

N° d'ordre..... الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Département des Sciences de l'Environnement

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée par :

Mme : SEHARI NADIA HANANE

Spécialité : Sciences de L'Environnement

Option : Biodiversité Végétale

Intitulée

Etude de l'effet de l'huile essentielle du Rosmarinus officinalis et de la Mentha pulegium dans la lutte biologique contre les parasites des denrées stockées.

Soutenue le/...../..2018

Devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : Mr HASSANI Abdelkrim..... (Prof, Univ. Tiaret)

Examineurs : Mr MAATOUG M'Hamed..... (Prof, Univ. Tiaret)

Melle AYACHE Abbassia..... (M.C.A, Univ. Sidi Bel'Abbes)

Mr BACHIR-BOUIJRA S.Eddine (M.C.A, Univ. Sidi Bel'Abbes)

Directeur de thèse : Mr HELLAL Benchaben..... (Prof, Univ. Tiaret)

Année universitaire 2017 – 2018

Remerciement :

Je remercie tout d'abord le bon Dieu, le tout puissant, qui nous guide dans le bon chemin ; le chemin du savoir.

La présente étude a été réalisée entre le Laboratoire de biotechnologie végétale et le laboratoire de physiologie végétale de la faculté de science de la nature et la vie de l'université de Tiaret.

Mes plus vifs remerciements vont d'abord à mon directeur de thèse Mr. Hellal Benchaban (Professeur de l'Université de Tiaret) de m'avoir fait l'honneur et le plaisir de diriger ce travail. Il a su me guider avec patience, compréhension et rigueur.

Je lui en serai toujours reconnaissante.

J'exprime toute ma gratitude à mon professeur Mr Hassani Abd el khrim (Professeur de L'Université de Tiaret) pour avoir accepté de présider ce jury et pour sa grande disponibilité.

A Mr. Maatoug M'hamed (Professeur de l'Université de Tiaret) de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être membre du jury, et d'examiner ce travail.

A Mr BACHIR-BOUIJRA S.Eddine maître de conférence A l'université de sidi bel abbas de nous avoir accordé du temps afin d'examiner notre travail.

Melle AYACHE Abbassia M.C.A, Université de Sidi Bel Abbes maître de conférence A l'université de sidi bel abbas d'avoir acceptée de nous faire part d'examiner notre travail.

Je remercie également madame Labdelli Fatiha maître de conférences à l'université de Tiaret pour son aide à l'identification des insectes au niveau de laboratoire de physiologie animale.

Mes profonds remerciements à Melle Nachet Afaf ingénieur au niveau de la DSA Tiaret pour son aide pour l'apport des insectes ravageurs des denrées alimentaires stockées.

Mes vifs remerciements pour Melle Bouzid doctorante a l'université de Tiaret pour son aide et sa disponibilité tout au long des moments difficiles du travail.

Je ne remercierai jamais assez tous les ingénieurs des laboratoires de la faculté de science de la nature et de la vie pour leurs aides, disponibilité et soutien morale principalement : Md. Mokhfi. Sgheir. Mohamdi , Benchohra. Je tiens à exprimer mes sincères gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Cette thèse représente l'aboutissement du soutien et des encouragements que tous mes proches m'ont prodiguée je la dédie spécialement :

A mes chers parents, nulle dédicasse n'est susceptible de vous exprimer ma profonde reconnaissance et mon immense gratitude pour tous les sacrifices que vous avez consenties pour mon éducation et mes études.

Puisse Dieu vous prêter bonne santé et longue vie afin que je puisse à mon tour, vous combler.

A mon mari qui ma soutenue, comblé et encouragée a surmonté toutes les difficultés rencontrées au cours de cette thèse.

A mes enfants prunelle de mes yeux.

Mes très chères sœurs qui ont partagé mes joies et mes stress durant la réalisation de cette thèse spécialement mon âme sœur Rabia.

A mon frère et sa petite famille.

A ma belle famille.

A mes beaux frères mes nièces et mes neveux.

A tous mes amies pour leurs soutien morale principalement :Affaf et Chafia.

A toutes ma famille mes amies et tous les membres du laboratoire sans oublier a tout ce que j'aime.

Merci de faire partie de ma vie.

الاستهلاك اليومي للحبوب يتم من جني محصول واحد ، وأحيانا اثنتين في السنة ، مما يستدعي التخزين. كما تستخدم في تخزين الحبوب والبذور للموسم المقبل.

تعد الحبوب المخزنة ركيزة ممتازة العفن النباتات كما تعد عامل هام من التدهور وإفراز mycotoxins..

دراستنا تركز على استخلاص الزيوت الأساسية من النباتات الطبي. الحلحال الفليو) الاستخلاص يتم عموما بعدة طرق. الأكثر شيوعا هو التقطير المائي الذي يعطي زيت ذات جودة عالية والذي اعتمده في عملنا هذا لاستخلاصها والتي تستعمل عادة في المجال الطبي.

مردود الاستخلاص عموما عن طريق التقطير المائي يبقى دائما أقل من المردود المحصل عليه اصطناعيا. الدراسة الحركية سمحت بمعرفة الوظائف العملية المتواجدة بزيوتنا، والتي مكنتنا من تأكيد فعاليتها القوية في مكافحة الفطريات والحشرات الخاصة بالحبوب المخزنة.

حدد الفحص الكيميائي النباتي تسعة عشر (19) مركبات للنوع ، منها Pulegone هو المركب الرئيسي مع 42.32 % ، ووجود 23 مكونا لإكليل الجبل في مكونات الأغلبية هي: 1.8 cineole ، هو مكون الاغلبية بنسبة 27.32%.

وقد تم اختبار النشاط البيولوجي لهذه الزيوت الأساسية على اثنين من الآفات الحشرية المخزنة في الغذاء هو Tribolium confusum و sitophilus oryzae . كشفت نتائج هذه الاختبارات أن الزيت العطري لإكليل الجبل له خصائص حشرة ملحوظة. تسببت في 100 % من وفيات سوسة الأرز والكبار بجرعة 15µ بعد 24 ساعة فقط من التعرض.

وقد تسبب الزيت العطري لنوع في الوفيات 70 % في نفس الجرعة ونفس مدة التعرض. الجرعات القاتلة (LD50) التي تم تحديدها هي من أجل 5.58µ لإكليل الجبل و 17.36µ لنوع pinroyal.

الخصائص البيولوجية المختلفة الملاحظة خلال هذا العمل ترجع الى مدى تعقيد التركيب الكيميائي الزيت الطيار من أجل التقاط الزيوت الأساسية وتقليل التقلبات ، يهدف العمل الحالي إلى تطوير المبيدات الحشرية الحيوية عن طريق صياغة المساحيق عن طريق امتزاز الزيوت العطرية على الطين الخام. وقد أعطت هذه المساحيق تأثيراً ملموساً للغاية واستمراراً لأكثر من 30 يوماً من المعالجة ، حيث تتيح لنا هذه النتائج تأكيد الزيوت الأساسية ويمكن استخدامها للتطبيق الصناعي في إنتاج المبيدات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية ، إكليل الجبل ، ، المبيدات الحشرية ، التأثير المضاد للفطريات ، البنتونايت ، المبيدات الحشرية الحيوية.

Résumé :

Les grains de céréales stockées forment un excellent substrat pour les parasites, insectes et moisissures où elles constituent un facteur important de détérioration et de sécrétion de toxines et de mycotoxines.

Dans notre étude, deux plantes aromatiques de la famille des lamiacées (*Rosmarinus officinalis* et *mentha pulgium*) provenant de la région de Tiaret ont fait l'objet d'un décryptage phytochimique et biologique de leurs huiles essentielles.

Ces huiles essentielles extraites par hydrodistillation ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Le criblage phytochimique a permis d'identifier dix-neuf (19) composés pour la menthe pouliot dont le pulégone est le composé majoritaire avec 42.32% , et la présence de 23 composants pour le romarin dans les composants majoritaires sont : 1.8 cinéole, est le composé majoritaire avec 27.32%.

L'activité biologique de ces huiles essentielles a été testée sur deux insectes ravageurs des denrées alimentaires stockées il s'agit de *sitophilus oryzae* et *Tribolium castaneum*. Les résultats de ces tests ont révélé que l'huile essentielle de romarin possède de remarquables propriétés insecticides. Ils ont induit 100% de mortalité du charançon de riz et de adulte à la dose 15µl après seulement 24h d'exposition.

L'huile essentielle de la menthe pouliot a induit 70% de mortalité à la même dose et la même durée d'exposition. Les doses létales (DL50) déterminées sont de l'ordre de 5,58µl pour le romarin et 7,36µl pour la menthe pouliot.

Dans les mêmes conditions expérimentales, les deux huiles essentielles empêchent le développement des larves et inhibe leurs émergence des deux insectes à une dose de 5µl.

Les huiles essentielles obtenues ont montrés un bon effet antifongique sur les souches testées cet effet diffère d'une plante à une autre. L'efficacité de ces dernières est principalement due aux métabolites secondaires de celle-ci.

Afin de captée les huiles essentielles et minimisée leurs volatilité le présent travail a pour objectif de développer des bio insecticides en formulant des poudres par adsorption d'huiles essentielles sur des argiles brutes. Ces poudres ont donné des effets très appréciables et une rémanence de plus de 30 jours de traitement. Ces résultats nous permettent d'affirmer que huiles essentielles et peuvent être utilisées pour une application industrielle dans la production des bio-insecticides.

Mots clé : huiles essentielles, romarin, menthe pouliot, céréales, effet insecticides, effet antifongique, bentonite, bio insecticides

Abstract

Stored cereal grains provide an excellent substrate for pests, insects and molds where they are an important factor in the deterioration and secretion of toxins and mycotoxins.

In our study, two aromatic plants from the family of lamiaceae (*Rosmarinus officinalis* and *mentha pulgium*) from the region of Tiaret underwent a phytochemical and biological deciphering of their essential oils.

These essential oils extracted by hydrodistillation were analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry.

Phytochemical screening identified nineteen (19) compounds for pennyroyal, of which pulegone is the major compound with 42.32% and the presence of 23 components for rosemary in the majority components are: 1.8 cineole, is the component majority with 27.32%.

The biological activity of these essential oils has been tested on two insect pests stored food is *sitophilus oryzae* and *Tribolium castaneum*. The results of these tests revealed that the essential oil of rosemary has remarkable insecticidal properties. They induced 100% mortality of rice weevil and adult at 15 μ l dose after only 24 hours of exposure. The essential oil of pennyroyal has induced 70% mortality at the same dose and the same duration of exposure. The lethal doses (LD50) determined are of the order of 5.58 μ l for rosemary and 7.36 μ l for pennyroyal mint.

Under the same experimental conditions, the two essential oils prevent the development of larvae and inhibit their emergence of both insects at a dose of 5 μ l.

The essential oils obtained showed a good antifungal effect on the strains tested, which effect differs from one plant to another. The efficacy of these last ones is mainly due to the secondary metabolites of this one

In order to capture the essential oils and minimized their volatility, the present work aims to develop bio insecticides by formulating powders by adsorption of essential oils on raw clays. These powders have given very appreciable effect and persistence of more than 30 days of treatment. These results allow us to affirm that essential oils and can be used for industrial application in the production of bio-insecticides.

Key words: essential oils, rosemary, pennyroyal, cereals, insecticidal effect, antifungal effect, bentonite, bio insecticides.

SOMMAIRE

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des cartes	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1

Premier Partie

Recherche Bibliographique

Chapitre I: Insectes ravageurs des denrées stockées

I-Introduction	4
a)-Les ravageurs primaires	4
b)-Les ravageurs secondaires.....	4
II-Les principaux insectes des céréales stockées	5
II.1. Les coléoptères	5
II.1.1. Caractères généraux	5
II.1.2. Biologie et développement	6
III. Présentation de quelques espèces	6
a) L'œuf	7
b) La larve.....	7
c) La nymphe	7
d) L'imago.....	7
IV-Tribolium confusum (Duval).....	10
IV.1. Les caractères généraux des Tenebrionidae	10
IV.2.Description des différents états de Tribolium confusum (Duv.)	11
a) L'œuf	11
b) La larve.....	11
c) La nymphe	11
d) L'imago.....	11
Régime alimentaire et dégât.....	13
Les ennemis naturels	13

CHAPITRE 2: Lutte Biologique

I-Introduction	14
I-1 : Importance des insecticides	14
I-2 : Effets des insecticides synthétiques.....	15
II- Les Huiles Essentielles	17
II.1 Répartition et localisation des huiles essentielles	17
II.2 -Composition chimique des huiles essentielles	18
II.3 -Utilisation des huiles essentielles en tant que biopesticides	19
II.4- Activité insecticide des huiles essentielles	20
II.5- Activité acaricide, fongicide et bactéricide	20
II.6-Conservation des huiles essentielles	21
III-Rôle des composés terpéniques pour la plante	22

Deuxième Partie

Partie expérimentale

CHAPITRE 3: Zone d'étude

III-1 : Localisation géographique.....	23
III-2 Délimitation de la zone d'étude	24
a)-Relief et géomorphologie.....	25
B)- Géologie	26
c)-. La couverture pédologique	26
d)-. Les facteurs climatiques.....	26
1-La pluviométrie	27
2-La température.....	27

CHAPITRE 4 : Matériels et Méthodes

IV.1. Introduction	29
IV.2. Les objectifs	29
IV.3. Matériel végétal	29
IV.3.1. Le Romarin : Rosmarinus officinalis	29
V.3.2. La menthe pouliot : Mentha pulegium L.	30
IV.4. Matériel animal	30
IV.5.Première partie : extraction des huiles essentielle	31

IV.5.1.Extraction des huiles essentielles.....	31
IV.5.2. Mode opératoire	31
a)- Calcul du rendement	32
b)- Analyses physico-chimiques de l'huile essentielle.....	33
IV.6. Deuxième parties : Test d'efficacité des huiles essentielles	34
IV.6.1. Test antifongique	34
a)-Les souches fongiques	34
b)-Test in vitro de l'activité antifongique	34
IV.7.3.Test insecticides	37
1. Tests biologiques.....	37
a)-Traitements par ingestion	37
b)-Paramètres biologiques étudiés	37
c)-Paramètres agronomiques	38
IV.8 -Troisième partie : La formulation poudreuse à base d'huiles essentielles	40
IV.8.1. Purification de la bentonite.....	41
a)- Purification de la bentonite	41
B. calcul du rapport Solide-Liquide	42
c)-Recherche de la masse efficace.....	42
d)-Etude de la stabilité	43
IV. 9. Expression des résultats	43
a)-Calcul des doses létales.....	43
b)-Analyse statistique.....	44

CHAPITRE 5 : Résultats et Discussions

PREMIERE PARTIE :	45
V-1.1 : Résultats des rendements en huiles essentielles :	45
a)-Propriété physico-chimique des huiles essentielles :.....	46
V.1.2 Résultats de l'analyse chromatographique :	47
DEUXIEME PARTIE : résultats des testes insecticides	51
V-2-1. Évaluation de la toxicité des huiles essentielles par contact direct	51
a)-Sur <i>Sitophilus oryzae</i> :	51
b)-Sur <i>Tribolium confusum</i> :	54
V-2-2 : Évaluation de la toxicité des huiles essentielles par inhalation	57
a)- Sur <i>Sitophilus oryzae</i>	57

B)-Sur Tribolium confusum :	59
V-2-3 : Comparaison des DL 50 et DL 90 des huiles essentielles vis-à-vis Sitophilus oryzae et Tribolium confusum par inhalation	62
V-2-4 : Effet des huiles essentielles sur la germination des graines.	62
A)-Cas du traitement avec l'huile essentielle du romarin :	63
B)- Cas de l'huile essentielle de la menthe pouliot :	63
V-2-3 : Discussion des résultats :	64
Troisième partie :	67
V-3 Résultats des tests antifongiques.....	67
V-3-1. effet des huiles essentielles sur penicilium frequentens :	67
V-3-2. effet des huiles essentielles sur Aspergillus niger :	69
V-3-3. effet des huiles essentielles sur Aspergillus flavus :	71
V-3-4 : Discussion des résultats :	72
Quatrième partie :	74
V-4. étude de l'activité insecticide des formulations poudreuse sur : Sitophilus oryzae et tribolium confusum	74
V-4-1 : effet de la poudre aromatisée sur le charançon de riz :	74
V-4-2 : effet de la poudre aromatisée sur Tribolium confusum :	76
V-4-4 : Etude de la rémanence des formulations poudreuses :	78
a)-Cas du charançon di riz :	78
b)-Cas du Tribolium confusum :	79
V-4-5 : Discussion des résultats :	81
Conclusion générale	82
Référence bibliographiques	85
Annexe	

LISTES DES TABLEAU :

Tableau N°1: présentation de l'espèce de <i>Sitophilus oryzae</i>	06
Tableaux 02 : biologie de l'espèce de <i>Sitophilus oryzae</i>	06
Tableau 03 : Les valeurs expérimentales des paramètres physico-chimiques.....	46
Tableau 04 : Composition de l'huile essentielle de la menthe pouliot	47
Tableau 05 : Composition chimique de l'Huile essentielle du romarin.....	49
Tableau 06: Analyse de la variance du taux de mortalité et <i>Sitophilus oryzae</i> par <i>inhalation</i>	54
Tableau 07 : Analyse de la variance du taux de mortalité de <i>T.castenum</i> par <i>inhalation</i>	56
Tableau 08: Analyse de la variance du taux de mortalité de <i>Sitophilus oryzae</i> par <i>inhalation</i>	59
Tableau 09 : Analyse de la variance du taux de mortalité de <i>T.confusum</i> par <i>inhalation</i>	59
Tableau 10 : tableaux récapitulatif des DL50 et DL 90 des huiles essentielles vis-à- vis <i>Sitophilus oryzae</i> et <i>Tribolium confusum</i>	62
Tableau 11 : Tableaux récapitulatif de la sensibilité des souche vis a vie les plantes étudiées	72

LISTES DES FIGURE

Figure 1: différents états de <i>S. oryzae</i> . A: larve, B: nymphe, C: adulte(Walter 2002)	08
Figure 2 : Dégâts de <i>S.oryzae</i> sur blé tendre (original)	10
Figure 3: différents états de <i>T confusum</i> (Rebecca <i>et al</i> , 2003).....	12
Figure 4 : Dégâts de <i>T.confusum</i> sur la farine commerciale (original)	13
Figure 05 : Quelques organes sécréteurs d'huiles essentielles	18
Figure 06: Climagramme pluviothermique d'Emberger (Q2) (1984/2014).....	27
Figure 07 : Diagramme Ombrothermique d'emberger	28
Figure 08 : Photo du Romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) de la région de Tiaret (Algérie occidentale)	29
Figure 09 : Photo de la Menthe pouliot (<i>Mentha pulegium</i> L.) de la région de Tiaret (Algérie occidentale)	30
Figure 10 : Photos de l'élevage en masse des insectes.....	31
Figure 11 : Photos du dispositif expérimental de l'extraction de l'huile essentielle (originale 2015). (a) montage d'hydrodistillation (b) ampoule a décantée (c) tube contenant huile essentielle.	32
Figure 12 : Photo du dispositif de chromatographie (original 2015)	33
Figure 13 : schéma descriptive d'un aromatoigramme	35
Figure 14 : photographie du test antifongique (<i>penicilium sp</i>).original 2015.....	36
Figure15 : photographie des testes par contacte ingestion	37
Figure 16: Application d'HE de <i>menthe pouliot</i> par ingestion sur larves et adultes de <i>Tribolium</i> et comptages des individus morts:(a) les larves et (b) les adultes (originale2015).....	38
Figure17: photographie des testes de germination sur les graines traitées avec les huiles essentielles (original2015)	39
Figure18 : L'application d'HE par inhalation sur les larves et les adultes des insectes a différentes doses	40
Figure 19 : Protocole de purification de bentonite.....	41
Figure 20: histogramme descriptive du rendement en HE des deux plantes étudiées	45
Figure 21 : composants majoritaire de la menthe pouliot	48
Figure 22: Pourcentage des composants majoritaire du romarin.....	50
Figure 23: taux de mortalité cumulée des adultes de <i>Sitophilus oryzae</i> en fonction du temps d'exposition et de la dose en présence de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i>	51

Figure 24 : taux de mortalité cumulée des adultes de <i>Sitophilus oryzae</i> en fonction du temps d'exposition et de la dose en présence de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	53
Figure 25 : taux de mortalité cumulée des larves L3 de <i>Sitophilus oryzae</i> en fonction du temps d'exposition et de la dose en présence des deux huiles essentielles	53
Figure 26 : taux de mortalité cumulée des adultes de <i>Tribolium castenum</i> en fonction du temps d'exposition et de la dose en présence de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	55
Figure 27 : taux de mortalité cumulée des adultes de <i>Tribolium castenum</i> en fonction du temps d'exposition et de la dose en présence de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i>	56
Figure 28: Taux de mortalité cumulée des adultes de <i>Sitophilus oryzae</i> en fonction du temps d'exposition et de la dose de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	57
Figure 29 : Taux de mortalité cumulée des adultes de <i>Sitophilus oryzae</i> en fonction du temps d'exposition et de la dose de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i>	58
Figure 30 : Taux de mortalité cumulée des adultes de <i>Tribolium confusum</i> en fonction du temps d'exposition et de la dose de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	60
Figure 31: Taux de mortalité cumulée des adultes de <i>tribolium confusum</i> en fonction du temps d'exposition et de la dose de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	61
Figure 32 : Taux de mortalité cumulée des larves <i>tribolium confusum</i> en fonction du temps d'exposition et de la dose de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	62
Figure 33: Courbes de germination des graines en présence de l'huile essentielle du romarin en fonction du temps	63
Figure 34: Courbe de germination des graines en présence de l'huile essentielle de la menthe pouliot en fonction du temps	64
Figure 35 : diamètre d'inhibition de la croissance (mm) de <i>penicilium frequentens</i> en fonction de la dose et des huiles essentielles testées	67
Figure 36 : Photographie originale de l'effet de huile essentielle de la menthe pouliot sur <i>penicilium frequentens</i>	68
Figure 37: Photographie originale de l'effet d'huile essentielle du romarin sur <i>penicilium frequentens</i>	69
Figure 38 : diamètre d'inhibition de la croissance (mm) de <i>aspergillus niger</i> en fonction de la dose et des huiles essentielles testées.....	70
Figure 39 : Photographie originale de l'effet d'huile essentielle du romarin sur <i>Aspergillus niger</i>	71
Figure 40 : diamètre d'inhibition de la croissance (mm) d' <i>aspergillus flavius</i> en fonction de la dose et des huiles essentielles testées.....	72

Figure 41 : taux de mortalité cumulée de <i>Sitophilus oryzae</i> en fonction du temps d'exposition a la formulation poudreuse du romarin	75
Figure 42: taux de mortalité cumulée de <i>Sitophilus oryzae</i> en fonction du temps d'exposition a la formulation poudreuse de la menthe pouliot	76
Figure 43: taux de mortalité cumulée de <i>Tribolium confusum</i> en fonction du temps d'exposition a la formulation poudreuse du romarin	77
Figure 44: Taux de mortalité cumulée de <i>Tribolium Castenum</i> en fonction du temps d'exposition a la formulation poudreuse de la menthe pouliot.....	77
Figure 45: taux de mortalité des insecte en fonction du temps d'exposition a la formulation poudreuse (boites ouverte).....	78
Figure 46 : taux de mortalité des insectes en fonction du temps d'exposition a la formulation poudreuse (boites fermées).....	79
Figure 47 : taux de mortalité des insectes en fonction du temps d'exposition a la formulation poudreuse (boites ouvertes).....	80
Figure 48: taux de mortalité des insectes en fonction du temps d'exposition a la formulation poudreuse (boites fermées).....	80

LISTES DES CARTES

Carte. 01: Situation géographique de la wilaya de Tiaret	23
Carte 02 : Délimitation de la zone d'étude (massif forestier des monts de Tiaret 1/50.000)	24
Carte 03 : Régions naturelles de la wilaya de Tiaret (Duvignaud, 1992).....	25

Liste des abréviations

% : pourcent.

°C : Degré Celsius.

µl : microlitre

AFNOR : Association française de normalisation

cm : Centimètre.

cm² : Centimètre carré.

CNDRS : Centre national de documentation et de recherches scientifiques

CNIS : Le centre national des informations statistiques.

CPG/MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

DSA : direction des services agricoles.

Da : le diamètre de la zone de croissance de l'essai

Db : le diamètre de la zone de croissance du témoin.

DSA : Direction des services agricole.

Fig : Figure.

g : Gramme.

ha : Hectare

HE Huile essentielle

INRA : Institut national de recherche agronomique.

IR Indice de réfraction

ITGC : institut technique des grandes cultures.

j : jours.

Kg : Kilogramme.

m : mètre.

m₀ : masse en gramme du matériel végétal séché ;

m₁ : masse en gramme d'huile essentielle ;

m² : mètre carré.

MADR : Ministère de l'agriculture et développement rural.

PF: Poids frais

CPG/MS Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse

PS: Poids sec

Rd : rendement

Introduction

Introduction doctorat

En Algérie, La production des céréales (blé, orge...) est assurée par une seule récolte dans l'année alors que la période de consommation est prolongée tout au long de l'année d'où la nécessité du stockage, Les céréales sont des produits stockés à long terme, cette nécessité est renforcée par l'importation des céréales suite à une production locale insuffisante. Malheureusement de nombreux agents de détérioration (vertébrés, insectes, acariens, moisissures,...) sont la cause de la perte d'une grande partie des récoltes de céréales pendant leur stockage. Selon PFOHL-LESZKOWICZ (1999), les moisissures et leurs mycotoxines entraînent à l'échelle mondiale des pertes estimées de 5 à 10% de l'ensemble des céréales et de leurs dérivés.

Par ailleurs, les moisissures diminuent la qualité technologique (taux du gluten) et sanitaire (allergie causée par les mycotoxines responsables de graves intoxications humaines et animales). Elles réduisent aussi la valeur nutritionnelle, elles modifient l'aspect organoleptique et provoquent des problèmes économiques dus aux coûts de détoxification des grains ou les rejets des produits contaminés, (Bakureho et Nsegiyumva,2003).

Les insectes des denrées stockées peuvent causer des pertes importantes en réduisant la qualité et la quantité des produits stockés. D'après la FAO, les pertes dues aux insectes nuisibles correspondent à 35% de la production agricole mondiale.

Pour pallier aux faibles rendements et aux pertes post-récoltes, les producteurs agricoles ont de plus en plus recours aux engrais et aux pesticides. Ces intrants agricoles ont un impact négatif sur l'environnement. Ils ont une toxicité avérée pour la faune et la végétation (Farr *et al.*, 2004 ; Isman, 2006). Ces composés sont en général toxiques et sont à l'origine de troubles graves (Dauguet *et al.*, 2006 ; Glitho *et al.*, 2008). De ce fait, ils sont directement impliqués dans l'apparition des déséquilibres des écosystèmes. Par ailleurs, la résistance accrue des ravageurs à ces insecticides (Panisset *et al.*, 2003 ; Provost *et al.*, 2003 ; Dauguet *et al.*, 2006 ; Glitho *et al.*, 2008), a conduit à la diversification de ces derniers (multiplication du nombre de molécules actives mises sur le marché) et donc probablement à une pollution de plus en plus accrue de l'environnement.

Les insecticides demeurent néanmoins un moyen incontournable de contrôle

de l'infestation des denrées au cours du stockage (Lagaly, 2001). Ils permettent en effet de minimiser les pertes post-récoltes, et ainsi réduire la faim mais aussi d'améliorer les revenus des petits producteurs. Certains insecticides synthétiques tels que les dérivés chlorés ont une rémanence qui peut s'étaler sur plus d'une dizaine d'années (Regnault-Roger, 2002). Si cette longue rémanence leur permet de protéger pendant longtemps les récoltes, elle est aussi source de nuisance lorsque ces insecticides se retrouvent dans la nature (Ngamo, 2004).

A cet effet, ce travail porte sur l'étude de certaines plantes locales à usage thérapeutique poussant à l'état spontané parmi la végétation de la région de Tiaret (Algérie). Il vise à étudier les effets des extraits volatiles (huiles essentielles) de plantes à fort usage et à forte fréquence dans cette région telles que, *Rosmarinus officinalis* et *Mentha pulegium* L. dans la lutte contre les parasites fongiques et entomologiques des semences stockées de certaines céréales tels que l'Orge, le Blé et le Maïs.

Plusieurs travaux sont orientés à présent vers la mise au point d'insecticides à base de plantes aromatiques locales. Il s'agit précisément des huiles essentielles extraites de ces plantes qui peuvent être appliquées directement (Noudjou *et al.*, 2007 ; Goudoum, 2010) ou fixées sur un support solide tels que les argiles (Sékou Moussa *et al.*, 2000 ; Nguemtchouin, 2006). Il se dégage de ces travaux que les huiles essentielles sont efficaces mais leur activité insecticide décroît très rapidement du fait de leur forte volatilité (Regnault-Roger, 2002).

L'objectif de notre travail est la valorisation de la biodiversité de notre région à travers l'étude des huiles essentielles de deux plantes aromatiques (*Rosmarinus officinalis* et *mentha puligum*).

La valorisation de ces plantes englobe plusieurs aspects, le criblage phytochimique des huiles essentielles et l'évaluation de leurs activités biologiques (insecticide, larvicide et fongicide).

Elaboration d'une poudre insecticide à base d'huiles essentielles ayant pour objectif de captée les composante des huiles essentielle dans l'argile (bentonite) afin de minimiser les pertes post-récoltes, la fréquence des traitements et de prolonger la durée de conservation des céréales.

Notre manuscrit est scindé en deux parties :

La première partie consacrée à une étude bibliographique est divisé en deux chapitres
Le premier est consacré à une description des agents biologiques responsable de la détérioration des denrées alimentaires stockées.

Le deuxième chapitre présente un aperçu sur la lutte biologique.

Dans la deuxième partie nous avons accéder a trois chapitres le premier consacré a une présentation de la zone d'étude le second décrit le matériels et méthodes utilisée pour l'essai ce même chapitre englobe une description des espèces végétales triées pour l'expérimentation.

Dans le troisième chapitre qui représente les résultats est leurs discussions, qui a son tours est divisées en quatre parties.

Première partie : extraction des huiles essentielles et leurs analyses par CPG/CM afin de quantifier et d'identifier leurs compositions chimiques.

Deuxième partie : La mise en évidence *in vitro* du potentiel insecticide des huiles essentielles extraites.

Troisième partie : La mise en évidence *in vitro* du potentiel antifongique des huiles essentielles étudiées.

Quatrième partie : aborde une étude de la mise en place d'une formulation poudreuse a base d'huile essentielles.

Pour terminer, une conclusion générale sur l'ensemble de cette étude ainsi que les perspectives ont été dégagées.

Premier Partie

Recherche
Bibliographique

CHAPITRE 1:

Insectes ravageurs des denrées stockées

1-Introduction

Les agents biologiques d'altération des céréales sont représentés par les micro-organismes, les Acariens, les insectes, et les rongeurs.

Les insectes sont à l'origine de la plus part des dommages subis dans les réserves des céréales stockées, bien que dans certains pays les rongeurs se montre encore plus dangereux.

Les insectes nuisibles qui sévissent dans les entrepôts ont un taux de reproduction élevé et se développent rapidement ce qui les met en mesure de provoquer à court terme de très graves dégâts à partir d'une population originelle modeste (**Gwinner et al, 1996**).

Certains insectes qu'on rencontre au niveau des stocks sont également présents au niveau des champs, exemple : Charançons du riz (*Sitophilus Oryzae*), l'alucite des céréales (*Sitotroga cerealella*), capucin des grains (*Rhizopertha dominica*).

Les insectes infestants les denrées stockées sont très nombreux, et très diversifiés (Danho *et al.*, 2003). La prédominance des ravageurs de stocks varient en fonction des différentes zones écologiques et des denrées Ils sont la cause de la réduction de poids, de la qualité, de la valeur commerciale et de la viabilité des semences (Dal *et al.*, 2001).

Selon L'INRA, 2009, les dégâts causés par ces insectes peuvent être énormes, surtout au niveau des silos, et détruire ainsi une partie importante estimée à 1440 millions de tonnes de céréales récoltées chaque année dans le monde. Le chiffrage des pertes mondiales est difficile à établir mais avoisine les 25%.

Selon Gwinner et al, 1996, on distingue deux types d'insectes ravageurs :

a)-Les ravageurs primaires :

Capables d'attaquer les grains entiers, intacts et parfaitement aptes au stockage exemple: Charançons, capucin des grains (*Rhizopertha dominica*).

b)-Les ravageurs secondaires :

Ne sont capables d'attaquer que les brisures des grains, c'est à dire les grains humides, donc nous, déjà endommagés par les ravageurs primaires ou par d'autres agents quelconques, ou encore les produits de transformation de ces grains, comme la farine, exemple : le *Tribolium*.

II-Les principaux insectes des céréales stockées:

Deux principaux ordres de la classe des insectes regroupant la majorité des espèces sévissant dans les locaux de stockage.

Il s'agit en premier lieu des coléoptères qui constituent le groupe le plus important au sein des insectes ravageurs des stocks, ils sont suivis par les lépidoptères.

II.1. Les coléoptères :

II.1.1. Caractères généraux: contrairement aux lépidoptères, les pièces buccales des coléoptères, adultes et larves, sont toutes de type broyeurs, toujours présentes et bien développées, souvent les mandibules sont saillantes

La principale caractéristique des coléoptères est la transformation de la 1^{ère} paire d'ailes en élytres rigides, ces élytres recouverts et protègent les ailes fines et membraneuses qui servent au vol, ils recouvrent la totalité de l'abdomen ou juste une partie (**Dorling, 2002**).

Les 4 ailes dont 2 élytres, sont parfois soudées sur la ligne médiane, au repos les dernières se replient longitudinalement et transversalement.

Le thorax a la conformation habituelle, mais le prothorax est généralement développé : c'est le corselet. Le mésothorax, cette portion visible dorsalement forme l'écusson, les élytres cachent le mésothorax.

Sur le thorax s'attachent les ailes, les pattes. Le tarse comporte tantôt 5 articles, tantôt 4 ou 3 ou 2 ou même un nombre variable avec les pattes considérées.

L'abdomen est fait de 11 anneaux, certains d'entre eux peuvent être soudés ou atrophiés ou peu visibles. Les articles sont fortement chitineux ventralement, plus membraneux dorsalement sous les élytres le dernier est entièrement corne (**Ayral, 1969**).

Les larves des coléoptères ont généralement un corps cylindrique, possédant 3 paires de pattes thoraciques, qui font toutefois défaut chez certaines espèces se développant dans les grains (par exemple les charanons) (**Gwinner et al, 1996**).

Les larves faites de 13 segments, leur croissance demande le plus souvent 3 mues. Les nymphes libres sans fourreau, peuvent être recouvertes d'une sécrétion qui se solidifie à l'aire ou de reste exuviaux (**Ayral, 1969**).

II.1.2. Biologie et développement:

Les coléoptères appartient au groupe des insectes holométaboles, la croissance se divise en plusieurs stades successifs, différents par leur morphologie, leur anatomie, et souvent aussi par leur biologie.

Le passage d'un stade à l'autre se fait brutalement, sans transition, a l'occasion d'une mue critique. On reconnaît dans ce développement 4 stades successifs : l'oeuf, la larve, la nymphe, l'adulte (ou l'imago). Les coléoptères pondent de dix a plusieurs milliers d'oeufs simples et sans ornements. Certaines espèces pondent la ou les larves trouveront de la nourriture, d'autres éparpillent leurs oeufs simplement au hasard.

- Les larves :

Possèdent une tête bien développée, avec des mandibules broyeuses semblables à celles des adultes. Elles possèdent généralement 3 paires de pattes thoraciques (sauf pour les charançons). C'est le seul stade qui montre une croissance scandée par des mues.

La nymphe:

Immobile ne se nourrit pas, elle subit d'importantes transformations tout anatomiques que cytologiques. Les nymphes des coléoptères sont généralement libres (TIFOUR H, 1998).

III. Présentation de quelques espèces :

Nom commun : Charançon du riz

Famille: Curculionidae

Tableau N°1: présentation de l'espace de Sitophilus oryzae

Description	
Taille :	2.5 à 3.5m
Forme :	Plus on mains cylindrique
Couleur :	Brun noir avec quatre taches rougeâtres sur les élytres
Caractéristique :	Tête avec rostre; antenne coudée avec massue; Pointillage du Prothorax circulaire ; aptitude au vol.

Tableau N°02 : Biologie de l'insecte

Plage de températures :	17 à 34° C
Température optimale :	28° C

Plage d'humidité relative :	45 à 100
Humidité relative optimale	70
Ponte :	Jusqu 'à 150 oeufs, pondus séparément dans les grains.
Durée Du Cycle :	Jusqu'a 110 jours optimums de 35 jours.

- Description des différents états de l'insecte

a) L'œuf

L'œuf est ovale ou piriforme, sa couleur est d'un blanc opaque et brillant. Il mesure 0,6 à 0,7 mm de longueur et 0,2 à 0,3 mm de largeur (Scotti, 1978 ; Bar *et al.*, 1995) Il porte une protubérance à son extrémité qui lui permet de se fixer au substrat, elle se trouve à l'intérieur des trous de ponte (fig.1) .

b) La larve

La larve est blanche, globuleuse et se caractérise par sa forme ramassée. Au terme de son développement, elle mesure 2,5 à 3 mm de long. L'absence des pattes chez la larve de *Sitophilus oryzae* (L.). Le nombre des mues est à la fois constant et peu élevé de 3 à 4 stades larvaires (Appert et Deuse, 1982) (fig.2).

c) La nymphe

La nymphe de forme cylindrique, mesure 3,75 à 4 mm de long, sa couleur passe du blanc au brun à mesure qu'elle évolue. Elle subit la mélanisation et la sclérotinisation de la cuticule. Elle a presque la taille de l'imago (Lepesme, 1944) (fig.2).

d) L'imago

L'imago est un petit coléoptère de 2,5 à 5 mm de longueur, caractérisé principalement par deux grosses taches ocre sur chaque élytre, le rostre moins long que le pronotum, est peu arqué et cylindrique dans sa partie antérieure.

Le mâle se distingue de la femelle par un rostre plus épais, plus court et plus profondément ponctué, les derniers sternites abdominaux sont plus courbés ventralement chez le mâle que chez la femelle.

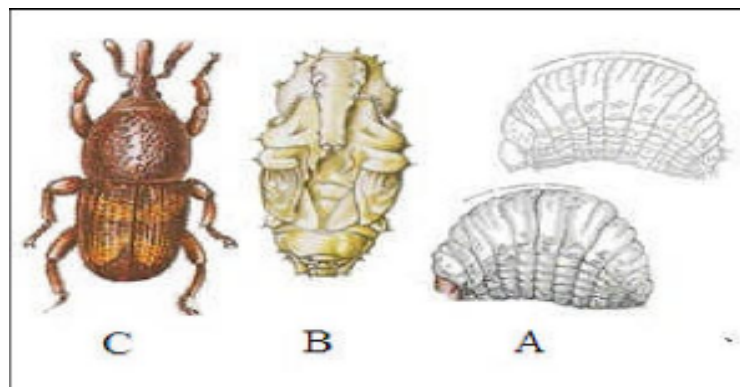


Figure 1: différents états de *S. oryzae*. A: larve, B: nymphe, C: adulte (Walter, 2002)

Biologie de l'insecte :

S. oryzae est charançon aux mœurs essentiellement nocturne, se montre plus actifs la nuit que le jour. Ils peuvent vivre en permanence dans l'obscurité complète, ces déplacements sont relativement rapides, il peut voler, d'où leur rapide dissémination dans un entrepôt (Steffan in Scotti, 1978).

Les adultes s'accouplent peu après leur sortie des grains, leur copulation dure 15 mn à 1 h 30 mn, se répète à maintes reprises au cours de leur existence (Lepesme, 1944). Une à deux semaines après l'accouplement, la ponte s'effectue à une certaine profondeur du grain.

Les observations, montrent que les femelles choisissent les grains avant de pondre. Elles sont capables de déceler la présence d'un oeuf ou d'une larve déjà en place dans un grain. Elles ne pondent jamais dans un grain déjà occupé. La femelle de *Sitophilus oryzae* (L.) taraude le grain et y dépose un oeuf dans chaque trou, par la suite elle bouche le trou de ponte avec du mucus sécrété par l'oviducte. Au cours de sa vie, la femelle pond 300 oeufs en moyenne avec un maximum, dépassant 500 oeufs (Paulian, 1988).

Dans les conditions favorables, l'insecte passe par trois stades larvaires en une durée d'un mois. La larve du dernier stade aménage une sorte de chambre de nymphose où elle

passé d'abord par un stade prénympheal qui dure de 20 à 50 heures avant de se transformer en nymphe.

Selon Lepesme (1944), les calandres hivernent aussi bien à l'état adulte qu'à l'état larvaire. Au cours de cet état, ils ne sont pas complètement actifs.

Les adultes émergent à température de 28°C et une humidité relative de 70 #177; 5%. Ces conditions sont considérées comme étant optimales pour la croissance ; leur développement peut commencer à partir d'une teneur en eau du grain supérieure à 9 %. Dans ces conditions la durée de cycle de développement est de 25 jours

Les charançons du riz représentent des ravageurs de premier plan pour les céréales emmagasinées sur lesquelles ils provoquent des pertes pondérales, une détérioration de la qualité et permettent l'installation d'infections cryptogamiques (Appert, 1985). Leur plat de prédilection est constitué par les grains de blé, d'orge, de maïs et de riz. Parfois même ils fréquentent le millet, les châtaignes, les patates séchées, les figes sèches, le tabac en feuilles ou manufacturé (fig.3).

Les ennemis naturels

De nombreux parasites mettent un frein aux dommages causés par ces charançons, en s'attaquant à leurs larves et nymphes. Les plus communs sont des Hyménoptères de la famille des pteromalides. *Chaetospila ellgane* westwood, *Aplastomorpha calandrae* et surtout *Lariophagus distinguendus* Fostr. De même certains Bethylides tels que : *Cephalonomia tarsalis* ainsi qu'un acarien *Pediculoides ventricosus* Nemp. Qui est considéré comme un précieux auxiliaire.



Figure 2 : Dégâts de *S.oryzae* sur blé tendre (original)

IV-Tribolium confusum (Duval)

IV.1. Les caractères généraux des Tenebrionidae

Les tenebrionidae sont des coléoptères de taille comprise entre 2 mm. et 80 mm, de forme très varié, à téguments le plus souvent rigides, épais, noir mat ou luisant, de teinte sombre, coloré ou «métallique» par interférence, avec des yeux généralement grands, ovales ou ronds chez certaines sous-familles. Antennes de 11 articles, plus rarement 10. aptères ou ailées, avec nervation alaire du type primitif, 5 sternites abdominaux, pattes longs ou tout au contraire, contractées, souvent fouisseuses (Balachowsky, 1962).

Un certain nombre de tenebrionidae ont été signalées comme nuisibles sur les plantes cultivées et autres s'attaquent aux denrées alimentaires stockées ou emmagasinées. Parmi ces dernières le genre Tribolium comprend deux espèces principales cosmopolites et nuisibles: *T. castaneum* Herbst. et *T. confusum* Duv.

Origine et répartition

Le Tribolium est d'origine Indo-Australienne (Smith et Whitman, 1992) et est trouvé dans des secteurs tempérés, mais survivra l'hiver dans les endroits protégés, particulièrement où il y a de la chaleur centrale (Tripathi et autres 2001). En Afrique le Tribolium a une

distribution différente en ce que se produit dans le monde entier dans les climats les plus frais (Smith et Whitman, 1992).

Morphologie de *Tribolium confusum* (Duv.)

IV.2.Description des différents états de *Tribolium confusum* (Duv.)

a) L'oeuf

L'oeuf est oblong et blanchâtre, presque transparent surface lisse recouverte d'une substance visqueuse qui lui permet d'adhérer à la denrée infestée il mesure en moyenne 0.6 x 0.3 mm (Lepesme, 1944) (fig.4).

b) La larve

L'éclosion de l'oeuf donne naissance à une larve neonate et de couleur blanche, de petite taille ne dépassant pas 1.4 mm. Elle passe par plusieurs stades dont le nombre varie de 5 à 12 selon la température, l'humidité relative et la qualité de l'alimentation.

La larve de dernier stade est cylindrique mesure environ 7 mm de long et 0,8 mm de large, sa couleur est d'un jaune pâle. Son corps presque glabre, se termine par deux paires urogomphes. (fig.4).

c) La nymphe

Est blanche et nue, les segments de son abdomen sont explantés latéralement en lames rectangulaires à bords crénelés (Balachowsky, 1936). La nymphe reste sans protection et est incapable de se déplacer (fig.4).

d) L'imago

L'imago est d'un blanc jaunâtre, son tégument se sclérotinise et se pigmente 2 à 3 jours après son émergence. La couleur devient brun rouge, sa taille atteint 3 à 4 mm. Ces élytres allongés, parallèles et arrondis à l'extrémité postérieure, portent des lignes régulières de ponctuation

séparées par des cotés très fins (Lepesme, 1944). Les pattes sont courbées, les tarse postérieurs sont formés de quatre articles (fig.4).

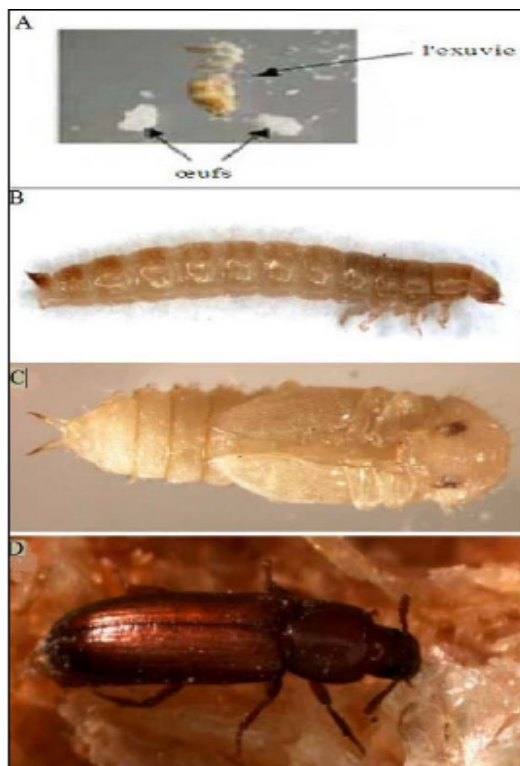


Figure 3: différents états de *T confusum* (Rebecca *et al*, 2003)

A :l'œuf; B:larve, C: nymphe, D: adulte

Biologie

Le premier accouplement a lieu environ 2 jours après l'émergence des imagos et dure de 3 à 15 minute. Chez *Tribolium confusum* (Duv.) l'échelonnement des pontes est conditionné par plusieurs copulations. Les oeufs sont pondus en vrac sur les marchandises et ils sont difficiles à déceler. Au cours de sa vie, la femelle pond entre 500 et 1000 oeufs.

Les jeunes larves, passent par 5 à 12 stades larvaires selon des conditions de température et d'humidité. La larve, circule librement dans la denrée infestée ou elle nymphose. L'émergence de l'adulte a lieu six jours après la nymphose à 32,5°C et une humidité relative de 70 %, la durée du cycle est de 24 à 26 jours, *Tribolium*

confusum (Duval.) est une espèce dont l'optimum thermique se situe entre 32°C et 35 ° C, son développement s'arrête au-dessous de 22°C. Il résiste aux basses hygrométries.

En absence d'alimentation, *Tribolium confusum* exerce le cannibalisme, dévore les oeufs et les larves de leur congénère (Steffan in Scotti, 1978).

Régime alimentaire et dégât

Le *Tribolium* recherche surtout les denrées amylacées pulvérulentes comme la farine, le son, ... etc. (LEPESME, 1944). Les adultes sécrètent une substance nauséabonde, riche en quinones qui communique au lot infesté une odeur particulièrement désagréable.

D'après STEFFAN in SCOTTI (1978), ils sont très polyphages, ce sont des cléthrophages secondaires, car les larves et les adultes se nourrissent surtout de brisures, elles attaquent les grains endommagés, escortent souvent les charançons ou parachèvent leurs dégâts (Fig.5).

Les ennemis naturels

Certains arthropodes particulièrement les acariens, tels que : *Pediculoides ventricosus* Nemp. *Acarophenax tribolu* Nemp. Et Duval. Tendent à limiter l'activité de *Tribolium*, deux hyménoptère de la famille des bethylides parasitant les larves sont: *Rhabdepyris zea* Turu et Waterst. *Sleroderma immigrans* Bridw.



Figure 4 : Dégâts de *T.confusum* sur la farine commerciale (original)

CHAPITRE 2:

Lutte Biologique

Introduction :

Les pesticides sont des préparations destinées à éliminer ou à limiter le développement des formes de vie et herbes nuisibles à l'homme et à ses ressources. Ils englobent tout un large spectre de composés et peuvent être classés suivant leurs origine, leur structure chimique et leur usage. Suivant ce dernier critère, on retrouve les fongicides, les herbicides, les nématicides, les raticides et les insecticides (Matthews, 1981).

C'est que vers le 19^{ème} siècle que commence véritablement la lutte chimique avec l'utilisation du soufre en 1843 contre les pucerons, des dérivés de l'arsenic en 1872 et de sulfate de cuivre en 1885. Le début de l'ère des pesticides se situe dans le courant de la seconde guerre mondiale, avec la découverte du DDT (Dichloro Diphényl Trichloroéthane) par Muller en 1948 (Kumar, 1991). Les pesticides de synthèse ont ensuite subi une poussée grâce à la découverte des propriétés insecticides résultant de la réaction des diènes avec les intermédiaires chlorés. Ceci a conduit à la synthèse de l'aldrine, et de la dieldrine qui, jusqu'à un passé récent, comptaient parmi les insecticides les plus utilisés dans le monde (Kumar, 1991).

I-1 : Importance des insecticides

Selon la FAO dans le monde, les pertes potentielles de culture dans l'année 1993 ont été estimées à 14% due aux insectes, 12% due aux maladies et 9% aux mauvaises herbes (FAO, 2001).

En Algérie, les agriculteurs perdent environ 30% de leurs récoltes en grains à cause des insectes après 6 à 8 mois de stockage (M.A., 2014)

. Selon les auteurs, on estime les pertes post-récoltes dans les greniers Paysans après six mois de stockage à environ 25% (Ratnadass et Sauphanor, 1989); 30% (Bell *et al.*, 1998) ; ou 40% (Helbig, 1995). Par ailleurs, une mauvaise gestion de la protection de ces récoltes peut les transformer en véritable poison pour les consommateurs (Bell *et al.*, 1998). Les insectes produisent les dégâts les plus importants représentant au moins 50% des pertes en Afrique (FAO, 2011)

Cette perte peut s'avérer un véritable désastre pour de nombreux agriculteurs d'autant plus qu'à cela s'ajoutent les pertes pendant la récolte, le transport, le séchage, (Gwinner, 1996). Certains paysans préfèrent se débarrasser de leur production même à vil prix juste après la récolte pour ne pas faire face à d'éventuelles pertes pendant le stockage (Proctor,

1994). Les insecticides sont à ce jour, la principale arme de l'Homme contre ces insectes ravageurs et peuvent ainsi être considérés comme étant des facteurs de production à haut rendement. Ils sont nécessaires pour protéger le cultivateur ayant procédé à des investissements importants en réduisant considérablement les pertes causées par ces insectes.

I-2 : Effets des insecticides synthétiques sur l'environnement

Au delà de leur pouvoir protecteur, les insecticides synthétiques présentent bien des limites dont l'impact sur l'environnement nécessite une attention particulière. Les insecticides synthétiques peuvent être définis comme étant des produits chimiques synthétisés par l'Homme dans le but de tuer les insectes. Bien que l'utilisation de ces insecticides soit répandue, ils peuvent engendrer de nombreux dommages :

- **sur la faune**, en plus de la disparition des auxiliaires naturels qu'ils peuvent entraîner (Khan et Selman, 1987), les insecticides synthétiques sont à l'origine de l'apparition des résistances chez bon nombre de ravageurs (Arnaud *et al.*, 2001; Tapondjou *et al.*, 2002 ; Park *et al.*, 2003; Hou *et al.*, 2004). Cette résistance se traduit par la capacité de l'insecte à survivre et à se reproduire en présence des doses élevées, qui initialement limitaient son évolution (Lee, 2002). L'utilisation intensive du malathion par exemple dans la protection des grains a entraîné en 1961 le premier cas de résistance du *Tribolium castaneum* (Arnaud *et al.*, 2001 ; Haubruge *et al.*, 2002). Les travaux de Regnault Roger *et al.* (2002) indiquent que le nombre d'espèces devenues résistantes est passé de 550 en 1990 à 800 en 1992. En plus de l'apparition des espèces résistantes, d'autres effets résultant de l'utilisation intensive des pesticides se sont manifestés comme la résurgence des populations d'insectes.

- **sur l'environnement**, les résidus des pesticides agissent de manière lente mais certaine. Ils sont à l'origine de la dégradation de l'écosystème et de la biodiversité (Lajide *et al.*, 1995 ; Lamiri *et al.*, 2001). Certains pesticides tels que le méthylbromure entraînent une altération de la couche d'ozone (Kim *et al.*, 2003). D'autres comme les organochlorés ont la propriété de rester intact dans la nature pendant plusieurs années (Hoyer *et al.*, 2002).

Cependant, la toxicité des insecticides synthétiques est le résultat de plusieurs facteurs qui sont :

- la présence de leurs résidus dans les aliments, les produits agricoles ou les aliments pour animaux par suite de l'utilisation d'un insecticide (Goudoum, 2010).

Les denrées étant traitées à des phases proches de celles des préparations culinaires, les quantités absorbées par les consommateurs sont non négligeables (Ngamo, 2004). L'intoxication peut se faire par une persistance du produit dans la denrée (; Hoogland et Holen, 2001 ; Taponjou *et al.*, 2002). Les insecticides représentés principalement par l'Aldrine, le Camphor, le Dieldrine, l'Endrine et le Termitox, sont capables de s'incorporer dans la chaîne alimentaire, suite à la contamination de l'eau, de l'air ou du sol (Lincer *et al.*, 1981). Leur forte accumulation chez l'homme est à l'origine de cancers (substances cancérigènes), de malformations congénitales (substances tératogènes) ou de transformations génétiques (substances mutagènes).

- la mauvaise utilisation des insecticides synthétiques de la part des paysans :

du fait de l'ignorance des risques, cette mauvaise utilisation accentue les problèmes de toxicité des insecticides chimiques. De nombreux paysans utilisent des fongicides, des acaricides et des insecticides destinés aux semences pour le stockage des grains (Noudjou *et al.*, 2004). Ainsi, l'intoxication peut survenir par une mauvaise utilisation (Levine, 1991 ; Agouké et Bell, 1994) de pesticides. Quand bien même le produit adéquat est utilisé, les doses indiquées ne sont pas toujours respectées ; - la commercialisation sur les marchés locaux, des produits transférés de leur emballage d'origine, repartis et vendus dans d'autres emballages (Proctor, 1994).

Tout cela étant dû au fait que dans la plupart des pays en développement, la législation régissant le contrôle de la composition, des importations et de la commercialisation des produits phytosanitaires n'existe pas ou n'est tout simplement pas appliquée. La législation internationale est peu implémentée. Ce manque de contrôle rigoureux favorise également la forte utilisation dans ces pays des produits bannis tels que les POPs (polluants organiques persistants) à utilisation restreinte dans les pays développés (Proctor, 1994).

Les biopesticides à base d'huiles essentielles présentent plusieurs caractéristiques d'intérêt. Plusieurs sont aussi efficaces que les produits de synthèse. Ils ont en général une efficacité à large spectre, mais avec une spécificité pour certaines classes ou ordres d'insectes. En étant très peu rémanents, ils peuvent être appliqués jusqu'au moment de la récolte; cette faible rémanence permet également aux travailleurs de retourner au champ ou dans une serre dans un court délai après le traitement.

II- LES HUILES ESSENTIELLES :

Bien que de nombreuses hypothèses aient été avancées pour expliquer les raisons de la synthèse de l'essence par la plante, nul ne sait avec exactitude pourquoi la plante fabrique son essence. Mais ce qui est probable c'est que le rôle des huiles essentielles au niveau du matériel végétal est intimement lié à leur situation (Richard, 1992).

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés aromatiques lipophiles, volatils et souvent liquides qui sont stockés dans des tissus végétaux spécialisés et extraits des plantes grâce à des procédés physiques (hydrodistillation, entraînement à la vapeur ou expression à froid pour les HE d'agrumes). (SMALLFIELD,2001). Les produits obtenus par extraction avec d'autres procédés que ceux cités ci-dessus ne sont pas repris dans la définition d'huile essentielle donnée par les normes de l'Association Française de Normalisation (AFNOR). (AFNOR, 2000).

La norme AFNOR NF T 75-006 (février 1998) donne comme définition d'huile essentielle (=essences=huiles volatiles) : « produit obtenue a partir d'une matière première végétale, soit par entraînement a la vapeur d'eau soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche .l'huile essentiel est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premier modes.

Les plantes aromatiques synthétisent naturellement les huiles par des cellules sécrétrices (figure05), qui contiennent de la chlorophylle puis elles sont transportées dans d'autres parties.. (WILLEM,2004).

II.1 Répartition et localisation des huiles essentielles :

Selon les botanistes, parmi tous les espèces végétales estimées de 800 000 a1500 000 seulement 10% sont dites aromatiques. Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, elles sont presque exclusivement de l'embranchement des Spermaphytes, les genres qui sont capables de les élaborer sont rassemblés dans un nombre restreint de familles comme les : Lamiaceae, Lauraceae, Asteraceae, Rutaceae, Myrtaceae, Poaceae, Cupressaceae, Piperaceae (Bruneton, 1999).

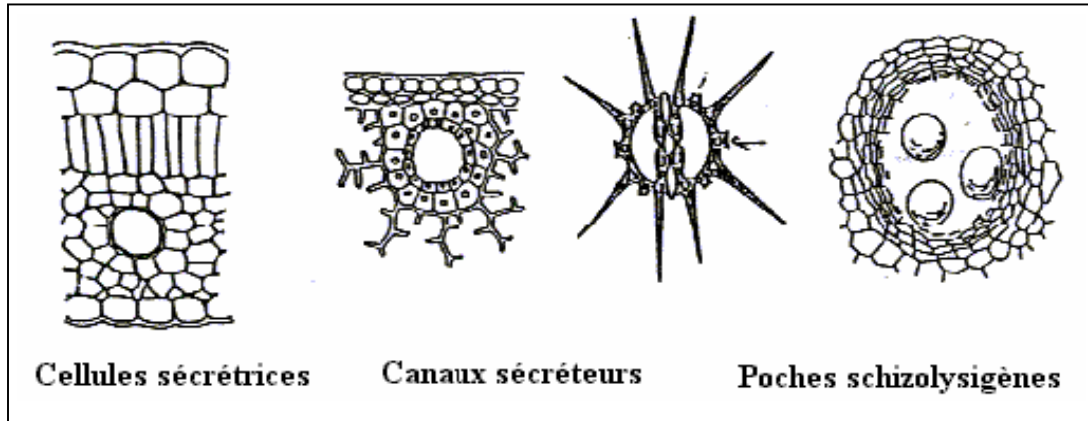


Fig05 : Quelques organes sécréteurs d'huiles essentielles

Les HE sont considérés comme des signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement. Par exemple, ces huiles confèrent un rôle défensif contre les champignons et microorganismes et attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs. Un feuillage renfermant une teneur élevée en essences végétales (Ex : laurier) le protège contre les herbivores. Le rôle des huiles essentielles au niveau des racines, des écorces et du bois confère à la plante un effet antiseptique vis-à-vis d Les mécanismes d'action des propriétés pesticides des huiles essentielles sont méconnus et relativement peu d'études ont été réalisées à ce sujet (Isman 2000).

On considère que ces mécanismes sont uniques et que les bio pesticides à base d'huiles essentielles peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de la résistance des ravageurs aux pesticides. Avec ces mécanismes d'action particuliers, ces bio pesticides peuvent être utilisés seuls et à répétition sans potentiellement inciter le développement de la résistance chez les ravageurs. Ils peuvent également être utilisés en alternance avec les pesticides de synthèse afin de prolonger la durée de vie de ces derniers.

Les mécanismes d'action des huiles essentielles seront présentés en donnant des exemples tirés de la littérature et des essais effectués avec le produit FACIN, un insecticide/acaricide à base de l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides*.

II.2 -Composition chimique des huiles essentielles :

La composition des huiles essentielles est généralement très complexe, à la fois par la diversité considérable de leurs structures, et par le nombre élevé de constituants présents

(Abid, 2008). On peut déterminer la composition des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse (CPG), c'est la technique la plus utilisée, car elle permet de faire une analyse complète de plus d'une centaine de molécules chimiques que contient l'huile.

Le spectromètre de masse (SM), que l'on associe souvent à la chromatographie (CPG-SM), permet lui d'obtenir la composition précise de l'huile essentielle (Bachelot et *al.*, 2005). Comme on peut utiliser une méthode spectroscopique, dite résonance magnétique nucléaire du Carbone-13 (RMN 13C) (Bekhechi, 2008).

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant divers facteurs, l'environnement, le génotype, origine géographique, le lieu et la période de récolte, la partie de la plante étudiée, l'âge de la plante, le séchage, lieu de séchage, la température et la durée de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes (Smallfield, 2001 ; Merghache et *al.*, 2009 ; Atik Bekkara et *al.*, 2007).

II.3 -Utilisation des huiles essentielles en tant que biopesticides :

L'utilisation répandue des insecticides synthétiques a mené à beaucoup de conséquences négatives (la résistance des insecticide, la toxicité sur la faune auxiliaire, les problèmes de résidu et la pollution environnemental) ayant pour résultat l'attention croissante étant donnée aux produits naturels (Isman, 2005).

Les plantes peuvent fournir des solutions de rechange potentielles aux agents actuellement utilisés contre les insectes parce qu'elles constituent une source riche en produits chimiques bioactifs. Beaucoup d'effort a été donc concentré sur les matériaux dérivés de plante pour les produits potentiellement utiles en tant qu'agents commerciaux de lutte contre les insectes (Kim et *al.*, 2003).

Les plantes aromatiques sont parmi les insecticides les plus efficaces d'origine botanique et les huiles essentielles constituent souvent la fraction bioactive des extraits de plantes (Shaaya et *al.*, 1997).

II.4- Activité insecticide des huiles essentielles

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, ingestion et par fumigation a été bien démontré contre les déprédateurs des denrées entreposées, de nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des formes d'utilisation des plantes qui permettent de renforcer et de rentabiliser leur activité insecticide (Isman, 1994).

L'objectif est d'améliorer les techniques traditionnelles basées sur l'utilisation des ressources végétales renouvelables pour une meilleure gestion des déprédateurs dans les stocks de niébé de plus grande importance. Certaines observations ont montré que l'extrait brut éthanolique (Tierto-Nieber et *al.*, 1992), hexanique (Nuto, 1995) ou à l'éther de pétrole (Gakuru et Fouabi, 1996) de matériel végétal possède une toxicité effective vis-à-vis des ravageurs de stocks. D'autres résultats indiquent que les huiles essentielles extraites de plantes odorantes ont une activité insecticide indéniable vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus* F. (Glitho et *al.*, 1997; Gakuru et Fouabi, 1995).

Ces huiles essentielles agissent par diffusion. C'est ce qui leur permet d'atteindre toutes les interstices dans la masse de graines stockées. Elles peuvent donc être utilisées en fumigation et leur emploi est facile. Selon (Koumaglou, 1992) la technologie de leur extraction est simple et accessible à tous les niveaux.

Les huiles essentielles des plantes appartenant aux genres *Chenopodium*, *Eucalyptus* ont témoigné de leur efficacité insecticide, la poudre de *Chenopodium ambrosioides* était testée sur six ravageurs de denrées stockées *Callosobruchus maculatus*, *C. chinensis*, *Acanthoscelides obtectus*, *Sitophilus granarius*, *S. zeamais* et *Prostephanus truncatus*, une concentration de 0,4 % provoqua la mortalité de plus de 60 % des bruches après deux jours de traitements (Taponjou et *al.*, 2002).

En 2002, Taponjou et *al.*, montrèrent l'efficacité de l'huile essentielle de la même plante, en plus de celle d'*Eucalyptus saligna* sur *Callosobruchus maculatus*, et *C. ambrosioides*. Ces deux huiles exercent également un effet répulsif sur le bruche de niébé.

II.5- Activité acaricide, fongicide et bactéricide

Contre *Varroa jacobsoni*, parasite des colonies d'abeilles, plusieurs travaux ont été menés sur l'effet toxique de certaines essences et de leurs composant (Calderone et *al.*, 1997).

Parmi ces derniers, c'est le thymol qui a engendré le meilleur résultat, en addition, il a été démontré que le traitement répétitif en dehors de la période de miellée n'augmente pas les résidus dans le miel et reste sous le seuil de détection gustative qui se situe entre 1,1 et 1,6 mg/kg. Il a été prouvé jusqu'à présent qu'un seul traitement à base d'huile essentielle ou d'un composé est généralement suffisant pour maintenir la population de l'acarien *Varroa* au-dessous du seuil de dégât économique pendant toute la saison (Imdorf et *al.*, 1999). Contre les champignons, les alcools et les lactones ses quiterpéniques sont d'excellents inhibiteurs, ils peuvent émaner de la cannelle, clou de girofle, eucalyptus citronné, géranium, rosat, niaouli, plamarosa, ravensare, tagète, romarin-cinéole et calophyllum. (Wilson et *al.*, 2007) dévoilèrent l'efficacité de 49 huiles essentielles sur *Botrytis cinerea*.

Contre les bactéries (Defoe et *al.*, 2003) avaient étudié la composition chimique de l'huile essentielle *Thymus spinulosus* et réalisé des tests biologiques sur son activité antibactérienne contre des souches de bactérie, les résultats ont montré que les monoterpènes (thymol) ont une propriété inhibitrice de croissance.

II.6-Conservation des huiles essentielles :

L'instabilité relative des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation délicate (Bruneton, 1993). Trois facteurs interviennent dans l'altération des huiles essentielles :

La température : obligation de stockage à basse température (entre 8 °C et 25 °C).

La lumière : stocker dans l'obscurité et dans un récipient opaque, brun de préférence.

L'oxygène : les flacons doivent être entièrement remplis et fermés de façon étanche, il est possible de recourir à l'adjonction d'antioxydants.

La durée de conservation admise est de 2 à 5 ans.

III-Rôle des composés terpéniques pour la plante :

Les composés terpéniques sont induits et émis par la plante en réponse à des facteurs biotiques et abiotiques internes (génétique et biochimique) et externes (écologique) (Penuelas *et al.*, 1995). Ils constituent un système de défense de la plante particulièrement contre les insectes herbivores (Kessler et Baldwin, 2001 ; Grodnitzky et Coats, 2002). L'attaque par ces insectes va conduire à une augmentation de la libération des substances volatiles telles que le linalool et le farnésène par les feuilles de maïs, et/ou à la synthèse de nouveaux composés (E- β - ocimène par les feuilles de concombre) ; Neveu *et al.*, 2002 ; Pichersky et Gershenzon, 2002 ; Bouwmeester *et al.*, 2003).

. Une plante peut ainsi indirectement réduire de plus de 90% les attaques d'insectes herbivores (Kessler et Baldwin, 2001 ; Holopainen, 2004). Sur une plante, les molécules volatiles libérées par les feuilles attaquées peuvent être différentes de celles libérées par les feuilles saines (Paré et Tumlinson, 1999).

La plante émet également des composés terpéniques pour se protéger d'organismes pathogènes et d'autres espèces végétales (Banthorpe, 1994 ; Holopainen, 2004). L'eucalyptol et le camphre émis par l'eucalyptus inhibent la germination et le développement des espèces avec lesquelles elle est en compétition, et les espèces *Buddleja* produisent des sesquiterpènes tels que la buddlenine, contre les moisissures (Banthorpe, 1994, Houghton *et al.*, 2003).

Les composés terpéniques ne servent pas uniquement à protéger la plante, certains composés tels que le linalool ou l'eugénol émis par les fleurs attirent les insectes pollinisateurs (Pichersky et Gershenzon, 2002 ; Holopainen, 2004 ; Gerhenson et Dudareva, 2007).

La teneur des plantes en huiles essentielles est faible de l'ordre de 1 à 3% à l'exception du clou de Girofle (14 à 19 %), du Macis (10 à 13 %), de la noix de Muscade (8 à 9 %) et de la Cardamome (4 à 10 %).

Les huiles essentielles proviennent des plantes aromatiques et sont extraites par distillation à la vapeur d'eau sauf pour les essences aromatiques qui sont extraites des agrumes par expression et ne sont donc pas des huiles mais des essences aromatiques. Une HE est une substance aromatique, huileuse constituée de quelques composants à plus de 250 substances différentes. Les molécules contenues ont une action très large et travaillent tant sur les symptômes que sur le terrain.

Deuxième Partie

Partie expérimentale

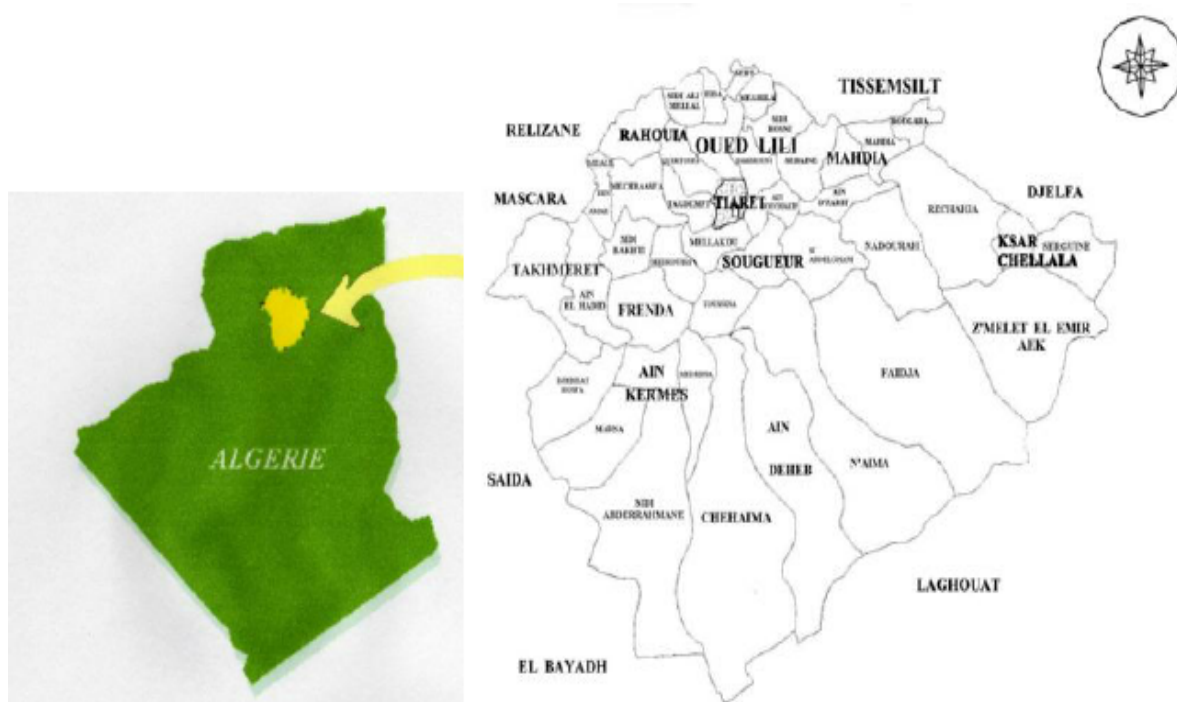
CHAPITRE 3:

Zone d'étude

III-1 : Localisation géographique :

Située à 340 km de la capitale Alger au nord-ouest du pays, la wilaya de Tiaret se présente comme une zone de contact entre le Nord et le Sud. Le territoire de la wilaya est constitué de zones montagneuses au Nord, de hautes plaines au centre et des espaces semi arides au Sud.

Elle s'étend sur un espace délimité entre 0.34° à 2.5° de longitude Est et 34.05° à 35.30° de latitude Nord. Tiaret occupe une superficie de 20.086,62 km², elle couvre une partie de l'Atlas tellien au Nord et les hauts plateaux au centre et au Sud. Elle est délimitée au Nord par les wilayas de Relizane, Chlef et Tissemsilt, à l'Ouest par les wilayas de Mascara et Saida, à l'Est par la wilaya de Djelfa, au Sud et Sud-Est par Laghouat et El Bayad (Site officiel de la wilaya, 2014 (Carte. 01).



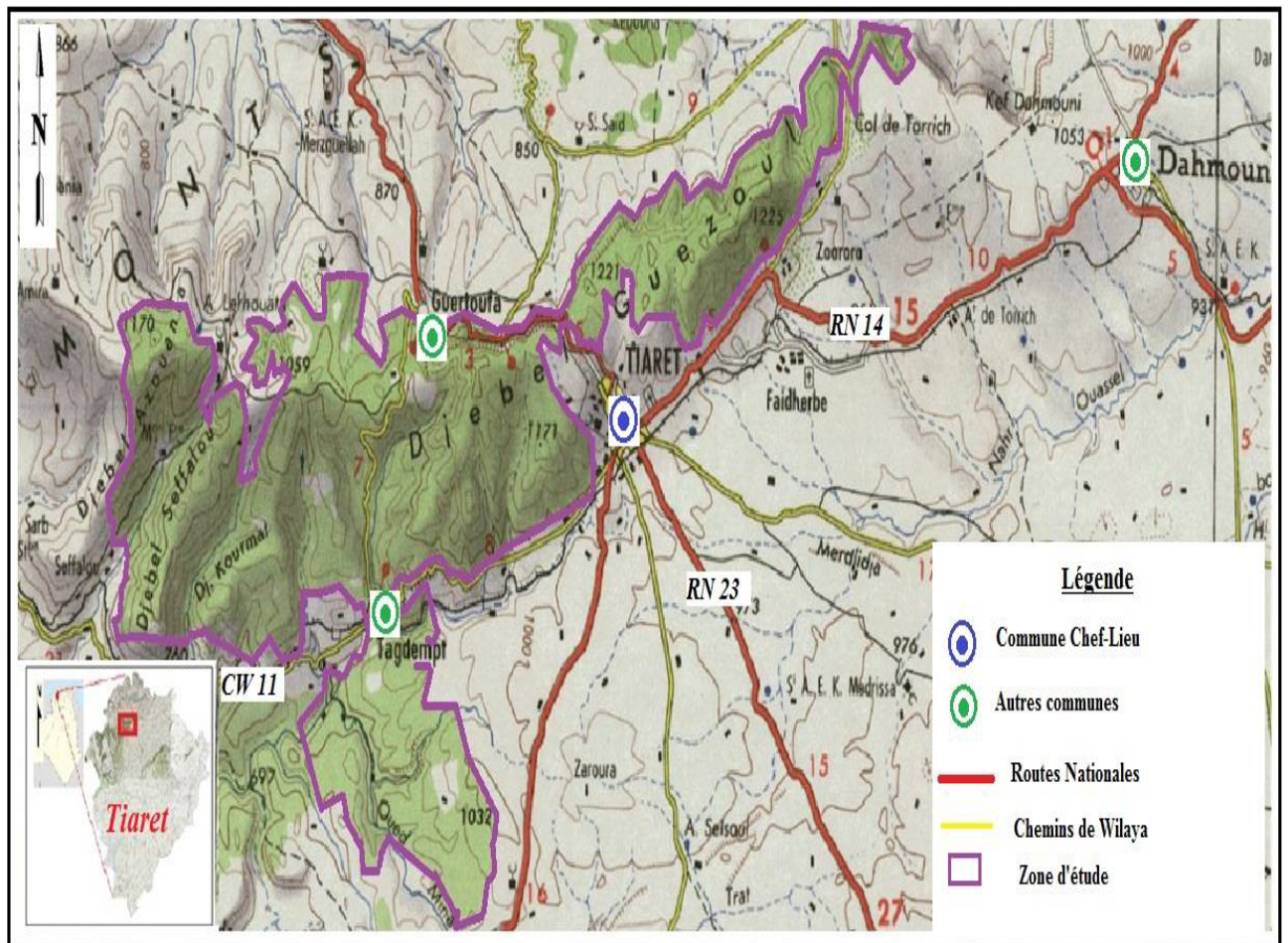
Carte. 01: Situation géographique de la wilaya de Tiaret. (Site officiel de la wilaya

(www.wilaya-Tiaret.dz, 2014)

III-2 Délimitation de la zone d'étude :

La zone dans la quelles les échantillons végétales ont été récoltés pour notre étude intégrante des monts de Tiaret, les monts de Tiaret se situent au Nord de la wilaya, limités au Sud à l'Est par la route nationale N 14 qui lie les communes de Mellakou, Tiaret et Dahmouni. Au Nord par la commune de Guertoufa et à l'Ouest par la route W11 (Carte. 02).

Administrativement, notre zone d'étude occupe une position partagée entre le territoire de quatre communes : la commune de Tiaret, de Guertoufa, de Tegdempt, et de Mechraa Sfa, sur une superficie de 4 893,28 ha (CFT, 2014). Elle est constituée par quatre cantons principaux: Djebel Guezoul, Djebel Koumat, Djebel Azouania et Djebel Saffalou

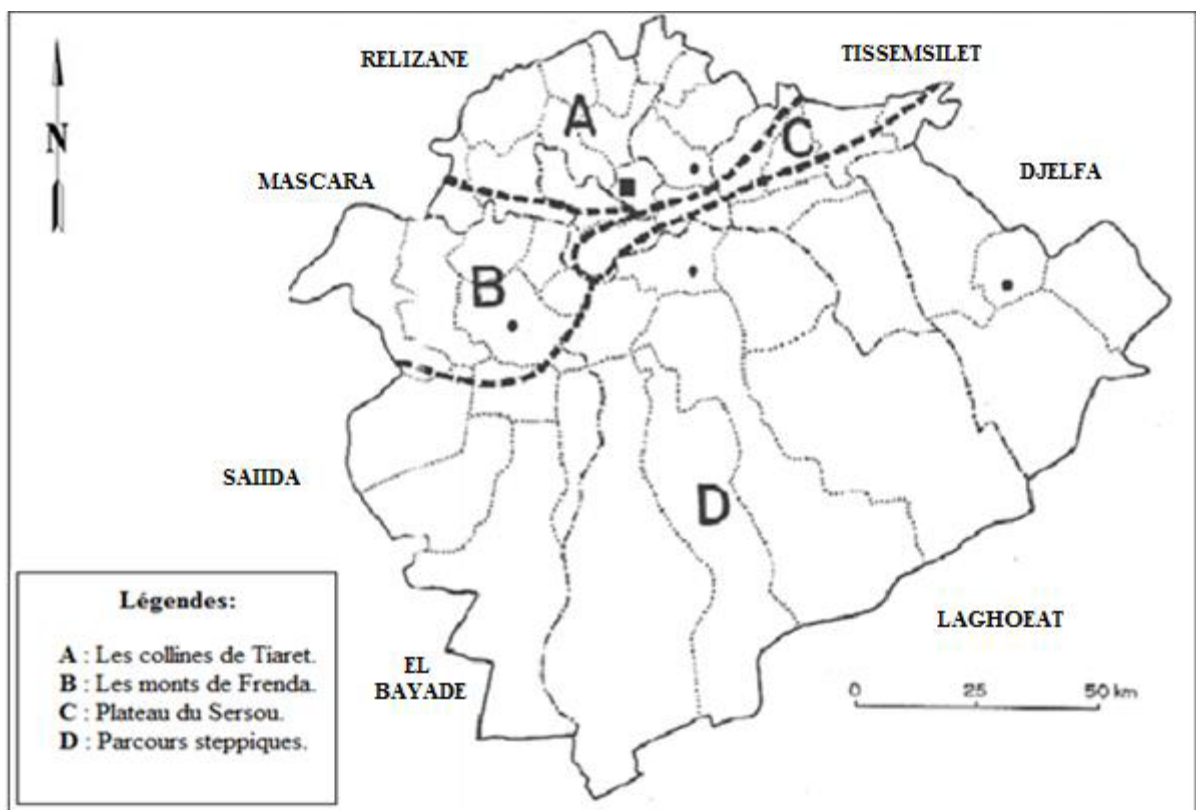


Carte 02 : Délimitation de la zone d'étude (massif forestier des monts de Tiaret 1/50.000) (CFT, 2014)

a)-Relief et géomorphologie :

L'analyse des photographies aériennes (1/100.000), permet d'identifier quatre unités géomorphologiques distinctes et plus ou moins homogènes. (Duvignaud, 1992). Il s'agit de : l'unité des bas piémonts l'Ouarsenis, l'unité des collines de Tiaret, l'unité du plateau du Sersou et les parcours steppiques).

D'une manière globale le relief est caractérisée par le versant méridional du chaînon de l'Atlas tellien (Ouarsenis) qui constitue sa limite septentrionale, au Sud-Ouest par les monts de Frenda. La caractérisation des différentes zones a été synthétisée à partir d'une étude récente portant rapport sur les ressources naturelles et évaluation des terres établie en 1995 par l'Institut Technique des Grandes Cultures, Algérie (ITGC) et l'Institut Agronomico per l'Oltremare, Italie (IAO).



Carte 03 : régions naturelles de la wilaya de Tiaret (Duvignaud, 1992).

La majeure partie de notre échantonnage s'étale dans les collines de Tiaret

. → Zone A La zone (A) fait partie de la limite méridionale Ouest du massif de l'Ouarsenis. Elle est formée par les djebels Mahamou, Sidi Maarouf, Bechtout et Ghezoul, qui appartient déjà à la bordure Sud tellienne, qu'entaillent les oueds Rhiou, Tiguigest et Tamda. Le piémont méridional se trouve au niveau du passage de la chaîne de l'Ouarsenis aux hauts plateaux; il est constitué des terrains identifiés essentiellement comme bordure Sud tellienne. Le long de l'axe Layoune, Khemesti, Tissimsilt, Dahmouni, Tiaret, le passage du piémont au plateau du Sersou est visiblement représenté par le cours du Nahr Ouassel, tandis que le Mina constitue la limite entre le piémont méridional et les monts de Saida, entre Tiaret et Mechraa Sfa.

B)- Géologie : Du point de vue géologique le territoire de la wilaya est subdivisé en deux domaines : le domaine tellien et le domaine pré- atlassique (P.A.W.T, 1988). Contrairement au domaine pré-Atlassique qui couvre particulièrement les zones steppiques, notre zone d'étude appartient au domaine Tellien, ce dernier caractérisé par les formations qui correspondent aux placages Plio –Quaternaire abritant la zone du Sersou; le Miocène supérieur et moyen relatif à l'ensemble de Mechraa Sfa Tagdempt et Djebel Guezoul

c)-. La couverture pédologique : Le sol reste l'élément principal de l'environnement, qui règle la répartition des espèces végétales. La mise en place du climat, de la végétation et des sols méditerranéens est très ancienne et très complexe. Elle commença au début du quaternaire et s'affirme à partir de l'holocène. Il s'agit dans ce contexte de sols anciens selon le concept de (Duchaufour, 1983) c'est-à-dire des sols ayant évolué pendant plus de dix milles ans,.

d)-. Les facteurs climatiques

Le climat est l'un des composantes importantes du milieu. Le climat conditionne l'existence de la forêt, il détermine de nombreux types de forêts et intervient dans la reproduction et l'évolution de boisements. Les principaux facteurs du climat nous permettrons donc de mieux caractériser le milieu.

Pour assurer une bonne représentation climatique de la zone d'étude, on recommande de rechercher les données du régime des phénomènes météorologiques.

1. La pluviométrie :

La pluviométrie est le facteur primordial qui permet de déterminer le type de climat. En effet, cette dernière conditionne le maintien et la répartition du tapis végétal. L'altitude, la longitude et la latitude sont les principaux gradients définissant la variation de la pluviométrie. En effet, la quantité de pluie diminue du Nord au Sud, de l'Est à l'Ouest et devient importante au niveau des montagnes (Chaâbane, 1993).

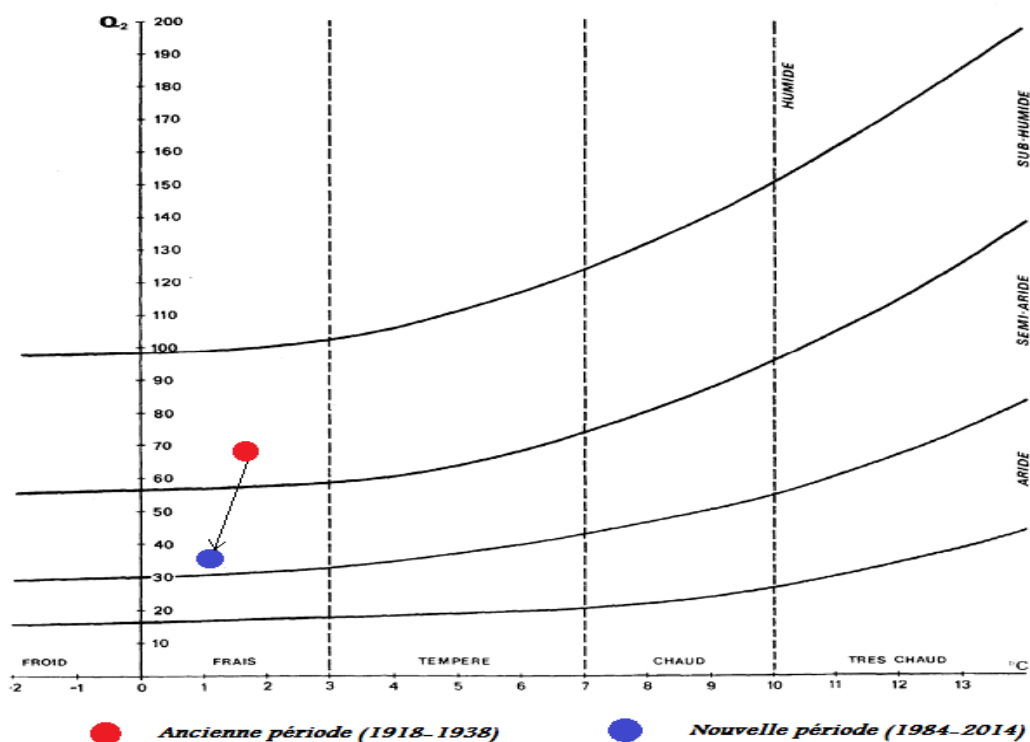


Figure 06: Climagramme pluviométrique d'Emberger (Q2) (1984/2014).

2. La température :

La température est un facteur écologique fondamental et un élément vital pour les formations végétales, le facteur climatique a été défini par Peguy (1970) comme une qualité de l'atmosphère et non une grandeur physique mesurable. L'une de nos préoccupations est de montrer l'importance des fluctuations thermiques dans l'installation et l'adaptation des espèces dans la région. La caractérisation de la température en un lieu donné se fait généralement à partir de la connaissance des variables suivantes : • Température moyenne mensuelle « T ». • Température maximale « M ». • Température minimale « m ».

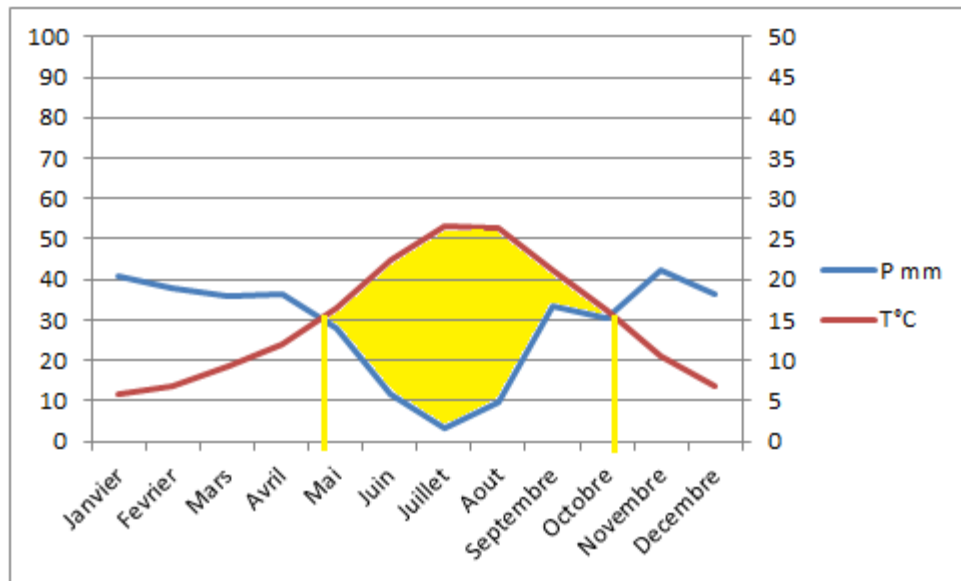


Figure 07 : Diagramme Ombrothermique d'Emberger (**P** : précipitations moyennes mensuelles ; **T** : température moyenne mensuelle.

Selon le diagramme ombrothermique d'Emberger on distingue deux périodes bien à savoir une période humide qui s'étend sur les mois de janvier février mars et avril .suivie d'une période sec qui s'étale de la mi du moi de mai jusqu'à la mi octobre ; suivi d'une période humide qui s'étand sur les mois de novembre et décembre .

CHAPITRE 4 :

Matériels et Méthodes

IV.1. Introduction :

Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Cseke et Kaufman 1999). Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, soit des monoterpènes avec leurs Phénols reliés, et des terpènes plus complexes, dont les sesquiterpenes.

IV.2. Les objectifs :

- valorisation des plantes spontanées a intérêt médicinales.
- l'identification des composés chimiques des huiles essentielles quelques plantes aromatiques et médicinales très utilisées par la population du bassin méditerranéens.
- mise au point de formulation a base d'argile, insecticides d'origine végétale : Bio insecticides

IV.3. Matériel végétal

IV.3.1. Le Romarin : *Rosmarinus officinalis*

Le nom de la plante provient du latin (*Rosmaris*) qui signifie rosée de la mer. C'est une plante spontanée qui pousse sur les côtes méditerranéennes. Les feuilles sont persistantes, enroulées vertes sur la phase supérieure et blanches sur la face inférieure. Elles sont étroites, opposées et épaisses. Les fleurs sont de couleur bleu mauve, sous forme de grappes symétriques, avec un petit calice sous forme de cloche à trois dents ; la corolle est longue, Le fruit est un akène il sent le camphre. Sa tige est lignifiée et appartient à la famille des Lamiacées.

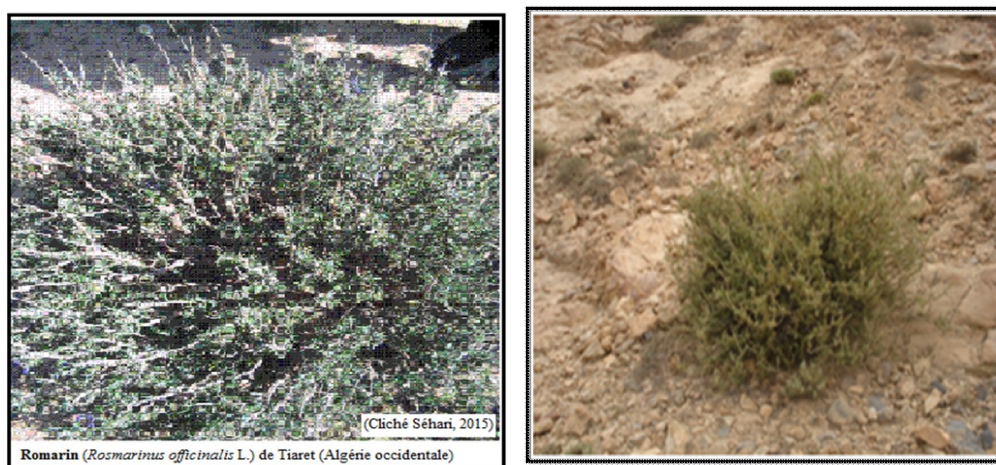


Figure 08 : Photo du Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) de la région de Tiaret (Algérie occidentale)

V.3.2. La menthe pouliot : *Mentha pulegium* L.

C'est une plante glabre de 10-30 cm à inflorescences formées de nombreux verticillastres denses, feuillés, distants et à calice presque bilabié (Quézel et Santa, 1963). La menthe pouliot, également appelée "flio" en Afrique du nord, est une plante herbacée de la famille des Lamiacées. Les feuilles, opposées, petites (0,8-1,3 cm x 5-6 mm), sont ovales ou oblongues presque entières (légèrement dentelées ou crénelées) et munies d'un court pétiole, base arrondie, apex obtus. Les tiges à section carrée, sont plus ou moins dressées, verdâtres ou grisâtres, très ramifiée. Étalées ou couchées, elles émettent très facilement des racines adventives à la face inférieure des nœuds. Elle est connue depuis l'Antiquité comme plante aromatique et médicinale.



Figure 09 : Photo de la Menthe pouliot (*Mentha pulegium* L.) de la région de Tiaret (Algérie occidentale)

IV.4. Matériel animal

La souche de *Sitophilus oryzae* provient de l'Institut Technique des Grandes Cultures I.T.G.C. de Tiaret, l'élevage est conduit dans une étuve obscure réglée à une température de 26°C - 0,5°C, et une humidité relative de 70 ; 5%. 80 adultes sont placés dans des bocaux d'une capacité de 1 litre contenant 250g du blé tendre dont l'ouverture est fermée.

Afin d'éviter le phénomène de surpopulation, nous avons procéder un transfert régulier des adultes dans de nouveaux bocaux, permettant ainsi d'assurer de nouvelles infestations.

Nous avons utilisé, dans nos essais les adultes d'âge connu, pour cela nous avons réalisé des tamisages réguliers pour récupérer des adultes âgés de 14 jours.

La souche de *Tribolium confusum* originaire des stocks de CCLS Tiaret, l'élevage est réalisé dans des bocaux contenant 250g de la farine commerciale. Chaque bocal est infesté par 40 adultes l'ensemble placés dans un étuve avec les mêmes conditions de température et de l'humidité que *Sitophilus oryzae* (L).



Figure 10 : Photos de l'élevage en masse des insectes.

IV.5.Première partie : extraction des huiles essentielle

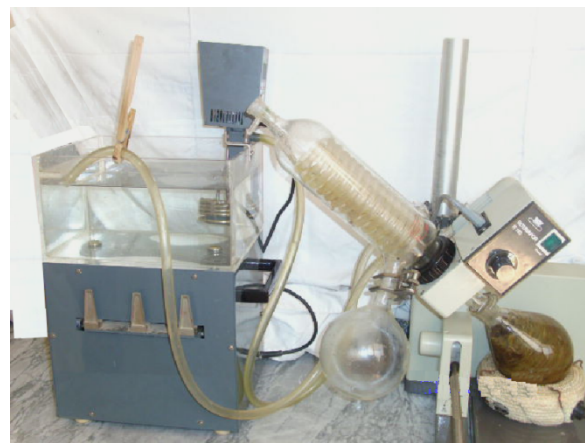
IV.5.1.Extraction des huiles essentielles :

L'extraction a été réalisée au niveau du laboratoire de protection des végétaux de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret. Elle a été effectuée par hydro distillation de la partie aérienne de la plante dans un appareil de distillation.

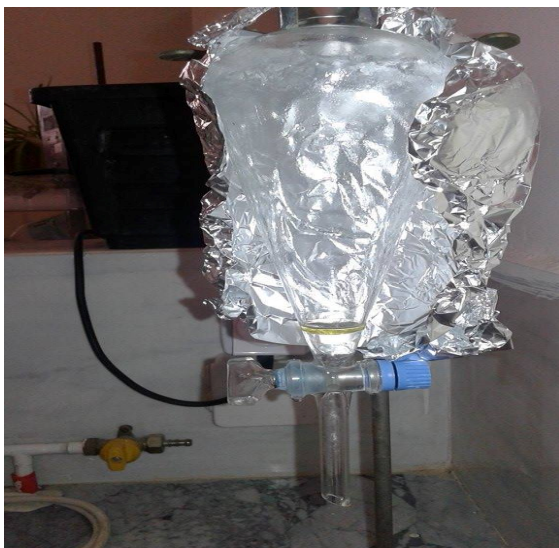
IV.5.2. Mode opératoire :

Dans un ballon, contenant 750 à 950 ml d'eau distillée, on met 100g de la matière végétale lavée et séchée. Le contenu du ballon est porté à ébullition puis est maintenu à 60°C. Les vapeurs chargées des huiles essentielles passe dans le réfrigérant du rota-vapeur et se condensent dans un ballon de recueil. On obtient ainsi deux phases bien distinctes où l'huile surnage l'eau. Cette solution est décantée dans une ampoule à décomptée où les deux phases se séparent suite à la différence de densité (figure 10).

Les huiles essentielles obtenues après décantations sont conservées dans des tubes à essai entourées de papier aluminium pour les protéger contre la lumière et tenu frais à une température de 4°C.



(a)



(b)



(c)

Figure 11 : Photos du dispositif expérimentale de l'extraction de l'huile essentielle (originale 2015). (a) montage d'hydrodistillation (b) ampoule a décantée (c) tube contenant huile essentielle.

a)- Calcul du rendement :

Les huiles essentielles obtenues après décantations sont conservées dans des tubes à essai entourées de papier aluminium pour les protéger contre la lumière et tenu frais à une température de 4°C.

Le rendement (**Rd %**) en huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle (**m₁**) et la masse du matériel végétal (**m₀**) ayant servi à l'extraction.

$$\text{Rd\%} = \frac{m_1 \cdot 100}{m_0}$$

b)- Analyses physico-chimiques de l'huile essentielle

Les analyses physico-chimiques de l'huile essentielle des deux espèces végétales ont porté sur les paramètres suivants :

- pH
- Indice de réfraction
- Densité
- Indice d'acide

La composition chimique des huiles est déterminée par la technique de Chromatographie en Phase Gazeuse (Arpino et *al.*, 1995) couplée à un Spectromètre de Masse (CPG/MS) sous les conditions opératoires suivantes :

- L'analyse est effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse de type Shimadza équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et muni d'une colonne capillaire en silice fondue de type QP2010C25 FS-OV1701 de 25 cm de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 μ m d'épaisseur de film.

La température de la colonne est programmée de 60 à 220 °C à raison de 3°C/min.

La température de l'injecteur est fixée à 240 °C et celle de détecteur (FID) à 250 °C.

Le débit du gaz vecteur (Helium) est fixé à 1.5ml/min.

Le volume de l'échantillon injecté est de 0,1 μ l de l'huile essentielle pure. Un échantillon de chaque huile essentielle est analysé pour déterminer sa composition chimique.



Figure 12 : Photo du dispositif de chromatographie (original 2015).

IV.6. Deuxième parties : Test d'efficacité des huiles essentielles:**IV.6.1. Test antifongique :****a)-Les souches fongiques :**

Les souches utilisées dans cette étude appartiennent à deux genres de moisissures: *Aspergillus* (*Aspergillus niger* et *aspergillus flavius*) et *Penicillium* (*Penicillium sp*). Ces souches proviennent du laboratoire de mycologie de l'université de Badjy mokhtar de Anaba . Les souches ont été reçues dans des tubes à gélose inclinée puis conservées à une température de 4°C.

b)-Test in vitro de l'activité antifongique

Les spores des jeunes cultures (cultures de 3 jours) de chaque souche sont récupérées par un lavage des boîtes de Pétri, avec un volume de 5 ml de l'eau physiologique stérile, à partir de cette suspension, qui est considérée comme suspension mère, on prépare les différentes dilutions dans des tubes à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile.

Après une bonne agitation de chaque tube, pour avoir une répartition homogène des spores dans l'eau physiologique, on procède à un comptage des spores à l'aide d'une cellule de Mallassez et le microscope optique et à une évaluation de la densité optique (DO) de la suspension fongique à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 630 nm dans le but de standardiser la suspension de spores à 10⁷ spores/ml. On estime qu'une DO de 0,04 correspond à une concentration de 10⁷ spores/ml.

L'aromatogramme est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance réputée antimicrobienne, dans notre cas c'est la détermination de la sensibilité des souches fongiques (*Penicillium sp* et *Aspergillus niger*, *aspergillus flavius*) vis-à-vis d'huiles essentielles (*mentha pulgium* et *rosmarinus officinalis*).

Cet examen se fait de même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par les substances à tester. Cette méthode, repose sur le pouvoir migratoire de ces substances sur milieu gélosé solide (Gélose sabouro).

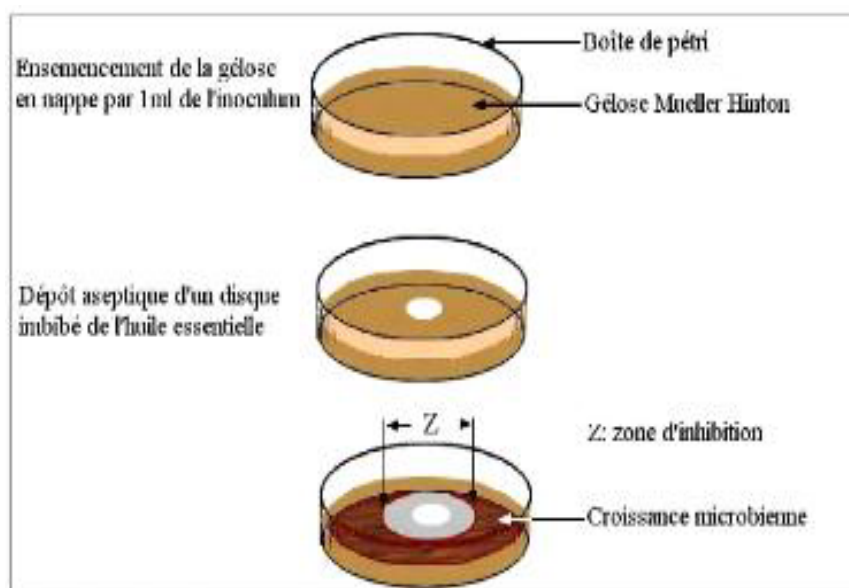


Figure 13 : schéma descriptive d'un aromatochrome.

On ensemence des boîtes de Pétri contenant le milieu gélosé sabouraud additionné d'oxytétracycline, par *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* et *Penicillium sp.* On les incube à 30°C pendant 3 jours; puis on prépare à partir de chaque boîte une dilution contenant 107 spores/ml.

On ensemence des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre, contenant le milieu gélosé sabouraud et d'oxytétracycline à partir des suspensions contenant 107 spores /ml (l'ensemencement est fait par l'étalement de 100 µl de cette suspension dans chaque boîte), puis on les incube à 30 °C pendant 15 à 20 minutes.

Des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre sont stérilisés puis déposés sur la gélose séchée inoculée au préalable avec les suspensions fongiques, en suite ces disques sont chargés des volumes croissants de chaque huile (10 ;15 ;20 et 30µl) à l'aide d'une micropipette.

Les boîtes de Pétri sont placées au réfrigérateur, couvercles renversées, à 4°C pendant 2 heures, avant de les incuber à 30°C pendant 3 jours.

Après l'incubation, la lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions, à l'aide d'un pied à coulisse (résultats exprimés en mm). En tenant compte de la croissance du témoin on calcule l'indice antifongique (pourcentage d'inhibition) qui est donnée par la formule :

Indice antifongique ($1 - D_a/D_b$)x100 , (WANG et al,2005). avec :

Da : le diamètre de la zone de croissance de l'essai

Db : le diamètre de la zone de croissance du témoin.

- Le calcul du diamètre est réalisée par un pied à coulisse digitale de marque **mututoyo**.

Pour chaque concentration ,3 répétition sont réalisés (fig13).



Figure 14 : photographie du test antifongique (*penicilium sp*).original 2015

IV.7.3. Test insecticides :

1. Tests biologiques

a)-Traitements par ingestion :

Dispositif expérimental

Nous introduisons dans des boîtes de pétri, de 9cm de diamètre et de 2cm de hauteur, 20g de graines de blé dur variété (hedba) saine (fig 08).

Les graines sont ensuite incorporées avec l'une des deux huiles essentielles, à différentes doses (5, 10, 15, 20 μ l).

Après avoir bien mélangé l'huile essentielle avec les graines saines, 10 individus (mâle, femelle) de *Tribolium castenum* et de *sytophylus oriza* âgées de 24 à 48h sont introduits dans les boîtes de pétri. Ces dernières sont mises ensuite dans une étuve contrôlée (28 \pm 2C et 70 \pm 5% d'humidité relative).

Cinq répétitions ont été réalisées pour chaque huile essentielle, et pour chaque dose, chaque insecte, ainsi que pour les lots témoins (graines non traitées).



Figure 15 : photographie des tests par contact ingestion

b)-Paramètres biologiques étudiés :

La longévité des adultes :

Les individus morts sont dénombrés dans chaque boîte pétrie régulièrement du début des essais jusqu'à la mort de la totalité des adultes.

La longévité de larve du stade L3

Des larves du stade L2 sont prélevée et introduit dans des boites de pétri.les larve mort sont dénombrées dans chaque boite pétrie régulièrement du début des essais jusqu'à la mort de la totalité des larves.

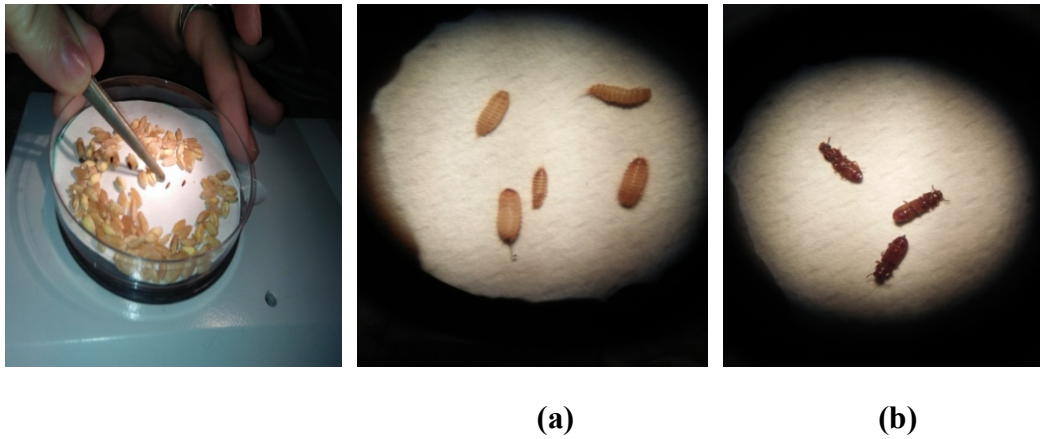


Fig16: Application d'HE de *menthe pouliot* par ingestion sur larves et adultes de *Tribolium* et comptages des individus morts:(a) les larves et (b) les adultes(originale2015).

c)-Paramètres agronomiques

Faculté germinative des graines

Pour évaluer l'effet des huiles essentielles sur la germination des graines du blé dur , un test de germination a été réalisé comme suit :

Nous prélevons 20graines de chaque lot utilisé dans les différents tests elles sont ensuite mises a germiner.

Après 5 jours, les graines ayant germé dans les lots témoins et les lots testés sont dénombrés.

Le taux de germination est calculé comme suite :

$$\text{Taux de germination(\%)} = (\text{nombre de graines germées}/20) * 100.$$



Figure17: photographie des testes de germination sur les graines traitées avec les huiles essentielles (original2015).

b)-Test d'inhalation

Test d'inhalation sur la longévité des adultes

Ce test consiste à étudier l'effet des deux huiles sur le taux de mortalité des adultes de *Tribolium castenum* et *SitOphylus orizae* par inhalation.

Quatre solutions de chacune des huiles essentielles (2.46, 4.92, 9.85, 19,7 ul/ml d'acétone) ont été préparées en diluant des quantités connues d'huile dans l'acétone.

Une solution de chaque produit avec la dose $D=0.4 \text{ ul/cm}^2$ (qui est une quantité suffisante pour saturer une atmosphère de 44 cm^3 de volume c'est-à-dire une concentration de $9.10^{-3} \text{ ul/cm}^3$).

Dans des bocaux en verre d'un litre de volume, une dose d'huile est déposée sur du coton suspendu à l'aide d'un fil à la face interne du couvercle (fig11).

Dix couples des deux insectes (male et femelle) sont introduits dans chaque bocal qui est fermé d'une façon hermétique.

Pour l'ensemble des essais, cinq répétitions ont été réalisées pour chaque dose (), et chaque temps d'exposition (24,48,72,96heures), parallèlement un témoin a été réalisé (coton sans huile essentielle).

Les individus morts sont retirés des bocaux et mis dans des boites de pétri pendant 24heures. Nous procédons ensuite à une observation sous une loupe binoculaire au grossissement 40pour le dénombrement des individus mortes.



Figure18 : L'application d'HE par inhalation sur les larves et les adultes des insectes a différentes doses.(original2015).

IV.8 -Troisième partie : La formulation poudreuse a base d'huiles essentielles.

Introduction :

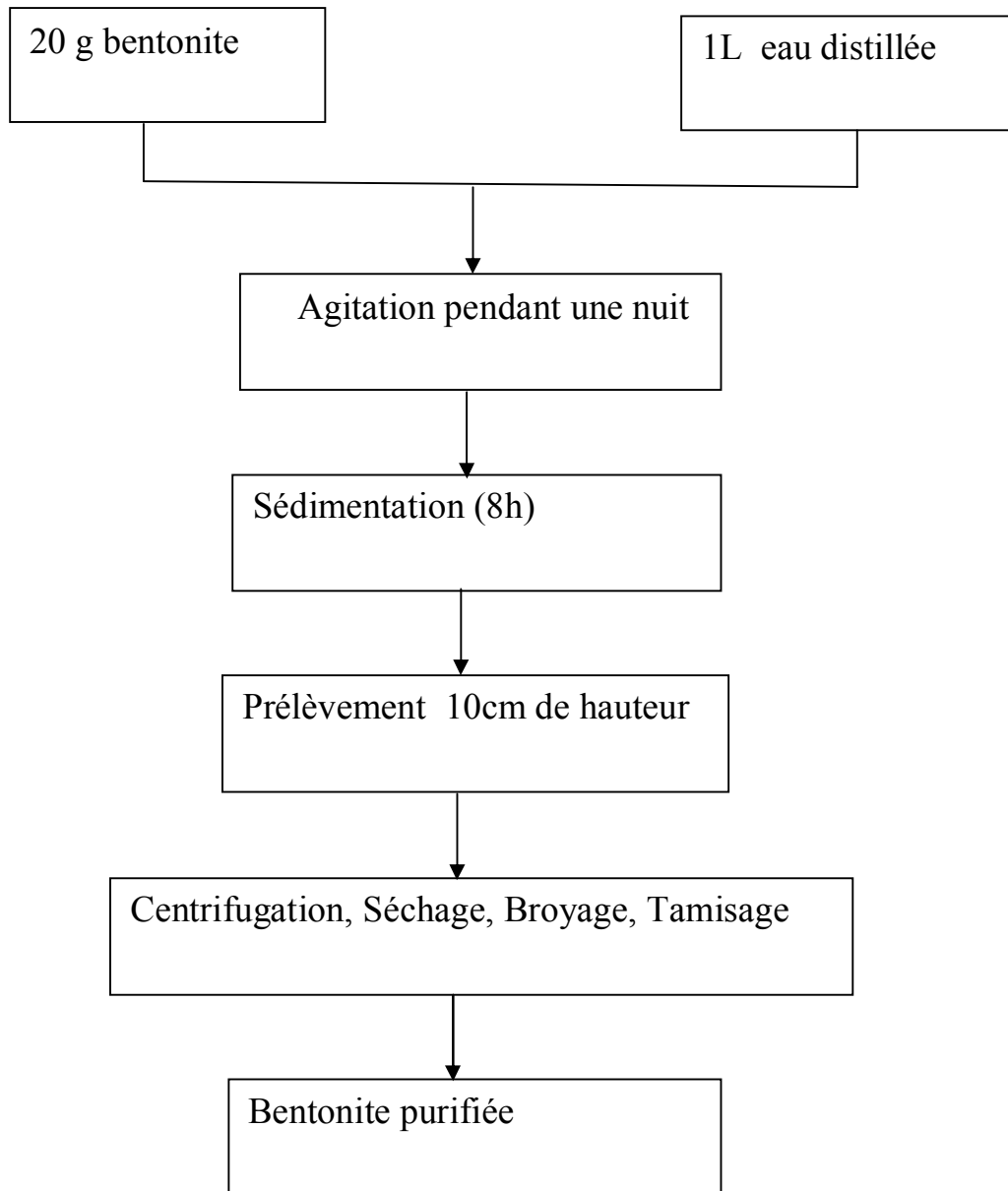
Les huiles essentielles sont très volatiles ce qui pose un problème de

Conservation et de rémanence. Pour pallier à ces problèmes, les travaux de Sékou Moussa *et al.* (2000) se sont intéressés à l'utilisation de l'argile à fort pouvoir adsorbant comme support pour les huiles essentielles.

L'utilisation d'une poudre d'argile aromatisée a l'huile essentielle présente ainsi un double avantage du aux effets combines de l'argile et de l'huile essentielle ; car l'argile brute présente des propriétés insecticides. (Regnault-Roger, 2002 ; Nguemtchouin *et al.*, 2010).

L'objectif étant la régulation de la volatilisation des composés terpéniques insecticides et non leur emprisonnement total afin d'augmenter leur dure d'activité.et de préparer une formulation poudreuse a base d'huiles essentielles et d'argiles naturelles. .

L'objectif de cette partie du travail est donc d'étudier l'activité insecticide des Formulations a base d'argiles et d'huiles essentielles sur les insectes étudiées.

IV.8.1. Purification de la bentonite :**a)- Purification de la bentonite :****Protocole de la purification :****Figure 19 :** Protocole de purification de bentonite.

B. calcul du rapport Solide-Liquide :

Le rapport solide- liquide est la concentration du solide dans un volume donné. A partir de la formule suivante :

$$R(S/L)=m /V$$

R(S/L) = rapport solide liquide ; m =la masse ;V= le volume

L'objectif est de préparer une formulation poudreuse a base d'huiles essentielles et d'argiles purifié a 10% de matière active.

La matière active dans le cas présent est constituée de composés terpéniques contenus dans l'huile essentielle. Pour ce faire, la formulation doit être obtenue suivant le rapport :

avec : $M_{he}/M_{argile}=0.1$.

MHE : masse d'huile essentielle,

M.argile : masse d'argile

Sachant que la masse volumique de l'huile essentielle du romarin est de 1,1 g/cm³ et celle de la menthe pouliot de 0,91 g/cm³.

Pour une masse de formulation poudreuse de 10 g, on introduit dans un cristalliseur 10ml d'acetone au quel on ajoute la quantité appropriée (1,1 mL pour la romarin et 0.91 ml pour la menthe) d'huile essentielle ensuite 10g d'argile.

Au terme de cette évaporation l'on obtient une poudre aromatisée d'huile essentielle.

La poudre aromatisée est conservée dans des flacons hermétiquement fermés.

c)-Recherche de la masse efficace

L'étude de la toxicité aigüe a été effectuée sur 5 jours par contact-ingestion selon la méthode Nguemtchouin *et al.*, (2012). Les tests se sont déroulés à température ambiante dans les boîtes pétri de 9cm de diamètre et 2cm de hauteur .

Dans ce test, l'insecte meurt par intoxication alimentaire, par inhalation et contact .Le but ici est de déterminer la masse de formulation poudreuse pouvant entraîner un taux de mortalité égale à 100%.

Dans des boîtes Pétri contenant chacune 20 g de blé dur (hedba) l'on y a ajouté des masses croissantes de formulation poudreuse (0,50 ; 0,75 ; 1,00 ; 1,25 ; 1,50 ; 1,75 ; 2,00 g),

et 20 insectes préalablement mis à jeun pendant 48 h. Ensuite ces boîtes ont été recouvertes de tissus de toile maintenus à l'aide d'un fil et après 5 jours, les mortalités ont été relevées.

d)-Etude de la stabilité

Il s'agit d'évaluer la durée de l'activité insecticide des deux huiles essentielles dans les formulations suivant les conditions de conservation.

Pour chaque huile essentielle, 40 boîtes en plexiglas reçoivent chacune 1 g de formulation qui sont ensuite séparés en deux lots : dans le premier les boîtes sont fermées et dans le second elles sont semi ouvertes (recouvertes d'une gaze de soie) et conservées à température ambiante.

Le premier jour, 20 g de blé sont ajoutés dans 8 boîtes contenant des Poudres insecticides (4 boîtes fermées et 4 boîtes ouvertes). Le blé dur est ensuite Infesté de 20 insectes préalablement affamés pendant 48 h. La mortalité est Dénombrée après 5 jours. Ces tests sont répétés après 7, 14, 21 et 30 jours.

Au cours de cette étude, l'argile exempte d'huile essentielle est utilisée comme référence zéro.

IV. 9. Expression des résultats

L'efficacité d'un produit est évaluée par la mortalité. Le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tué par ce toxique.

Il existe, en fait dans toute population traitée une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par ce toxique, les pourcentages de mortalité doivent être corrigés par la formule d'Abbott :

$$MC\% = (M - Mt * 100) / (100 - Mt)$$

MC: la mortalité corrigée

M: pourcentage de morts dans la population traitée

Mt: pourcentage de morts dans la population témoin

a)-Calcul des doses létales

L'efficacité d'un toxique se mesure par sa DL_{50} DL_{90} qui représente les quantités de substance toxique entraînant la mort de 50% et 90% d'individus d'un même lot

respectivement. Elles sont déduites à partir du tracé des droites de régression. Pour cela, les pourcentages de mortalité corrigés sont transformés en probits .

b)-Analyse statistique

Pour estimer les effets insecticides des huiles essentielles, une analyse de la variance (ANOVA) avec deux critères de classification a été effectuée avec le nombre d'insectes morts en fonction des concentrations et du temps à l'aide du logiciel Statistica version 6.0.

CHAPITRE 5 :

Résultats et Discussions

PREMIERE PARTIE :

V-1.1 : Résultats des rendements en huiles essentielles :

Les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Mentha pulegium* sont extraites par la technique d'hydrodistillation ; les rendements obtenus sont illustrés dans la figure 11.

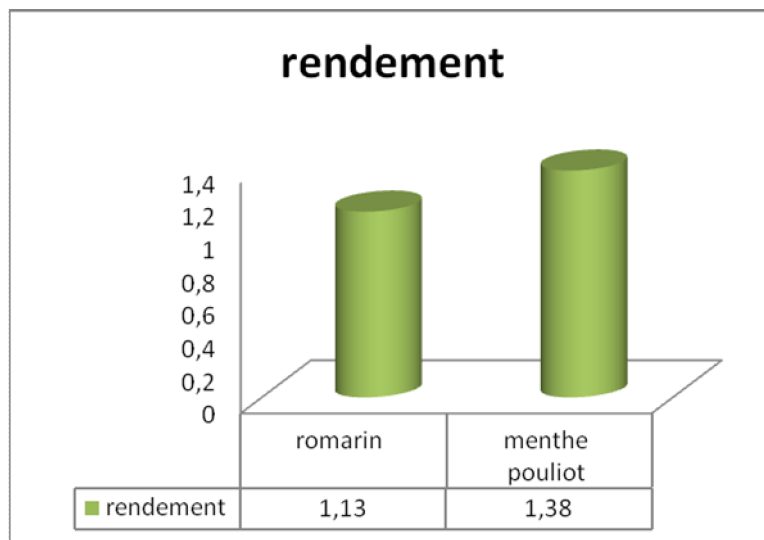


Figure 20: histogramme descriptive du rendement en HE des deux plantes étudiées.

Comme noté dans la partie bibliographique les rendements en huiles essentielles varient légèrement d'une plante à une autre comme il est indiqué dans la figure 11 . Celui de la menthe pouliot est de 1.38% alors que le romarin n'enregistre que 1.13%.

Ces résultats sont conformes avec les normes AFNOR2001 où le rendement en huiles essentielles du romarin est compris entre 0,5 et 2%, tandis que celui de la menthe pouliot varie entre 0.4 et 2.2%. Ces différences sont dues essentiellement aux facteurs du biotope et les conditions d'extraction des huiles essentielles.

Les résultats obtenus sont légèrement supérieurs à ceux indiqués dans la littérature scientifique. Les travaux de Djeddi *et al.* (2007) indiquaient un rendement de 0.82% pour le romarin dans la région d'Alger ; celui de Tlemcen est de 0,6%. Atik Bekkara *et al.* (2007) ont mentionné que le rendement ne dépasse pas 0.36% dans la région de Ain Defla. Enfin Ouibrahim (2014) a indiqué que le rendement en huile essentielle du romarin de la région d'El kala ne dépasse pas 0.6%.

Concernant le rendement de l'essence volatile de la menthe pouliot Benayad. (2008) a relevé un rendement de 1.72% au Maroc.

a)-Propriété physico-chimique des huiles essentielles :

Les mesures de densité effectuées à 20°C des plantes étudiées se situent dans un intervalle très étroit pour l'huile essentielle du romarin (tableau 04). La densité est faible puisque l'huile essentielle contient plus de mono terpènes (Zabeirou et Hachimou ,2005) et un pH acide (BELLKHDAR ,1997). L'indice de réfraction, de 1,4026, est légèrement élevé par rapport à la valeur d'AFNOR.

Tableau 03 : Les valeurs expérimentales des paramètres physico-chimiques

Propriétés	Romarin		Menthe pouliot	
	Résultats obtenus	Norme AFNOR	Résultats obtenus	Norme AFNOR
Rendement	1.13	0.5-2	1.38	0.4 – 2.2
Densité (g/cm)	0.9115	0.905-0.921	0.923	0.905 - 0.950
pH	6.05	6 – 7	6.21	5.5 – 7
Indice de réfraction	1.4026	1.3356-1.350	1.5031	1.491/1.510
Indice d'acidité	1.832	0.5 – 2.01	1.7982	

La densité de la menthe pouliot est supérieure à celle du romarin ; cela est due à la différence dans la composition chimique des huiles essentielles des deux plantes étudiées. Les valeurs enregistrées se situent dans l'intervalle de conformité des huiles essentielles répondant aux normes d'AFNOR (1999).

Les propriétés physico-chimiques tels que : le pouvoir rotatoire, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice d'ester, constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle (Afssaps, 2008).

Les caractéristiques physico-chimiques d'huile essentielle analysée ont été déterminées selon les normes de l'association française de normalisation (Afnor, 2001).

Un indice d'acide inférieur à deux, est une preuve de bonne conservation de l'huile. En effet, une huile fraîche ne contient que très peu d'acides libres. C'est pendant la période de stockage que l'huile peut subir des dégradations telle l'hydrolyse des esters. Lazouni et al., (2007) ont constaté des variations des indices d'acide et d'ester au cours du temps et en fonction de la température.

V.1.2 Résultats de l'analyse chromatographique :

Les résultats de l'analyse chimique, par CPG/SM des huiles essentielles des deux plantes étudiées de la région de TIARET, sont reportés dans les tableaux 05 et 06.

Tableau 05 : Composition de l'huile essentielle de la menthe pouliot
(TR : temps de rétention)

Composé	TR (min)	Pourcentage (%)
a-pinene	5,59	3,76
Limonene	5.82	2.32
Linalool	5.96	06,24
Menthone	6,33	12.72
β -pinène	6,33	7,62
D-limonène	6.67	0.32
frenchene	7.29	1.32
Eucaliptol	7.82	6.26
cis-thujone	8.68	0.23
Menthone	9.34	1.32
menthole	10.47	2.35
Verbenone	12.35	3.11
β -Myrcène	13,9	0,25
Camphre	15.70	2.28
trans-pulugol	16.08	1.31
Pulegone	16.08	42.32
Piperitone	17.03	03.32
Inconnu	11,76	0.34
Inconnu	11,92	0.22
Carvone	12,43	1.19
Caryophyllène	13,45	0.32
Inconnu	13,64	0.65
		97.96

L'analyse a révélé la présence de dix-neuf (19) composées pour la menthe pouliot dont le pulégone est le composé majoritaire avec 42.32% (figure 05). Le reste est constitué de mono terpènes et de sesquiterpènes. On note la présence d'eucalyptol avec environ 6.26%, du menthone avec un pourcentage de 1.32% et du menthol avec un taux de 2.35% qui est un taux

intéressant puisque ce dernier est très demandé dans l'aromatisation des produits alimentaires (Clark *et al.*, 1998).

On signale que la pulegone peut être transformée en menthol par hémisynthèse (Ismalli-Alaoui *et al.*, 1997). D'autres constituants sont présents en faible teneur : comme Verbenone (3.11%), carvone (0.32) et caryophyllène (0.65%).

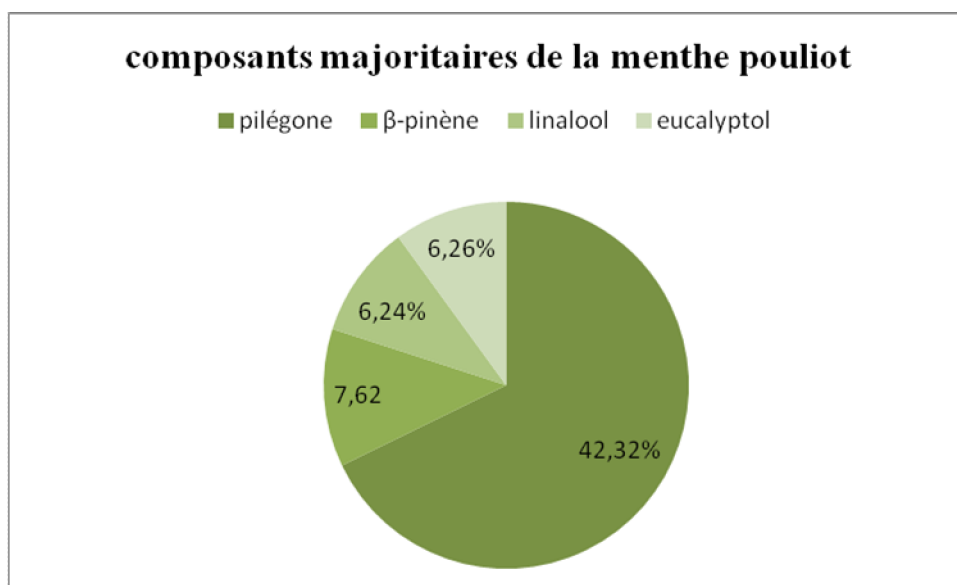


Figure 21 : composants majoritaire de la menthe pouliot.

Les résultats de l'analyse chromatographique concordent avec ceux de la bibliographie qui confirme à chaque fois que le composé majoritaire de la menthe pouliot est la pulegone avec des pourcentages différents. En effet, Chebli *et al* (2003) ont mentionné l'existence de 11 constituants dans la pulegone à 85% pour l'espèce marocaine ; alors que Aghel *et al* (2004) ont confirmé pour l'analyse des extraits de la plante cible de l'Iran qu'elle renferme 22 constituants dont la pulegone à 37.8% suivi de la menthone d'une teneur égale à 20.3%.

Les variations signalées seraient dues aux facteurs extrinsèques : climat, situation géographique, période de récolte et à ceux intrinsèques liés à la plante elle-même, ainsi qu'aux procédés d'extraction, le mode de séchage et la cueillette.

Tableau 05 : Composition chimique de l'Huile essentielle du romarin
(TR : temps de rétention)

Composé	TR (min)	Pourcentage (%)
a-pinene	4,59	4.24
β -Myrcenol	4.65	1.32
1,8-cinéole	5.20	<u>27.32</u>
Limonene	5.82	0.31
Linalool	5.96	1.32
Menthone	6,33	2.32
D-limonène	6,67	6.05
frenchene	7.29	6.1
Eucaliptol	7.82	1.89
Iso pinocarveol	7.98	0.96
6-cis-Verbenol	8.23	6.82
Menthol	10.47	1.03
1,6-Dihydrocarveol	11.46	5.65
Inconnu	11.59	0.18
Inconnu	11.76	0.9
Inconnu	11.92	0.30
Carvone	12.43	0.58
Géraniol	12.58	8.32
Caryophyllène	13.45	0.89
Bornéol	13.64	2.36
β -Myrcène	13,9	0.23
α -terpineol	14.86	2.09
Camphène	15.70	15.6
Delta-3-carene	16.08	0.35
Camphre	17.36	3.26
p-cymène	33.03	0.35
		T=98.51

Les résultats de l'analyse chimique ont révélé la présence de 23 composants avec un pourcentage de 98.51% dans les composants majoritaires sont :1,8 cinéole, camphène, géraniol avec 27.32% 15.6% 8.32% respectivement (figure 06).

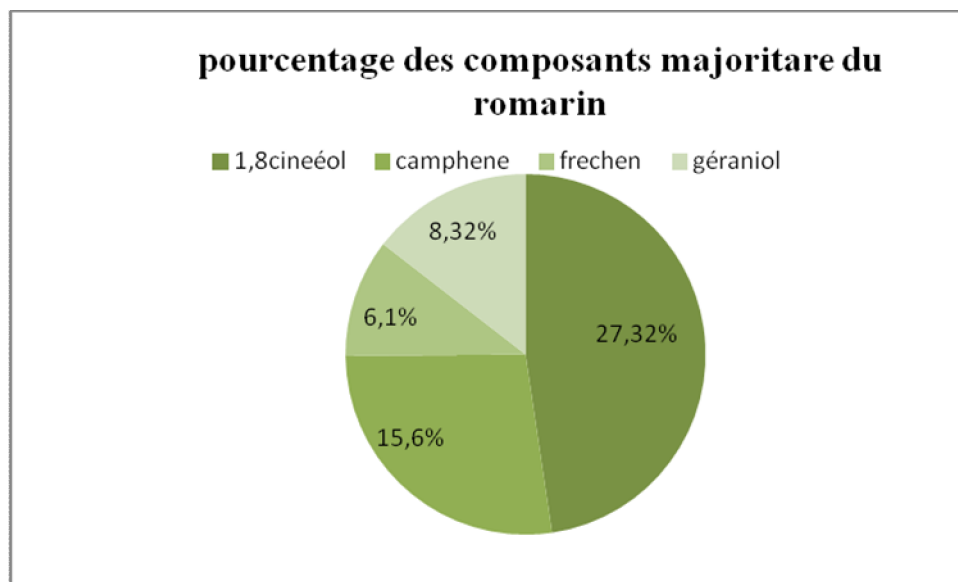


Figure 22: Pourcentage des composants majoritaire du romarin

D'autres constituants sont présents en faible teneur dont le camphre 3.26% et le bornéol 2.36%.

Lograda *et al.*, (2013) ont cité l'existence de cinq chémotypes d'HE du romarin en Algérie dans des études antérieures d'où la différence dans la composition chimique du romarin d'une région à une autre en Algérie. Le notre est du type 1,8 céniole-camphène puisque ces deux composés sont majoritaires.

Atik Bekkara *et al.* (2007) ont mentionné dans une étude comparative entre le romarin spontané et cultivé dans la région de Tlemcen l'existence d'une différence dans la composition chimique de ce dernier. En effet, l'HE du romarin spontané de la région de Tlemcen est caractérisé par la présence de α -pinène (23,1%) suivi de camphène (15,3%), par contre celle du romarin cultivé est riche en camphène (13,8%) et α -pinène (12,6%).

Les recherche de Oubrahim (2014) ont révélé que le romarin de la région d'El kala est du type Bornéol/ I-Verbenone car ces deux molécules sont majoritaires dans l'HE.

D'autre part, l'essence volatile d'Alger possède le 1,8 cinéole (52,4%) comme constituant majoritaire (Boutekdjiret *et al.*, 1998), de même que celle d'Oeud Souf qui est

caractérisée par le 1,8 cinéole (29,5%) comme composant principal suivi de 2-éthyl-4,5-diméthylphénol (12,0%), du camphre (11,5%) et le bornéol (9,4%) (Touafek *et al.*, 2004).

Benhabiles et Aït Ammar (2001) ont étudié les HEs de deux espèces de romarin provenant de l'Est Algérien ; dans cette région *Rosmarinus officinalis* s'est avéré du type β -Caryophyllène (13,9 %), camphre (12,1 %) et bornéol (10,1 %).

DEUXIEME PARTIE : résultats des testes insecticides

V-2-1. Évaluation de la toxicité des huiles essentielles par contact direct

a)-Sur *Sitophilus oryzae* :

D'après les résultats obtenus le taux de mortalité des adultes de *Sitophilus oryzae* est proportionnel à la dose des huiles essentielles testées. Les essences étudiées réduisent de façon hautement significatif ($P=0.0000$) la durée de vie des adultes lorsque la dose augmente de $5\mu\text{l}$ à $20\mu\text{l}/20\text{g}$ de graine (figure 14).

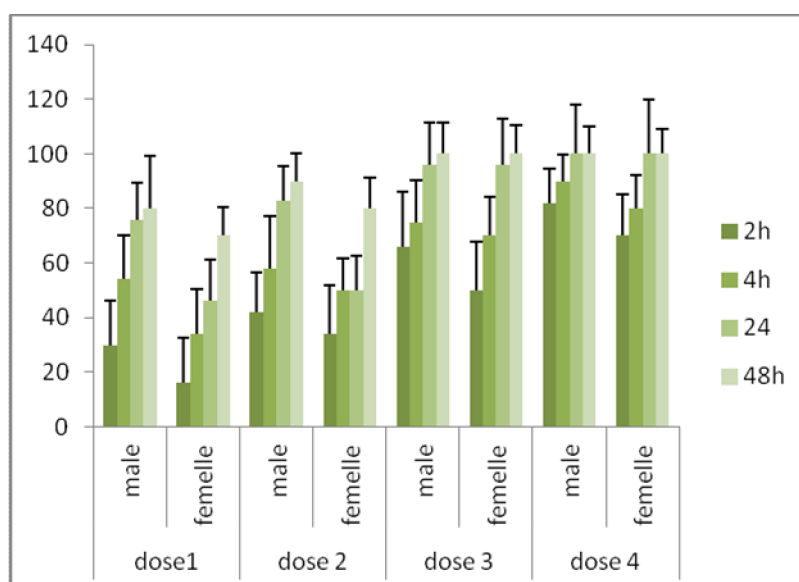


Figure 23: taux de mortalité cumulée des adultes de *Sitophilus oryzae* en fonction du temps d'exposition et de la dose en présence de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*

Les résultats des tests insecticides de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* et de *Rosmarinus officinalis* ont montré une activité insecticide très importante. Le degré d'activité de ces huiles varie en fonction du sexe, de la dose utilisée et de la durée du traitement.

A la dose $5\mu\text{l}$ le taux de mortalité est faible pour les deux plantes testées. Après un contact de quarante-huit heures (Fig22), l'adulte de *Sitophilus oryzae* est totalement mis à mort par toutes les doses testées.

L'examen des figures (22 et 23) permet également de constater une variabilité du taux de mortalité. En effet l'huile essentielle du romarin est plus toxique où elle a provoqué $83\% \pm 8.41$ de mortalité pour les mâles et $50\% \pm 11,48$ pour les femelles à la plus faible dose testée après 24h de traitement. Ce taux est fluctuant pour les deux sexes à la dose de $20\mu\text{l}$.

L'essence du romarin est plus efficace que celui de la menthe pouliot quel que soit le sexe du charançon. Elle a provoqué un taux de mortalité de $38\% \pm 11.13$ chez les mâles et $26\% \pm 18.24$ chez les femelles à la plus faible dose ($5\mu\text{l}$) pendant seulement deux heures d'exposition. Le taux de mortalité de 100%, pour les deux sexes, est atteint après 48h.

- **Cas des mâles :**

A la dose $5\mu\text{l}$, on enregistre un taux de mortalité de 30% après deux heures du traitement avec l'huile essentielle de la menthe pouliot et $40\% \pm 11.36$ pour l'essence du romarin. Ce taux augmente progressivement avec le temps pour atteindre les 100% pour les deux huiles après quarante-huit heures du traitement. Ce qui a été confirmée par l'analyse de la variance à deux critères de classification révélant une différence très hautement significative pour le facteur plante ($p < 0.0001$) et une différence significative pour le facteur dose ($p < 0.001$).

La mortalité moyenne exprimée par l'ensemble des mâles à la dose $10\mu\text{l}$ est estimée à $34\% \pm 17.65$ pour le romarin et de $48\% \pm 9.65$ pour la menthe pouliot. La mortalité est plus importante avec le temps, on relève ainsi un taux de 80 % et de 90% respectivement pour les deux plantes étudiées après 24h d'exposition.

La DL50 calculée est de $6.58\mu\text{l}$ pour le romarin et de $7.36\mu\text{l}$ pour la menthe.

- **Cas des femelles :**

L'effet des substances volatiles sur les femelles de *Sitophilus oryzae* est moins remarquable par rapport aux mâles puisqu'à la dose $5\mu\text{l}$ le taux de mortalité progresse de 15% à 40% après 24h d'exposition.

A $15\mu\text{l}$ la mortalité chez la femelle est de 45% à 2h de traitement et elle frôle les 80% après 24h de traitement pour atteindre les 100% après 48h de l'expérimentation (figure 15).

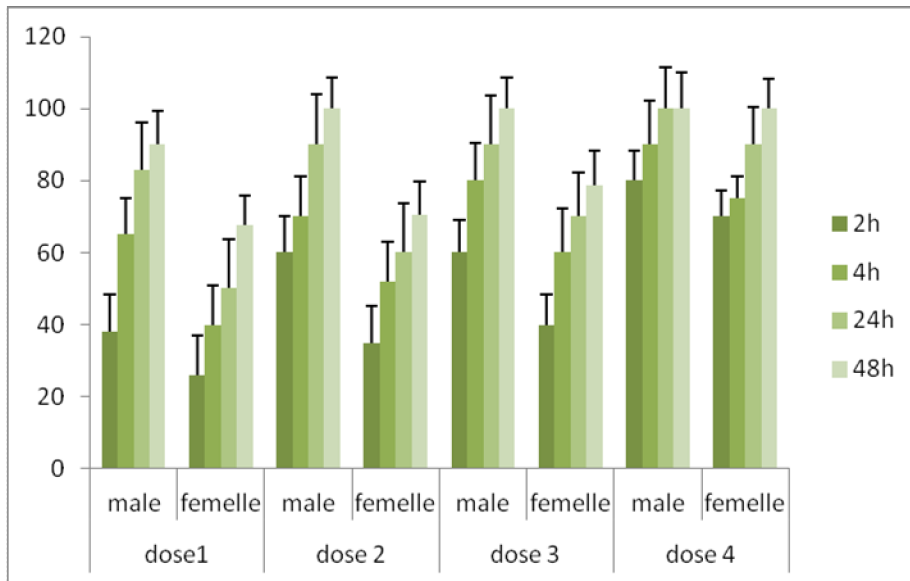


Figure24: taux de mortalité cumulée des adultes de *Sitophilus oryzae* en fonction du temps d'exposition et de la dose en présence de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

- **Sur les stades pré imaginaires (stade L3) :**

Les tests réalisés avec les deux huiles essentielles sur les larves de la L3 (âgées de 14 jours) révèlent qu'elles sont toxiques à la plus faible dose puisqu'elle atteint les 60% pour l'essence du romarin et 36% pour l'essence de la menthe pouliot après seulement 2h de traitement.

La destruction totale des larves à une durée plus courte de vingt quatre heures est remarquée pour les deux huiles comparées à celle des adultes de la même espèce (figure 16).

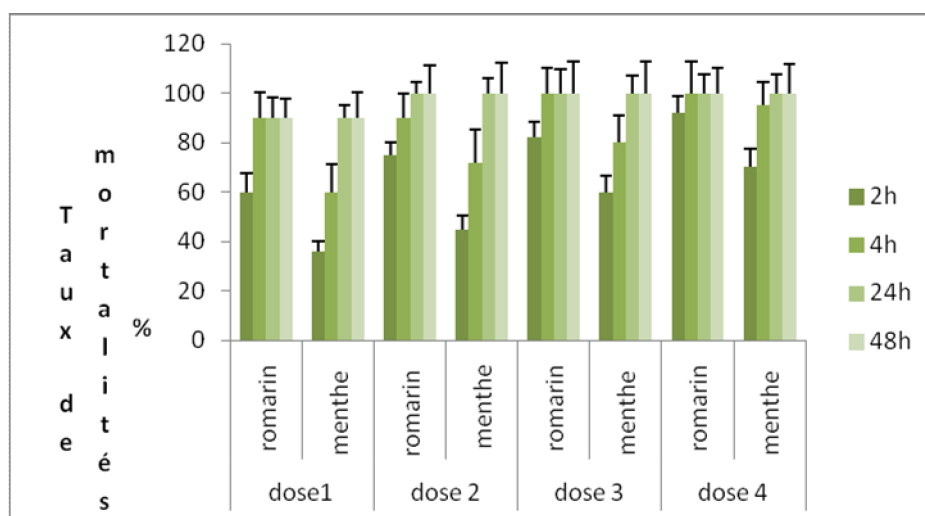


Figure 25 : taux de mortalité cumulée des larves L3 de *Sitophilus oryzae* en fonction du temps d'exposition et de la dose en présence des deux huiles essentielles.

Dans les mêmes conditions expérimentales les deux huiles essentielles ont empêché le développement des larves.

La DL₅₀ et la DL₉₀ sont de l'ordre de 5.86µl et 8.56µl successivement pour le romarin, et de 7.97µl et 10.23µl pour la menthe pouliot.

Tableau 06: Analyse de la variance du taux de mortalité et *Sitophilus oryzae par inhalation*

Source de Variation	DDL	F,obs	P	CV
Plante	4	42.01	0,0005	28.96
Dose	4	121.46	0,0005	
Plante *Dose	16	91.67	0,0001	

L'analyse statistique (tableau 07) confirme nos résultats puisque le coefficient de variation est inférieur à 50 % et (p<0.001).

b)-Sur *Tribolium confusum* :

- **Cas du Romarin :**

L'huile essentielle du romarin s'est montrée efficace contre *T.castenum* à la deuxième dose, En effet au bout de 24 heures elle a eu un effet provoquant 66% de mortalité ; il a atteint 100% après 48h de traitement, à la troisième dose ce taux est estimé à 50% après 24 h, la plus faible dose leur résultats sont très faibles (fig.11).

La DL₅₀ et la DL₉₀, calculées à partir de la droite de régression, sont respectivement de l'ordre de 6.52µl et 10.89µl.

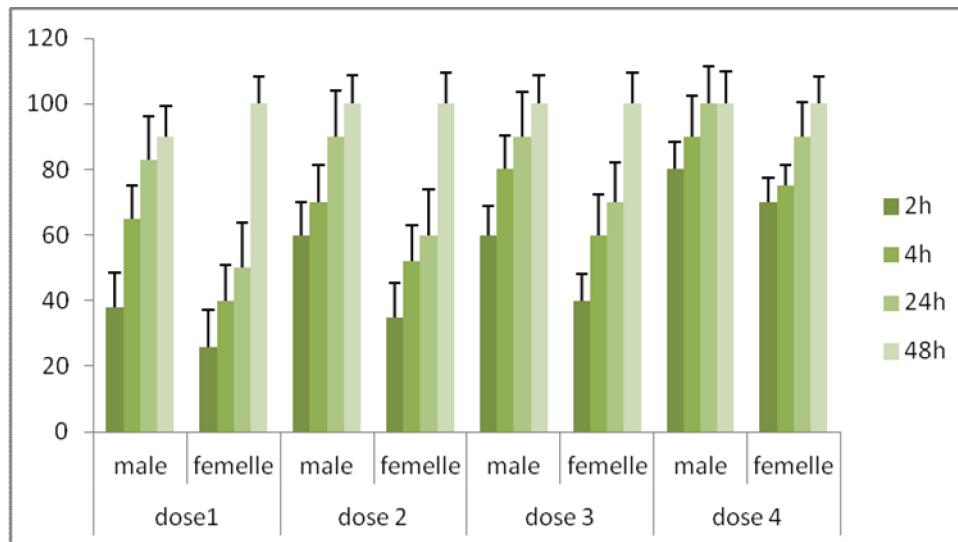


Figure 26 : taux de mortalité cumulée des adultes de *Tribolium castenum* en fonction du temps d'exposition et de la dose en présence de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

L'analyse statistique à deux critères de classification (dose de l'huile et plante) révèle une différence très hautement significative pour le facteur plante ($p < 0.0001$) et une différence significative pour le facteur dose ($p < 0.001$).

- **Cas de la menthe pouliot :**

D'après les résultats mentionnés dans la figure 17, L'huile essentielle de la menthe pouliot ne s'est montrée efficace contre *T. castenum* qu'à partir de la deuxième dose et après 4h de traitement pour les deux sexes étudiés, En effet c'est qu'après 24 heures du traitement qu'elle a eu un effet mortalité qui a atteint les 50%, il a atteint 100% après 48h de traitement, à la troisième dose ce taux dépasse les 75% après 24h, à la plus faible dose leur résultats sont très faibles (fig.17).

La DL50 et la DL90, calculées à partir de fonction de la droite de régression, sont respectivement de 10.06 μ l et 12.68 μ l.

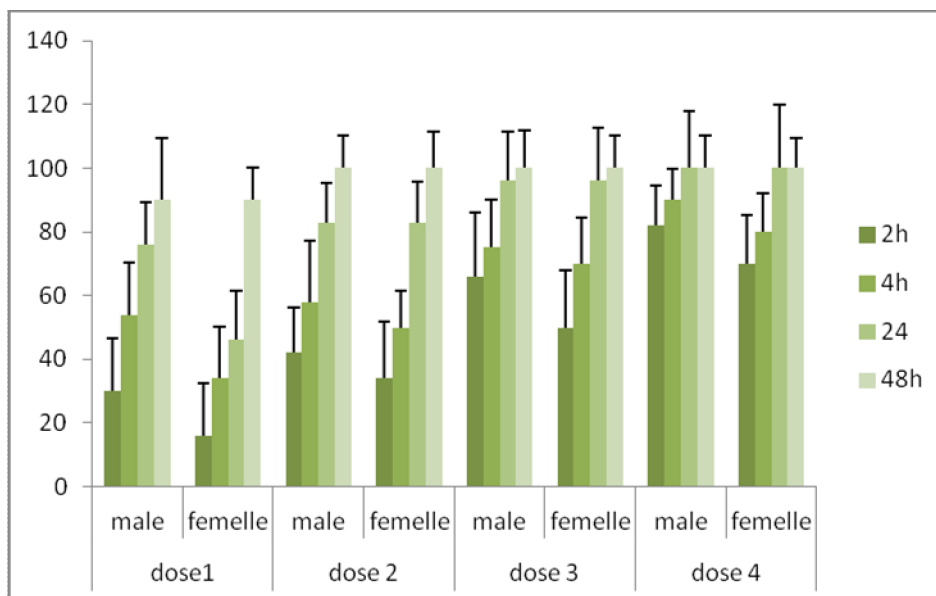


Figure 27 : taux de mortalité cumulée des adultes de *Tribolium castenum* en fonction du temps d'exposition et de la dose en présence de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*.

Tableau 07 : Analyse de la variance du taux de mortalité de *T.castenum* par inhalation

.Source	DDL	F,obs	P	CV
Plante	4	36.01	0,001	18.96
Dose	4	151.46	0,0052	
Plante *Dose	16	141.67	0,0021	

L'analyse statistique a révélé une variation hautement significative (tableau 08) avec deux critères de classification. Le coefficient de variation est inférieur à 50 % et $P < 0.005$.

V-2-2 : Évaluation de la toxicité des huiles essentielles par inhalation

a)- Sur *Sitophilus oryzae*.

- **Cas du romarin :**

D'après les résultats mentionnés (figure 19), l'huile essentielle du romarin s'est révélée toxique contre les deux sexes de *S.oryzae* à la dose D2 $0,2 \mu\text{l}/\text{cm}^3$. En effet le taux de mortalité est de $50,68\% \pm 2.61$ après seulement 4h d'exposition pour les mâles alors qu'il avoisine les $32.59\% \pm 12.16$. Ce dernier a augmenté pour atteindre $90,41\% \pm 2.52$ à la dose $0,4 \mu\text{l}/\text{cm}^3$ avec la même durée d'exposition. La femelle de *Sitophilus oryzae* est plus résistante que les mâles de cette espèce.

Les DL50 et DL90 qui sont respectivement de $0,18\mu\text{l}/\text{cm}^2$ et $0,44 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ pour les mâles alors qu'elles sont de $0.23\mu\text{l}/\text{cm}^2$ et $0.48 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ pour les femelles de *Sitophilus oryzae*.

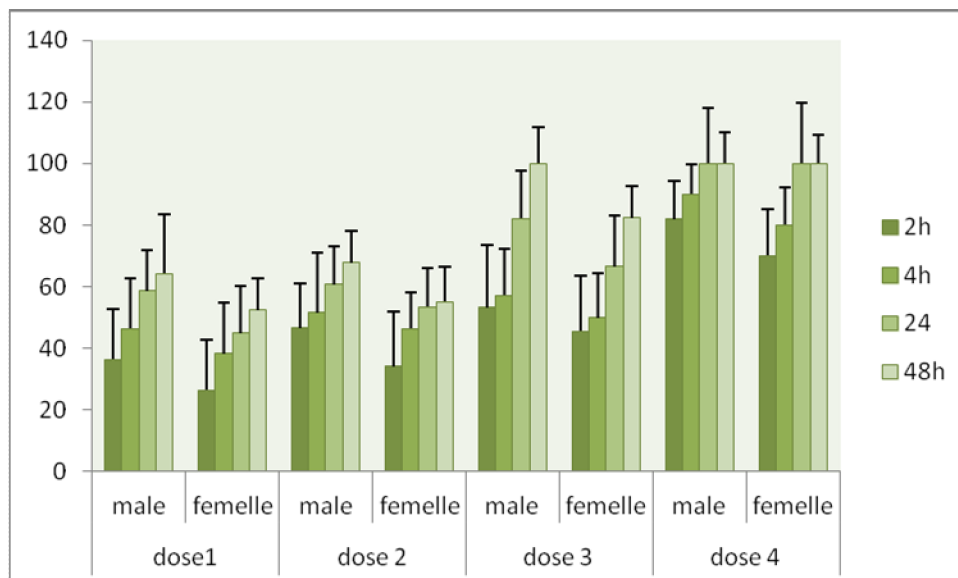


Figure 28 : Taux de mortalité cumulée des adultes de *Sitophilus oryzae* en fonction du temps d'exposition et de la dose de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

- **Cas de la menthe pouliot :**

L'HE de la menthe pouliot s'est montré efficace sur les deux sexes de *Sitophilus oryzae* à la troisième dose D3 ($0,4 \mu\text{l}/\text{cm}^2$) provoquant $52,38\% \pm 12.87$ de mortalité après 48 h de traitement (figure 19). Ces taux de mortalité ont augmenté dans le temps pour atteindre $96,19\%$ après 48 h du dépôt de la dose dans la boîte de pétri. La dose D2 ($0,2 \mu\text{l}/\text{cm}^2$) a provoqué un taux de mortalité moyen de l'ordre de $50,51\% \pm 11.25$ pour la même durée ; les autres doses n'ont pas de résultats obtenus ne sont pas satisfaisants.

Les doses létales des mâles et des femelles sont respectivement de l'ordre de $0,15 \mu\text{l}/\text{cm}^3$ et de $0,28 \mu\text{l}/\text{cm}^3$ pour la DL50, $0,18 \mu\text{l}/\text{cm}^3$ et $0,32 \mu\text{l}/\text{cm}^3$ pour la DL90. Il est à remarquer que la DL50 est comprise entre la première dose ($0,1 \mu\text{l}/\text{cm}^3$) et la deuxième dose ($0,2 \mu\text{l}/\text{cm}^3$) pour les mâles alors qu'elle varie entre la deuxième dose ($0,2 \mu\text{l}/\text{cm}^3$) et la troisième dose ($0,3 \mu\text{l}/\text{cm}^3$) pour les femelles. La DL90, pour les mâles, se situe entre la dose D1 ($0,1 \mu\text{l}/\text{cm}^3$) et la dose D2 ($0,2 \mu\text{l}/\text{cm}^3$) ; celle des femelles est comprise entre la D3 ($0,3 \mu\text{l}/\text{cm}^3$) et la D4 ($0,4 \mu\text{l}/\text{cm}^3$).

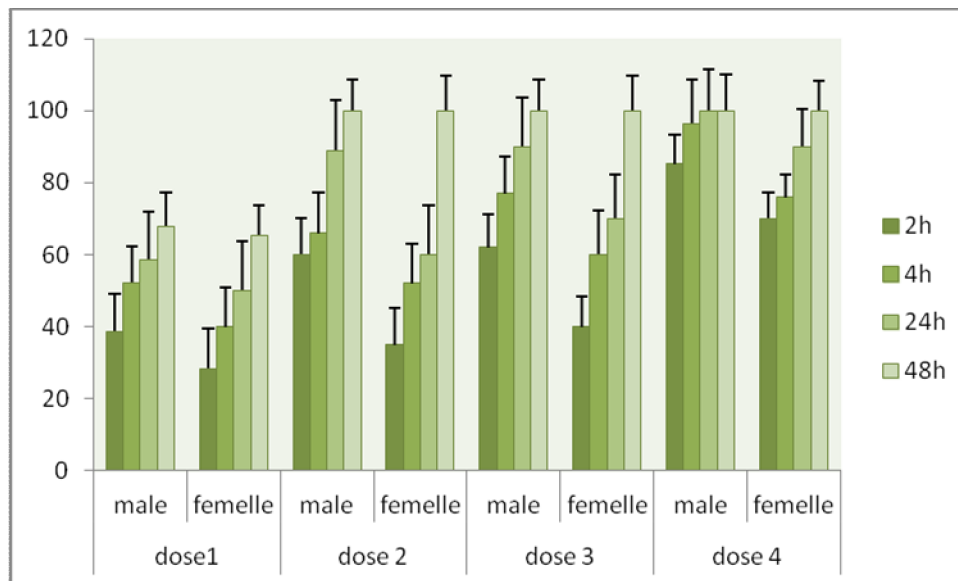


Figure 29 : Taux de mortalité cumulée des adultes de *Sitophilus oryzae* en fonction du temps d'exposition et de la dose de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*

Les larves de *Sitophilus oryzae* se sont avérées sensibles aux huiles essentielles des deux plantes étudiées. L'HE du romarin s'est montré plus efficace que celui de la menthe pouliot.

Les résultats illustrés dans la figure 20 révèlent un taux de mortalité important des larves après seulement deux heures d'exposition aux essences volatiles. Le taux de mortalité augmente avec le temps.

L'analyse statistique a révélé une variation hautement significative (tableau 09) avec deux critères de classification. Le coefficient de variation est inférieur à 50 % et $P < 0.005$.

Tableau 08: Analyse de la variance du taux de mortalité de *Sitophilus oryzae* par inhalation

.Source	DDL	F,obs	P	CV
Plante	4	53.91	0,00	15.56
Dose	4	728.20	0,00	
Plante *Dose	16	11.17	0,00	

B)-Sur Tribolium confusum :

- **Huile essentielle du romarin**

Le résultat affiché dans la figure 14 démontre que l'huile essentielle du romarin a provoqué un taux de mortalité croissant avec le temps. En effet ce taux a atteint 64.23% \pm 2.59 pour arriver à 100% à la fin de l'expérimentation.

L'analyse statistique a révélé une variation hautement significative (tableau 10) avec deux critères de classification. Le coefficient de variation est inférieur à 50 % et $P < 0.005$.

Tableau 09 : Analyse de la variance du taux de mortalité de *T.confusum* par inhalation.

.Source	DDL	F,obs	P	CV
Plante	4	43.90	0,0012	21.85
Dose	4	68.269	0,0017	
Plante *Dose	16	11.17	0,0003	

L'étude comparative entre les mâles et les femelles de cet insecte a révélé l'existence d'une variation de l'effet insecticide de cette essence. En effet, d'après les résultats on constate que les mâles sont plus sensibles avec un taux de mortalité de 64.28% pour la plus faible dose alors qu'elle est de 48,52% pour les femelles. Le taux de mortalité augmente avec les doses appliquées et le temps d'exposition ; il est de 72.56% \pm 11.93 pour les mâles et 60.33% \pm 9.56 pour les femelles à la dose D2 Ce taux dépasse les 70% pour les deux sexes à la dose D3 après seulement 48 h d'exposition (figure 14).

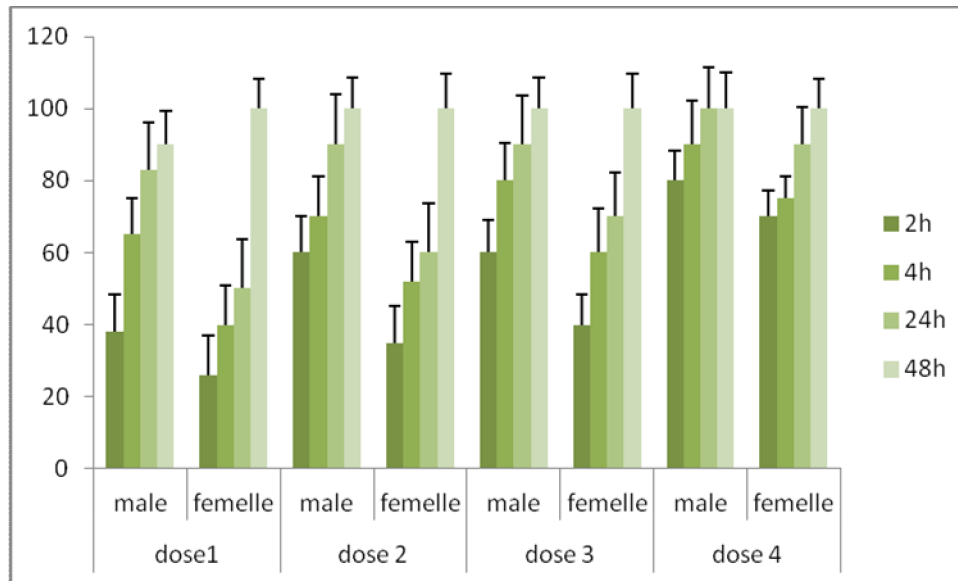


Figure 30 : Taux de mortalité cumulée des adultes de *Tribolium confusum* en fonction du temps d'exposition et de la dose de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

La DL50 est respectivement de l'ordre de $0.22 \mu\text{l}/\text{cm}^3$ pour les mâles et $0.52 \mu\text{l}/\text{cm}^3$ pour les femelles. La DL90 calculée pour les mâles est de $0.25 \mu\text{l}/\text{cm}^3$; celle des femelles n'a pas dépassé $0.56 \mu\text{l}/\text{cm}^3$.

- **L'huile essentielle de la menthe pouliot.**

Après quarante huit heures du début de l'expérimentation ont enregistré une forte mortalité de $92.80\% \pm 21.35$ pour les mâles et seulement $70.32\% \pm 19.89$ pour les femelles à la plus faible dose. Le taux de mortalité des deux sexes atteint respectivement 96.32% , et de $80\% \pm 19.99$ à la troisième dose. Ce taux augmente à la plus forte dose pour atteindre les 100% pour la quatrième dose (figure 15).

La DL50, est incluse entre la deuxième et la troisième dose ($0.8 \mu\text{l}/\text{cm}^2$) alors que la DL90 ($1.12 \mu\text{l}/\text{cm}^2$) pour les mâles et de $0.92 \mu\text{l}/\text{cm}^2$, et de $1.22 \mu\text{l}/\text{cm}^2$.

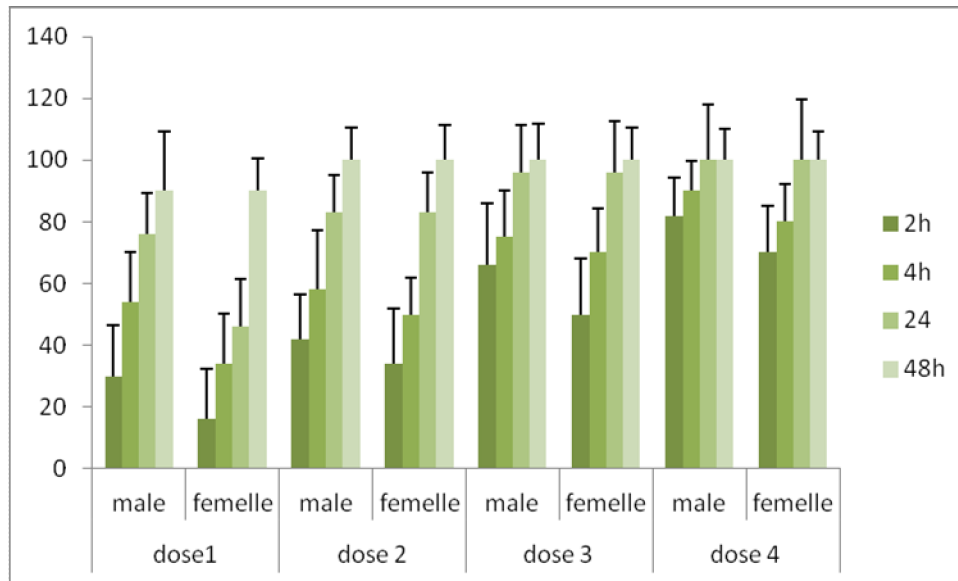


Figure 31: Taux de mortalité cumulée des adultes de *tribolium confusum* en fonction du temps d'exposition et de la dose de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

- **Sur les larves de *Tribolium confusum***

L'examen des résultats montre que l'huile essentielle des deux plantes étudiées a un effet insecticide sur les larves de *Tribolium confusum*. En effet on remarque une augmentation du taux de mortalité en fonction du temps et de la dose utilisée (figure 16).

Par ailleurs en comparant les valeurs obtenues on constate que l'HE du romarin est plus efficace que celle de la menthe pouliot. A la plus faible dose le taux de mortalité enregistré est de $60\% \pm 11.52$ pour le romarin alors qu'il ne dépasse pas les $35\% \pm 8.98$ pour la menthe pouliot. Ce taux augmente avec le temps pour avoisiner les $90\% \pm 9.73$ pour la 3ème dose après 24h de traitement.

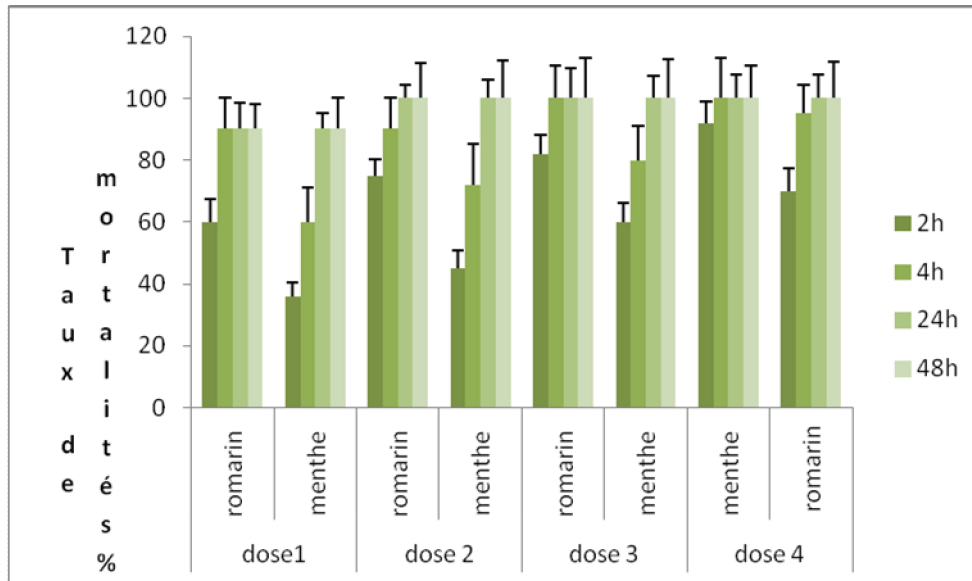


Figure 32 : Taux de mortalité cumulée des larves *tribolium confusum* en fonction du temps d'exposition et de la dose de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

V-2-3 : Comparaison des DL₅₀ et DL₉₀ des huiles essentielles vis-à-vis *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum* par inhalation

Les valeurs calculées des doses létales, pour les deux sexes des deux insectes étudiés et les huiles essentielles des deux plantes prises en compte, sont reportées dans le tableau 11.

Tableau 10 : tableaux récapitulatif des DL₅₀ et DL₉₀ des huiles essentielles vis-à-vis *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum*

.Les HE	DL ₅₀ (µl/cm ³)				DL ₉₀ (µl/cm ³)			
	<i>S.oryzae</i>		<i>T.confusum</i>		<i>S.oryzae</i>		<i>T.confusum</i>	
Romarin	M	F	M	F	M	F	M	F
	0,18	0.44	0,22	025	0,44	0.48	0,52	0.56
Menthe pouliot	0,15	0.22	0.8	0.92	0,28	0.32	1.12	1.22

V-2-4 : Effet des huiles essentielles sur la germination des graines.

La germination est considérée comme une étape critique dans le développement de la plante car elle conditionne l'installation de la plantule, sa relation avec le milieu et sa productivité ultérieure. Cette étape a pour objectif de comparer le comportement germinatif des graines testées avec la méthode de contacte-ingestion avec les différentes huiles essentielles étudiées.

A)-Cas du traitement avec l'huile essentielle du romarin :

Les pourcentages des graines germées, en fonction de la durée d'exposition, sont illustrés dans la figure 24.

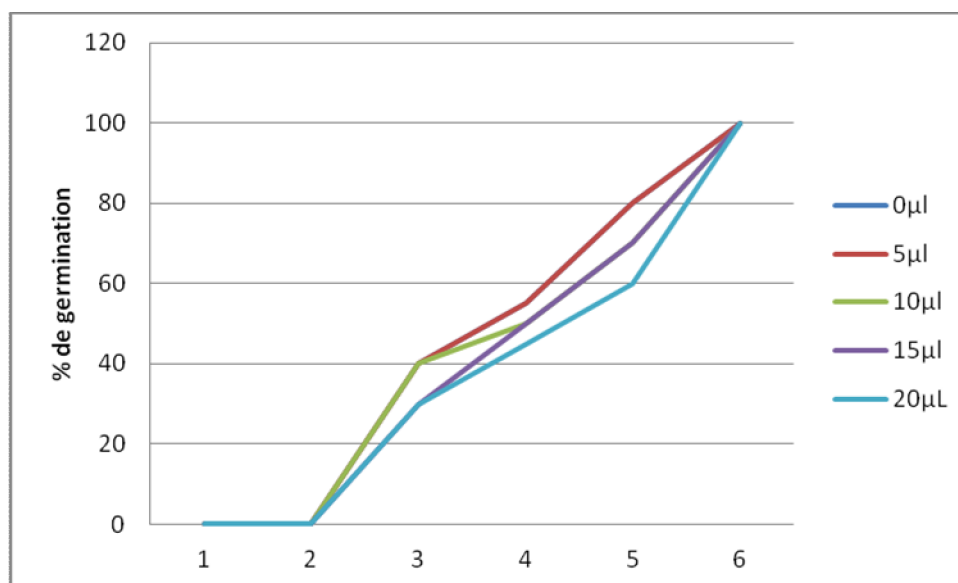


Figure 33: Courbes de germination des graines en présence de l'huile essentielle du romarin en fonction du temps.

L'huile essentielle du romarin a fortement abrégé la survie des adultes de *S. oryzae* par contact sans altérer le pouvoir germinatif des graines traitées de blé dur.

On remarque que le traitement par les huiles essentielles du romarin n'affecte pas la germination des graines puisque le taux de germination dans les différents lots traités est presque identique aux lots témoins.

En effet après 5 jours de la mise en germination des graines 70% ont germé que ce soit dans les lots témoins ou dans les lots traités avec l'huile essentielle. Au bout d'une semaine toutes les graines ont germé. On note qu'un léger (24h) retard de germination a été remarqué chez les graines traitées à 20 µl d'huile essentielle du romarin.

B)- Cas de l'huile essentielle de la menthe pouliot :

Les résultats illustrés dans la figure 17 montrent que l'huile essentielle de la menthe pouliot n'a pas d'effet remarquable sur la germination des graines. La germination est presque totale après 5 jours.

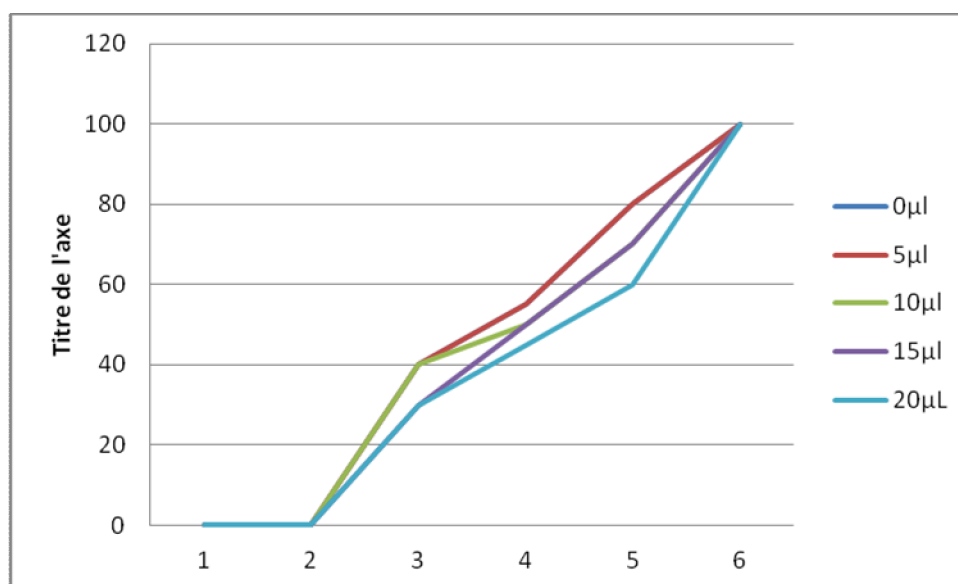


Figure 34: Courbe de germination des graines en présence de l'huile essentielle de la menthe pouliot en fonction du temps.

La germination, des graines du blé de la variété hedba mises en contact direct avec les huiles essentielles de la menthe pouliot, n'est pas affecté puisque toutes les graines ont germé.

Les tests indiquent une légère différence de pourcentage de germination des graines dans tous les lots traités par rapport aux lots témoins. En effet les graines des lots témoins ont germé dès les 5 premiers jours de la mise en place de l'expérimentation ; celles traitées avec les essences végétales ont germé dès les 6 jours.

V-2-3 : Discussion des résultats :

Les plantes produisent naturellement des substances actives permettant de se protéger des insectes, de maladies ou d'attaques extérieures. De celles-ci ont été tirées les huiles essentielles.

les effets insecticide les essais réalisés ont montré que les deux huiles essentielles ont un effet insecticide sur les deux insectes *S.oryzae* et *T.confusum*. d'après les résultats obtenus, il ressort que L'efficacité des huiles essentielles par contacte direct et ingestion donne des résultats assez intéressant par rapport aux résultats du modes d'inhalation.

Des travaux similaires sur les huiles essentielles de certaines plantes sont utilisées pour leurs activités de contact et inhalatrice qui n'offrent pas souvent le même degré d'efficacité selon la cible visée.

Tapondjou et al. (2002) ont obtenu de la poudre de feuilles de *C. ambrosioides* en 24 h une mortalité totale des adultes de *S. granarius* (L.) et *S. zeamais* à une dose de 6,4 % (P/P). À 0,4 %, il n'a été noté aucune émergence à la F1 pour les bruches *C. chinensis*, *C. maculatus* et *A. obtectus*. Par contre, la fumigation par l'huile essentielle de cette plante ($0,2 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-2}$) tue 80 à 100 % des adultes de *C. chinensis*, *A. obtectus*, *S. zeamais* et *P. truncatus*, tandis qu'avec *C. maculatus* et *S. granarius*, la mortalité n'a été respectivement que de 20 et 5 %. Selon ces derniers, il est probable que l'activité des feuilles soit due à une forte teneur en huiles essentielles

Liu et al. (1999) relatent une plus grande sensibilité des adultes de *S. zeamais* ($DL_{50} = 0,043 \text{ mg}\cdot\text{mg}^{-1}$ de poids corporel) que *T. castaneum* ($DL_{50} = 0,118 \text{ mg}\cdot\text{mg}^{-1}$ de poids corporel) au contact de l'huile essentielle de *rosmarinus officinalis*, alors qu'en fumigation *S. zeamais* ($LC_{50} = 41 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ air) se révèle plus tolérant que *T. castaneum* ($LC_{50} = 11,7 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ air). Par une mortalité de contact équivalente à celle des témoins,

George et al. (2009) ont apporté la preuve que les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* (L.) et de *Mentha pulegium* (L.), actives sur l'acarien des poules *Dermanyssus gallinae*, ne le sont que par inhalation ($CL_{99} < 0,30 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$).

Ketoh et al. (2002) évoquent une possible absorption des huiles par les graines de niébé. De plus, le parasitoïde *D. basalis* semble plus sensible que son hôte aux terpènes émis particulièrement par *Cymbopogon schoenanthus* (L.) et *Ocimum basilicum* (L.).

Concernant l'effet insecticide des huiles les HE de la menthe pouliot et de la lavande sont avérées les plus insecticide et cela après quelques heures du traitement.

En effet ces résultats sont confirmés par BENAYAD (2008) où l'HE de la menthe pouliot c'est avéré insecticide après 24 heures du traitement cela est principalement due à la présence des monoterpènes des tanins et des phénols.

Eberhard (2005) a rapporté que l'HE de la menthe pouliot est totalement insecticide contre *T. castaneum*.

De plus on constate que les femelles des deux insectes ont manifesté une résistance importante par rapport aux mâles puisque les mortalités ne dépassent pas les 70% pour les femelles et totale pour les mâles

Des résultats similaires ont été enregistrés par Regnault-Roger 2013 sur la bruche de l'haricot puisque il avait observé, avec d'autres insectes pris comme modèles expérimentaux,

Rhizoperta dominica (Fabricius), *Oryzaephilus surinamensis* L., *Tribolium castaneum* L. et *Sitophilus oryzae* L., qu'il existait une grande variabilité

Dans la sensibilité des espèces aux huiles essentielles. Pour les deux sexes expérimentés.

La complexité de la composition des huiles essentielles semble être responsable de leur activité biologique en effet leur composition autoriserait des messages complexes et sélectifs (Bruneton, 1987). La composition des huiles essentielles, en effet, varie fortement en fonction de paramètres internes (maturité de la plante, localisation), mais aussi externes (géologique, climatique, etc.). Toutefois, il semblerait que la majeure partie des constituants soit des dérivés terpéniques ou du phényle propane. Des molécules de structures voisines, dérivées également du squelette isoprénique sont d'ailleurs aujourd'hui des pesticides d'usage courant (pyrethrine, rotenone.).

Dans l'évaluation de l'activité des huiles essentielles vis-à-vis *S.oryzae* sur les graines reconstituées, toutes les huiles utilisées ont empêché l'émergence. Aucun adulte survivant n'a été dénombré, sauf dans le témoin. Ceci indique la toxicité des huiles vis-à-vis les oeufs de *S.oryzae*.

Bien que l'activité insecticide d'une huile essentielle soit un effet combiné de plusieurs composés terpéniques (effet de synergie des composés dans l'activité insecticide) d'après Noudjou, (2007). Cependant Kouninki *et al.*, (2007) ont montré que le β -pinène et le 1.8 cineol sont les composés les plus insecticides de *X. aethiopica*. Ce composé est le composant majoritaire de nos huiles essentielles de la d'après les analyses chromatographiques ce qui confirme une autre fois les résultats obtenus

Troisième partie :

V-3 Résultats des tests antifongiques

A travers l'évaluation *in vitro* et sur milieu nutritif sabourau du pouvoir antifongique des principes actifs extraits par hydrodistillation face aux différentes champignons testées, il paraît évident qu'il y a une énorme hétérogénéité dans les résultats obtenus. Les souches ont répondu plus ou moins bien selon la concentration des huiles essentielles testées. Les meilleures zones d'inhibition sont enregistrées avec l'huile essentielle du romarin avec les concentrations croissantes utilisées.

V-3-1. effet des huiles essentielles sur *penicilium frequentens* :

L'analyse des données mentionnées dans la (fig17) révèle que les huiles essentielles agissent sur *penicilium frequentens* selon la dose et la spécificité.

En effet, le degré d'inhibition de la croissance fongique augmente proportionnellement avec la concentration croissante des huiles.

Les résultats des analyse statistique confirme nos résultats puisque le teste $F=458.17$ et très hautement significatif ($p=0.0000$).

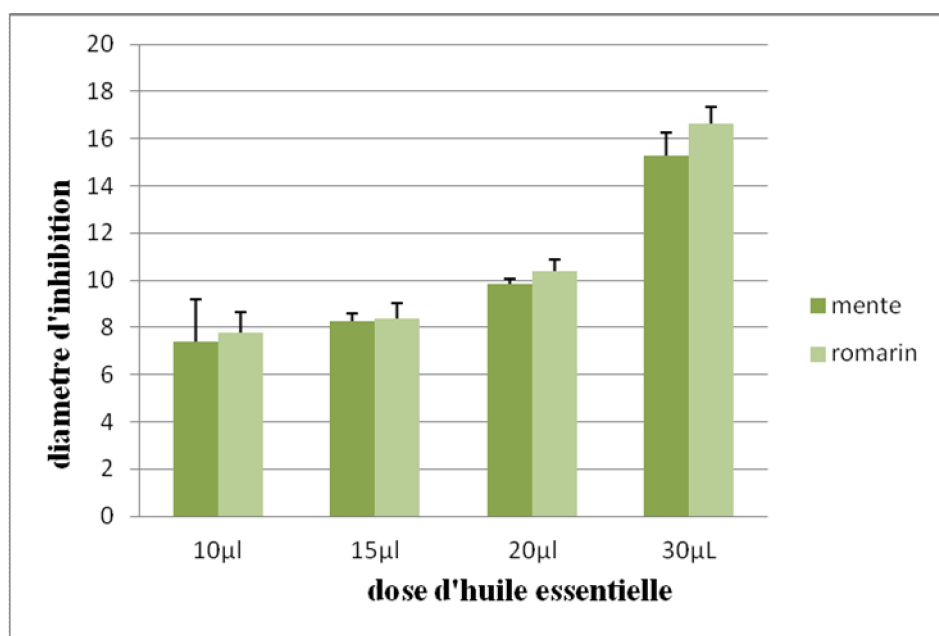


Figure 35 : diamètre d'inhibition de la croissance (mm) de *penicilium frequentens* en fonction de la dose et des huiles essentielles testées.

Penicilium frequentens semble être la souche la moins sensible par rapport aux autres souches fongiques étudiées avec une zone d'inhibition de 16.23 mm de diamètre à la plus forte dose utilisée (30 μ l) pour le romarin et de 15.65mm pour la menthe pouliot.

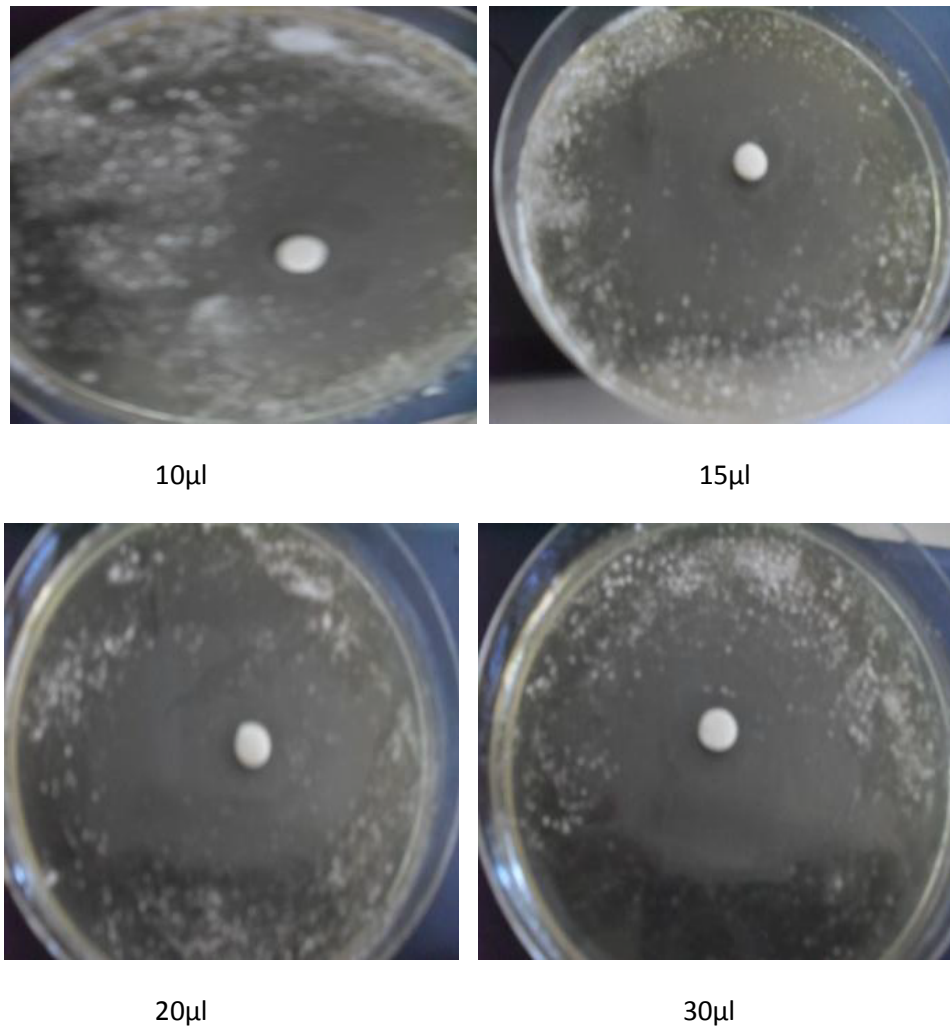


Figure 36 : Photographie originale de l'effet de huile essentielle de la menthe pouliot sur *penicilium frequentens*

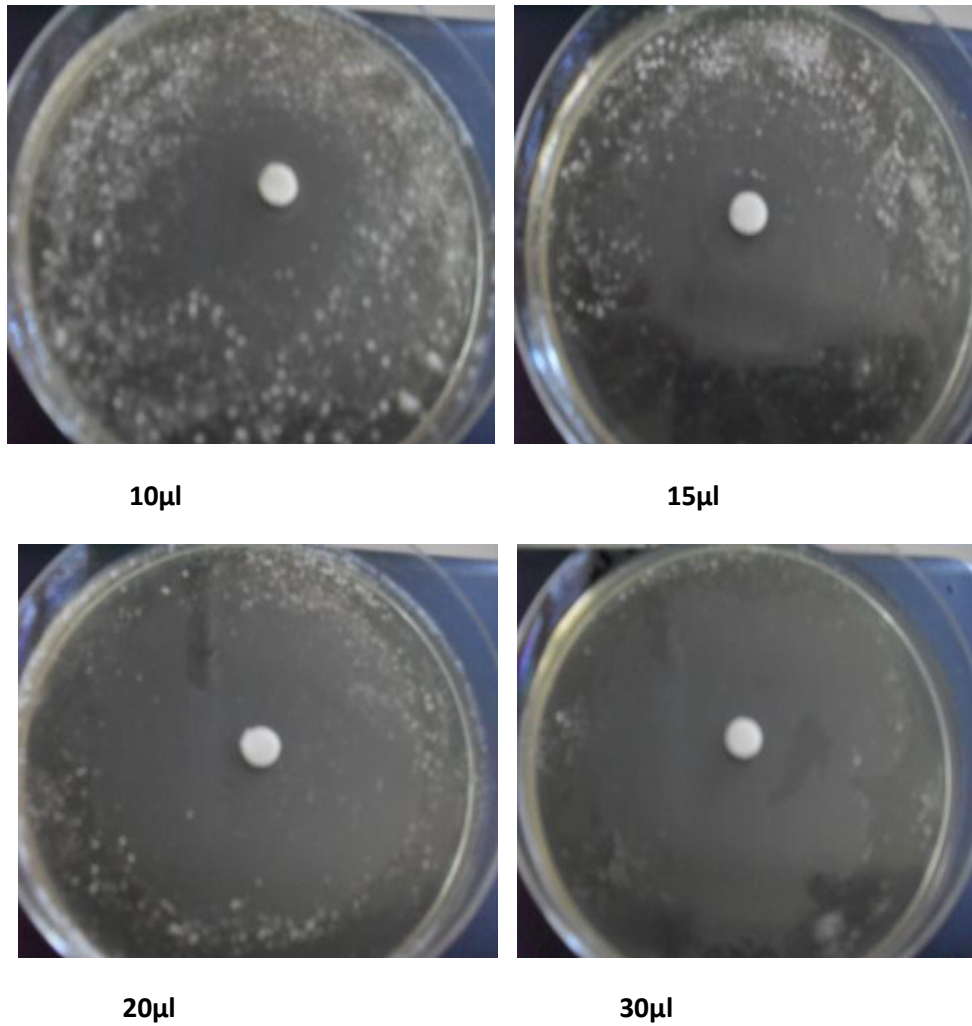


Figure 37: Photographie originale de l'effet d'huile essentielle du romarin sur *penicillium frequentens*.

V-3-2. effet des huiles essentielles sur *Aspergillus niger* :

Les diamètres des zones d'inhibition (mesurés en mm) obtenus par la moyenne de trois répétitions sont représentés dans la figure 25,

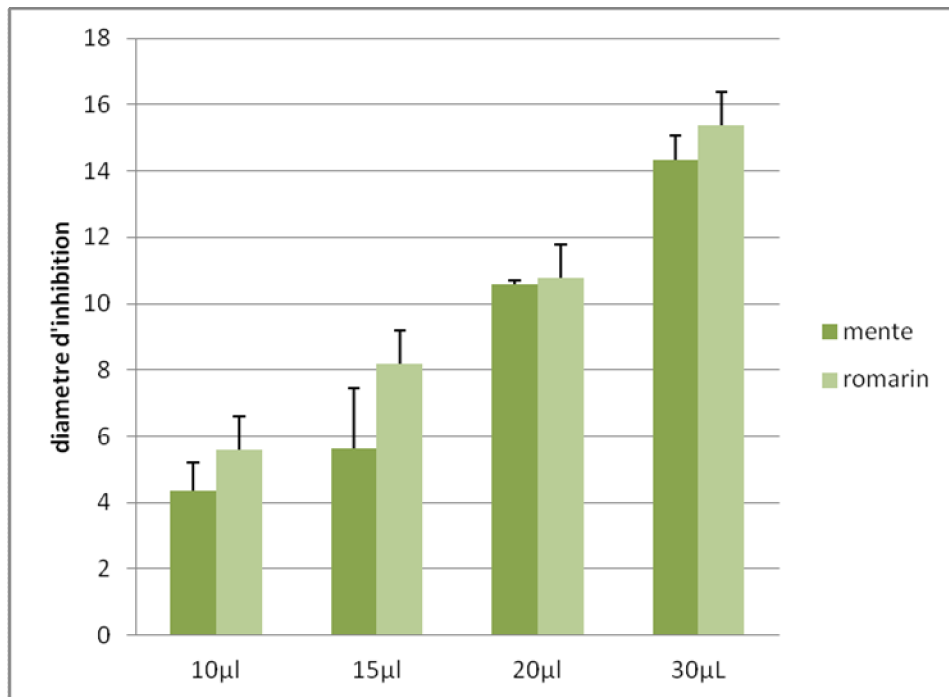


Figure 38 : diamètre d'inhibition de la croissance (mm) de *aspergillus niger* en fonction de la dose et des huiles essentielles testées.

L'effet des huiles essentielle est bien remarqué sur l'*aspergillus niger* puisque ont a atteint des halos d'inhibition qui dépasse les 35mm pour l'huile essentielle du romarin a une concentration de 30µl, de même pour les extrait volatils de la menthe pouliot (22.32mm) mais avec un effet moidre puisque il s'est avéré moins toxique que le romarin.

Les analyse statistique confirme nos résultats puisque ils sont hautement significatif pour le facteur dose et le facteur HE ($F=100.50$ et $p=0.0001^{***}$).

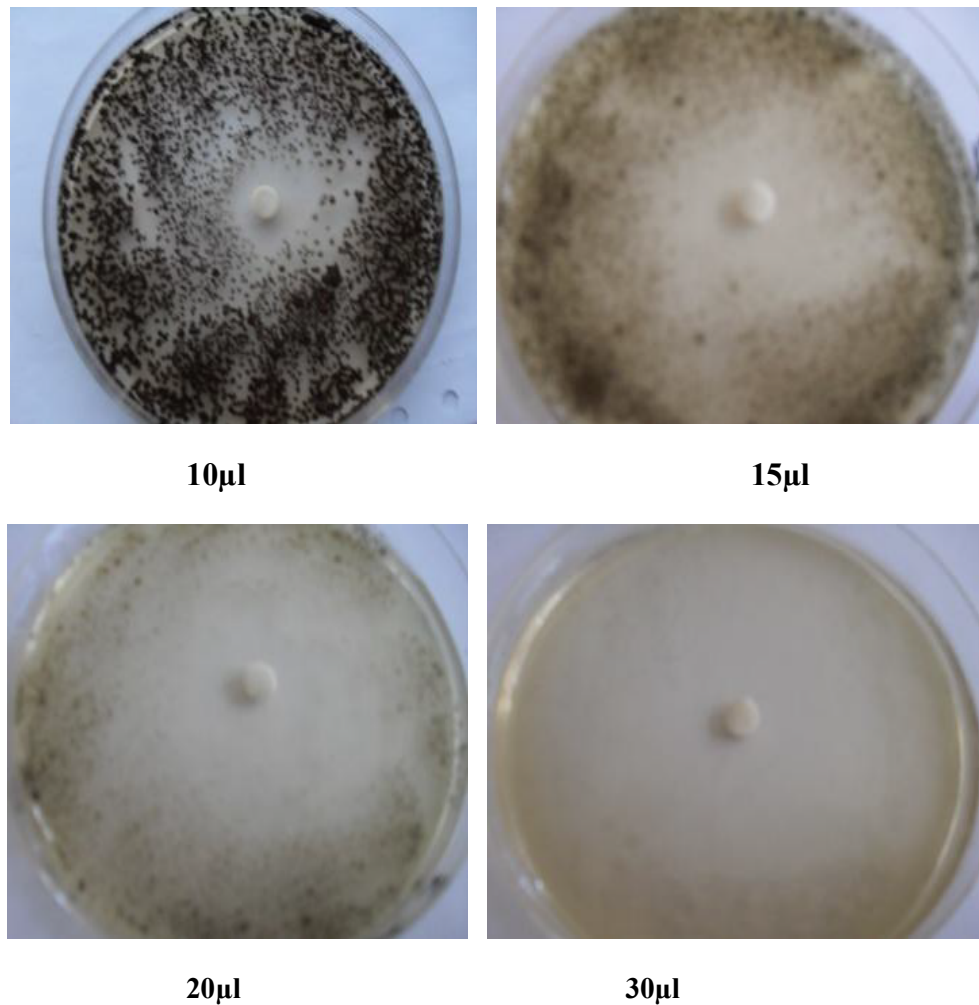


Figure 39 : Photographie originale de l'effet d'huile essentielle du romarin sur *Aspergillus niger*

V-3-3. effet des huiles essentielles sur *Aspergillus flavius* :

Selon les résultats comparatifs obtenus (figure 27) sur *Aspergillus flavius* nous pouvons dire que *A. flavius* est sensible à HE du romarin puisque l'inhibition est de 05.94mm à une faible dose (10 µl) et l'inhibition est totale de 15.986mm pour la concentration de 30 µl l'effet inhibiteur de la menthe pouliot est de 34.36mm à la dose de 30µ l.

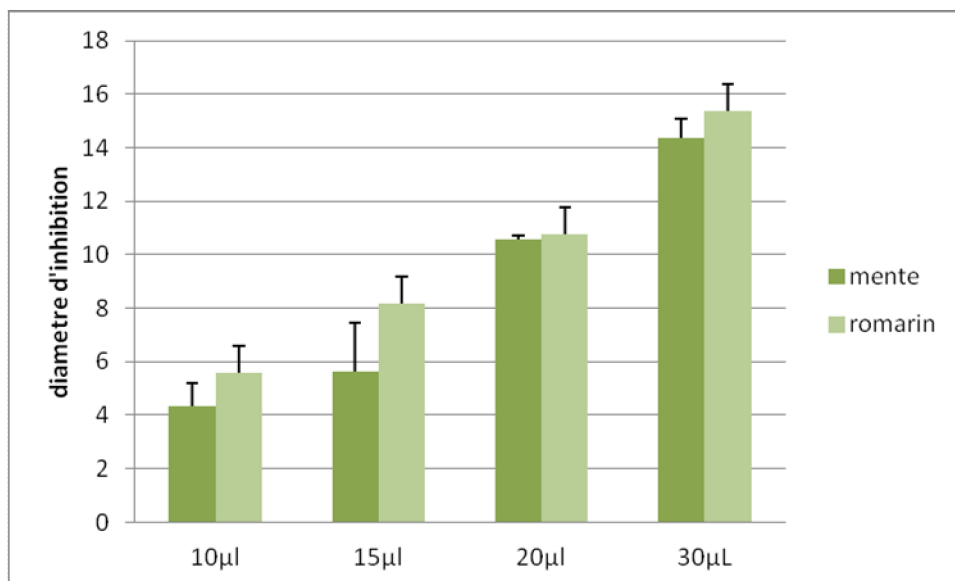


Figure 40 : diamètre d'inhibition de la croissance (mm) d' *aspergillus flavius* en fonction de la dose et des huiles essentielles testées.

Tableau 11 : Tableaux récapitulatif de la sensibilité des souche vis a vie les plantes étudiées :

	Aspergillus favius	Aspergillus niger	Penicilium f.
Romarin	***	***	**
Menthe pouliot	**	**	*

***** : extrêmement sensible.**

**** : hautement sensible.**

*** : sensible.**

Ces résultats montrent que les trois souches sont hautement sensibles à une dose de 30µl d'huile essentielle menthe pouliot, alors qu'ils sont extrêmement sensibles pour l'huile essentielle du romarin pour la même dose.

V-3-4 : Discussion des résultats :

les résultats obtenus montre que l'huile du romarin est la plus fongicide. En effet dikshit, Husain, in eberhad et *al.*(2005) ont confirmées que l'HE à des propriétés antimicrobienne et antifongique très intéressente. .

L'efficacité antifongique d'huile essentielle des lamiacées est due à un certain nombre de ses composants fonctionnant en synergie (Derwich *et al.*, 2010).

L'activité antifongique d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* est avéré due à la haute concentration en α -pinène (Baranowska *et al.*, 2002). α -pinène et β -pinène sont bien connus comme produits chimiques ayant des potentiels antimicrobiens. Cependant, l'activité

antifongique d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* est due à α -pinène qui se présente en quantité appréciable dans cette huile. Un autre composé « le linalol » possède aussi une large gamme d'activité antibactérienne et antifongique (Imelouane *et al.*, 2009).

Alwan *et al.*, Heffmann, yamasaki *et al.* in Eberhad *et al.* (2005) apporte que la présence des composés terpénique et les extrait des flavonoides sont a l'origine de son action antifongique.

Pour l'effet antifongique de la menthe pouliot les résultats ont montré un effet appréciable puisqu' on a obtenue un diamètre d'inhibition qui varie de 20.45mm à une inhibition total du champignon parasite (*aspergillus flavus* et *aspergillus niger*). cela est essentiellement du a la richesse de son huile en camphre ces résultat concorde avec ceux de Mohamedi (2005).

Pino *et al.* apporte que l'activités antifongique de l'huile essentielle du romarin est du principalement a leurs teneurs en phénols diterpéniques , ces résultats peuvent confirmées nos résultats puisque a différentes doses d'huiles essentielles les souches ont montrées une sensibilités.

La famille des lamiacées regroupe de nombreuses espèces à huiles aromatiques dont *R. officinalis* et *O. basilicum*. *Mentha puligium* Les huiles essentielles des espèces de cette famille sont connues pour leurs multiples vertus dont l'activité fongicide et fongistatique.

Un certain nombre d'auteurs ont mentionné la forte activité antifongique de l'HE du romarin et de la menthe pouliot contre un large éventail de micro-organismes pathogènes (Suppakul *et al.*, 2003 ; Lopez *et al.*, 2005 ; Bozin *et al.*, 2006 ; Sokovic *et al.*, 2006).

Shan *et al.*, 2007; Di Pasqua *et al.*, 2005 ; ont mie en évidence l'effet fongicide et insecticide de plus de 10espéc s de la famille des lamiacées ce qui concorde avec nos résultats.

Quatrième partie :**V-4. ETUDE DE L'ACTIVITE INSECTICIDE DES FORMULATIONS POUFREUSE SUR : *Sitophilus oryzae* et *tribolium confusum* .**

Les pertes post-récolte des céréales et légumineuses sont encore en Afrique un problème majeur. Les réponses apportées pour combattre les insectes, principaux déprédateurs des stocks, ont été essentiellement chimiques. Cependant, compte tenu des nuisances associées à l'utilisation des pesticides, sélection de souches résistantes, pollution de l'environnement, intoxications, la recherche d'alternatives s'impose. Il est fait état des différentes méthodes de protection des stocks pratiquées en alternative ou combinées avec les pesticides. Face aux effets néfastes de l'utilisation des insecticides synthétiques sur l'environnement, d'importants travaux ont été effectués dans le souci de réduire voire d'éradiquer complètement leur utilisation. C'est ainsi que des substances d'origine végétale telles que les huiles essentielles ont été testées. Ces huiles essentielles sont facilement biodégradables par voie enzymatique (Regnault-Roger, 2002).

Toutefois, ces produits présentent un problème de volatilité ce qui rend leur manipulation difficile. Pour ces raisons, l'argile matériau doté de pouvoir adsorbant a été proposée comme support d'huile essentielle (Sekou Moussa *et al.*, 2000 ; Nguemtchouin *et al.*, 2009, Nguemtchouin *et al.*, 2010). Ainsi donc, l'utilisation d'une poudre d'argile aromatisée à l'huile essentielle peut présenter un double avantage du aux effets combinés de l'argile et de l'huile essentielle.

L'objectif de cette partie du travail est donc d'étudier l'activité insecticide des formulations poudreuse (bentonite aromatisée d'huiles essentielles) à base d'argiles (bentonite) et d'huiles essentielles sur le charançon du riz *S. oryzae* et *tribolium costenum*.

V-4-1 : effet de la poudre aromatisée sur le charançon de riz :

Il ressort des résultats issus des tests insecticides d'évaluation de la toxicité des poudres aromatisées que les deux huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot ont un effet insecticide sur *S. oryzae* (fig38). L'analyse de variance montre qu'il n'existe aucune différence significative entre les huiles essentielles pour ce qui est du taux de mortalité. Cependant, la dose de l'huile essentielle a un effet significatif sur le taux de mortalité ($P < 0,001$).

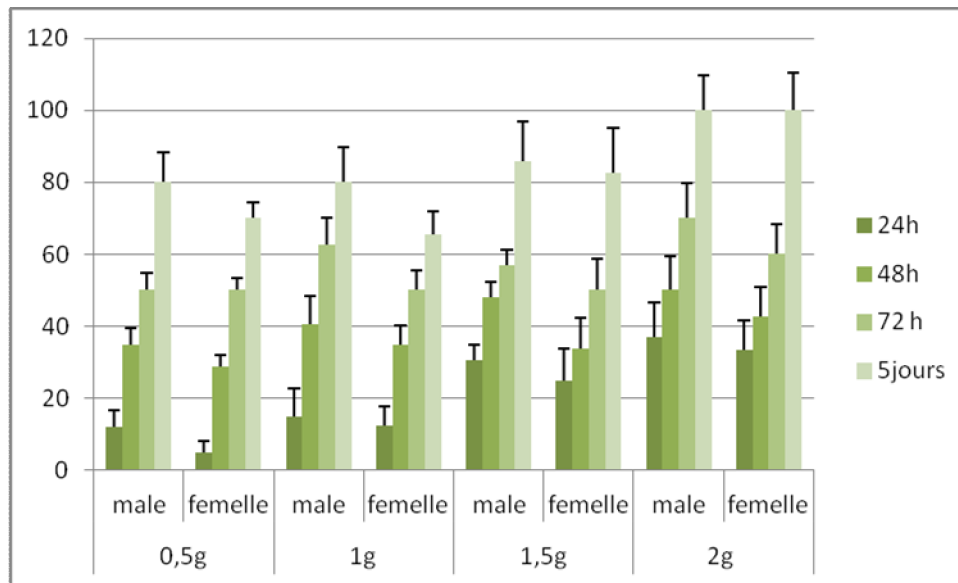


Figure 41 : taux de mortalité cumulée de *Sitophilus oryzae* en fonction du temps d'exposition a la formulation poudreuse du romarin.

Les résultats dans la fig 29, montrent que la formulation poudreuse a base du romarin est la p

lus forte puisque elle a provoqué un pourcentage de mortalité allant de 16,46% à 100% au bout de 5 jours d'exposition et ce de la plus faible à la plus forte dose. Ces mortalités se sont échelonnées dans le temps. En effet au bout de 5 jours elles passent de 10,58 à 16,46 %, 4,76 à 51,9 %, 4,76 à 77,22 %, 16,04 à 97,44 respectivement pour les quatre doses. pour les deux sexe expérimenté.

Tout fois ont constatent que les femelles sont plus résistante que les males.

Les dl50 calculée pour les deux sexes sont comprise entre la deuxième et la troisième dose (D2=1g de poudre aromatisé qui contient 0.12µl d'HE).

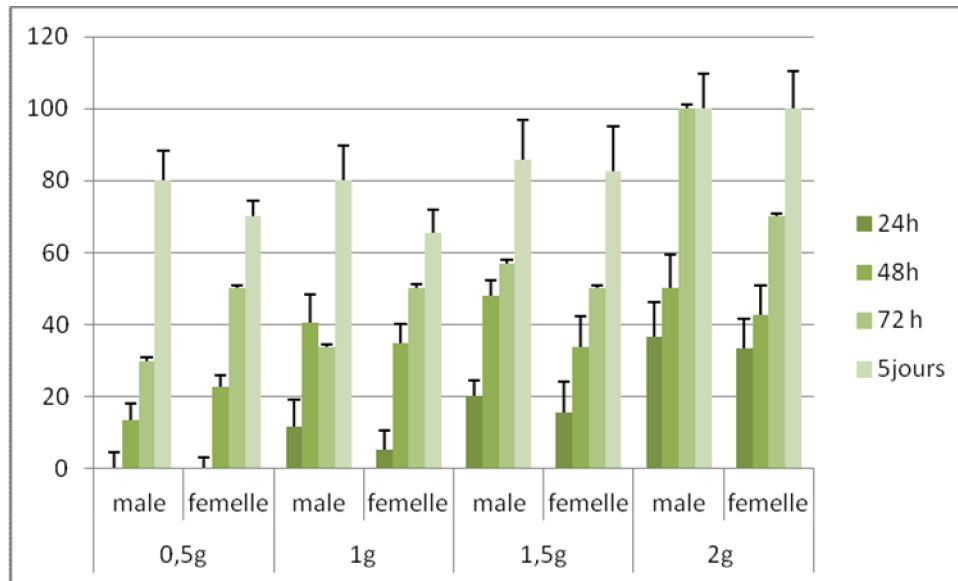


Figure 42: taux de mortalité cumulée de *Sitophilus oryzae* en fonction du temps d'exposition à la formulation poudreuse de la menthe pouliot

Les résultats consignés dans la figure 24, confirment que la menthe pouliot n'a agi sur *S. oryzae* qu'à la troisième dose provoquant 88,16% après 5 jours de traitement,

Pour les autres observations, les mortalités enregistrées sont inférieures à 50% pour les femelles pour les trois premières doses.

La DL_{50} calculées à partir de la fonction de la droite de régression, est de 1.2g/10g pour les mâles et de 1.42g/10g pour la femelle de bentonite. Elle est comprise entre la deuxième et la troisième dose pour les deux sexes.

V-4-2 : effet de la poudre aromatisée sur *Tribolium confusum* :

Les résultats de l'analyse statistique effectuée pour les tests insecticides d'évaluation de la toxicité des poudres aromatisées affirment que les deux huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot ont un effet insecticide sur *Tribolium caestenum* (fig30). L'analyse de variance montre qu'il n'existe aucune différence significative entre les huiles essentielles pour ce qui est du taux de mortalité. Alors que la dose de l'huile essentielle a un effet significatif sur le taux de mortalité ($P < 0,001$, $F = 425.32$).

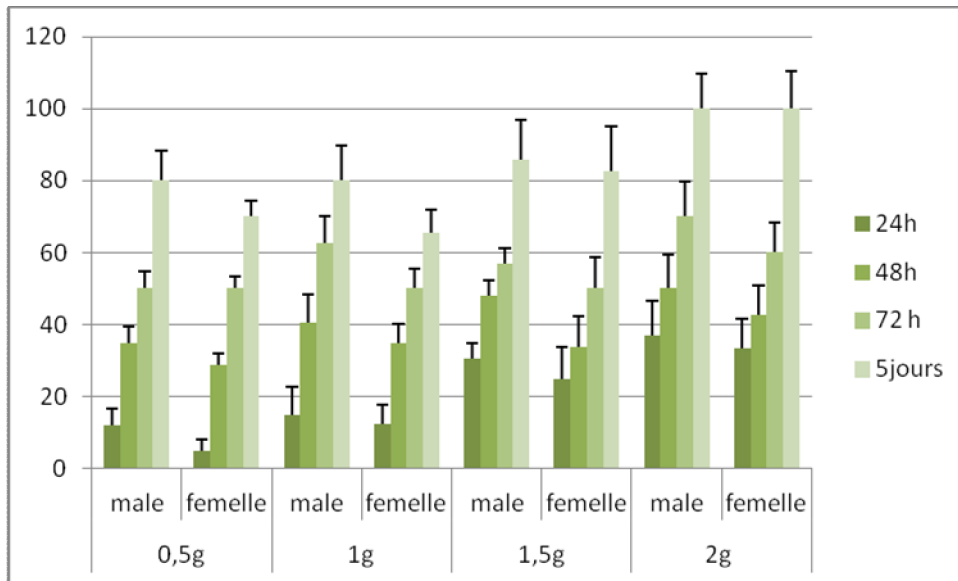


Figure 43: taux de mortalité cumulée de *Tribolium confusum* en fonction du temps d'exposition a la formulation poudreuse du romarin.

L'analyse des résultats enregistrées sur la figure 31 indique que les formulations poudreuse a base de l'HE du romarin agies sur l'insecte des le début de l'expérimentation en effet pour le traitement a la première dose 0.5g un taux de mortalité de 10.33% pour les males et de 5.66% pour les femelle. Ce taux augmente avec le temps pour atteindre les 100% pour les males et les femelles a la dose 2g après 5jours du traitement.

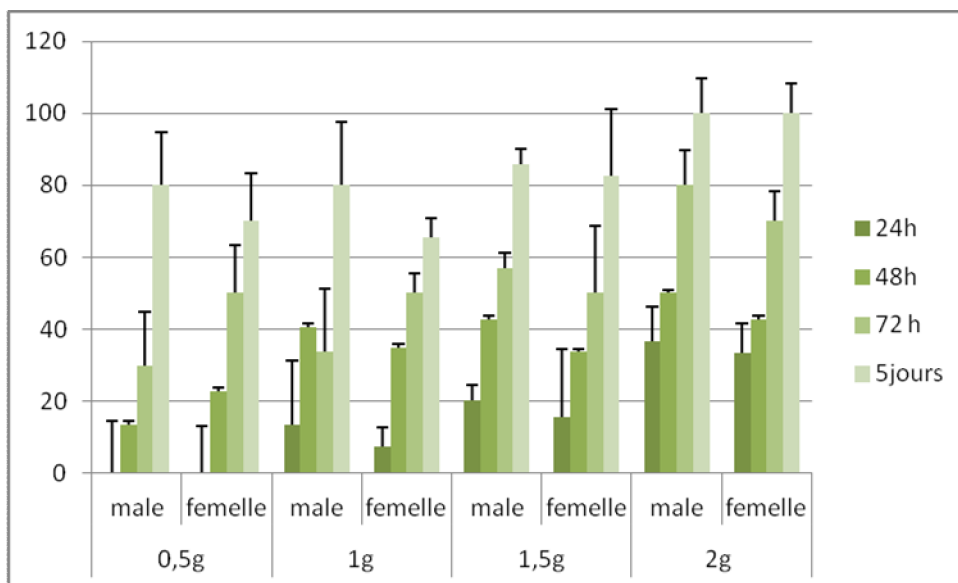


Figure 44: Taux de mortalité cumulée de *Tribolium Castenum* en fonction du temps d'exposition a la formulation poudreuse de la menthe pouliot.

Contrairement au romarin l'analyse des résultats mentionnée dans la figure 43 indique que les formulations poudreuses à base de l'HE de la menthe pouliot n'a d'effet qu'à partir de 48h de traitement pour la première dose avec un taux de mortalité de 12.33% pour les mâles et de 7.66% pour les femelles. Ce taux augmente avec le temps pour atteindre les 100% pour les mâles et les femelles à la dose 2g après 5 jours du traitement.

Ces résultats sont en cohérence avec les résultats de la première partie de ce chapitre puisque en appliquant les huiles essentielles en contact direct avec les insectes étudiés on a remarqué que l'essence volatile du romarin est plus efficace sur les deux insectes que l'essence volatile de la menthe pouliot.

V-4-4 : Etude de la rémanence des formulations poudreuses :

La rémanence d'un insecticide est la durée du degré d'activité insecticide des produits de ce produit après application (Sékou Moussa *et al.*, 2001 ; Isman, 2000).

a)-Cas du charançon di riz :

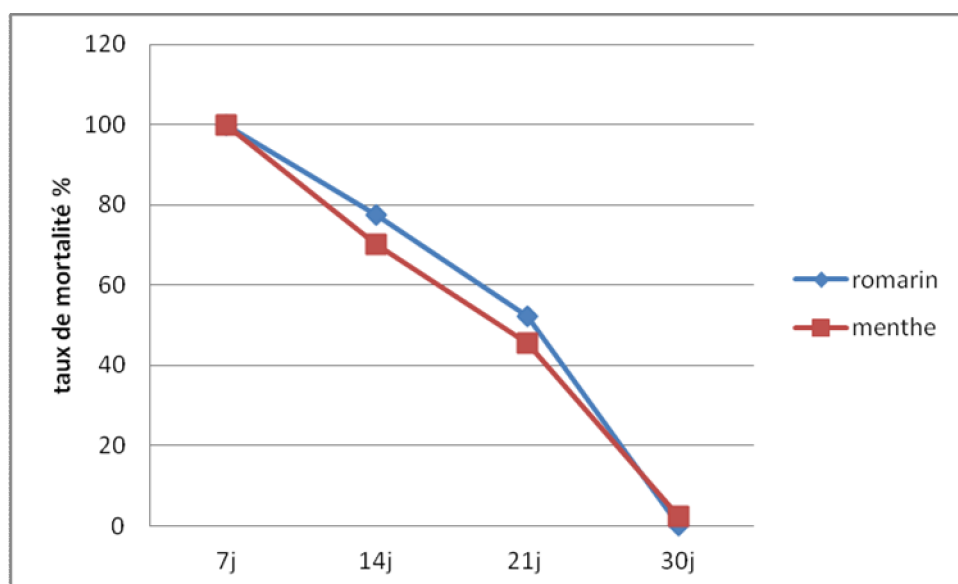


Figure 45: taux de mortalité des insectes en fonction du temps d'exposition à la formulation poudreuse (boîtes ouvertes).

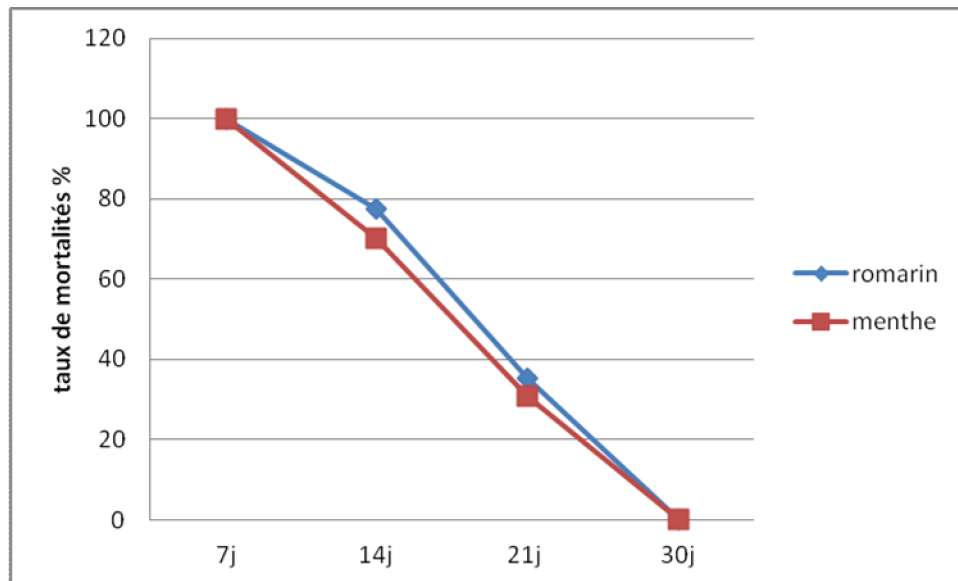


Figure 46 : taux de mortalité des insectes en fonction du temps d'exposition à la formulation poudreuse (boîtes fermées).

Les figures 43 et 44 représentent la variation du taux de mortalité en fonction du taux d'exposition. L'analyse statistique montre que la formulation et le temps influencent de façon significative le taux de mortalité des insectes ($P < 0,001$). On note une diminution du taux de mortalité de *S. oryzae* au cours du temps, traduisant une baisse de l'activité insecticide des formulations poudreuses préalablement saupoudrées sur du blé dur ; en effet après une durée de 30 jours de traitement et pour les deux huiles testées on obtient une mortalité nulle dans les boîtes ouvertes et fermées ce qui indique une perte de la quasi-totalité des composés terpéniques responsables du pouvoir insecticide.

La propriété de forte volatilité des composés terpéniques composés majoritaires de l'essence végétale étudiée, (Regnault-Roger, 2002) est bien confirmée par les résultats issus des formulations à base de Mont-Na-HE et la perte rapide de leurs effets insecticides.

b)-Cas du *Tribolium confusum* :

La baisse de l'activité insecticide est observée au cours de cette étude de rémanence. Cependant, les résultats obtenus montrent qu'après saupoudrage au préalable du blé par les formulations poudreuses que se soit dans les boîtes fermées ou ouvertes une chute de mortalité est remarquée après 21 jours de saupoudrage.

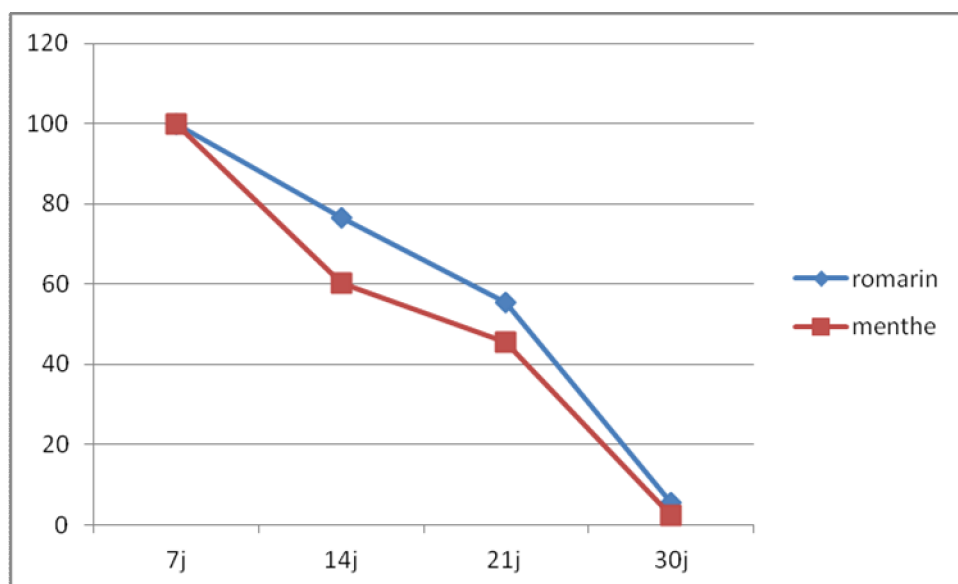


Figure 47 : taux de mortalité des insectes en fonction du temps d'exposition à la formulation poudreuse (boîtes ouverte).

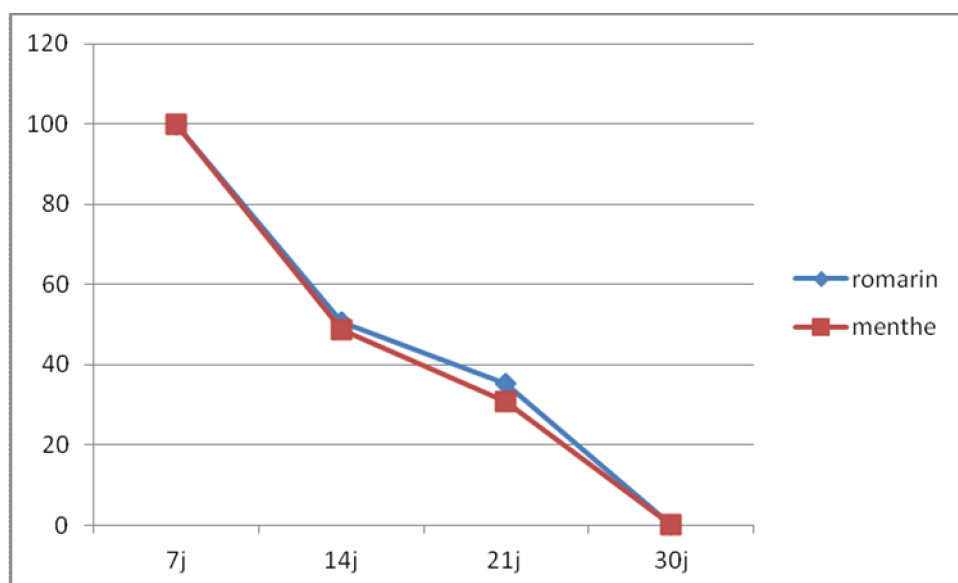


Figure 48 : taux de mortalité des insectes en fonction du temps d'exposition à la formulation poudreuse (boîtes fermées).

La lecture des résultats affichée sur les figures 46 et 47 montre qu'après 21 jours du soupoudrage des graines de blé par les formulations poudreuses une baisse de plus de 50% est enregistrée pour les deux huiles. Alors que après 1 mois du traitement le taux de mortalité est nulle (=0) pour les deux huiles testées.

V-4-5 : Discussion des résultats :

La formulation poudreuse a base d'argile avait un double effet sur les insectes un effet de l'HE et un effet de la bentonite connue pour ces effet insecticide puisque elle appartient aux argiles connue par leurs effet adsorbant de l'humidité du milieu.

La recherche de l'efficacité des poudres insecticides a base d'huiles essentielles et d'argiles à montre que globalement, l'effet insecticide diminue considérablement avec le temps.

A partir de résultats du test de rémanence effectués sur les poudre aromatisées par les deux huiles étudiées Il ressort de ces dernier perdent assez rapidement leur activité insecticide avec le temps malgré le fait qu'elle soit imprégnée sur le blé . en effet Au bout de 6 jours après imprégnation le taux de mortalité passe

De 100% à 65%. A partir du dixième jour, l'HE perd complètement son activité insecticide, ce qui traduit la perte quasi-totale des composés terpéniques responsables du pouvoir insecticide.

Odeyemi *et al.* (2008), la perte de l'activité insecticide de l'HE de *Mentha longifolia* après 6 jours sur *S. zea mais*, est due à la perte des composés terpéniques majoritaires contenus dans cette HE. L'activité des HE diminue au cours du temps à cause de la volatilité des composés terpéniques les constituants (Ngamo *et al.*, 2007b). La persistance de l'activité insecticide d'une HE est liée d'une part a sa composition chimique et d'autre part a la sensibilité de l'insecte face aux composes actifs des HE (Obeng-Ofori *et al.*, 1997). Ces résultats obtenus qui révèlent la faible rémanence de l'activité insecticide de l'HE d'*O. gratissimum* sur *S. zeamais* sont en accord avec les résultats obtenus par Kouninki *etal.* (2007) sur la toxicité des pinenes de l'HE des labiées sur *S. zeamais* et *S. oryzae* et la persistance de l'activité insecticide de quelques HE brutes sur des ravageurs des produits post-récoltes. Tous ces travaux sont en concordance avec nos résultats.

Conclusion générales

Conclusion générales

La flore de la région de Tiaret jouie d'une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques très intéressantes. dans le cadre d'une valorisation de ces ressources, deux plantes aromatiques (*Rosmarinus officinalis* et *mentha pulginum*) ont fait l'objet d'une étude phytochimique de leurs huiles essentielles et d'une évaluation de leur potentiel insecticides et fongicides.

Cette étude contribue à la mise en valeur des huiles essentielles des plantes médicinales pouvant être utilisés comme nouvelles ressources susceptibles d'être exploitées à l'échelle phytosanitaire. Et l'élaboration d'une poudre aromatisées a effet insecticide afin de minimisée la volatilité des huiles essentielles.

Les huiles essentielles sont extraites par l'hydrodistillation, car les huiles obtenues de cette dernière sont de meilleures qualités Par la suite, une caractérisation phytochimique par CPG/MS des huiles essentielles a été réalisé, dans le but d'identifier et de quantifier les constituants chimiques des essences.

Les rendements en huiles essentielles obtenus par la méthode d'hydrodistillation sont plus élevées chez *mentha pulegium L* que le *Rosmarinus officinalis* En effet, elle présente un rendement d'extraction de 1.38%. L'analyse chromatographique par CPG/SM révéler la présence de dix-neuf (19) composées dont le pulégone est le composée majoritaires avec 42.32%. Le reste est constitue de mono terpènes et de sesquiterpènes.

Concernant l'huile essentielle du roamrin le rendement estimée est de 1.13%.l'analyse chimique a permis de le classé du chimiotype 1.8 cénéole avec la la présence de 23 composants avec un pourcentage de 98.51% dans les composants majoritaires sont : 1.8 ciniole, camphene ,géraniole avec 27.32% 15.6% 8.32% respectivement.

Ces résultats ont pu mettre en évidence la variabilité de la composition chimique des deux huiles essentielles par rapport à d'autres régions d'après la littérature. Egalement la prédominance des composés monoterpéniques des deux HEs.

Concernant les effets insecticide les essais réalisés ont montré que les deux huilles essentielles ont un effet insecticide sur les deux insectes *S.oryzae* et *T.confusum*. d'après les résultats obtenus, il ressort que L'efficacité des huiles essentielles par contacte direct et

ingestion donne des résultats assez intéressants par rapport aux résultats des modes d'inhalation.

L'effet insecticide des huiles essentielles du romarin s'est avérée la plus insecticide et cela après quelques heures de traitement en le comparant à celui de la menthe pouliot.

De plus on constate que les femelles des deux insectes ont manifesté une résistance importante par rapport aux mâles puisque les mortalités ne dépassent pas les 70% pour les femelles et totale pour les mâles.

Dans l'évaluation de l'activité des huiles essentielles vis-à-vis *S.oryzae* sur les graines reconstituées, toutes les huiles utilisées ont empêché l'émergence. Aucun adulte survivant n'a été dénombré, sauf dans le témoin. Ceci indique la toxicité des huiles vis-à-vis les œufs de *S.oryzae* et de *tribolium castenum*.

Concernant l'effet antifongique, les résultats obtenus montrent que l'huile du romarin est la plus fongicide que celle de la menthe pouliot. Cela sera attribué à la différence de leur composition chimique et la complexité des différents constituants des deux HEs.

La formulation poudreuse à base d'argile avait un double effet sur les insectes : un effet de l'HE et un effet de la bentonite connue pour son effet insecticide puisque elle appartient aux argiles connues par leur effet adsorbant de l'humidité du milieu.

Suite aux résultats obtenus au tout au long de ce travail, il ressort que les huiles essentielles étudiées avaient des effets très appréciables que ce soit de l'effet insecticide ou fongicide. Cela est dû à leur composition complexe et à la synergie entre ces composantes majoritaires et minoritaires.

Toutefois, l'objectif principal de ce travail étant de trouver une alternative aux insecticides synthétiques constitués uniquement de composés naturels et donc biodégradables, il serait intéressant de :

-Déterminer les fractions les plus actives et éventuellement de caractériser les molécules responsables de ces activités biologiques.

-L'application des essences végétales pour le traitement d'agents phytopathogènes au niveau des serres.

Conclusion générales

-La réalisation d'une étude toxicologique avant l'application des huiles essentielles au niveau des silos de stockages.

-Faire une étude de l'enrobage des graines par des formulations insecticides.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- 1) **Aazza S., Lyoussi B. and Miguel MG., 2011.** Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Activities of Some Commercial Essential Oils and Their Major Compounds. *Molecules*. **16**: 7672-7690.
- 2) **AFNOR, 2000.** Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 P. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles 663 P.
- 3) **Aruma OL., Halliwell B., Aeschbach R., Loligers J., 1992.** Antioxidant and pro-oxidant properties of active rosemary constituents: Carnosol and carnosic acid. *Xenobiotica*.**22**: 257-268.
- 4) **Atik Bekkara F., Bousmaha L., Taleb Bendiab SA., Boti JB. et Casanova J., 2007.**Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'étatspontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*. **7**: 6-11.
- 5) **Barla, A., Topcu G., Oksuz S., Tumen G. and Kingston DGI., 2007.** Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis*. L. *Food Chem*. **104**: 1478-1484.
- 6) **Beirão ARB. and Bernardo-Gil MG., 2006.** Antioxidants from *Lavandula luisieri*. *2^oMercosur Congress on Chemical Engineering*. Portugal. 8p.
- 7) **Belakhdar J., 1997.** Pharmacopée marocaine traditionnelle, Paris, Édition Ibis Pres, 764 p.
- 8) **Beloued A., 2005.** Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Alger. 124p.
- 9) **Benhabiles NEH. and Aït Ammar H., 2001.** Comparative study of Algeria's *Rosmarinus eriocalys* and *Rosmarinus officinalis*. *Perfumer & Flavorist*. **26**: 40 – 48.
- 10) **Benjilali B., Tantaoui-Elarki A., Ismaili-Alaoui M., 1986.** Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélose. *Plant MédPhytothér*. 155-167.
- 11) **Bennadja S., Tlili Ait Kaki Y., Djahoudi A., Hadeif Y. and Chefrour A., 2013.** Antibiotic activity of the essential oil of laurel (*Laurus nobilis* L.) on eight bacterial strains. *Journal of Life Sciences*. **7(8)**: 814-819.
- 12) **Berlette BS. and Stadtman ER., 1997.** Protein oxidation in aging disease, and oxidative stress. *The Journal of biological chemistry*. **272**: 20313-20316.

Référence bibliographique

- 13) **Billerbeck VG., Roques C., Vanière P., Marquier P., 2002.** Activité antibactérienne et antifongique des produits à base d'huiles essentielles. *Hygiènes X-n°3*: 248-251.
- 14) **Boutekedjiret C., Bentahar F., Belabbes R., Bessière JM., 1998.** The essential oils from *Rosmarinus officinalis* L. in Algeria. *J. Essent. Oil Res.* **10**: 680-682.
- 15) **Botineau M., 2010.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC&DOC, Lavoisier, Paris. 1021-1043p.
- 16) **Bottega S. and Corsi G., 2000:** Structure, secretion and possible functions of calyx glandular hairs of *Rosmarinus officinalis* L. *Botanical J. Linnean Soc.* **132**: 325–335.
- 17) **Bozin B., Mimica-Dukic N., Simin N., Anackov G., 2006.** Characterization of the volatile composition of essential oil of some lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *J. Agric. Food Chem.* **54**: 1822-1828.
- 18) **Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Edition. Technique et documentaire, 3^{eme} édition. 484,489,548,555,634 p.
- 19) **Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Tec. Et Doc. Lavoisier. 3^{eme} édition. 1999, P: 484-488.
- 20) **Bruneton J., 2008.** Pharmacognosie – Phytochimie, plantes médicinales, 2^{eme} Ed, Paris, Tec & Doc – Edition médicales internationales. 1188p.
- 21) **Burt S., 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *Int. J. Food Microbiol.* **94**: 223-253
- 22) **Celiktas OY, Kocabas EEH, Bedir E, Sukan FV, Ozek T, Baser KHC., 2007.** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry.* **100**: 553–559.
- 23) **Chalchat JC., Gary RP., Michet A., Benjilali B., Chabart, JL., 1993.** Essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). The chemical composition of oils of various origins (Morocco, Spain, France). *Journal of essential oil research.* **5(6)**: 613-618.
- 24) **Curtay JP. et Robin JM., 2000.** Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info.* 4p.
- 25) **Dacosta E., 2003.** Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta. Paris. 317p.
- 26) **Daroui-Mokaddem H., 2011.** Etude phytochimique et biologique des espèces : *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniolum olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum* (Asteraceae). Thèse de Doctorat. Option : Biochimie appliquée. Université Badji-Mokhtar, Annaba.

Référence bibliographique

- 27) **Deba F., Dang Xuan T., Yasuda M., Tawata S.,** 2008. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control*. **19**: 346-352.
- 28) **Derwich EH., Benziane Z., Chabir R., Taouil R.,** 2011. In vitro antibacterial activity and GC/MS analysis of the essential oil extract of leaves of *Rosmarinus Officinalis* grown in Morocco. *Int J Pharm Pharm Sci*. **3(3)**: 89-95.
- 29) **Di Pasqua R., De Feo V., Villani F., Mauriello G.,** 2005. In vitro antimicrobial activity of essential oils from Mediterranean *Apiaceae*, *Verbenaceae* and *Lamiaceae* against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Annals of Microbiology*. **55(2)**: 139-143.
- 30) **Djeddi S., Bouchenah N., Settar I., Skaltsa HD.,** 2007. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from Algeria. *Chem. Natural Comp.***43(4)**: 487-490.
- 31) **Elamrani A., Zrira S., Benjilali B., Berrada M.,** 2000. A study of Moroccan rosemary oils. *Journal of essential oil research*. **12(4)**: 487-495.
- 32) **Erdogrul OT.,** 2002. Antibacterial activities of some plant extracts used in Folk medicine. *Pharm. Biol.* **40**: 269-273.
- 33) **Faleiro L., Miguel GM., Guerrero CAC., Brito JMC.,** 1999. Antimicrobial activity of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus mastichina* (L) L. ssp. *Mastichina* and *Thymus albicans*. In: Proceedings of the II WOCMAP congress on medicinal and aromatic plants, part 2: pharmacognosy, pharmacology, phytomedicine, toxicology.
- 34) **Fisher K., Phillips C.,** 2008. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer. *Trends in Food Science & Technology*. **19**: 156-164.
- 35) **Fiorini C., David B., Fouraste I., Vercauteren J.,** 1998. Acylated kaempferol glycosides from *Laurus nobilis* leaves. *Phytochemistry*. **47**: 821-824.
- 36) **Gachkar L., Yadegari D., Rezaei MB., Taghizadeh M., Astaneh SA., Rasooli I.,** 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*. **102**: 898-904.
- 37) **Garnier G., Bezanger-Beauquesne L., Debraux G.,** 1961. Resources Medicinales de la Flore Francaise, Tome II. Ed Vigot Freres, Paris.
- 38) **Gonzalez-Trujano ME., Pena EI., Martinez AL., Moreno J., Guevara-Fefer P., Deciga-Campos M., Lopez-Munoz FJ.,** 2007. Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol*. 476-482.

Référence bibliographique

- 39) **Haddouchi F., Lazouni HA., Meziane A., Benmansour A.,** 2009. Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique SCIENCE*. **05(2):** 246 – 259.
- 40) **Hosni K., Hassen I., Chaâbane H., Jemli M., Dallali S., Sebei H.,** 2013. Enzyme-assisted extraction of essential oils from thyme (*Thymus capitatus* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): impact on yield, chemical composition and antimicrobial activity. *Ind. Crop Prod.* **47:** 291–299.
- 41) **Hussain AI., Anwar F., Chatha SAS., Jabbar A., Mahboob S. and Nigam PS.,** 2010. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology.* **41:** 1070-1078.
- 42) **Ijaz Hussain A., Anwar F., Iqbal T., and Bhatti IA.,** 2011. Antioxidant attributes of four *lamiaceae* essential oils. *Pak. J. Bot.* **43(2):** 1315-1321.
- 43) **Inouye S., Takazawa T. and Yamaguchi H.,** 2001. Antimicrobial activity of the essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antibacterial Chemotherapy.* **47:** 565-573.
- 44) **Iserin P.,** 2001. Encyclopédie des plantes médicinales, Tome 2. Ed. Larousse. Londres. 143- 225-226p.
- 45) **Jiang Y., Wua N., Fua YJ., Wang W., Luo , M., Zhaoa CJ.,** 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environ. Toxicol.Pharmacol.* **32:**63–68.
- 46) **Jordán MJ., Lax V., Rota MC., Lorán S., Sotomayor JÁ.,** 2013. Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. *Food Control.* **30:** 463–468.
- 47) **Joyeux M., Rolland A., Fleurentin J., Mortler F., Dorfman P.,** 1990. *tert*-butylhydroperoxide- induced injury in isolated rat hepatocytes: a model for studying antihepatotoxic crude drugs. *Planta Med.* **56:** 171-4.
- 48) **Jung T., Bader N., Grune T.,** 2007. Oxidized proteins: intracellular distribution and recognition by the proteasome. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* **462:** 231-237.
- 49) **Kadri A., Zarai Z., Chobba B., Bekir A., Gharsallah N., Damak M. and Gadoura;** **2011.** Chemical constituents and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil cultivated from south-western of Tunisia. *J. Med. Plants Res.* **5(29):** 6502-6508.

- 50) Kang HW., Yu KW., Jun WJ., Chang IS., Han SB., Kim HY., Cho HY., 2002. Isolation and characterization of alkyl peroxy radical scavenging compound from leaves of *Laurusnobilis*. *Biol Pharm Bull.* **25**: 102-108.
- 51) Kartal N., Sokmen M., T epe B., Daferera D., Polissiou M., Sokmen A., 2007. Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chemistry.* **100**: 584–589.
- 52) Kheyer N., Meridja D., Belhamel K., 2014. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerian Journal of Natural Products.* **2(1)**: 18-26.
- 53) Khosravi AR., Shokri H., Farahnejat Z., Chalangari R., Katalin M., 2013. Antimycotic efficacy of Iranian medicinal plants towards dermatophytes obtained from patients with dermatophytosis. *Chin. J. Nat. Med.* **11**: 43–48.
- 54) Kivanc M., Akgul A., 1986. Antibacterial activities of essential oils from Turkish spices and citrus. *Flavour Fragr. J.* **1(4)**:175-179.
- 55) Kivcak B., Mert T., 2002. Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* L. leaf extracts. *Fitoterapia.* **73**: 242-243.
- 56) Knobloch, K.A., Pauli, B., Iberl, H., Weigand, N., Weis. 1989. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *J. of Ess. Oil Res.* **1**: 119-123.
- 57) Laib I., 2010. Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs séchées de *Lavandula Officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Mémoire de Magister. Option : Technologie alimentaire. Université Mentouri Constantine.
- 58) Lograda T., Ramdani M., Chalard P., Figueredo G., 2014. Characteristics of essential oils of *Rosmarinus officinalis* from eastern Algeria. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine.* **2**: 794-807.
- 59) Lopez P., Sanchez C., Batlle R., Nerin C., 2005. Solid and vapor phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains. *J. Agric. Food Chem.* **53**: 6939- 6946.
- 60) Mann CM., Cox SD., Markham JL., 2000. The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Lett Appl Microbiol.* **30**: 294-297.
- 61) Mason TL. and Wasserman BP., 1987. Inactivation of red beet beta-glucan synthesis by native and oxidized phenolic compounds. *Phytochemistry.* **26**: 2197-2202.

- 62) **Mediouni Ben Jemâa J., Tersim N., Taleb Toudert K., Larbi Khouja M.,** 2012. Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored*
- 63) **Miladi H., Ben Slama R., Mili D., Zouari S., Bakhrouf A., Ammar E.,** 2013. Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens. *Natural Science*. **5(6):** 729-739.
- 64) **Moghtader M. and Farahmand A.,** 2013. Evaluation of the antibacterial effects of essential oil from the leaves of *Laurus nobilis* L. in Kerman Province. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*. **5(2):** 13-17.
- 65) **Ouibrahim A, Tlili-ait kaki Y , benadja S, Amrouni S ;** 2013. Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from North east of Algeria. *African journal of microbiology research* 6p
- 66) **Simo IK., Mbaveng AT., Awoussong PK., Patnam R., Roy R., Ngadjui BT.,** (2009). Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and compounds from *Dorstenia turbinata* (Moraceae). *S. Afr. J. Bot.* **75:** 256–261.
- 67) **Oyededeji OA., Adeniyi BA., Ajayi O. and Konig WA.,** 2005. Essential oil composition of *Piper guineense* and its antimicrobial activity. Another chemotype from Nigeria. *Phytotherapy Research*. **19:** 326-364.
- 68) **Ozcan M., Chalchat J.,** 2005. Effect of different locations on the chemical composition of essential oils of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves growing wild in Turkey. *Journal of Medicinal Food*. **8:** 408-411.
- 69) **Ozcan B., Esen M., Sangun MK., Coleri A. and Caliskan M.,** 2010. Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. *Journal of Environmental Biology*. **31:** 637-641.
- 70) **Pariente L.,** 2001. Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques. 2ème Académie nationale de pharmacie. Paris. 1643p.
- 71) **Pintore G., Usai M., Bradesi P., Juliano C., Boatto G., Tomi F., Chessa M., Cerri R. and Casanova J.,** 2002. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*. **17:** 15-19.
- 72) **Politeo O., Jukic M., Milos M.,** 2007. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. *Food Chemistry*. **101:** 379–385.

Référence bibliographique

- 73) **Prior RL., Wu X. and Schaich K., 2005.** Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **53(10)**: 4290-4302.
- 74) **Quezel P. et Santa S., 1962.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I. Ed CNRS. Paris. 565p.
- 75) **Quezel P. et Santa, S., 1963.** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed CNRS. Paris. 360-361 p.
- 76) **Roginsky V. and Lissi EA., 2005.** Review of method to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry*. **92**: 235-254.
- 77) **Ruberto G., Baratta MT., 2000.** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem*. **69**: 167-174.
- 78) **Sanchez-Moreno C., 2002.** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*.**8**: 121-137.
- 79) **Santoyo S., Lioria R., Jaime L., Ibanez E., Senorans FJ. and Reglero G., 2006.** Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from *Laurus nobilis* L. Chemical and functional characterization. *European Food Res. Technol.***224**: 75–81.
- 80) **Sartoratotto A., Machado ALM., Delarmelina C., Figueira GM., Duarte MCT., Rehder VLG., 2006.** Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. **35**: 275-280.
- 81) **Schauenberg O. and Paris F., 1977.** Guide to Medicinal Plants. Keats, New Canaan, CT.
- 82) **Serrano E., Palma J., Tinoco T., Venancio F., Martins A., 2002.** Evaluation of the essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from different zones of "Alentejo" (Portugal). *Journal of Essential Oil Research*. **14(2)**: 87-92.
- 83) **Shan B., Cai YZ., Brooks JD. and Corke H., 2007.** The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int. J. Food Microbiol*. **117**: 112-119.
- 84) **Sharma S., Sangwan NS. et Sangwan RS., 2003 :** Developmental process of essential oil glandular trichome collapsing in menthol mint. *Current sci*. **84** : 544 – 550.
- 85) **Shon MY., Kim TH., Sung NJ., 2003.** Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. *Food Chem*. **82**: 593-597.

- 86) Sienkiewicz M., Lysakowska M., Pastuszka M., Bienias W., Kowalczyk E., 2013. The Potential of Use Basil and Rosemary Essential Oils as Effective Antibacterial Agents. *Molecules*. **18**: 9334-9351.
- 87) Simic M., Kundakovic T., Kovacevic N., 2003. Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*. **74**: 613-616.
- 88) Simon JE., Quinn J., Murray RG., 1999. Basil: a source of essential oils. In: Janick, J., Simon, J.E. (Eds.), *Advanced in New Crops*. Timber Press, Portland. 484-489p.
- 89) Spichiger RE., Savolainen VV., Figeat M., Jeanmonod D., 2002. Botanique systématique des plantes à fleurs. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes. 413p.
- 90) Touafek O., Nacer A., Kabouche A., Kabouche Z., and Bruneau C., 2004. Chemical composition of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* cultivated in the Algerian Sahara. *Chemistry of Natural Compounds*. **40(1)**: 28-29.
- 91) Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M., Tanaka, T., Linuma, M., 1996. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J.Ethnopharmacol*. **50**: 27-34.
- 92) Usman LA., Ismaeel RO., Zubair MF., Saliu BK., Olawore NO., Elelu N., 2013. Comparative studies of constituents and antibacterial activities of leaf and fruit essential oils of *Ocimum basilicum* grown in north central Nigeria. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*. **3**: 47-52.
- 93) Wang W., Wu N., Zu YG. and Fu YJ., 2008. Antioxidant activity of *Rosmarinus officinalis* L oil compared to its main compounds. *Food chemistry*. **108** (3): 1019-1022.

Annexe

Annex 1 :

Tableau 01 : Efficacité de l'huile essentielle de Romarin par ingestion vis à vis de *T.confusum*

doses (ul/cm2)	log dose	temps	mortalité observée				Mortalité é moyenn e	Mortalité é corrigée	probits
			R1	R2	R3	R4			
0,05	1,61	2h	0	0	1	0	0,83	0,83	2,67
		4h	0	0	1	0	0,83	0,83	2,67
		24	0	1	1	1	2,50	2,50	2,71
		48h	0	1	2	1	3,33	3,33	2,95
0,1	2,30	2h	1	0	1	1	2,50	2,50	3,02
		4h	2	0	1	2	4,17	4,17	3,27
		24	2	1	1	2	5,00	5,00	3,36
		48h	2	1	2	3	6,67	6,67	3,48
0,2	3,00	2h	0	1	2	0	3,75	3,75	3,89
		4h	0	1	2	1	5,00	5,00	3,36
		24	1	2	3	1	8,75	8,75	3,64
		48h	1	2	5	2	12,50	12,50	3,85
0,4	3,69	2h	3	2	3	3	13,75	13,75	3,9
		4h	5	4	4	5	22,50	22,50	4,24
		24	5	7	6	7	31,25	31,25	4,51
		48h	5	8	7	8	35,00	35,00	4,61
témoin		2h	0	0	0	0	0		
		4h	0	0	0	0	0		
		24	0	0	0	0	0		
		48h	0	0	0	0	0		

Tableau 1 : Analyse de la variance de la mortalité par contact vis-à-vis *S.oryzae*

Source	DDL	SC	MC	F	P	CV
Produit	4	178.96	44.74	26.47	0,000000	16.39
Dose	4	3546.46	886.61	524.62	0,000000	
Produit*Dose	16	120.34	7.52	4.45	0,000004	
Erreur	75	126.75	1.69			
Total	99	3972.51				

Tableau 2 : Efficacité de l'huile essentielle de la menthe pouliot par inhalation vis à vis de *sitophylus oryzae*

temps (heures)			mortalité observée				(%)	(%)	Probits	
			R1	R2	R3	R4	Mortalité moyenne	Mortalité corrigée		
72			0	1	1	0	1,67	1,67	2,75	
96			0	1	1	0	1,67	1,67	2,67	
120			0	1	1	0	1,67	1,67	2,67	
144			0	1	2	0	2,50	2,50	2,7	
72			1	0	0	1	1,67	1,67	2,75	
96			2	0	0	1	2,50	2,50	2,7	
120			2	0	0	1	2,50	2,50	2,7	
144			2	1	0	1	3,33	3,33	2,96	
72	doses (ul/cm ²)	log dose	1	3	0	2	7,50	7,50	3,57	
96			1	3	2	3	11,25	11,25	3,73	
120			2	3	2	3	12,50	12,50	3,78	
144			3	3	2	3	13,75	13,75	3,85	
72			6	2	5	3	20,00	20,00	4,16	
96			8	5	5	6	30,00	30,00	4,51	
120			8	7	5	9	36,25	36,25	4,62	
144			8	7	5	12	40,00	40,00	4,73	
72					0	0	0	0		
96					0	1	0	0		
120					0	1	0	0		
144					0	1	0	0		

Tableau 03 : Analyse de la variance de la mortalité par contact vis-à-tribolium C

Source	DDL	SC	MC	F	P	CV
Produit	4	250.16	62.54	53.91	0,00	15.56
Dose	4	3378.86	844.71	728.20	0,00	
Produit*Dose	16	207.34	12.95	11.17	0,00	
Erreur	75	87	1.16			
Total	99	3923.36				

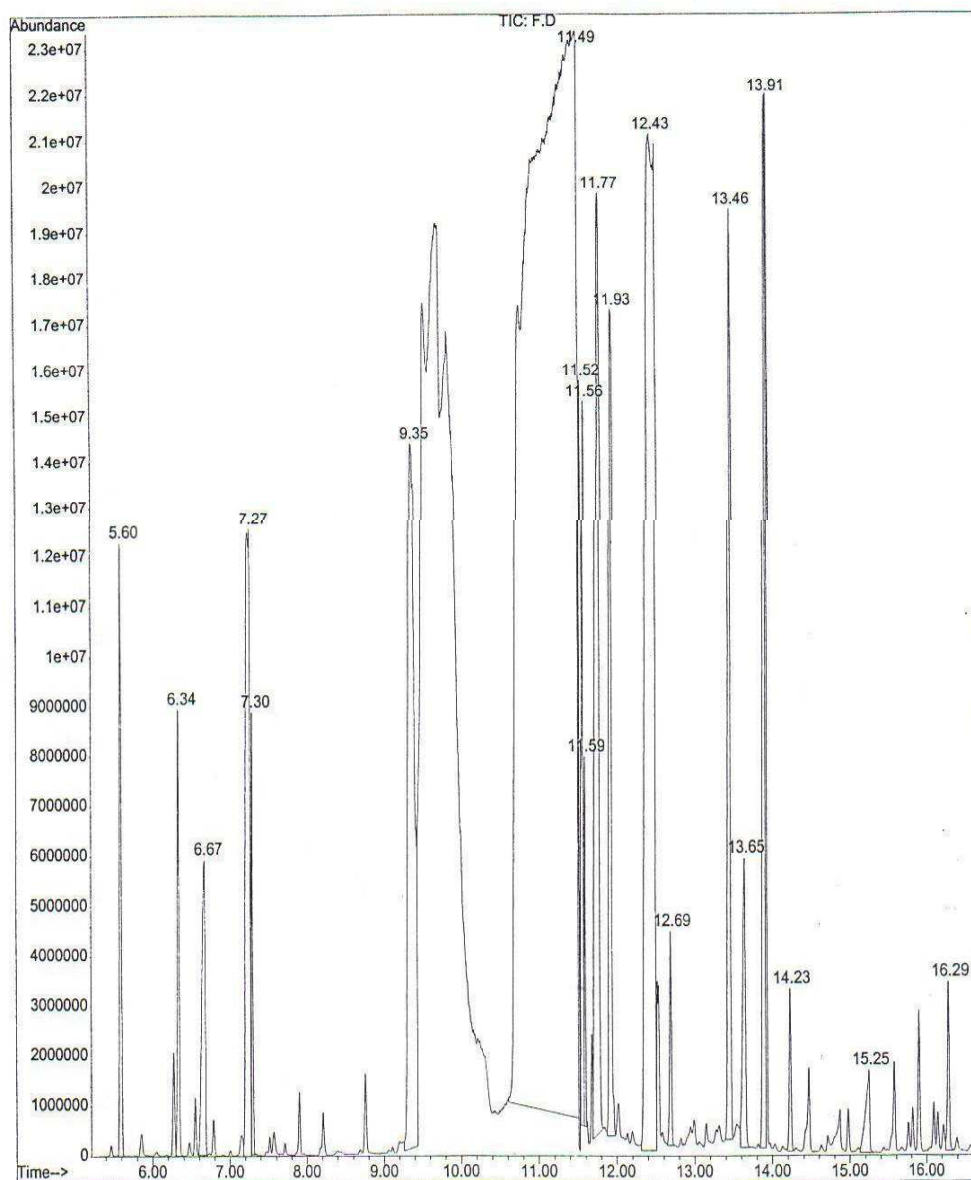
Tableau 04 : Analyse de la variance de la mortalité par inhalation vis-à-vis *S.oryzae*.

Source	DDL	SC	MC	F	P	CV
Produit	4	1234,25	308,56	109,12	0,0	16.85
Temps	5	1248,97	249,79	88,34	0,00	
Produit*Temps	20	276,95	13,85	4,90	0,00	
Erreur	90	254,50	2,83			
Total	119	3014,67				

Tableau 05 : Analyse de la variance de la mortalité par inhalation vis-à-vis *Tconfusum*.

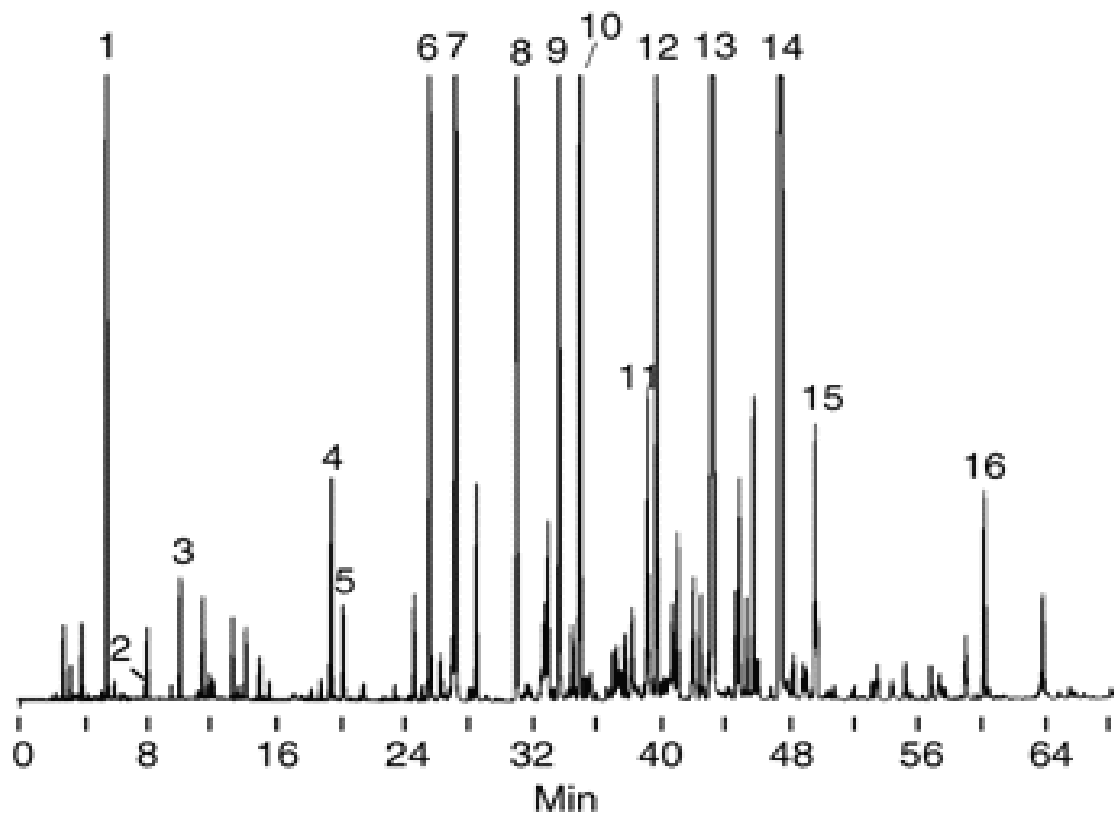
Source	DDL	SC	MC	F	P	CV
Produit	4	1847,47	461,85	269,05	0,0	13,26
Temps	5	321,97	64,39	37,51	0,00	
Produit*Temps	20	273,53	13,68	7,97	0,00	
Erreur	90	154,50	1,72			
Total	119	2597,45				

Annexe 2 :



Graph 01 : pics représentant de la chromatographie couplé a un spectrophotometre de la menthe pouliot 0.1µL.

- | | |
|---------------------|-------------------------|
| 1. α -Pinene | 9. Guaia-6,9-diene |
| 2. β -Pinene | 10. Citronellyl formate |
| 3. Limonene | 11. α -Terpineol |
| 4. cis-Rose oxide | 12. Geranyl formate |
| 5. trans-Rose oxide | 13. Citronellol |
| 6. Menthone | 14. Geraniol |
| 7. Isomenthone | 15. Geranyl butyrate |
| 8. Linalool | 16. Geranyl tiglate |



Grphe 02 : pics représentant de la chromatographie couplé a un spectrophotometre du romarin 0.1 μ L.

ORIGINAL ARTICLE

Insecticide effect of pennyroyal and rosemary essential oils on the rice weevil

Sehari Nadia Hanane^{1*}, Hellal Benchaben², Sehari Mira¹, Maatoug M'Hamed¹

¹Laboratory of Agro Biotechnology and Nutrition in Semi-arid Zones, Department of Biology Faculty of Nature and Life Sciences, Ibn Khaldoun University of Tiaret. Tiaret, Algeria.

E-mail: rymresahi@yahoo.com, nadia_sehari@yahoo.com, maatoug.moh@gmail.com

²Geomatics and Sustainable Development Laboratory.

Ibn Khaldoun University of Tiaret. Tiaret, Algeria E-mail: hellal_b@yahoo.com

*Corresponding Author E-mail nadia_sehari@yahoo.com

Submitted: 28.01.2018. Accepted: 06.03.2018

The study aims at evaluating the potential insecticide essential oils from two plants of the family *Lamiaceae* pushing the spontaneous state in the Tiaret region (western Algeria). Insecticides tests were performed in the laboratory by the direct contact method. The results of these tests have shown that rosemary essential oil has remarkable insecticidal properties. They induced 100% mortality of adult rice weevils to 15µl dose after only 24 hours of exposition. The essential oil of pennyroyal induced 70 % mortality at the same dose and for the same exposure time. Lethal doses (LD50) are determined in the order of 5,58 for rosemary and 7,36µl for pennyroyal. The LD90 are in order of 9.36 µl it mean between the second and third dose tested for the rosemary and of 12.52µl for the pennyroyal and in the same two essential oils experimental conditions prevent the development of rice weevil larvae *Sitophilus oryzae* to 5 µl dose.

Key words: essential oils; insecticides activities; *Mentha pulegium*; *Romarinus officinalis*; *Sitophilus oryzae*

Introduction

Foodstuff are particularly attacked by insects when stocked (Sigaut 1978; El Camara, 2009) These insects are very feared, their presence alone depreciates the stock (Fleurrat-Lessard, 1982).

They go through four stages of their life cycle from the egg to adult hood. Eggs, depending on the species are left inside or outside the cereal grain. To protect the stock of grains the rate of humidity must be maintained between 10 and 15%. This rate by hot air intake less than 65°C (Dupin, 1989). When stocks are infected a treatment is necessary to protect them from harmful insects. Chemical treatment of infected stocks is done by contact or fumigation (Cruz et al., 1988). The treatment by contact consists of recovering the grains with an insecticide, which acts on predators its effect is rather fast with longer persistence. The grains fumigation treatment is made by toxic gas which destroys eggs, larva and nymphs which have developed inside the grain. The chemical battle is harmful for human health and its wide use makes insects more resistant (Lee et al., 2001; Sanon & al, 2002). Nowadays researches are made to obtain a pesticide local aromatic plants (Vincent et al., 2007; Isman, 2006). They may be used alone and frequently without harm the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.) is a devastating insect of foodstuff. It reaches its adulthood in less than 28 days at 30 °C and at 15 % of humidity. The larva and the nymph are developed inside the grain (Balachowsky, 1962). The adult between 0.2 and 0.4 cm can fly and attack other cereals.

Our objective in this study is the development of some aromatic vegetal species and the evaluation of their effect on the rice weevil (*Sitophilus oryzae*). The oil used is extracted from mint and rosemary on the other side rice weevil is raised in laboratory. This insect is responsible for heavy losses of cereals, of cryptogamic infections and toxin production (Kranz et al., 1977; De-Groot, 2004).

Methods

Insects breeding and essential oils

The insect *Sitophilus oryzae* was sampled from infected cereals from the Institute of Field Crops and Technology of Tiaret (ALGERIA). Its mass breeding in the laboratory of agrobiotechnology and of nutrition in semi-arid zones, department of biology of Tiaret University in petri dishes on bread wheat grains (Fig. 1). The operation took place at constant temperature 27 °C and a humidity rate between 65% and 70%. The subjects used for testing are obtained by sieving wheat grains used for breeding.

Only larva L3 and adults are retained. The difference between males and female's adults was made by comparison of the rostrums and abdomen. The males got a thick and short rostrum and an abdomen concave at the tip (Delobel et Tran, 1993).



Figure 1. Laboratory culture of rice weevil

The vegetal equipment which served to the extraction of essential oils consist of pennyroyal and rosemary leaves (Fig. 2). The harvesting is carried out in blooming phase of the studied vegetal species. The drying is carried out in laboratory in ambient temperature and in shade for 10 days.

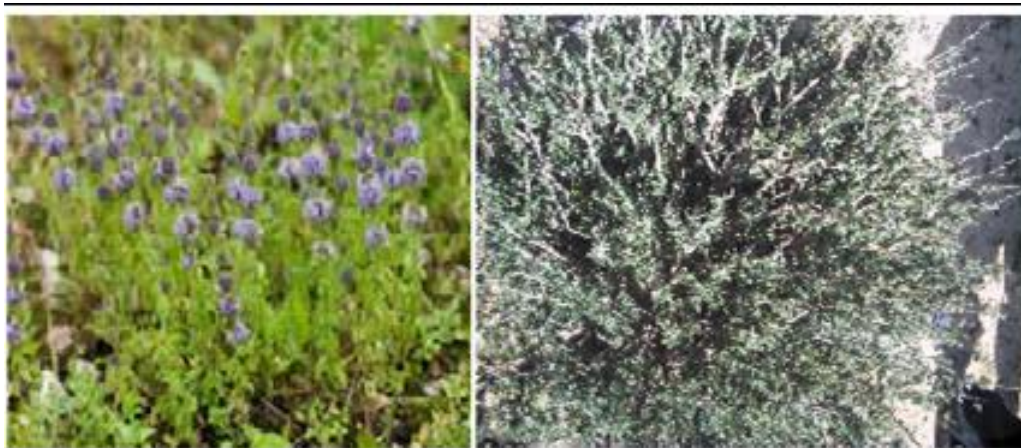


Figure 2. Plants view (from the left to the right: pennyroyal and rosemary).

Extraction and analysis of essential oils

Essential oils are obtained by leaves' (100 g) hydrodistillation during 4 hours in an appliance of Clevenger type. The essences less dense than water are collected by decantation in decanting ampoule and stored in opaque tubes at 4°C. The oils chemical composition is determined in gaseous phase by chromatography (Arpino et al., 1995) coupled to mass spectrometry (CG/MS) under the following

Operating conditions:

The analysis is carried out with a chromatograph in gaseous phase coupled to spectrometer of shimadza type equipped with flames ionization detector equipped with melted silica capillary column type QP2010C25 FS-OV1701 length 25m, internal diameter 0.25mm and 0.25µm film thickness. The column temperature is programmed from 60 to 220 °C at the rate of 3° C/min. The temperature of the injector is fixed at 240 °C that of the detector at 250 °C. The output of carrier gas (helium) is fixed at 1.5ml/min. The sample of pure essential oil injected is 0.1 µl. A sample of each essential oil is analyzed to determine its chemical composition

Rice weevil was treated as follows:

20 grams of healthy grains (variety hebda) were put in petri dishes of diameter 9 cm and height 2 cm. The healthy grains are imbibed separately by the two essential oils with different doses (5, 10, 15, and 20 µl). The second step consists to store 10 types of the insect *Sytophylus oryzae* in Petri dishes for 48 hours. The experimentation consists in five repetitions for each tested essential oil including the four doses, the sexes and the age of the insect.

Reference lots (untreated grains) are also considered for comparison. The dead insects in each Petri dish are counted regularly after 2h, 4h, 24h, and 48h.



Figure 3. Photos of the experimental protocol plan

Statistical analysis:

To estimate the impact of essential oils on insects was performed by Anova variance analysis with two classification criterions is carried out with the dead insect's number according to the concentration and the time with the Statistica 6.0. The toxic efficiency is measured by its DL50 and DL90 which represents the quantities of lethal toxic substances of respectively 50% and 90% of death in the same lot.

Results

Output and chemical composition

The essential oils average outputs are calculated according to the dry leaves of each studied plant samples of *Mentha pulegium* give a rate of 1,38% higher than that obtained from *Rosmarinus officinalis* (1.13%).

The essential oils chromatographic analysis allowed the identification of nineteen components for the pennyroyal

Table 1. Major components of pennyroyal essential oil.

Components	Pulegone	β -pinene	Linalool	Eucalyptol
rate%	42.32	7.62	6.24	6.26

The major component is pulegone: 42.32%, followed by monoterpenes and sesquiterpenes. There is a presence of eucalyptol with nearly 6.26%, menthone with 1.32% and menthol with 2.35%, an interesting rate, very much in demand for food products aromatization. there are other components in low content as Verbenone 3.11%, carvone and caryophyllene with respectively 0.32 and 0.65%. The rosemary essential oil analysis allowed the identification of twenty-two (22) components representing 98.83% of the essence; the following table shows the major components of this essential oil

Table 2. Rosemary essential oil major components listing

Components	1.8 cinéole	Camphene a	Frechen	le géraniol
Rates	27.32%	15.60%	6.1%	8.32%

The rosemary essential oil composition depends on its different chemotypes and on the degree of plant development. Many rosemary chemotypes have been listed in Algeria. Ours is 1.8 cineole as it is the major component.

Insecticides tests results

The death rate of adults *Sitophylus oryzae* specie is proportional to the dose of essential oils tested. The essence studied diminish highly ($P < 0.0001$) the life of adults when the dose is augmented by 5 μ l to 20 μ l / 20g of grains. The results of essential oils insecticides tests of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* showed an important insecticide activity.

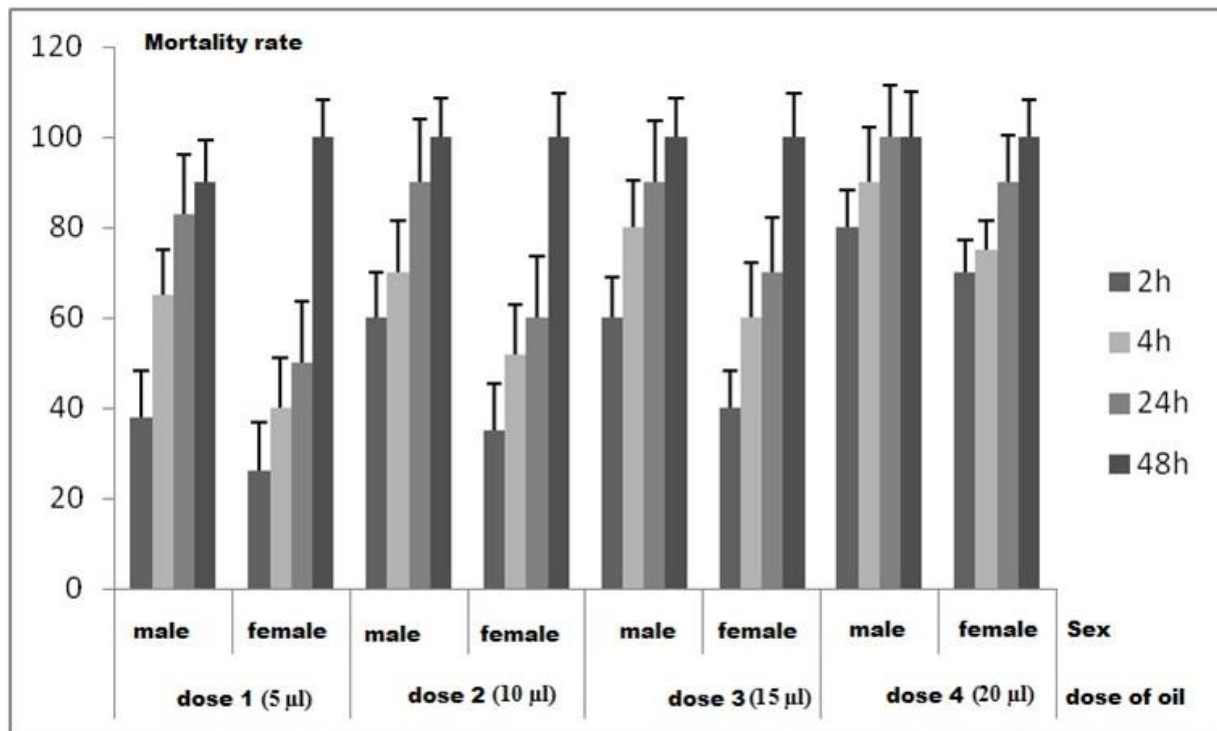


Figure 4. The degree of activity of these oils changes according to the sex, the dose used and treatment length of time

After forty-eight-hour contact, the adult *Sitophilus oryzae* mortality rate reached 100% for all the tested doses. Examination of Figs 4 and 5 also shows variability in the mortality rate between males and females. In fact, the essential oil of rosemary caused $83 \pm 8.41\%$ mortality for males and $50 \pm 11.48\%$ for females, at the lowest tested dose, after 24 hours of treatment. This rate is fluctuating for both sexes at a dose of $20 \mu\text{l}$.

The essential oil of rosemary is more effective than that of pennyroyal mint; it recorded a mortality percentage of $38 \pm 11.13\%$ for males and 26 ± 18.24 for females, at the lowest dose ($5 \mu\text{l}$) for only two hours of exposure. For the same dose of $5 \mu\text{l}$, 30% of male adults die after two hours of treatment with the pennyroyal essential oil and 40% with that of rosemary. The mortality rate increases gradually through exposure time and the dose of the essential oil to reach 100% after forty-eight hours.

The highly significant differences are confirmed through the test of by variance analysis (Table 3): plant effect and dose effect for the plant factor ($p < 0.001$) and the dose factor ($p < 0.001$).

Table 3. The effect of genotype and water treatment and their interaction on the viability of insects.

	F	P
Oils effect	8.673	0.0001
Dose effect	68.259	0.0000
Interaction oil dose	27.115	0.0000

The determined dose for lethal LD50 is $5.58 \mu\text{l}$ for rosemary and $7.36 \mu\text{l}$ for pennyroyal.

The DL90 lethal dose is ordered as follow $10.36 \mu\text{l}$ for rosemary; which comes between the second dose ($10 \mu\text{l}$) and the third one ($15 \mu\text{l}$) studied.

However, the pennyroyal mint order is of $12.52 \mu\text{l}$, which is located between the third ($15 \mu\text{l}$) and the fourth ($20 \mu\text{l}$) tested dose. The effect of *Sitophilus oryzae* essential oils on females is less remarkable compared to males, because at the dose of $5 \mu\text{l}$, the mortality rate rises from 15% to 40%, after 24 hours of exposure. At a dose of $15 \mu\text{l}$, the mortality in females increased from 45% for 2 hours of exposure to 80% for 24 hours of treatment.

Tests carried out with the two essential oils on L3 larvae aged 14-day-old reveal that they are toxic at the lowest dose, reaching 60% for rosemary oil and 36% for pennyroyal essence after only 2h of treatment (Fig. 5).

Compared to that of adults, the destruction of larvae over a shorter period, of twenty-four hours is noted for the two essential oils of two plant species. Under the same experimental conditions, the two essential oils prevent the development of the larvae by blocking their development cycle.

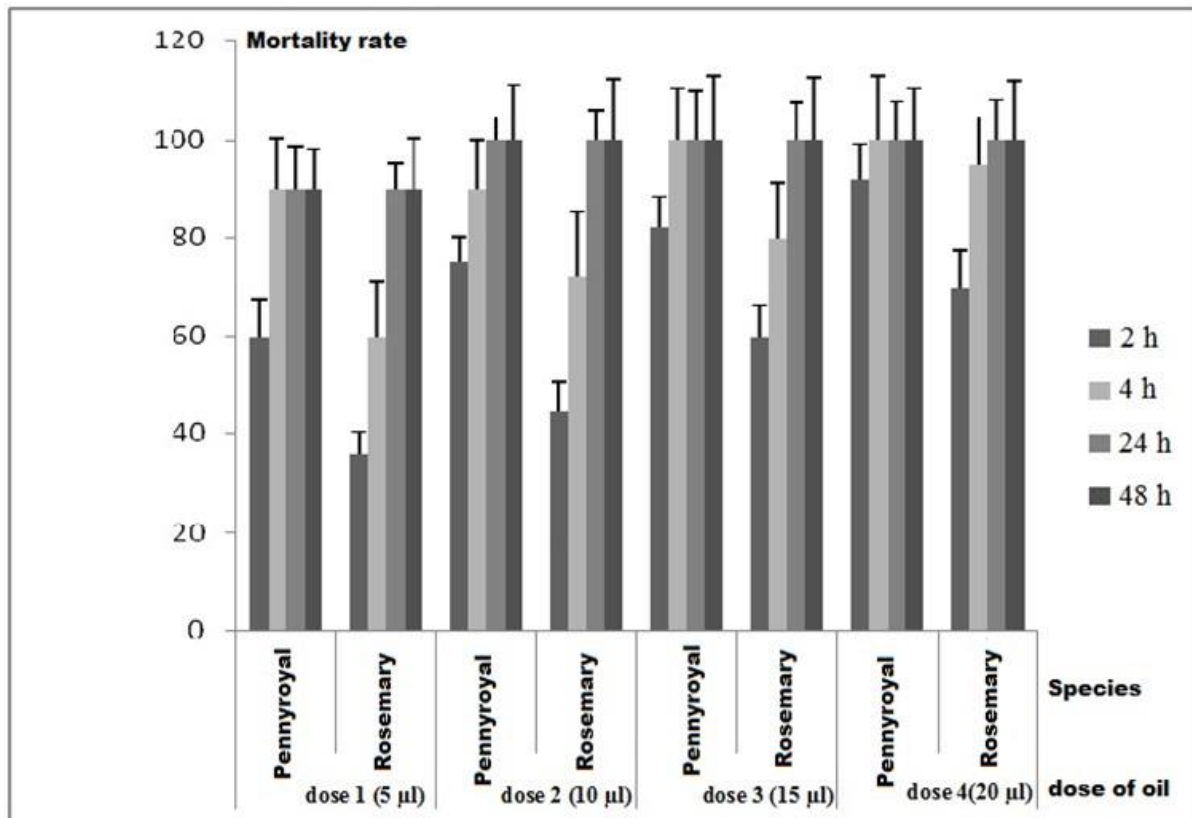


Figure 5. Mortality rate of *Sitophilus oryzae* larvae in relation to the dose and time of exposure to the essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Mentha pulegium*.

Discussion

The composition of the essential oil of rosemary strongly depends on its different chemotypes and the degree of development of the plant (Afaltuni et al., 2005). Different rosemary chemotypes were recurrent in Algeria; the one identified is type 1.8 cineole. Atik Bekkara et al. (2007) reported that the spontaneous rosemary essential oil at the region of Tlemcen is characterized by the presence of α -pinene (23.1%) followed by camphor (15.3%), whereas that of cultivated rosemary is less rich in camphor (13.8%) and α -pinene (12.6%). On the other hand, the volatile species of the region of Algiers owns 1.8 cineole (52.4%) as the major constituent (Boutekedjiret et al., 1998),

The results of rosemary essential oil yields are slightly higher than those reported in other regions of Algeria. According to Djeddi et al. (2007), the productivity of rosemary of Algiers was estimated at 0.82%, and that of Tlemcen at 0.6%. Regarding the yield of pennyroyal of the volatile essence Brada et al. (2011) reported a return of $0.7 \pm 0.1\%$ in the Ain-Defla region.

The comparison of the results obtained with those found in the literature showed some differences at the level of the major compounds constituting the essential oil of rosemary as well as the percentage of the various components identified. This can be attributed to ecological factors, genetic differences, stage of plant development or the part of plants used (Guido et al., 2004; Zoran et al., 2009; Ozcan and Chalchat, 2008; Zekovic et al., 2009).

The different essential oils experienced of varying degrees brought insecticidal effects on the rice weevil. This property could be of interest in the production of crops and the preservation of stored food. This great insecticidal activity of these essential oils can only be explained by their chemical profiles rich in mono-terpenes (+ 75%). Indeed, Cseke and Kaufman (1999) define essential oils as secondary metabolites (biochemical complex) produced by plants as a defense against phytophagous pests.

The contact application of essential oils of rosemary and pennyroyal causes high mortality rates; both species show a great mortality reaching 50% on the insect "*Sitophilus oryzae*". These results are corroborated by the work of Kim et al (2003). Those of Benayad (2008) confirm that pennyroyal essential oil behaved like an insecticide after 24 hours of treatment.

The application of the essential oils of rosemary and thyme on *Rhyzopertha dominica*, by contact and by inhalation, made it possible to highlight their insecticidal effect. In fact, rosemary was effective in contact, at a dose of 1.384 mg/cm^2 causing 89.72% mortality, while thyme, under the same conditions, reached the rate of 100% (El Guedoui, 2003).

Essential oils have anti-appetizing effects, eventually affecting the growth, moulting, fertility, and the development of insects and mites. Thus Regnault-Roger and Hamraoui (1995) observed the effect of linalool, thymol and carvacrol on the fertility and the number of eggs laid from the bean weevil. As evidence, they showed complete inhibition of larval penetration in grains treated with linalool and thymol. In addition, thymol behaved as an inhibitor of adult emergence.

Tapondjou et al. (2005), have clearly demonstrated the insecticidal activity of essential oils rich of monoterpenes vis-à-vis *Sitophilus zeamais* but where they showed more than 50% mortality, after only 24 hours of exposure.

The toxic activity of essential oils vis-a-vis *Sitophilus oryzae* eggs has been proved; thus, the oils used prevented the emergence of adults where no survivors were counted, compared to the control.

Conclusions

The local plants tested have appreciable yields of essential oils. They are ordered as follow: 1.28% for pennyroyal and 1.13% for rosemary. Chromatographic analysis of the essential oils of the plants leaves studied allowed to identify twenty-two terpene compounds in rosemary and nineteen others in pennyroyal mint. The major components are 1.8 cineole (27.32%) and pulegone (42.32%) respectively. The results of the insecticide tests prove their efficiency in the fight against the rice weevil (*Sitophilus oryzae*). Indeed, after 24 hours of contact with the lowest dose of the essential oil, the mortality rate has exceeded 50%. The lethal doses (LD50 and DL90) determined for both species confirm that rosemary is more toxic than pennyroyal when used against adult rice weevil. However, these two species are toxic, at the lowest dose in addition to the contact application of volatile species inhibits metamorphosis and prevents larvae of this insect to complete their life cycle and reach the adult stage. The results show that the essential oils of pennyroyal and rosemary could be the potential alternative towards the use of insecticides. Therefore, it is important to extract the active ingredients of these plants and test their insecticidal powers on a large panel of insects that resistant to insecticides at present.

References

- Arpino, P., Prevot, A., Serpinet, J., Tranchant, J., Vergnol, A., Wittier, P. (1995). Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Ed. Masson, Paris (in French).
- Atik Bekkara, F., Bousmaha, L., Taleb Bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova, J. (2007). Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*, 7, 6-11 (in French).
- Bruneton, J. (1987). *Phytochimie et Pharmacologia. Technique et Documentation*, Lavoisier, Paris (in French).
- Clark, G.S. (1998). Menthol. *Perfumer and Flavorist*, 23(24), 33-46.
- Flamini, G., Bader, A., Cioni, P.L., Katbeh-Bader, A., Morelli, I. (2004). Composition of the Essential Oil of Leaves, Galls, and Ripe and Unripe Fruits of Jordanian *Pistacia palaestina* Boiss. *J. Agric. Food Chem.*, 52 (3), 572-576. <https://doi.org/10.1021/jf034773t>
- Haddouchi, F., Lazouni, H.A., Meziane, A., Benmansour, A. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique Science*, 05(2), 246-259 (in French).
- Hmiri, S., Rahouti, M., Habib, Z., Satrani, B., Ghanmi, M., Ajjouri, M.E.L. (2011). Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de mentha pulegium et d'eucalyptus camaldulensis dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 80, 824-836 (in French).
- Isman, M.B. (1999). Pesticides based on plant essential oils. *Pesticide Outlook*, April, 68-72.
- Isman, M.B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot*, 19, 603-608. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X)
- Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y.J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C.H., Zu, Y.G., Lio, X.L. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environ. Toxicol. Pharmacol*, 32(1), 63-68. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.03.011>
- Juliani, H.R, Simon JE (2002). Antioxidant Activity of Basil. (pp. 575-579). In: Trends in new crops and new uses. J. Janick and A. Whipkey (Eds.). ASHS Press, Alexandria, VA.
- Kalamba, D., Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem*, 10, 813-829. <https://doi.org/10.2174/0929867033457719>
- Koutsoudaki, C., Krsek, M., Rodger, A. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* Var. *J. Agric. Food Chem*, 53, 7681-7685. <https://doi.org/10.1021/jf050639s>
- Lee, J., Scagel, C.F. (2010). Chicoric acid levels in commercial basil (*Ocimum basilicum*) and Echinacea purpurea products. *J. Functional Foods*, 2, 77-84. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2009.11.004>
- Loápez, P., Saáñez, C., Batlle, R., Nerián, C. (2005). Solid- and Vapor- Phase Antimicrobial Activities of Six Essential Oils: Susceptibility of Selected Foodborne Bacterial and Fungal Strains. *J. Agric. Food Chem*, 53(17), 6939-6946. <https://doi.org/10.1021/jf050709v>
- Lust, J. (1983). *The Herb Book*. New York. Bantam books
- Marino, M., Bersani C., Comi, G. (2001). Impedence measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *Int. J. Food Microbiol*, 67, 187-195. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00447-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00447-0)
- Novák, M. (1985). A monoterpene alcohol from *Laurus nobilis*. *Phytochemistry*, 24(4), 858. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)84909-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84909-2)
- Ouraini, D., Agoumi, A., Ismaili-Alaoui, M., Alaoui, K., Cherrah, Y., Alaoui, M.A., Belabbas, M.A. (2007). Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et *Mentha pulegium* L., comparée aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques, *Phytothérapie*, 1, 6-14 (in French). <https://doi.org/10.1007/s10298-007-0201-2>
- Quezel, P., Santa, S. (1963). *New flora of Algeria and southern desert regions*. Edition. Natl. Centre Sci. Res, 2, 276.
- Regnault-Roger, C., Hamraoui, A. (1995). Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Stored Prod. Res*, 31, 291-299. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(95\)00025-3](https://doi.org/10.1016/0022-474X(95)00025-3)

- Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F.J., Reglero, G. (2005). Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *J. Food Protect*, 68(4), 790-795. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.4.790>
- Sartoratotto, A., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., Figueira, G.M., Duarte, M.C.T., Rehder, V.L.G. (2004). Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Braz. J. Microbiol*, 35, 275-280. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822004000300001>
- Sivropoulou, A., Nikolaou, C., Papanikolaou, E., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. (1997). Antimicrobial, cytotoxic, and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil. *J. Agric. Food Chem*, 45, 3197-3201. <https://doi.org/10.1021/jf970031m>
- Smith-Palmer, A., Stewart, J., Fyfe, L. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food bornepathogens. *Lett. Appl. Microbiol*, 26, 118-122. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.1998.00303.x>
- Sokovic, M., Van Griensven, L.J. (2006). Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. *Eur. J. Plant Pathol*, 116, 211-224. <https://doi.org/10.1007/s10658-006-9053-0>
- Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., Bigger, S.W. (2003). Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packing. *J. Agric. Food Chem*, 51, 3197-3207. <https://doi.org/10.1021/jf021038t>
- Trujano-Gonzalez, M.E., Pena, E.I., Martinez, A.L., Moreno, J., Guevara-Fefer, P., Déciga-Campos, M., Lopez-Munoz, F.J. (2007). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J. Ethnopharmacol*, 111, 476-482. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.12.011>
- Wang, W., Li, N., Luo, M., Zu, Y., Efferth, T. (2012). Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main component. *Molecules*, 17, 2704-271. <https://doi.org/10.3390/molecules17032704>
- Zeković, Z.P., Lepojević, Ž.D., Ibrahim O. Mujić, I.O. (2009). Laurel Extracts Obtained by Steam Distillation, Supercritical CO₂ extraction at different solvent densities. *Journal of Natural Products*, 2, 104-109.

Citation:

Sehari Nadia Hanane, Hellal Benchaben, Sehari Mira, Maatoug M'Hamed (2018). Insecticide effect of pennyroyal and rosemary essential oils on the rice weevil. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(1), 5-10.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0. License

UKRAINIAN JOURNAL OF ECOLOGY



2018, 8(1)

**JOURNAL OF BIOLOGY
FOUNDED IN 2011**

Etude des propriétés insecticides et bactéricides de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. dans la lutte contre les ravageurs des semences et denrées stockées

HASSANI A^{1*}, SEHARI N¹, SEHARI M¹, BOUCHENAFI N¹, LABDELLI F¹.
& KOUADRIA M¹

¹Laboratoire d'Agro-biotechnologie et de Nutrition en Zones Semi-arides, Université Ibn Khaldoun, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, BP 78 Zaaroura - Tiaret.

*Auteur correspondant : karim_hassani2002@yahoo.fr

Résumé : Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, nous nous sommes intéressés à la famille des Lamiacées, plus précisément au genre *Thymus*. En effet, les huiles essentielles et leurs constituants sont reconnus depuis longtemps comme agents antimicrobiens, néanmoins leur utilisation dans la lutte antiparasitaire des semences stockées des céréales a été très peu rapportée. Dans cette optique, le présent travail porte sur l'extraction de l'huile essentielle d'une plante locale *Thymus vulgaris* (Thym) puis l'étude de l'efficacité de cette huile dans la lutte contre les ravageurs des semences et denrées stockées (insectes et bactéries en particulier). Ainsi, l'extraction par hydro distillation a montré que la plante locale testée possède un bon rendement en huile essentielle qui est de 1,8%. Par ailleurs, le test d'efficacité de cette huile a été mené sur le Charançon des céréales (*Sitophilus oryzae*) comme insecticide biologique lors du stockage des semences et comme bactéricide sur *Escherichia Coli* et *Staphylococcus Aureus*. Nos résultats ont été très remarquables pour les deux tests d'efficacité. En effet, l'activité insecticide de l'huile essentielle du Thym a été testée par fumigation sur *Sitophilus oryzae* selon quatre doses à une température de 25°C. Nous avons constaté que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* entraîne un effet insecticide très prononcé sur *S. oryzae*. De même que cette huile a montré un bon effet bactéricide proportionnel à la concentration appliquée. En conclusion, nous pouvons dire que le rendement en huile essentielle obtenu à partir des feuilles de la plante testée est intéressant et ses effets inhibiteurs indiquent qu'elle est fortement prometteuse dans le domaine de la lutte biologique contre les ravageurs des semences et denrées stockées.

Mots clés : Hydrodistillation, huile essentielle, Thym, lutte, ravageurs, moisissure, insecte, semences stockées.

Abstract: In the context of the valorization of the Algerian flora, we were interested in the *Lamiaceae* family, more precisely in the genus *Thymus*. Indeed, essential oils and their constituents have long been recognized as antimicrobial agents, but their use in pest control of stored seed of cereals has been very limited. So, the present work focuses on the extraction of essential oil from a local plant *Thymus vulgaris* (Thym) and study of the effectiveness of this oil in the control of seed pests and stored foodstuffs (Insects and bacteria in particular). Thus, extraction by hydrodistillation (the official standard method for extracting essential oils for quality control) showed that the local plant tested has a good yield of essential oil which is 1.8%. In addition, the efficacy test of this oil was carried out on cereal weevil (*Sitophilus oryzae*) as a biological insecticide during seed storage and as a bactericide on *E. coli* and *Staphylococcus aureus*. Our results were very remarkable for the two efficacy tests. Indeed, the insecticidal activity of the essential oil of Thym was tested by fumigation on *Sitophilus oryzae* in four doses at a temperature of 25°C. We found that the essential oil of *Thymus vulgaris* produces a very pronounced insecticidal effect on *S. oryzae*. Just as this oil showed a good bactericidal effect proportional to the applied concentration. oil obtained from the leaves of the tested plant is interesting and its inhibiting effects indicate that it is highly promising in the field of biological control of seed pests and stored foodstuffs.

Keywords : Hydrodistillation, essential oil, Thyme, control, pests, mold, insect, stored seed.

Introduction

Les PAM et leurs huiles essentielles ont une longue histoire comme agents antimicrobiens, néanmoins leur utilisation dans la lutte antiparasitaire des semences stockées des céréales a été très peu rapportée. Or, de nombreux agents de détériorations (rongeurs, insectes, bactéries, moisissures,...) sont la cause de la perte d'une grande partie des grains de

céréales pendant leur stockage (Mishra et Dubey, 1994).

Dans le monde, entre 5 et 15% du poids total de céréales, et les légumineuses et de plantes oléagineuses sont perdues après la récolte (Hill, 1990). En effet, la production des céréales (blé,

orge...) doit subir le stockage car elle est assurée par une seule récolte annuelle alors que la période de consommation est prolongée tout au long de l'année. Les insectes ravageurs des denrées stockées peuvent causer des pertes importantes en réduisant la qualité et la quantité des produits stockés. De même pour les microorganismes telles que les bactéries et les moisissures qui réduisent aussi la valeur nutritionnelle, modifient l'aspect organoleptique et provoquent des problèmes économiques dus aux coûts de détoxification des grains.

La lutte insecticide et bactéricide, repose principalement sur l'utilisation de pesticides chimiques qui, malheureusement, perdent de leur efficacité face à des ravageurs qui développent de plus en plus de résistance à leur rencontre. Ainsi, cette lutte chimique devient inefficace, onéreuse et dangereuse pour l'homme, pour ses produits agricoles et pour l'environnement. Les problèmes de la résistance et de la nocivité des insecticides synthétiques ont abouti à la nécessité de trouver des alternatives plus efficaces et plus saines. (El Idrissi *et al*, 2014).

Dans ce contexte, cette étude porte essentiellement sur l'activité insecticide et bactéricide de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation, du Thym (espèce végétale aromatique spontanée très utilisée en médecine traditionnelle, originaire d'Afrique du Nord), (Quezel et Santa, 1963). Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Cseke et Kaufman 1999). Le but est de rechercher de nouveaux produits bioactifs naturels pour remplacer les pesticides chimiques dans la lutte contre les insectes et des souches bactériennes prélevés sur des semences céréalières stockées parasitées.

Matériel et méthodes

1. Présentation de la plante

Le Thym (*Thymus vulgaris*), est un sous arbrisseau, de la Famille des *Lamiaceae*, (Basch *et al*; 2004). vivace, touffu et très aromatique de 7-30 cm de hauteur de couleur vert grisâtre. A tige ligneuse, feuilles petites blanchâtres sur face inférieure, ovales, à pétiole court. A fleurs roses ou blanches avec floraison en mai-juin. (Bonnier et Douin, 1990).

2. Le Matériel animal

L'étude a porté sur l'insecte de la classe des coléoptères, genre *Sitophylus oryzae*, recueilli et identifié dans des semences stockées de céréales, (Balachowsky, 1963). C'est un ravageur polyphage des semences de blé, de riz, du maïs... ou encore des graines de pois chiche.

Les élevages de masse sont effectués dans des bocaux en verre, remplis de grains (figure 2), dans lesquels sont ajoutés un nombre suffisant d'insectes, de sexe indéterminé. Les bocaux sont ensuite laissés

à la température ambiante. Après une ou deux semaines d'infestation, les adultes sont retirés des grains. Les grains infestés sont laissés en incubation jusqu'à l'apparition des nouveaux adultes qui sont utilisés pour les tests. (Kassimi *et al*, 2011).



Figure 1. Photo de *Thymus vulgaris*.



Figure 2. Élevage de masse de l'insecte *Sitophyllus*.

3. Extraction de l'huile essentielle

Le matériel végétal fraîchement récolté est lavé et séché au laboratoire à l'ombre.

L'extraction de l'huile essentielle du Thym est réalisée par hydrodistillation (appareil de type Clevenger) (El Ajouri *et al*, 2008). Deux distillations de trois heures chacune ont été effectuées. Dans un ballon de 2 litres surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant, on introduit 100 g de matière végétale lavée et séchée avec 900 ml d'eau distillée puis on porte à ébullition. Le rendement en huile est déterminé par rapport à la matière sèche, L'huile est conservée +4°C à l'abri de la lumière et de l'air.

$$\text{Rendement \%} = m_2 \cdot 100 / m_1$$

[masse totale du végétal sec (m_1); masse d'huile essentielle (m_2)]

4. Evaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle du Thym (traitement par inhalation)

Ce test consiste à étudier l'effet des HE sur la mortalité des adultes de *Sitophylus oryzae*. Dans des bocaux en verre d'un litre, du coton imbibé d'une dose d'huile est suspendu à l'aide d'un fil à la face interne du couvercle. Dix couples d'insectes (mâle et

femelle) sont introduits dans chaque bocal bien fermé. Pour l'ensemble des essais, trois répétitions sont réalisées pour chaque dose (5, 10, 15 et 20µl) et chaque temps d'exposition (2, 12, 24 et 48heures) et un lot non-traité a servi comme témoin, (Mueller, 1990).

Les observations concernent la longévité des adultes. Les individus morts sont dénombrés dans chaque boîte de pétri du début de l'essai jusqu'à la mort de la totalité des adultes. (insectes morts retirés et observés à la loupe).

5. Evaluation de l'activité antibactérienne des HE

Le test de susceptibilité est effectué selon la méthode de diffusion des disques décrite par Parekh et Chanda, (2007). Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait grâce à un disque en papier sur lequel on dépose de l'Huile essentielle, Le support microbien isolé au laboratoire de bactériologie de l'hôpital de Tiaret est composé :

- bactérie Gram négatif : *Echerchia coli* (ATCC : 10536)

- bactérie Gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC : 25922)

a) Préparation des milieux de culture : - gélose Muller-Hinton coulée en boîte de pétri sur une épaisseur de 4mm et pré séchée avant l'emploi

b) Préparation de l'inoculum : A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement, racler quelque colonies identiques puis décharger l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% et homogénéiser pour une opacité égale à 0.5 Mc Farland ou une DO de 0.10 à 625 nm.

c) Ensemencement : Il doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre contenant l'huile à tester sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable.

d) Préparation des disques : disques de papier Wathman n°1 de 6mm de diamètre, stériles (15 min à 120°C dans autoclave), sont chargés de l'huile essentielle de thym à tester (25, 50 et 100 µl d'HE) et des disques imprégnés d'acétone sont utilisés pour servir de témoin.

L'activité antibactérienne est déterminée en terme de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37° C. (Dorman et al., 2000).

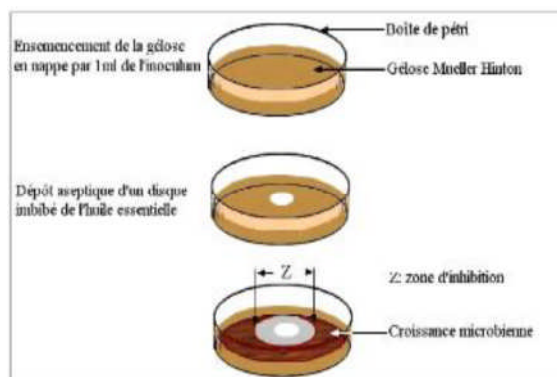


Figure 3. Dispositif expérimental de l'activité antibactérienne (Etapes de l'antibiogramme).

Résultats et discussion

1. Résultats

Le rendement moyen en huile essentielle est calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Le rendement en huile de la plante étudiée est remarquable. En effet, les résultats démontrent un rendement élevé de 1,18%, Ce paramètre est aussi influencé par le lieu de récolte, la période et le stade physiologique de la plante, (Macheix et Fleuriet, 2005). La teneur moyenne des plantes en HE étant de 1 à 3% excepté pour le clou de Girofle (15%) ou noix de Muscade (8%). Chaque huile essentielle est caractérisée par ses propriétés organoleptiques qui sont à la base du contrôle de son originalité. Ainsi, l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* est d'aspect liquide, jaune orange à odeur piquante.

1. Test insecticide par fumigation (Inhalation).

Tableau 1. Résultats du test insecticide par fumigation (Inhalation).

	Dose	5	10	15	20
Après 2h	male	33,33	36,66	46,66	56,66
	femelle	13,33	26,66	26,66	43,33
Après 12h	male	63	73,33	80	90
	femelle	60	73,33	73,33	90
Après 24h	male	86,66	90	100	90
	femelle	60	73,33	86,66	100
Après 48h	male	93,33	100	100	100
	femelle	100	100	100	100

Les insectes subissant le traitement à la dose de 5 µl ont montré une petite résistance qui n'a pas duré plus d'une journée puisqu'on a pu atteindre la mortalité totale au bout du deuxième jour soit 48h après le début du test, (Tableau 1). Après 12h du début du test, (figure 04), l'effet de l'huile essentielle du Thym augmente d'efficacité vis à vis de l'insecte testé puisque le taux de mortalité a touché plus de la moitié des insectes à faible dose (5 µl d'HE) et les 3/4 des insectes à forte dose (20µl d'HE). Les insectes restant vivants ont une activité réduite.

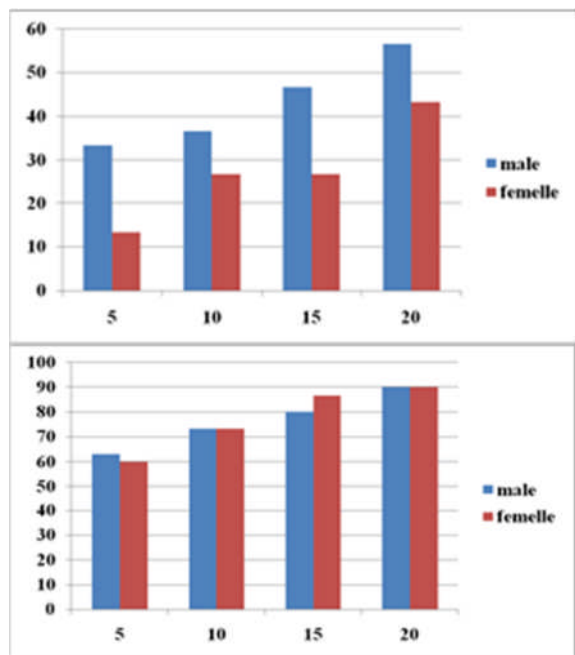


Figure 4. Taux de mortalité chez l'insecte ravageur *Sytophilus Oryzae* par fumigation (Inhalation) d'HE du Thym à doses croissantes (5, 10, 15 et 20µl) après 2h et 12h de traitement.

Les résultats affichés du tableau 1, démontrent que l'huile essentielle du Thym a un effet insecticide remarquable. En effet, après 24h, le taux de mortalité dépasse les 80% (figure 5) pour atteindre les 100% après 48h et cela pour les deux sexes

mâles et femelles. Par ailleurs, l'absence de mortalité au niveau du témoin montre que notre test demeure fiable pour l'étude de l'effet insecticide des huiles essentielles testées. On constate aussi une mortalité tardive et plus faible chez les femelles comparée à celle des mâles.

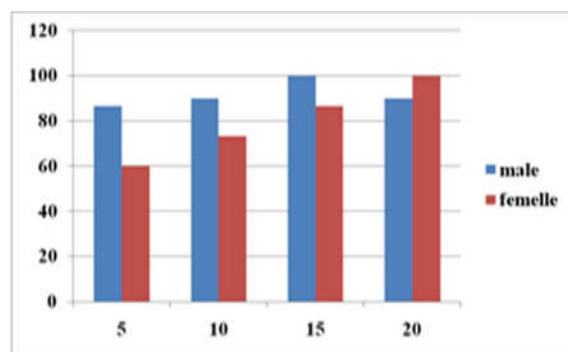


Figure 5. Taux de mortalité chez l'insecte ravageur *Sytophilus Oryzae* par fumigation (Inhalation) d'HE du Thym à doses croissantes (5, 10, 15 et 20µl) après 24h de traitement.

2. Résultats de l'effet bactéricide de l'huile essentielle du Thym.

D'après les résultats du test d'antibiogramme (aromatogramme) (Tableau 2) réalisé en utilisant l'huile essentielle du Thym sur *Escherichia coli* et *Staphylocoques aureus*, on constate un effet bactéricide remarquable.

Tableau 2. Résultats de l'effet bactéricide de l'HE du Thym sur *E.coli* et *Staphylocoques aureus*.

Dose	Témoin	25 µl d'HE	50 µl d'HE	100 µl d'HE
Traitement	% inhibition	% inhibition	% inhibition	% inhibition
<i>Staph. aureus</i>	0	27,77	54,44	73,33
<i>E.coli</i>	0	32,22	62,22	87,77

En effet les diamètres des zones d'inhibition révèlent qu'*Escherichia coli* apparait plus sensible vis-à-vis de l'huile essentielle du Thym testé et elle développe des zones d'inhibition plus importantes comparées à celles de *Staphylococcus aureus* dont le diamètre des zones d'inhibition varie entre 25 et 66 mm alors que pour *Escherichia coli* les diamètres varient de (29 à 79 mm (figure 6).

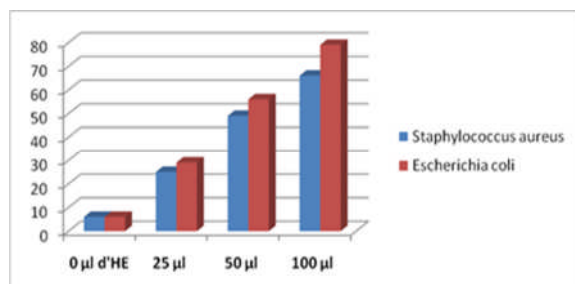
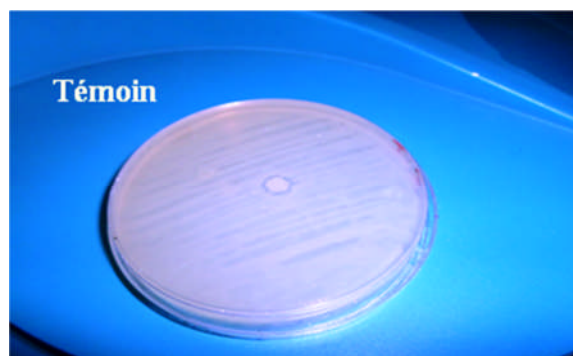
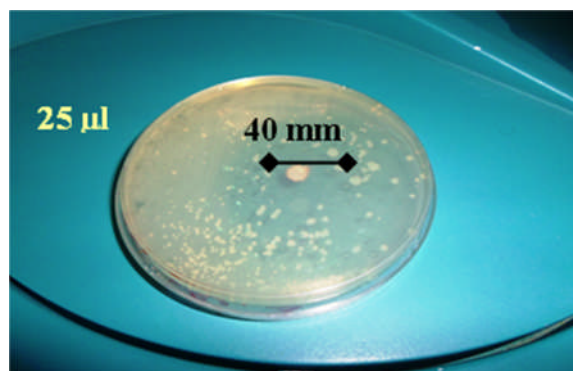


Figure 6. Effet de l'HE du Thym sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* à doses croissantes (25, 50 et 100 µl d'HE).

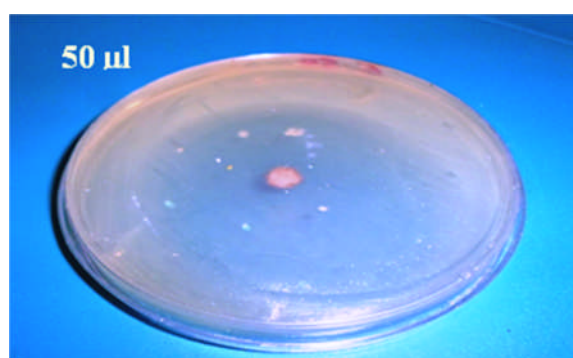
Chez le témoin, (Figure 7a), il n'y a pas de halo, ce qui signifie qu'il n'y a pas d'inhibition car il n'y a pas de substance inhibitrice tel que l'huile de Thym. Cependant, à la dose de 25 µl d'HE. le halo est peu développé (sensibilité faible à moyenne) (Figure 7b), puis à la dose de 50 µl d'HE. le halo est moyennement développé (sensibilité moyenne à forte) (Figure 7c), et enfin à la dose de 100 µl d'HE. le halo est très développé (sensibilité très forte et forte inhibition) (Figure 7d),



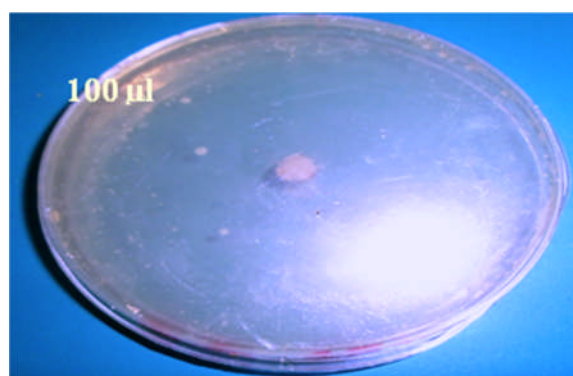
(a)



(b)



(c)



(d)

Figure 7. Photographies originales du Témoin (a) de l'effet de l'HE du Thym sur *Escherichia coli* à doses croissantes (25, 50 et 100 µl d'HE) qui sont respectivement (b), (c) et (d).

2. Discussion

Les extraits de thym ainsi que son huile essentielle sont fortement antimicrobiens. Tous les chimiotypes sont actifs, mais l'activité bactéricide est plus marquée, (Haddouchi et *al.*, 2009). Le rendement en huile essentielle obtenu par méthode d'hydrodistillation est élevé chez *Thymus vulgaris* L avec 1,8%.

Par ailleurs, l'ajout d'échantillons de plantes vertes dans les silos de riz et de grains est une pratique courante des peuples africains pour chasser les insectes et les rongeurs des denrées stockées (Weaver et *al.* 1991).

Concernant l'effet insecticide de l'huile essentielle du thym, on a constaté qu'elle est fortement insecticide et cela quelques heures seulement après le traitement par fumigation. Par ailleurs, d'autres travaux indiquent que les huiles essentielles extraites de plantes odorantes ont une activité insecticide certaine et possèdent une toxicité effective vis-à-vis des ravageurs de stocks tel que vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus* F. (Kassimi et *al.*, 2011). Ces huiles essentielles agissent par diffusion. C'est ce qui leur permet d'atteindre toutes les interstices dans la masse de graines stockées. Elles peuvent aussi être utilisées en fumigation et leur emploi est facile. (Mueller, 1990; Kassimi et *al.*, 2011).

De même que les huiles essentielles des plantes des genres *Chenopodium* et *Eucalyptus*, ont témoigné de leur efficacité insecticide et cela sur six ravageurs de denrées stockées dont *sitophilus granarius* et *S. zeamais* avec une concentration de 0,4% qui provoqua entre autre la mortalité de 60% des bruches après deux jours de traitement (Taponjdjou et *al.*, 2002). D'autre part, nos résultats ont démontrés que les femelles sont plus résistantes que les mâles. Ces résultats sont proches de ceux obtenus par Selmi et Sadok, (2008).

Concernant l'effet antibactérien de notre huile utilisée et on comparant les résultats de l'effet de l'HE avec l'antibiogramme réalisé, notre constat est que l'effet antibactérien est aussi remarquable et il est proportionnel à l'augmentation de la concentration en huile essentielle.

L'évaluation de l'effet inhibiteur de l'HE vis-à-vis *E. coli* permet d'obtenir les résultats présentés dans le tableau 2 qui montrent un effet inhibiteur de l'HE sont principalement inhibiteur de la croissance bactérienne. D'autre part, pour Bakkali et *al.*, (2008), l'activité antibactérienne est due à la cytotoxicité des HE qui peuvent endommager la membrane cellulaire des bactéries lorsqu'elles passent à travers leur paroi cellulaire et leur membrane cytoplasmique (déstructuration de la membrane et ses polysaccharides).

Enfin, d'après nos résultats, *E. coli* est plus sensible à l'huile essentielle car le taux d'inhibition est de 32,22 % et 87,77 % alors que celui de *S. aureus*, il

est de 27,77% à 73,33 %. Toutefois, il faut souligner qu'il existe une sensibilité différentielle des deux bactéries Gram+ et Gram- testées. Cette différence d'effet peut être expliquée par la différence de la composition de la paroi cellulaire et le type de Gram. Plusieurs études ont montré que les bactéries Gram- sont plus résistantes que les Gram+ vis-à-vis des HE.

Ainsi Haddouchi et al (2009) dont leur étude sur l'activité antimicrobienne de l'HE de *T. fontanesii* extraite par hydrodistillation, ont obtenus une inhibition de 31mm sur une bactérie Gram+ (*S. aureus*) et de 9 mm sur une bactérie Gram- (*P. aeruginosa*). La résistance des bactéries Gram- est expliquée par la présence d'une seconde membrane lipopolysaccharidique jouant un rôle de barrière. On outre, elle est plus riche en protéines que celle de Gram+ ce qui les rend plus hydrophiles empêchant ainsi les composés hydrophobes de pénétrer dans la couche lipidique et exercer leur activité antimicrobienne à l'intérieur de la cellule microbienne (Alvesalo et al., 2008).

Conclusion

Cette étude contribue à la mise en valeur des huiles essentielles des plantes médicinales pouvant être utilisés comme nouvelles ressources susceptibles d'être exploitées dans le domaine phytosanitaire comme composés naturels bioactifs. Depuis l'antiquité, le thym, centre d'intérêt de notre étude, est connue pour ses vertus thérapeutiques.

Notre étude au laboratoire a débuté avec l'extraction de l'huile essentielle par hydro distillation qui est un procédé peu onéreux, pratique, simple et qui permet d'obtenir une huile de bonne qualité. Le résultat en huile obtenu est un rendement moyen de 1,8 % du poids frais.

Par ailleurs, les insectes adultes mâles de *Sitophilus* sont plus sensibles que les femelles qui présentent une résistance temporaire en début de traitement.

L'activité antibactérienne de notre huile du Thym est estimée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques imbibés d'HE à tester vis-à-vis de deux germes pathogènes d'origine hospitalière (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C. Les résultats des diamètres des zones d'inhibition révèlent que *Escherichia coli* apparait sensible vis-à-vis de l'HE testée par rapport à *Staphylococcus aureus*. En effet, les diamètres des zones d'inhibition varient entre (25-66) mm pour *Staphylococcus aureus* et de (29-79) mm pour *Escherichia coli*, (Figure 6). L'effet antimicrobien est dû essentiellement aux alcools terpéniques des huiles essentielles qui sont particulièrement actifs contre les cellules microbiennes car solubles dans les milieux aqueux. Ils provoquent d'importants dégâts sur les parois cellulaires des microorganismes (Eberhard et al, 2005). Les alcools possèdent une

activité microbicide plutôt que microbiostatique (Fouché et al, 2000).

Cependant, la composition des huiles essentielles peut varier chez une même plante (notion de chémotype) (Mockuté et al, 2003). Enfin, le patrimoine végétal mondial doit être absolument préservé dans sa diversité et dans son étendue. Or, la destruction sauvage des forêts nous prive d'une source inestimable et non renouvelable de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments pour l'être humain lui-même et pour ses animaux domestiques ainsi que pour la protection et la préservation de ses produits agro-alimentaires.

Par ailleurs, le recours aux plantes médicinales pour la lutte contre les agents de détérioration des céréales nous semble adéquat tant pour l'intérêt économique de l'opération que pour son intérêt écologique. En effet, l'utilisation de formulations volatiles à base de plantes aromatiques et médicinales peut présenter de nombreux avantages par rapport aux produits de synthèses actuels car les huiles essentielles sont faiblement toxiques pour l'environnement et peuvent avoir une activité biocide élevée.

Références bibliographiques

- Alvesalo J., Vuorela H., Tammela P., Leinonen M., Saikku P., Vuorela P. 2006.** Inhibitory effect of dietary phenolic compounds on *Chlamydia pneumoniae* in cell cultures; *Biochem Pharmacol* 71:735-741.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. 2008.** Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46, 446-475.
- Balachowsky A.S., 1963.** Entomologie appliquée à l'agriculture. *Traité, T I, Coléoptères*. Ed. Masson et Cie. Paris. 874-1236.
- Basch E, Foppa I, Liewitz R. 2004.** Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill). *J Herb Pharma*.4 (2): 63-78.
- Bonnier G et Doin R., 1990.** La grande Flore en Couleurs de Gaston Bonnier, Éd Belin, réédition de la Flore Complète Illustrée en Couleurs de France, Suisse et Belgique .PP 112;
- Dorman H.J.D. & Deans S.G., 2000.** Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88, 308-316.
- Eberhard T; Anton R et Lobstein, A. 2005.** Plantes aromatiques, épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Ed. lavoisier, 235pages.
- El Ajouri M, Satrani B, Ghanmi M, Rahouti M, Amarti F et Aberchane M, 2008.** Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* P. et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. contre les champignons de pourriture du bois

d'œuvre. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. vol.12, N°4:345-351.

El Idrissi M, Elhourri M, Amechrouq A, Boughdad A, 2014. Étude de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Dysphania ambrosioides* (Chenopodiaceae) sur *Sitophilus oryzae* (Coleoptera) [Study of the insecticidal activity of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) on *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae)]; J. Mater. Environ. Sci. 5 (4) pp 989-994 ; ISSN : 2028-2508.

Fouché J.G., Marquet A., Hambuckers A., 2000. Les plantes médicinales : de la plante au médicament; Observatoire du Monde des Plantes; Sart-Tilman, B77. B-4000 Liège.

Haddouchi F., 2009. Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss. Revue Afrique SCIENCE 05 (2) ; pp 246 – 259.

Hill D.S., 1990. Pests of stored products and their control 274 p. CRC Press, Boca Ratón, Florida, USA.

Kassimi A., El watik L et Oumni M., 2011. Action insecticide de certaines huiles essentielles et végétales : Afrique SCIENCE 07(2) pp 85-93.

Macheix J.J, Fleuriet A, 2005. Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, presses polytechniques et universitaires romandes, pp 1-67-162.

Mishra A., Dubey N.K., 1994. Evaluation of Some Essential Oils for Their Toxicity against Fungi Causing Deterioration of Stored Food Commodities. Applied and Environmental Microbiology 60(4), pp 1101-1105.

Mockuté D., Beritiene G. et Judzentiene A., 2003. The β -ocimene chemotype of essential oils of the inflorescences and the leaves with stems from *Origanum vulgare* ssp. vulgare growing wild in Lithuania. Biochemical systematics and ecology 31:3, pp 269-278.

Mueller D., 1990. Fumigation, Handbook of Pest Control, Foster Co., Cleveland, Ohio. pp: 901-939.

Parekh J. et Chanda S.V., 2007. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plant. Turkish journal of biology, 31 : 53-58.

Quezel P. et Santa S., 1963. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. (T.2).

Selmi S. et Sadok S., 2008. The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* L) on flesh quality of tuna (*Thymus Linnaeus*) during chilled storage. Pan-American Journal of aquatic sciences, 3 (1):36-45.

Tapondjou L.A., Adler C., Bouda H. and Fontem D.A., 2002. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as postharvest grain protectants against six-stored product beetles. Journal of stored products research, vol.38, issue N° 4, pp. 395-402.

Weaver D.K., Dunkel F.V., Ntezurubanza L., Jackson L.L. et Stock D.T., 1991. The efficacy of linalool, a major component of freshly-milled *Ocimum canum* Sims (Lamiaceae), for protection against post-harvest damage by certain stored product *Coleoptera*. J. Stored Prod. Res. 27 : 213-230.