

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA



**FACULTE DES SCIENCES DE L'INGENIEUR
DEPARTEMENT DE CHIMIE INDUSTRIELLE**

**MEMOIRE DE PROJET DE FIN
D'ETUDE**
POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME
DE MASTER EN GÉNIE DES PROCÈDES ORGANIQUES

OPTION : MATÉRIAUX ET PRODUITS ORGANIQUES INDUSTRIELS

**EXTRACTION ET COMPARAISON DE L'ACTIVITE
BACTÉRICIDE ET INSECTICIDE D'HUILE
ESSENTIELLE *DE RUTA MONTANA***

Présenté par :
HAMDANI FATIMA ZAHRA

PROMOTEUR :

Dr: Mr. BOUTOUMI H.

BLIDA 2011

Remerciements

Avant toute chose, je tiens à remercier Dieu Tout- Puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

Je tiens sincèrement à remercier mon promoteur, Monsieur BOUTOUMI pour ces précieux conseils, sa patience, sa disponibilité et son efficace encadrement, sa sympathie et son attitude positive et encourageante tout au long de ce travail. J'ai eu le privilège de bénéficier de son enseignement, de son savoir et de sa grande expérience qui, alliés à ses qualités humaines resteront pour moi un modèle.

J'ai effectué ce travail dans des laboratoires du département de chimie industrielle; et j'exprime mes respectueux remerciements à : Mr Zobire, Mme Zahira, Mlle Zahia, et tous les membres du département, du chef au simple travailleur pour leur accueil chaleureux, leur sympathie ainsi que leur idées constructives.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et vive reconnaissance à Monsieur Benjouhar, directeur de la société ALPHIT et leur informaticien Mr Zobire pour leur disponibilité malgré leurs nombreuses occupations, leur contribution et leurs aides concernant la réalisation des analyses par GC/MS des deux huiles essentielles. J'ai trouvé en lui un directeur toujours disponible et ouvert.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance et mes remerciements à Mme Youcefi Djamilia qui m'a énormément aidé et encouragé surtout pendant les moments difficiles

Je tiens à exprimer également ma reconnaissance aux travailleurs de la bibliothèque de médecine pour leur accueil, leur aide et surtout pour leurs grandes qualités humaines.

Je tiens à remercier Farid, mon collègue d'Agronomie ainsi que Soumia et Imane, mes collègues de biologie pour la réalisation des tests biologiques.

Je remercie par ailleurs l'ensemble des membres du jury de m'avoir fait l'honneur de juger mon travail et d'assister à la soutenance de ma thèse.

Merci à mes proches notamment mes parents, mes sœurs et mes deux frères Mohammed et Abdellah. Sans vous, rien n'aurait été possible, merci de votre soutien moral et de votre amour...

J'ai exprimé mes vifs remerciements à mes amies Amira, Faiza, Farida, Djamila, Amina, Asma, Hafidha, Hassiba, Hichem, Mouloud, Chahinaze et Yasmine pour leurs soutiens constant, leurs conseils, et pour tous les bons moments que nous avons passé ensemble.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Enfin mes remerciements sont particulièrement adressés à Zahra Bounab, ma meilleur amis, qui est la personne la plus importante à mon cœur, de m'avoir soutenu et patiemment réconforté et encouragé surtout pendant les moments difficiles Et aussi pour sa patience et ses conseils

Dédicace

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde mes chers parents qui n'ont permis de continuer mes études dans les meilleures conditions et qui m'ont appris à ne jamais baissé les bras.

Je dédie aussi cette modeste réalisation à :

Mes très chers frères : Mohammed et Abdellah que dieu le bénisse.

Mes très chères sœurs.

A tous mes amis : Amira, Faiza, Djamila, Amina, Hafidha, Asma, Hicham, Abdelhak.

A ma meilleur amis et chère sœur Zahra Bounab qui m'a toujours encouragé et conseiller.

A toute personne ayant contribué à l'élaboration de ce travail, par un conseil, ou même un sourire.

HAMDANI Fatima Zahra

Résumé

Les huiles essentielles de la rue de montagne d'Algérie « *Ruta montana* » extraites par entraînement à la vapeur d'eau pour le mois de Février et d'Avril, possèdent des indices physico-chimiques différents et ils sont composés essentiellement des cétones Aliphatique avec des teneurs respectives de 94% pour le mois de Février et 95% pour le mois d'Avril.

Ces huiles sont caractérisées par la présence de 2-Undécanone comme chémotype avec des compositions respectives de 59.34% pour le mois de Février et 49.39% pour le mois d'Avril.

L'activité antibactérienne des deux huiles essentielles est moyenne vis-à-vis des bactéries à gram + (*Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*). Cependant l'activité insecticide vis-à-vis les larves de *Tuta Absoluta* est très importante et dépend du stade de développement de la rue de montagne.

En effet l'huile essentielle de la rue de montagne pour le mois de Février possède un effet choc et celle d'Avril possède un effet prolongé.

Abstract

Essential oils of *Ruta montana* an Algerian spice were extracted by steam water during February and April they have different physicochemical index and they are composed mainly of aliphatic Ketones with respective contents of 94% for those of February and 95% for those of April.

These essential oils are characterized by the presence of 2-Undecanone as chemotypes, their respective compositions are of 59.034% for February and of 49.39% for April.

These two essential oils were tested for Antimicrobial activity, a moderate kind of inhibition against *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus* was observed. However, the insecticidal activity against *Tuta Absoluta* larvae was very significant and it has relation with the stage of plant development. Indeed the *ruta Montana* essential oil for the month of February has a shock effect and that of April possesses a prolonged effect

ملخص

تحتوي الزيوت الطيارة لنبات الفيجل البري الجزائرية و المستخلصة بواسطة بخار الماء لشهري فبراير و أبريل على معاملات فيزيائية وكيميائية مختلفة. تتكون هاته الزيوت من كيتونات بنسبة 94 % في شهر فبراير و 95 % لشهر ابريل. كما تتميز بوجود كيموتيب والمتمثل في 2-انديكانون بمقدار نسبي قيمته 59.34 % في شهر فبراير و 49.39 % في شهر ابريل.

فعالية الزيوت الطيارة المستخلصة في هذين الشهرين متوسط ضد+ gram (*Enterococcus faecalis et Sataphylococcus aureus*)، غيران فعاليتها ضد بركات الطماطم مهمة جدا وتختلف باختلاف مرحلة تطور نبتة الفيجل.

في الواقع الزيوت الطيارة لنبات الفيجل البري الجزائرية لشهر فبراير لها أثر فوري ضد بركات الطماطم، أما الزيوت المستخلصة في شهر ابريل فلها تأثير طويل الأمد .

Sommaire

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE 1	
PRÉSENTATION DE LA PLANTE ÉTUDIÉE.....	3
1.1. Introduction.....	3
1.2. Classification botanique.....	4
1.3. Nom commun.....	4
1.4. Description botanique.....	4
1.5. Caractéristiques.....	5
1.5.1. Organes reproducteurs.....	5
1.5.2. Graine.....	5
1.5.3. Habitat et répartition	5
1.6. Culture.....	5
1.6.1. Conditions propices.....	5
1.6.2. Récolte et traitement.....	5
1.7. Composition chimique de la rue.....	6
1.8. La toxicité de la rue.....	6
1.9. Utilisations.....	7
1.9.1. Effet pesticide de la rue.....	7
1.9.2. Culinaires.....	8
1.9.3. Effet thérapeutique de la rue.....	8
CHAPITRE 2	
HUILE ESSENTIELLE.....	9
2.1. Introduction.....	9
2.2. Procédés d'extraction.....	9
2.2.1. Procédés d'extraction directe.....	9
2.2.1.1. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau.....	9
2.2.1.2. Hydrodistillation	10
2.2.1.3. L'expression à froid.....	10
2.2.1.4. L'extraction assistée par micro-ondes.....	10
2.2.2. Les procédés d'extraction indirecte	11

2.2.2.1. Extraction par solvant fixe.....	11
2.2.2.1.1. Enfleurage	11
2.2.2.1.2. Macération (Enfleurage à chaud).....	11
2.2.2.2. Extraction par solvants volatils.....	11
2.2.2.3. Extraction par dioxyde de carbone supercritique ou liquide.....	12
2.3. Huile essentielle de la rue.....	12
2.4. Composition des huiles essentielles.....	13
2.4.1. Les terpénoïdes	13
2.4.2. Monoterpènes.....	13
2.4.3. Les sesquiterpènes.....	14
2.4.4. Les composés aromatiques.....	15
2.5. Influence du procédé d'obtention.....	15
2.6. Les biopesticide d'origine végétale	15
2.6.1. Définition.....	15
2.6.2. Critères de base des biopesticides d'origines végétale.....	16
2.6.2.1. Sélectivité.....	16
2.6.2.2. Spécificité	16
2.6.2.3. Biodégradabilité.....	16
2.6.2.4. Résistance.....	16
2.6.2.5. Biodisponibilité.....	17
2.7. Les moyens de lutte.....	17
2.7.1. La lutte préventive.....	17
2.7.2. La lutte biotechnologique.....	18
2.7.3. La lutte curative.....	18
2.7.4. La lutte biologique.....	19
CHAPITRE 3	
MAT É RIELS ET M É THODES	25
3.1. Matériel végétal.....	25
3.2. Matériel biologique.....	25
3.2.1. L'insecte étudié	25
3.2.1.1. L'infestation de la plante hôte.....	26
3.2.1.2. Aperçu générale sur <i>Tuta absoluta</i>	26
3.2.1.2.1. Position systématique.....	26

3.2.1.2.2. Les synonymes de <i>Tuta absoluta</i>	26
3.2.1.3. Les plantes hôtes	27
3.2.1.4. Morphologie.....	27
3.2.1.5. Biologie.....	28
3.2.2. Les souches microbiennes testées.....	28
3.2.2.1. Escherichia coli.....	29
3.2.2.2. Staphylococcus aureus.....	29
3.2.2.3. Pseudomonas aeruginosa.....	29
3.2.2.4. Enterococcus faecalis	29
3.3. Analyse chromatographique des huiles essentielles.....	30
3.4. Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau.....	30
3.5. Application de l'huile essentielle de la rue sur les larves de la mineuse de la tomate	31
3.6. Estimation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la rue.....	31
3.7. Méthode de calcul	34
3.7.1. Correction de la mortalité	34
3.7.2. Calcul des doses létales 50 et 90.....	34
CHAPITRE 4	
RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.....	36
4.1. Analyse des deux huiles essentielles de la rue de montagne.....	36
4.1.1. Détermination des indices physico-chimiques.....	36
4.1.2. Composition chimique des huiles essentielles analysées par la CG/MS.....	37
4.2. Évaluation de l'activité biologique des deux huiles essentielles de la rue de montagne.....	39
4.2.1. Évaluation de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles de la rue de montagne contre quatre souches de référence.....	39
4.2.2. Évaluation de l'activité insecticide des deux huiles essentielles de la rue de montagne contre les larves de la mineuse de la tomate	40
CONCLUSION GÉNÉRAL.....	43

Symboles et Abréviations

AFNOR: Association Française de normalisation.

ATCC: American Type Culture Collection

°C : degré Celsius.

CG-MS: Chromatographie en phase gazeux couplée à spectrométrie de masse.

Cm: centimètre.

D_i : Dose.

DL₅₀: Dose létale 50.

DL₉₀: Dose létale 90.

g: gramme.

h: heures.

I_A : Indice d'acide.

I_E : Indice d'ester.

n²⁰_D : Indice de réfraction.

GN : Gélose nutritive.

L: litre.

M : le pourcentage de morts dans la population traitée.

M_c : le pourcentage de mortalité corrigé.

M_t : le pourcentage de morts dans la population témoin.

mg : milligramme.

ml : millilitre.

Mm : millimètre

min: minute.

µm: micromètre.

t_R: Temps de retentions.

% : Pourcentage.

Liste des figures

Figure 01 : La Rue (*Ruta montana*)

Figure 02 : *Bracon sp*

Figure 03 : *Pseudapanteles dignus*

Figure 04 : *Trichogramma sp*

Figure 05 : *Adulte de Nesidiocoris tenuis*

Figure 06 : Élevage des adultes de *Tuta absolutat*.

Figure 7 : les infestés par les larves de la mineuse

Figure 8 : Adulte de *Tuta absoluta*

Figure 9 : Œuf de *Tuta absoluta*

Figure 10 : Stade L1 de *Tuta absoluta*.

Figure11: Stade L2 de *Tuta absoluta*

Figure12 : Stade L3 de *Tuta absoluta*.

Figure13: Stade L4 de *Tuta absoluta*.

Figure14: La face dorsale de la nymphe

Figure 15: la face ventrale de la nymphe.

Figure 16: Dispositif de l'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau

Figure 17: Matériel de traitement

Figure 18: Préparation de l'inoculum.

Figure 19: Résultat des tests microbiologique.

Figure20(1): Chromatogramme de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois d'Avril obtenue par GC/MS.

Figure20 (2):Le spectre de masse de2-Décanone de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois d'Avril

Figure20 (3):Le spectre de masse de3-Décanone de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois d'Avril

Figure20 (4):Le spectre de masse de2-Undécanone de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois d'Avril.

Figure20 (5):Le spectre de masse de2-Dodécanone de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois d'Avril.

Figure20 (6):Le spectre de masse de3-Tridécanone de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois d'Avril.

Figure20 (7):Le spectre de masse de2-Tridécanone de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois d'Avril

Figure21 (1): Chromatogramme de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois de Février obtenue par GC/MS.

Figure21 (2):Le spectre de masse de2-Undécanone de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois de Février.

Figure21 (3):Le spectre de masse de2-Dodécanone de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois de Février.

Figure 22 : Couplage : chromatographe-spectromètre de masse

Figure 23: Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri.

Figure 24: Efficacité par contact de l'huile essentielle de la rue récolté au mois de Février après 72h.

Figure 25: Efficacité par contact de l'huile essentielle de la rue récolté au mois d'Avril après 72h.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Transformation des pourcentages de mortalité en Probits

Tableau N° 2 : les indices physico-chimiques des deux huiles essentielles de *Ruta montana*.

Tableau 3 : Composition chimique de l'huile essentielle de la *Ruta montana L* du mois de Février et d'Avril

Tableau 4 : activité antimicrobienne des deux huiles essentielles de la rue de montagne.

Tableau N°5 : Mortalité par contacte des insectes traités par les deux huiles essentielles de la rue de montagne.

Tableau N°06 : Efficacité des deux huiles essentielles de la rue de montagne après 72 heures d'exposition.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les pesticides de synthèse font partie désormais de la vie courante de l'être humain, cependant leur utilisation abusive et incontrôlée ne cesse de causer de graves conséquences, sur la santé publique, l'environnement, la contamination de l'eau, l'air et des sols, des résidus sur les denrées alimentaires, mais sans oublier la perte de l'efficacité de ces pesticides qui engendre des dégâts sur les cultures et l'équilibre écologique. Tout, cela a motivé la recherche des nouvelles alternatives afin de produire des pesticides d'actualité et en particulier la mise en page des pesticides efficaces et biodégradables [1]

Le comportement naturel des plantes vis-à-vis les insectes a permis de concentrer les travaux de recherche actuels pour le développement de biopesticide d'origine végétale. Dans la réalité ces plantes se défendent contre leurs ennemies ravageuses par la production des métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes, les polyphénols, les terpènes, les stéroïdes, les huiles essentielles, les lignanes, les sucres et les acides gras, qui ont d'importantes propriétés biologiques contre les insectes nuisibles [2,3]

L'effet de la plupart des plantes qui sont utilisées dans la lutte contre les ravageurs antiparasitaires de contrôle, plus que d'être insecticide sont insectistatique (régulateurs de croissance) [3], car elles inhibent le développement normal des insectes. Certaines plantes inhibent l'alimentation dans plusieurs façons : repousser l'alimentation, la supprimer ou l'empêcher ; d'autres inhibent la croissance, la production d'œufs et le développement [4].

Les extraits de plantes comme insecticides ont des avantages et des inconvénients. Parmi les avantages : leur action rapide, leur biodégradation, une faible toxicité sur les mammifères, la sélectivité, et un impact minimal sur les plantes [5]. Comme ces insecticides botaniques possèdent des molécules qui ont dérivées du métabolisme secondaire des plantes, ils présentent un effet limité sur les insectes utiles. D'ailleurs ils sont rarement toxiques pour les mammifères et l'homme, et comme ils ont des mécanismes d'action différents, le développement d'une résistance chez les insectes est limité [1]. Les principaux inconvénients sont : leurs coûts élevés, leur faible disponibilité, ainsi que la rareté des données de résultats fiables [5].

En particulier les huiles essentielles constituent un potentiel important pour la lutte contre les ravageurs.

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est d'évaluer, de comparer l'activité bactéricide et

insecticide de l'huile essentielle de la rue de montagne (*Ruta Montana*), récoltée durant les mois de Février et Avril.

Le travail que nous avons entrepris comporte deux parties précédé par une introduction générale :

- ❖ Une partie bibliographique qui nous éclaire sur la rue de montagne, les huiles essentielles, les biopesticides et les moyens de lutte contre *Tuta absoluta*.
- ❖ Une partie expérimentale qui est subdivisée en deux chapitres :
 - Le premier chapitre est consacré à la mise en œuvre de l'insecte et les souches microbiennes étudiés, la méthode d'extraction de la rue de montagne, Caractérisation physicochimiques de l'huile essentielle de la rue, Identification des principaux constituants par l'analyse de GC-MS et l'évaluation de leur activité antibactérienne et insecticide.
 - Le second chapitre abordera les différents résultats et leurs discussions.
 - En fin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus

CHAPITRE 1

PRESENTATION DE LA PLANTE

1.1. Introduction :

Les rutacées doit son nom à la rue et elles comprennent plus 700 espèces en grande partie arborescentes et appartenant aux pays tropicales et tempérées chaudes de globe.

C'est une famille par enchaînement et n'offrant qu'un petit nombre de caractères constants.

Une rutacée s'identifie cependant avec netteté par son appareil sécréteur constitué par des poches sécrétrices d'un type particulier et qui ne sont rencontrées dans aucune autre famille dites schizolysigènes.

Ces poches, toujours très superficielles, sont d'origine épidermique c'est ce qui explique qu'il suffit d'écraser légèrement une partie molle d'une rutacée pour qu'une forte odeur d'essence s'en dégage. Très abondantes sur les feuilles, elles apparaissent sous forme des points transparents.

Les fleurs possèdent un disque nectarifère intrastaminal, c'est-à-dire situé à l'intérieur des étamines, ce qui classe les rutacées dans l'ordre des térébenthènes ; leur formation résulte à la fois d'un écartement (de grée, schizein fendre) et de la multiplication des cellules délimitant la cavité à l'origine de la poche, et d'une lyse des cellules les plus internes de celle-ci. [6]

Le problème principal que peuvent poser les rutacées est en fait d'ordre dermatologique : souvent riches en furanocoumarines photosensibilisantes (ex. : bergaptène), elles sont parfois responsables de manifestations phototoxiques. [7]

Il existe plusieurs centaines d'espèces de *Ruta* :

Ruta montana, *Ruta graveolens* et *Ruta chalepensis* sont les plus connues et utilisées.

Les rues sont en effet des plantes médicinales traditionnelles. Ce dont désormais des plantes un peu délaissées en phytothérapie moderne car considérées, à juste titre, comme potentiellement trop toxiques. Par contre *Ruta graveolens* reste une plante utilisée en Homéopathie.

Nous limiterons notre étude à *Ruta montana*, herbe vivace que l'on rencontre à l'état spontané dans les montagnes calcaires de Midi ; à une odeur désagréable, et rarement qu'on trouve des insectes autour d'elle et elle a une grande activité insecticide. [6]

1.2. Classification botanique [8, 9 et 10]

Règne :	Végétal
Embranchement :	Spermaphytes
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous classe :	Dialypétales
Série :	Disciflores
Sous série :	Diplostémones
Ordre :	Sapindales (Rutales)
Famille :	<i>Rutacées</i>
Sous famille :	<i>Rutoidées</i>
Genre :	<i>Ruta</i>
Espèce :	<i>Ruta montana L</i>

1.3. Nom commun : rue de montagne.

1.4. Description botanique

La rue est une plante vivace (pérennes) glabre de forme presque arbustive. Sa tige est ligneuse au bas du plant. Ses feuilles bleu-vert sont alternes et profondément subdivisées en trois segments spatulés ou oblongs de 15 mm de longueur. Ses fleurs vert-jaune sont disposées en panicule ou corymbe terminale. Les feuilles et les fleurs sont très plates. (Figure 1) « Annexe B»,

Les plants à maturité mesurent environ 60 cm de largeur et de 40 à 100 cm de hauteur. La rue émet une odeur très forte, plutôt désagréable et le goût de ses feuilles est très amer et acre.

En Europe, la floraison a lieu en mai-juin et la fructification en fin d'été. On y distingue deux variétés cultivées, soit la variété *divaricata* qui possède des feuilles brillantes de couleur jaune-vert et la variété *variegata* dont les feuilles sont panachées. [6]

1.5. Caractéristiques [11]

1.5.1. Organes reproducteurs

Type d'inflorescence : racème de racèmes

Répartition des sexes : hermaphrodite

Type de pollinisation : entomogame

Période de floraison : Mai à Août

1.5.2. Graine

Type de fruit : capsule

Mode de dissémination : barochore

1.5.3. Habitat et répartition

Habitat type : garrigues méditerranéennes occidentales

Aire de répartition : européen méridional

1.6. Culture

1.6.1. Conditions propices

Dans son aire de distribution naturelle, on retrouve la rue dans des endroits abrités sur sol sec et pierreux ou calcaire. La rue croîtra cependant en sol humide ou sec en autant qu'il soit bien drainé. La rue va mieux persister et sera moins affectée par le froid dans un sol pauvre et sec que dans un sol très fertile. Le pH du sol doit se situer entre 5.8 et 8.3. [12,13]

1.6.2. Récolte et traitement

L'action médicinale des préparations galénique dépend du stade végétale de la plante, du moment de la récolte, et enfin de la manière dont les produits récoltés sont séchés et conservés celui qui récolte des plantes doit donc observer des principes bien précis, les éventuelles exceptions à ces principes généraux seront indiquées pour chaque plante.

La première récolte de la rue se fait à la deuxième année de croissance, pour l'utilisation fraîche, l'idéal de cueillir les jeunes tiges ou les feuilles juste avant la floraison. [14]

Le séchage de la rue à lieu en principe à l'ombre, ou du moins dans un endroit protégé contre le rayon trop fort du soleil ou au séchoir à des températures entre 29 et 43°C, elle est en reposées en baril de carton et passés au tamis de 6.4 mm pour en enlever les impuretés. [15]

1.7. Composition chimique de la rue

La rue est une plante médicinale qui contient plus de 120 composés chimique tels que les alcaloïdes, coumarines, huile essentielle, flavonoïdes, glucides furoquinolines et un peu de tanin repartis sur différentes parties de la plante (les racines, les feuilles et les fleurs), beaucoup de ces composés à une activité biologique, par exemple l'huile essentielle à effet répulsif des insectes et les alcaloïdes, coumarines à des propriétés bactéricide. [16, 17]

1.8. La toxicité de la rue

Les Furanocoumarines et l'huile essentielle de rue (*Ruta montana*), peuvent provoquer des troubles graves.

Les Furanocoumarines (psoralènes) sont phototoxiques. Elles induisent, par contact des feuilles contuses suivi d'une exposition au soleil, une dermatite aiguë qui ressemble à une brûlure du premier ou du deuxième degré. Secondairement la peau gardera une hyperpigmentation qui peut persister assez longtemps. Cette réaction phototoxique est accentuée par l'humidité. [18]

Plus grave, après absorption digestive, ces coumarines sont toxiques pour le rein et le foie, voire cancérogènes, car elles altèrent les acides nucléiques et peuvent ainsi provoquer des lésions du génome.

L'huile essentielle provoque des contractions du muscle de l'utérus ainsi que des hémorragies utérines. Les signes d'intoxications par la rue commencent par des troubles digestifs (douleurs, vomissements, hypersalivation) qui s'accompagnent rapidement de signes de choc (hypotension, troubles cardiaques), voire de convulsions. Parallèlement on peut observer des saignements génitaux. Plus tard, et selon la gravité de l'intoxication, il peut se développer une insuffisance rénale et hépatique pouvant conduire au décès. Il n'y a pas d'antidote à l'intoxication par la rue (*Ruta montana*, *Ruta graveolens* ou *Ruta chalepensis*). L'empoisonnement par la rue est en

général volontaire pour provoquer un avortement. Il faut rappeler que l'avortement est le plus souvent interdit en Amérique du sud. Les femmes enceintes doivent éviter de consommer des extraits de rue même en petite quantité car des études sur l'animal ont montré que des extraits rue provoquent des malformations fœtales. [19]

1.9. Utilisations

1.9.1. Effet pesticide de la rue

La rue, de par sa forte odeur et ses composés puissants, est utilisée pour le contrôle des ravageurs. Elle repousse le coléoptère japonais (insecte nuisible qu'on ne retrouve au Québec). Elle est efficace contre les insectes comme les doryphores de la pomme de terre, les tanaïses et les mouches d'étables et les domestiques ainsi que les puces. Et l'extrait à l'éther de leurs graines est efficace contre le puceron de la féverole (*Aphis craccivora*). [13, 20]

L'extrait à l'eau-acéto-éthanol de la rue possède des propriétés antibactériennes mais insensibles contre les levures antifongiques. Cependant elle est efficace entre autres contre des maladies de plante telles que la tumeur du collet (*Agrobacterium tumefaciens*), la pourriture molle (*Erwinia carotovora*), la pustule bactérienne (*Xanthomonas phaseoli*) et la tache bactérienne (*Pseudomonas syringae*). [21]

Selon le chercheur Doug Walker de l'Université de Californie à Davis, la rue est un attractif très puissant pour l'aleurode des serres (*Trialeurodes vaporariorum*). On peut l'utiliser avantageusement en plaçant un ou des plants de rue dans les serres afin de dépister les aleurodes. Si celles-ci sont présentes dans la serre, elles se retrouveront d'abord sur la rue. Les lâchers de guêpes parasitaires (*Encarsia formosa*) se feront alors au besoin.

1.9.2. Culinaires

Au Moyen-Orient, la rue est utilisée dans la fabrication d'un produit à base de beurre de chèvre ou de brebis qui se conserve pendant quatre mois. [22]

Les Italiens utilisent la rue pour aromatiser un vin nommé "Grappa con ruta». La rue aromatisé aussi les alcools de type Vermouth. Les Africains du Nord utilisent les graines dans la préparation d'un vin de palme appelé laqmí.

En Angleterre, les feuilles étaient autrefois bouillies avec de la mélasse pour les conserver longtemps.

La rue est l'une des composantes du vinaigre des quatre voleurs, remède phytothérapeutique bien connu. Elle est aussi employée comme gargarisme.

En petite quantité également, les feuilles fraîches ou séchées servent à aromatiser les fromages, les viandes, la volaille, les jus de légumes, les ragoûts et les vins. [13,23]

1.9.3. Effet thérapeutique de la rue

La rue est connue depuis longtemps que le jus ou la sève des feuilles de la rue sert d'antidote contre les morsures de serpent, les piqûres d'insectes et les allergies dues aux plantes et elle est antispasmodique. Les Arabes en mâchent les feuilles, ce qui est sensé 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.

La rue est ant-helminthique, anti-amibique et aussi bonne pour renforcer les os et les dents. [24,15]

CHAPIRE 2 HUILE ESSENTIELLE

2.1. Introduction

Les huiles essentielles sont des substances qui dégagent par fois une odeur aromatique agréable. Elles sont volatiles à une température normale, les huiles essentielles sont emmagasinées dans des cellules spéciales, des glandes ou des canaux [25].

La nouvelle encyclopédie FUNK et WAGNALLS (2004) décrit des huiles essentielles comme étant des "liquides volatils la plupart du temps insolubles dans l'eau mais librement solubles dans les alcools, éthers et huiles végétales et minérales, elles sont habituellement non huileuses au contact " et ne laissent pas de tache durable sur le papier [26].

2.2. Procédés d'extraction :

Plusieurs techniques d'extraction des principes actifs des plantes sont de nos jours connues. Le choix de la méthode d'extraction peut être orienté par la localisation des sites de stockage des huiles essentielles. [27]

2.2.1. Les procédés d'extraction directe

2.2.1.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

C'est la méthode la plus utilisée pour l'obtention des composés d'arôme du fait qu'elle produit des substances volatiles facilement analysables par chromatographie en phase gazeuse et exigeant une technologie relativement simple, donc un cout plus bas ainsi qu'une reproductibilité facilement contrôlable. [28]

Le procédé d'entraînement à la vapeur d'eau est basé sur le fait que la plupart des composés odorants contenus dans les végétaux sont susceptibles d'être entraînés par des aérosols de vapeur d'eau. Pour ce faire la plante ou organe de la plante est placé dans un alambic, traversé par un courant de vapeur d'eau ; les principes volatils ; solubles dans l'eau, sont entraînés et après condensés, séparés du distillat par capillation [29]

2.2.1.2. Hydrodistillation

Ce mode a été proposé par GARNIER en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les huiles essentielles et pouvoir les séparer à l'état pur, le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau est ensuite porté à ébullition les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'huile essentielle sera alors séparée par différence de densité [30]

Si la densité de l'huile essentielle que l'on veut obtenir est très voisine de la densité de l'eau on doit utiliser un solvant organique (diéthyle éther, l'hexane, benzène...) pour les séparer. [27]

2.2.1.3. L'expression à froid

Cette méthode est réservée à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes des hespéridés. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices.

Dans les agrumes, l'huile essentielle se trouve répartie dans la partie externe du fruit, elle est contenue dans des ovules en forme de ballon appelés sacs d'huile ou glandes délimités par des tissus dégradés. Ces sacs d'huile sont difficilement cassables. Le reste de la matière végétale est soumis à des forces de pression qui détruisent les glandes d'huile essentielle ; Afin de faire sortir toute l'huile à récupérer ainsi l'huile est entraînée par un courant d'eau, l'essence est ensuite séparée par décantation [27,31].

2.2.1.4. L'extraction assistée par micro-ondes :

Dans ce procédé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle : l'huile essentielle est entraînée dans le mélange isotropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée (sans ajout d'eau pour les produits traités en frais). Très rapide et peu consommateur d'énergie, le procédé livre un produit qui, le plus souvent, est de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (temps de travail divisé par 5 à 10 et température plus basse). [31]

De façon caractéristique, les micro-ondes génèrent un chauffage rapide et intense des substances polaires avec une réduction importante dans le temps de réaction, et dans la plupart des cas des rendements élevés. [32]

2.2.2. Les procédés d'extraction indirecte

2.2.2.1. Extraction par solvant fixe

2.2.2.1.1. Enfleurage

Cette méthode n'est presque plus utilisée, car elle est très coûteuse. Elle représente environ 3% des cas. Elle est réservée aux organes de plante les plus fragiles, les fleurs en l'occurrence. Elle consiste à étendre les fleurs fraîches et odorantes sur une masse de graisse. Après un certain temps, l'huile essentielle passe des fleurs à la graisse et devient facile à récupérer, en lui ajoutant l'alcool, qui sert de vecteur à l'huile essentielle. Finalement par simple évaporation de l'alcool, on récupère l'huile essentielle seule. [27, 31]

2.2.2.1.2. Macération (Enfleurage à chaud)

A l'inverse de l'enfleurage où l'extraction s'effectuait à température ambiante. La macération utilise les mêmes graisses mais à chaud. Ce qui a pour effet d'augmenter leur pouvoir absorbant l'extraction est réalisée par immersion des fleurs fraîchement cueillies est constamment renouvelées dans un bac de graisse chaudes (50-70 °c) jusqu'à atteindre la saturation. Un épuisement à l'alcool absolu est généralement appliqué sur cette graisse. [33]

2.2.2.2. Extraction par solvants volatils

Les huiles essentielles ont la propriété d'être soluble dans la plupart des solvants organiques, particulièrement les hydrocarbures aliphatiques.

La matière végétale est mise en contact avec le solvant dans un extracteur spécifique, à une température bien définie, selon le solvant utilisé, une fois l'extraction est terminée, on obtient un produit appelé « concrète » ressemblant à une cire graisseuse à tendance à se solidifier, en raison de la présence de grasses entraînées par le solvant.

En fonction de la technique et du solvant, on obtient :

- des hydrolysats : extraction par solvant en présence d'eau.
- Des alcoolats : extraction avec éthanol dilué.
- Des teintures ou solution non concentrées obtenues à partir de matières premières traitées par éthanol ou mélange éthanol + eau

- Des résinoïdes où extrait éthanoliques concentrés.
- Des oléorésines et des concrètes qui sont respectivement des extraits à froids et à chaud au moyen de solvant divers. [34]

L'extraction est accompagnée d'un traitement secondaire pour séparer les fractions aromatique des graisses entraînées conjointement .En pratique une extraction à (-20°C) au moyen éthanol dans lequel les matières grasses sont peu solubles pour récupérer l'absolue comportant la majorité des composés odorants.

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée avec l'hydrodistillation.

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'exhane, l'éthanol, l'éther de pétrole, et moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone.

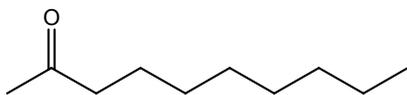
2.2.2.3. Extraction par dioxyde de carbone supercritique ou liquide

Il s'agit d'un procédé qui utilise le dioxyde de carbone sous sur deux état liquides ou supercritique, cette technique est basée sur le fait que certains gaz, notamment le dioxyde de carbone, dans des conditions de pression dites critiques ou supercritiques présentent un pouvoir de dissolution accru vis-à-vis de divers composés tels que les huiles essentielles, les aromes les colorants naturels etc.... [35].

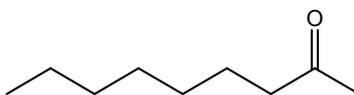
2.3. Huile essentielle de la rue

Les principaux constituants de l'huile essentielle de la rue sont : la nonan-2-one (methylheptycétone, de teneur comprise entre 3 à 60%) ou la undécan-2-one (méthylnonylcétone : 5 à 80%) ; les proportions respectives de ces deux composés varient vraisemblablement selon les races chimiques ; les autres constituants sont l'acétate de 2-nonyl et l'acétate de 2-undecyl d'isobutyrate de 2-nonyl, du 2-méthylbutyrate de 2-nonyl de pégeiérène, l'acide hexadecanique et de curcuphenol.

Le mode d'extraction de cette huile est entrainement à la vapeur d'eau avec un rendement de 0.75% à 1.2% à partir de *Ruta montana* L et 0.6% à partir de *Ruta graveolens* L. [35]



2-Decanone (C₁₀H₂₀O)



2-Nonanone (C₉H₁₈O)

2.4. Compositions des huiles essentielles

2.4.1. Les terpénoïdes

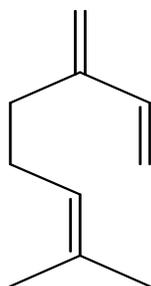
Ce sont des hydrocarbures de nature terpénique dont la formule générale est (C₅H₈)_n. Ces terpènes sont des substances volatiles à masse moléculaire peu élevée. Les plus fréquents sont les monoterpènes (C₁₀H₁₆), les sesquiterpènes (C₁₅H₂₄) sont moins répandus. [36]

2.4.2. Monoterpènes

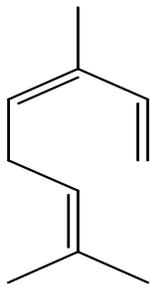
Constituants les plus simples de la série, les monoterpènes sont issus du couplage de deux unités « isopréniques ». Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène) monocycliques (alpha et sigma-terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène, sabinène). Ils constituent parfois plus de 90% d'huile essentielle (Citrus, térébenthines) [31].

La réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules fonctionnalisées :

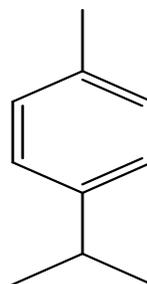
- Alcools : acycliques (Nonam-2-ol, linalol), monocycliques (menthol), bicycliques (bornéol, fenchol, ...);
- Aldéhydes : le plus souvent acycliques (géranial, néral, citronnelle, ...);
- Cétones: acycliques (Undecan-2-one), monocycliques (menthone, carvone...), bicycliques (camphre, fenchone, thuyone...);
- Esters : acycliques (Octylacétate, Decyl-2-acetate), monocycliques (acétate de menthyle, acétate d'α-terpinyle), bicycliques (acétate d'isobornyle);
- Ethers : (Oxyde de linalol, 1,8Cinéole);
- Phénols: (thymol, carvacrol).



Myrcène



Ocimène



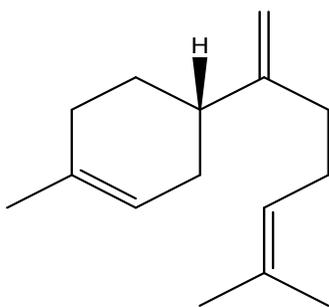
P-cymène

2.4.3. Les sesquiterpènes

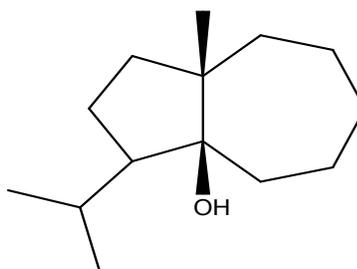
Sont des constituants habituels des huiles essentielles des végétaux supérieurs, ils peuvent intervenir dans les propriétés pharmacologiques attribuées à ces fractions volatiles.

Biologiquement, bon nombre de structures sesquiterpéniques sont des phytoalexines, d'autres semblent agir comme des régulateurs de croissance, d'autres enfin attirent les insectes ou agissent à l'encontre de ceux-ci comme des facteurs antinutritifs [31]

On trouvera quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles : carbures mono ou polycycliques (β -bisabolène, β -caryophyllène), les alcools (farnésol, carotol), les cétones (cis-longipinane-2,7-dione), les aldéhydes (sininsals) et les esters (acétate de cedryle) [36].



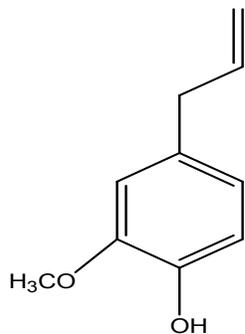
β -bisabolène



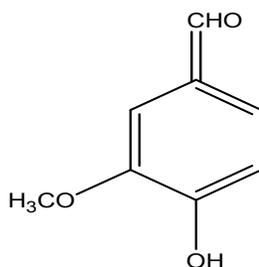
Carotol

2.4.4. Les composés aromatiques

Les composés de cette série sont beaucoup moins fréquents que les monoterpènes et les sesquiterpène. Les composés aromatiques dérivés du phenylpropane (C₃-C₆) sont très souvent des allyles et prophenylphenols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'origan telle que thymol [36].



Eugénol



Vanilline

2.5. Influence du procédé d'obtention

La labilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal. Au cours de l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations, etc. [27]

2.6. Les biopesticide

Il existe dans la nature de nombreux molécules ou organismes biologiques susceptibles de contrôler les phytoravageurs et les phytogènes.

2.6.1. Définition

Etymologiquement un biopesticide est un pesticide issu d'organismes vivants ou une substance toxique d'origine naturelle synthétisée par ces derniers. Philogene, et al. (2002) [37] qualifient un biopesticide comme un produit de protection des plantes qui n'est pas issu de la chimie organique de synthèse. Cette définition est controversée par certains scientifiques qui jugent que le terme de biopesticide doit être réservé aux agents de lutte biologique comme les arthropodes parasitoïdes ou prédateurs, les champignons entomopathogènes (*Beauveria Metharrizium*), les virus

entomopathogènes (granulose, polyedrose), les bactéries *Bacillus thuringiensis* (Berliner). Cette définition ne prend pas en considération les produits issus des métabolismes d'organismes biologiques comme les substances semiochimiques (phéromones, substances allelochimiques). Selon Philogene et al. (2002) [37] la définition doit être plus large et inclure les composés semiochimiques dans les biopesticides [38].

2.6.2. Critères de base des biopesticides d'origines végétale

2.6.2.1. Sélectivité

Les molécules allélochimiques végétales exercent sur les insectes une grande variété d'effets qui sont classés selon leur mode d'action en substances défensives, toxiques, répulsives ou dissuadant, antiphagostimulantes ou inhibitrices de la digestion, attractives, inductrices de capture ou de ponte, etc. En conséquence, ces molécules allélochimiques développent une action sélective [38].

2.6.2.2. Spécificité

Les études sur l'efficacité des fractions des plantes aromatiques démontrent qu'il existe une grande variation dans la sensibilité des espèces pour une même huile essentielle [39], ou pour un même composé [40], qu'une même molécule allélochimique n'exerce pas forcément la même activité aux différents stades du cycle reproductif d'un insecte, c'est-à-dire que la sensibilité d'un insecte peut évoluer en fonction de son développement physiologique. En conséquence, sélectivité et spécificité permettent aux molécules allélochimiques végétales d'agir à des moments déterminés sur les espèces ciblées [38].

2.6.2.3. Biodégradabilité

Autrefois appelées composés secondaires des plantes, les molécules allélochimique végétales appartiennent au métabolisme secondaire : polyphénols, terpènes, alcaloïdes ou glucosides cyanogénétiques. Ces composés sont facilement biodégradés par voie enzymatique [38].

2.6.2.4. Résistance

Les molécules allélochimiques végétales, en augmentant le nombre de composés utilisés dans la lutte phytosanitaire, et de ce fait en variant les structures chimiques, contribuent à la diversification des cibles moléculaires et biochimiques chez l'insecte. Cependant, comme les antibiotiques, un phyto-insecticide peut générer des cas de résistance si des applications de ce composé sont faites de manière systématique, répétée et sans discernement. Il faut donc limiter

les fréquences d'épandages et varier. Dans la mesure du possible, les formulations en associant plusieurs composés de modes d'action différents.

2.6.2.5. Biodisponibilité

Les molécules allélochimiques sont sujettes aux facteurs environnementaux, physiologiques et génétiques qui influencent leur biodisponibilité au sein d'une espèce donnée. Toutefois, leur ubiquité dans l'ensemble du règne végétal devrait permettre de limiter cet inconvénient [38].

2.7. Les moyens de lutte

Au regard de l'importance économique que revêtent les dégâts causés par la mineuse de la tomate, plusieurs méthodes de lutte peuvent être utilisées dans une stratégie de protection intégrée : prophylactiques, chimiques, biologiques et biotechnologiques.

2.7.1. La lutte préventive

Elle comprend les mesures suivantes [41] :

a. L'utilisation de plants indemnes

- ❖ **Au niveau des pépinières** : les producteurs des plantes de tomate doivent éliminer systématiquement les plantes atteintes.
- ❖ **Au repiquage** : les agriculteurs ne doivent utiliser que des plantes saines et refuser les plantes infestés.

b. L'entretien cultural

Il commence par la rotation des cultures avec d'autres familles, le nettoyage des parcelles visant à réduire les sources locales de l'infestation et la préparation du sol :

- Le labour profond pour la destruction des nymphes et des larves enfouies en profondeur afin d'éviter l'émergence des adultes et le développement du cycle. Les conditions de froid, de chaleur, de déshydratation ainsi que l'action des ennemis naturels sont des facteurs notables à prendre en considération.
- L'élimination des feuilles sénescents de la partie basale de la plante [42].
- Le désherbage à l'intérieur et aux alentours de la culture. [41]

d. La protection insect-proof

C'est la voie prophylactique la plus sûre, elle permet d'empêcher toute infiltration d'insectes dangereux.

2.7.2. La lutte biotechnologique

Les pièges à phéromone

L'utilisation des pièges à phéromone est applicable dans le cas de la surveillance [43]. Ainsi, il faut détecter la présence d'adultes dans chaque parcelle. Pour cela, il y a lieu de :

- Placer 3 à 4 pièges par hectare en plein champ dans la zone surveillée et 1 piège par sous abri serre
- Surveiller les pièges une fois par semaine afin de recueillir les insectes.
- Renouveler les pièges toutes les 6 semaines.

Les premières captures doivent être accompagnées d'un diagnostic sur plant afin de détecter les éventuelles attaques sur les feuilles et les fruits verts et de prendre les mesures appropriées.

2.7.3. La lutte curative

a. Piégeage massif

Le dispositif de piégeage ainsi que le nombre de piège doivent être raisonnés en fonction de la superficie de la parcelle cultivée et de l'état sanitaire des parcelles avoisinantes. Il est conseillé de :

- Installer 20 à 40 pièges delta ou " pièges à eau par hectare", à l'intérieur et en dehors de la parcelle ou de la zone à contrôler.
- Renforcer le piégeage au niveau des zones de captures élevées avec des pièges distants l'un de l'autre de 25 mètres.

- maintenir le dispositif de piégeage en masse tout au long du développement de la plante et même après la récolte. [43]

b. Méthode chimique

Aujourd'hui, les interventions chimiques sont nécessaires afin de maintenir le nombre de ravageurs sous le seuil de nuisibilité.

Les meilleurs résultats sont obtenus avec des pulvérisations à base de spinosad ou d'indoxacarbe. Ces produits peuvent avoir également des effets négatifs sur les autres ravageurs ou sur la pollinisation naturelle dans le cadre de la lutte biologique [44].

C'est pour cette raison, qu'en Italie, il n'est autorisé que certains insecticides à base de Chlorpyrifos (Skorpio, Destroyer 480 EC), de pyréthrinés, de Lambda-cyhalothrine (Ninja), d'Etofenprox (Kiran Duo), d'Abamectine (Abba) et d'huile minérale (Socoil).

Deux matières actives d'insecticides homologuées au Royaume-Uni indoxacarbe (Steward) et le spinosad (Conserve Tracer), ont fait preuve d'efficacité satisfaisante par des tests au niveau des foyers espagnols infestés par les larves de *Tuta absoluta*. Il existe également des produits homologués contenant de la deltaméthrine susceptibles d'être utilisés sur le marché britannique de tomates sous abri [45].

2.7.4. La lutte biologique

La lutte biologique est la gestion des arthropodes nuisibles en utilisant d'autres populations d'autres organismes (ennemis naturels) afin de limiter la densité et la croissance de la population de ravageurs.

a. Les auxiliaires et ennemis naturels :

Dans l'optique de la réduction des moyens chimiques de contrôle des insectes ravageurs, la perspective de la lutte biologique est pleine de promesses. Des espèces d'insectes entomophages en nombre suffisants contrôlent naturellement les déprédateurs [46].

b. Les organismes entomopathogènes

L'entomopathogène est un micro-organisme (bactéries, champignons et nématodes) ou un virus capable de causer la mort des insectes les plus répandus et les plus notoires des entomopathogènes. C'est la bactérie *Bacillus thuringiensis* qui est utilisée pour la lutte. La plupart des souches possèdent une activité pathogène contre les larves de lépidoptères [47].

c. Les champignons entomopathogènes

Les champignons entomopathogènes sont importants dans la régulation naturelle de nombreux insectes ravageurs. Leur potentiel de lutte est souvent reconnu contre les acariens et les insectes dans les habitats naturels. Seuls les genres *Beauveria*, *Metarhizium*, *Verticillium* et *Paecilomyces* sont produits à une échelle industrielle [48].

Le Centre Régional de Recherche de Quilamapu (Chili) dispose de 400 isollements de champignons entomopathogènes indigènes de *Beauveria sp* et *Metarhizium sp*, dont sept souches de *Beauveria sp.* et six de *Metarhizium sp.*, qui sont considérés comme agents de nuisance sur *Tuta absoluta* [49].

Les expériences effectuées par Giustolin et *al.*, en 2001 avec des larves de *Tuta absoluta* nourries pendant 16 jours de feuilles de tomates traitées avec *Beauveria bassiana*, ont permis d'obtenir des taux de mortalité d'environ 50%.

L'efficacité du parasitisme du champignon peut être limitée par la présence de tomatine, substance allélochimique présente dans les feuilles de tomate. La tomatine alcaloïde est connue pour ses propriétés antifongiques, elle est capable de retarder l'infection par *Beauveria bassiana* [50].

Des taux de mortalité élevés d'œufs de *Tuta absoluta* dans le cadre d'une étude en laboratoire de pathogénicité de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (80%) et de *Beauveria bassiana* (60%). Au Chili, Rodríguez et *al.*, (2006) ont obtenu [1]

d. Les bactéries

La bactérie la plus connue et la plus prospère contre les ravageurs est le *Bacillus thuringiensis*. Toutes les bactéries du genre *Bacillus* sont produites comme insecticides microbiens. Mais, il existe des bactéries entomopathogènes, nocifs pour l'homme et difficiles à multiplier. [51]

En 1984, Ripa et Rojas dans le centre du Chili enregistrent des résultats encourageants, par l'utilisation des bio insecticides à base de *Bacillus thuringiensis*.

e. Les virus :

Les baculovirus ou virus responsables des polyédroses nucléaires sont des virus exclusivement pathogènes d'invertébrés. Ils ont pour cible plus de 3 000 espèces d'insectes. C'est pour cela, que de nombreux travaux de recherche se sont intéressés, depuis de nombreuses années, à leur utilisation comme bio insecticides. Malgré les essais, leur utilisation n'a pu s'imposer comme méthode de lutte en raison du coût économique de leur production de masse. [48]

Le virus de la granulose (GV) est considéré comme agent susceptible de contrôler *Tuta absoluta*. Les essais en laboratoire avec des plantes cultivées sous serres ont permis d'obtenir des résultats avec des taux de mortalité de plus de 90% (Rojas, 1981). Cependant, la pathogénicité élevée dans ces essais biologiques ne peut pas se reproduire dans les conditions réelles. [52]

f. Les nématodes :

Peu d'espèces de nématodes sont utilisées en lutte biologique. Les espèces des familles suivantes : *Mermithidae*, *Tylenchidae*, *Aphelenchidae* et *Rhabditidae* sont utilisées comme des antagonistes des insectes. Seuls les *Rhabditidae* des genres *Steinernema* et *Heterorhabditis* et les symbiotes bactériens spécifiques *Xenorhabdus* et *Photorhabdus*, sont utilisés pour décimer des populations larvaires d'insectes. [48]

En effet, le nématode pénètre par les ouvertures naturelles de l'insecte, comme la bouche, l'anus et les stigmates. Il libère les bactéries symbiotiques qui entraînent la mort de la larve. Ces bactéries sécrètent des toxines qui causent une septicémie et une désintégration du tissu, ils causent la mort des insectes dans les 48 heures [48]

Steinernema carpoapsae à de nombreux hôtes. Son cycle de vie est court. La reproduction et le stockage de ce nématode sont faciles à réaliser. Les tests de laboratoire sur *Tuta absoluta* permettent d'obtenir des taux de mortalité de 100%. [53]

g. Les insectes

▪ Les parasitoïdes

Les parasitoïdes sont des insectes dont les larves se développent en se nourrissant du corps de leurs hôtes généralement des insectes.

Qu'elles soient spécialistes ou généralistes, les femelles parasitoïdes pondent leurs œufs sur ou dans leurs hôtes ou à proximité [54].

En 1981, Rojas relève que l'ennemi naturel de la mineuse des feuilles de la tomate le plus abondant dans le secteur de La Cruz (Venezuela) et Quillota (Chili), est un ectoparasitoïde des larves de second et troisième stade, *Retisymphiesis phthorimaea* (Hymenoptera: Eulophidae) dont le taux de parasitisme naturel atteint 40 %.

En 1997, Rojas note que le parasitoïde *Apanteles gelechiidivoris* Marsh (Hymenoptera : Braconidae), importé de Colombie en 1984 et 1986, a été retrouvé au nord du pays, notamment dans la vallée d'Azapa, ainsi que dans les cultures de tomate en plein champ et sous serres dans les zones de Quillota et de La Cruz.

En 1984, Ripa et Rojas indiquaient qu'*Apanteles gelechiidivoris* Marsh est capable de parasiter des larves de *Tuta absoluta* en hiver, avec des taux très élevés, même dans les cultures, ayant reçu des applications fréquentes de pesticides.

Dans les secteurs indemnes d'applications chimiques en Colombie l'ectoparasite *Dineulophus phthorimaeae* (Hymenoptera: Eulophidae) se développe au dépend des larves de deuxième et troisième stades. [55]

D'autres parasitoïdes sont signalés en Amérique du Sud [56] parmi les :

- *Braconidae* tels que *Bracon sp* (Figure 2) « Annexe B», *Chelonus sp*, *Orgilus sp* et *Pseudapanteles dignus* (Figure 3) « Annexe B»,

- *Bethylidae: Goniozus nigrifemur (larvale)*

Ainsi que la super famille des Chalcidoidea: Conura sp, Copidosoma sp, Galeopsomya sp, Trichogramma pretiosum et Trichogramma sp.

En 2009, José recense au Portugal les parasitoïdes dont les noms suivent :

- *Parasitoïde des œufs : Trichogramma pretiosum.*
- *Parasitoïdes des larves : Pseudoapanteles dignus, Dineulophus phthorimaeae.*
- *Parasitoïde des chrysalides : Cornua sp.*

Les résultats obtenus au Centre de Recherche sur les Cultures Abrisées et Industrielles à Harrow (Londres) permettent d'affirmer que certaines espèces de *Trichogramma* (Figure 4) « Annexe B», peuvent être de bons auxiliaires de lutte biologique contre la mineuse de la tomate à condition d'associer d'autres mesures de lutte.

- **Les prédateurs :**

Ils sont signalés en Amérique du Sud [56]

- *Pentatomidae: Podisus nigrispinus.*
- *Miridae: Nesidiocoris tenuis* (Figure 5) « Annexe B»; *Macrolophus melanotoma, M. pygmaeus.*
- *Anthocoridae: Xylocoris sp.* Prédateur des œufs.
- *Coccinellidae: Cycloneda sanguinea* prédateur des larves.

En 2009, José recense au Portugal les prédateurs dont les noms suivent :

- Prédateurs des oeufs : *Mirídeos (Nesidiocoris tenuis, Macrolophus caliginosus).*
- Prédateurs des larves : *Podisius nigrispinus*

En Espagne [56], signale que les insectes auxiliaires, issus des élevages pour des lâchers, sont :

- *Nesidiocoris tenuis*: est considéré comme un ennemi naturel des insectes ravageurs sur les cultures de tomates dans la région méditerranéenne. Il colonise souvent les cultures de tomate et contribue largement à la maîtrise des aleurodes et d'autres organismes nuisibles

Sa population a tendance à suivre celle des aleurodes montrant ainsi son potentiel de lutte biologique (Sanchez, 2008). Les études en laboratoire ont confirmé, qu'elle se nourrit des œufs et le début des stades larvaires [57]

- *Macrolophus caliginosus* : est un *Heteroptera* : *Miridae*, prédateur polyphage utilisé en région méditerranéenne pour la lutte intégrée sous verre. C'est une punaise de couleur vert clair et d'une longueur de 6 mm. Les larves, comme l'imago, sont des prédateurs polyphages. Elles s'attaquent en priorité aux œufs et aux larves des mouches blanches. Les œufs des lépidoptères constituent la base de l'alimentation des punaises. Dans les conditions de laboratoire, les femelles peuvent pondre jusqu'à 260 œufs dans les tissus des plantes. Les œufs éclosent dix jours après la ponte, à une température de 25°C. Les larves atteignent le stade imago 19 jours après l'éclosion. Les *Macrolophus* vivent sous serres, entre 30 et 40 jours.[58]

CHAPITRE 3

MATÉRIELS ET MÉTHODES

3.1. Matériel végétal

L'étude a été réalisée sur la partie aérienne (Tiges et feuilles) de la rue de montagne (*Ruta montana*) et fraîchement cueillie.

Nous avons effectué deux récoltes la première au mois de Février et la deuxième pendant la période de la floraison (Avril).

L'identification de la matière végétale a été faite au niveau du département d'Agronomie à l'Université de Blida.

3.2. Matériel biologique

Afin d'évaluer l'activité biologique des deux huiles essentielles de la rue de montagne on a étudiées deux activités

1. L'activité insecticide sur les larves de la mineuse de tomate (*Tuta absoluta*).
2. L'activité antimicrobienne sur quatre souches de référence :
 - *Escherichia coli* (Gram-) ATCC
 - *Enterococcus faecalis* (Gram +) ATCC
 - *Staphylococcus aureus* (Gram +) ATCC
 - *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-) ATCC

3.2.1. L'insecte étudié

L'espèce utilisée dans notre étude, le lépidoptère *Tuta absoluta* a été collecté à partir des plantes de tomate, prélevés de la région de (zéralda) Wilaya de Tipaza. Dont leurs feuilles sont infestées par des larves de stade L3 et L4.

L'élevage de ce ravageur a été réalisé au niveau de salle d'élevage de Zoo phytatrie, Département des sciences Agronomique, Université SAAD DAHLEB (BLIDA), cet élevage est conduit dans des boîtes perforées à une température 30⁰ C et 70%.d' humidité. Par utilisation des feuilles infestées. (Figure 6) « Annexe B»,

3.2.1.1. Infestation de la plante hôte

l'infestation de la plante avec l'insecte a été effectuée comme suit :

Dans une chambre d'élevage les plantes de tomate ont été inondées par des adultes du *Tuta absoluta* issu d'un élevage mené au laboratoire, en vue d'obtenir des larves, qui subiront des traitements par effet contact (Figure 07) « annexe B »

3.2.1.2. Aperçu générale sur *Tuta absoluta*

3.2.1.2.1. Position systématique

La position systématique de *Tuta absoluta* a été établie par Meyrick en 1917 : [59]

L'embranchement : *Arthropoda*

Le sous embranchement : *Uniramia*

La classe : *Insecta*

L'ordre : *Lepidoptera*

La Famille : *Gelechiidae*

La sous famille : *Gelechiinae*

Le Genre : *Tuta*

L'espèce : *Tuta absoluta*

3.2.1.2.2. Les synonymes de *Tuta absoluta* sont [60]:

Scrobipalpuloides absoluta Povolny,

Scrobipalpula absoluta Povolny,

Gnorimoschema absoluta Clarke,

Phthorimaea absoluta Meyrick.

3.2.1.3. Les plantes hôtes

Tuta absoluta attaque essentiellement la famille des solanacées [61]. Ses principales plantes-hôtes demeurent la tomate et la pomme de terre, mais elle peut également attaquer le poivron, l'aubergine ainsi que d'autres solanacées adventices ou ornementales telles que : la stramoine (*Datura stramonium*), la stramoine épineuse (*Datura ferox*), le tabac glauque (*Nicotiana glauca*), les morelles jaune et noire (*Solanum* sp). [55, 62]

3.2.1.4. Morphologie

L'adulte :

C'est un microlépidoptère de 6 à 7 mm de long et de 8 à 10 mm d'envergure, de couleur gris argenté, avec des taches brunes sur les ailes (Figure 8) « annexe B». Ces antennes sont filiformes faisant le 5/6 des ailes [63]. La femelle est légèrement plus grande que le mâle [64].

Les œufs :

Ils mesurent 0.36 mm de long et 0.22 de large. Ils sont de forme elliptique, de couleur crème (Figure9) « annexe B». Les œufs sont disposés à la face inférieure de la feuille [64, 65].

L'incubation dure de 4 à 5 jours [60,66]

Les larves :

Ils y a quatre stades larvaires bien définis se distinguant par la taille et la couleur : [67]

- La larve initiale, L1 d'environ 1,6 mm est de couleur blanche à tête marron foncée puis sa couleur vire au vert (Figure10) « annexe B». [68]
- Les larves L2 (Figure11) et L3 (Figure 12) « annexe B», ont de dimensions comprises entre 2,8 à 4,7 mm et de couleur verte [65].
- La larve L4 peut atteindre jusqu'à 8 mm de long. La ligne dorsale rougeâtre est caractéristique de la fin de son stade de développement (Figure 13) « annexe B» [63]

La chrysalide (Nymphe)

Elle est de couleur vert- marron et mesure 4 à 5 mm de long (Figures 14 et 15) « annexe B». [63, 69]

3.2.1.5. Biologie

En Italie cet insecte possède un potentiel de reproduction élevé et que les larves ne rentrent pas en diapause. Elles sont présentes tout au long de l'année, avec 10 à 12 générations. Le cycle biologique est achevé entre 29 et 38 jours à des températures comprises entre 25 et 30 ° C, et à 76 jours à une température de 14 ° C. [70]

Ce ravageur hiverne dans le sol principalement sous forme de chrysalide. Elle accomplit plusieurs générations par an, de courte durée, de 25 à 45 jours. [71]

En Europe les générations se chevauchent. L'insecte peut développer plus de 10 générations par an si les conditions sont favorables. En Argentine, *Tuta absoluta* ne présente que 5 générations par an. [45]

Le cycle biologique dépend de la température. A Corrientes en Argentine, le cycle se complète en 54 jours en hiver à une température moyenne de 16,6 ° C (août- Septembre), tandis qu'au printemps la durée se raccourcit à 25 jours, à une température moyenne de 21,5°C (**Novembre**). À partir de novembre, les générations se succèdent rapidement et l'attaque devient plus intense. [72]

Les adultes sont à activité nocturne. Les femelles pondent leurs œufs généralement sur la face inférieure des feuilles. Chaque femelle pond environ 260 œufs durant toute sa vie. [65]

3.2.2. Les souches microbiennes testées

Les souches utilisées dans notre étude font parties de trois groupes de microorganismes, qui sont des pathogènes et des contaminants. Les tests sont réalisés sur cinq bactéries, provenant essentiellement du laboratoire de microorganisme de vénéus.

3.2.2.1. *Escherichia coli*

C'est une bactérie à gram négatif. C'est une hôte normale de tube digestive de l'homme et des animaux. *E. coli* se développe en 24 h à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses de 2 à 3 mm de diamètre. *E. coli* est impliqué dans de nombreuses infections comme infection urinaire, infection intestinale et infection néonatale se traduit par une méningite. [73]

3.2.2.2. *Staphylococcus aureus*

Appelé aussi « Staphylocoque doré ». C'est un genre ubiquitaire, retrouvé dans le sol, l'air et l'eau. Il se présente comme une coque en amas (grappe). Ce sont des bactéries gram positif et catalase positif.

C'est un germe commensal de la flore de la peau et des muqueuses de l'homme. On le trouve dans l'oropharynx et dans les selles, le pus, c'est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus* et est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées. [74]

3.2.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

C'est une bactérie répandue dans la nature, il vit dans l'eau et sur le sol. Elle se trouve dans le tube digestif et plus rarement dans la salive, c'est un bacille à gram négatif, caractérisé par la pigmentation bleu vert, sporule, température ambiante 30°C à 40°C, pH optimale 6,8 à 8. *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie généralement résistante, les antibiotiques peuvent avoir une bonne activité. [75]

3.2.2.4. *Enterococcus faecalis*

C'est une bactérie commensale à gram positif. Ils constituent une part de la flore intestinale humaine. *E. faecalis* peut causer des infections mortelles chez l'homme et le singe, particulièrement dans un environnement hospitalier ; ils ont été reconnus comme des causes importantes de l'endocardite.

Le haut niveau de résistance naturelle aux antibiotiques de la bactérie contribue à sa pathogénicité. [76]

3.3. Analyse chromatographique des huiles essentielles

Les analyses chromatographiques en phase gazeuse couplées à un spectromètre de masse ont été effectuées au Centre de Recherche et de Développement de ALDAR.

L'identification des composés d'huile essentielle de *Ruta Montana* a été faite par un chromatographe de type « Hewlett Packard 6890 » couplé à un spectromètre de masse « 5973 N MS, ionisation par impact électronique ».

Les conditions de chromatographie sont les suivantes :

Injection de 1 µl en mode Splitless (1/50)

Température de l'injecteur : 250°C

Colonne capillaire HP5MS (30cm× 0.25mm×0.25µm)

Programmation de température : 60°C pendant 4min ; 4°C/min jusqu' à 230°C pendant 10min

Débit du gaz vecteur : Hélium (1ml/min)

Et pour le Spectre de masse sont les suivantes

Températures : interface (280°C), source (230°C), quadripôle (150°C).

L'énergie d'ionisation est de 70ev.

3.4. Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau

Les observations des coupes anatomiques théoriques de la plante étudiée nous ont confirmé que l'huile essentielle de *Ruta montana* se trouve dans des poches sécrétrices très superficielles, cela nous permet d'extraire l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau.

L'extraction des deux huiles essentielles a été effectuée par entraînement à la vapeur d'eau. Qui consiste à découper, peser puis disposer la matière végétale dans un ballon de 1litre qui est relié par un coude au réfrigérant de type serpentin (figure16) « annexe B ». La vapeur d'eau produite dans l'alambic, traverse la matière végétale et entraîne les molécules volatiles qui après condensation sont récupérées dans une ampoule à décanter. La phase organique est récupérée et conservée dans des tubes opaques en verre à une température de 0°C à 4°C.

3.5. Application de l'huile essentielle de la rue sur les larves de la mineuse de la tomate

La méthode d'application d'insecticide est variée et elle dépend surtout de la nature de l'insecte et celle du produit à protéger.

Dans notre cas nous avons opté pour une méthode d'application : par contact (pulvérisation)

À partir des huiles essentielles obtenues, nous préparons les doses à tester après dilution dans le tensioactif tween 80(diluée 3%).

Nous avons utilisé le tween 80 à la dose 3% comme témoin à cause de l'absence de l'activité insecticide et comme diluant pour former des microémulsions et donc l'homogénéisation de la solution d'huiles essentielles pour obtenir des résultats reproductibles.

Afin d'évaluer l'effet insecticide de l'huile essentielle de la rue, nous avons choisi le mode d'action par contact. Nous avons pulvérisé les plantes de la tomate infestées par les larves de la mineuse par un pulvérisateur manuel, d'une capacité d'un litre (Figure17), Avec les doses suivantes : 5(mg/g), 10%(mg/g) et 15% (mg/g) [77]. Pour chaque dose nous avons effectués trois répétitions. Des témoins (sans huiles) ont été réalisés dans les mêmes conditions

Pour la mortalité ; le nombre d'insectes morts est compté après 24h ,48h et 72h d'exposition.

Remarque :

Le dénombrement des larves sur les plantes de tomate est effectué pour chaque dose juste avant pulvérisation.

3.6. Estimation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la rue

a. Méthode de diffusion sur gélose

La diffusion sur gélose est une méthode qualitative permettant de tester l'existence de l'activité antibactérienne, qui se traduit par la formation d'une zone d'inhibition autour de la substance à caractère antimicrobien.

b. Principe

Le principe consiste à déposer sur une gélose ensemencée des disques de papier buvard préalablement imprégné de la substance à tester à une dose bien déterminée.

c. Isolement des souches

Le milieu utilisé pour les différentes souches est :

-Milieu gélose nutritive pour les bactéries.

d. Préparation de la souche du milieu

-faire fondre la Gélose nutritive dans un bain-marie à 95°C.

-Verser aseptiquement une couche de 15 ml dans chaque boîte de Pétri.

-Laisser refroidir et solidifier sur la paillasse.

e. Préparation de l'inoculum

-à partir d'une culture jeune, réaliser des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées, et les mettre dans 5 ml d'eau physiologique stérile (Figure 18) « annexe B»

-Bien agiter le tube et laisser pendant quelque seconde.

N.B : l'inoculum doit être utilisé dans les 15 min qui suivent sa préparation.

f. Ensemencement

-Ensemencer à l'aide d'un écouvillon stérile des stries serrées pour chaque suspension préalablement préparer dans des boîtes de Pétri contenant la Gélose nutritive.

g. Dépôt des disques absorbants

À l'aide d'une pince stérile, prélever un disque stérile de 0,6cm de diamètre, l'imbiber avec l'huile essentielle en mettant seulement le bout du disque en contact avec cette dernière celui-ci va absorber progressivement jusqu'à son imprégnation totale.

- Déposer le disque sur la surface de la gélose délicatement.

-laisser diffuser sur la paillasse pendant 30 mn.

-Incuber à 37°C pendant 24 heures.

h. Lecture de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles

Après incubation des bactéries durant 24 h à 37°C, on a retiré les boîtes de Pétri des étuves pour les observer.

En effet, durant la période d'incubation l'huile essentielle de la rue de montagne. Contenue dans les disque s'est diffusé sur les couches de gélose et selon la sensibilité des germes vis-à-vis de cette huile, il y a apparition ou non de zones plus ou moins rondes autour des disques appelées : les zones d'inhibitions, dont le diamètre varie selon le pouvoir inhibiteur de l'huile essentielle vis -à- vis des germes (figure19) « annexe B».

3.7. Méthode de calcul

3.7.1. Correction de la mortalité

Les pourcentages de mortalité des individus tués par les huiles essentielles des cinq plantes sont corrigés par la formule de *Schneider Orelli* qui tient compte de la mortalité naturelle (témoin)

$$\%M_c = \frac{M - M_t}{100 - M_t}$$

- M_c : le pourcentage de mortalité corrigé.
- M : le pourcentage de morts dans la population traitée.
- M_t : le pourcentage de morts dans la population témoin

Les pourcentages de mortalité corrigée sont transformés en Probit et représentés en fonction des logarithmes décimale des doses.

3.7.2. Calcul des doses létales 50 et 90

L'efficacité d'un toxique se mesure par la DL50 et la DL90 selon la méthode de Finney (1971) représente la concentration de la substance toxique qui entraînant la mort de 50% d'individus traités et par la DL90 qui indique la concentration létale de 90% des traités, elles sont déduite à partir de tracer la droite de régression.

Afin d'évaluer les DL50 et DL90 les pourcentages de mortalités sont transformé à des pourcentages de mortalité corrigés qui sera transformer en probits selon le **Tableau 1**.

Les probits sont représentés graphiquement en fonction de logarithme népérien des doses pour évaluer les doses létales 50 (DL50) et 90 (DL90) pour les deux huiles essentielles.

Ces doses sont déterminées à partir des équations des droites de régression obtenues théoriquement.

Tableau N° 1 : Transformation des pourcentages de mortalité en Probits

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
	0,00	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,75	7,75	7,88	8,09

1 Exemple de calcul des probits

Si $M_c = 72\%$ Probits = 5,58

CHAPITRE 4 RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

4.1. Analyse des deux huiles essentielles de la rue de montagne

4.1.1. Détermination des indices physico-chimiques

Les indices physico-chimiques des deux huiles essentielles étudiées sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau N° 2 : les indices physico-chimiques des deux huiles essentielles de *Ruta montana*.

L'huile essentielle Indices	Février	Avril
n_D^α	1,434	1.430
I_A	5,610	3.366
I_E	94,809	168,300

Code de champ modifié

Code de champ modifié

Les indices de réfractons de l'huile essentielle de la rue pour Février et Avril sont presque identiques et différent que par le troisième chiffre ; ces valeurs de l'indice de réfraction permettent de mettre en évidence la richesse de la rue de montagne en composés.

Les grandes valeurs de réfraction de la rue permettent à celle-ci de jouir des propriétés physicochimiques intéressantes.

L'huile essentielle du mois de Février est plus acide que celle du mois d'Avril, ces différences expliquées par le fait que certains composés se transforment dans la période de la floraison en composé plus volatile nécessaire pour la formation des grains.

L'indice d'ester de mois d'Avril est plus élevé que celui de Février, cette observation est en parfaite concordance avec celle de l'indice d'acide.

4.1.2. Composition chimique des huiles essentielles analysées par la CG/SM

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse des deux huiles essentielles de la Rue (*Ruta montana*) a fourni un chromatogramme nous a permis d'identifier les composés rassemblés dans le tableau 1 et les figures 20 (1-7) et les figures 21

(1-3) donné en« annexe_C»

Tableau 3 : Composition chimique de l'huile essentielle de la *Ruta montana L* du mois de Février et d'Avril

Composés identifiés (formules brutes)	t _R (min)	Février (%)	Avril (%)
(Z)-3-hexen-1-ol-acetate (C ₈ H ₁₄ O ₂)	9,86	0,08	0,45
p-Cymene (C ₁₀ H ₁₄)	10,75	0,46	0,448
D-Limonene (C ₁₀ H ₁₆)	11,96	0,10	0,379
2-Nonanone (C ₉ H ₁₈ O)	13,39	0,76	4,32
Nonanal (C ₉ H ₁₈ O)	13,77	1,64	1,61
2-Decanone (C ₁₀ H ₂₀ O)	17,43	12,25	9,06
3-Decanone (C ₁₀ H ₂₀ O)	18,61	-	11,57
2-Undecanone (C ₁₁ H ₂₂ O)	21,38	59,34	49,39
3-Dodecanone (C ₁₂ H ₂₄ O)	23,50	1,32	1,53
2-Dodecanone (C ₁₂ H ₂₄ O)	24,45	4,21	4,45
3-Tridecanone (C ₁₃ H ₂₆ O)	26,17	0,12	0,17
2-Tridecanone (C ₁₃ H ₂₆ O)	27,37	2,13	2,49
6-(3',5'-Benzodioxyl)-2-hexanone	37,47	13,17	11,23
8-(3',5'-Benzodioxyl)-2-octanone	42,22	0,59	0,65

L'analyse des chromatogrammes des deux huiles essentielles a permis de mettre en évidence l'existence de trois groupes des composés dont :

Le premier groupe sous forme de traces, est composé essentiellement de D-Limonene, (Z)-3-hexen-1-ol-acetate et p-Cymene.

Le second groupe est formé essentiellement de cétone aliphatique à partir de C₉ jusqu'à C₁₃.

Le troisième groupe des composés qui apparaît des chromatogrammes est celui des cétones avec un radical de Benzodioxyl. Avec des teneurs légèrement différents mais avec des temps de rétentions identiques.

L'analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a permis de caractériser de l'huile essentielle de la rue (*Ruta Montana*) comme étant une huile composée essentiellement des cétones dont la fonction cétone est dans la position deux avec un pourcentage de 94% pour la récolte du mois de Février et 95% pour le mois d'Avril et les deux huiles essentielles ayant les mêmes composés ; seulement pour le mois d'Avril ~~apparaît~~apparaît un composé spécifique qui est le 3-Décanone.

4.2. Évaluation de l'activité biologique des deux huiles essentielles de la rue de montagne

4.2.1. Évaluation de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles de la rue de montagne contre quatre souches de référence

Les résultats de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles de la rue de montagne pure sont consignés dans le tableau 4 et figure 19 « annexe B ».

Tableau 4 : activité antimicrobienne des deux huiles essentielles de la rue de montagne.

<u>Les souches de références utilisées</u>	<u>Diamètre de zone d'inhibition du mois de Février (mm)</u>	<u>Diamètre de zone d'inhibition du mois d'Avril (mm)</u>
<u><i>Escherichia coli</i> (Gram -)</u>	<u>0,00</u>	<u>0,00</u>
<u><i>Enterococcus faecalis</i> (Gram +)</u>	<u>15,00</u>	<u>13,00</u>
<u><i>Sataphylococcus aureus</i> (Gram +)</u>	<u>14,00</u>	<u>0,00</u>
<u><i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram -)</u>	<u>0,00</u>	<u>0,00</u>

On remarque que l'huile essentielle de la rue pour les deux mois n'a pas d'activités pour les bactéries de gram- ; cependant ces les même huile sont faiblement actif vis-à-vis les bactéries à gram + (*Enterococcus faecalis* et *Sataphylococcus aureus*).

Ces observations sont en accord avec la nature de la bactérie et l'état de l'huile utilisée.

4.2.2. Évaluation de l'activité insecticide des deux huiles essentielles de la rue de montagne contre les larves de la mineuse de la tomate (*Tuta Absoluta*)

L'application des deux huiles essentielles autant qu'un insecticide contre les larves de la mineuse a permis d'obtenir des résultats regroupés dans le tableau suivant.

Tableau N°5 : Mortalité par contacte des insectes traités par les deux huiles essentielles de la rue de montagne.

Temps (h)	Mt (%)	Les doses traitées (mg/g) (Février)			Les doses traitées (mg/g) (Avril)		
		5	10	15	5	10	15
24h	0	$\begin{array}{l} \text{Mc (\%)} \rightarrow \\ \downarrow \\ 72 \end{array}$	74	87	57	65	95
48h	0	80	81	91	64	67	98
72h	0	87	94	98	76	95	100

Les résultats du tableau 5 représentent la variation de la mortalité des larves de la mineuse en fonction des doses utilisées et du temps pour les deux huiles essentielles permet d'observer l'augmentation du taux de mortalités des insectes avec la durée d'exposition.

Pour les deux mois, la dose de 15mg/g est très efficace, et les taux de mortalité sont trop élevés mais cette dose est intolérable pour la plante elle-même.

Les résultats acceptables sont ceux d'une dose équivalente à celle du rendement (10 mg/g) et on remarque que le même taux de mortalité est obtenu pour les deux huiles essentielles ($M_c = 95\%$), seulement l'action de l'huile essentielle du mois de février est rapide tandis que celle d'avril est plus lente ; ce phénomène peut être à la grande volatilité de l'huile essentielle d'avril qui nécessite un temps d'accumulation beaucoup plus lent.

Tableau N°06 : Efficacité des deux huiles essentielles de la rue de montagne après 72 heures d'exposition.

Mois	Février	Avril
Doses létales		
DL ₅₀ (mg/g)	0,77	3,02
DL ₉₀ (mg/g)	6,40	7,48

Tableau mis en forme

Les DL₅₀ et DL₉₀ obtenues (figure 24, 25) révèlent que l'huile essentielle du mois de Février exercée un effet choc sur les larves de la mineuse dont la DL₅₀ est de 0,77mg/g en comparaison avec celle du mois d'Avril qui est de l'ordre 3,02mg/g et leur ce que on approchant de la DL₉₀ elle perd son activité choc avec une teneur de 6,40mg/g par rapport à celle du mois d'Avril qui est de l'ordre 7,48mg/g.

Mis en forme : Indice

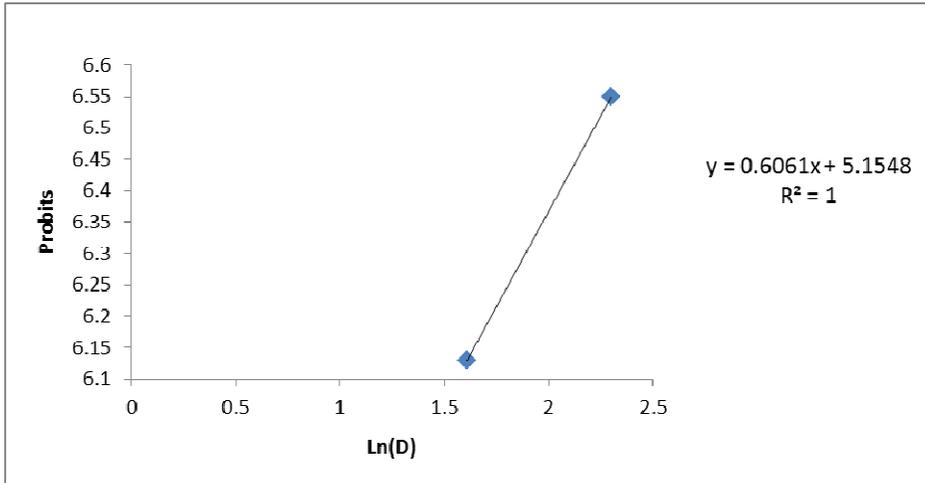


Figure 24 : efficacité par contact de l'huile essentielle de la rue récolté au mois de Février après 72h

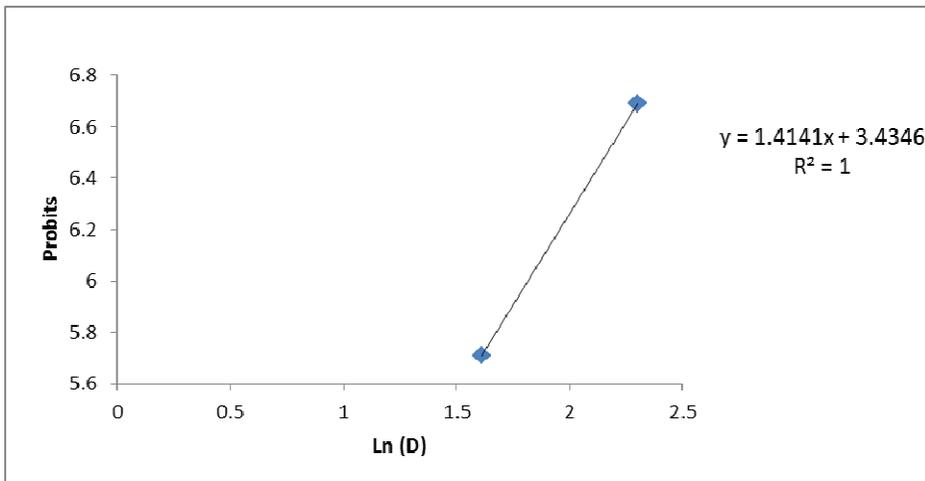


Figure25 : efficacité par contact de l'huile essentielle de la rue récolté au mois d'Avril après 72h

4.2.2. Évaluation de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles de la rue montagne contre quatre souches de référence

~~Les résultats de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles de la rue de montagne pure sont consignés dans le tableau 6 et figure 15 « annexe B »~~

CONCLUSION GÉNÉRAL

L'objectif de ce travail est d'étudier l'activité bactéricide et insecticide ~~et bactéricide~~ de l'huile essentielle de la rue de montagne, récolté en Février et Avril.

~~Les~~ résultats obtenus ~~ont~~ ~~été~~ ~~conduits~~ aux conclusions suivantes :

L'huile essentielle de la rue de montagne est localisée ~~présentée~~ dans des poches très superficielles et elle est a permis de l'extraire par entraînement ~~entraînement~~ à la vapeur d'eau.

Mis en forme : Non Surlignage

Mis en forme : Non Surlignage

Les analyses physico-chimiques des huiles essentielles des mois de Février et d'Avril ont permis leur caractérisation et d'expliquée leurs activités vis-à-vis les micro-organismes et les insectes par l'étude des paramètres physico-chimiques tel que l'indice d'acide et l'indice d'ester

Les deux huiles essentielles de la rue de montagne sont caractérisées par la présence de même chémotype dont la structure chimique est relative à celle de 2-Undécanone avec des teneurs respectives de 59,34% pour le mois de Février et de 49,39% pour le mois d'Avril.

L'huile essentielle de la rue de montagne est moyennement actif vis-à-vis des bactéries à gram + tel que *Enterococcus faecalis* et *Sataphylococcus aureus*.

Par contre l'huile essentielle de la rue de montagne est très actif vis-à-vis les larves de la mineuse de la tomate (*Tuta Absoluta*). Cependant l'huile essentielle du mois de Février est plus efficace que celle obtenue pour du mois d'Avril.

Mis en forme : Police :Italique

L'huile essentielle pour le mois de Février exerce un effet choc sur les larves de la mineuse dont la DL_{50} est de 0,77mg/g en comparaison avec celle du mois d'Avril qui est de l'ordre 3,02mg/g. L'activité de l'huile essentielle de la rue de montagne pour le mois de Février perd de son activité choc en approchant de la DL_{90} avec une teneur de 6,40mg/g par rapport à celle du mois d'Avril qui est de l'ordre 7,48mg/g.

Mis en forme : Indice

Mis en forme : Indice

L'activité de l'huile essentielle de la rue de montagne attribuée au 2-Undécanone et le 2-Tridecanone a été largement discutée dans les travaux [78] qui ont prouvé l'influence de ces

Mis en forme : Français (France)

composés sur la résistance de la tomate vis-à-vis des larves de la *Tuta Absoluta*.

Mis en forme : Police :Italique

Ce travail pourrait être poursuivi par les perspectives suivantes :

- L'activité insecticide de l'huile essentielle de la rue peut être améliorée par l'introduction d'un groupement thione à la place de la fonction cétone via la réaction de thionation.
- L'activité insecticide de l'huile essentielle de la rue de montagne peut être développée par la recherche d'une formulation stable à base de celle-ci tel que l'encapsulation des molécules hydrophobes de l'huile essentielle à l'intérieure de β - cyclodextrine.
- Formulation d'un biopesticide à base de constituant majoritaire de l'huile essentielle.

Mis en forme : Police :(Par défaut) Times New Roman, 12 pt, Couleur de police : Couleur personnalisée(RVB(35;31;32))

Mis en forme : Police :(Par défaut) Times New Roman, 12 pt, Couleur de police : Couleur personnalisée(RVB(35;31;32)), Non Surlignage

Mis en forme : Police :(Par défaut) Times New Roman, 12 pt, Couleur de police : Couleur personnalisée(RVB(35;31;32))

Mis en forme : Paragraphe de liste, Retrait : Gauche : 0 cm, Suspendu : 0,5 cm, Avec puces + Niveau : 1 + Alignement : 0,63 cm + Retrait : 1,27 cm

Mis en forme : Police :(Par défaut) Times New Roman, 12 pt, Couleur de police : Couleur personnalisée(RVB(35;31;32))

Mis en forme : Couleur de police : Automatique

Mis en forme : Couleur de police : Automatique

Mis en forme : Couleur de police : Automatique

Mis en forme : Couleur de police : Automatique

Mis en forme : Couleur de police : Automatique

Mis en forme : Couleur de police : Automatique

Mis en forme : Taquets de tabulation : 3,73 cm,Gauche

L'étude analytique des deux huiles essentielles nous révèle qu'ils ne sont pas de la même qualité due à la grande différence entre leurs indices d'acides et les indices d'esters, ces différences expliquées par le fait que certains composés se transforment dans la période de la floraison en composé plus volatile nécessaire pour la formation des grains, ce qui nous exige d'utiliser l'analyse chromatographique couplée à la spectrométrie de masse pour identifier tous les composés et leurs classes chimiques. Cette analyse a permis de caractériser l'huile essentielle de la rue de montagne comme étant une huile composée essentiellement des cétones avec un taux de 93.97% pour la récolte du mois de Février et 95.28% pour le mois d'Avril et avec des traces des monoterpènes hydrocarbonés tel que le p-Cymène et le D-Limonène, dont les composés majoritaires dans les deux huiles sont 2-Undécanone (59.34% et 49.39%), 2-Décanone (12.25% et 9.06%), 2-Dodécanone (4.21% et 4.45%), 2-Tridécanone (2.13% et 2.49%) et 6-(3',5'-Benzodioxyl)-2-hexanone (13.17% et 11.23%) respectivement, seulement pour l'huile essentielle du mois d'Avril apparaît un composé spécifique qui est le 3-Décanone (11.57%).

Dans la partie biologique de notre (ce) travail, nous avons étudié l'activité insecticide des deux huiles essentielles sur la mineuse de la tomate et d'estimer leurs activité antibactérienne :

Les résultats obtenus pour l'activité insecticide ont montré que les huiles essentielles récoltées au mois de Février est plus efficace vis-à-vis la mineuse de la tomate avec $DL_{50}=0.77\text{mg/g}$ et $DL_{90}=6.40\text{ mg/g}$ que celle du mois d'Avril avec $DL_{50}=3.02\text{mg/g}$ et $DL_{90}=7.48\text{ mg/g}$, ce différence est dû que l'action de l'huile essentielle du mois de février est rapide tandis que celle d'avril est plus lente ; ce phénomène peut être à la grande volatilité de l'huile essentielle d'avril qui nécessite un temps d'accumulation beaucoup plus lent. Cette grande activité de la rue de montagne due à la présence de 2-Undécanone et le 2-Tridécanone. [***] mémoire

En ce qui concerne l'activité antimicrobienne des deux huiles essentielles de la rue de montagne, la méthode de diffusion sur gélose a montré que les deux extraits de la rue n'ont pas un pouvoir inhibiteur sur les bactéries à gram- (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) ; cependant ils sont faiblement actif vis-à-vis les bactéries à gram+ (*Enterococcus faecalis* et *Sataphylococcus aureus*).

Ce travail pourrait donc être poursuivi en vue de déboucher sur une utilisation pratique des biopesticides à base d'huile essentielle pour préserver l'environnement ainsi que la santé humaine et animale.

- Formulation d'un biopesticide à base de constituant majoritaire de l'huile essentielle.
- Poursuivre l'étude des structures moléculaires des principes actifs des huiles essentielles.
- Etudier l'amélioration de l'activité d'un biopesticide par l'ajout du stabilisant et modifier la structure moléculaire des composés majeurs par des réactions chimiques.

s safer and better than

ique. 5^{ème} Edition. P 158-160.

angereux pour l'homme et les

n. P 461-467.

e des angiospermes). Paris :

e. 12^{ème} édition. Paris : L'Asson.

l. Botanique systématique des

taire romandes. P272-273.

que et chorologique de la flore

cations, New York.

of extracts made from plants

f green plants for antimicrobial

natural antioxidants in
long-term storage. J. Sci. Food

dicinales. P 170

aris. P 104.

actif à effet insecticide dans *Ruta*
mie industrielle (2006).P7-8.

es renseignements scientifiques

Arome. P 110-112-117.

5.

de de l'influence de la
nnes sur *Rhyzopertha dominai*
omique El-Harrach. P 9-12.

2002). Produits phytosanitaires
d'hui. In Biopesticides d'origine
337.

Biopesticides d'origine végétale.

U., **Pissarev V.**(1991).Fumigant
ct insects. Journal of chemical

1. Tomatocin, quando a tomate

idas con hongos

Dossiers de l'Environnement de

ck). Informativo, Rev. La Platina

1. Patogenicidade de *Beauveria*
doptera: Gelechiidae) criada em
pp 417- 421.

gas. Ed. INIA Quilamapu, p2.

nes sobre el control de la polilla

s de lepidópteros al nemátodo
pp 49-51.

informatives sur les organismes

Plant Protection Organisation,

des Plantes, Bulletin n°35. P

neuse de la tomate. Ed. Koppert

d. Plant Research International,

(Meyrick, 1917) éléments de

tomate *Tuta absoluta* Meyrick

absoluta) Uma nova ameaça à

os, P 5.

Rev.Agricola, .P 16-18.

t médicale.

ck., Barbara E. Murray. 1998.
ar matrix proteins. FEMS

g., Y.F. Shen. 2006. Repellent
nceps and Cinnamomum
oad bean. Bioresource

. J.C. 2001. Role of plant age in
mato leafminer *Tuta absoluta*
113.

mentales d'analyse chimique et
on. P320.

es résistantes aux antibiotiques-

ANNEXE C

File : D:\ANALOCHEM\N1\5973\N1\N1\5973\T01.D
Operator :
Acquired : 5 Jun 2011 13:14 using AcqMethod: DEFAULT
Instrument : INSTRUMENT
Sample Name: HE SECHÉ *Prota*
Misc Info : BLIDA
Vial Number: 1

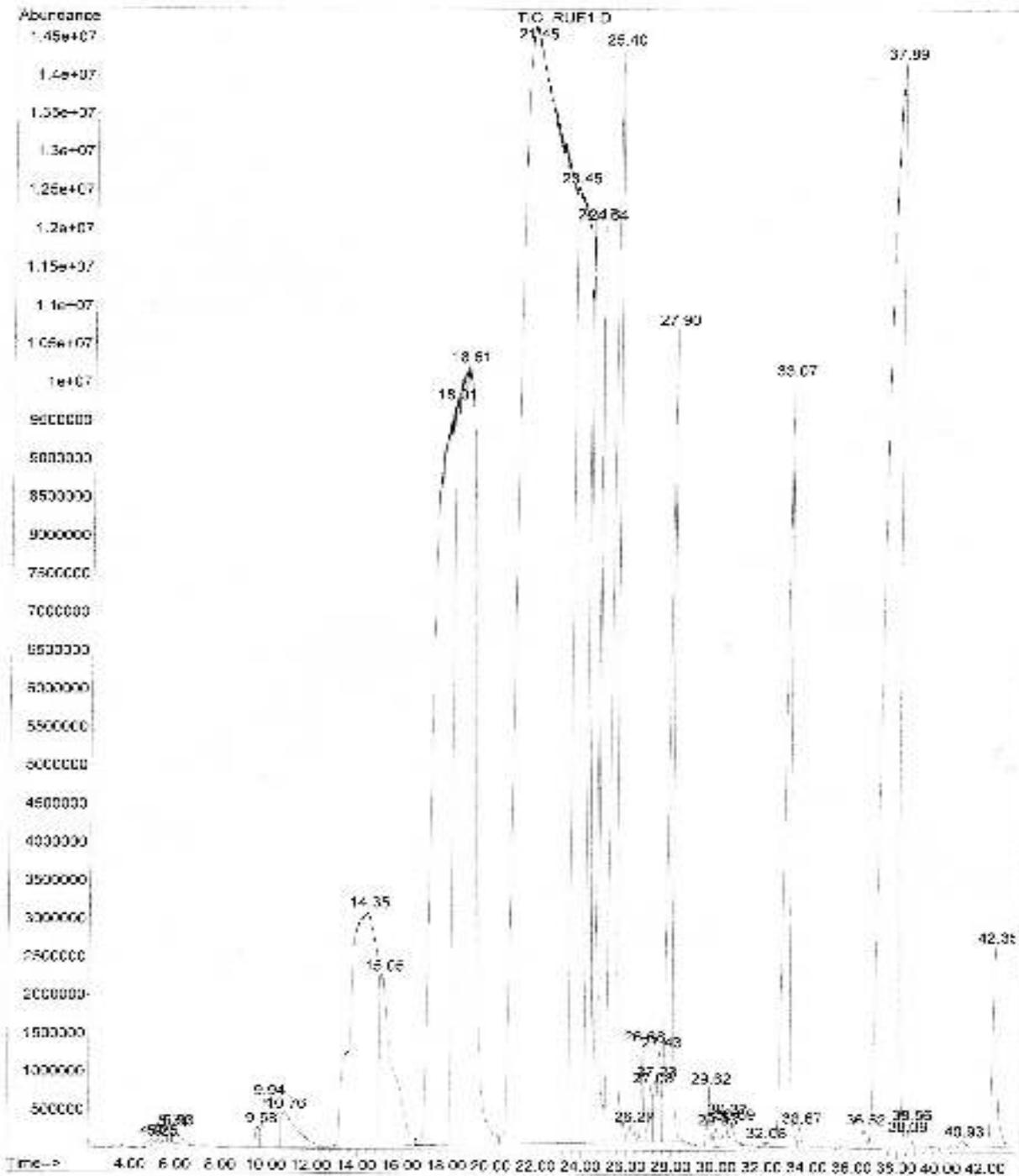


Figure20(1): Chromatogramme de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois d'Avril obtenue par GC/MS.

File : D:\MSDCHEM\1\6077N\5NABSPOTAB001.D
 Operator :
 Acquired : 6 Mar 2011 13:14 using AcqMethod: DEFAULT
 Instrument : Inst: 10001
 Sample Name: HE *AVRIL*
 Misc Info : RLIDA
 Vial Number: 1

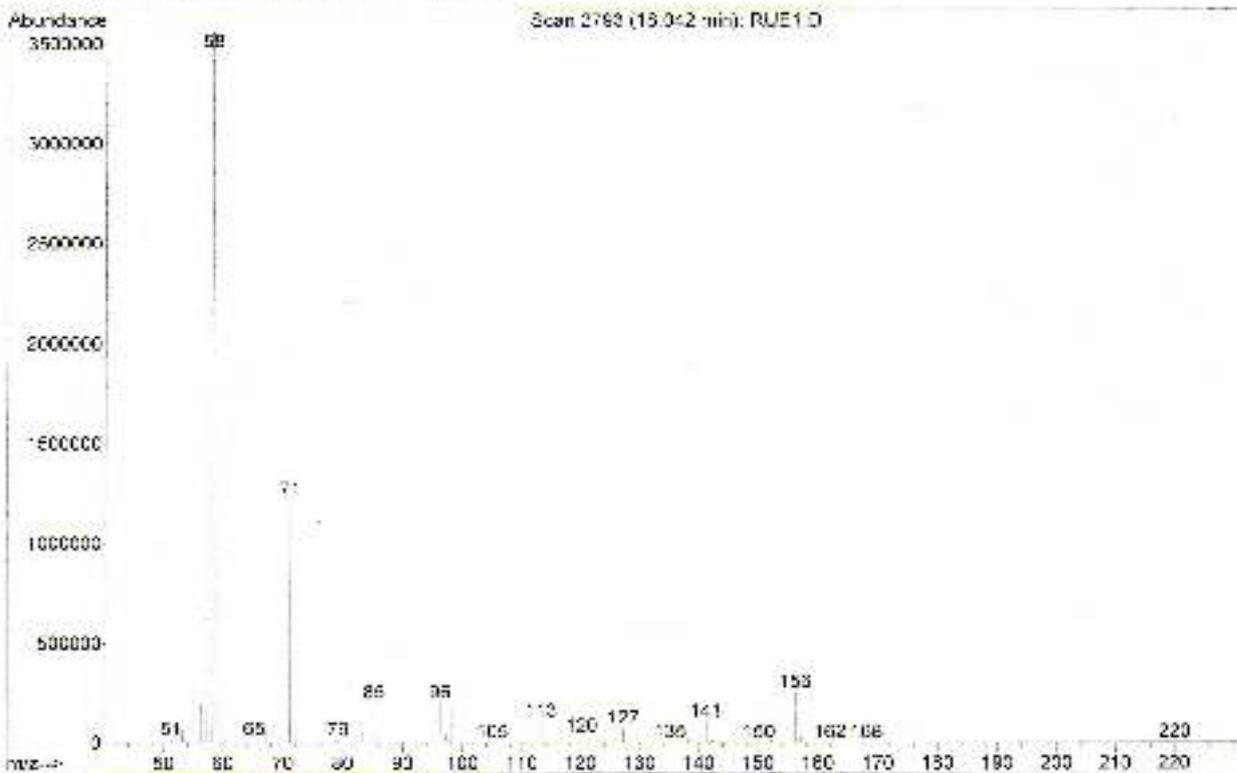
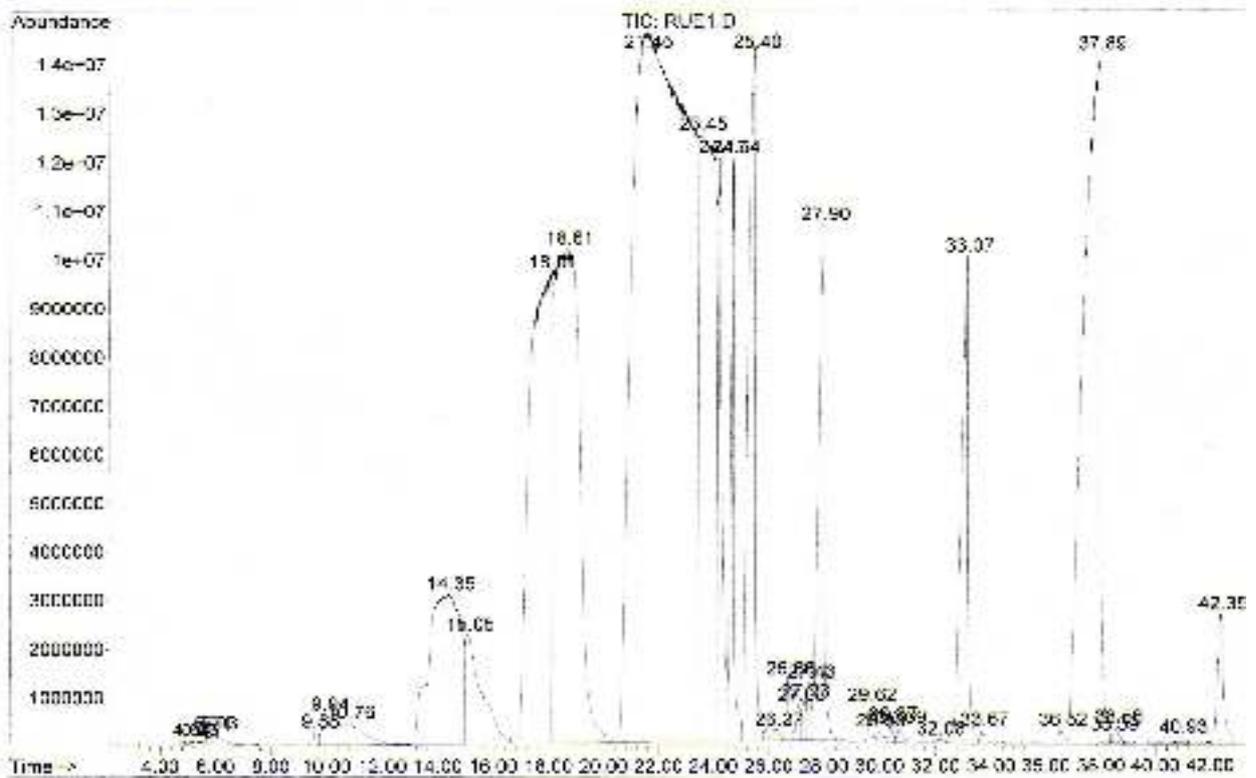


Figure20 (2):Le spectre de masse de 2-Décانونe de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois d'Avril.

File : D:\MSDCHEM\1\5973N\SNAPSHOT\RUE1.D
 Operator :
 Acquired : 6 Jun 2011 13:14 using AcqMethod: DEFAULT
 Instrument : Instrument
 Sample Name: LE ~~AVRIL~~
 Mass Info : BLISA
 Vial Number: 1

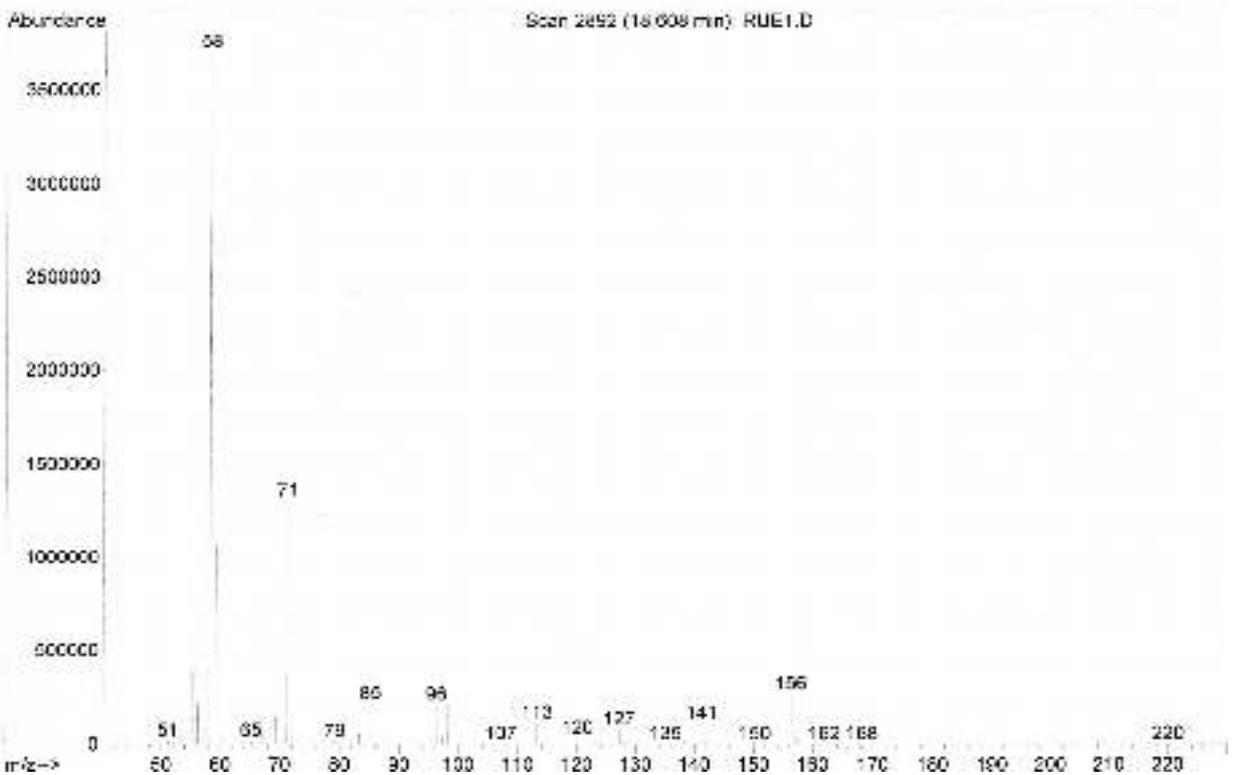
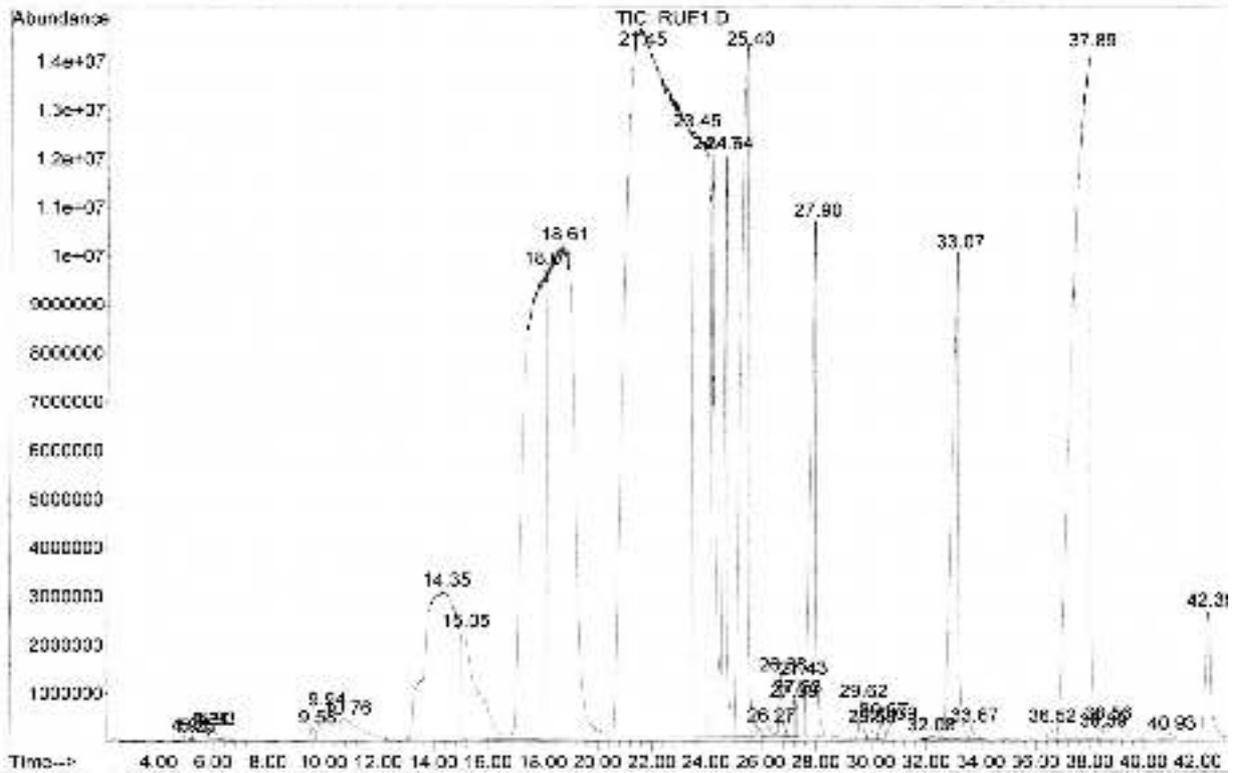


Figure 20 (3): Le spectre de masse de 3-Décانونe de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois d'Avril.

File : D:\MSDCHEM\1\577EN\ENADSHOT\ROU1.D
 Operator :
 Acquired : 6 Jun 2011 14:14 using AcMethod DEFAULT
 Instrument : Instrument
 Sample Name: HE **AVRIL**
 Misc Info : EUTDA
 Vial Number: 1

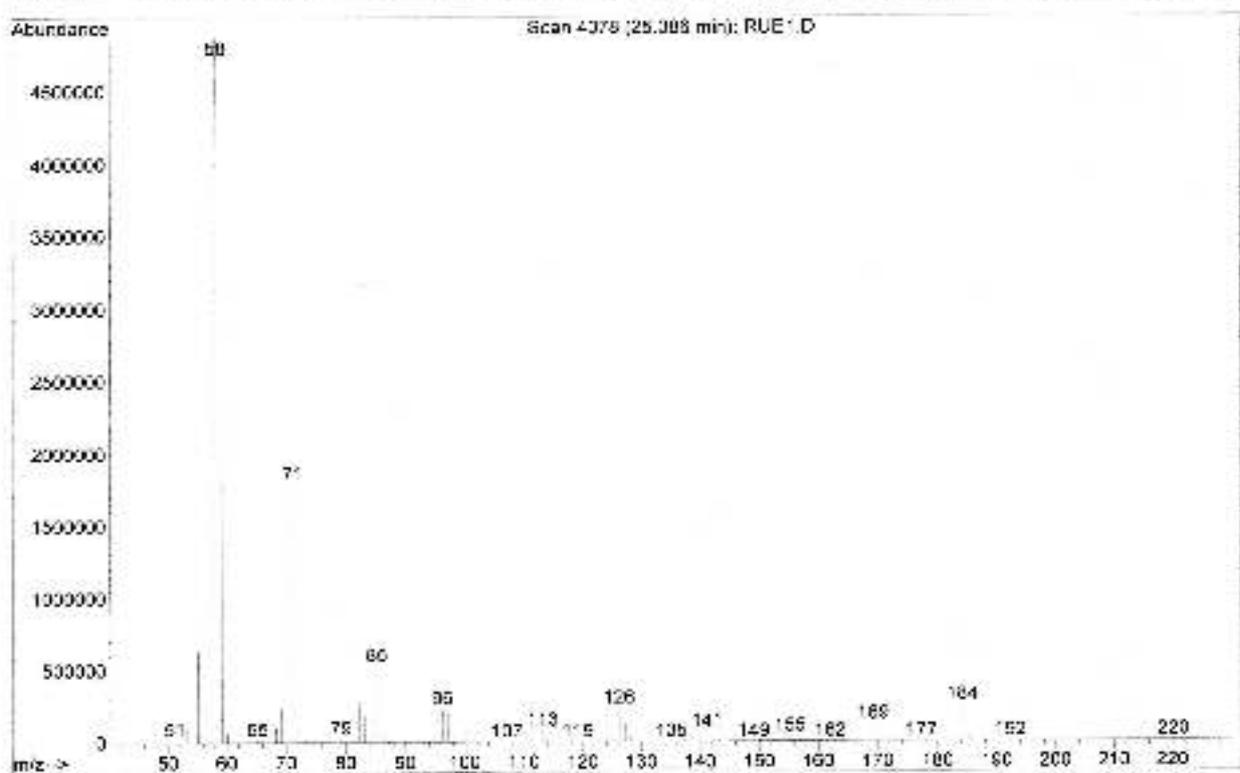
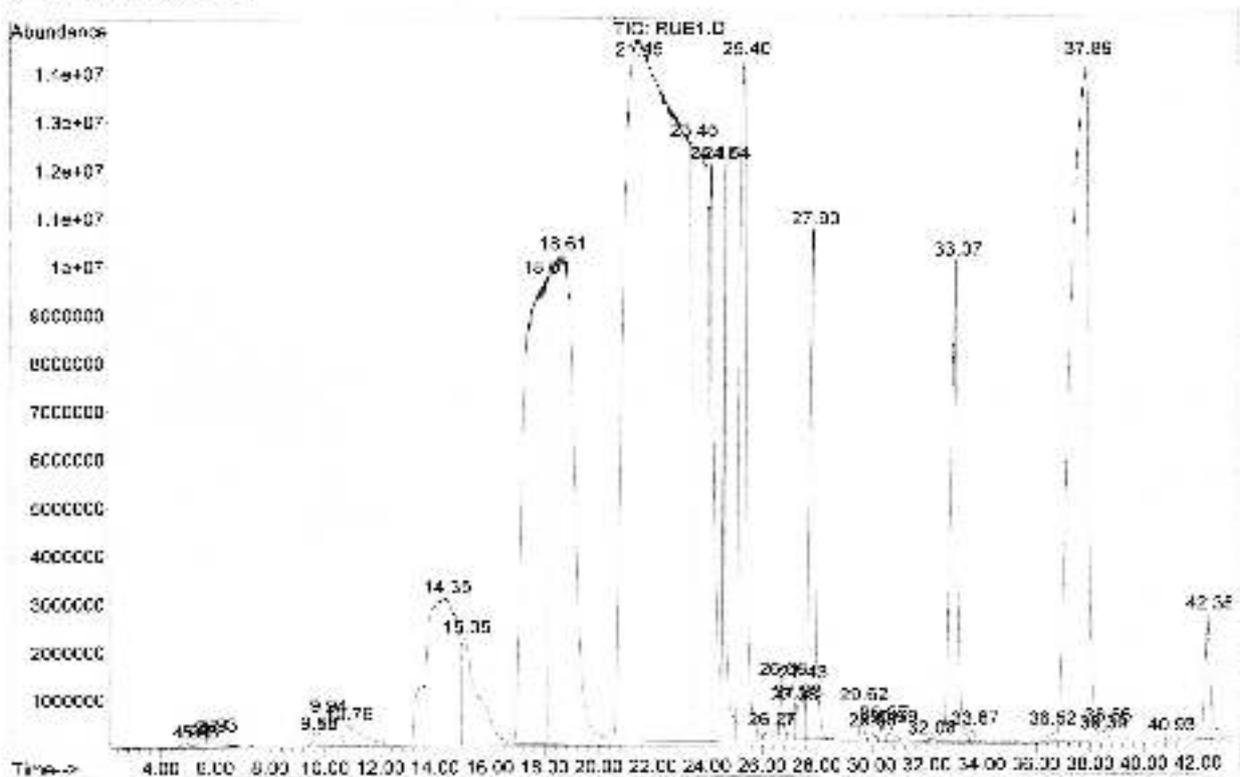


Figure20 (5):Le spectre de masse de 2-Dodécanone de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois d'Avril.

File : D:\MSDCHEM\1\5973N\SNAPDRHOTARUE1.D
 Operator :
 Acquired : 6 Jun 2011 13:14 using AcqMethod: DEFAULT
 Instrument : Instrument
 Sample Name: HE *AVRIL*
 Misc Info : BLIDA
 Vial Number: 1

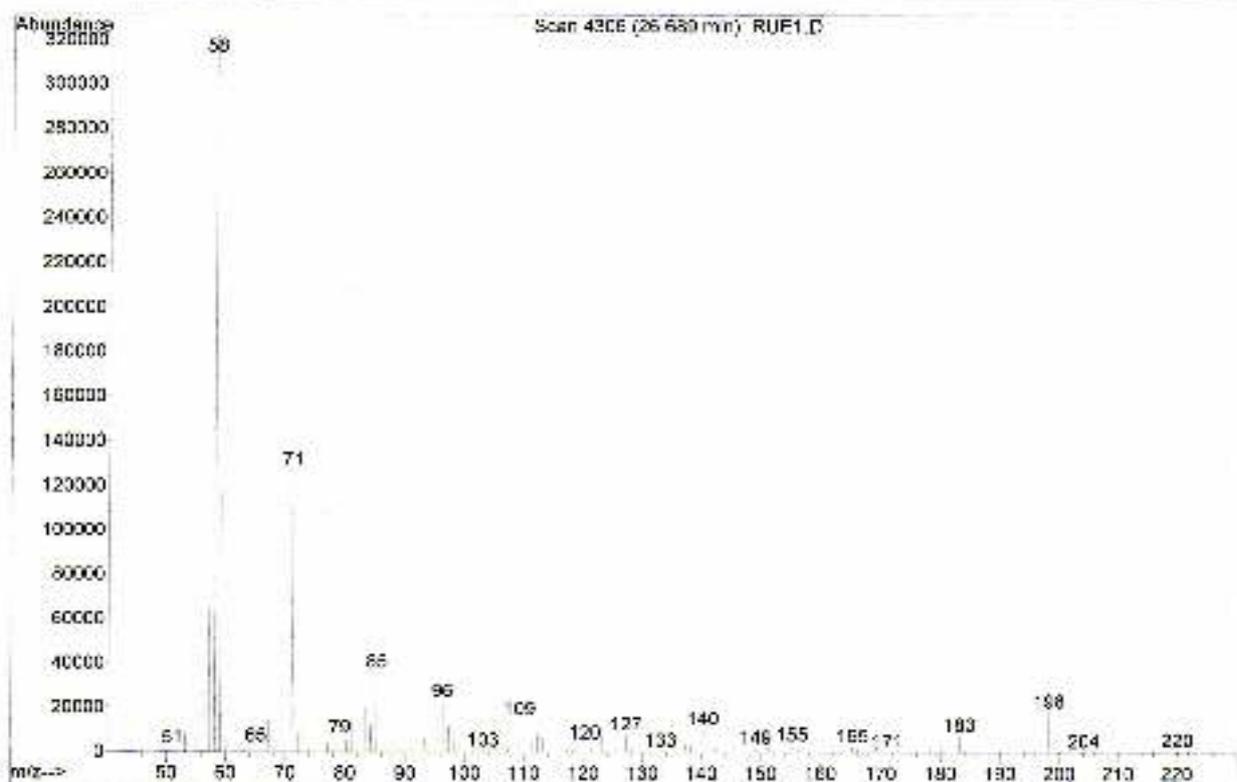
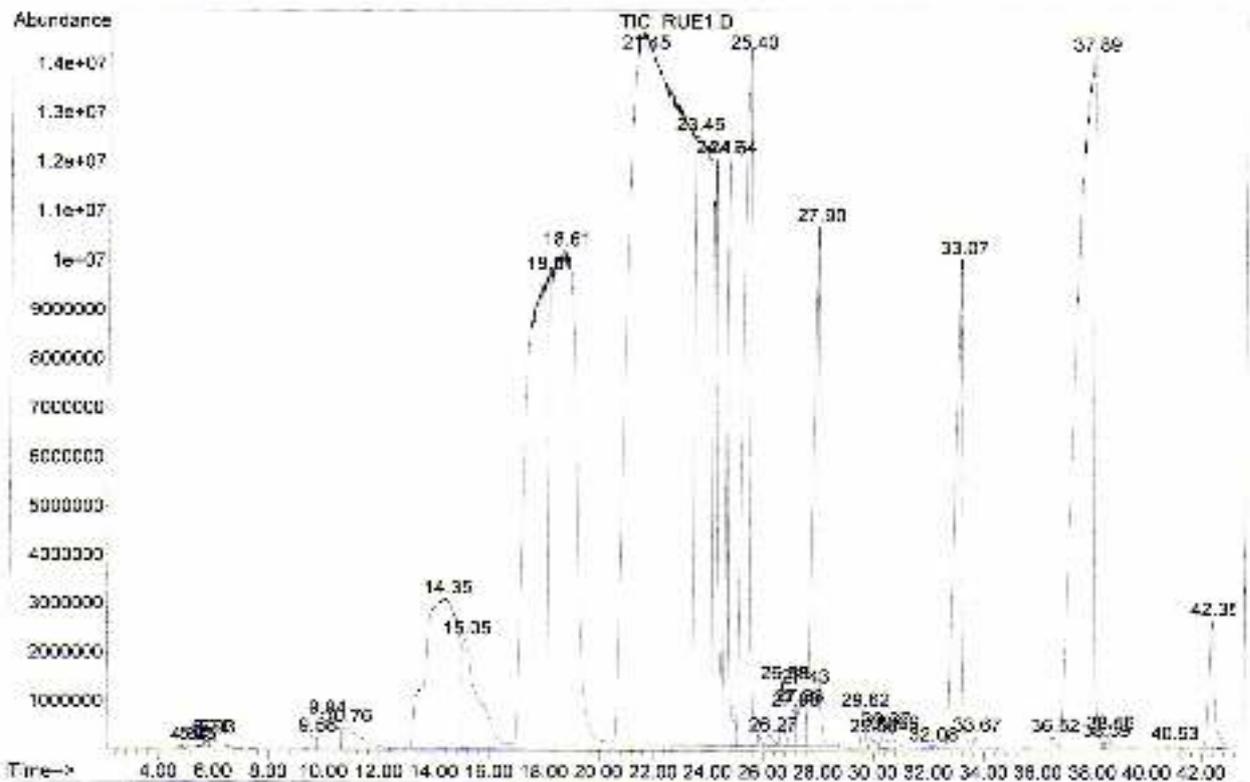
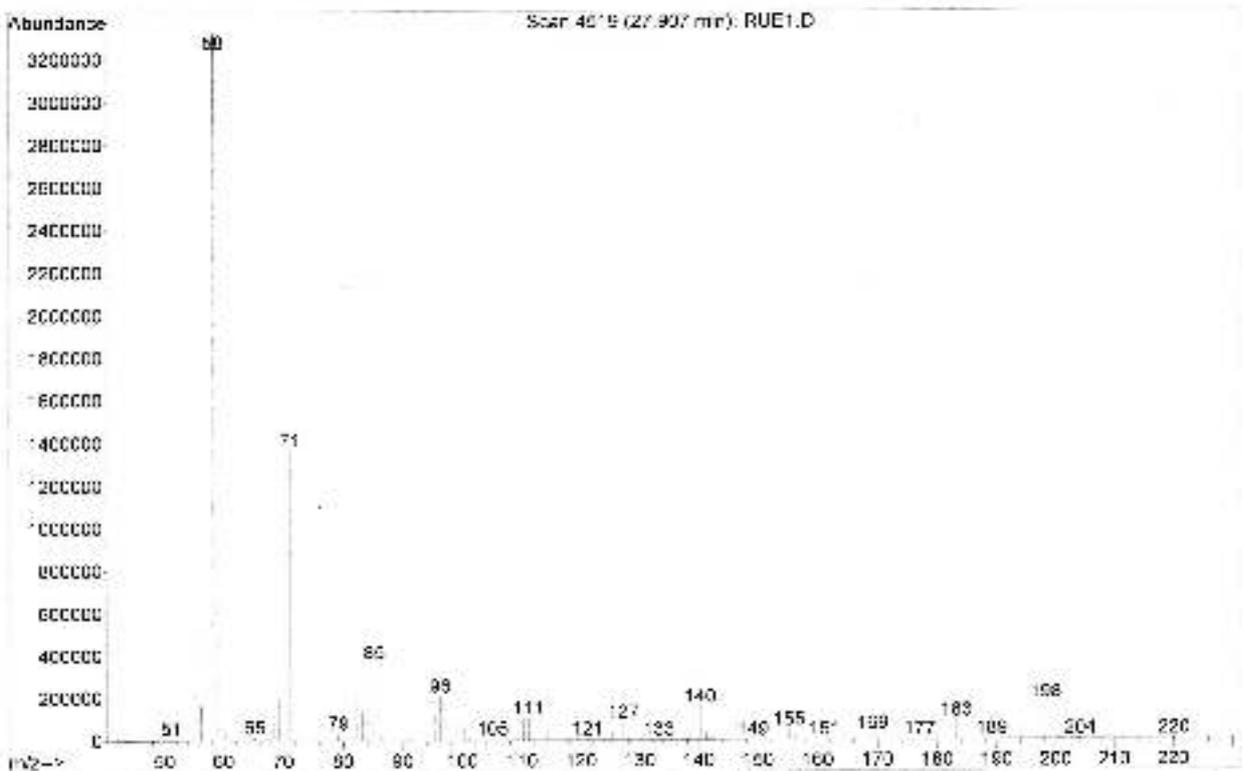
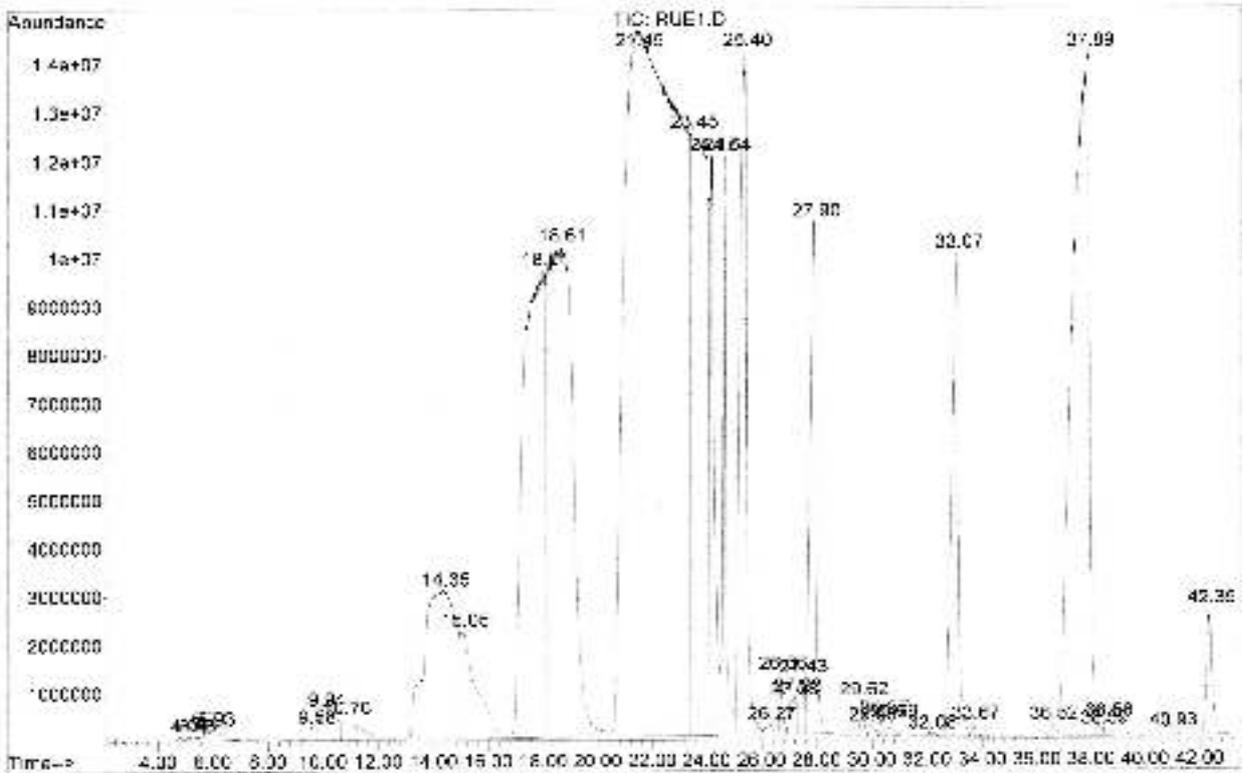


Figure20 (6):Le spectre de masse de3-Tridécanone de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois d'Avril.

File : D:\MSDCHEM\1577\MSMAPSHOT\RUE1.D
 Operator :
 Acquired : 6 Jun 2011 13:14 using AcqMethod DEFAULT
 Instrument : Instrument
 Sample Name: L2 ~~AVRIL~~
 Misc Info : BLIDA
 Vial Number: 1



Figur20 (7):Le spectre de masse de 2-Tridécane de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois d'Avril

File : D:\MSDCHEM\1\5973NAGNAPS.DOT\RUESECHE.D
 Operator : Kaoui
 Acquired : 8 Jan 2011 13:37 using AcqMethod DEFAULT
 Instrument : Instrumen
 Sample Name: HE RUE de février
 Misc Info : Blida
 Vial Number: 1

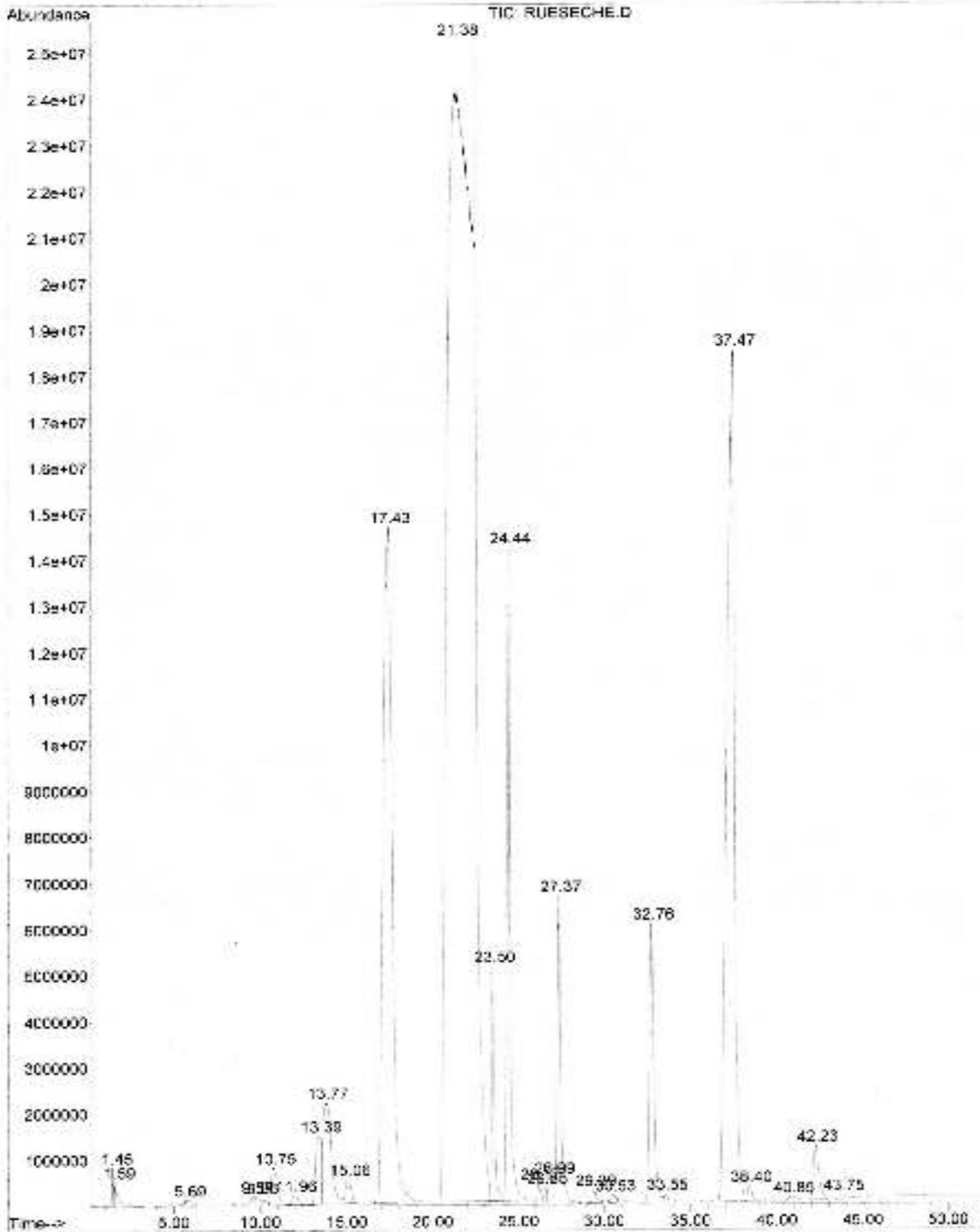


Figure21 (1): Chromatogramme de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois de Février obtenue par GC/MS.

File : D:\MSDCHEM\14587001\Snapsho\A01R0400E.D
 Operator : Houdi
 Acquired : 8 Jun 2011 10:37 using: AcqMethod: GC.PAULT
 Instrument : INSTRUM001
 Sample Name: HE RUE de Février
 Misc Info : Blida
 Vial Number: 1

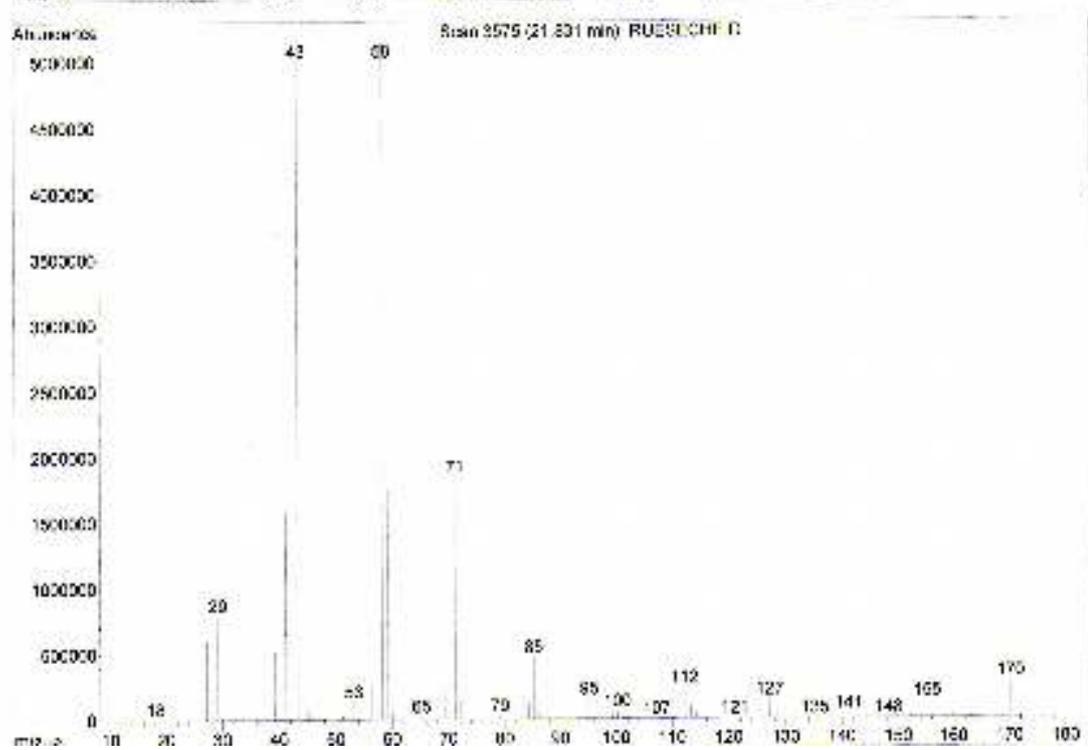
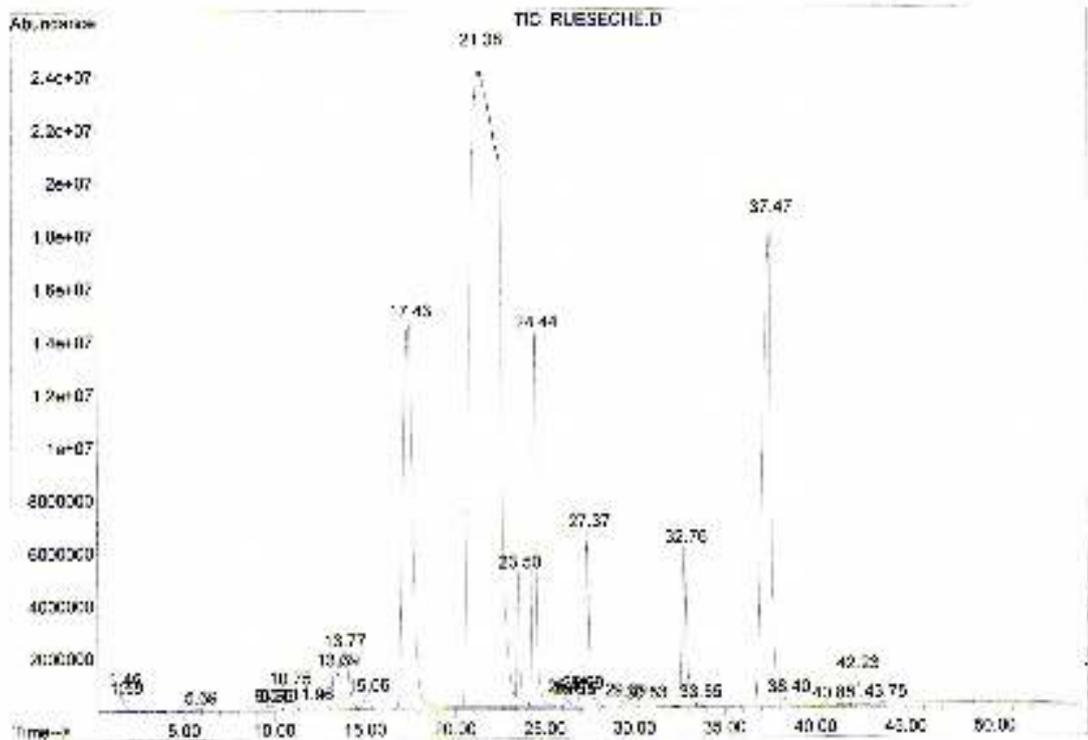


Figure21 (2):Le spectre de masse de 2-Undécane de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois de Février.

File : D:\MSDCHEM\1\5873\5873\SnapShot\RUESSECHE.D
 Operator : Hacui
 Acquired : 8 Jun 2011 10:27 using AcqMethod DEFAULT
 Instrument : Instrument
 Sample Name: H- RUE de février
 Misc Info : Blida
 Vial Number: 1

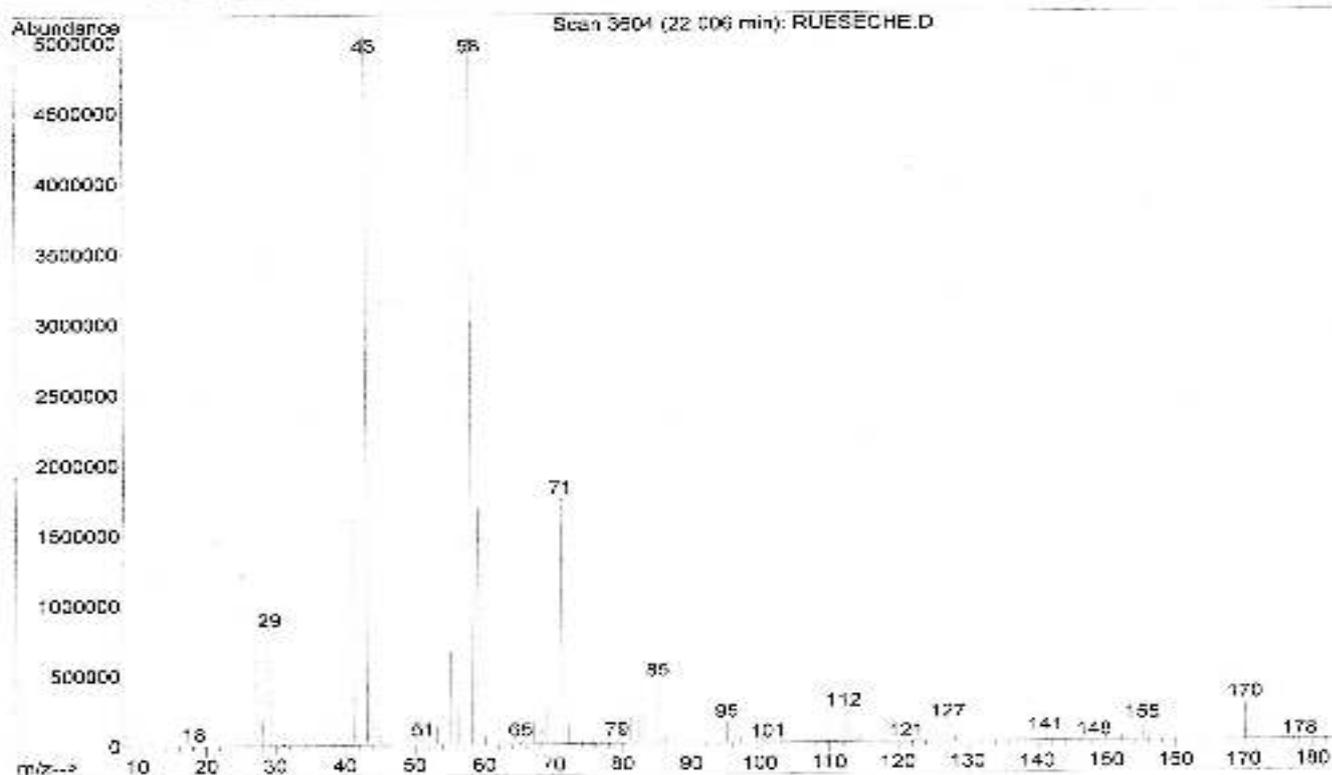
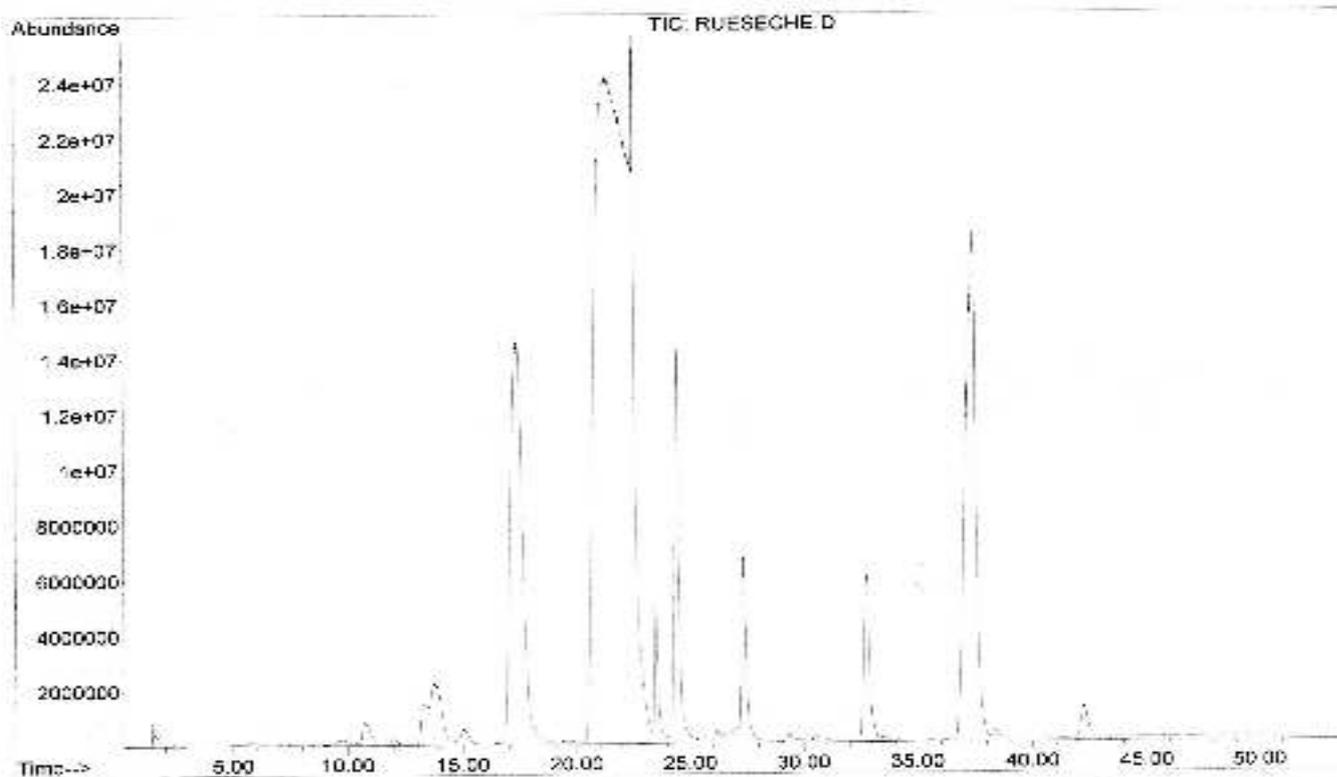


Figure21 (3):Le spectre de masse de 2-Dodécane de l'huile essentielle de la Rue récolté au mois de Février.

ANNEXE A

Les méthodes analytiques choisies sont les méthodes établies et révisées par AFNOR.

Les caractéristiques physiques :

- **Détermination de l'indice de réfraction :**

Définition :

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante.

Détermination du pouvoir rotatoire :

Définition :

Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle α_D^t est l'angle exprimé en milliradians et /ou degré d'angle, dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde 589.3nm +/- 0.3, correspondant aux raies D du sodium, lorsque celle-ci traverse une épaisseur de 100nm de l'huile essentielle dans des conditions déterminées de température. Si la mesure est effectuée sur une épaisseur différente, la valeur de α_D^t doit être ramenée, par le calcul, à une épaisseur de 100nm.

Mode opératoire :

Les mesures ont été effectuées à l'aide d'une polarimètre précision (Bellingham + Stanley, Limited BS N° R86010) il est réglé de façon à donner (0) avec l'éthanol, la concentration de l'huile essentielle et de 0.5%(massique). Le pouvoir rotatoire spécifique est donné par la formule :

$$[\alpha]_{\lambda}^{20} = A/L * C$$

Où :

A : la valeur, de l'angle de rotation exprimé en degrés d'angle.

L : est la longueur du tube utilisé, exprimée en décimètre.

C : la concentration de l'huile essentielle en g/cm³.

Les caractéristiques chimiques :

Indic d'acide

Définition : L'indice d'acide I_A est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres dans un gramme de l'huile essentielle.

Principe

Neutralisations des acides libres par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium titré.

Réactifs

Au cours de l'analyse on utilise uniquement des réactifs de qualité reconnue et de l'eau distillée ou de l'eau du pureté équivalente, éthanol à 95% à 20°C ,rarement neutralisé par la solution d'hydroxyde de potassium ,solution éthanolique titré, $C(KOH) = 0.1 \text{ mol/l}$.

Mode opératoire

On introduit 0.5g/l d'huile essentielle dans un ballon, on ajoute 25ml d'éthanol et 5gouttes de solution de phénophtaléine, comme indicateur et on neutralise la solution avec l'hydroxyde de potassium contenue dans la burette.

$$I_A = 5.61V/m$$

Où

V : est le volume en millilitre de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée.

m : est la masse en grammes de la prise d'essai.

Indice d'ester

Définition : l'indice d'ester I_E est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des esters contenue dans 1 gramme d'huile essentielle.

Principe

Hydrolyse des esters par chauffage dans des conditions définies, en présence d'une solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium et dosage de l'excès d'alcali par une solution titrée d'acide chlorhydrique.

Réactifs

Ethanol à 95% volumique.

C (KOH) =0.5mol/l

C (HCl) =0.5mol/l.

Mode opératoire :

Dans un ballon on introduit 0.5gramme d'huile essentielle, on ajoute à l'aide d'une burette 25 ml de la solution de KOH, on adapte un tube en verre ou un réfrigérant et on place le ballon sur le bain d'eau bouillante et on l'y laisse pendant une durée précisée dans la monographie de l'huile essentielle à analyser.

On laisse refroidir, on démonte le tube et on ajoute 20ml d'eau puis 5gouttes de solution de phénophtaléine, comme indicateur .on titre l'excès d'hydroxyde de potassium avec une solution d'acide chlorhydrique.

$$I_E = 28.05/m (V_0 - V) - I_A$$

Où :

V_0 : le volume en millilitre de la solution d'acide chlorhydrique dans le test blanc.

m : est la masse en grammes de prise d'essai (0.5 g).

I_A : la valeur d'indice d'acide, déterminé selon NFT 75-103.

Détection par spectrométrie de masse: GC-MS

La combinaison de la spectrométrie de masse et de la chromatographie en phase gazeuse offre de multiples possibilités analytiques; Ces appareils ont subi une évolution technologique considérable. Les plus récents, appelés GC-MS compacts, sont très simples d'utilisation et ne nécessitent pas de formation spécifique.

La spectrométrie de masse a connu un essor important ces dernières années avec la mise au point d'appareils de technologies variées dont le choix est adapté aux applications (recherche ou analyses de routine) et aux techniques de séparation utilisées en amont/: chromatographie en phase gazeuse, chromatographie en phase liquide, électrophorèse capillaire ou même dans le cas d'analyse inorganique spectrométrie de masse dont nous donnons les caractéristiques lors de l'étude respective de chacune de ces méthodes[79].

Principe de la spectrométrie de masse:

Fin de formule inattendue déterminer la nature et l'abondance de l'ensemble des ions formés.

Appareillage:

Les opérations de formation et de séparation des ions sont effectuées dans une enceinte où est maintenu un vide extrêmement poussé [$<10^{-6}$ Torr (1 torr=1mm de mercure=1.33mbar)]. Le vide augmente le libre parcours moyen d'ions, de manière à leur permettre de franchir la distance séparant la source du collecteur d'ions sans subir ni collision, ni réaction ions molécules.

En couplage GC-MS, l'ionisation est obtenue soit par impact électronique(EI), soit par ionisation chimique (CI). Par exemple, en impact électronique, les molécules de l'échantillon entrent en collision avec un flux d'électrons de forte énergie. L'impact d'un électron sur une molécule provoque l'expulsion d'un électron de la molécule créant ainsi un ion positif moléculaire qui est le plus souvent lui-même décomposé en fragments ionisés. L'ionisation chimique repose sur des réactions ions-moléculaires entre un ion réactif tel que CH_5^+ ou NH_4^+ présent en large excès et la molécule à étudier. Une réaction fréquente est la formation de l'ion MH, où M représente le composé à étudier.

Les ions sont extraits de la source au fur et à mesure de leur formation, accélérés et focalisés jusqu'à l'analyseur par un jeu de lentilles électrostatiques [79].



Figure 22 : Couplage : chromatographe-spectromètre de masse.

Aromatogramme

Principe

L'aromatogramme est une méthode inspirée de l'antibiogramme qui permet de déterminer l'activité inhibitrice d'agent antimicrobiens par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque de cellulose imprégné de différents produits à tester [80] figure 23. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension du microorganisme à étudier. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies. Appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de cette zone est grand... Plus la souche est sensible à l'antimicrobien. Plus il est petit. Plus la souche est résistante.

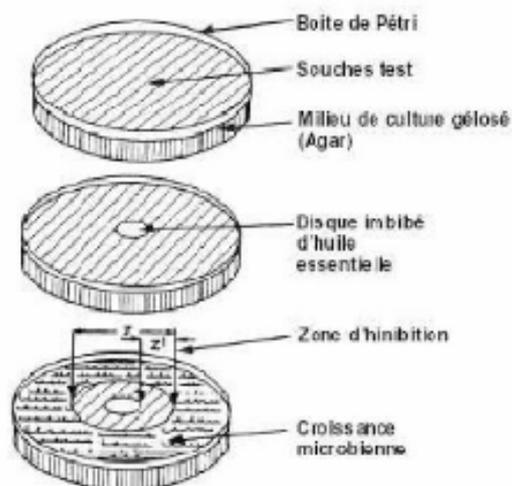


Figure 23: Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri.

ANNEXE B



Figure 01 : La Rue (*Ruta montana*)



Figure 02: *Bracon* sp



Figure 03: *Pseudapanteles dignus*



Figure 04 : *Trichogramma* sp



Figure 05 : *Adulte de Nesidiocoris tenuis*



Figure 06 : Élevage des adultes de *Tuta absolutat*.



Figure 07 : les infestés par les larves de la mineuse.



Figure 08 : Adulte de *Tuta absoluta*



Figure 09: Œuf de *Tuta absoluta*



Figure 10: Stade L1 de *Tuta absoluta*.



Figure 11 : Stade L2 de *Tuta absoluta*



Figure 12: Stade L3 de *Tuta absoluta*.



Figure 13 : Stade L4 de *Tuta absoluta*.



Figure 14 : La face dorsale de la nymphe



Figure 15 : la face ventrale de la nymphe.



Figure 16 : Dispositif de l'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau



Figure 17: Matériel de traitement.



Figure 18 : Préparation de l'inoculum

Figures19 : Résultat des tests microbiologique



Escherichia coli



Enterococcus faecalis



Staphylococcus aureus



Pseudomonas aeruginosa

Glossaire

Allélochimie: substance naturelle intervenant dans les relations entre des espèces différentes ou entre une espèce et son environnement.

Antispasmodique : substance qui permet de lutter contre les spasmes, agit généralement en empêchant la contraction des fibres musculaires de l'intestin et des voies urinaires

Divaricata : se dit de pédoncules (tiges) s'écartant beaucoup (angle très ouvert) de l'axe support.

Parasitoïde: Organisme (animal ou végétal) se développant aux dépens d'un être vivant et entraînant sa mort. Les adultes ont une vie libre.

Prédateur: Organisme vivant qui capture des proies vivantes pour s'en nourrir ou pour alimenter sa progéniture.

Règne: catégorie taxonomique supérieurs dans le system de classification de Linné (règne végétal, règne animal).

Schizolysigène : se dit de mode de formation d'une cavité à l'intérieur d'un tissu qui résulte à la fois d'un écartement et de la multiplication des cellules bordant cette cavité mode schizogène ,et de la lyse des cellules les plus internes des celle-ci mode lysigène.

Simiochimique: ce sont des médiateurs chimiques responsables dans la communication entre les espèces (relation interspécifique)

Variegata : l'ensemble des végétaux à l'intérieur d'une même espèce.