

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de Blida 1

Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie

Département de Biotechnologies et Agro-Ecologie



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Biotechnologie et valorisation des plantes

Thème :

Etude de l'activité anti fongique et insecticide de

Zizyphus lotus L.

Présenté par :

MOSTEFAOUI IBRAHIM

Devant les membres de jury composé de :

<i>Mr BEN DALI. A.</i>	MCA	U. Blida 1	Président
<i>Mme TADJINE .N.</i>	MCA	U. Blida 1	Promotrice
<i>Mme BENCHRECHALI KHECHNA.H</i>	Docteur	SRPV BOUFARIK	Examinatrice
<i>Mme HERHAR .H</i>	/	SRPV BOUFARIK.	Co promotrice

Année universitaire

2024/2025

Remercîment

Avant tout, je remercie Allah Tout-Puissant qui m'a accordé la capacité et la volonté d'achever ce travail jusqu'au bout. J'aimerais exprimer ma profonde gratitude à mon encadreur de mémoire, Docteur TADJINE Nacéra, Maitre de conférence à l'université de Blida1, qui a dirigé ce travail avec une grande compétence scientifique, pour la confiance qu'elle m'a accordée et pour son suivi constant tout au long de la préparation de cette recherche.

Nous exprimons également notre gratitude aux membres du jury,

Dr. Ben Dali Abdelaziz et Dr. Khechna Bencherchali hassina .pour le temps précieux qu'ils ont consacré à la lecture et à l'évaluation de ce travail.

Sans oublier mes sincères remerciements et ma reconnaissance à l'ingénieur du laboratoire d'amélioration des plantes, Monsieur Walid(U.S.D.B.1) et à la directrice de (SRPV) Mme Ababsia Amal et Mme Herhar Hassiba l'ingénieur de laboratoire mycologie(SRPV), qui m'ont chaleureusement ouvert leurs portes pour réaliser cette étude.

Dédicaces :

Je dédie ce mémoire :

*A mes chers parents ma mère et mon père. Pour leur
patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements.*

A mes frères.

*A mes amies : Amine ; Zino ; Rami ; Nesserddine pour tous les moments de
complicités et pour tous les beaux souvenirs*

Résumé :

Zizyphus lotus L., est une espèce de la famille des Rhamnacées. Cet arbre fruitier est une source riche en substances naturelles telles que les huiles végétales, les polyphénols et les vitamines, ce qui en fait un sujet d'intérêt pour la recherche. L'étude montre que l'extrait éthanolique de feuilles de *Z.lotus* possède un pouvoir antioxydant significative, avec un $IC_{50} = 0.0625 \text{ mg/ml}$, indiquant leur potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. En outre l'extrait d'acétate d'éthyle a montré un pourcentage d'activité antifongique contre *Alternaria* sp, *Aspergillus niger*, et *Fusarium* sp 94%, 58 %, et 43% respectivement. Parallèlement, l'effet insecticide d'extrait foliaire de *Zizyphus lotus* a été testé sur les imagos de *Tribolium castaneum* (Herbst), L'extrait éthanolique de *Z.lotus* a montré une efficacité remarquable engendre une mortalité de 100% sur la population traitée. Ce pourcentage de mortalité est atteint au bout de moins 72 heures. L'évaluation des temps létaux 50 (TL50) montre que l'extrait éthanolique de *Z.lotus* a une rapidité d'action particulière vis-à-vis des imagos de *Tribolium castaneum*. Ces résultats suggèrent que *Zizyphus lotus* pourrait être une ressource précieuse pour le développement de nouveaux agents antifongiques et insecticides, contribuant ainsi à des pratiques agricoles plus durables et à la santé humaine.

Mots clés: *Zizyphus lotus* L., extrait, activité antifongique, activité insecticide, *Tribolium castaneum* (Herbst).

Abstract :

Zizyphus lotus L. is a species belonging to the Rhamnaceae family. This fruit-bearing tree is a rich source of natural compounds such as vegetable oils, polyphenols, and vitamins, making it a subject of interest in scientific research. The study demonstrates that the ethanolic extract of *Z. lotus* leaves possesses significant antioxidant activity, with an IC₅₀ value of 0.0625 mg/ml, indicating its potential in combating oxidative stress. Furthermore, the ethyl acetate extract exhibited antifungal activity against *Alternaria* sp., *Aspergillus niger*, and *Fusarium* sp. with inhibition percentages of 94%, 58%, and 43%, respectively. Simultaneously, the insecticidal effect of the leaf extract of *Zizyphus lotus* was tested on *Tribolium castaneum* (Herbst) adults. The ethanolic extract showed remarkable efficacy, causing 100% mortality in the treated population within less than 72 hours. The assessment of the lethal time 50 (LT₅₀) indicated that the ethanolic extract of *Z. lotus* acts rapidly against *Tribolium castaneum*. These findings suggest that *Zizyphus lotus* could serve as a valuable resource for developing new antifungal and insecticidal agents, contributing to more sustainable agricultural practices and human health.

Keywords: *Zizyphus lotus* L., extract, antifungal activity, insecticidal activity, *Tribolium castaneum* (Herbst).

الملخص.

السدر الصحراوي (*Zizyphus lotus* L.) هو نوع نباتي ينتمي إلى عائلة السدرية (Rhamnaceae). تُعد هذه الشجرة المثمرة مصدراً غنياً بالمواد الطبيعية مثل الزيوت النباتية، البوليفينولات، والفيتامينات، مما يجعلها محل اهتمام في الأبحاث العلمية. أظهرت الدراسة أن المستخلص الإيثانولي لأوراق *Z. lotus* يمتلك نشاطاً مضاداً للأكسدة بشكل ملحوظ، حيث بلغت قيمة IC_{50} حوالي 0.0625 ملغ/مل، مما يدل على إمكانية استخدامه في مكافحة الإجهاد التأكسدي. بالإضافة إلى ذلك، أظهر مستخلص خلاص الإيثانول نشاطاً مضاداً للفطريات ضد كل من *Alternaria* sp و *Aspergillus niger* و *Fusarium* sp. بنسبة تثبيط بلغت 94% و 58% و 43% على التوالي. في الوقت ذاته، تم اختبار التأثير الحشري لمستخلص أوراق *Zizyphus lotus* على حشرات (*Tribolium castaneum* (Herbst) البالغة، حيث أظهر المستخلص الإيثانولي فعالية كبيرة أدت إلى موت 100% من الحشرات المعالجة خلال أقل من 72 ساعة. وقد بين تقييم الزمن اللازم لإحداث 50% من القتل (LT_{50}) أن للمستخلص الإيثانولي سرعة تأثير واضحة تجاه حشرات *Tribolium castaneum*. تشير هذه النتائج إلى أن *Zizyphus lotus* يمكن أن يكون مصدراً هاماً لتطوير عوامل جديدة مضادة للفطريات والحشرات، مما يساهم في ممارسات زراعية أكثر استدامة وصحة بشرية أفضل.

الكلمات المفتاحية: *Zizyphus lotus* L، مستخلص، النشاط المضاد للفطريات، النشاط الحشري، *Tribolium* (castaneum (Herbst

Liste des figures :

Figure 01: plante de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	5
Figure 02 : aire de répartition <i>Zizyphus lotus</i> en algérie.....	6
Figure 03 : Larve (A) ; Nymphé (B) et Adulte (C) de <i>Tribolium castaneum</i>	10
Figure 4 : Feuilles de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	15
Figure 5 : Adulte de <i>Tribolium castaneum</i> Herbst.....	16
Figure 06 : Méthode par ingestion.....	19
Figure n°07 : Courbe représentatif de la Densité Optique de extrait d'éthanol des feuille de <i>Z.lotus</i>	22
Figure 8 : Pourcentages de réduction du radical Libre DPPH des extraitsde feuilles de <i>Z.lotus</i> .L.....	23
Figure 9 : L'activité anti fongique témoin et traité de <i>Altrnarai</i> sp a différent concentration...25	
Figure 10 : L'activité anti fongique témoin et traité de <i>fusareuim</i> sp a différent concentration.....	25
Figure 11 : histogramme des taux d'inhibition de <i>Z.lotus</i> selon la dose.....	26
Figure 12 : Pourcentage de mortalité cumulée observé chez les imagos de <i>Tribolium castaneum</i> Herbst	27
Figure 13 : Action de l'extrait A défèrent dose (15ug/ml jusqu'à 50ug/ml) dans log temps sur le Probit (Adultes de <i>Triboluim castaneum</i>).....	28
Figure 14 : Relation entre <i>Tribolium castaneum</i> et la dose des extraits A toxicité par contact.....	30
Figure 15 : Pourcentage de la mortalité cumulée observé chez les imagos de <i>Tribolium castaneum</i> Herbst.....	30
Figure 16 : Action de l'extrait défèrent dose (15ug/ml jusqu'à 50ug/ml) dans log temps sur le Probit (Adultes de <i>Triboluim castaneum</i>) A Méthode Inhalation.....	31
Figure 17 : Relation entre <i>Tribolium castaneum</i> et la dose des extraits A méthode inhalation.....	32

Liste des tableaux :

Tableau 01 : Les composées majoritaires de feuilles et fruits de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	9
Tableau 02 : les principales caractéristiques des champignons testés.....	16
Tableau 03 : Résultats de l'activité antioxydants de l'extrait d'éthanol de feuilles <i>Zizyhus lotus</i>	22
Tableau 04: les valeurs de temps létal 50 et 90 (TL50.TL90) évaluées A deux Méthode	33
Tableau 05 : les valeurs de dose létal 50 et 90 (DL50.DL90) évaluées A deux Méthode.....	33.

Liste d'abréviation

- _ *Z.lotus L. : Zizyphus lotus L.*
- _ *°C : Degré Celsius*
- _ *AcOH : Acetate d'éthyle*
- _ *MeOH : Methanol*
- _ *H2O : L'eau distillée*
- _ *PI : Pourcentage d'inhibition*
- _ *DMSO : Diméthyle sulfoxide*
- _ *DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle*
- _ *Vit C : Vitamine C*
- _ *CI50 : Concentration inhibitrice 50*
- _ *TL50/TL90 : Temps létal 50/90*
- _ *DL50/DL90 : Dose l'étale 50/90*
- _ *PDA : Potato Dextrose Agar*

Sommaires :

Remercîment

Dédicaces

Résumé

<i>Introduction générale :</i>	1
<i>Chapitre I Généralité sur Zizyphus lotus.....</i>	4
<i>I.1. Description botanique :</i>	5
<i>I.2. Nomenclatures de Zizyphus lotus :</i>	5
<i>I.2.1. Nom scientifique : Zizyphus lotus Lam.</i>	5
<i>I.2.2.Noms régionaux :</i>	5
<i>I.4. Répartition géographique :</i>	6
<i>I.5. Utilisation de Zizyphus lotus L. :</i>	7
<i>I.5.1.Utilisation alimentaire :</i>	7
<i>I.5.2.Autres utilisations :</i>	7
<i>Chapitre II : Les métabolites secondaires</i>	8
<i>II.1. Définition des métabolites secondaires :</i>	9
<i>II.1.1. Les familles des métabolites secondaires :</i>	9
<i>II.2. Généralités sur le Tribolium castaneum (Coleoptera).</i>	10
<i>II.2.1. Description :</i>	10

II.2.2. Classification:	10
II.2.3 Cycle de vie et biologie :	11
II.2.4 Habitat et importance économique :	11
II.2.5. Insecticides chimiques :	11
II.2.6. Les Activités biologique de zizyphus lotus L :	11
<i>Chapitre III Matériel et méthodes</i>	14
III.1. Objectif :	15
III.2. Le lieu et durée de travail :	15
III.3. Matériels :	15
III.3.1. Matériel végétal :	15
III.3.2. Matériel biologique :	15
III.3.3. Matériel non biologique	16
III.4. Méthode	16
III.4.1. Préparation des extraits :	16
III.5. Evaluation de l'activité antioxydante :	17
III.5.1. protocole expérimentale :	17
III.5.2. Calcul des CI50 :	17
III.6. Evaluation de l'activité antifongiques :	18
III.6.1. Préparation de l'extrait :	18
III.6.2. Protocole expérimental :	18
III.7. Évaluation de l'activité insecticide de <i>Tribolium castaneum</i> Herbst :	19
III.7.1. Toxicité par contacts :	19
III.7.2. Test d'inhalation :	19
<i>Chapitre IV : Résultats et discussion</i>	21
IV.1. Les résultats de l'activité antioxydant :	22
IV.2. Les résultats de l'activité anti fongiques :	24

IV.3. Résultats de l'activité insecticide :	27
IV.3.1. toxicité par contact :	27
<i>Conclusion</i>	34
<i>Références bibliographiques</i>	36
<i>ANNEXES</i>	41

Introduction générale :

Les plantes médicinales et aromatiques, telles que *Zizyhus lotus* L., occupent une place centrale dans la médecine traditionnelle en raison de leurs propriétés thérapeutiques reconnues. Ces plantes sont particulièrement riches en composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les terpénoïdes, qui sont à l'origine de leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes.

De nombreuses études antérieures ont permis d'identifier et de caractériser ces substances phytochimiques (Chebaibi et al., 2016 ; Bruneton, 2016 ; Tsakni et al., 2023 ; El Ghorab et al., 2022), confirmant ainsi le potentiel microbiologique et insecticide de *Zizyphus lotus* L. Cependant, peu de recherches ont établi un lien direct entre la composition chimique de cette plante et une évaluation simultanée de son activité antioxydante et insecticide. Par ailleurs, l'élaboration de formes galéniques stables à base d'extraits végétaux, telles que la formulation de bio-insecticides et de fongicides, demeure peu explorée, limitant ainsi leur application dans une agriculture durable. Dans ce contexte, le présent travail vise à évaluer l'activité antioxydante, antifongique et insecticide des extraits de feuilles de *Zizyphus lotus*, tout en cherchant à développer une formulation pouvant remplacer les molécules synthétiques. Notre étude s'inscrit dans une démarche scientifique visant à évaluer le potentiel biologique de *Zizyphus lotus* L. en vue de la valorisation des extraits de feuilles de cette plante d'intérêt socio-économique.

Partie théorique

Chapitre I :
Généralité sur Zizyphus lotus

I.1. Description botanique :

Zizyphus lotus L. est un arbuste fruitier épineux et très ramifié. Il pousse en touffe, est peut jusqu'à deux mètres de haut (**Bencheikh et al., 2023**).

Les rameaux sont recourbés vers le bas, à couleur blanc grisâtre à épines par paires droites ou recourbées (**Ghedira, 2013**), feuilles caduques, vertes brillantes d'environ 5 cm de long et présentent trois nervures principales. Chaque feuille porte à sa base deux stipules transformées en épines inégales et vulnérables (**Laouedj, 2018**). Les fleurs sont jaunes, petites, pentamères, solitaires ou en petits groupes, avec un calice en forme d'entonnoir. Les fruits sont des drupes sphériques, rouge foncé à maturité il s'appelle n'beg. ronds et petits d'une pulpe demi-charnue et riche en sucre (**Ghedira, 2013**).



Figure n°1: plante de *Zizyphus lotus* L. (**Mostefaoui.I 2025**).

I.2. Nomenclatures de *Zizyphus lotus* :

I.2.1. Nom scientifique :

Zizyphus lotus Lam.

I.2.2. Noms régionaux :

Zizyphus lotus L est connue sous plusieurs dénominations internationale, notamment (**Ghedira, 1995**) :

- Français : Jujubier sauvage, jujubier de Berbérie, lotus des anciens, jujubier des Lotophages.
- Anglais : African jujube, Lote fruit, Lotus tree, lotus jujube, wild jujube.
- Allemand : Wilde Jujube.
- Portugais : Acufeifa-menor.

- Espagnol : Azufaifo africano, Azufaifo ibérico, Arto, Arto blanco, Espina de Cristo.
- Arabe : Zizouf, زيزوف / sedra, سدر / sidr, sidr bari, بري سدر.

I.3. Classification de *Zizyphus lotus* L:

Selon le système de classification phylogénétique **APG IV(2016)**., la position systématique de *Zizyphus lotus* est la suivante :

- Règne : Plantae
- Sous-règne : Tracheobionta
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Mangnoliopsida
- Sous-classe : Rosidae
- Ordre : Rhamnales
- Famille : Rhamnaceae
- Sous-famille : Paliureae
- Genre : *Zizyphus*
- Espèce : *Zizyphus lotus*

I.4. Répartition géographique :

Zizyphus lotus L se trouve couramment dans les régions arides et semi-arides du bassin méditerranéen, en Afrique du Nord, ainsi que dans certaines zones d'Asie et d'Amérique (Fekih, 2009). Ce dernier est parfaitement adapté aux environnements secs grâce à son système racinaire profond qui peut atteindre plus de 50 mètres pour la collecte d'eau (Benammar et al., 2010).

En Algérie :

Zizyphus lotus L est largement répandu, notamment dans les hautes plaines steppiques, le Sahara septentrional, les dunes de sable, les lits d'Oueds, les berges sableuses et les pentes rocheuses. Il est présent dans plusieurs wilayas comme Djelfa (Maessad, Ain Ouessara), Bechar (Taghit), Constantine (El Khroub), Blida, et Alger (Kherroubi, 2023).



Figure n°2 : aire de répartition *Zizyphus lotus* en algérie (Quezel et santa, 1962)

I.5. Utilisation de *Zizyphus lotus* L. :

I.5.1.Utilisation alimentaire :

Les jujubes sont consommés, comme aliment frais, conservés, secs, ou utilisés en confiserie et pâtisserie voir même extraire son jus (Lahlou et al., 2002).

I.5.2. Utilisation médicalement :

traitement des maladies les troubles digestifs, la faiblesse, les problèmes du foie, l'obésité, les infections urinaires, le diabète, les infections de la peau, la fièvre, la diarrhée et l'insomnie (Kirtikar et al., 1984, Han et Park 1986)

I.5.3.Autres utilisations :

Elle joue un rôle écologique important dans la stabilisation des sols et la lutte contre l'érosion

Chapitre II :

Les métabolites secondaires

II.1. Définition des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des composés chimiques synthétisés par les plantes. Ils jouent des rôles importants dans la défense contre les herbivores, pathogènes, la communication avec d'autres organismes (pollinisateurs, microbes), la protection contre les stress abiotiques (UV, température) (**Mansour, 2009**).

Ces composés regroupent principalement des grandes classes : les terpènes, les alcaloïdes, les saponines et les composés phénoliques (**Benkiki, 2006**).

II.1.1. Les familles des métabolites secondaires :

Tableau n°1 : Les composées majoritaires de feuilles et fruits de *Zizyphus lotus* L.

Organe Végétale	Composés phénolique	Contenu en mg/100g	Références
Fruit	Acides phénolique totales	297- 4078.2	(Ghazghazi et al., 2014; Hammi et al., 2015).
	flavonoides	122	
	Tanins	33	
Feuille	Totale phénolique	664	(Ghazghazi et al., 2014; Borgi et al., 2008; Maciuk et al., 2004; Maciuk et al., 2003).
	flavonoides	130 - 199	
	Tanins	39	
	Saponines	340	
	Jujuba Saponine IV	2	
	Flavonol glycoside	3	
	Polyphénols	1468	

II.2. Généralités sur le *Tribolium castaneum* (Coleoptera).

II.2.1. Description :

Tribolium castaneum Herbst, communément appelé la tribolium rouge de la farine ou petit ver de la farine, est un insecte coléoptère de la famille des Ténébrionidés. Il mesure environ 3 à 4 mm, avec une couleur brun rougeâtre uniforme. La larve est blanche avec des bandes brunes et atteint environ 8 mm avant la nymphose (**Bonneton, 2008**).

II.2.2. Classification:

La position systématique du ver rouge de la farine selon Chenni (2016), est comme suit :

Règne : Animal

Super-embranchement : Invertébrés

Embranchement : Arthropodes

Super-classe : Antennates

Classe : Insectes

Ordre : Coleoptera

Famille : Tenebrionidae

Genre : Tribolium

Espèce : *Tribolium castaneum* Herbst.



Figure n°3 : Larve (A) ; Nymphe (B) et Adulte (C) de *Tribolium castaneum* (**Bonneton,2008**)

II.2.3 Cycle de vie et biologie :

la Durée de vie entre 2 et 8 mois selon les conditions environnementales, la Reproduction de femelle pond entre 500 et 800 œufs, qu'elle disperse sur les graines ou les réserves qu'elle a accumulées, Éclosion À une température de 30°C, les œufs éclosent au bout de 5 jours. Les larves passent par 5 à 11 mues sur une période approximative de 3 semaines, après quoi elles se transforment en nymphes immobiles pour une durée de 9 à 17 jours avant leur transformation en adultes, la Température optimale de 25 à 38°C, atteignant un maximum d'efficacité approximativement à 32-33°C. Le développement cesse lorsque la température chute sous les 22°C (**Hagstrum et al., 2012**).

II.2.4 Habitat et importance économique :

Infestation de produits céréaliers entreposés (le riz, maïs ,blé),On le trouve partout dans les silos, les moulins et les dépôts à l'échelle mondiale,il Responsable de pertes le poids, qualité, et contamination des aliments par ses excréments et fragments(**Hagstrum, D. W., Phillips, T. W., & Cuperus, G. 2012**).

II.2.5. Insecticides chimiques :

Advion Gel : est un insecticide en gel qui renferme l'ingrédient actif indoxacarbe à une concentration de 5%, et il ne dégage aucune odeur. Il possède la capacité de « mort différée », où l'insecte se nourrit du gel sans pour autant périr instantanément. Il est applicable à l'intérieur comme à l'extérieur des endroits infestés d'insectes, cependant, il présente un risque pour la santé humaine et le consommateur (**Agrichem Algérie. (2021)**).Fiche de données de sécurité du Phostoxin).

Le phosphore d'aluminium : On utilise fréquemment le phosphore d'aluminium, un insecticide gazeux, dans les silos pour éradiquer les insectes nuisants aux réserves. Malgré son efficacité notable pour cette application, sa toxicité élevée pour l'homme impose des mesures de sécurité rigoureuses lors de son utilisation.(**Agrichem Algérie(2021)**). Fiche de données de sécurité du Phostoxin).

II.2.6.Les Activités biologique de zizyphus lotus L :

1.Activité anti oxydant :

Plusieurs études rapportent que les extraits de *Z. lotus* présentent des propriétés antioxydantes. En effet, cette plante renferme de nombreux composés antioxydants tels que les acides phénoliques, flavonoïdes, alcaloïdes et saponines. Des travaux antérieurs ont

montré que ces composants préviennent le stress oxydatif en réduisant de façon intéressante les espèces réactives de l'oxygène (ROS). De nombreuses études réalisées in vitro ont démontré la capacité des différentes parties de *Z. lotus* à piéger les radicaux libres. possède le pouvoir antioxydant le plus élevé dans la fraction MeOH-H₂O (El cadi et al., 2020).

L'extrait éthanolique de *Zizyphus lotus* possède une activité antioxydante considérable, qui peut être utilisée dans l'industrie pharmaceutique pour traiter les maladies ,causées par le stress oxydatif (khouchalaa et Tijane, 2020).

2.Activité anti fongique :

L'activité antifongique des extraits de *Zizyphus lotus* a suscité un intérêt croissant en raison de son potentiel à lutter contre les champignons pathogènes. Cette plante médicinale, largement utilisée en médecine traditionnelle , contient divers composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les tanins et les triterpènes. Plusieurs études ont évalué l'efficacité de ses extraits obtenus par différents solvants (eau, méthanol, éthanol,éthyl-acétate, chloroforme) contre des souches fongiques telles que *Aspergillus flavus*, *Fusarium* spp,*Altrnarai* spp et *Candida albicans*.(Slimani, Moussaoui & Laazouni (2017)

ont montré que les flavonoïdes extraits des racines de *Z. lotus* inhibaient jusqu'à 73 % la croissance de *Aspergillus ochraceus*,Et extraits éthyl- acétate et méthanol des feuilles ont montré une forte inhibition de la croissance de deux souches de *Fusarium avenaceum* et *F.culmorum*.(Thèse doctorat Université Blida 1 ,régions Médéa, Tamanrasset, El Oued)

Partie expérimentale

Chapitre III
Matériel et méthodes

III.1. Objectif :

Mon objectif est d'étudier les propriétés insecticides, antifongiques et anti oxydantes de l'extrait feuille de zizyphus lotus L

III.2. Le lieu et durée de travail :

La préparation de l'extrait et l'évaluation de l'activité anti oxydante ont été effectuées à l'Université Saad Dahleb de Blida (USDB), et l'évaluation de l'activité insecticide et antifongique s'est déroulée dans un laboratoire de SRPV à Boufarik. La période d'expérimentation a eu lieu de mars à juin 2025

III.3. Matériels :

III.3.1. Matériel végétal :

les feuilles de Zizyphus lotus ont été récoltées à Novembre 2024 dans la région de Larbâ, wilaya de Blida. Les feuilles ont été soigneusement nettoyées à l'eau pour enlever les impuretés, puis séchées à l'abri de la lumière. Une fois séchées, les feuilles ont été réduites en poudre à l'aide d'un moulin électrique. Ces dernières ont été conservées dans des flacons, à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Figure n°4 : Feuilles de *Zizyphus lotus* L. (Mostefaoui 2025).

III.3.2. Matériel biologique :

III.3.2.1. Insecte utilisé :

Nous avons sélectionné l'espèce *Tribolium castaneum* Herbst. (le tribolium rouge des produits stockés) en tant que modèle biologique pour évaluer l'efficacité insecticide. Ces insectes ont été rassemblés dans un dépôt de stockage d'aliments localisé dans la zone de Bouinan. Les individus ont été élevés au laboratoire sur du blé tendre. Les conditions d'élevage étaient maintenues à une température constante de (25-30 °C) avec une humidité ambiante. Les adultes utilisés dans les tests avaient 15 jours d'âge.

Figure n°5 : Adulte de *Tribolium castaneum* Herbst.

III.3.2.2. Souches fongiques testées :

Dans le cadre de l'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait feuille de *Zizyphus lotus* L, plusieurs souches fongiques phytopathogènes ont été testées. Le tableau n°2 présente les souches utilisées.

Tableau n°2 : les principales caractéristiques des champignons testés

Souche	Origine	Localisation	Famille	type de pathogène
<i>Alternaria .sp</i>	Céréales	Blida	<i>Pleosporaceae</i>	phytopathogène
<i>Fusarium . sp</i>	blé	Blida	<i>Nicteriaceae</i>	Champignons tellurique toxigène
<i>Aspergillus niger</i>	Le raisin	Blida	<i>Trichoconaceae</i>	Champignons saprophytes

III.3.3. Matériel non biologique

L'ensemble des équipements, des verreries et des produits utilisés au cours de Cette étude est mentionné en Annexe 1.

La préparation de milieu PDA est mentionné en Annexe 2.

III.4. Méthode

III.4.1. Préparation des extraits :

III.4.2.1. Macération :

La méthode de macération a été utilisée pour l'extraction des composés bioactifs à partir des feuilles de *Zizyphus lotus* L. ou 300g de feuilles sont mises à macérer dans des erlenmeyer contenant 600 ml d'éthanol, d'acétate d'éthyle, respectivement. L'ensemble des mélanges a été soumis à une agitation continue pendant une durée de 72 heure, à température ambiante, afin de favoriser la diffusion des métabolites secondaires dans le solvant. À l'issue de la période d'extraction, les extraits ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre, une fois le filtrat obtenu, le solvant a été soumis à une évaporation par Rotavapor à température de 40 et 60°C, ou nous avons obtenus l'extrait brute, avec une quantité de 50gramme pour chaque extrait.

III.5. Evaluation de l'activité antioxydante :

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité Antioxydante des extraits de plantes. La plupart de ces méthodes sont basées sur La coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel.

Pour étudier l'activité anti-radicalaire de extraits ethanologique de *Z.lotus* L., nous avons utilisé le test au DPPH (2,2 –diphényl-1- picrylhydrazyle),L'activité du piégeage du radical libre a été mesurée selon le protocole Décrit par **Mansouri et al. (2005)**

III.5.1. protocole expérimentale :

La préparation de la solution DPPH :Pour obtenir une solution de DPPH à 0,003% (m/v), on dissout 3ug de DPPH dans 100 ml d'éthanol. Ensuite, on prépare la solution d'extraits de *Z.lotus* en dissolvant 10 mg des extraits dans 40 ml d'éthanol et en réalisant des dilutions dans 7 tubes différents(0.031mg/ml jusqu'à 1ug/ml).On ajoute 100µl de chaque extrait à différentes concentrations à 1 ml de la solution éthanologique du DPPH•. Simultanément, un témoin négatif est élaboré en combinant 100µl d'éthanol avec 1 ml de la solution éthanologique du DPPH•. Après une incubation de 30 minutes dans l'obscurité et à température ambiante, les absorbances sont évaluées à 517 nm en les comparant au blanc approprié.Pour comparaison, le pouvoir anti-radicalaire des standards de vitamine C a été évalué en suivant la même procédure mentionnée auparavant. Les résultats obtenus lors de l'évaluation de la densité optique de chaque extrait à diverses dilutions ont conduit à déterminer le pourcentage d'inhibition du DPPH en utilisant la formule suivante (**Yu et al., 2004**) :

$$\% \text{ d'inhibition} = (A \text{ Témoin} - A \text{ Echantillon} / A \text{ Témoin}) * 100$$

Où : A Témoin : désigne l'absorbance de DPPH• seul sans extrait

A Echantillon : représente l'absorbance de DPPH• en présence d'extrait

III.5.2. Calcul des CI50 :

Le CI50 signifie la concentration de l'extrait qui peut inhiber 50% du radical libre DPPH. Il Est calculé graphiquement à partir des équations des courbes de régressions Des pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations des extraits testés. Ce paramètre Détermine l'extrait le plus efficace avec la valeur la plus faible en CI50.

III.6. Evaluation de l'activité antifongiques :

III.6.1.Préparation de l'extrait :

20 mg d'extrait brut a été dissoute dans 20 mL de DMSO, l'ensemble constitue la solution mère. Des dilutions ont été préparées avec un pourcentage de (100 , 75 , 50 , 25). à partir de la solution mère.

III.6.2. Protocole expérimental :

L'évaluation de l'activité de différentes concentrations d'extrait (25% jusqu'à 100%) vis-à-vis des champignons est réalisée par la méthode de contact directe sur milieu gélosé « PDA » pour Déterminer les taux d'inhibition (**Espiard E., 2002**).

1ml de chaque concentration préparé est placé séparément dans des boîtes Pétri de 90 mm de diamètre, en ajoutant 15 ml du milieu Pomme de terre –dextrose-agar (PDA) stérile en surfusion. Les boîtes de Pétri sont agitées manuellement pour Homogénéisation. La préparation de toutes les boîtes est effectuée dans les Conditions aseptiques. Après solidification du milieu les disques mycéliens de 5 Mm de diamètre sont repiqués séparément à l'aide d'une emporte pièce, par le Dépôt du disque mycélien au centre de la boîte. Les boîtes sont toutes scellées Avec du parafilm avant l'incubation. En effet, cinq répétitions sont considérées Pour chaque isolat et chaque concentration. Le milieu PDA sans extrait a servi de témoin Pour chaque isolat (Mishra A.K. and Dubey N.K., 1994). . L'incubation des boîtes est réalisée durant 7 à Température de 25°C (**Mohammed Z. Et Atik F., 2012**).

Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne sont calculés selon la formule décrite par (**Mohammed Z. Et Atik F., 2012**).

Calcul de l'indice d'inhibition (%) :

$$l'indice\ d'inhibition\ (\%) = \frac{(D_c - D_t)}{D_c} \times 100$$

Où,

- l'indice : est le % d'inhibition de la croissance mycélienne de chaque isolat fongique testé.
- D_c: croissance mycélienne (mm) de chaque isolat fongique témoin testé.
- D_t : croissance mycélienne (mm) de chaque isolat fongique développé sur milieu en présence l'extrait

III.7. Évaluation de l'activité insecticide de *Tribolium castaneum* Herbst :

Évaluation de l'activité insecticide de l'extrait feuille de *Zizyphus lotus* sur un ravageur des denrées stockées, *Tribolium castaneum* Herbst. a été réalisé au laboratoire de notre département. par deux méthodes de toxicités choisies:

III.7.1.Toxicité par contacts :

Toxicité par contact ou on mélange une quantité de Blé tendre a notre extraits qui a été préalablement préparé , ou on a dilue l'extrait brute a différentes concentration avec le DMSO Cinq dilutions sont préparée par dissolution dans DMSO(15ug/ml jusqu'à 50ug/ml). 1ml de Chaque dilution est ajoutés séparément à 10g de substrat de Blé tendre. Le mélange est laissé reposé a l'air libre à T° ambiante pendant quelques minutes . Un lot de 10 insectes adultes est introduit Dans chacune boites est répétée chaque concentration trois fois. Chaque boite de différente concentration est suivi par des boites témoin (Boite contient que le blé tendre traité avec DMSO+10insectes). La durée de l'observatoire après 2h jusqu'à 48h. **(Belkadi et Hadj-ali, 2016).**

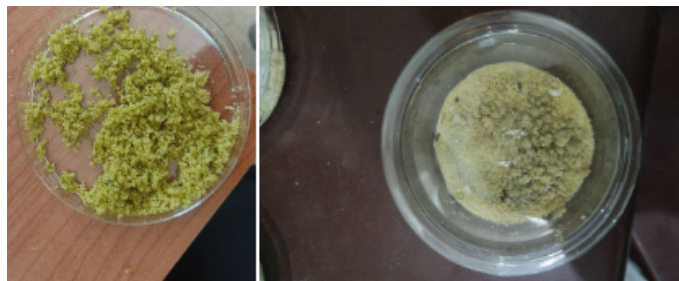


Figure n°6 : Méthode par ingestion **(Mostefaoui ,2025)**

III.7.2.Test d'inhalation :

Ce test consiste à étudier l'effet de l'extrait feuille de *Z.lotus* sur le taux de mortalité Des adultes de *Tribolium castaneum* Herbst Par inhalation en adoptant la méthode décrite par **Papachristos et Stampoulos (2002).**

Dans des bocaux de 500ml de volume, une déposée 1ml de chaque concentration d'extrait (15ug/ml jusqu'à 50ug/ml) sur un Petit morceau de papier filtre de 1cm de diamètre suspendu à l'aide d'un fil à la face Interne du couvercle , Dix charançons sont introduits dans chaque bocal qui est fermé d'une façon Hermétique ; Pour l'ensemble des essais, trois répétitions ont été réalisées pour chaque dose (15,25,40 Et 50µl), et chaque temps d'exposition (2h, jusqu'à 48heures) ; Le dénombrement des individus morts se fait chaque heure (un Témoin a été réalisé en parallèle).

Évaluer le nombre d'insectes décédés et le pourcentage de mortalité (%) pour chaque traitement et chaque concentration.

La Formule d'Abbott a été utilisée pour corriger la mortalité :

$$La\ mortalité\ corriger\ C\% = \frac{M_t - M_c}{100 - M_c} \times 100$$

Avec

Mt : taux de mortalité dans le traitement

Mc : taux de mortalité dans le témoin

- Etude statistique Résultats expérimentaux sont exprimés par une histogramme à l'aide de Logiciel Excel. Les différences courbes entre réalisées grâce un logiciel Excel.

Chapitre IV :

Résultats et discussion

IV.1.Les résultats de l'activité antioxydant :

La capacité antioxydante des extraits de plante est largement dépendante de la composition de ces extraits ainsi que les conditions de manipulation des tests in vitro.

2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre organique stable avec une bande d'absorption de 517 nm. Il perd cette absorption lorsqu'il accepte un électron ou une espèce de radicaux libres, ce qui entraîne une décoloration visuellement perceptible du violet au jaune .Les résultats trouvés lors de expérimentation sont illustrés par Tableau ci-dessous. Et la figure n°7.

Tableau n°3 : Résultats de l'activité antioxydants de l'extrait d'éthanol de feuilles *Zizyhus lotus*

Tube	[Concentration]	Absorbance	% d'inhibition
1	0.0312	0.341	7.33%
2	0.0625	0.229	37.77%
3	0.125	0.161	56.25%
4	0.25	0.148	59.78%
5	0.5	0.122	66.84%
6	0.75	0.111	69.83%
7	1	0.108	70.65%

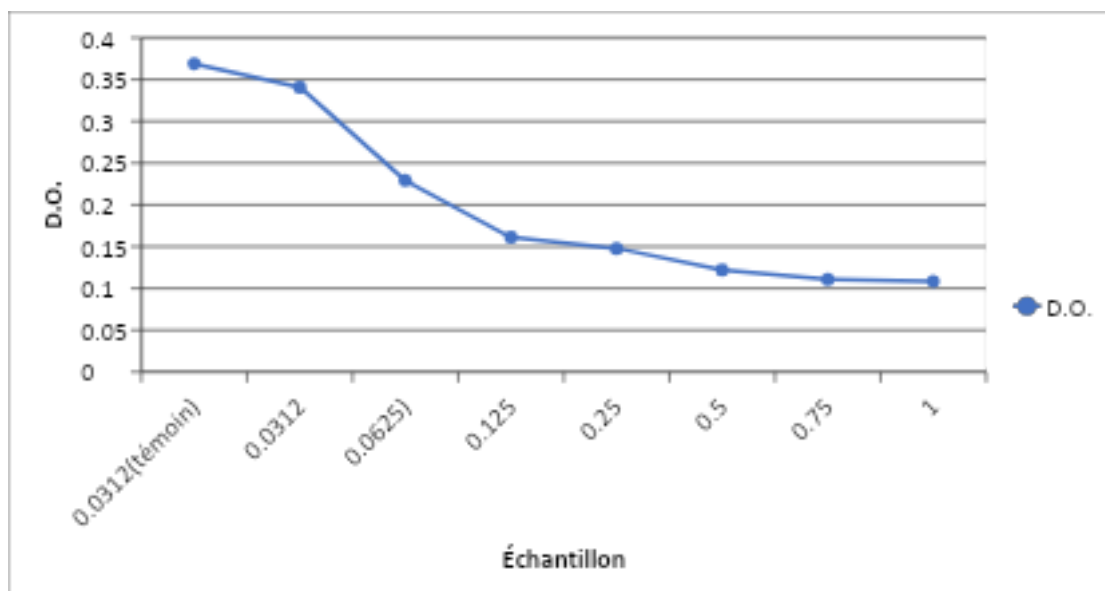


Figure n°07 : Courbe représentatif de la Densité Optique de extrait d'éthanol des feuille de *Z.lotus*

Le graphique montre que la densité optique (D.O.) diminue avec l'augmentation de la concentration de l'extrait de feuilles de *Zizyphus lotus*. Cette baisse de D.O. indique une activité antioxydante croissante de l'extrait, mesurée par la méthode du DPPH. Ainsi, l'extrait présente une activité antioxydante dose-dépendante, suggérant une forte capacité à neutraliser les radicaux libres.

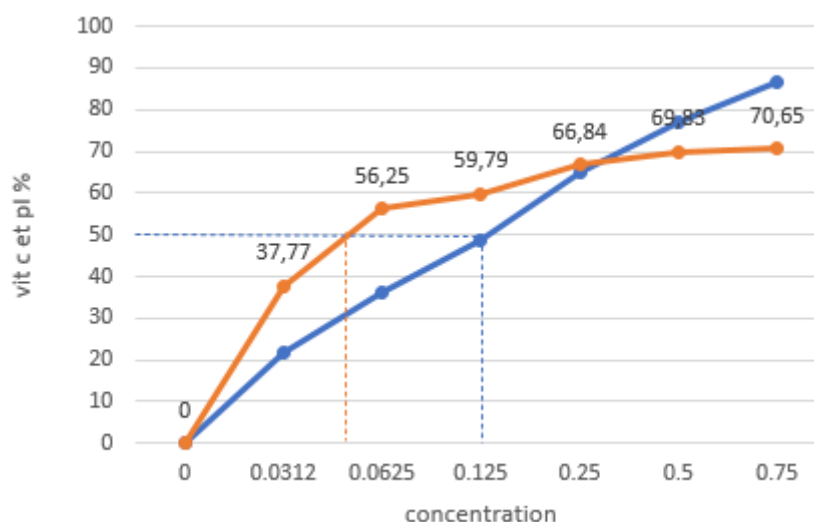


Figure n°8 : Pourcentages de réduction du radical Libre DPPH des extraits de feuilles de *Z. lotus.L*

Les deux courbes montrent une augmentation du pourcentage l'inhibition avec l'augmentation de la la concentration, À faible c 0.0625 mg/mloncentration (0.0312 mg/ml), la vitamine C présente déjà 37.77% d'inhibition, tandis que l'extrait atteint 56.25% à 0.0625 mg/ml, avec un IC₅₀ pour l'extrait de feuilles de *Z. lotus* est de 0.0625mg/ml Une valeur de IC₅₀ plus faible indique une meilleure capacité à neutraliser les radicaux libres DPPH. Ces résultats suggèrent un potentiel important de cet extrait dans la prévention du stress oxydatif, probablement grâce à sa richesse en composés phénoliques, flavonoïdes et autres antioxydants naturels. Ces résultats sont proches à celui noté par (**Bencheikh et al. 2023**) qui a démontré queles valeurs IC₅₀ des extraits de MtOH et AqE sont de 15.15µg/ml et 11-30µg/ml respectivemen(**khouchlaa et Tijane. 2020**) rapportent des IC₅₀ égale à 0.5mg/ml et 0.7 mg/ml pour l'acide ascorbique et l'extrait au méthanol respectivement. A l'inverse, les autres extraits (dichlorométhanique et éthanolique) avaient une activité (DPPH) plus faible que l'extrait méthanolique.

IV.2. Les résultats de l'activité anti fongiques :

L'extraits organique et préparés à partir de feuilles de *Z.lotus* L. ont montré une activité antifongique contre les différents isolats fongiques testés ,évaluée par la méthode de diffusion sur agar (méthode des disques) vis-à-vis detrois souches fongiques.

(tableau n°2). Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne ont montréun effet significatif, selon la nature des extraits testés, leurs concentrations et lesespèces fongiques étudiées Ce pouvoir est estimé en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour du disque contenant les différents concentration à tester (25% jusqu'à 100%).

Cependant, la plus grande inhibition de la croissance fongique a été mise enévidence par l'extrait d'acétate d'éthyle (45–96%).

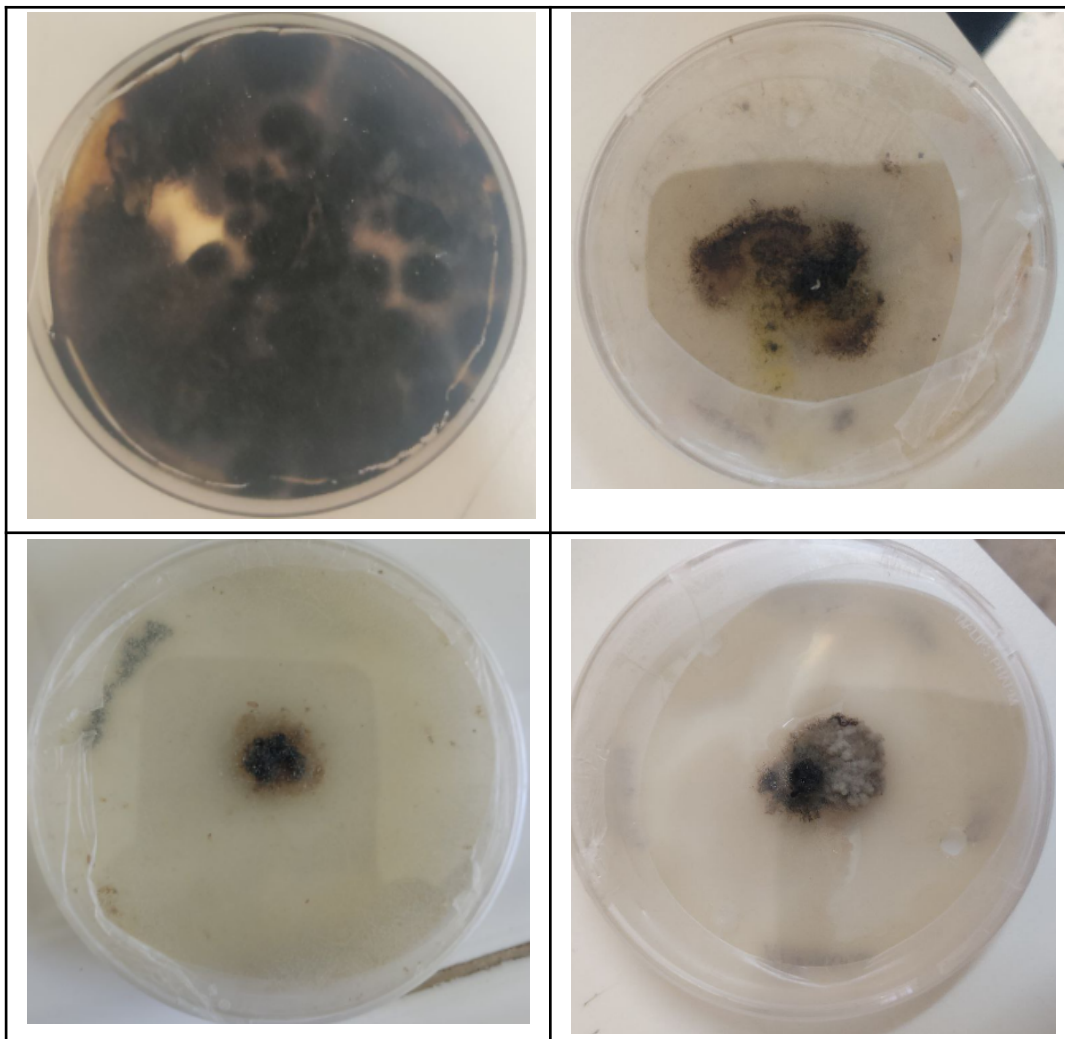
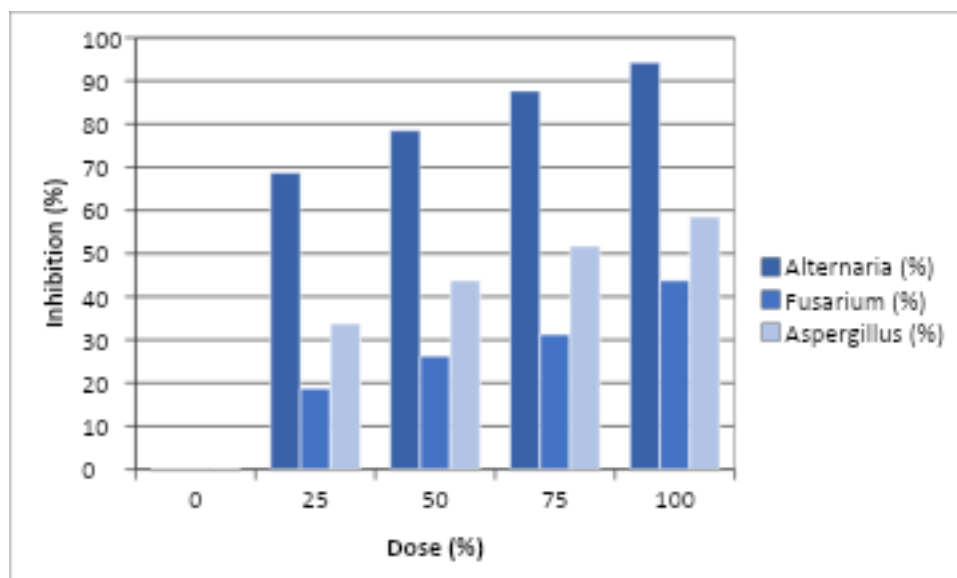


Figure n° 9 : L'activité anti fongique témoin et traité de *Altrnarai* sp a différent concentration.Figure n°10 : L'activité anti fongique témoin et traité de *fusareuim* sp a différent concentration.

extrait	Concentration %	Pourcentage d'inhibition		
		<i>Fusarium.sp</i>	<i>Alternaria.sp</i>	<i>A.niger</i>
Éthyle acétate	25	18,75	68,7	33,75
	50	26	78, 5	43,75
	70	31,25	87	51,8
	100	43	94	58

Figure n° 11 : histogramme des taux d'inhibition de *Z.lotus* selon la dose

Le diagramme illustre les pourcentages d'inhibition (%) de trois champignons phytopathogènes (*Alternaria sp* , *Fusarium sp*, et *Aspergillus niger*) selon diverses doses d'extrait de feuille de *Zizyphus lotus*. Le diagramme montre que l'inhibition des champignons phytopathogènes par l'extrait de feuille de *Zizyphus lotus* augmente avec la dose appliquée. *Alternaria sp* est le plus sensible, avec une inhibition atteignant près de 95 % à la dose maximale. *Aspergillus niger* présente une inhibition modérée, culminant à environ 60 %. *Fusarium sp* , quant à lui, est le moins affecté, avec une inhibition maximale d'environ 40 %. Ainsi, l'extrait agit de manière dose-dépendante, se révélant particulièrement efficace contre *Alternaria sp*

Ces résultats sont proches à celui (TADJINE N.2020). Dans le cas de *F. culmorum*, l'extrait méthanolique a donné un taux d'inhibition de $85 \pm 1,33\%$ suivi de l'acétate d'éthyle ($77,5 \pm 0,3\%$), du chloroforme ($76 \pm 0,6\%$) . Tandis que pour *A.niger*, les résultats sont respectivement ($45,6 \pm 0,2\%$, $6,42 \pm 0,3\%$) pour l'extrait acétate éthyle ,méthanol de feuille de *Z.lotus* L. L'extrait d'acétate d'éthyle était le plus efficace contre tous les isolats testés. plusieurs études corroborent les résultats trouvés. Ces résultats sont proches à celui noté par (Mushatq S., Haider M.S.2012), ont trouvé une inhibition de 48% de la croissance mycélienne d'*Alternaria alternatae*.

IV.3. Résultats de l'activité insecticide :

IV.3.1. toxicité par contact :

Les résultats trouvés par méthode d'ingestion, sont représentées par la figure n°12

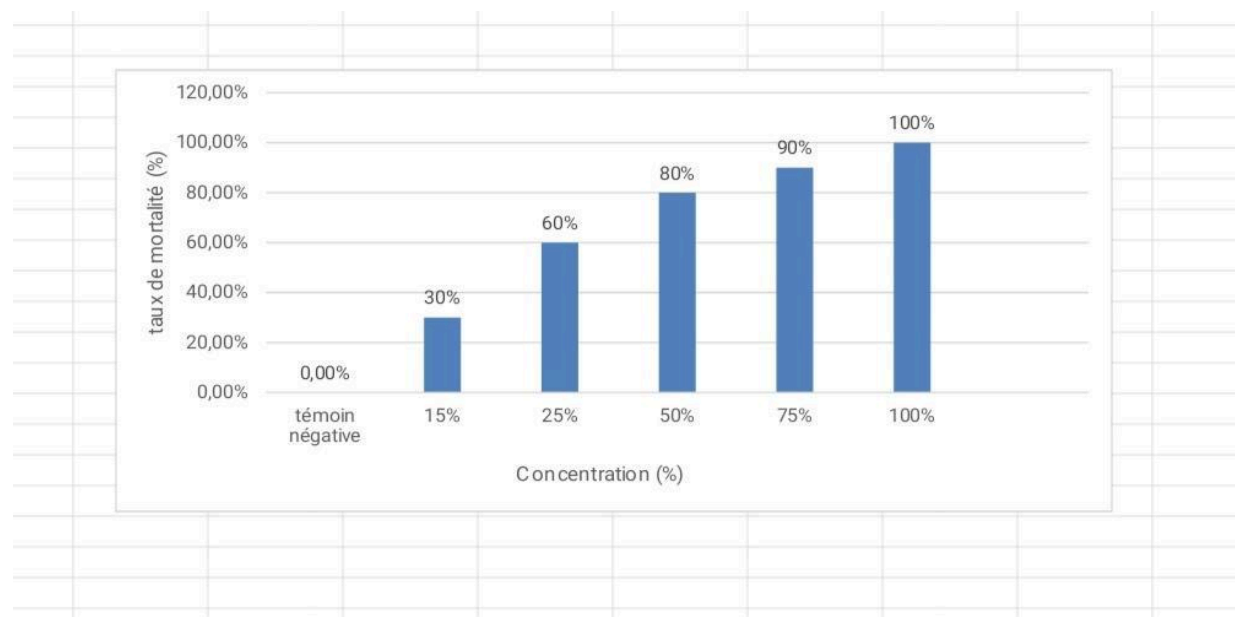


Figure n°12 : Pourcentage de mortalité cumulée observé chez les imagos de *Tribolium castaneum* Herbst

L'histogramme montre une relation dose-réponse claire entre les différentes concentrations d'extrait de feuilles de *Zizyphus lotus* et la mortalité des adultes de *Tribolium castaneum*. Le taux de mortalité augmente progressivement avec l'augmentation de la concentration de (15 % de concentration jusqu'à 100 %) . Cette tendance indique une forte activité insecticide par la méthode de toxicité par contact, cela est probablement due à des composés bioactifs non volatile affectant le système digestif, nerveux de l'insecte. Ces résultats confirment le pouvoir bio insecticide du *Zizyphus lotus*, comme biopesticide naturel contre le coléoptère, ravageur des denrées stockées . Les résultats de la figure n°13 exprime les résultats de taux de mortalités en Probit en fonction de Log de temps

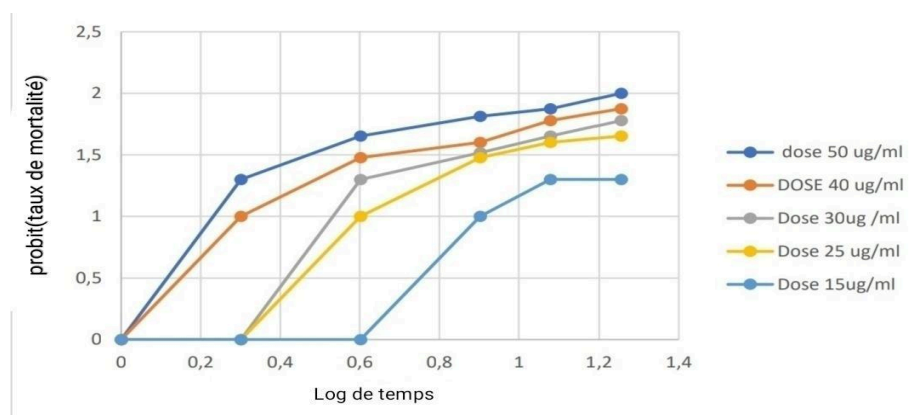


Figure n°13 : Action de l'extrait A défirent dose (15ug/ml jusqu'à 50ug/ml) dans log temps sur le probit (taux de mortalité) A toxicité par contacts.

- Axe X (logarithme du temps) : Il illustre le logarithme du temps.
- Axe Y (probit) : Illustre la conversion probit de la mortalité cumulative
- Graphiques : Chaque graphique représente une concentration distincte de l'extrait de *Ziziphus lotus* (15, 25, 30, 40, 50 $\mu\text{g/ml}$).

Le graphique montre une relation positive entre le temps d'exposition et la mortalité cumulative de *Tribolium castaneum*, représentée en échelle probit. Quelle que soit la concentration, la mortalité augmente avec le temps. Cependant, l'intensité de l'effet dépend de la concentration : à 50 $\mu\text{g/ml}$, la mortalité est rapide et presque maximale en peu de temps, suivie par 40 $\mu\text{g/ml}$. À des concentrations plus faibles (30, 25, 15 $\mu\text{g/ml}$), l'effet est plus lent et moins marqué. Ainsi, plus la concentration est élevée, plus la mortalité est rapide et importante, ce qui confirme l'efficacité dose-dépendante de l'extrait de *Ziziphus lotus*.

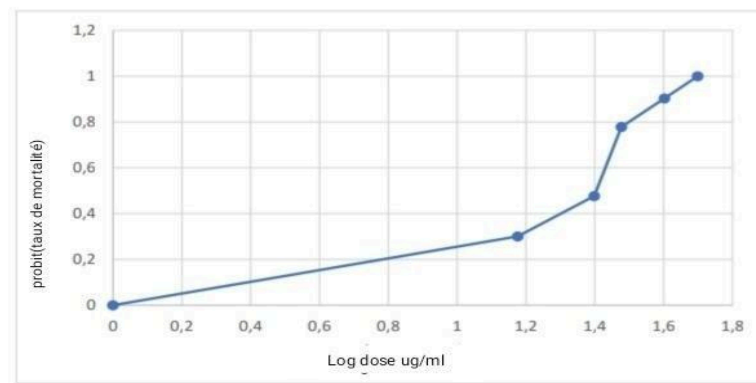


Figure n°14 : Relation entre *Tribolium castaneum* et la dose des extraits A toxicité par contact.

Axe X (log dose en $\mu\text{g/ml}$) : Illustre l'accroissement logarithmique de la quantité d'extrait de *Ziziphus lotus* administrée.

Axe Y (probit) : Illustre la conversion probit du taux de mortalité chez les adultes de *Tribolium castaneum*

Le graphique montre une relation dose-réponse claire entre la concentration logarithmique de l'extrait de *Ziziphus lotus* et la mortalité des adultes de *Tribolium castaneum*. À faibles doses, la mortalité est très faible (probit élevé). À partir d'un certain seuil ($\sim 1,2$ log $\mu\text{g/ml}$), le taux de mortalité augmente rapidement, avec une chute marquée du probit. À des doses plus élevées ($> 1,5$ log $\mu\text{g/ml}$), la mortalité devient quasi totale. Cette courbe illustre un effet toxique proportionnel à la dose, avec une zone de transition correspondant à la DL50, c'est-à-dire la dose provoquant 50 % de mortalité.

2 - méthode inhalation :

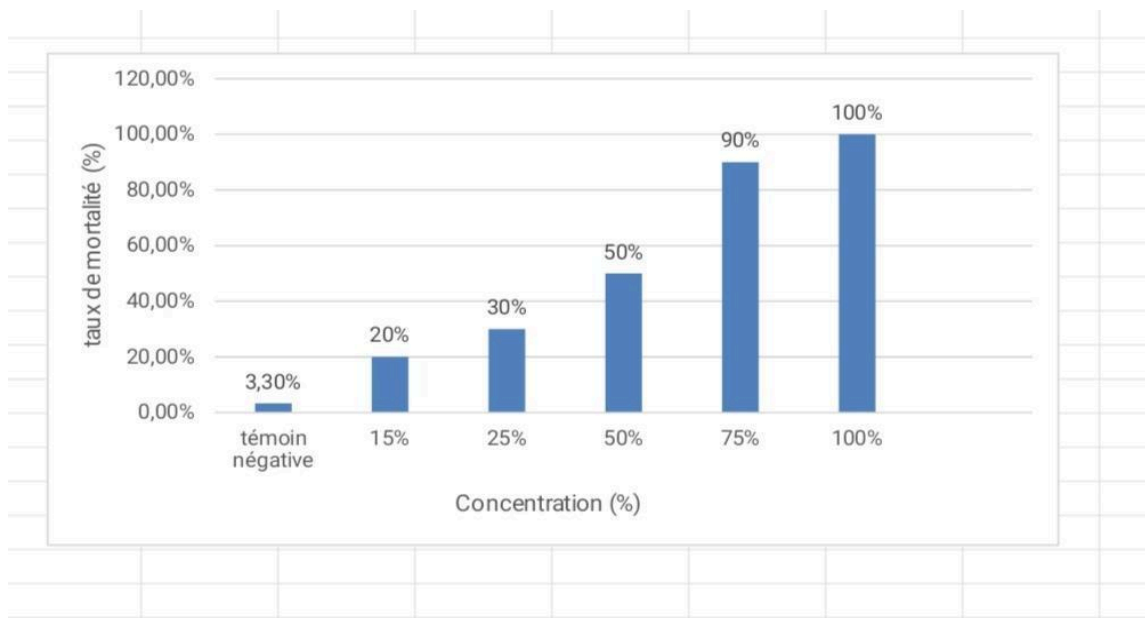


Figure n°15 : Pourcentage de la mortalité cumulée observé chez les imagos de *Tribolium castaneum* Herbst.

L'histogramme montre une relation dose-réponse nette entre les concentrations d'extrait de feuilles de *Ziziphus lotus* et la mortalité cumulative des adultes de *Tribolium castaneum* par inhalation. Dès 15 %, une mortalité notable est observée (~25-30 %), atteignant près de 100 % à 100 % de concentration. Cela indique une efficacité insecticide croissante en fonction de la dose.

L'action passe par inhalation de composés volatils bioactifs, provoquant une toxicité systémique via le système respiratoire des insectes.

Ces résultats soulignent le potentiel du *Ziziphus lotus* comme biopesticide naturel à effet fumigant, particulièrement adapté à la protection des denrées stockées

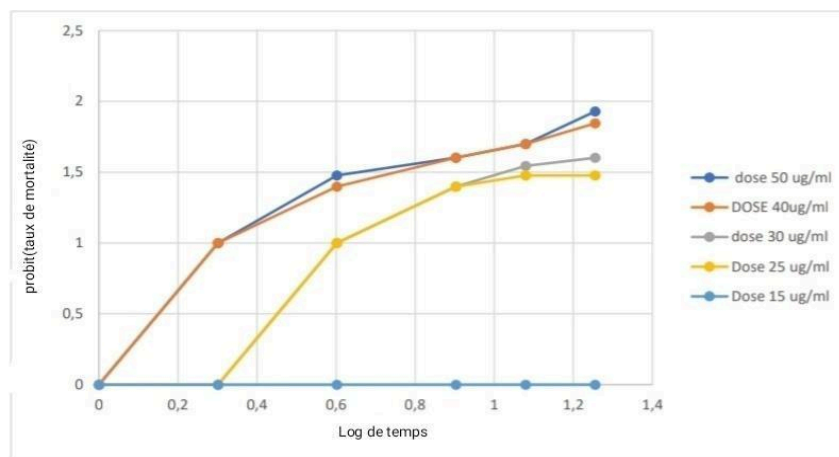


Figure n°16 : Action de l'extrait déficient dose (15ug/ml jusqu'à 50ug/ml) dans log temps sur le probit (taux de mortalité) A Méthode Inhalation.

Le graphique montre une augmentation progressive de la mortalité de *Tribolium castaneum* en fonction du temps d'exposition à l'extrait de *Ziziphus lotus*, selon différentes concentrations. Toutes les courbes Probit/log(t) indiquent que plus le temps passe, plus la mortalité augmente, indépendamment de la dose.

Cependant, l'intensité de la réponse dépend de la concentration : À fortes doses (50 et 40 µg/ml), la mortalité est rapide et marquée.

À concentrations moyennes ou faibles (30, 25, 15 µg/ml), l'effet est plus lent ou modéré. L'extrait de *Ziziphus lotus* montre une efficacité insecticide dose-dépendante, aussi bien par inhalation que par ingestion, avec une action rapide et marquée à fortes concentrations. Ces résultats confirment son potentiel en tant que biopesticide naturel contre les ravageurs des denrées stockées.

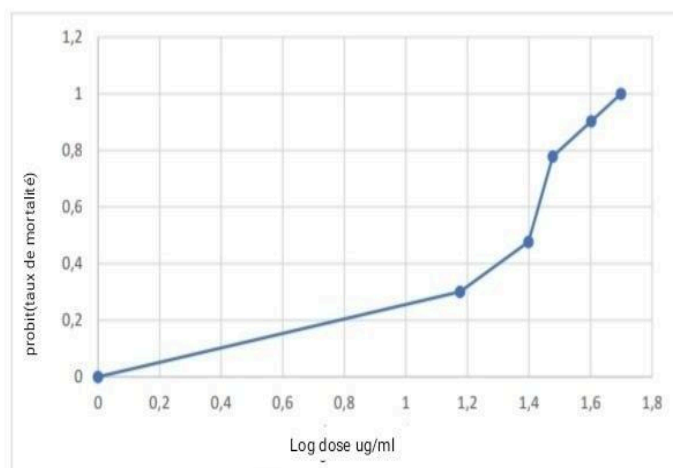


Figure n°17 : Relation entre *Tribolium castaneum* et la dose des extraits A méthode inhalation.

Le graphique montre une relation claire entre la dose d'extrait de *Ziziphus lotus* et la mortalité des adultes de *Tribolium castaneum*. À faibles concentrations ($< 1,2 \mu\text{g/ml}$), la mortalité est faible (probit élevé). À partir de $1,4 \mu\text{g/ml}$, une augmentation rapide de la mortalité est observée, avec un probit chutant brusquement. À $1,6 \mu\text{g/ml}$ ou plus, la mortalité est quasi totale (probit ≈ 0).

Cette courbe illustre un effet toxique dose-dépendant par inhalation, caractéristique des substances insecticides. Elle permet également de déterminer la DL50 et la DL90, des indicateurs essentiels de toxicité.

Conclusion : L'extrait de *Ziziphus lotus* démontre une forte efficacité insecticide à partir d'une concentration seuil, confirmant son potentiel comme biopesticide naturel contre *Tribolium castaneum*.

Méthode	La dose ($\mu\text{g/ml}$)	TL50 (h)	TL90 (h)
Toxicité par contacts	50	3,30	6,14
	40	5,14	10,44
	30	8,61	18,70
	25	10,42	21,83
	15	14,01	29,52
Inhalation	50	3,61	6,91
	40	6,42	13,24
	30	11,22	22,35
	25	18,53	32,18
	15		

Tableau n°4. les valeurs de temps léthal 50 et 90 (TL50.TL90) évaluées A deu Méthode.

Métthodes	DL50 (ug/ml)	DL90 (ug/ml)
Toxicité par contacte	15,27	38,61
Innhalation	28,46	44,84

Tableau n°5. les valeurs de dose léthal 50 et 90 (DL50.DL90) évaluées A deux Méthode.

Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus Diaz et al., 2019 : étude sur l'activité insecticide par ingestion et inhalation, $DL_{50} \sim 1,5 \mu\text{g/ml}$ pour *Z. lotus*.

Ali et Noor, 2021 : confirmation du potentiel fumigant des composés volatils de *Z. lotus*.

Fekroune et al., 2019 : DL_{50} par inhalation = 1,36 ml, contact = 1,43 ml, ingestion = 4,68 g pour huile essentielle d'*Origanum vulgare* sur *T. castaneum*.

Étude sur huile essentielle de *Mentha pulegium* : $LT_{50} = 48$ h par inhalation sur *T. castaneum* Hrbest.

Ces données confirment l'intérêt des extraits végétaux volatils comme bio-insecticides efficaces, notamment par inhalation, pour la protection des denrées stockées.

Conclusion

L'évaluation de l'extrait de feuille de *Ziziphus lotus* L. a révélé des résultats prometteurs en matière d'activité antioxydante. En effet, l'extrait éthanolique de cette espèce a montré une forte activité antioxydante, légèrement supérieure à celle de la vitamine C, ce qui souligne son potentiel en tant qu'agent antioxydant naturel. Par ailleurs, l'étude de l'activité antifongique de l'extrait d'acétate d'éthyle a mis en évidence une efficacité notable contre plusieurs champignons phytopathogènes isolés de fruits et légumes. En particulier, les souches fongiques *Alternaria* sp, et *Aspergillus niger* ont montré des taux d'inhibition de 98 % et 58 %, respectivement, ce qui indique un potentiel intéressant pour l'utilisation de cet extrait dans la lutte contre les maladies fongiques des cultures. Enfin, l'extrait éthanolique de feuilles de *Zizyphus lotus* L. a démontré une mortalité de 100 % chez les individus de *Tribolium castaneum*, ce qui suggère des propriétés insecticides significatives. Ces résultats ouvrent la voie à des recherches supplémentaires sur l'utilisation de *Ziziphus lotus* L. comme agent naturel dans la protection des plantes.

Références bibliographiques

- Angiosperm Phylogeny Group IV (2016). "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV." Botanical Journal of the Linnean Society, 181(1), 1–20.
- Bencheikh N., Radi F. Z., Fakchich J., Elbouzidi A., Ouahhoud S., Ouasti M., Bouhrim M., Ouasti I., Hano C. and Elachouri M. (2023). Ethnobotanical, Phytochemical, Toxicological, and Pharmacological Properties of *Ziziphus lotus* (L.) Lam. *Pharmaceutica*, 16(4), p : 575.
- Benkiki N. (2006) Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*. Thèse de doctorat. Batna : Univ. HaDj Lakhdar
- Borgi W. ; Recio M. C. ; Rios J. L. ; Chouchane N. (2008) Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) South African Journal of Botany, 14, P 320-324.
- Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 5e éd. Paris : Éditions Lavoisier Tec & Doc; 2016. 1488 p.
- BORGHI W., RECIO M-C., RIOS J-L., _CHOUCHANE N. 2008. Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. South African Journal of Botany, 14, 320-324
- Catier O., et Roux, D., 2007. Botanique pharmacognosie phytothérapie. (Ed) Wolters Kluwer, Pays-Bas.
- CHENNI M. 2016. Etude comparative de la composition chimique et de l'activité Biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic *Ocimum basilicum* extraite par hydrodistillation. Thèse de doctorat en sciences : Chimie moléculaire. Université d'Oran. Ahmedben Bella, 135p.
- Espiard E., 2002. Introduction à la transformation industrielle des fruits. Tec & doc(Ed). 360p.
- El Ghorab, M. E. A. S. A., Elshafei, A. A., & Elsayed, M. A. (2022). Pre-valuation of the Sustainable Interactive Agriculture Extension Application. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 100(3), 433-446.
- FEKIH, N. 2009. Contribution à l'étude chimique de *Zizyphus lotus* L. Mémoire de magister chimie. Universitaire Abou Baker Belkaid Tlemcen. 57p
- Ghazghazi H. ; Aouadhi C. ; Riahi L. ; Maaroufi A. ; et Hasnaoui B. (2014) Fatty acids composition of Tunisian *Ziziphus lotus* (L.) Desf. fruits and variation in

- biological activities between leaf and fruit extracts. *Natural Product Research*, 28 (No 14), P 1106- 1110.
- Ghedira K. (2013). *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae) : jujubier sauvage. *Ethnobotanique–monographie*, 11, p : 149-153.
 - GHEDIRA K., CHEMLI R., CARON C., NUZILARD J. M., ZECHES M., LE MENOLIVIER L. 1995. Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry*, 767-772.
 - Hagstrum, D.W., Subramanyam, B., & Flinn, P.W. (2012). Stored-grain insect areawide pest management. In: *Ecological Networks in Stored Grain: Key Postharvest Nodes for Pest Management*. Bioscience, 65(10), 985–1002.
 - Hammi H. ; Mkadmini K. H. ; Jdey ; Abdelly CH. ; Majdoub H. ; Ksouri R. (2015) Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian *Zizyphus lotus* fruits using response surfac methodology. *Food Chemistry*, 184, P 80-89.
 - HAN B.H., PARK M.H., 1986. *Folk Medicine: The Art and Science*.p The American Chemical Society (Ed).Washington, 205p.
 - Khouchlaa, A., Rahimi, A., Mimouni, M., Rais, C., Khamar, H., & Zaakour, F. (2020).
 - KOUL O., WALIA S., ET DHALI WAL G.S. 2008. Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints Biopestic. *Int.* 63-84
 - Krimi I., Todosije vic R., Benmansour R., Ratli M., Ait el cad i A., Alloulal A. (2020). Modelling and solving the multi-quays berth allocation and crane assignment problem with availability constraints. *Journal of Global Optimization*, 78, pp. 349-373. [DOI:10.1007/s10898-020-00884-1]
 - LAHLOU M., ELMAHI M., HAMMOUCHI J. 2002. Evaluation of antifungal and molluscicidal activities of Moroccan *Zizyphus lotus* Desf. *Annales pharmaceutiques françaises*, 410– 414
 - Laouedj M. (2018) *Les Plantes médicinales du Sahara. Les bienfaits du jujubier sauvage...«sidr» en arabe* [en ligne], (page consulter le 11-04-2021)
<http://lesplantesmedicinalesdusahara.blogspot.com/2018/05/tops-des-traitements-naturels-pour-la.html>.

- Maciuk A. ; Ghedira K. ; Thepenier P. ; Lavaud C. et Zeches Hanrot M. (2003) A new flavonol glycoside from leaves of *Zizyphus lotus*. *Pharmazie*, 58 (No 2), P 158-159.
- Mack A. ; Lavaud C. ; Thepenier P. ; Jacquier M. J. ; Ghedira K. et Zeches Hanrot M. (2004) For new dammarane saponins from *Zizyphus lotus*. *Journal of Natural Products*, 67 (No 10), P 1639-1643.
- Makino R. ; Ohara S. ; Hashida K. (2009) Efficient extraction of polyphenolics from the bark of tropical tree species. *Journal of Tropical Forest Science*. P 45-9.
- Mansouri, F., Trembath, A. (2005). Multicultural education and racism: The case of Arab-Australian students in contemporary Australia. *International Education Journal*, 6(4), 516-529.
- Mishra A.K. and Dubey N.K., 1994. Evaluation of Some Essential Oils for Their Toxicity against Fungi Causing Deterioration of Stored Food Commodities. *Applied and Microbiology*, 60(4): 1101-1105.
- Mohammadi Z. Et Atik F., 2012. Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Nature and Technologie*, 6: 34-39.
- Mushatq S., Haider M.S., Ali A., Javed S., Khokhar I. and Mukhtar I., 2012. In vitro comparative screening of antibacterial and antifungal activities of some common weeds extracts. *Pak. J. Weed. []. Sci. Res.*, 18(1):15-25.
- OMS. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. *Who /Edm /Trm /2002.1*.
- Papachristos, D.P. & Stampoulos, D.C. (2002). Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Parasitology Research*, 101(3), 809–811.
- Phytochemical screening, total phenolic content and antioxidant activities of *Marrubium vulgare* L. collected in three development stages. *Notulae Scientia Biologicae*, 15(3), 11615 <https://doi.org/10.55779/nsb15311615>
- QUEZEL P., SANTA S. 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome2, ed. Centre national de la recherche. Paris, p.565
- Rabie Fatma, Guendouz-Benrima Atika, Chebouti-Meziou Najiba (2019). Effet insecticide des extraits aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. et de *Zizyphus lotus* L. sur les différents stades larvaires de la chenille processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Revue Agrobiologia*, ISSN (Print): 2170-1652, e-ISSN (Online): 2507-7627. Disponible en PDF sur le site Agrobiologia.net.

- Slimani, A., Moussaoui, A., & Laazouni, H. (2017). Antioxidant activity and phenolic profile of different organs of *Matricaria pubescens* growing wild in Bechar (Southwest Algeria). *Genetics & Biodiversity Journal*, 1(1), 1–10.
- Spicher R., Preface.In: Aeschiman, D., Lauber, K., Moser, D.M. & Theurillat, J-P., 2004. Flore alpine. Atlas dans 4500 plantes vasculaires des Alpes. 1: 7-8. Belin, Paris.
- u, I.T.S., Li, Y., Wong, T.W., Tam, W., Chan, A.T., Lee, J.H.W., Leung, D.Y.C., & Ho,T. (2004). Evidence of airborne transmission of the severe acute respiratory syndrome virus. *New England Journal of Medicine*, 350(17), 1731-1739.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa032867>
- UnBenammar C., Hichami A., Yessoufou A., Simonin AS., Belaribi M., Allali H. and Khan NA. (2010). *Zizyphus lotus* L. (Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. *BMC Complement Alternative Medicine*, p : 9.

ANNEXES

*ANNEX 01 :***1. Matériel de laboratoire :****1.2 - Verres de laboratoire :**

- Bêchers (100 mL, 250 mL, 500 mL)
- Erlenmeyers (250 mL, 500 mL)
- Pipettes graduées (1 mL, 5 mL, 10 mL)

- Fiole jaugée
- Entonnoirs
- Flacons en verre ambré

1.3. Autres équipements :

- Moulin électrique pour broyage végétal
- Balance électronique de précision
- Agitateur électronique
- Papier filtre Whatman n°1
- Évaporateur rotatif
- Étuvé (pour séchage ou stérilisation)
- Boîtes de Petri en verre ou en plastique
- Micropipette (20–200 µL)
- Hotte ou enceinte de sécurité biologique
- Loupe binoculaire (pour observation des insectes)
- Spectrophotometer.

2. Réactifs et solvants :

- Éthanol pur à 96 % (polaire)
- Acétate d'éthyle (semi-polaire)
- Eau distillée
- DMSO
- DPPH

ANNEXE 02

Préparation le milieu PDA :

3.1.Étapes de préparation :

- Pomme de terre : 200 g (source de nutriments) le
- Dextrose (glucose) : 20 g (source de carbone)
- Agar-agar : 15 g (agent gélifiant)
- Eau distillée : 1.6L

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de Blida 1

Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie

Département de Biotechnologies et Agro-Ecologie



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Biotechnologie et valorisation des plantes

Thème :

Etude de l'activité anti fongique et insecticide de

***Zizyphus lotus* L.**

Présenté par :

MOSTEFAOUI IBRAHIM

Devant les membres de jury composé de :

<i>Mr BEN DALI. A.</i>	MCA	U. Blida 1	Président
<i>Mme TADJINE .N.</i>	MCA	U. Blida 1	Promotrice
<i>Mme BENCHRECHALI</i>	Docteur	SRPV BOUFARIK	Examinatrice
KHECHNA.H			
Mme HERHAR .H	/	SRPV BOUFARIK.	Co promotrice

Khechna

Année universitaire

2024/2025