle De RutaMontana (Clus.) L. Et De SaturejaMontana L. Sur La Germination Des Céréales Et Des Quelques Mauvaises Herbes. Mémoire De Master, Université Mohamed Boudiaf, Msila. P : 51
- **ClaisseR. (1993).**Plantes A Usage Dermatologique De La Pharmacopée Traditionnelle Marocaine. MédicamentsEt Aliments :L'approcheEthnopharmacologique. 172-173.

- **Daoudi A., Najem M., Bachir L., Ibijbijen J. Et Nassiri L. (2015).** Journal Of Animal & Plant Sciences (J. Anim. Plant Sci. ISSN 2071-7024). 40(3). P- 6712, 6 730.
- **Delattre J., Beaudeau J. L. Et Bonnefont-Rousselot D. (2005).** Radicaux Libres Et Stress Oxydant (Aspects Biologiques Et Pathologiques). Médecine/Sciences 2011; 27: 405-
- **Doerper S. (2008).** Thèse Doctorat « Modification De La Synthèse Des Furocoumarines Chez Ruta Graveolens L. Par Une Approche De Génie Métabolique », P : 39-41.
- **Duval J. (1992).** La Culture De La Rue. AGRO-Blo.3: 6-45.
- **Eberhard T. Robert A. Et Annelisel. (2005).** Plantes Aromatiques : Epices, Aromates, Condiment Et Leurs Huiles Essentielles. Ed. Tee & Doc, Paris, 521p.
- **El Haji M. (1995).** Contribution A L'étude Des Plantes Toxiques Médicinales Dans Les Régions Nord Du Maroc. (Provinces De Tanger, Tétouan, Et Chefchaouan). Thèse De Doctorat Vétérinaire, Institut Agronomique Et Vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc, 1995, P- 275.
- **Hammiche V., Merad R. Et Azzouz M. 2013).** Plantes Toxiques A Usage Médicinal Du Pourtour Méditerranéen, Springer, P 212.
- **Kara Ali, W. (2017).** Effet Des Extraits De La Plante Médicinale Ruta Montana (الفيجل) Sur La Cardio Toxicité Induite Per La Doxorubicine Et Sur La Multi-Drug Résistances (MDR) Des Cellules Cancéreuses Ovarien (A2780). 126page. These De Doctora, Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie Department De Biologie Animale, Université Des Frères Mentouri, Constantine, Algerie.
- **Lahsissene H., Kahouadj A., Tijane M. Et Hseini S. (2009).** Catalogue Des Plantes Médicinales Utilisées Dans La Région De Zaër (Maroc Occidental). Lejeunia, Revue De Botanique. BE ISSN 0457- 4184, N° 186.
- **LE Moine, E. (2001).** Les Plantes : Aromatiques Et Médicinales; Ed : Molière (Paris). P92.
- **Magoura M. et Moussaoui Z. (2020).** Etude Comparative De L'efficacité De Quelques Extraits Organiques Des Espèces De La Plante Ruta. Mémoire De Master, Université Mohamed Boudiaf, M'sila. P : 29.
- **Mansour S. (2015).** Evaluation De L'effet Anti Inflammatoire De Trois Plantes Médicinales : Artemisia Absinthium L., Artemisia Herba Alba Asso. Et Hypericum Scabroides. Thèse De Doctorat En Biologie, Université Des Sciences Et De La Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, 23-27 Pp.

- **McDonald, RP (1970).** Les fondements théoriques de l'analyse factorielle principale, de l'analyse factorielle canonique et de l'analyse factorielle alpha. *Journal britannique de psychologie mathématique et statistique* , 23 (1), 1-21.
- **Miller, P.(1785).**Dictionnaire Des Jardiniers, Ouvrage Traduit De l'Anglais Sr La Huitième Edition, P 410-411.
- **PollioA. De NataleA. Et AppetitiE. (2008).**Continuity And Change In The Mediterranean Medical Tradition: RutaSpp. (Rutaceae) In HippocraticMedicine And Présent Practices. *J. Ethopharmacol*116: 82- 469.
- **QuezelP. Et SantaS. (1963).**Nouvelle Flore d'Algérie Et Des Régions Désertique Méridionales. Tome 2.CNRS, Paris. P- 592.
- Rubin, M. **(1988).**Phytothérapie, 1ere Ed., Presses Universitaires De France.
- **SqalliH. ,ElOuartiA.,EnnabiliA.,IbnsoudaS.,FarahA.,HaggoudA.,HouariA. et Iraqui (2007).**Evaluation De L'effet Antimycobactérien De Plantes Du Centre-Nord Du Maroc. *Bulletin De La Société De Pharmacie De Bordeaux*. 146: 271- 288.
- **StuartA. G. (2005).** (<http://Www.Herbalsafety.Utep.Edu/Herbs-Pdfs/Rue.Pdf>).
- **TakhtajanA. (2009).**Flowering Plants; Ed 2: Springer. P- 33; 41; 375.
- **ThielensA.(1862).**..Flore MedicaleBelge, P 255-256.
- **VillarsM. (1789).**..Histoire Des Plantes De Dauphiné (Contenant Les Espèces, Les Caractères, Les Synonymes Et Les Vertus Générales), P 582- 583.

ANNEXES

Annexes :

Annexe 01 : les pourcentages de l'effet répulsif des extrait de *Ruta montana*+*Ethanol*. Sur l'insecte *Tribolium constanum*.

			Ethanol					
dose après 24h	C=5		C=2,5		C=1,25		C=0,62	
	V	M	V	M	V	M	V	M
Tige	3	2	1	4	3	2	0	5
fleur	1	4	3	2	2	3	1	4
feuille	2	3	1	4	3	2	3	2
Moyenne De PR%	43,33%							

Annexe 01 : les pourcentages de l'effet répulsif des extrait de *Ruta montana*+*Ether de pétrol*. Sur l'insecte *Tribolium constanum*.

				Ether de pétrol								
dose après 24h	C=5		C=2,5		C=1,25		C=0,62					
	V	M	V	M	V	M	V	M				

Tige	2	3	2	3	2	3	1	4
fleur	1	4	3	2	1	4	1	4
feuilles	3	2	3	2	0	5	1	4
Moyenne De PR %	40%							

Annexe 03 : Nombre moyen d'adultes *Tribolium constanum* recensées dans les deux moitiés de papier filtre traité à différentes doses d'extrait de *Ruta montana* + Ethanol. et le pourcentage de répulsion de chaque dose.

La dose	Parties de La plante	Nombre de l'individu		Pourcentage de répulsion (%)
		Dans la partie traîtée	Dans la partie non traitée	
5 µl	Tige	3	2	20%
	fleur	1	4	60%
	feuille	2	3	20%
2,5 µl	Tige	2	3	20%
	fleur	3	2	20%
	feuille	3	2	20%
1,25 µl	Tige	2	3	20%
	fleur	1	4	60%
	feuille	0	5	100%
0,62 µl	Tige	1	4	60%
	fleur	1	4	60%
	feuille	1	4	60%

Annexe 04 : Nombre moyen d'adultes *Tribolium constanum* recensées dans les deux moitiés de papier filtre traité à différentes doses d'extrait de *Ruta montana* + Ether de pétrol. et le pourcentage de répulsion de chaque dose.

La dose	Parties de La plante	Nombre de l'individu		Pourcentage de répulsion (%)
		Dans la partie traitée	Dans la partie non traitée	
5 µl	Tige	2	3	20%
	fleur	1	4	60%
	feuille	2	3	20%
2,5 µl	Tige	1	4	60%
	fleur	3	2	20%
	feuille	1	4	60%
1,25 µl	Tige	3	2	20%
	fleur	2	3	20%
	feuille	3	2	20%
0,62 µl	Tige	0	5	100%
	fleur	1	4	60%
	feuille	3	2	20%