

UNIVERSITÉ-BLIDA1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie

MÉMOIRE DE MAGISTER

En Sciences Agronomiques

Spécialité : Biodiversité et Bioprotection

ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ INSECTICIDE ET PHYTOSTIMULATRICE DES HUILES ESSENTIELLES FORMULÉES DE LENTISQUE SUR LE PUCERON VERT DU PEUPLIER NOIR

Par

BELKHOUMALI SARAH

Devant le jury composé de :

ZE. Djazouli	Professeur	U. Blida 1	Président
A. Benrima-Guendouz	Professeur	U. Blida 1	Directrice de thèse
M. Biche	M.C.A	ENSA el Harrache	Examineur
L. Benfekih-Allal	Professeur	U. Blida 1	Examinatrice

Blida, 2015

RÉSUMÉ

Évaluation de l'activité insecticide et phytostimulatrice des huiles essentielles formulées de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) sur le puceron vert (*Chaitophorus leucomelas* L.) du peuplier noir (*Populus nigra* L.)

Les plantes synthétisent des substances chimiques (molécules bioactives) dites métabolites secondaires, ces derniers jouent un rôle primordial dans la défense chimique, interviennent dans lutte contre les herbivores, et les agents infectieux.

Dans cette optique, nous avons mené le présent travail afin d'évaluer la toxicité des huiles essentielles formulées extraites à partir des feuilles et des rameaux du pistachier lentisque sur les populations du puceron vert (*Chaitophorus leucomelas* L.). L'activité biologique des bioproduits formulés a été évaluée d'une part sur quelques paramètres démographiques de l'espèce, et d'autre part, sur la qualité phytochimique de *Populus nigra*.

Les résultats montrent que l'ensembles des doses de bioproduits appliqués (D2, D4, D6, D8) ont enregistré une réduction en termes d'abondance et des populations résiduelles de *Chaitophorus leucomelas*.

Ces mêmes résultats nous ont permis de dire que les bioproduits à base des huiles essentielles du pistachier lentisque manifestent un effet par la perturbation de la biosynthèse de la proline et des sucres totaux par le peuplier noir.

Mots clés : *Chaitophorus leucomelas*, métabolites secondaires, phytostimulatrice, *Pistacia lentiscus*, proline, sucres totaux.

ABSTRACT

Evaluation of the insecticidal activity and phyto stimulating of essential oil formulated by lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) on the green aphid (*Chaitophorus leucomelas* L.) of the black poplar (*Populus nigra* L.)

Plants synthesize chemical substances (bioactive molecules) say secondary metabolites, the latter play a key role in the chemical defense, intervene in fight against herbivores, and infectious agents.

To this end, we conducted this work to value the toxicity of essential oils formulated extracted from the leaves and twigs of *Pistachia lentiscus* populations of green peach aphid (*Chaitophorus leucomelas* L.). The biological activity of formulated Bioproducts was assessed firstly on some population parameters of the species, and on the other hand, the phytochemical quality of *Populus nigra*.

The results show that the sets of bioproducts doses applied (D2 , D4, D6, D8) have recorded a reduction in terms d'abondance and residual *Chaitophorus leucomelas* populations.

These same results were allowed to say that bio -based essential oils of mastic manifest an effect by disruption of the biosynthesis of proline and total sugar by the black poplar.

Key words: *Chaitophorus leucomelas*, secondary metabolites, phytostimulating, proline, total sugar.

ملخص

تقييم لفعالية الابداء الحشرية للزيوت الأساسية المصاغة من نبات الذرو

على المن الاخضر (*Chaitophorus leucomelas* L.) لأشجار الحور السوداء

تصنع النباتات مواد الكيمائية (الجزيئات النشطة بيولوجيا) تسمى المركبات الثانوية ، وأنها تلعب دورا رئيسيا في الدفاع الكيمائي ، وتشارك في المحاربة ضد الحيوانات الاكلة للعشب ومسببات الأمراض. تحقيقا لهذه الغاية، أجرينا هذا العمل لتقييم سمية الزيوت الأساسية المصاغة و المستخرجة من أوراق والأغصان الفستق البري ضد المن الأخضر (*Chaitophorus leucomelas* L). تم تقييم النشاط البيولوجي للمركبات الحية وضعت أولا على بعض المعلمات الديمغرافية لهذا الصنف ، ومن ناحية أخرى على النوعية الكيمائية النباتية لشجرة الحور السوداء.

أظهرت النتائج أن مجموعة الجرعات المطبقة من المنتجات الحيوية (D2 ، D4 ، D6 ، D8) سجلت انخفاضا من حيث وفرة الطوائف المتبقية ل *Chaitophorus leucomelas*

سمح نفس هذه النتائج بان نقول أن الزيوت الاساسية المستخرجة من *Pistacia lentiscus* مسؤولة عن التأثير بسبب عرقلة لعملية التركيب الحيوي ل البرولين و السكريات الكلية التي سجلتها الحور السوداء.

الكلمات المفتاحية: المركبات الثانوية, النباتية تنشيطية, البرولين, السكريات الكلية, *Pistacia lentiscus*

Chaitophorus leucomelas,

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer mes remerciements en premier lieu à **Mme BENRIMA GUENDOZ A.**, Professeur à l'université de BLIDA1 qui a accepté de m'encadrer, avec le témoignage de mon profond respect.

J'exprime ma gratitude à **M. DJAZOULI Z. E.** Professeur à l'université de BLIDA1, qui m'avait fait l'honneur de présider le jury ; ainsi pour l'intérêt qu'il a apporté à la réalisation de ce travail. Je le remercie chaleureusement pour ses encouragements, orientations, aide, précieux conseils, patience et aussi pour sa disponibilité et sa gentillesse.

Mes vifs remerciements à **Mme BENFEKIH ALLAL L.**, Professeur au sein de l'université de BLIDA1 et **M. BICHE** Maître de Conférences classe " A " à l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie d'El Harrache, qui ont voulu examiner ce manuscrit et juger ce travail.

Je remercie également **M.AROUN M.F.E.**, pour ses conseils judicieux et surtout son soutien et ses apports tant enrichissants.

Je suis très reconnaissante envers **M.** et **Mme MOUSSAOUI** pour leur précieuse collaboration, conseils et leur modestie.

Je n'oublierai jamais l'aide avantageuse des ingénieurs de laboratoires de Zoologie et de Phytopharmacie de l'université de BLIDA 1, je leur remercie infiniment.

Je ne pourrai terminer cette liste de remerciements sans exprimer ma profonde gratitude à tous les enseignants et professeurs qui ont assuré ma formation sans oublier le personnel du département de Biotechnologie de Blida.

DEDICACES

Mes très chers parents, qui présentent pour moi la source de tendresse et l'exemple du dévouement. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez, pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis toujours, vous m'avez guidé pour suivre le bon chemin dans ma vie et mes études. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

A la mémoire de mes grands parents paternels et maternels

Je dédie aussi ce modeste travail:

A mon très cher mari qui na pas cessé de m'encourager, toute ma reconnaissance pour son immense clémence et surtout pour avoir répondu présent à chaque fois que j'ai eu besoin de son aide.

*A mes adorables sœurs **Amina, Ikram et Marwa***

*A mon aimable frère **Abd El Rahman***

A tout(e)s mes oncles et tantes, cousins et cousines,

A ma belle famille plus spécialement mes beaux-parents,

*A mes cher(e)s ami(e)s en particulier: **Messaouda, Saida, Fatima, Amina, Mounia, Fouzia, Karima, Dalila,...** pour votre gentillesse, votre aide, soutiens et disponibilité, que cela se traduit par le plaisir et la joie que j'ai eu l'enchantement de vous connaître.*

Je tiens à remercier aussi toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail.

«A ceux qui caches leurs chagrins pour ne pas assombrir des vies»

Sarah

TABLE DES MATIERES

RÉSUMÉ

ABSTRACT

ملخص

REMERCIEMENTS

DEDICACES

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ILLUSTRATION, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

INTRODUCTION GÉNÉRALE..... 14

CHAPITRE 1: GÉNÉRALITÉS SUR LE MÉTABOLISME VÉGÉTAL..... 17

Introduction..... 17

1. 1. Métabolites primaires..... 18

1. 2. Métabolites secondaires..... 20

1. 2. 1. Les terpénoïdes..... 21

1. 2. 2. Organe de stockage des terpènes..... 22

1. 2. 3. Fonction écologique des terpènes..... 24

1. 3. Facteur de variation des terpènes..... 25

1. 3. 1. Facteurs biotiques..... 25

1. 3. 2. Influence des facteurs environnementaux..... 25

1. 3. 2. 1. Température et luminosité..... 25

1. 3. 2. 2. Aridité..... 26

1. 3. 2. 3. Altitude..... 26

1. 3. 3. Autres facteurs (facteurs édaphiques et méthode
d'extraction)..... 27

1. 4. Réponses de la plante face aux bioagresseurs..... 27

1. 4. 1. Protections physiques ou mécaniques..... 27

1. 4. 2. Défenses chimiques des plantes..... 28

**CHAPITRE 2 : UTILISATION DES HUILES ESSENTIELLES DANS LA
LUTTE CONTRE LES BIOAGRESSEURS..... 30**

Introduction..... 30

2. 1. Les Huiles essentielles..... 31

2.	1.	2.	Biogenèse des huiles essentielles.....	32		
2.	2.		Notion de chemotype.....	35		
2.	3.		Activité insecticide des huiles essentielles.....	36		
2.	3.	1.	Action sur les estérases.....	36		
2.	3.	2.	Action sur les synapses inhibitrices.....	37		
2.	3.	3.	Action sur les récepteurs octopaminergiques.....	37		
2.	3.	4.	Action sur l'activité électrique neuronale.....	38		
2.	4.		Autres activités biologiques des huiles essentielles.....	38		
2.	5.		Formulation des huiles essentielles.....	39		
CHAPITRE 3 : MATÉRIEL ET MÉTHODES.....				41		
3.	1.		Présentation de la région d'étude.....	41		
3.	1.	1.	Présentation de la région de la Mitidja.....	41		
3.	1.	1.	1.	Situation géographique.....	41	
3.	1.	1.	2.	Synthèse climatique de la région d'étude.....	42	
3.	1.	1.	2.	1.	Température et pluviométrie.....	42
3.	1.	1.	2.	2.	Diagramme mbrothermique.....	44
3.	1.	1.	2.	3.	Étage bioclimatique (Climagramme d'EMBERGER).....	46
3.	1.	2.	Présentation du site d'étude et conditions expérimentales.....		47	
3.	2.		Matériel d'étude.....		48	
3.	2.	1.	Matériel végétal.....		48	
3.	1.	1.	2.	Présentation de la plante destinée à l'extraction des huiles essentielles (<i>Pistacia lentiscus</i> L.).....		48
3.	3.	1.	2.	Présentation de la plante hôte destinée à l'application des traitements (<i>Populus nigra</i> L.).....		49
3.	3.	2.	Matériel animal.....		50	
3.	3.	3.	Obtention des bioproduits à base des huiles essentiels de lentisque (<i>Pistacia lentiscus</i> L.).....		51	

3.	3.	3.	1.	Obtention des huiles essentielles.....	51
	3.	3.	1 1.	Séchage de la plante.....	52
	3.	3.	1 2.	Extraction des huiles essentielles....	52
	3.	3.	2.	Formulation des huiles essentielles.....	53
3.	3.			Méthodes d'étude.....	53
	3.	3.	1.	Estimation du rendement en huile essentielle.....	53
	3.	3.	2.	Analyse chimique des huiles essentielles de lentisque par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG/SM).....	54
	3.	3.	3.	Dispositif expérimentale d'estimation des activités biologiques des bioproduits.....	54
	3.	3.	4.	Echantillonnage des modèles biologiques (feuilles et pucerons).....	57
	3.	3.	5.	Evaluation de l'activité phytostimulatrice des bioproduits.....	57
	3.	3.	5. 1.	Extraction et quantification de la proline.....	57
	3.	3.	5. 2.	Extraction et quantification des sucres totaux.....	58
	3.	3.	6.	Evaluation de l'activité biocide des bioproduits.....	58
	3.	3.	6. 1.	Estimation de l'abondance.....	58
	3.	3.	6. 2.	Estimation des populations résiduelles.....	58
	3.	3.	6. 3.	Estimation des paramètres démographiques	59
	3.	3.	6.	Analyse statistique des données.....	60
				CHAPITRE 4 : RÉSULTATS.....	61
4.	1.			Caractérisation des huiles essentielles de <i>Pistacia lentiscus</i> L...	61
4.	2.			Evaluation du rendement de l'huile essentielle.....	66
4	3			Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> L. sur le puceron du peuplier <i>Chaitophorus</i> <i>leucomelas</i>	66
4.	3	1.		Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> L. sur les paramètres	66

				populationnels du puceron du peuplier <i>Chaitophorus leucomelas</i>	
4.	3	1.	1.	Effet des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> sur l'abondance de <i>Chaitophorus leucomelas</i>	66
4.	3.	1.	2.	Effet des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> sur les populations résiduelles de <i>Chaitophorus leucomelas</i>	67
4.	3.	2		Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> L. sur les paramètres démographiques du puceron du peuplier <i>Chaitophorus leucomelas</i>	72
4.	3	2.	1	Effet des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> sur la fécondité de <i>Chaitophorus leucomelas</i>	72
4.	3	2.	2	Effet des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> sur le taux de reproduction de <i>Chaitophorus leucomelas</i>	75
4.	3.	3.		Evaluation de l'effet phytostimulant des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> L. sur le peuplier noir <i>Populus nigra</i>	76
4.	3.	3.	1.	Effet des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> sur l'expression de la proline.....	76
4.	3	3.	2.	Effet des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> sur l'expression des sucres totaux.....	77
				CHAPITRE 5: DISCUSSION	80
5.	1.			Caractérisation des huiles essentielles de <i>Pistacia lentiscus</i> L ..	80
5.	2.			Le rendement en huiles essentielles de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	82
5.	3.			Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles formulées	83

	de <i>Pistacia lentiscus</i> L. sur les paramètres populationnels du puceron du peuplier <i>Chaitophorus leucomelas</i>	
5.	4.	Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> L. sur les paramètres démographiques du puceron du peuplier <i>Chaitophorus leucomelas</i> 85
5.	5.	Évaluation de l'effet phytostimulant des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> L. sur le peuplier noir <i>Populus nigra</i> 88
	5.	5. 1. Effet des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> sur l'expression de la proline..... 89
	5.	5. 2. Effet des huiles essentielles formulées de <i>Pistacia lentiscus</i> sur l'expression des sucres totaux..... 89
		CONCLUSION ET PERSPECTIVES..... 91
		APPENDICES..... 94
		REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... 95

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1 :	Réactions de biosynthèses : Les métabolites intermédiaires de la glycolyse et du cycle de l'acide citrique [19].....	19
Figure 1.2 :	Représentation schématique globale des différents types de métabolisme [19].....	20
Figure 1.3 :	Exemples des types chimiques représentés parmi les composés terpéniques [47].....	23
Figure 1.4 :	Les métabolites secondaires produits par la plantes suite à des agressions biotique et/ou abiotiques [140].....	29
Figure 2.1 :	Biosynthèse des terpènes dans le chloroplaste et le cytosol [154].....	33
Figure 2.2 :	Biosynthèse du limonène [150].....	34
Figure 2.3 :	Biosynthèse des monoterpènes [155].....	34
Figure 2.4 :	Biosynthèse des sesquiterpènes [155].....	35
Figure 3.1 :	Limite géographique de la Mitidja.....	42
Figure 3.2 :	Diagramme Ombrothermique de Gaussen pour la région de Soumâa (a) Période 2003-2013, (b) Année d'étude 2013-2014.....	45
Figure 3.3 :	Localisation de la Mitidja sur le climagramme D'EMBERGER pour la période 2013-2014.et la période 2003-2013.....	47
Figure 3.4 :	Présentation des sites d'études (184 m d'altitude) (Google Earth, 2015).....	48
Figure 3.5 :	Présentation générale de l'arbrisseau du Pistachier lentisque (Originale, 2014).....	49
Figure 3.6 :	Aspect général d'un arbre de peuplier noir (Originale, 2014).....	50
Figure 3.7 :	Formes biologiques de <i>Chaitophorus leucomelas</i>	51

	(Gx80) (Originale, 2014) (a) Femelle ailée, (b) Femelle aptère, (c) Larve.....	
Figure 3.8 :	Partie récoltée de <i>Pistacia lentiscus</i> L. (originale 2013).....	51
Figure 3.9 :	Séchage de la partie aérienne du pistachier sauvage (Original; 2014).....	52
Figure 3.10 :	Bioproduits formulés à base d'huiles essentielles de lentisque (Original, 2014).....	53
Figure 3.11 :	Schéma représentatif de la logique des traitements appliqués.....	55
Figure 3.12 :	Blocs destinés aux traitements par H.E formulée des feuilles de lentisque (Originale, 2014).....	56
Figure 3.13 :	Blocs destinés aux traitements par H.E formulée des rameaux de lentisque (Originale, 2014).....	56
Tableau 3.1:	Variations mensuelles des températures et de la pluviométrie dans la région de Soumâa durant la période 2013-2014.....	43
Tableau 3.2:	Variations mensuelles des températures et de la pluviométrie dans la région de Soumâa durant la période 2003-2013.....	43
Tableau 3.3:	Conditions d'analyse CPG/SM des huiles essentielles.....	54

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Depuis l'antiquité, l'agriculture joue un rôle très important dans la civilisation humaine et dans la révolution socio-économique dans le monde entier. Dans les futures années, l'humanité devra faire face à l'un des plus grands défis de son histoire: dans un contexte de changement global, et notamment climatique, elle devra mobiliser les ressources alimentaires, énergétiques et en matières premières nécessaires pour une population des milliards d'êtres humains sur une planète dont on sait dès aujourd'hui que ses capacités ne sont pas infinies. Les insectes, dans la diversité de leurs espèces et de leurs modes de vie, seront des principaux acteurs de la sécurité alimentaire mondiale, pour le meilleur et le pire.

Les insectes jouent un rôle fondamental dans la chaîne trophique. Un grand nombre d'espèces végétales doivent leur existence et leur reproduction aux abeilles, bourdons et autres syrphes. De nombreuses cultures sont largement tributaires des insectes pollinisateurs pour leur survie, c'est le cas par exemple de certaines espèces fruitières et légumières [1].

À l'encontre, une partie importante des récoltes est directement consommée par des bioagresseurs, soit en champ, ou en cours de stockage; très souvent également, ce sont des insectes tels que pucerons ou cicadelles qui transmettent d'autres maladies (virus, bactéries) à travers les cultures. En Afrique, les ravageurs sont ainsi la cause première des pertes de produits agricoles [2].

Les attaques parasitaires peuvent donc être nombreuses et très dommageables, parmi lesquels nous citons *Chaitophorus leucomelas* [3]. Ce puceron attaque les feuilles, les pétioles et les bourgeons du peuplier noir *Populus nigra* L. en absorbant des quantités importantes de sève, et en injectant en même temps une salive toxique. Les arbres attaqués présentent

une réduction de croissance, se traduit par une production de bois en quantité moindre [4,5].

Le peuplier noir *Populus nigra* est une essence largement réparti dans le monde. Il peuple typiquement les plaines inondables [6] dans des vallées fluviales [7]. On le trouve aussi dans les haies et les bords des routes et des étangs. En outre, il est parfois planté dans des zones urbaines [8].

L'utilisation massive d'insecticide de synthèse pour le contrôle des infestations de pucerons est à la base de la sélection de populations d'insectes résistants [9]. Sans négliger la répercussion de ces produits sur l'environnement, et la santé humaine (possibilité de résidus dans les eaux de distribution ainsi que dans les aliments).

Ce constat conduit les scientifiques à rechercher de nouvelles approches de luttés, utilisées seules ou en combinaison avec les méthodes existantes qui permettraient de contrôler efficacement ces ravageurs tout en limitant les impacts négatifs des produits antiparasitaires sur l'environnement et la santé humaine [10].

Parmi ces approches, des méthodes de lutte biologique utilisant des prédateurs ou des parasitoïdes de pucerons ont été développées. Mais les pucerons, avec leur cycle de reproduction par parthénogenèse, ont la capacité de diluer rapidement les attaques de leurs ennemis [11].

Une autre voie actuellement envisagée est la formulation de nouveaux insecticides appelés bio-insecticides à base de molécules bioactives perturbant certaines fonctions biochimiques essentielles à la survie de l'insecte ravageur visé. Ils garantissent un haut niveau de sélectivité et, par conséquent, ne présentent que peu ou pas de risque pour la santé humaine, les espèces non ciblées et l'environnement. Le recours à des molécules naturelles insecticides se révèle donc être une bonne alternative [12,13].

Les huiles essentielles sont potentiellement efficaces en industries agro-alimentaires, également dans le domaine de la phytoprotection à la place des insecticides et fongicides chimiques [14]. Elles constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives [15].

Notre étude a porté sur l'évaluation de l'effet des huiles essentielles formulées à base des feuilles et des rameaux de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) sur les populations de puceron *Chaitophorus leucomelas* L. du peuplier noir pendant une période de 10 jours après traitement. L'activité biologique des bioproduits formulés a été évaluée d'une part sur quelques paramètres démographiques de l'espèce, et d'autre part, sur la qualité phytochimique de *Populus nigra* L.

Dans ce contexte on a essayé de répondre à certaines questions hypothèses :

- Quel serait l'impact des applications des huiles essentielles formulées sur les différentes formes biologiques de *Chaitophorus leucomelas* ?
- La formulation des huiles essentielles des deux compartiments (rameaux et feuilles) présentent-elles le même effet toxique?
- Les fortes et les faible dilutions présentent-elles la même toxicité?
- Quelle serait la rémanence des molécules bioactives
- Quelle serait l'effet des H.E sur le remaniement de la qualité phytochimique de la plante hôte.
- Si les huiles essentielles formulées affectent la qualité phytochimique du support nourricier, est ce que ce dernier entraine des perturbations sur la disponibilité du bioagresseur ?

CHAPITRE 1: GÉNÉRALITÉS SUR LE MÉTABOLISME VÉGÉTAL

Introduction

L'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent dans un organisme est appelé métabolisme. Le métabolisme (du grec : *metabolê*, changement) est un processus très dynamique. Les molécules sont en continuel renouvellement; la composition d'une cellule à un instant donné est un équilibre entre synthèse et dégradation. L'essentiel de synthèses est orienté vers la production de molécules qui sont importantes pour la structure et le fonctionnement de la cellule. Cependant, chez les plantes une quantité importante du carbone et de l'énergie est allouée à la synthèse de molécules dont la fonction est moins claire.

Les plantes synthétisent une large gamme de composés organiques qui sont traditionnellement classifiés comme des métabolites primaires et secondaire, bien que la distinction entre les deux groupes n'est pas facile parfois. Les métabolites primaires sont les composés qui assurent des rôles essentiels associé à la photosynthèse, la respiration, la croissance et le développement. Ils incluent les phytostéroles, les acyl-lipides, les nucléotides, les acides aminés et les acides organiques [16].

Le carbone issu du processus de la photosynthèse et de la respiration (métabolisme du carbone) et aux conversions énergétiques se trouve en grande partie dans les protéines, les acides nucléiques, les lipides et autres molécules qui sont communes à toutes les cellules et qui sont nécessaire a leur fonctionnement ainsi qu'a celui des organismes.

1.1. Métabolites primaires

La partie du métabolisme biosynthétique ou basal, comme la photosynthèse, la synthèse de protéines ou lipides, etc. comprend des réactions dites anaboliques (du grec, *ana* : en haut et *bolos* : jet) constituant l'anabolisme. La partie du métabolisme qui englobe la dégradation de molécules complexes en composés plus simples, comprend des réactions cataboliques (du grec *kata* : en bas et *bolos* : jet) constituant le catabolisme. La glycolyse et le cycle de l'acide citrique se situent au centre du métabolisme cellulaire, où se mêlent réactions cataboliques et anaboliques (Figure 1.1). C'est pour cette raison que la glycolyse et le cycle de l'acide citrique forment ce qu'il est convenu d'appeler le métabolisme intermédiaire [17].

Le métabolisme peut également être subdivisé différemment. Par exemple toutes les cellules renferment des glucides phosphorylés, des acides aminés, des lipides et des acides nucléiques; ces molécules qui sont à la base de la machinerie moléculaire de la cellule sont dénommées métabolites primaires. Les plantes synthétisent une foule importante d'autres molécules organiques qui ne peuvent être qualifiées de métabolites primaires. Ces molécules ont reçu le nom de métabolites secondaires [18].

La distinction entre métabolites primaires et secondaires n'est pas toujours facile. Les métabolites secondaires ne font pas *sensu stricto*, partie des matériaux de base de la cellule. Lorsque ses molécules sont présentes, elles ne se trouvent normalement que dans des tissus ou des organes particuliers ou à des stades précis du développement. Si l'on s'en tenait à cette règle couramment utilisées, la chlorophylle et la lignine seraient considérées comme métabolites secondaires puisqu'elles ne sont pas présentes dans toutes les cellules ou dans tous les tissus [19,20].

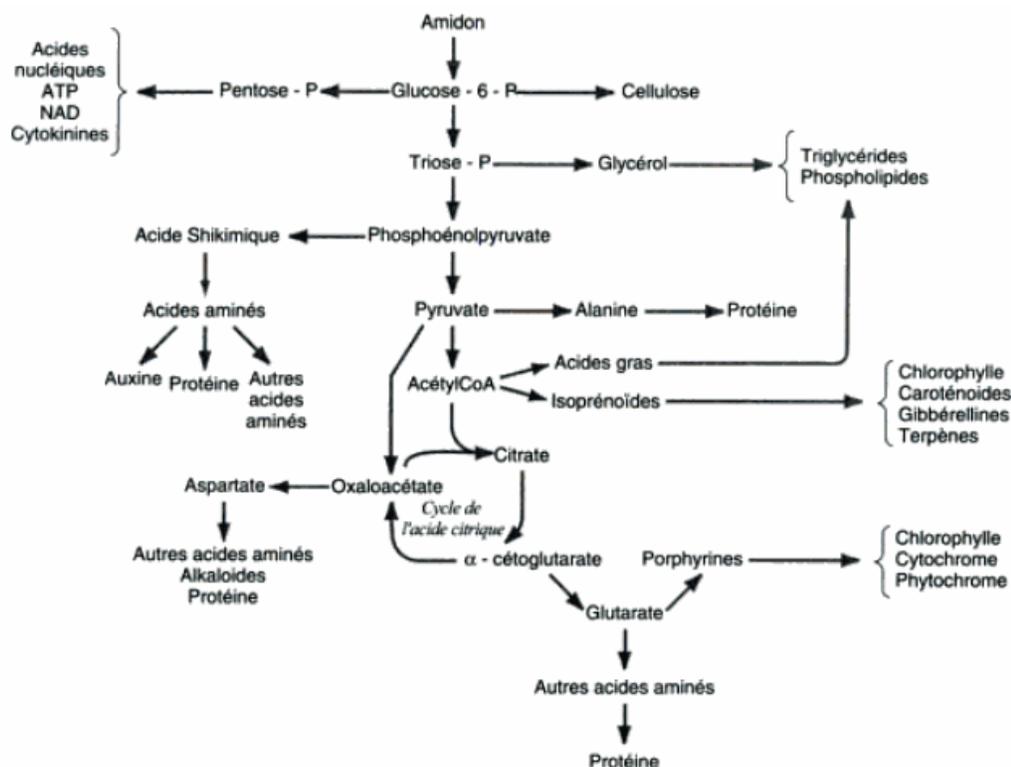


Figure 1.1 : Réactions de biosynthèses : Les métabolites intermédiaires de la glycolyse et du cycle de l'acide citrique [19].

Rôle de la respiration dans les réactions de biosynthèses. Les métabolites intermédiaires de la glycolyse et du cycle de l'acide citrique sont prélevés et servent de matériaux qui seront utilisés dans la synthèse des molécules constitutives de la cellule. L'apport de carbone dans le cycle est maintenu grâce à la synthèse d'Oxaloacétate par la réaction anapérotyques. Ce schéma est incomplet mais il permet de fournir des indications sur l'importance de ces deux types de biosynthèses [19].

Cependant l'importance fondamentale et de la Chlorophylle et de la lignine au cours de la croissance et du développement, permettrait sûrement de les qualifier de métabolismes primaires. Du point de vue de leur biosynthèse, métabolites primaires et secondaires ont en commun certains intermédiaires et dérivent des mêmes voies métaboliques (figure 1.1). La distinction entre métabolites primaires et secondaires est plus claire au niveau de l'organisme. Alors que les métabolites primaires constituent le fondement de la vie (figure 1.2).

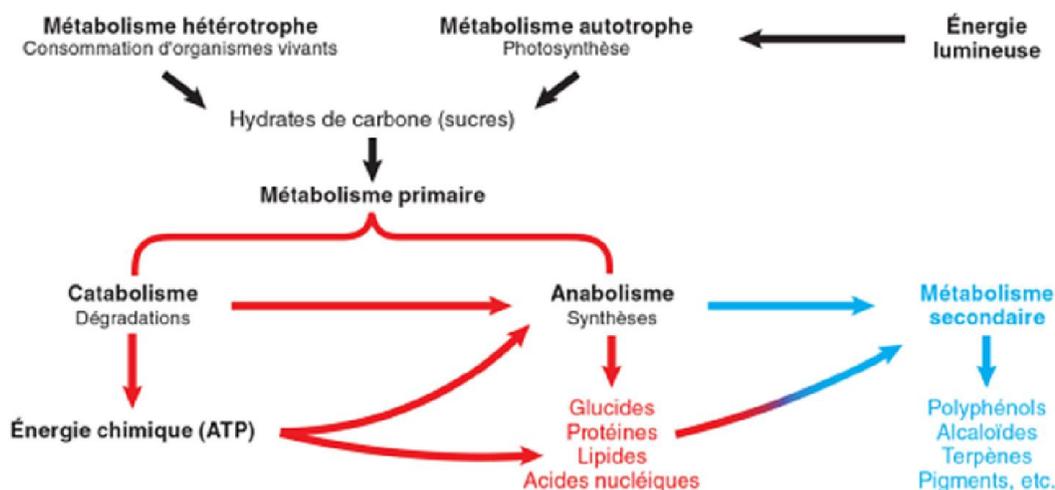


Figure 1.2 : Représentation schématique globale des différents types de métabolisme [19].

On désigne ainsi les molécules issues du métabolisme dit secondaire d'une plante, non essentiel à sa physiologie et à sa croissance. On l'oppose au métabolisme dit « primaire » qui réalise la synthèse des molécules nécessaires à la croissance, comme les sucres ou les acides aminés par exemple. C'est cette vision binaire qui a originellement conduit à penser que les composés secondaires n'étaient que des sous produits de l'activité métabolique d'une plante [19]. Depuis, des travaux comme ceux de Mayer [21] sur les monoterpènes ont montré qu'il n'en était rien mais le terme est resté.

1.2. Métabolites secondaires

En raison de leur valeur sur le plan économique ou médical, les chercheurs en chimie organique ou ceux qui s'intéressent aux substances naturelles, ont étudié les métabolites secondaires depuis des siècles. Cependant jusqu'à une époque récente, ces métabolites ont été considérés comme produits de déchet du métabolisme chez les plantes [18, 22].

Les métabolites secondaires représentent une variété très large de composés organiques sans fonction directe dans la croissance et le développement des plantes [23].

Cependant, ils jouent d'autres rôles importants, dans: l'odorat, la protection contre les insectes, les herbivores et les radiations ultra-violettes solaires [24, 25, 26]. Comme ils ont aussi un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement, telle l'attraction des insectes pollinisateurs [27]. Plus de 200.000 structures de métabolites secondaires ont été identifiées [23].

Quatre groupes se sont avérés intéressants: les saponines, les tanins, les flavonoïdes et les huiles essentielles [23, 26]. L'activité de ces substances dépend principalement de leur nature chimique et de leur concentration [28].

Du point de vue synthétique, les métabolites secondaires peuvent aussi être subdivisés en deux catégories: ils peuvent être de type **phytoanticipines** ou de constitution cela veut dire : synthétisés par la plante de manière permanente même en absence d'un facteur de stress par opposition aux métabolites induits ou **phytoalexines** qui sont synthétisés uniquement en cas de stress et sont donc formés de novo [29, 30, 20, 31].

1.2.1. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes constituent un groupe de molécules très différentes tant d'un point de vue structural que fonctionnel. Avec près de 40000 structures moléculaires [23]. Ils constituent probablement la classe la plus vaste et la plus diversifiée de composés organiques végétaux [33]. Les terpènes sont des substances généralement lipophiles et hydrophobes. De nombreux groupes chimiques sont présents (aldéhydes, cétones, éthers, esters et alcools) et peuvent présenter une structure acyclique ou bien cyclique [34]. (figure 1.3). Leur grande diversité structurale trouve son origine dans la

diversité des terpènes synthases; enzymes responsables de leur synthèse [35]. Aussi, chaque enzyme peut produire un bouquet dépassant 50 composés terpéniques à partir d'un seul substrat [36].

Les terpénoïdes sont synthétisés via l'unité commune élémentaire C5; l'isopentyl pyrophosphate (IPP) ou isoprène et son isomère le diméthylallyldiphosphate (DMAPP) [37]. Lorsque le composé terpénique comprend une seule unité C5, il est appelé hémiterpène, l'isoprène est le plus représentatif chez les végétaux. Lorsque le composé est constitué de 2, 3, 4, 6 ou 8 unités C5, il est respectivement appelé monoterpène (C10), sesquiterpène (C15), diterpène (C20), triterpène (C30) ou tetraterpène (C40). De part leur structure de base semblable à celle de l'isoprène, l'ensemble de ces composés terpéniques sont souvent rassemblés sous le nom d'isoprénoïdes.

1.2.2. Organe de stockage des terpènes

Chez la plupart des végétaux, une fois synthétisés, les terpènes sont stockés soit dans les poils sécréteurs (cas des Labiacées et Lamiacées) [38, 39, 40, 41], dans des cavités ou poches sécrétrices (cas des Myrtacées, Rutacées et Burséracées, et *Pistacia*) ou dans les canaux résinifères (cas des Résineux) [42, 32]. Ils peuvent cependant être directement émis (Composés Organiques Volatils; COV) dans l'atmosphère juste après leur synthèse chez certaines espèces ne possédant pas d'organes de stockage dans les feuilles [43].comme *Quercus ilex* et *Q. suber* [44, 45, 46].

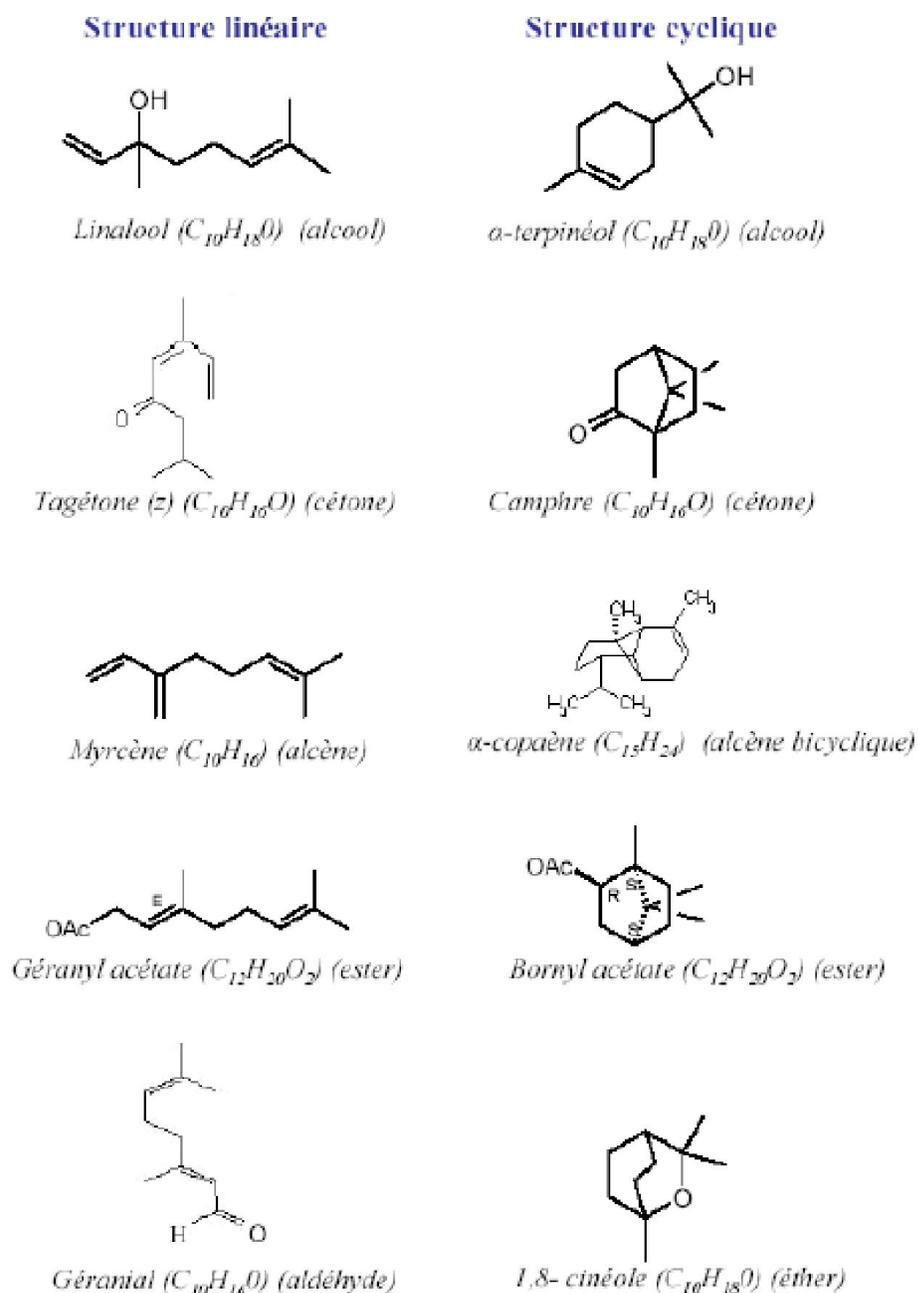


Figure 1.3. Exemples des types chimiques représentés parmi les composés terpéniques [47].

1.2.3. Fonction écologique des terpènes

Les terpènes assurent la défense directe (répulsif) contre les agents pathogènes et herbivores [48, 49, 50], ou d'une façon indirecte par attraction de parasitoïdes ou prédateurs des herbivores attaquant la plante [51,52]. Ils permettent l'attraction des insectes pollinisateurs [53], servent de médiateur dans la communication entre les plantes et les autres organismes [54,55], ou participent aux réponses allélopathiques [56,57]. Aussi, ils agissent comme des solvants pour des molécules ayant un poids moléculaire plus important empêchent la solidification des composés plus lourds, ce qui pourrait provoquer le blocage du système de transport chez la plante [52].

Les terpènes sont par excellence des composés de protection des végétaux face à des stress abiotiques. C'est le cas de l'isoprène [58, 59, 60], les monoterpènes et certains sesquiterpènes [61,62,63], [64,65] et [66,67]. qui permettent d'assurer une meilleure cohésion des membranes cellulaires notamment celles des thylakoïdes de façon à accroître leur résistance aux chocs thermiques mais aussi de réguler le métabolisme dans les chloroplastes [68,69]. Leur rôle de photoprotection face aux fortes intensités lumineuses a également été mis en avant [66]. En effet, l'exposition des végétaux à des isoprénoïdes exogènes [62], atténue ou retarde l'endommagement de l'appareil photosynthétique de manière non ubiquiste [70]. ce qui conforte l'hypothèse précédente.

Mais l'intérêt de ces molécules, à l'instar des caroténoïdes [71,72,73]. et l' α -tocophérol [74], tient également de leurs propriétés antioxydantes notamment contre les dommages engendrés par de fortes concentrations d'ozone ou d'espèces réactives d'oxygène (ROS) [75,76], [77] et [78,79]. De part leur forte réactivité liée à la présence de doubles liaisons dans leur formule chimique et leur caractère lipophile [76,80], ces isoprénoïdes se combinent avec ces molécules toxiques dans les espaces intercellulaires et

les désactivent physiquement [80]. En effet, les derniers résultats obtenus par [81] révèlent que l'inhibition de la synthèse des monoterpènes chez *Hevea brasiliensis* accélère les stress oxydatifs chez cette espèce par augmentation des niveaux de H₂O₂ et de MDA et par conséquent induit le renforcement d'autres systèmes antioxydants qui compensent l'absence de monoterpènes, à l'origine comme système antioxydant.

1.3. Facteur de variation des terpènes

La synthèse des terpènes chez les végétaux est d'origine génétique [82]. Cependant, sa composition est modulée par certains facteurs biotiques et abiotiques [83,84] et [85].

1.3.1. Facteurs biotiques

Parmi les facteurs biotiques, les pathogènes et herbivores [86,87], [88], [89,90] sont les plus remarquables en augmentant les contenues en terpènes, essentiellement ceux des monoterpènes chez les végétaux ravagés. Aussi, la quantité de terpènes est variable selon le sexe des arbres chez les espèces dioïques [91], l'organe (feuilles, fleurs ou fruits) [92], [93] et [94] la position des feuilles sur l'arbre [95,96], le tissu [97,98] et selon la compétition entre les plantes [99].

1.3.2. Influence des facteurs environnementaux

1.3.2.1. Température et luminosité

La synthèse des isoprénoïdes semble également être modulée par des facteurs abiotiques. Nous citons la température, facteur écologique régulant l'activité des terpènes synthèses [100] de plus la lumière [101] qui génère par le biais de la photosynthèse le glyceraldéhyde-3-phosphate [102] et de

l'énergie chimique (ATP et NADPH) qui sont indispensables pour la synthèse des isoprénoïdes. Ces deux facteurs écologiques, variables selon les saisons montrent que le taux de terpénoïdes est maximal au printemps [65,103] et [104,105], stade coïncidant avec une meilleure reprise végétative ou dans certains cas, le maximum est enregistré en automne [106].

1.3.2.2. Aridité

L'effet de l'aridité sur la production de terpènes a été évoqué de façon exhaustive. En général, le stress hydrique induit une augmentation des contenus en isoprénoïdes des feuilles [107,109], [66,110] même si certaines tendances inverses ont déjà été signalées chez certaines espèces comme *Cistus albidus* [110]. Aussi, des changements significatifs des émissions de terpènes ont été signalés chez beaucoup d'espèces méditerranéennes en réponse aux conditions de sécheresse [112,113]. Les mêmes résultats ont été signalés chez *Erica multiflora* et *Globularia alypum* [114].

1.3.2.3. Altitude

L'altitude est un autre facteur de stress abiotique qui menace surtout les espèces de faible altitude comme le lentisque. De nombreuses études ont démontré que ce facteur influence de près la phytochimie des végétaux [115,116], [117]. Il a été observé une augmentation des quantités des huiles volatiles [118,119] mais aussi celles des flavonoïdes chez les végétaux de haute altitude en réponse aux faibles températures [120,121], [122,123], aux fortes radiations [124,61], [125], notamment l'exposition aux UV-B [126,127] et l'ozone [128].

1.3.3. Autres facteurs (facteurs édaphiques et méthode d'extraction)

La synthèse des terpénoïdes peut aussi être modulée par la disponibilité en éléments nutritifs dans le sol [129,130] [46,110], mais aussi selon la méthode d'extraction utilisée [132,133].

1.4. Réponses de la plante face aux bioagresseurs

La réponse des plantes ou la résistance de celles-ci à la pression des insectes phytophages est définie par leur capacité à éviter ou à réduire les dommages causés par ces bioagresseurs [134].

Painter, [135] a défini trois catégories de résistance. L'antixénose ou la non-préférence définit une résistance induite par le rejet de la plante comme hôte de l'insecte. Elle peut être due à la présence de caractères morphologiques ou chimiques repoussant l'insecte, ou par l'absence de composés stimulant son alimentation ou son oviposition. Si l'insecte est touché dans sa physiologie par la plante, c'est l'antibiose pour laquelle les caractères physiques et chimiques peuvent aussi être impliqués entraînant une inhibition de croissance, une moindre fécondité, voire la mort de l'insecte. La résistance de la plante peut être enfin caractérisée par une tolérance ou la capacité de la plante à supporter ou se rétablir des dégâts causés par l'herbivore. La résistance des plantes aux bioagresseur varie dans le temps, le tissu considéré et les conditions environnementales. Elle est basée sur des caractères physiques, chimiques et développementaux.

1.4.1. Protections physiques ou mécaniques

Des épines ou poils peuvent constituer une barrière efficace contre certains herbivores en empêchant l'installation ou l'accès à l'aliment de l'insecte. Les trichomes crochus de *Phaseolus vulgaris* peuvent, par exemple, tuer les nymphes d'*Empoasca fabae* en les empalant [136].

Les cires de surface qui protègent les feuilles de la dessiccation et des maladies sont également répulsives ou gênent l'adhésion de certains insectes. Toutefois, elles stimulent parfois l'oviposition ou l'alimentation. L'épaisseur des tissus participent également à la résistance de certaines plantes. L'oviposition et l'alimentation des larves de *Chalcodermus aenus* sont en effet limitées par l'épaisseur de la paroi des gousses de certaines variétés de *Vigna unguiculata* [137].

1.4.2. Défenses chimiques des plantes

Les composés secondaires sont souvent considérés comme étant un moyen de défense de la plante productrice contre divers organismes comme les pathogènes et les ravageurs [138].

Ces substances représentent probablement le facteur le plus important contrôlant le comportement des insectes dans la nature et sont tributaires du cycle phénologique et des attaques dus aux ravageurs [139].

Elles se rencontrent sous forme de composés allélochimiques et/ou certains inhibiteurs de protéases [140] (figure 1.4) et déclenchent chez l'insecte des réponses comportementales. Elles peuvent être attractives, répulsives (antiappétantes) ou toxiques [141] (Figure 1.4).

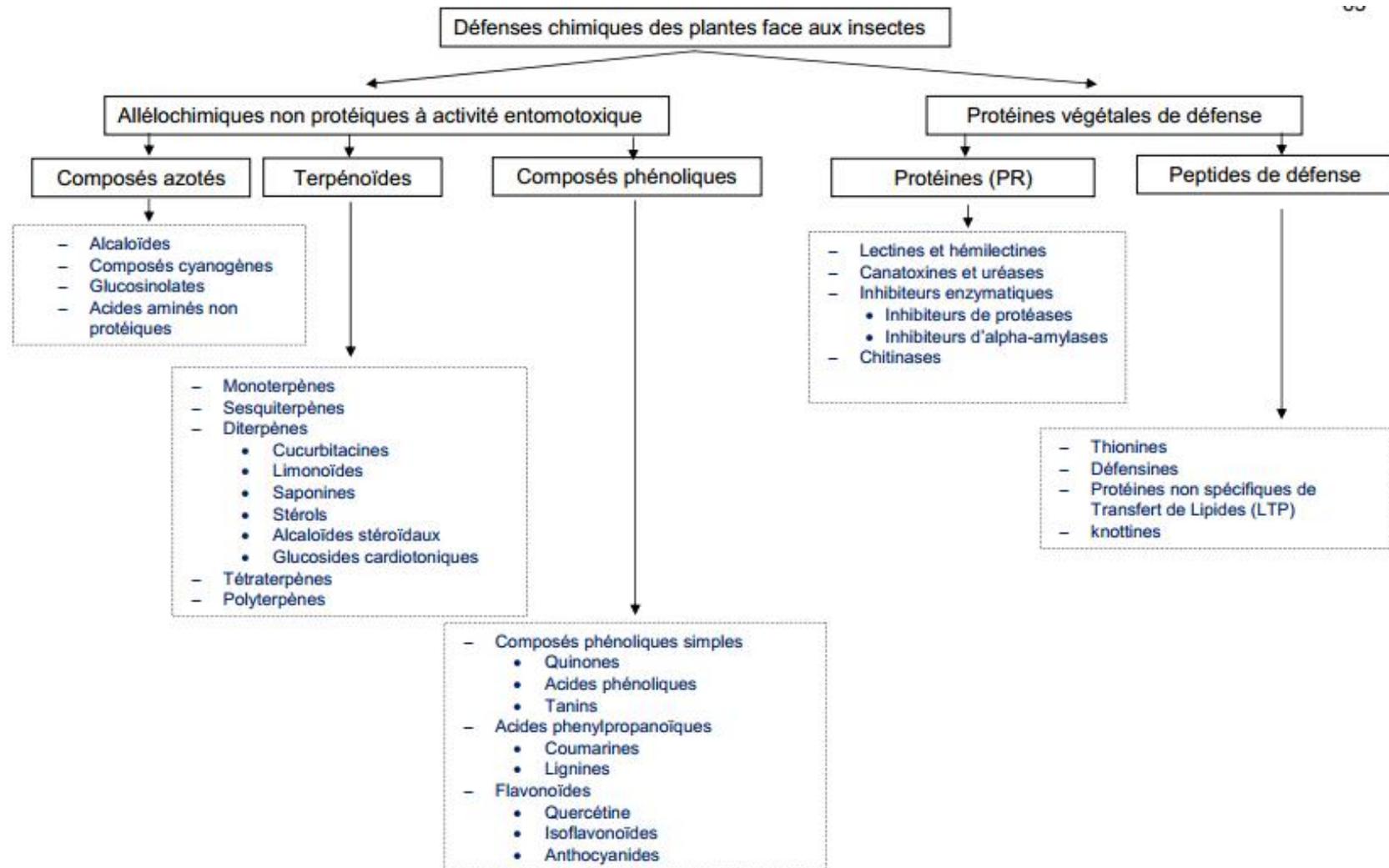


Figure 1.4 : Les métabolites secondaires produits par la plantes suite à des agressions biotique et/ou abiotiques [140].

CHAPITRE 2 : UTILISATION DES HUILES ESSENTIELLES DANS LA LUTTE CONTRE LES BIOAGRESSEURS

Introduction

Plusieurs pesticides sont utilisés dans la lutte contre les ravageurs de culture et de stock. Ces pesticides constitués pour la plus part des produits de synthèse, capables d'agir sur la physiologie des insectes. Ils agissent par fumigation, par contact ou par ingestion [142] et provoquent des troubles de comportement aboutissant à la mort de l'insecte. Ils induisent dans bien de cas le phénomène de la résistance chez les insectes traités et ont des effets néfastes sur l'environnement et la santé du consommateur. De nos jours, la lutte contre les ravageurs des produits agricoles entre dans une nouvelle phase avec le regain d'intérêt pour les biopesticides d'origine végétale [143]

De nouvelles perspectives, à base d'insecticides biologiques ou naturels ayant une faible répercussion écologique sont ainsi, entrain de se développer. Ces substances naturelles d'origine végétale sont constituées de molécules organiques biodégradables. Ce sont les métabolites secondaires des plantes et leurs dérivés. De nombreuses stratégies de lutte contre les ravageurs sont donc élaborées à partir de ces substances naturelles. Ainsi, les biopesticides phytochimiques sont utilisés de diverses manières :

- Les organes entiers : ce sont généralement des rameaux feuillés qui sont disposés en couches alternes dans la masse de graines.

- Les poudres de plantes entières ou d'organes végétaux sont utilisées pour l'enrobage des graines à traiter. Cette formulation reste toutefois difficile à appliquer à grande échelle [143]. L'énorme quantité de matière première à utiliser dans ce traitement limite l'utilisation de cette formulation en dehors du laboratoire [144].

- Les extraits bruts de plantes sont obtenus par extraction au solvant suivie de son évaporation. On obtient ainsi des extraits concentrés que l'on peut utiliser dans les traitements phytosanitaires. L'utilisation des extraits bruts standardisés est plus rentable que celle des composés purs, le coût de production étant réduit [145]. L'effet synergique d'autres composés présents dans les extraits bruts renforce l'activité du principe actif [146]. Toutefois, l'action des composés antagonistes n'est pas à exclure. Les huiles essentielles jouent divers rôles dans les plantes qui les produisent. Chez certaines plantes, elles ont un rôle protecteur car elles repoussent les insectes. D'autres propriétés (antimicrobienne, antioxydante) sont également évoquées et montrent la diversité du potentiel des huiles essentielles [147]

2.1. Les Huiles essentielles

La présence des molécules volatiles dans les cellules des plantes est à l'origine des parfums qu'exhalent ces dernières. Ces substances volatiles, désignées par le terme « essence » sont des sécrétions naturelles élaborées par les plantes [148]. De par leur caractère visqueux et hydrophobe, ainsi que leur solubilité dans les huiles et les graisses, ces molécules ont reçu le nom « huile essentielle ».

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal en proportion relativement faible (<1%) et peuvent cependant atteindre chez certaines espèces comme *Eugenia caryophyllata* L. (clou de girofle) près de 15% [148]. Ces huiles se concentrent dans les poches de sécrétion situées sur les feuilles, dans les tiges, les écorces (cannelier), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre), les fruits (anis et orange), le bois (camphre) et même parfois à partir des gommés qui s'écoulent du tronc des arbres. La composition des essences peut varier d'un organe à un autre pour la même plante ; c'est le cas du citronnier dont l'huile essentielle provenant des feuilles a une composition différente de celle des fleurs.

2.1.2. Biogenèse des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes constitués principalement de composés terpéniques qui font partie des métabolites dits secondaires de la plante [149,150]. Wallach [151] présente les terpènes comme formes d'unités d'isoprènes (2-méthylebuta-1,3diene) et classés en : hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tétraterpènes (C40) et polyterpènes ou polyisoprènes (>C40), suivant le nombre d'unités d'isoprènes. 2

Deux voies de synthèse des terpènes sont reconnues dont l'acide mévalonique (MVA) et le phosphate deoxyxylulose (ou le méthylerythritol (MEP)) sont les principaux intermédiaires [154]. Quelle que soit la voie de synthèse, elle conduit à la condensation de l'isopentenyl pyrophosphate (IPP) et du 3,3- diméthyleallylpyrophosphate (DMAPP) [152]. Au cours de cette synthèse, les composés de chaque classe proviennent d'un même précurseur, comme le montre la figure (2.1). La synthèse par l'acide mévalonique a lieu dans le cytosol et conduit aux précurseurs des sesquiterpènes : le farnesyl diphosphate (FDP ou FPP). La synthèse par le méthylerythritol (issu du phosphate deoxyxylulose) se déroule dans le chloroplaste et donne les précurseurs des monoterpènes : le geranyl diphosphate (GDP ou GPP), et des diterpènes : le geranyl-farnesyl pyrophosphate (GGDP ou GGPP) [153]. Les précurseurs vont donner des terpènes qui vont subir diverses réactions d'addition, d'élimination et de réarrangement catalysées par des enzymes spécifiques pour donner d'autres composés terpéniques (figures 2.2, 2.3, 2.4) [150, 155, 155].

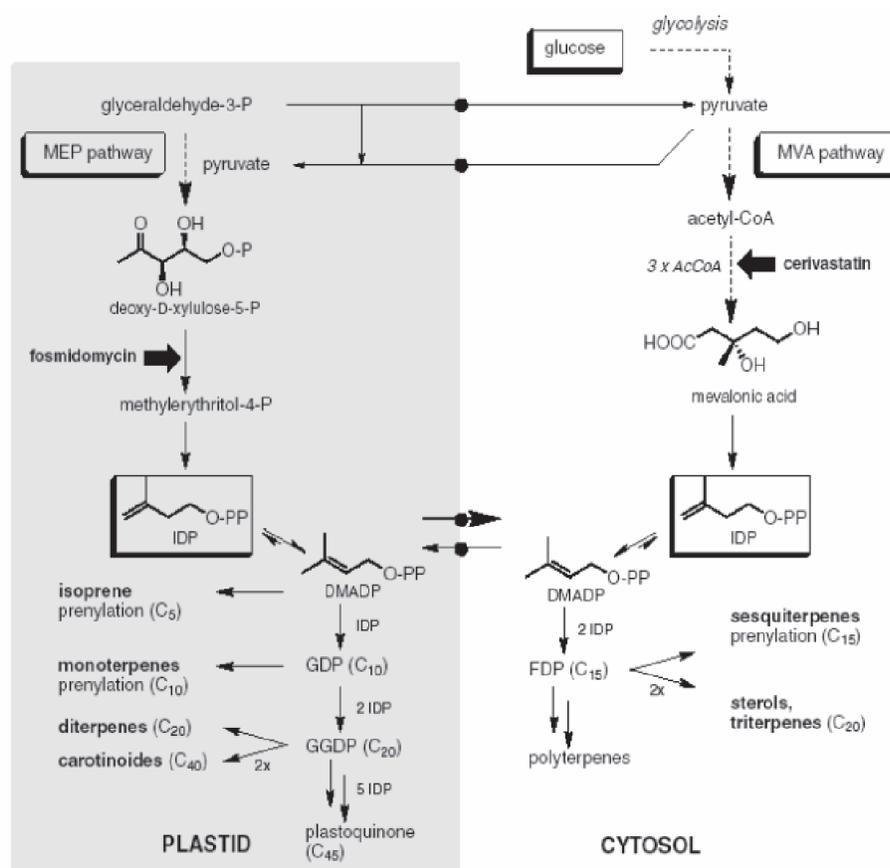


Figure 2.1 : Biosynthèse des terpènes dans le chloroplaste et le cytosol [154]

Le geranyl pyrophosphate (GPP) conduit à des monoterpènes aliphatiques hydrocarbonés. Ceux-ci vont subir diverses réactions d'addition, élimination et réarrangement catalysées par des enzymes spécifiques pour donner d'autres monoterpènes aliphatiques, hydrocarbonés, aromatiques, oxygénés. La figure 2.2 montre la biosynthèse du limonène qui est un monoterpène. Les figures montrent la diversité des classes de produits et des structures moléculaires issues d'un même précurseur [155,156]. Le géraniol, le linalool, le cis-ocimène proviennent d'une même molécule de même que l' α -thujène et le sabinène [157] (figure 2.3). Le farnesyl diphosphate conduit à la formation du germacrène A, à partir duquel l' α -guaiène et l' α -bulnesène par exemple seront synthétisés (figure 2.4).

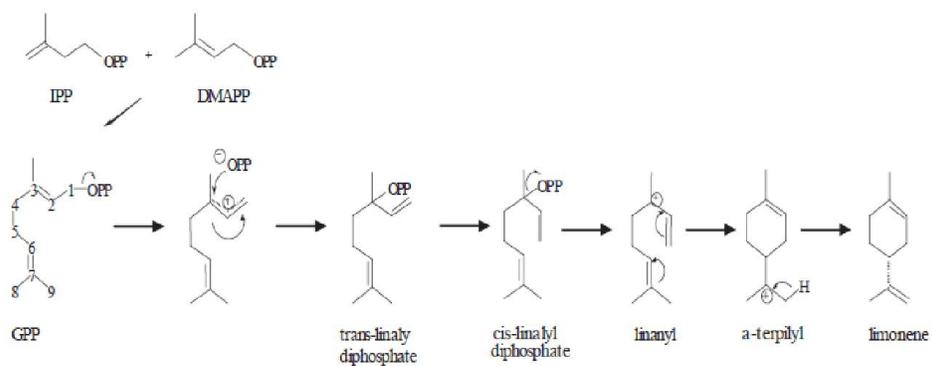


Figure 2.2 : Biosynthèse du limonène [150]

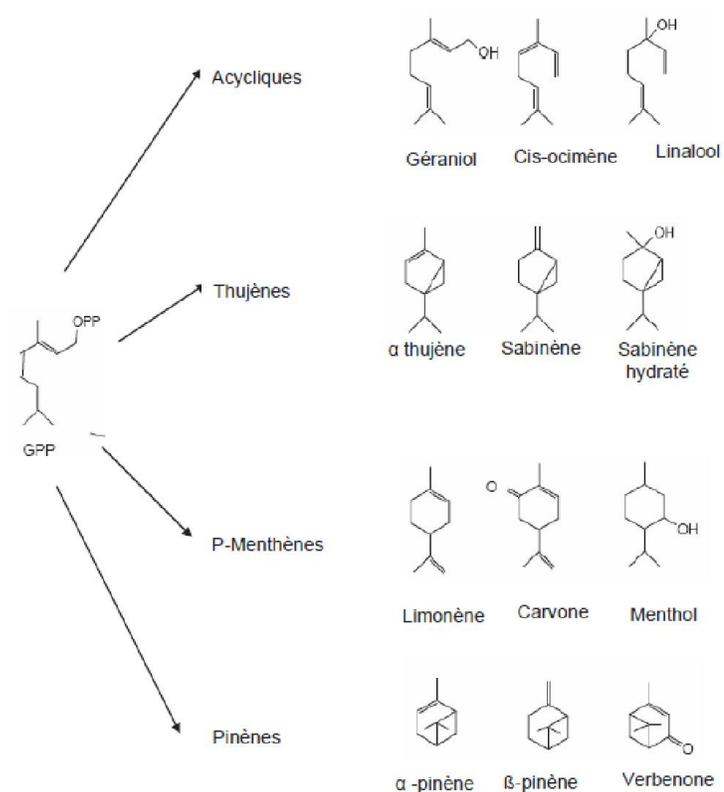


Figure 2.3: Biosynthèse des monoterpènes [155]

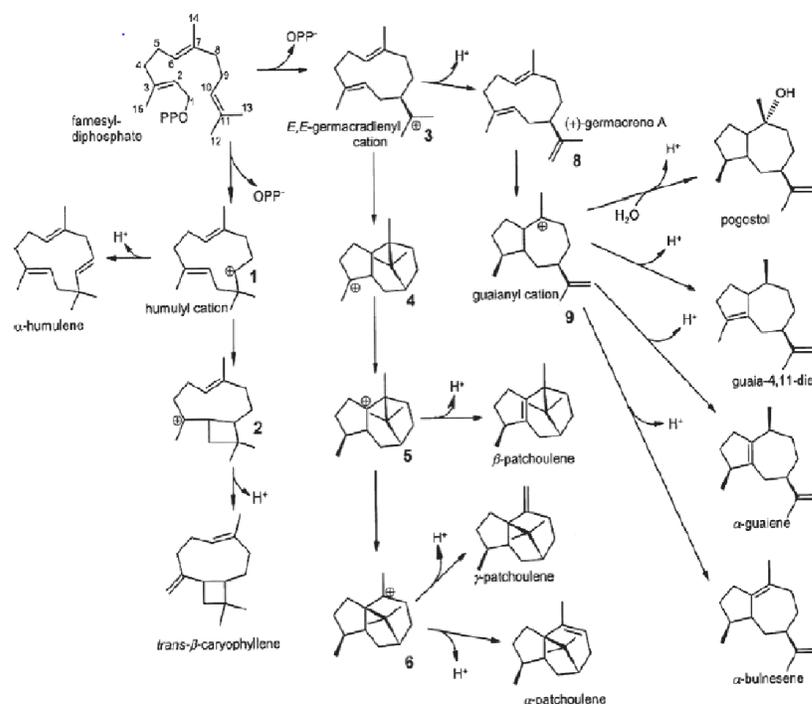


Figure 2.4: Biosynthèse des sesquiterpènes [155]

2.2. Notion de chimotype

Pour une même espèce botanique, il peut exister plusieurs races chimiques ou chimiotypes qui trouvent leur origine dans de légères différences des voies de biosynthèse, aboutissant à l'accumulation de métabolites secondaires différents.

Ce phénomène a été bien étudié pour le thym, *Thymus vulgaris* L. pour lequel on distingue au moins 7 chimiotypes différents en fonction du constituant principal de l'huile essentielle [158] : alpha-terpinéol, carvacrol, cinéole, géraniol, hydrate de sabinène, linalol, thymol. Il est donc indispensable, pour certaines huiles essentielles de bien préciser le chimiotype car il peut conditionner l'activité et/ou la toxicité.

2.3. Activité insecticide des huiles essentielles

De part la diversité de leurs composés terpéniques, les huiles essentielles qui agissent par fumigation, présentent différents modes d'action. En effet, leurs actions peuvent se faire sur les estérases, les synapses inhibitrices, les récepteurs octopaminergiques ou sur l'activité électrique neuronale.

2.3.1. Action sur les estérases

Selon Huignard [159], les monoterpènes contenus dans les huiles essentielles sont des neurotoxiques qui agissent sur différentes cibles en fonction de leur nature chimique. Le 1,8-cinéole et le terpinène-4-ol (deux composés majoritaires contenus dans l'huile essentielle extraite des feuilles de thé) ont une action inhibitrice sur l'acétylcholinestérase [160]. Selon Ryan et Byrne [161], cinq monoterpènes (citral, pulegone, linalol, bornyl acétate et cinéole) représentant chacun un groupement fonctionnel donné (aldéhyde, cétone, alcool, ester et éther) sont des inhibiteurs réversibles compétitifs occupant le centre du site actif hydrophobique de l'AChE. D'autres composés terpéniques ont également montré une efficacité dans l'inhibition de l'AChE *in vitro*. Ce sont entre autres, le linarin (acacetin-7-O- β -D-rutinoside) extrait des fleurs de *Mentha arvensis* [162], le 3-carène et le β -pinène contenus dans les huiles essentielles de *Salvia fruticosa* et de *Salvia officinalis var. purpurea* [163].

Selon Savelev [163], l'inhibition de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase par les huiles essentielles extraites des espèces du genre *Salvia* (*S. fruticosa*, *S. lavandulaefolia*, *S. officinalis* et *S. officinalis var purpurea*) est plus importante que celle induite par leurs composés terpéniques pris individuellement. Ce qui suggère donc un effet synergique. Selon Ketch [164], les huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* et de *Cymbopogon schoenanthus* inhibent partiellement l'activité des estérases.

2.3.2. Action sur les synapses inhibitrices

En dehors de leur effet inhibiteur sur l'AChE, les composés terpéniques ont d'autres sites d'action. Le thymol perturbe le fonctionnement des synapses inhibitrices où le neurotransmetteur est l'acide γ -aminobutyrique (GABA) en se fixant sur les récepteurs GABA associés aux canaux chlorés situés sur la membrane des neurones post synaptiques ; ce qui perturbe l'activité régulatrice de ces cellules [165].

2.3.3. Action sur les récepteurs octopaminergiques

Selon Enan [166], l'eugénol aurait un effet spécifique sur les récepteurs de l'octopamine qui est un neuromodulateur et une neurohormone chez les invertébrés [167]. Cette action de l'eugénol se fait soit à plus faibles doses (10⁻⁶M) en augmentant des cellules du système nerveux de l'insecte (*Periplaneta americana*) ; soit à plus fortes doses (10⁻⁵M) en réduisant la production d'AMP cyclique (AMPc) [168]. De plus, un mélange d'eugénol, d' α -terpineol et d'alcool cinnaminique (10⁻³M) inhibe l'accroissement du taux d'AMPc provoqué par l'octopamine. Sur des cultures de cellules de cerveau de *P. americana* et de *Drosophila melanogaster*, l'eugénol, à plus fortes doses (2,5 10⁻⁵M) mime l'action de l'octopamine et provoque une augmentation du taux de calcium intracellulaire [169]. L'eugénol serait donc selon Huignard [170] reconnu par les récepteurs à l'octopamine et son activité insecticide s'exercerait par l'intermédiaire du système octopaminergique. Le rôle de ce système octopaminergique dans la cytotoxicité des huiles essentielles a été aussi mis en évidence par [171] sur des cultures de cellules épidermiques de *Helicoverpa armigera*. Chez *D. melanogaster*, Enan [160] a montré que les monoterpènes tels que le thymol, le carvacrol et le α -terpineol, reconnus par les récepteurs à la tyramine, un précurseur de l'octopamine, influencent la production d'AMPc et de calcium au niveau cellulaire.

2.3.4. Action sur l'activité électrique neuronale

Pour Price [172], l'effet de l'eugénol est tout autre. Ce monoterpène provoque plutôt une inhibition presque complète de l'activité électrique neuronale. Par contre le citral et le géraniol provoquent sur ces neurones un effet biphasique en fonction de la dose utilisée. A faible dose, ces deux monoterpènes induisent une augmentation de l'activité électrique spontanée, puis une diminution à forte dose [172]. Les travaux de Ketoh [164], ont montré que l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* par ces composants majoritaires (le linalool et l'estragol) induisait au niveau du système nerveux central de *P. americana*, une diminution de l'amplitude du potentiel d'action de près de 50%, associée à une réduction à la fois de la phase de post-hyperpolarisation et de la fréquence de décharge des potentiels d'action. En somme, son effet aboutit à une inhibition totale de l'activité électrique neuronale.

Les différents modes d'action observés chez les huiles essentielles à travers la grande diversité des monoterpènes qu'elles contiennent montrent que leur activité insecticide est due à plusieurs mécanismes synergiques. Ces divers mécanismes affectent donc des cibles multiples perturbant ainsi plus efficacement l'activité cellulaire [159]. Quel que soit leur mode d'action, les insecticides sont soumis, comme tout xénobiotique, à une panoplie de réactions enzymatiques ayant un double intérêt [173].

2.4. Autres activités biologiques des huiles essentielles

Les composés chimiques retrouvés dans les huiles essentielles responsables de l'odeur de celles-ci sont des substances actives dotées de propriétés antibactériennes, fongicides et insecticides [174,175] et [176]. Les plantes ont toujours été utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés biologiques. Ces propriétés leur étant conférées par leurs diverses

composantes parmi lesquelles les huiles essentielles [177]. Ces huiles essentielles, grâce à leur composition chimique riche en terpènes, alcools, aldéhydes ont été reconnues comme dotées de pouvoirs antiseptiques. Dans le domaine microbiologique, plusieurs travaux ont été effectués dans le but de montrer leur activité anti- microbienne [178,179], [180] et [181, 182]. De même, certaines huiles présentent une activité antifongique. On peut citer celles de *Eucalyptus globulus*, *Thymus vulgaris* et *Lavandula officinalis* [183], et d'après les travaux de Pruthi [184], les effets bactéricides des huiles essentielles d'*O. gratissimum* et *Cinnamomum zleylanium* ont été prouvées. Les propriétés bactéricides se justifient par leur pH acide dans la mesure où la pullulation microbienne est favorisée par l'alcalinité tandis que l'acidité s'y oppose; ces propriétés se justifient également par l'effet de l'hydrophobicité des composés terpéniques : cas du thymol et du carvacrol [185]. Car la structure phénolique du thymol lui confère des capacités de destruction membranaire par sa forte hydrophobicité et sa capacité à céder un proton, va pouvoir s'insérer dans la bicouche lipidique de bactéries. Ce qui va engendrer un phénomène de fluidification et entraîner une augmentation de la perméabilité membranaire. C'est la conclusion à laquelle arrivent, Dubey [186], Nakamura [187], Nguéfack [188] et Onawunmi [189].

2.5. Formulation des huiles essentielles

Les principes actifs de biopesticides sont formulés de la même façon comme des pesticides de synthèse dans la plus part des cas. C'est le plus commode des utilisateurs comme il leur permet d'utiliser le même équipement pour des traitements différents. Beaucoup de biopesticides sont à base des organismes vivant. La variabilité de ces organismes devra être maintenue à des niveaux tolérables pendant le processus de formulation et le stockage.

Au moment de l'application, les organismes doivent reprendre leur état inerte pour leur activité. Les problèmes de formulations des bioproduits reviennent sur la compréhension omnipotente et rigoureuse des processus causant la mortalité des organismes qui est nécessaire pour promouvoir des progrès [190,191].

Le processus de formulation mène a un produit final en mélangeant le composant microbien ou autre avec différents adjuvants pour la survie de l'agent biologique, et la bio-activité et la stabilité de stockage. Ainsi de faciliter le traitement pendant l'application du produit,.Elles permettent aussi la protection du bio-agent soumit aux conditions environnementales défavorables, et favorisent l'activité du bio-agent en augmentant le contact et l'interaction avec le bioagresseur ciblé.

CHAPITRE 3: MATÉRIEL ET MÉTHODES

Objectif du travail

L'objectif de notre travail est d'évaluer dans les conditions naturelles la performance d'une formulation de bioproduits à base d'huiles essentielles formulées de la partie aérienne de *Pistacia lentiscus* sur le plan activité biocide à travers l'estimation des perturbations notées sur les populations du puceron vert du peuplier *Chaitophorus leucomelas*, et sur le plant activité phytostimulatrice à travers l'estimation des modification enregistrées dans les métabolites primaires et secondaires du peuplier noir.

3.1. Présentation de la région d'étude

3.1.1. Présentation de la région de la Mitidja

3.1.1.1. Situation géographique

Notre site d'étude est situé dans la région de Soumâa, dans la plaine de la Mitidja; Cette dernière est la plaine sub-littorale la plus vaste de l'Algérie : elle s'étend sur une longueur d'environ 100 Km et une largeur variant entre 5 et 20 Km, soit une superficie de près de : 140.000 hectares. Elle est limitée, au nord, la ride du Sahel et le vieux massif du Chenoua, au nord-est, l'oued Reghaia et l'oued Boudouaou, au nord-ouest et à l'ouest, le Djebel Chenoua (905m), la chaîne du Boumaad et le Djebel Zaccar (800m), au sud, l'Atlas Blidéen borné par tout un ensemble de montagnes, à l'est, les hauteurs et collines de la basse Kabylie. La Mitidja à une latitude nord moyenne de 36 à 48 degrés et une altitude moyenne de 30 à 50 mètres. (figure 3.1).

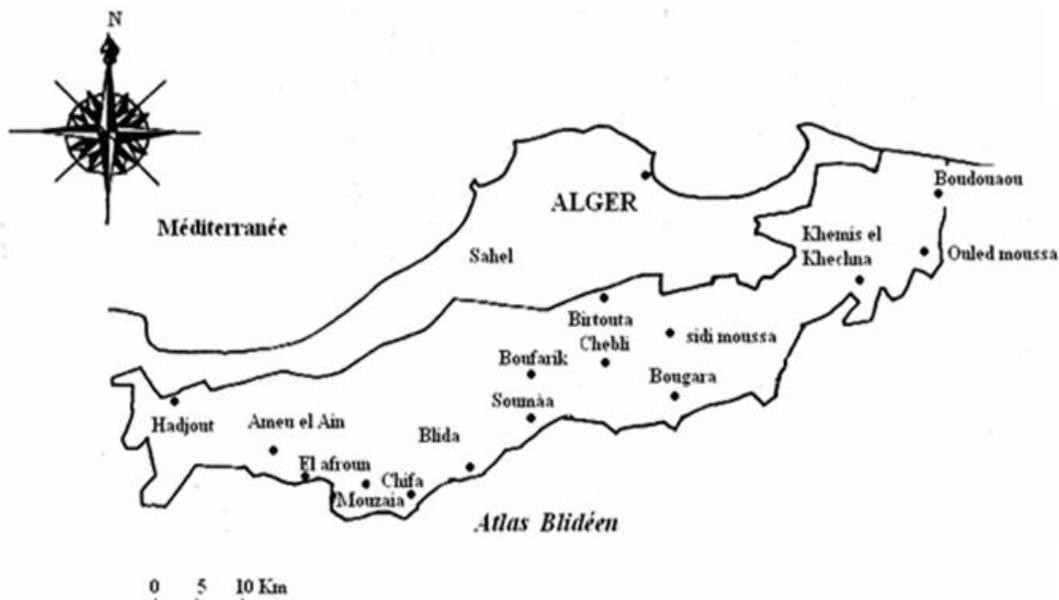


Figure 3.1 : Limite géographique de la Mitidja

3.1.1.2. Synthèse climatique de la région d'étude

3.1.1.2.1. Température et pluviométrie

La température représente un facteur limitant de toutes premières importances, car elle contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionne de ce fait la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'êtres vivants dans la biosphère. Bale *et al* [192] observent qu'une hausse des températures dans les limites vitales des espèces, implique une accélération de leur développement. Chararas [193] précise que la température exerce son influence de façon constante sur tous les stades d'évolution de l'insecte.

Nous nous intéressons aux variations mensuelles des températures ainsi que ceux de la pluviométrie dans la région de Soumâa durant la campagne agricole 2013-2014 (Tableau 3.1) ainsi que les données de la période 2003-2013 (Tableau 3.2)

Tableau 3.1: Variations mensuelles des températures et de la pluviométrie dans la région de Soumâa durant la période 2013-2014.

Paramètres	Jan	Fév.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Août	Sep	Oct.	Nov.	Déc.
Tmax (°C)	16,1	14,8	19,2	20,7	22,1	27,6	31,9	32,8	29,4	29	18	16,8
Tmin (°C)	7,7	6,8	11,8	11,2	13,1	15,8	20	20,1	19,2	17,8	10,9	7,7
Tmoy (°C)	11,5	10,5	15,1	15,3	17,3	21,4	25,3	26	22,8	22,6	13,6	11,8
Pv (mm)	133	120	64	122	178	3	2	7	20	18	145	101

(O.N.M., 2014)

Tableau 3.2: Variations mensuelles des températures et de la pluviométrie dans la région de Soumâa durant la période 2003-2013.

Paramètres	Jan	Fév.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Août	Sep	Oct.	Nov.	Déc.
Tmax (°C)	15,32	14,98	18,54	21,22	25,13	30,51	33,96	34,04	29,59	26,25	19,81	16,32
Tmin (°C)	7,84	8,77	9,54	11,68	14,7	19,27	21,2	21,91	19,28	16,56	12	9,21
Tmoy (°C)	11,17	11,31	13,55	15,86	18,77	23,88	26,95	27,22	23,59	20,58	15,49	12,39
Pv (mm)	83,6	100,3	53,4	48,5	61	26,1	1,5	9,3	43	75	101,2	98,8

(O.N.M., 2013)

L'analyse des températures fait ressortir que les basses températures sont enregistrées aux mois de janvier, février et décembre, tandis que les hautes températures sont enregistrées aux mois de juin, juillet, août, septembre et octobre. Les moyennes des minimas du mois le plus froid sont enregistrées au mois de février avec une température de 10,5°C, et les moyennes des maximas du mois le plus chaud sont enregistrées au mois d'août avec une température 26 °C de l'année 2013-2014. Concernant la compilation de la décennie 2003-2013, les basses températures sont enregistrées aux mois de janvier, février, mars et décembre, tandis que les hautes températures sont enregistrées aux mois de juin, juillet, août, septembre et octobre. Les moyennes des minimas du mois le plus froid sont enregistrées au mois de janvier avec une température de 11,175°C, et les moyennes des maximas du mois le plus chaud sont enregistrées au mois d'août avec une température 27,22°C

Les précipitations mensuelles dans la région de Soumâa ont un régime typiquement méditerranéen avec un maximum en hiver et un minimum en été [192]. La distribution inégale des précipitations au cours du cycle annuel et l'alternance saison humide et saison sèche joue un rôle régulateur des activités biologiques des ravageurs.

Durant la période 2003-2013, les précipitations moyennes enregistrées font ressortir une pluviométrie moyenne annuelle de 701,7 mm. Pour l'année d'étude 2013-2014; les précipitations moyennes font ressortir une pluviométrie moyenne annuelle de 913 mm. Les quantités de pluies mensuelles moyennes sont bien réparties durant la période annuelle 2013-2014

3.1.1.2.2. Diagramme Ombrothermique

Bagnouls et Gaussien [194] et Dajoz [4], définissent le mois sec lorsque la somme des précipitations moyennes exprimées en (mm) est inférieure au double de la température de ce mois ($P/2 T$). Ils ont proposé un diagramme où on juxtapose les précipitations et les températures. Lorsque la courbe des précipitations rencontre celle des températures et passe en dessous de cette dernière, nous avons une période sèche.

A partir de cette hypothèse, nous traçons les diagrammes Ombrothermiques sur lesquels sont portés en abscisse les mois et en ordonnées les températures mensuelles moyennes et la pluviométrie (Figure 3.2)

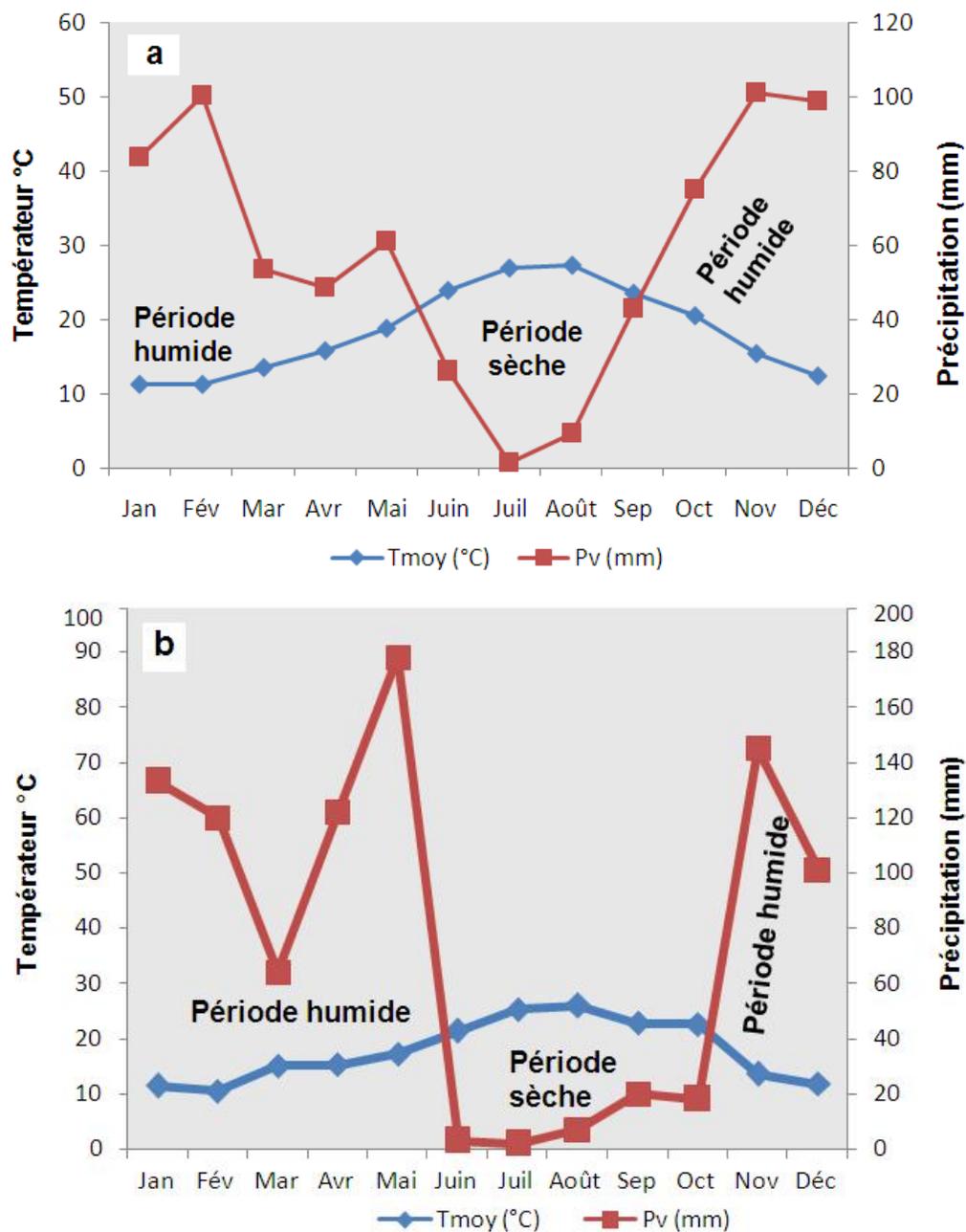


Figure 3.2 : Diagramme Ombrothermique de Gausson pour la région de Soumâa

(a) Période 2003-2013, (b) Année d'étude 2013-2014

Le Diagramme Ombrothermique des années de la période 2003-2013 (Figure 3.2a) montre l'irrégularité du climat au cours de cette décennie. On remarque l'installation d'une période sèche qui s'étale sur quatre mois de juin

à mi-septembre, et une période humide qui s'étale sur neuf mois de la mi-septembre à mai.

Pour l'année d'étude 2013-2014, le diagramme Ombrothermique (Figure 3.2b) marque aussi une irrégularité climatique dont la période sèche s'étale sur quatre mois de juin à la mi-octobre, et une période humide qui s'étale sur neuf mois de la fin mai à la mi-octobre.

3.1.1.2.3. Étage bioclimatique (Climagramme d'EMBERGER)

L'indice d'EMBERGER permet la caractérisation des climats et leurs classifications dans les différents étages bioclimatiques. L'indice d'EMBERGER où le coefficient pluviométrique est calculé selon la formule:

$$Q_2 = 3.43 \times P/M-m$$

Avec:

P: pluviométrie annuelle (mm);

M: Moyennes des températures maximale du mois le plus chaud;

m: Moyennes des températures minimales du mois le plus froid [127]

En plaçant les valeurs (T_{\min} ; Q_2) sur le diagramme d'EMBERGER, nous avons défini l'étage bioclimatique pour notre région d'étude et qui se situe dans l'étage sub-humide à hiver chaud pour les dix ans de 2003 à 2012, et puis dans l'étage sub-humide à hiver doux pour l'année 2013 -2014 [129] (Figure 3.3)

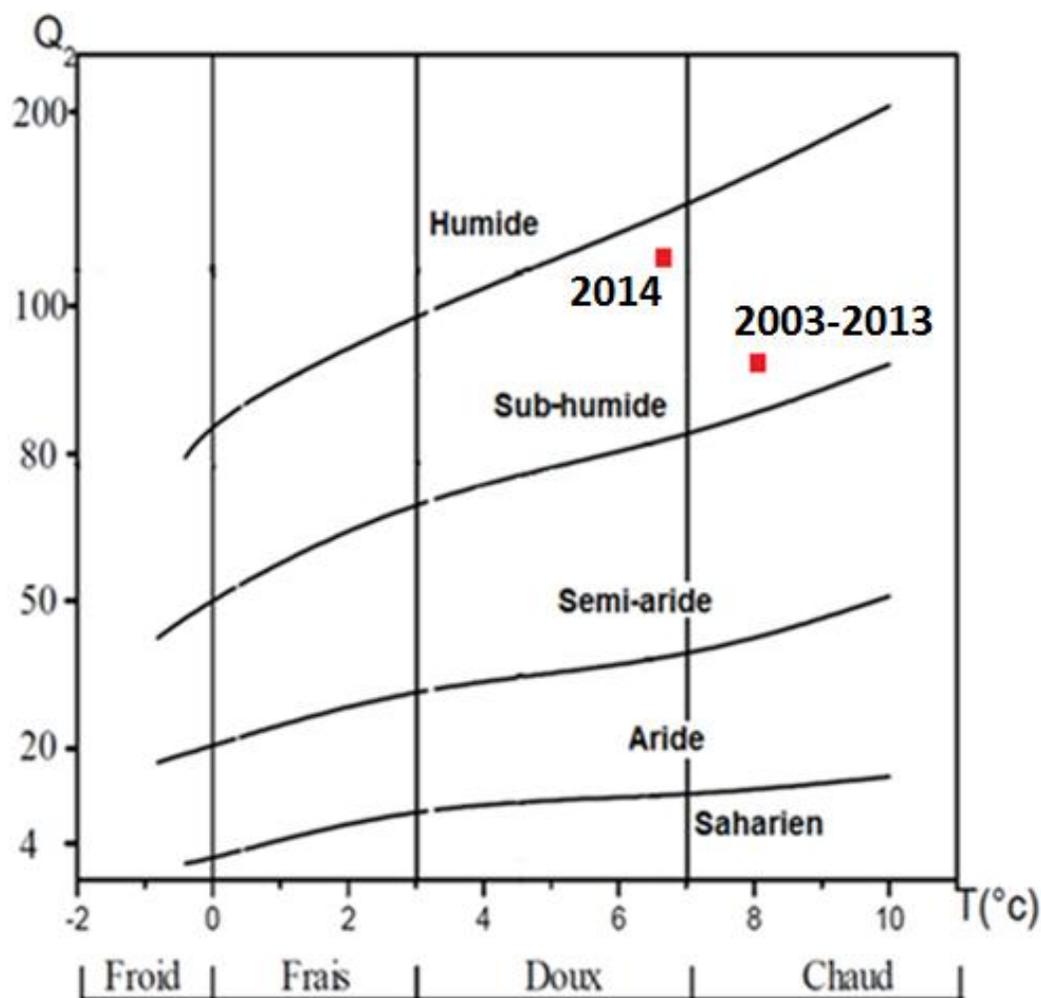


Figure 3.3: Localisation de la Mitidja sur le climagramme D'EMBERGER pour la période 2013-2014. et la période 2003-2013

3.1.2. Présentation du site d'étude et conditions expérimentales

Les essais de la présente étude ont été réalisés au campus universitaire de l'Université Saad DAHLEB de Blida 1 (figure 3.4.). La première étape est lancée durant 21/12/2013 - 21/03/2014. Elle est réalisée au niveau du laboratoire de Phytopharmacie appliquée du département des Biotechnologies, de la Faculté es Sciences de la Nature et de la Vie. Elle est consacrée à l'extraction et la formulation des huiles essentielles du Pistachier lentisque. La deuxième étape est réalisée durant la période 21/06/2014 - 04/07/2014 au

niveau de la résidence universitaire 7. Elle est consacrée à l'évaluation de l'activité biologique des bioproduits formulés.

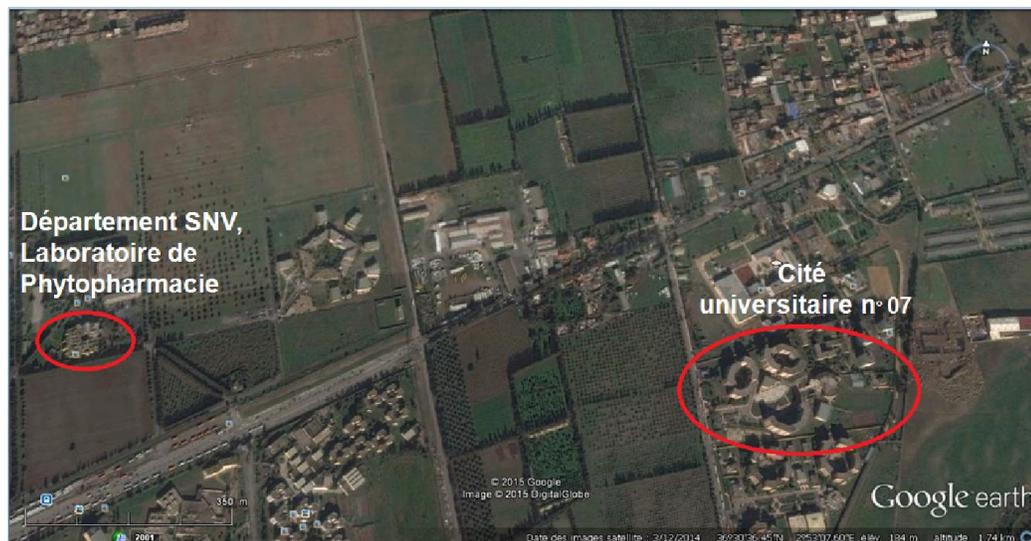


Figure 3.4: Présentation des sites d'études (184 m d'altitude)

(Google Earth, 2015)

3.2. Matériel d'étude

3.2.1. Matériel végétal

3.2.1.1. Présentation de la plante destinée à l'extraction des huiles essentielles (*Pistacia lentiscus* L.)

Le lentisque est un arbuste sclérophylle de moyenne altitude à feuilles persistantes, à odeur de résine fortement âcre et à croissance très lente. D'une hauteur de 2 m, il peut cependant atteindre la taille d'un arbre lorsqu'il est dans des sites humides et protégés (Figure 3.5.). *P. lentiscus* L. se retrouve à l'état sauvage en Algérie et il est couramment utilisée comme porte greffe de *P. vera*. Son intérêt pharmaceutique et antimicrobien a été prouvé par divers auteurs [195,196] et [197].

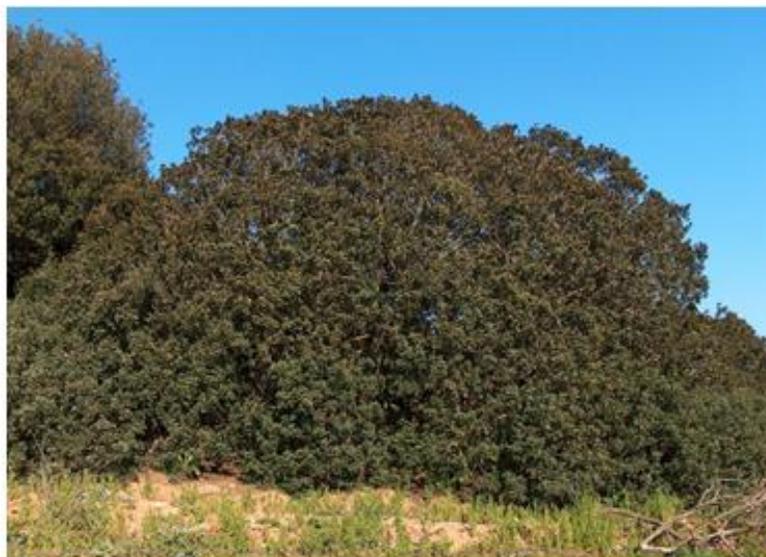


Figure 3.5 : Présentation générale de l'arbrisseau du Pistachier lentisque(Originale, 2014)

L'identification de *Pistacia lentiscus* L. est faite par les botanistes de l'Agence Nationale de la Nature (A.N.N.) du jardin d'essai d'El Hama d'Alger. Nous avons réalisé notre récolte durant le mois Janvier 2014 dans la région de Sidi Rached (Wilaya de Tipasa).

3.2.1.2. Présentation de la plante hôte destinée à l'application des traitements (*Populus nigra* L.)

Le peuplier noir *Populus nigra* L. est un grand arbre de la famille des Salicacées au tronc flexueux, aux fortes branches formant une cime arrondie. Avec une forme particulière, en pinceau (Figure 3.6). Il est largement réparti dans le monde. Il peuple typiquement les plaines inondables, les vallées fluviales [198]. On le trouve aussi dans les haies et les bords des routes et des étangs. En outre, il est parfois planté dans des zones urbaines. [199].



Figure 3.6: Aspect général d'un arbre de peuplier noir (Originale, 2014)

Pareillement, l'identification de *Populus nigra* L. est faite par les botanistes de l'Agence Nationale de la Nature (A.N.N.) du jardin d'essai d'El Hama d'Alger. Les essences de peuplier de la résidence universitaire 7 sont des essences d'alignement âgées de 10 à 14 ans. Les essais d'évaluation des activités insecticide et phytostimulatrice des bioproduits formulés à base de *Pistacia lentiscus* L. se sont déroulés durant la période estivale 2014.

3.3.2. Matériel animal

Pour notre étude, nous avons ciblé les populations de *Chaitophorus leucomelas* (Figure 3.7), évoluant sur les feuilles et pétioles du peuplier noir *Populus nigra*.



Figure 3.7 : Formes biologiques de *Chaitophorus leucomelas*
(Gx80) (Originale, 2014)

(a) Femelle ailée, (b) Femelle aptère, (c) Larve

3.3.3 Obtention des bioproduits à base des huiles essentielles de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.)

3.3.3.1. Obtention des huiles essentielles

Les parties aériennes du pistachier sauvage ont été récolté sur les monticules du littoral de la Wilaya de Tipaza (tombeau de la chrétienne) à 261 mètres d'altitude, durant la période hivernal 2013/2014. (figure.3.8.).



Figure 3.8: Partie récoltée de *Pistacia lentiscus* L. (originale 2013)

3.3.3.1.1. Séchage de la plante

Les feuilles en été séparée des rameaux et le matériel végétale a été séché à température ambiante, à l'abri de la lumière afin d'éviter la photo-oxydation des substances, et dans un endroit bien aéré pour éviter les moisissures. Le matériel végétal après séchage est conservé dans des sacs en papier jusqu'à son utilisation (figure 3.9.).



**Figure 3.9: Séchage de la partie aérienne du pistachier sauvage
(Original; 2014)**

3.3.3.1.2. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles des rameaux et des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. ont été extraites par la méthode d'entraînement à la vapeur à l'aide d'un appareil Clevenger. La méthode consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau à travers 250g de matériel végétal sans macération préalable. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant, pour la condensation et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle surnage au dessus de l'hydrolat [200]. Le distillat recueilli est transversé dans une ampoule à décanter sans ajouter aucun solvant pour obtenir une huile essentielle pure.

3.3.3.1.3. Estimation du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre le volume d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traiter [201]. Le rendement en huile essentielle (exprimé en pourcentage par rapport au 100 g de matière sèche) a été calculé par la relation suivante :

$$\text{Rd HE (\%)} = (V / M \text{ MV}) \times 100$$

Avec :

Rd HE (%) : rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage.

V : volume d'huile essentielle en ml.

M MV : La masse de la matière végétale utilisée (sèche).

3.3.3.1.4. Formulation des huiles essentielles

Les huiles essentielles de lentisque ont été formulées en bioproduit dont la matière active est concentrée à 10% (figure 3.10). Les bioproduits ont été préparé selon le protocole établi par Moussaoui et *al.* [202].



Figure 3.10: Bioproduits formulés à base d'huiles essentielles de lentisque (Original, 2014)

3.4. Méthodes d'étude

3.4.1. Analyse chimique des huiles essentielles de lentisque par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

Nous avons également utilisé la chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectromètre de Masse. Les analyses CPG/SM ont permis d'acquérir les spectres de masse des différents composés constituant les huiles essentielles du pistachier. Le chromatographe est un Clarus 500. Le gaz vecteur est l'hélium. La colonne choisie est un capillaire. Une micro-seringue de 1 μ L munie d'un répéteur a été utilisée pour des injections manuelles. Le tableau 3.3 présente les conditions analytiques utilisées.

Tableau 3.3: Conditions d'analyse CPG/SM des huiles essentielles.

Paramètres	Valeurs
Température de l'injecteur	250 °C
Température du détecteur	250 °C
Température initiale	80 °C (3mn)
Température finale	220 °C (10mn), augmentation de 4°C/mn

Les temps de rétention des standards de la banque de données informatisées, nous identifient grâce aux chromatogrammes la composition chimique et le pourcentage des différents composants de l'huile essentielle analysée.

3.4.2. Dispositif expérimentale d'estimation des activités biologiques des bioproduits

Nous avons estimé l'activité biocide et phytostimulatrice des bioproduits formulés à base des huiles essentielles des rameaux et des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. sur les populations du puceron vert du peuplier noir

Chaitophorus leucomelas. Les bioproduits formulés ont été appliqués à différentes concentrations ($V_{\text{bioproduit}}/V_{\text{eau courante}}$) à savoir : D2 (2ml/l), D4 (4ml/l), D6 (6ml/l), D8 (8ml/l) selon le schéma directeur ci-après (figure 3.11).

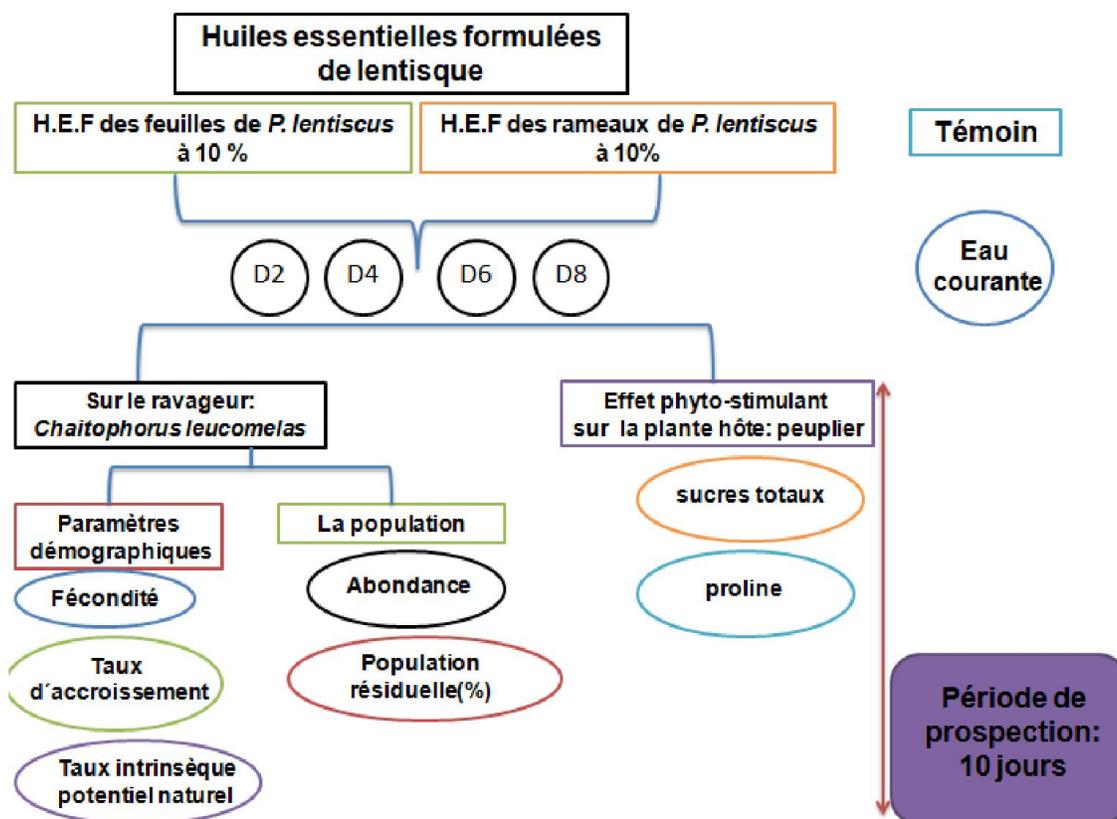


Figure 3.11: Schéma représentatif de la logique des traitements appliqués

Au niveau du site d'étude nous avons installé 5 transects végétaux homogènes qui seront considérés comme des blocs expérimentaux (bloc traité et bloc non traité). Chaque transect est constitué de 10 essences de peuplier (Figure 3.12 et 3.13). Les transects sont distant les uns des autres de 20 mètres. Les bioproduits sont pulvérisés par voie foliaire à l'aide d'un pulvérisateur à main selon les doses arrêtées sur les 10 arbres de *Populus nigra* infestés naturellement par *C. leucomelas*. Pour le transect témoin, les essences de *P. nigra* ont subi une pulvérisation à l'eau courante. La

prospection des activités biologiques est maintenue durant 10 jours dès l'apport des bioproduits.

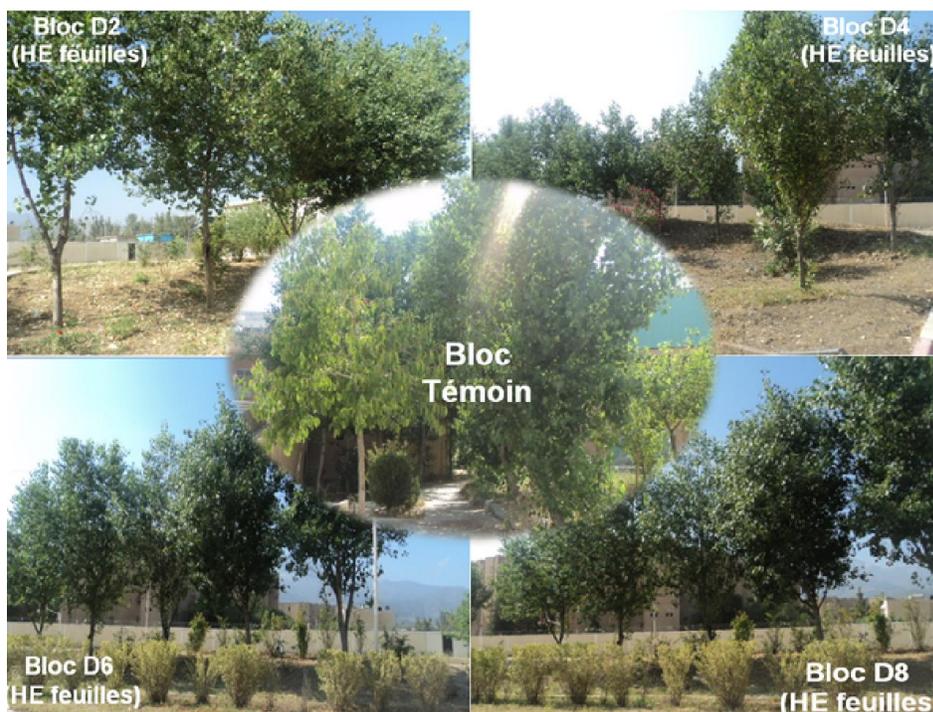


Figure 3.12: Blocs destinés aux traitements par H.E formulée des feuilles de lentisque (Originale, 2014)

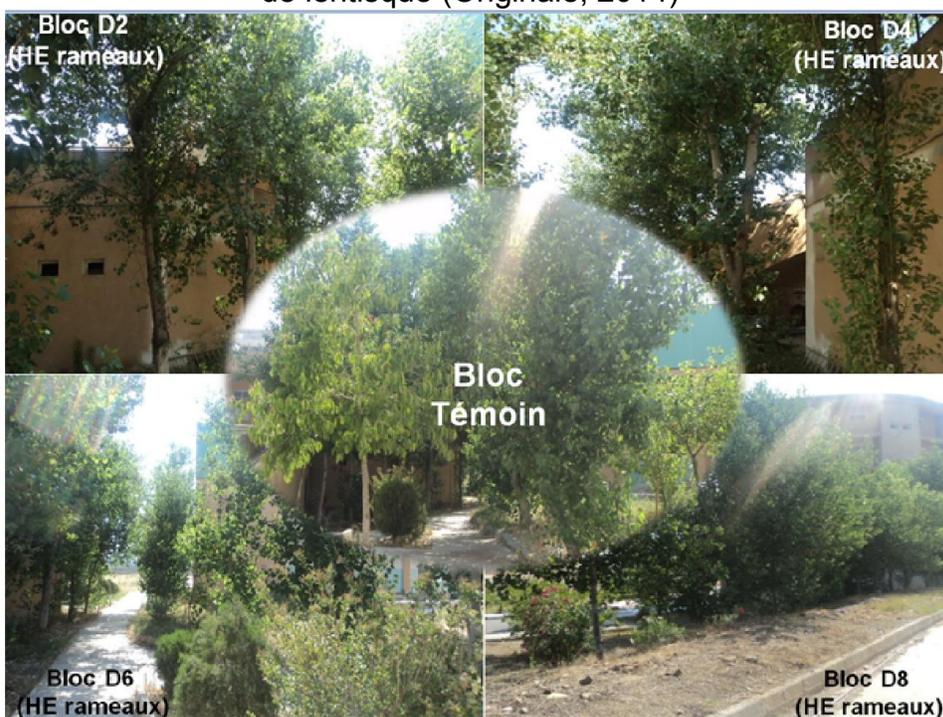


Figure 3.13: Blocs destinés aux traitements par H.E formulée des rameaux de lentisque (Originale, 2014)

3.4.3. Echantillonnage des modèles biologiques (feuilles et pucerons)

Les prélèvements sont réalisés avant et après application des bioproduits à un intervalle de 24 heures durant toute la période d'étude. Au niveau de chaque transect végétale, 20 feuilles sont prélevées aléatoirement à partir de 5 essences. Les échantillons sont placés dans un sac en plastique, portant toutes les informations nécessaires (date de prélèvement, N° du bloc, ...etc.). Au laboratoire, le comptage des différentes formes biologiques des populations de *Chaitophorus leucomelas* a été réalisé sous loupe binoculaire.

Les feuilles ont été conservés à une température négative (-80°C) pour une éventuelle caractérisation phytochimique.

3.4.4. Evaluation de l'activité phytostimulatrice des bioproduits

3.4.4.1. Extraction et quantification de la proline

La proline est déterminée par la méthode proposée par Bergman et Loxley (1970) qui consiste à homogénéiser par centrifugation pendant 10 min, 100 mg de matière végétale fraîche avec 500 µl d'eau distillé. Un volume de 200 µl d'homogénat est additionné à 200 µl d'acide acétique glacial et 200 µl de solution de ninhydrine. Le mélange est incubé pendant 100 min à 100 °C. Après incubation, les échantillons sont extraits avec un volume égal de xylène. L'absorbance de la phase aqueuse est quantifiée à 522 nm. Les valeurs obtenues sont converties en teneur de proline à partir de courbe étalon d'après la relation suivante :

$$Y=0,1043 X$$

Avec :

Y: absorbance ; X: quantité de proline exprimée en µg/g.M.F.

3.4.4.2. Extraction et quantification des sucres totaux

Les solubles totaux qui peuvent être représenté par le saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides sont dosés par la méthode de Dubois et *al.* (1956) qui consiste à additionner 3 ml d'éthanol à 80% à 100 mg de matière végétale fraîche. Le mélange est mis à température ambiante pendant 48 heures. Au moment du dosage, l'éthanol est évaporé par passage à l'étuve à 80°C. L'extrait obtenu et additionné à 10 ml d'eau distillée. Un volume de 0,5 ml de la solution à analyser, est mélangé à 0,5 ml de phénol 5%, auquel nous ajoutons rapidement instantanément 2,5 ml d'acide sulfurique concentré 96%. Le mélange doit virer à la couleur jaune orange. Après homogénéisation au vortex, l'échantillon est placé au bain- marie pendant 10 à 20 min à une température de 30°C. La couleur de la solution doit être stable pendant plusieurs heures. L'absorbance est lue à 485 nm. Les valeurs obtenues sont reportées sur la gamme étalon, à l'aide de l'équation suivant :

$$Y=4,3918 X - 0,1946$$

Avec :

Y: absorbance ; X: quantité des sucres totaux exprimée en mg/g.M.F.

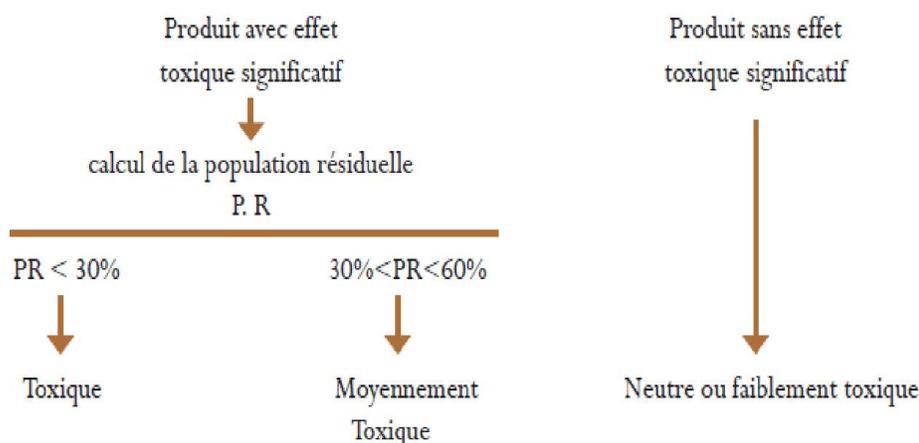
3.4.5. Evaluation de l'activité biocide des bioproduits

3.4.5.1. Estimation de l'abondance

La densité des populations globale et larvaire de *Chaitophorus leucomelas* est définie par l'ensemble des d'individu comptés pour chaque prélèvement.

3.4.5.2. Estimation des populations résiduelles

L'évaluation de l'effet toxique des traitements biologiques ont été estimés par la comparaison des populations résiduelles (P.R.) selon le Test de DUNNETT (Magali, 2009).



$$PR = \frac{\text{Nb de formes mobiles (NFM) par traitement} \times 100}{\text{Nb de formes mobiles par témoin (eau)}}$$

3.4.5.3. Estimation des paramètres démographiques

Les paramètres démographiques sont estimés selon la table proposée par James et Carey (1982).

Symbol	Parameter	Formula
x	Age in days *	—
l_x	Probability of surviving to age x	—
m_x	Number of female offspring produced at age x	—
R_0	Net reproductive rate	$\sum_{x=0}^{\infty} l_x m_x$
r	Intrinsic rate of increase **	$1 = \sum_{x=0}^{\infty} e^{-rx} l_x m_x$
b	Intrinsic rate of birth	$1 / \sum_{x=0}^{\infty} e^{-rx} l_x$
d	Intrinsic rate of death	$r - b$
λ	Finite rate of increase	e^r
T	Méan generation time	$(\log_e R_0) / r$
DT	Doubling time	$(\log_e 2) / r$

3.4.6. Analyse statistique des données

Les données recueillies en termes d'activités biocide et phytostimulatrice des bioproduits à base de lentisque sur les *Chaitophorus leucomelas* et *Populus nigra* ont fait l'objet d'une analyse statistique. Les résultats, présentés sous forme de courbes, rejoignent le plus souvent des valeurs moyennes, ces derniers ont été réalisés par Excel.

Lorsque le problème consiste à savoir si la moyenne d'une variable quantitative varie significativement selon les conditions (date, bioproduits, stade larvaire, l'abondance des populations résiduelles, taux d'accroissement, quantité e proline), nous avons eu recours à une analyse de variance (ANOVA pour *Analysis Of Variance*) qui permet de vérifier la signification de la variable d'intérêt entre toutes les combinaisons des modalités, dans les conditions paramétriques si la distribution de la variable quantitative est normale. Le seuil critique adopté pour les différents tests d'analyse de la variance est de 5%. Dans les cas où plusieurs facteurs sont en jeu, il peut arriver que toutes les interactions entre facteurs ne soient pas pertinentes à tester. Nous avons alors utilisé le modèle linéaire global (G.L.M.). Le déroulement des tests est réalisé par le logiciel SYSTAT vers. 12, (SPSS, 2009).

CHAPITRE 4 : RÉSULTATS

Dans le but de la mise en valeur des espèces spontanées du tiroir et de rationaliser l'utilisation des bioproduits. Dans cette optique, l'activité biocide et phytostimulatrice des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L. ont été évalués respectivement sur les populations du puceron *Chaitophorus leucomelas* et les essences du peuplier noir *Populus nigra*. Les résultats relatifs à la caractérisation des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* et aux activités biologiques sont indiqués dans ce chapitre.

4.1. Caractérisation des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L.

L'analyse de l'huile essentielle des rameaux et des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/SM a permis de détecter et identifier 19 chémotypes qui sont consignés dans le Tableau 4.1.

Il ressort du tableau 4.1, que les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L. sont un complexe de composées monoterpéniques (C10) et sesquiterpéniques (C15). Les huiles essentielles des rameaux sont caractérisées par 17 chémotypes à savoir : Camphene, γ -Ter pinène, 4-Carène, Terpinèn-4-ol, Hexanoate d'isopentyle, Acétate de bornyle, 2-Undecanone, α -Copaène, Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis (methylethenyl), Caryophyllène, Humulene, β -Copaène, α -Cubebene, γ - Muurolene, α -Cubebene, β -Cubebene, α -Cadinol, τ -Cadinol. D'autre part, les huiles essentielles obtenues a partir des feuilles de lentisque sont représentées par 19 chémotypes à savoir : β -Pinène, Camphene, γ -Ter pinène, 4-Carène, Terpinèn-4-ol, α -Terpineol, Hexanoate d'isopentyle, Acétate de bornyle, 2-Undecanone, α -Copaène, Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis (methylethenyl), Caryophyllène, Humulene, β -Copaène, γ - Muurolene, α -Cubebene, β -Cubebene, α -Cadinol, τ -Cadinol. Les résultats de la caractérisation

font ressortir une richesse en molécules au profit de l'huile essentielle des feuilles de pistachier par rapport à l'huile essentielle issue des rameaux de lentisque

Tableau 4.1: Concentration des différents composés identifiés par Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse des huiles essentielles des rameaux et des feuilles de *Pistacia lentiscus* L.

Nom Chimique	Taux %	
	H.E. des rameaux	H.E. des feuilles
β-Pinène	0	9
Camphene	11	10
γ-Ter pinène	4	5
4-Carène	3	3
Terpinèn-4-ol	7	5
α-Terpineol	3	2
Hexanoate d'isopentyle	2	2
Acétate de bornyle	10	6
2-Undecanone	5	6
α- Copaène	2	2
Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis (methylethenyl)	5	2
Caryophyllène	11	15
Humulene	6	6
β-Copaène	10	8
γ- Muurolene	0	5
α-Cubebene	8	8
β -Cubebene	2	2
α-Cadinol	4	2
τ-Cadinol	4	2

HER : huiles essentielles des rameaux de lentisque ; HEF: huiles essentielles des feuilles de lentisque

Sur le plan disponibilité des molécules en communs entre les deux huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L., 17 molécules sont omni présentes dans les huiles essentielles des rameaux et des feuilles

(Figure 4.1). Le graphique expose trois catégories de molécules en termes de taux d'accumulation. (i) la première catégorie renferme les molécules ayant des taux similaires aux niveaux des deux huiles essentielles, il s'agit de : 4-Carène, Hexanoate d'isopentyle, α -Copaène, Humulene, α -Cubebene et β -Cubebene ; (ii) la deuxième catégorie renferme les molécules ayant des taux très exprimés au niveaux des huiles essentielles des feuilles, il s'agit : γ -Terpinène, 2-Undécanone et Caryophyllène ; (iii) la troisième catégorie renferme les molécules ayant des taux très exprimés au niveaux des huiles essentielles des rameaux, il s'agit : Camphène, Terpinène-4-ol, α -Terpineol, Acétate de bornyle, Cyclohexane,1-éthényl-1-méthyl-2,4-bis (méthylethényl), β -Copaène, α -Cadinol et τ -Cadinol. A travers les quantités accumulées en termes de taux des chémotypes, nous signalons que malgré que les huiles essentielles des feuilles dominent les huiles essentielles des rameaux en nombre de molécules, cette dernière renferme par contre près de 97% des taux accumulés en huiles essentielles contre 86% signalées au niveau des feuilles.

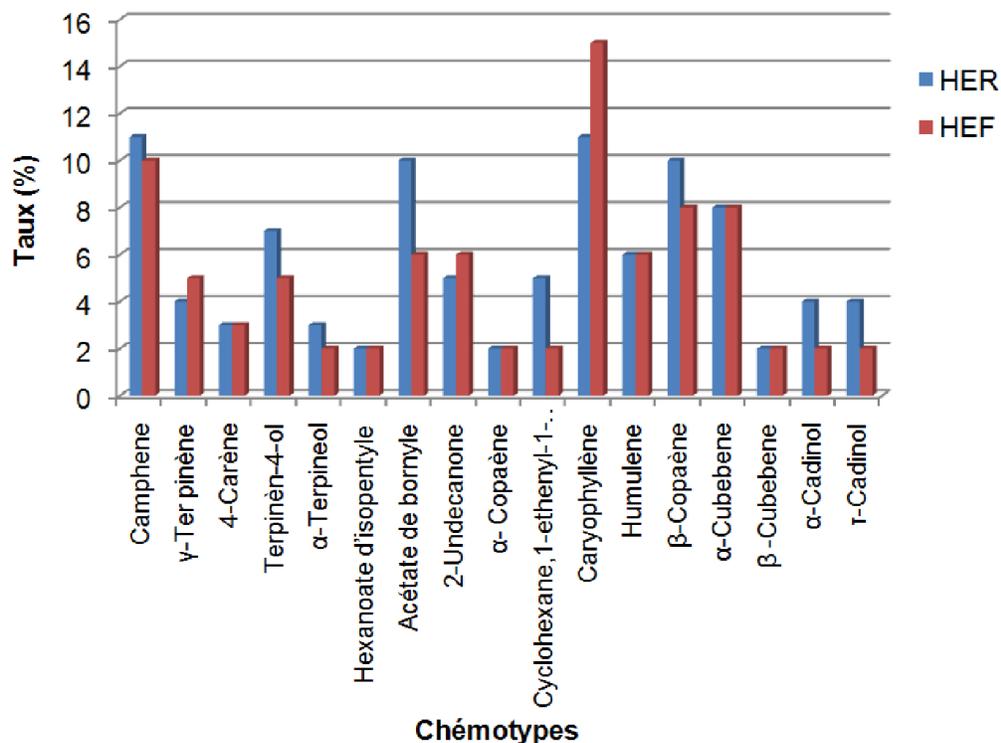


Figure 4.1 : Composés communs des huiles essentielles des feuilles (HEF) et des rameaux (HER) de *Pistacia lentiscus* L.

Nos résultats soulignent que les huiles essentielles des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. se réconfortent par une augmentation d'accumulation de deux nouvelles molécules la β -Pinène et la γ -Muuroolene dont le ratio quantitatif est en faveur de la β -Pinène (Figure 4.2).

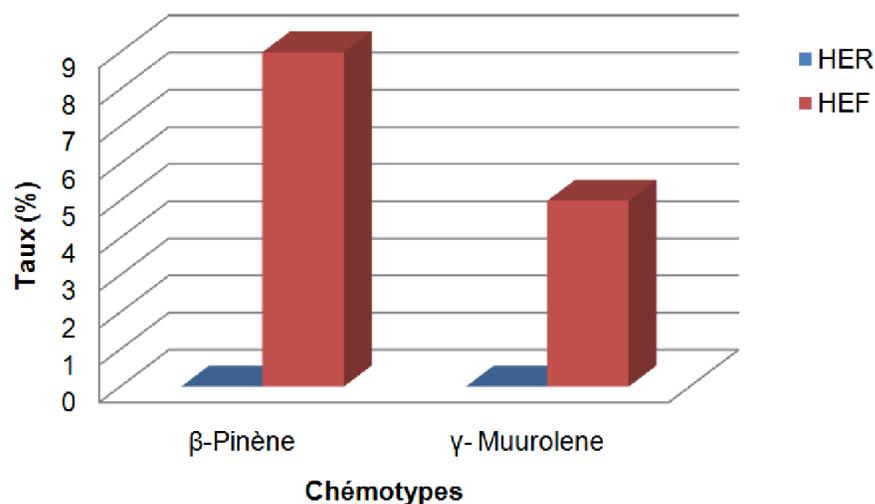


Figure 4.2: Composés spécifiques des huiles essentielles des feuilles (HEF) de *Pistacia lentiscus* L.

Sur le plan affiliation des composés des huiles essentielles du pistachier au groupement chimique (Tableau 4.2), nous signalons que la majorité des composés des huiles essentielles rejoignent les sesquiterpenes. Les huiles essentielles des feuilles de lentisque sont composées majoritairement des monoterpènes. En effet sur 100 %, ils représentent 40%. Parmi ce groupe chimique le principal composé est le Camphene (10%). Pour le groupe chimique sesquiterpène, il représente (48%). Le principal composé est le Caryophyllène (15%). Quant aux sesquiterpènes oxygénés, ces derniers représentent 4%. Les deux composés sont α -Cadinol (2%) et τ -Cadinol (2%). D'un autre côté les huiles essentielles des rameaux renferment des composés sesquiterpenique car ils représentent les 47% dont le principal composé est le Caryophyllène (11%), quant aux sesquiterpènes oxygénés rentrent dans les 8% de la composition de l'huile. Pour le groupe des monoterpènes ils referment (38%) sur les 97%

Tableau 4.2 : Affiliation des composés chimiques des huiles essentielles issus des feuilles et des rameaux de *Pistacia lentiscus* L.

Nom Chimique	Composition chimique	Groupe	Taux (%)	
			HER	HEF
β-Pinène	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpènes hydrocarbonés, (bicyclique)	0	9
Camphene	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpènes hydrocarbonés, (bicyclique)	11	10
γ-Ter pinène	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpènes Hydrocarbonés	4	5
4-Carène	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpènes hydrocarbonés	3	3
Terpinèn-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	Monoterpènes oxygénés	7	5
α-Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	Monoterpènes oxygénés, (monocyclique insaturé)	3	2
Hexanoate d'isopentyle	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	Composé organique	2	2
Acétate de bornyle	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	Monoterpènes oxygénés	10	6
2-Undecanone	C ₁₁ H ₂₂ O	Composé organique	5	6
α- Copaène	C ₁₅ H ₂₄	Sesquiterpènes hydrocarbonés (tricyclique)	2	2
Cyclohexane,1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis (methylethenyl)	-	-	5	2
Caryophyllène	C ₁₅ H ₂₄	Sesquiterpènes hydrocarbonés (bicycliques)	11	15
Humulene	C ₁₅ H ₂₄	Sesquiterpènes hydrocarbonés (macrocyclique)	6	6
β-Copaène	C ₁₅ H ₂₄	Sesquiterpènes hydrocarbonés, (tricycliques)	10	8
γ- Muurolene	C ₁₅ H ₂₄	Sesquiterpènes hydrocarbonés	0	5
α-Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	Sesquiterpène Hydrocarbonés	8	8
β -Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	Sesquiterpène Hydrocarbonés	2	2
α-Cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	Sesquiterpène oxygénés	4	2
τ-Cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	Sesquiterpènes, oxygénés	4	2

HER : huiles essentielles des rameaux de lentisque ; HEF: huiles essentielles des feuilles de lentisque

4.2. Evaluation du rendement de l'huile essentielle

A partir de la matière sèche de l'espèce étudié *Pistacia lentiscus* L., on a obtenu un taux de rendement de 0,25% en huiles essentielles.

4.3. Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* L. sur le puceron du peuplier *Chaitophorus leucomelas*

4.3.1. Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* L. sur les paramètres populationnels du puceron du peuplier *Chaitophorus leucomelas*

4.3.1.1. Effet des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* sur l'abondance de *Chaitophorus leucomelas*

Les graphes ci-après présentent l'évolution temporelle des abondances des populations de *Chaitophorus leucomelas* sous l'effet des différentes doses d'huiles essentielles formulées des feuilles (figure 4.3. a, b et c) et des rameaux (figure 4.3. d, e et f) Globalement l'ensembles des bioproduits appliqués en faible, moyenne et forte doses ont enregistré une réduction en termes d'abondance des populations (formes biologiques) de *Chaitophorus leucomelas* par comparaison au témoin. La répercussion des huiles essentielles des feuilles est claire puisqu'elle manifeste son effet biocide dès les premiers 48h. L'effet toxique des huiles essentielles formulées des feuilles se maintien durant les 7 jours qui suivent l'application, la reprise des différentes formes biologiques est signalée tardivement vers le 10^{ème} jour spécifiquement chez les spécimens exposés à la faible dose (D2) (figure 4.3. a, b et c). En revanche, l'effet de l'huile essentielle issue des rameaux affiche une abondance oscillante aux delà du 3^{ème} jour d'exposition aux différentes doses. Il ressort également des graphiques l'existence d'un effet choc du bioproduit après 24h d'exposition. Les populations larvaires s'avèrent

les plus touchés par l'activité biocide des huiles essentielles formulées des rameaux

4.3.1.2. Effet des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* sur les populations résiduelles de *Chaitophorus leucomelas*

L'évolution temporelle des populations résiduelles démontre que les huiles essentielles formulées des feuilles de *P. lentiscus* L. ont pu changer leur statut de toxicité d'un bioproduit moyennement toxique en un bioproduit très toxique dans un laps de temps très court. Globalement le bioproduit à base d'huiles essentielles de feuilles a montré une toxicité moyenne de l'ensemble des doses utilisées au bout de 24h (figure 4.4a).

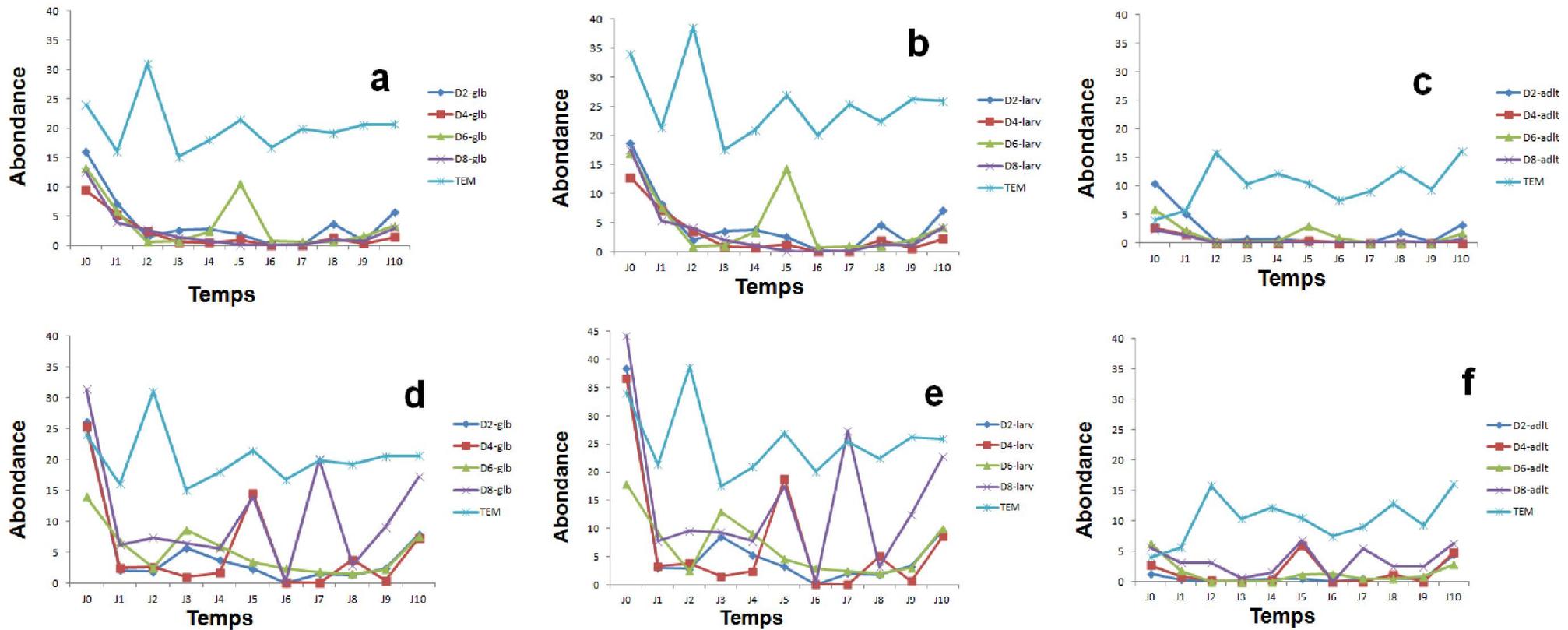


Figure 4.3 : Evolution temporelle de l'abondance des populations de *Chaitophorus leucomelas* sous l'effet des huiles essentielles formulées des feuilles et des rameaux de *Pistacia lentiscus* L. par rapport au témoin

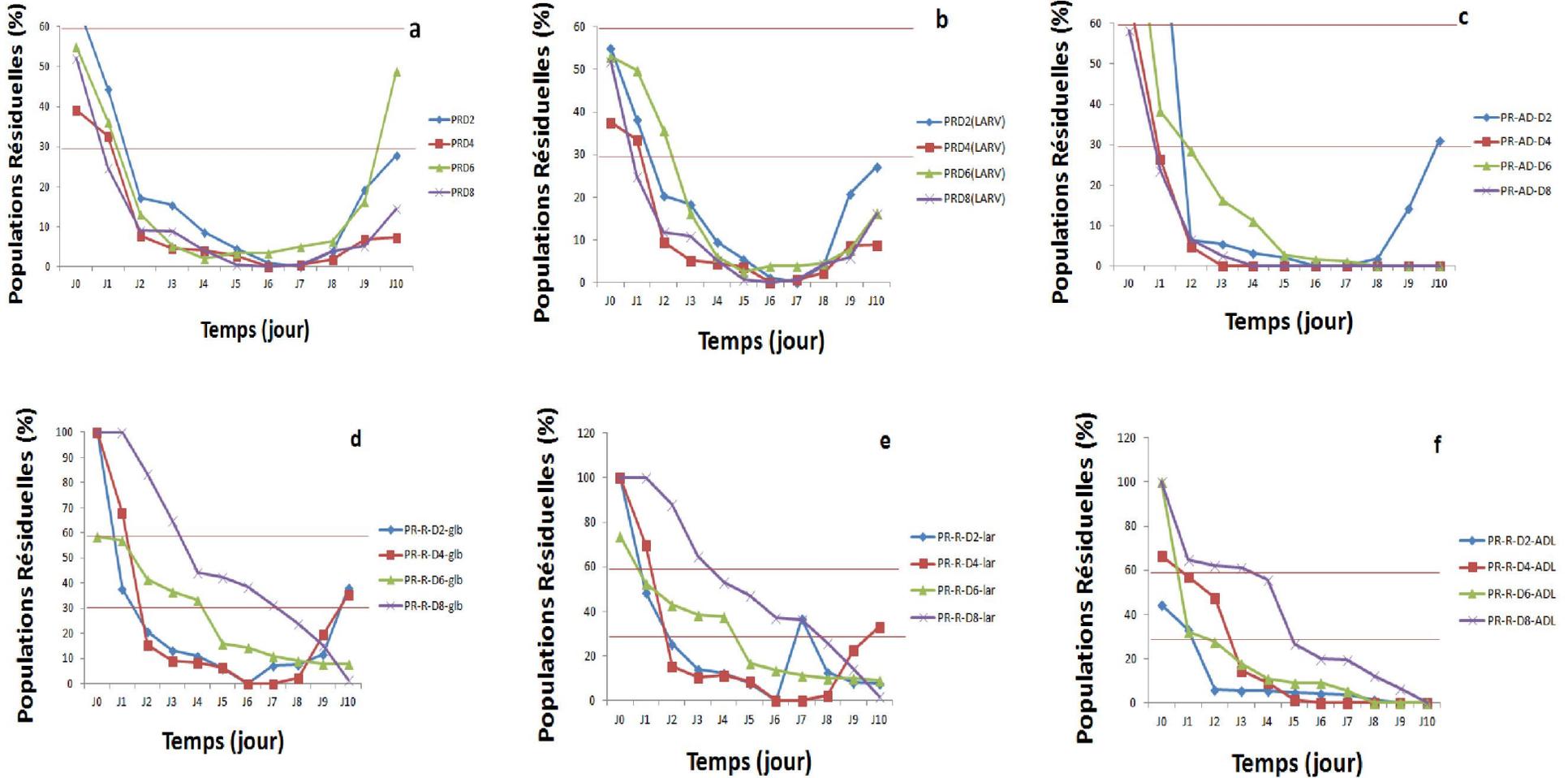


Figure 4.4 : Evolution temporelle des populations résiduelles de *Chaitophorus leucomelas* sous l'effet des huiles essentielles formulées des feuilles et des rameaux de *Pistacia lentiscus* L.

Dès 48h les différentes doses appliquées enregistrent une toxicité très forte pour l'ensemble des populations de *Chaitophorus leucomelas* L. Cette forte toxicité est beaucoup plus apparente chez la moyenne et la forte dose (D4, D6 et D8). La stabilité de la formulation appliquée exprime le maintien de l'effet biocide des huiles essentielles jusqu'à la fin des investigations (10^{ème} jour) exception faite pour la faible dose (D2) qui affiche une perte d'efficacité dès le 9^{ème} jour d'application (figure 4.4a).

Chez les populations résiduelles larvaires nous signalons la même tendance de l'effet toxique des différentes doses des huiles essentielles des feuilles (figure 4.4b). En revanche chez les populations résiduelles adultes les différentes doses ont exprimées un effet toxique de choc de manière où le produit a atteint la forte toxicité dès les premiers 24h (figure 4.4c).

D'autre part l'estimation des populations résiduelles sous l'action des huiles essentielles formulées extraites des rameaux de *Pistacia lentiscus* L. dévoile le passage des molécules du statut moyennement toxique au statut très toxique au bout de 48h. Pareillement aux huiles essentielles des feuilles, celle des rameaux maintiennent leur activité toxique jusqu'au 8^{ème} jour (figure 4.4d). Les populations résiduelles larvaires manifestent une reprise biologique à partir du 10^{ème} jour (figure 4.4e), alors que les populations résiduelles adultes accusent une mortalité assez importante sous l'effet des différentes dilutions (figure 4.4f).

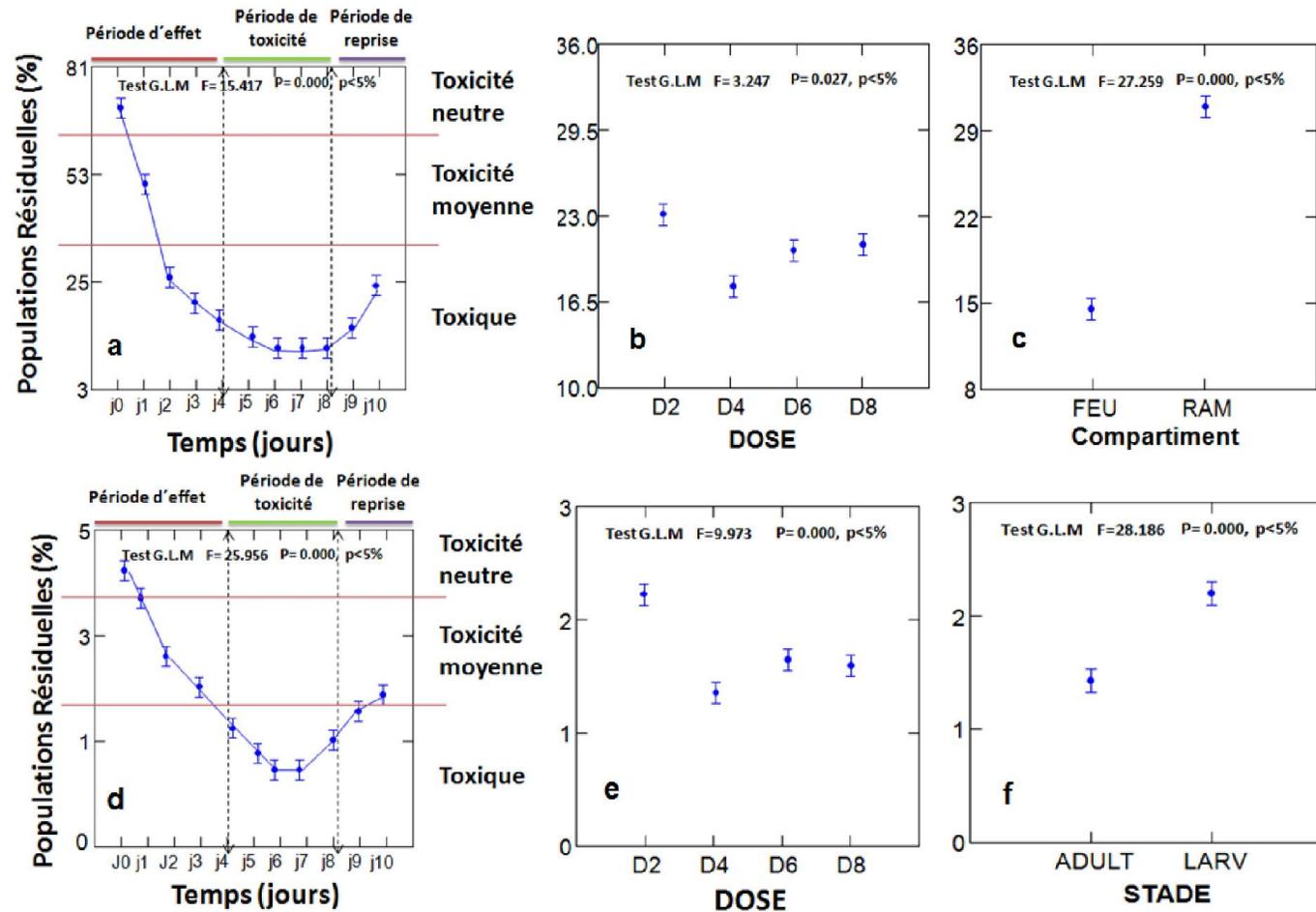


Figure 4.5 : Effet comparé des huiles essentielles des compartiments de la partie aérienne de *Pistacia lentiscus* sur les populations résiduelles globale et formes biologiques de *Chaitophorus leucomelas*

Dans l'esprit de vérifier l'efficacité des huiles essentielles formulés des deux compartiments de la partie aérienne de lentisque, nous avons eu recours au test de GLM. Les résultats montrent que les populations résiduelles globales subissent une réduction très significative des 48h de l'application des bioproduits (figure 4.5 a). Les mêmes résultats confirment que les fortes doses (D4, D6, D8) induisent une toxicité significative par comparaison à la faible dose D2 (figure 4.5 b). L'analyse de la variance montre clairement que le bioproduit à base d'huiles essentielles des feuilles de lentisque est très toxique par rapport à l'effet signalé par application des bioproduits à base des huiles essentielles des rameaux de lentisque (figure 4.5 c).

Le test de GLM a été appliqué pareillement à fin d'estimer la toxicité des bioproduits formulés sur les différents stades biologiques de *C. leucomelas*. Par référence aux probabilités obtenues ($p < 0,1\%$), nous pouvons avancer que les fortes doses expriment un fort potentiel de toxicité sur la forme biologique adulte et que cette toxicité se manifeste dès les 48h d'application et s'accroît significativement dès le 4^{ème} jour d'exposition (figure 4.5 d, e et f).

4.3.2 Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* L. sur les paramètres démographiques du puceron du peuplier *Chaitophorus leucomelas*

4.3.2.1. Effet des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* sur la fécondité de *Chaitophorus leucomelas*

Les profils obtenus par la variation temporelle de la fécondité de *C. leucomelas* durant les trois phases d'expression de l'activité toxique des bioproduits nous renseignent de la présence d'une certaine variabilité du potentiel biotique du modèle animal étudié (figure 4.6).

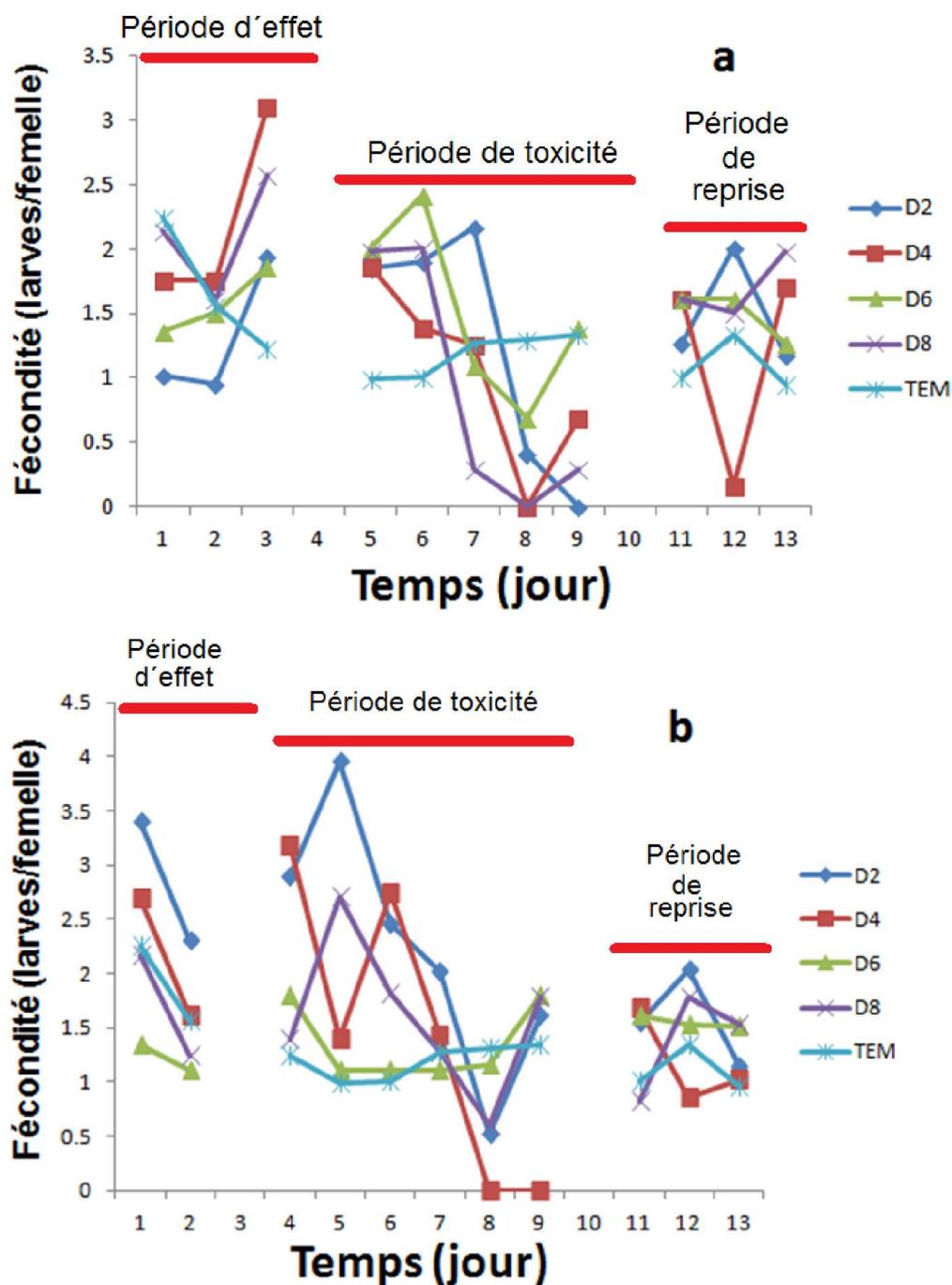


Figure 4.6 : Variation temporelle de la fécondité de *Chaitophorus leucomelas* selon l'activité toxique des bioproduits
 a : huiles essentielles des feuilles de lentisque, b : huiles essentielles des rameaux de lentisque

Ainsi la fécondité fluctue temporellement de la manière ci- après : (i) *durant la période d'effet*, le bioproduit a base des huiles essentielles de feuilles de lentisque entraine une stimulation de la fécondité qui apparait assez conséquente sous l'effet des fortes doses (ii) *durant la période de toxicité* et par comparaison au témoin, la formulation appliquée conduit a une baisse drastique de la fécondité de puceron durant le laps de temps de 6-9 jours (iii) *durant la période de reprise*, nous signalons un rétablissement du pouvoir biotique très apparent sous l'effet de la faible dose puis sous l'effet des fortes doses (figure 4.6.a).

En revanche, sous l'effet des bioproduits a base des huiles essentielles de rameaux de lentisque la variation de la fécondité durant la période d'effet parait très contrastée par rapport au bioproduit a bases des huiles essentielles de feuilles de lentisque dont la fécondité des individus traités suit la variation temporelle de la fécondité des individus témoin. De même que les huiles essentielles des feuilles de *P. lentiscus*, celle des rameaux entraînent durant la période de toxicité une réduction de la fécondité pendant le laps de temps 7-8 jours. En fin durant la période de reprise on remarque une relance de l'activité biotique des femelles spécifiquement pour la faible dose (figure 4.6.b)

L'analyse de la variance appliquée sur la fécondité des femelles de *C. leucomelas* confirme une fluctuation significative du potentiel biotique dans le temps. La fécondité la plus importante est signalée 48h après l'exposition des femelles aux bioproduits, au delà du 3^{ème} jour nous enregistrerons les plus faibles activités biotiques (figure 4.8a). Le même test attribut une efficacité similaire des huiles essentielles issue des rameaux et des feuilles sur la fécondité de *C. leucomelas* (figure 4.8b).

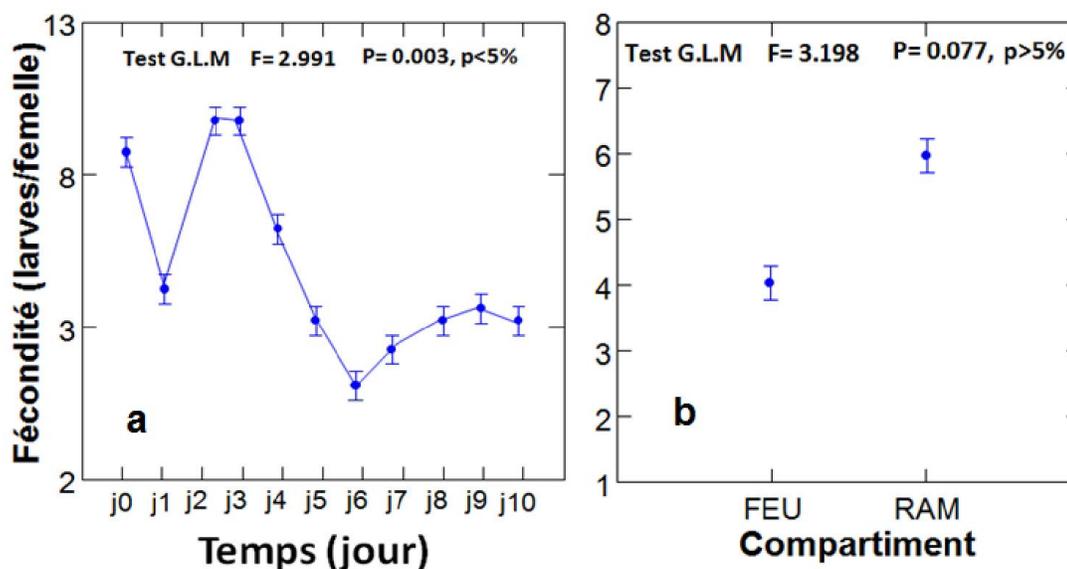


Figure 4.7 : Effet comparé de la fécondité sous l'effet des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus*

4.3.2.1. Effet des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* sur le taux de reproduction de *Chaitophorus leucomelas*

La Figure 4.8 présente le taux de reproduction de *C. leucomelas* sous l'effet des huiles essentielles formulées des feuilles (figure 4.8a) et des rameaux de *P. lentiscus* (figure 4.8b). Il en ressort que l'effet du bioproduit sur le taux de reproduction est nettement différent (test χ^2 , p^{***}).

La comparaison des taux de reproduction du témoin par rapport aux traités sous différents régimes biocides permet de signaler deux cas de figures : (i) sous l'effet des huiles essentielles formulées de feuilles le taux de reproduction enregistre une réduction très apparente (test χ^2 , p^{***}), les fortes doses affichent des réductions très importantes par rapport aux faibles doses et l'état de perturbation du taux de reproduction ne dépasse en aucun cas celui du témoin.

(ii) sous l'effet des huiles essentielles formulées de rameaux, le taux de reproduction présente des augmentations très significatives par rapport au témoin

(test χ^2 , p^{***}). IL est clair que les fortes doses appliquées entraînent systématiquement des augmentations fulgurantes comparé au Témoin

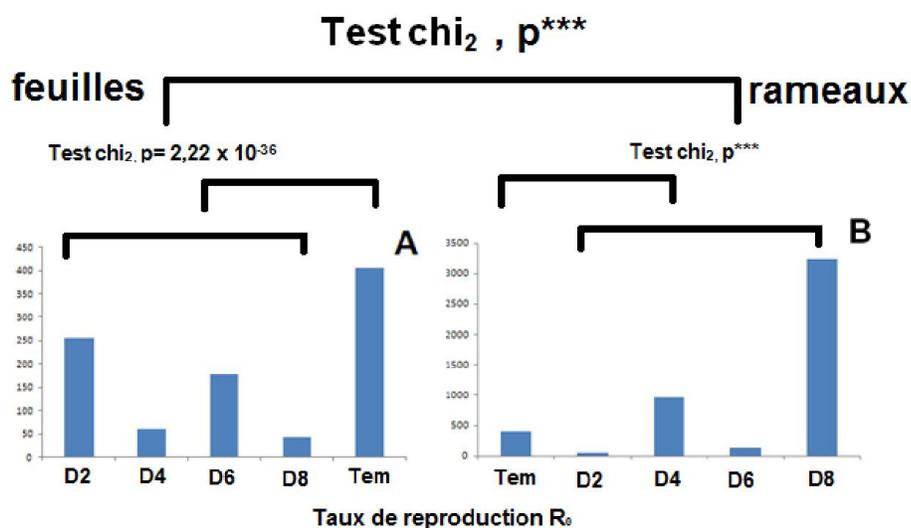


Figure 4.8: Variation du taux de reproduction de *C. leucomelas* sous différents régimes de stress biocide.

4.3.3. Evaluation de l'effet phytostimulant des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* L. sur le peuplier noir *Populus nigra*

4.3.3.1. Effet des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* sur l'expression de la proline

La variation temporelle des taux d'accumulation de la proline sous l'effet des bioproduits nous permet de visualiser d'une manière générale l'effet bénéfique de l'assimilation du bioproduit par la plante qui se manifeste par une réduction des quantités de proline exprimées, pareillement sous l'effet des huiles essentielles des feuilles et des rameaux (figure 4.9a et b).

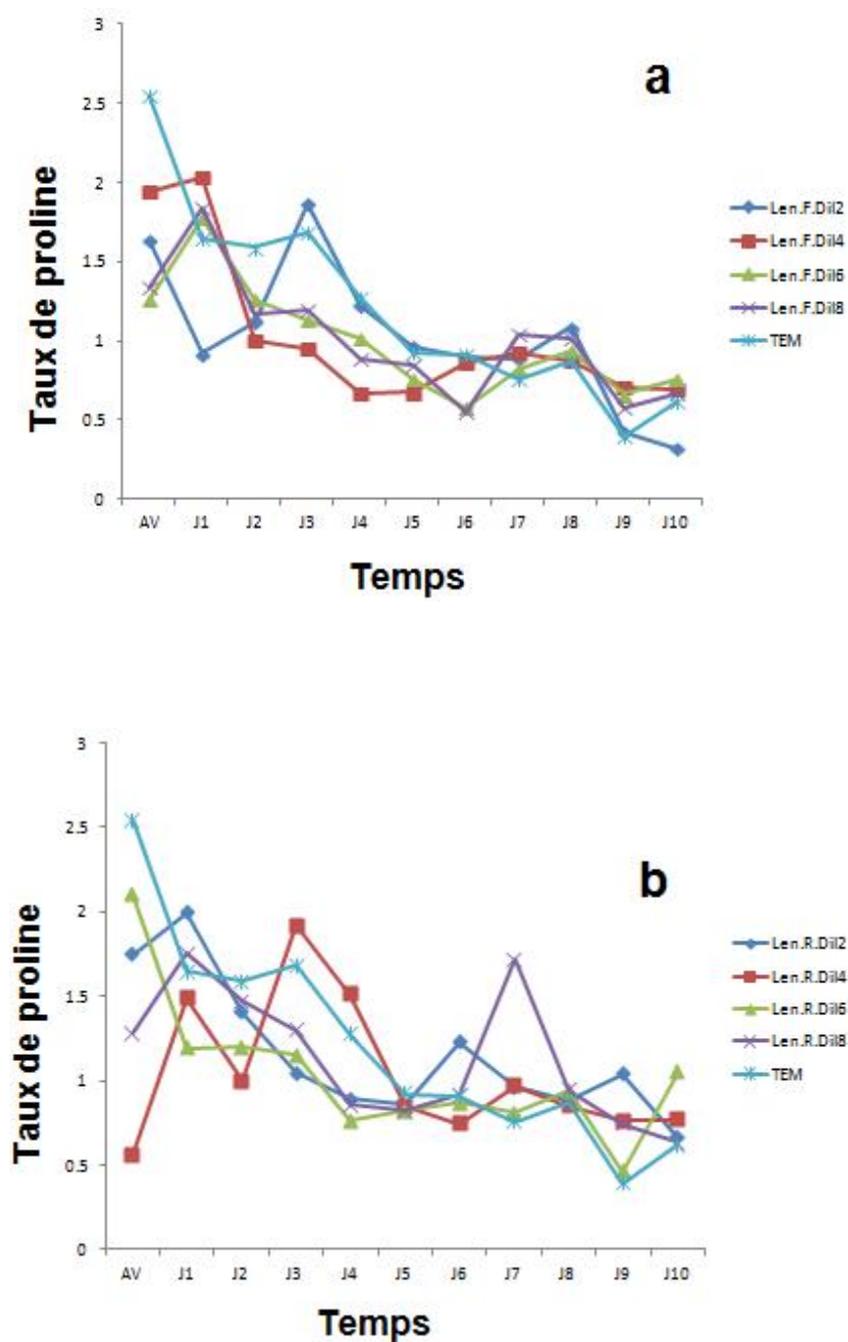


Figure 4.9: Variation temporelle de l'accumulation du proline chez *Populus nigra* sous l'effet des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus*

Sous l'effet des huiles essentielles de feuilles de *P. lentiscus* et dès 48h d'apport des traitements, les faibles et les fortes doses appliquées conduisent à

des réductions modérés des quantités de proline par comparaison au témoin (figure 4.9a). La même fluctuation des quantités en proline est enregistrée sous l'effet des huiles des rameaux (figure 4.9b).

L'étude de la fluctuation de l'accumulation de la proline tel exposé dans le paragraphe ci-dessus a été confirmé par une analyse de la variance de type GLM, se dernier expose clairement que l'effet dose et l'effet compartiment agissent d'une manière identique (pas de différence significative) sur la réduction modérée de la proline a partir des 48h qui suivent l'apport des traitements.(figure 4.10).

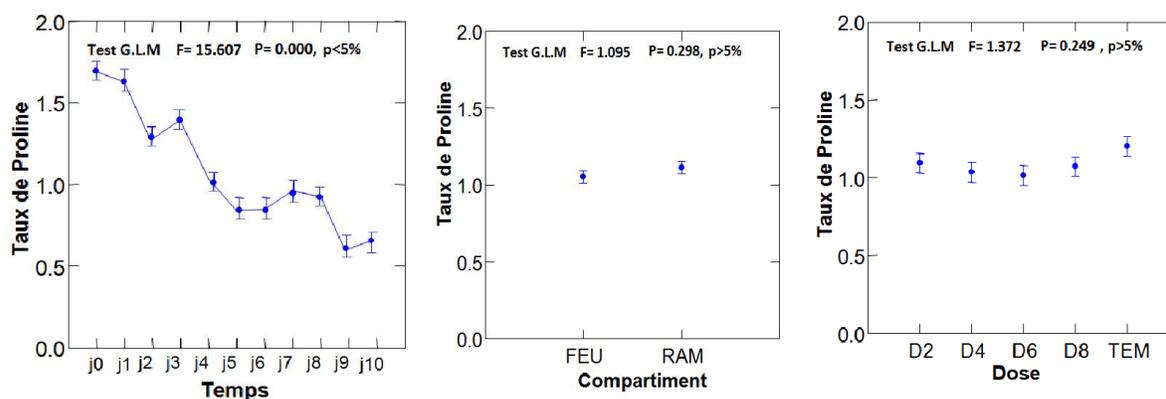


Figure 4.10: Effet comparé de l'accumulation du proline chez *Populus nigra* sous l'effet des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus*

4.3.3.2. Effet des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* sur l'expression des sucres totaux

La figure (4.11a et b) traitant la variation temporelle des sucres totaux montre que les bioproduits a base d'huiles essentielles formulées issu des différents compartiments de lentisque présentent les mêmes taux d'accumulation (test GLM, f ratio=0,001, p=0,975, p>5%). Les profils dressés sous les différentes doses des deux bioproduits montrent que les essences de peuplier traitées souffrent d'une réduction significative en sucres totaux par comparaison au témoin (test GLM, f ratio=32,25, p=0,000, p<0,01%).

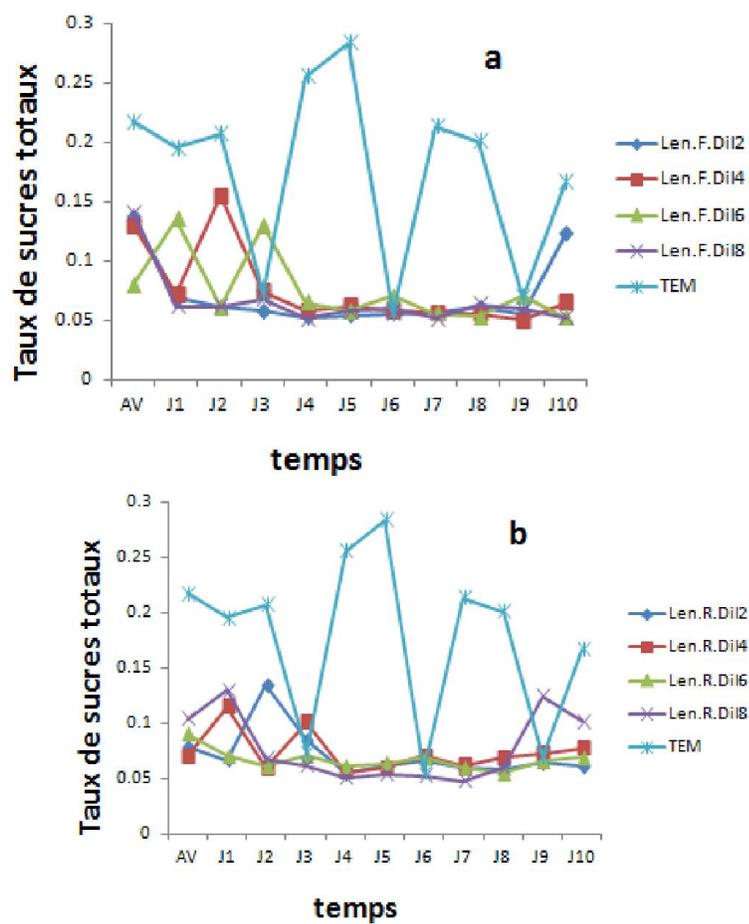


Figure 4.11 : Variation temporelle des taux de sucres totaux chez *Populus nigra* sous l'effet des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus*.

CHAPITRE 5: DISCUSSION

À l'heure actuelle, les infestations de pucerons sont en grande majorité contrôlées à l'aide d'insecticides de synthèse. Malgré les progrès réalisés, ces derniers restent responsables de nombreux problèmes tant pour l'environnement, que pour la santé humaine. De plus, l'utilisation massive de ces produits est à la base de la sélection de populations d'insectes résistants; ce qui a procédé à la recherche de nouvelles méthodes de lutte, entre autres la formulation de nouveaux bio-insecticides issus de plantes ciblant et perturbant les fonctions vitales de l'insecte.

Dans cette optique, nous avons mené le présent travail afin de présumer la toxicité des huiles essentielles formulées extraites à partir des feuilles et des rameaux du pistachier lentisque sur les populations du puceron vert (*Chaitophorus leucomelas* L.). L'activité biologique des bioproduits formulés a été évaluée d'une part sur quelques paramètres démographiques de l'espèce, et d'autre part, sur la qualité phytochimique de *Populus nigra*.

5.1. Caractérisation des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L par GC/SM

L'analyse des huiles essentielles des rameaux et des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/SM a permis d'identifier 19 chémotypes, il ressort que les huiles obtenue des feuilles est composée de sept Monoterpènes (quatre hydrocarbonés et trois oxygénés) et de neuf sesquiterpènes dont sept hydrocarbonés et deux oxygénés. Les huiles essentielles issues des rameaux de *P. lentiscus* ont énoncés la présence de six Monoterpènes (trois hydrocarbonés et trois oxygénés) et de huit sesquiterpènes parmi eux on trouve six hydrocarbonés et deux oxygénés. La qualité des huiles essentielles est liée à la richesse de ces dernières en composés mono- et sesquiterpenique car les Monoterpènes sont considérés comme volatils et les sesquiterpènes comme semi-volatils [203].

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par Ait Said, [204] sur le point de vue de la richesse des huiles obtenues des feuilles en composés sesquiterpéniques, car l'huile de feuilles de *P. lentiscus* renferme 49 composés parmi lesquels douze Monoterpènes (huit hydrocarbonés, deux oxygénés et deux dérivés) en plus de trente sept de composés sesquiterpéniques (25 hydrocarbonés et 12 oxygénés). Hafsé et *al.* [205] confirment que les composants volatils au nombre de 43 ont été identifiés dans l'huile essentielle extraite des rameaux

D'après nos résultats les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L. sont un complexe de composés monoterpéniques (C10) et sesquiterpéniques (C15). Les huiles essentielles des rameaux sont caractérisées par 17 chémotypes à savoir : Camphène, γ -Terpinène, 4-Carène, Terpinène-4-ol, Hexanoate d'isopentyle, Acétate de bornyle, 2-Undécanone, α -Copaène, Cyclohexane, 1-éthényl-1-méthyl-2,4-bis (méthyléthényl), Caryophyllène, Humulène, β -Copaène, α -Cubébène, γ -Murolène, α -Cubébène, β -Cubébène, α -Cadinol, τ -Cadinol. D'autre part, les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles de lentisque sont représentées par 19 chémotypes à savoir : β -Pinène, Camphène, γ -Terpinène, 4-Carène, Terpinène-4-ol, α -Terpineol, Hexanoate d'isopentyle, Acétate de bornyle, 2-Undécanone, α -Copaène, Cyclohexane, 1-éthényl-1-méthyl-2,4-bis (méthyléthényl), Caryophyllène, Humulène, β -Copaène, γ -Murolène, α -Cubébène, β -Cubébène, α -Cadinol, τ -Cadinol. Les résultats de la caractérisation font ressortir une richesse en molécules au profit de l'huile essentielle des feuilles de pistachier par rapport à l'huile essentielle issue des rameaux de lentisque. En les comparant avec d'autres issues d'une étude sur l'activité antioxydante des deux huiles essentielles (rameaux/feuilles) sont composés majoritairement de: α -pinène (3,8/1,6%), myrcène (34,1/25,3%), limonène (9,6/15,7%), terpinène-4-ol (6,3/9,2%), β -gurjunène (6,5/2,6%) et D-germacrène (9,1/ 2,3%) respectivement de la constitution chimique. Pour ce qui est de notre propre étude, il en résulte que les composants majeurs des huiles de feuilles et de rameaux du pistachier lentisque est d'une manière respective : β -Pinène (9/ 0%), Camphène (10/ 11%), Caryophyllène (15/ 11%), β -Copaène (8/ 10%), Terpinène-4-ol (5/ 7%), β -Copaène

(8/ 10%). il est claire que les deux compositions chimiques sont quantitativement et qualitativement différentes. Ceci semble évident parce que la structure des deux compartiments de la plante est très différente. Une étude précédente a aussi montré qu'il y a une différence entre la composition chimique d'huiles essentielles extraites des différentes parties de la plante [206,207]. il faut signaler que les mêmes molécules sont présentes mais à des pourcentages différents. Ainsi, au Maroc Amhamdi et *al.* [208], ont signalés que le myrcene et le limonène sont considérés comme composé majoritaire de l'huile essentielle du Pistachier. Par ailleurs, en Tunisie l'étude faite par Mekni [209], a montré que l'acide palmitique et l'en acide linoléique sont les composés majeurs. Cette variation de composition n'est que le reflet de la biodiversité moléculaire rencontrée chez *P. lentiscus* L., due au climat et au biotope approprié.

5.2. Le rendement en huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L.

Le rendement moyen en huile essentielle pour 200g de matière végétale est de 0,25%. L'extrait obtenu est de couleur jaune et présente un aspect liquide, mobile et limpide, avec une odeur aromatique, très puissante et pénétrante. Nos résultats sont proches de ceux obtenus par Zrira [210], au Maroc et à ceux obtenus par Congiu [211] en Sardaigne. Ces auteurs indiquent un rendement compris entre 0,2 et 0,4 %. Néanmoins, ils sont supérieurs à ceux obtenus par Amhamdi [208], dont le rendement été de l'ordre de 0,14%. Le rendement en huile essentielle de *P. lentiscus* L. semble dépendre donc de la nature des parties de plante utilisée, le matériel employé pour l'extraction et la méthode d'extraction, aussi bien l'origine de la plante et la période de récolte.

5.3. Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* L. sur les paramètres populationnels du puceron du peuplier *Chaitophorus leucomelas*

Les résultats montrent que pratiquement l'ensemble des bioproduits appliqués en faible, moyenne et forte doses ont enregistré une réduction en termes d'abondance des populations de *Chaitophorus leucomelas* par comparaison au témoin. La répercussion des huiles essentielles des feuilles est claire puisqu'elle manifeste son effet biocide dès les premiers 48h. L'effet toxique des huiles essentielles formulées des feuilles se maintient durant les 7 jours qui suivent l'application, la reprise des différentes formes biologiques est signalée tardivement vers le 10^{ème} jour spécifiquement chez les spécimens exposés à la faible dose (D2). En revanche, l'effet de l'huile essentielle issue des rameaux affiche une abondance oscillante au delà du 3^{ème} jour d'exposition aux différentes doses. Il ressort également l'existence d'un effet choc du bioproduit après 24h d'exposition. Les populations larvaires s'avèrent les plus touchées par l'activité biocide des huiles essentielles formulées des rameaux. Nous suggérons que l'activité biologique d'une huile essentielle est en relation avec sa composition chimique (fonction de la nature des groupes fonctionnels portés par les composés majoritaires) mais aussi avec les proportions de ces différents composés. On se pose la question si certains composés chimiques des huiles essentielles sont plus actifs que d'autres.

L'évolution temporelle des populations résiduelles démontre que les huiles essentielles formulées des feuilles de *P. lentiscus* L. ont pu changer leur statut de toxicité d'un bioproduit moyennement toxique en un bioproduit très toxique dans un laps de temps très court. Globalement le bioproduit à base d'huiles essentielles de feuilles a montré une toxicité moyenne de l'ensemble des doses utilisées au bout de 24h. D'autre part l'estimation des populations résiduelles sous l'action des huiles essentielles formulées extraites des rameaux de *Pistacia lentiscus* L. dévoile le passage des molécules du statut moyennement toxique au

statut très toxique au bout de 48h. Pareillement aux huiles essentielles des feuilles, celle des rameaux maintiennent leur activité toxique jusqu'au 8^{ème} jour.

Les auteurs considèrent que les composés chimiques de plus grande efficacité et ayant la cible la plus large sont des phénols (thymol, carvacrol et eugénol), des alcools (α -terpinène, terpinen-4-ol, linalol), des aldéhydes, des cétones et plus rarement des terpènes [203].

D'après nos résultats, les huiles essentielles des feuilles de lentisque sont composées majoritairement des monoterpènes. En effet sur 100 %, ils représentent 40%. Huignard *et al.* [159], ont montré que les monoterpènes contenus dans les huiles essentielles sont des neurotoxiques qui agissent sur différentes cibles en fonction de leur nature chimique. Ce qui explique la rentrée en action biocide en faveur des huiles essentielles des feuilles de lentisque par rapport à celle des rameaux. D'autres travaux menés par Mills *et al.* [160], sur l'action inhibitrice sur l'acétylcholinestérase des 1,8-cinéole et le terpinène-4-ol (deux composés majoritaires contenus dans l'huile essentielle extraite des feuilles de thé). Selon Ryan et Byrne [161], cinq monoterpènes (citral, pulegone, linalol, bornyl acétate et cinéole) représentant chacun un groupement fonctionnel donné (aldéhyde, cétone, alcool, ester et éther) sont des inhibiteurs réversibles compétitifs occupant le centre du site actif hydrophobe de l'AChE. D'autres composés terpéniques ont également montré une efficacité dans l'inhibition de l'AChE *in vitro*. Se sont le 3-carène et le β -pinène contenus dans les huiles essentielles de *Salvia fruticosa* et de *Salvia officinalis var. purpurea* [163], l'inhibition de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase par les huiles essentielles extraites des espèces du genre *Salvia* (*S. fruticosa*, *S. lavandulaefolia*, *S. officinalis* et *S. officinalis var purpurea*) est plus importante que celle induite par leurs composés terpéniques pris individuellement. Ce qui suggère donc un effet synergique.

Les différents modes d'action observés chez les huiles essentielles à travers la grande diversité des monoterpènes qu'elles contiennent montrent que leur activité insecticide est due à plusieurs mécanismes synergiques. Ces divers mécanismes affectent donc des cibles multiples perturbant ainsi plus efficacement l'activité cellulaire [165]. Quel que soit leur mode d'action, les biocides sont soumis, comme tout xénobiotique, à une panoplie de réactions enzymatiques ayant un double intérêt [164].

Les composés chimiques retrouvés dans les huiles essentielles responsables de l'odeur de celles-ci sont des substances actives dotées de propriétés antibactériennes, fongicides et insecticides [174,175]. Ces huiles essentielles, grâce à leur composition chimique riche en terpènes, alcools, aldéhydes ont été reconnues comme dotées de pouvoirs antiseptiques.

5.4. Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* L. sur les paramètres démographiques du puceron du peuplier *Chaitophorus leucomelas*

Les profils obtenus par la variation temporelle de la fécondité de *C. leucomelas* durant les trois phases d'expression de l'activité toxique des bioproduits nous renseignent de la présence d'une certaine variabilité du potentiel biotique du modèle animal étudié. La fécondité fluctue temporellement de la manière ci-après : (i) *durant la période d'effet*, le bioproduit à base des huiles essentielles de feuilles de lentisque entraîne une stimulation de la fécondité qui apparaît assez conséquente sous l'effet des fortes doses (ii) *durant la période de toxicité* et par comparaison au témoin, la formulation appliquée conduit à une baisse drastique de la fécondité de puceron durant le laps de temps de 6-9 jours (iii) *durant la période de reprise*, nous signalons un rétablissement du pouvoir biotique très apparent sous l'effet de la faible dose puis sous l'effet des fortes doses. En revanche, sous l'effet des bioproduits à base des huiles essentielles de rameaux de lentisque la variation de la fécondité durant la période d'effet paraît très contrastée par rapport au bioproduit à base des huiles essentielles de feuilles de lentisque dont la fécondité

des individus traités suit la variation temporelle de la fécondité des individus témoin.

La comparaison des taux de reproduction du témoin par rapport aux traités sous différents régimes biocides permet de signaler deux cas de figures : (i) *sous l'effet des huiles essentielles formulées de feuilles*, le taux de reproduction enregistre une réduction très apparente (test χ^2 , p^{***}), les fortes doses affichent des réductions très importantes par rapport aux faibles doses et l'état de perturbation du taux de reproduction ne dépasse en aucun cas celui du témoin. (ii) *sous l'effet des huiles essentielles formulées de rameaux*, le taux de reproduction présente des augmentations très significatives par rapport au témoin (test χ^2 , p^{***}). Il est clair que les fortes doses appliquées entraînent systématiquement des augmentations fulgurantes comparé au Témoin. Cette augmentation du taux de reproduction peut affecter la dynamique des populations d'un système multitrophique. Les mesures prises pour enrayer ces pullulation étant d'ailleurs souvent accusées de provoquer la disparition d'autres espèces, on voit que même si des éléments d'écologie fondamentale n'étaient pas impliqués, ces deux phénomènes le seraient tout de même!

D'après [212] une première analyse s'impose: celle des stratégies de reproduction propres aux différentes espèces. On distingue deux grandes stratégies dans lesquelles se répartissent tous les êtres vivants:

La première stratégie est connue sous le nom de **stratégie K**. Ce symbole en écologie représente la capacité d'accueil d'un milieu pour une espèce. Les espèces de ce type ont un taux de reproduction relativement faible mais sont très bien adaptées à leur milieu. En général, elles ont un habitat stable et maintiennent leurs effectifs a un niveau également stable ; elles restent très près de la capacité d'accueil du milieu, un peu en dessous. Ceci impose un taux de reproduction très sensible à la densité et l'existence d'un niveau d'équilibre. Dans le même temps, la compétition avec les espèces concurrentes est forte. On constate par

comparaison avec les autres espèces que la taille augmente, de même la longévité de l'individu et l'intervalle entre les générations. Ces espèces ont également tendance à être économes en énergie. Il existe cependant un inconvénient majeur à cette stratégie K : les populations qui pour une raison quelconque tombent très en dessous de leurs effectifs d'équilibre ont de grandes difficultés à récupérer. Ce sont donc des espèces qui peuvent disparaître facilement si l'on abaisse leurs populations en dessous d'un certain niveau sans pour autant détruire leurs habitats ; le rôle des collectionneurs abusifs peut être important dans ce cas. Chez les insectes, on rencontre de nombreux exemples de cette stratégie, par exemple chez les grandes papillons tropicaux du genre *Morpho*, *Heliconius*, *Charassus*, etc... Leur taille est grande, le nombre d'œufs pondus à chaque ponte relativement faible ; il existe une stratégie de distribution de longévité est grande, on constate des mécanismes d'économie d'énergie : vol plané.

Par ailleurs, nous rencontrons chez d'autres espèces une autre stratégie, cette fois qualifiée **de stratégie r**, le symbole r étant celui du taux d'accroissement d'une génération à une autre par individu. Les espèces adoptent cette stratégie ont une grande fécondité, des intervalles entre générations relativement courts, des taux de mortalité élevés. Elles colonisent continuellement des habitats de manière temporaire. Les migrations jouent un rôle important; elles arrivent souvent dans des habitats vides et n'ont pas nécessairement de fortes capacités de compétition avec d'autres espèces. Ce sont les espèces à pullulations spectaculaires. Les migrations sont d'autant plus nécessaires que l'habitat peut se détériorer du fait de la densité malgré l'influence de celle-ci sur la fécondité. Chez ces espèces, il est peu réaliste de vouloir conserver des populations surtout dans le cadre d'une réserve de surface plus ou moins limitée; par contre, les espèces elles-mêmes ne sont pas facilement menacées.

5.5. Évaluation de l'effet phytostimulant des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* L. sur le peuplier noir *Populus nigra*

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) [53]. Ils constituent un système de défense de la plante particulièrement contre les insectes herbivores [54,55]. L'attaque par ces insectes va conduire à une augmentation de la libération des substances volatiles telles que le linalool et le farnesène par les feuilles de maïs, et à la synthèse de nouveaux composés (E- β -ocimène par les feuilles de concombre) [70,73]. La synthèse des terpènes à la suite d'une attaque par les insectes herbivores est provoquée par des éliciteurs, particulièrement la volicitine, présents dans la salive de ces insectes [52]. Les composés libérés vont inhiber la croissance des larves et attirer les prédateurs et les parasitoïdes des herbivores. En effet, les composés libérés, spécifiques à l'insecte agresseur, vont se comporter comme des signaux guidant les parasites vers l'agresseur, d'autant plus que la libération de ces composés peut se faire uniquement sur la partie de la plante attaquée [53]. Une plante peut ainsi indirectement réduire de plus de 90% les attaques d'insectes herbivores [59,60]. Sur une plante, les molécules volatiles libérées par les feuilles attaquées peuvent être différentes de celles libérées par les feuilles saines [58].

La plante émet également des composés terpéniques pour se protéger d'organismes pathogènes et d'autres espèces végétales [95,96]. 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 [86,87]. 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 [82,83].

5.5.1. Effet des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* sur l'expression de la proline

La proline et son métabolisme, est distingué d'autres acides aminés de plusieurs façons. Le plus fondamental est que la proline est la seule des acides aminés protéo-génique où le groupe α -amino se présente comme amine secondaire. Les propriétés uniques de proline sont fortement appropriées pour la compréhension de son rôle rencontré chez les plantes.

La variation temporelle des taux d'accumulation de la proline sous l'effet des bioproduits nous permet de visualiser d'une manière générale l'effet bénéfique de l'assimilation du bioproduit par la plante qui se manifeste par une réduction des quantités de proline exprimées, pareillement sous l'effet des huiles essentielles des feuilles et des rameaux. L'explication de l'accumulation de la proline est confuse, certains auteurs dont Hanson et al [213], affirment que c'est une conséquence pathologique, d'autres comme Stewart et Lee [214] suggèrent que la proline a de fortes concentrations agit comme soluté pour l'ajustement osmotique, et aussi pour servir de réservoir de composés azotés et de carbone pour une utilisation ultérieure dans la croissance.

5.5.2. Effet des huiles essentielles formulées de *Pistacia lentiscus* sur l'expression des sucres totaux

Les plantes sont des organismes autotrophes. Elles sont capables, au cours de la réaction de photosynthèse, d'utiliser l'énergie du rayonnement solaire grâce à des pigments assimilateurs pour assimiler le dioxyde de carbone atmosphérique. Celui-ci sera ensuite incorporé dans des molécules organiques nécessaires à la croissance des végétaux (sucres, lipides, acides aminés...).

La photosynthèse permet l'obtention de trioses phosphates, synthétisés au sein des chloroplastes, qui seront convertis en hexoses phosphates. Ces derniers

pourront être utilisés dans différentes voies métaboliques telles que la glycolyse et le cycle de Krebs. Ils pourront également permettre la synthèse de saccharose ou de sucres de réserve. Ils serviront alors de source d'énergie ou de carbone pour la croissance de la plante. Dans l'idéal, les plantes doivent atteindre un équilibre entre l'assimilation du carbone, son stockage et leur croissance. Cependant peu de choses sont connues sur ces régulations [214,215].

Nos résultats montrent que les bioproduits à base d'huiles essentielles formulées issu des différents compartiments de lentisque présentent les mêmes taux d'accumulation. Ces essences de peuplier traitées souffrent d'une réduction significative en sucres totaux par comparaison au témoin. Les résultats obtenus avec ce type d'expériences dépendent des organes testés. Ainsi, lorsque le glucose, le fructose ou le saccharose sont fournis à des tissus qui contiennent des alditols, en particulier à des tissus foliaires, ces trois sucres peuvent être rapidement et largement transformés en polyol correspondant. Tel est le cas du mannitol chez les Oleaceae [216], et du sorbitol chez les Rosaceae [217]. En effet, le sorbitol peut être synthétisé par les feuilles à partir d'hexoses exogènes, par exemple à partir du glucose chez le prunier [218], le pommier [219] et le poirier [217], à partir du fructose chez le pommier [219], et à partir du saccharose chez le pêcher [220]. La feuille est donc le principal organe de synthèse des alditols.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de ce travail consacré essentiellement à l'étude de l'activité insecticide et phytostimulatrice des huiles essentielles formulées à base des rameaux et des feuilles de pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus*) sur les populations de pucerons *Chaitophorus leucomelas* du peuplier noire. Nous avons pu tirer certains résultats en réponse aux questions hypothèses de l'étude.

- Les résultats de la caractérisation font ressortir une richesse en molécules au profit de l'huile essentielle des feuilles de pistachier par rapport à l'huile essentielle issue des rameaux de lentisque.

- Le rendement moyen en huiles essentielles pour 200g de matière végétale est de 0,25%.

- Les résultats montrent que l'ensembles des bioproduits appliqués en faible, moyenne et forte doses ont enregistré une réduction en termes d'abondance des populations de *Chaitophorus leucomelas* par comparaison au témoin. La répercussion des huiles essentielles des feuilles est claire puisqu'elle manifeste son effet biocide dès les premiers 48h. En revanche, l'effet de l'huile essentielle issue des rameaux affiche une abondance oscillante aux delà du 3^{eme} jour d'exposition aux différentes doses. Il ressort également l'existence d'un effet choc du bioproduit après 24h d'exposition.

- Les populations larvaires s'avèrent les plus touchés par l'activité biocide des huiles essentielles formulées des rameaux.

- Le bioproduit à base d'huiles essentielles de feuilles a montré une toxicité moyenne de l'ensemble des doses utilisées au bout de 24h. D'autre part l'estimation des populations résiduelles sous l'action des huiles essentielles formulées extraites des rameaux de *Pistacia lentiscus* L. dévoile le passage des

molécules du statut moyennement toxique au statut très toxique au bout de 48h, et maintiennent leur activité toxique jusqu'au 8^{ème} jour.

- Les mêmes résultats nous ont permis de signaler que la fécondité fluctue temporellement de la manière ci- après : (i) *durant la période d'effet*, le bioproduit a base des huiles essentielles de feuilles de lentisque entraine une stimulation de la fécondité qui apparait assez conséquente sous l'effet des fortes doses (ii) *durant la période de toxicité* et par comparaison au témoin, la formulation appliquée conduit a une baisse drastique de la fécondité de puceron durant le laps de temps de 6-9 jours (iii) *durant la période de reprise*, nous signalons un rétablissement du pouvoir biotique très apparent sous l'effet de la faible dose puis sous l'effet des fortes doses. En revanche, sous l'effet des bioproduits a base des huiles essentielles de rameaux de lentisque la variation de la fécondité durant la période d'effet parait très contrastée par rapport au bioproduit a bases des huiles essentielles de feuilles de lentisque dont la fécondité des individus traités suit la variation temporelle de la fécondité des individus témoin.

- Concernant l'accumulation de la proline sous l'effet des bioproduits permettent de visualiser d'une manière générale l'effet bénéfique de l'assimilation du bioproduit par la plante qui se manifeste par une réduction des quantités de proline exprimées.

- Nos résultats montrent également que les bioproduits a base d'huiles essentielles formulées issu des différents compartiments de lentisque présentent les mêmes taux d'accumulation. Ces essences de peuplier traitées souffrent d'une réduction significative en sucres totaux par comparaison au témoin

De ce que nous avons pu avancer comme résultats, il en ressort un certain contraste d'efficacité des biopesticides par rapport aux modèles biologiques étudiés

Vue les résultats obtenus, on déduit que *Pistacia lentiscus* L. possède des effets insecticide et phytostimulant qu'il faudra valoriser, et une courte rémanence ce qui n'influe pas sur la disponibilité des groupes fonctionnels.

Les méthodes d'analyse des H.E ont beaucoup évolué, cela permet d'isoler et de développement de nouveaux mélanges pouvant avoir un effet additif ou synergique.

En perspective, il serait intéressant d'évaluer l'efficacité globale des ces bioproduits formulés. Le calcul de la DL50 et de la TL50 reste un élément clé qui sera traité dans les études ultérieures afin de bien valoriser les biopesticides dans le cadre d'une production intégrée. Élargir les essais d'efficacité sur d'autres modèles biologiques notamment les bioagresseurs des denrées stockées, et les parasites relatives à l'hygiène publique.

APPENDICE A

LISTE DES ABREVIATIONS

DMAPP : Diméthylallyl-diphosphate

GPP : Géranyl phyrophosphate

FPP : Farnésyl pyrophosphate

GGPP : Géranyl géranyl pyrophosphate

DXP : Deoxyxylulose-5-phosphate pathway

MEP : Methylerythritol 4-phosphate pathway

C:degré Celsius.

D2: dose (2ml/1L)

D4: dose (4ml/1L)

D6: dose (6ml/1L)

D8: dose (8ml/1L)

DL50 : dose létale

TL50 : temps léthal

G.L.M : modèle linéaire global.

HE : huile essentielle

CG-SM : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à un Spectre de Masse

MS : Matière Sèche

O.N.M : Office Nationale de la Météorologie

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Nel A., Petrulevicius J.F et Béthoux O. 2005**, Les insectes, témoins privilégiés du Crétacé. *Pour la Science Dossier*, 48, 108-114
2. **Labandeira C.C., Wilf P., Johnson K.R et Marsh F.-2007**, *Guide to Insect (and other) damage types on compressed plant fossils. Version 3.0*. Smithsonian Institution, Washington.
3. **Djazouli Z.E., 1996**. Inventaire et interaction de l'entomofaune inféodée du peuplier noir *Populus nigra* L. Etude de la dynamique des populations et du développement ovarien de *Chaitophorus leucomelas* (Koch, 1854)(Homoptera; Aphididae) En MITIDJA. Th.mag.Agro., Inst.Nal.Agro., ElHarrach Algérie,102p
4. **Dajoz R., 1980**. *Ecologie des insectes forestiers* ,Bordas Eds. Paris, 489p
5. **Delplanque A., 1998**. *Les insectes associés aux peupliers* ,Memor Eds. Bruxelles, 350p.
6. **Anonyme, 2002**. Rapport du groupe de réflexion sur les pesticides en milieu urbain. *Pour la protection de la santé et de l'environnement, la gestion environnementale en milieu urbain*. 64: 3
7. **Coombes A.J., 1992**.*Eyewitness handbooks, Trees* ,Dorling Kindersley Eds. London, 304p.
8. **Milne-Redhead E., 1990**. The BSBI Black poplar survey, 1973-1988 ,*Watsonia*, 18 : 1-5.
9. **Nauen R. et Elbert A., 2003**. European monitoring of resistance to insecticides in *Myzus persicae* and *Aphisgossypii* (Hemiptera: Aphididae) with special reference to imidacloprid. *Bull. Entomol. Res.*, **93**, 47-54.
10. **Regnault-Roger C., Philogene B.J.R. et Fabres G., 2005**. Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Lavoisier Tec et Doc. Paris, 1013 p
11. **Vandermoten S., Cusson M., Francis F. et Haubruge E., 2008**. La biosynthèse des isoprénoïdes chez les pucerons : une cible potentielle de nouveaux bio-insecticides ?.,*Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **12**(4), 451-460

- 12. Giroux S., Côté J.C., Vincent C., Martel P. et Coderre D., 1994.** bacteriological insecticide m-one effects on the mortality and the predation efficiency of adult spotted lady beetle *coleomegilla maculata* (coleoptera: coccinellidae). *j. econ. entomol.* 87, pp: 39-43.
- 13. Roger C., Vincent C. et Coderre D., 1995.** mortality and predation efficiency of *coleomegilla maculata lengi* timberlake (coccinellidae) following application of neem extracts (*azadirachta indica* a. juss., meliaceae). *j. appl. entomol.* 119, pp: 439-443.
- 14. Negi P.S., Chauhan A.S., Sadia G.A., Rohinishree Y.S. et Rameteke R.S., 2005.** Antioxidant and antimicrobial activity of various seabukthorn (*Hippophae rhamnoides*) seed extracts. *Food. Chem.*, 92, pp: 119-124.
- 15. Sell, C.S. 2006.** The Chemistry of Fragrance. From Perfumer to Consumer. 2nd edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. 329 p.
- 16. Crozier A., Nclifford M. and Ashihara H., 2006:** Plant Secondary Metabolites Occurrence, Structure and Role in the Human Diet, Blackwell Publishing Ltd, 9600 Garsington Road, Oxford OX4 2DQ, UK, 372p.
- 17. Balandrin, M. F., J. A. Kloche. E.S Wertele, W.H. Bollinger. 1985.** Natural plant chemicals : Sources of industrial and medicinal materials. *Science* 228 : 1154-1160.
- 18. Harborne, J. 1988.** *Introduction to Ecological Biochemistry*. 3rd ed. New York : Academic Press.
- 19. Valerberghe, G. C., L. McIntosh. 1997,** Alternative oxidase : from gene to function. *Annual Review of Plant Physiology, Biochemistry and Plant Molecular Biology* 48 : 703-734.
- 20. Lydie S., 2015,** Les végétaux: Les relations avec leur environnement, Eds Quæ, 64 P.
- 21. Mayer, A.M., 2004.** Resistance to herbivores and fungal pathogens: Variations on a common theme? A review comparing the effect of secondary metabolites, induced and constitutive, on herbivores and fungal pathogens. *Israel Journal of Plant Sciences* 52, 279-292.
- 22. Rosenthal GA, Berenbaum MR (1991),** Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites, Volume II: Evolutionary and Ecological Processes. Second edition. London: Academic Press.

- 23. Amlan K., Patra J.S., 2010**, A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*. 71 : 1198–1222.
- 24. Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A., 2007**, Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. 90 : 2580–2595.
- 25. Combrinck S., Du Plooy G.W., Mccrindle R.I., Botha B.M., 2007**, Morphology and Histochemistry of the *Glandular Trichomes* of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae) *Annals of botany*. 99 (6) : 1111–1119.
- 26. Kamra D.N., Agarwal N., Chaudhary L.C., 2006**. Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series*. 1293 : 156–163.
- 27. Greathead H., 2003**, Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of the Nutrition Society*. 62 : 279–290.
- 28. Bodas R., Lopez S., Fernandez M., Garcia-Gonzalez R., Rodriguez A.B., Wallace R.J. et al., 2008**, In vitro screening of the potential of numerous plant species as antimethanogenic feed additives for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 145 : 245–258.
- 29. Litvak, M.E., and Monson, R.K., 1998**. Patterns of induced and constitutive monoterpene production in conifer needles in relation to insect herbivory. *Oecologia*, 114, 531-540.
- 30. Gershenzon, J., McConkey, M.E., and Croteau, R.B., 2000**. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. *Plant. Physiol.* 122, 205-213.
- 31. Wendehenne, D., 2005**. Le monoxyde d'azote, un acteur de la résistance des plantes aux microorganismes pathogènes. *Comptes rendus de l'académie des sciences, série III-Sciences de la vie - Life sciences*. 91, 17-26.
- 32. Yu, F.N.A., and Utsumi, R., 2009**. Diversity, regulation, and genetic manipulation of plant mono- and sesquiterpenoid biosynthesis. *Cell. Mol. Life Sci.* 66, 3043-3052.
- 33. Gershenzon, J., and Croteau, R., 1991**. Terpenoids, pp. 165-219, *in* G. A. Rosenthal and M.R. Berenbaum (eds.). *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*. Academic Press, New York. Kesselmeier et Staudt, 1999

- 34. Kesselmeier, J., and Staudt, M., 1999.** Biogenic Volatile Organic Compounds (VOC): an overview on emission, physiology and ecology. *Journal of Atmospheric Chemistry* 33, 23-88.
- 35. Degenhardt, J., Köllner, T.G., and Degenhardt, J.G., 2009.** Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, doi:10.1016/j.phytochem.2009.07.030
- 36. Gershenzon, J., and Kreis, W., 1999.** Biosynthesis of monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes, sterols, cardiac glycosides and steroid saponins. In *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism, Annual Plant Reviews, Vol. 2*, M. Wink, ed (Sheffield: Sheffield Academic Press), pp. 222–299
- 37. Dudareva, N., Andersson, S., Orlova, I., Gatto, N., Reichelt, M., Rhodes, D., Boland, W., and Gershenzon, J., 2005.** The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and sesquiterpene formation in snapdragon flowers: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, p. 933-938.
- 38. Covello, P.S., Teoh, K.H., Polichuk, D.R., Reed, D.W., and Nowak, G., 2007,** Functionalgenomics and the biosynthesis of artemisinin. *Phytochemistry* 68, 1864-1871.
- 39. Giuliani, C., and Bini, L.M., 2008,** Insight into the structure and chemistry of glandulartrichomes of Labiatae, with emphasis on subfamily Lamioideae. *Plant Syst. Evol.* 276, 199-208.
- 40. Biswas, K.K., Foster, A.J., Aung, T., and Mahmoud, S.S., 2009.** Essential oil production:relationship with abundance of glandular trichomes in aerial surface of plants. *Acta Physiol.Plant.* 31, 13-19.
- 41. Gairola, S., Naidoo, Y., Bhatt, A., and Nicholas, A., 2009,** An investigation of the *foliartrichomes* of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae): An important medicinal plant of southern Africa. *Flora* 204, 325-330.
- 42. Fahn, A., 1979.** *Secretory Tissues in Plants*; Academic Press: London, UK.
- 43. Loreto, F., Fischbach, R.J., Schnitzler, J.P., Ciccioli, P., Brancaleoni, E., Calfapietra, C., and Seufert, G., 2001.** Monoterpene emission and monoterpene synthase activities in the Mediterranean evergreen oak (*Quercus ilex* L.) grown at elevated CO₂ concentrations. *Global Change Biology* 7, 709-717

- 44. Staudt, M., and Seufert, G., 1995.** Light-dependent emission of monoterpenes by holm oak (*Quercus ilex* L.). *Naturwissenschaften* 82, 89-92
- 45. Loreto, F., Ciccioli, P., Cecinato, A., Brancaleoni, E., Frattoni, M., and Tricoli, D., 1996a.** Influence of environmental factors and air composition on the emission of α -pinene from *Quercus ilex* leaves. *Plant Physiol* 110, 267-275.
- 46. Niinemets, U., Reichstein, M., Staudt, M., Seufert, G., and Tenhunen, J.D., 2002.** Stomatal constraints may affect emission of oxygenated monoterpenoids from the foliage of *Pinus pinea*. *Plant Physiology* 130, 1371-1385. Huber *et al.*, 2004.
- 47. Ormeño, E., 2006.** Stratégies d'émission de Composés Organiques Volatils (COV) par quatre espèces végétales méditerranéennes : Effet de plusieurs facteurs écologiques sur l'émission et le stockage de terpènes. Thèse de Doctorat, Univ. Provence (Aix Marseille 1), 286 p.
- 48. Huber, D.P.W., Ralph, S., and Bohlmann, J., 2004.** Genomic hardwiring and phenotypic plasticity of terpenoid-based defenses in conifers: *Journal of Chemical Ecology* 30, 2399-2418.
- 49. Thoss, J., and Byers, J.A., 2006.** Monoterpene chemodiversity of ponderosa pine in relation to herbivory and bark beetle colonization. *Chemoecology* 16, 51-58.
- 50. Kelen, M., and Tepe, B., 2008.** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from *Turkish flora Bioresource Technology* 99, 4096-4104
- 51. Dicke, M., and Van Loon, J.J., 2000.** Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context: *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97, 237-249.
- 52. Theis, N., and Lerdau, M., 2003.** The evolution of function in plant secondary metabolites. *Int. J. Plant Sci* 164, S93-S102.
- 53. Langenheim, J.H., 1994.** Higher-Plant Terpenoids -a Phytocentric Overview of Their Ecological Roles. *Journal of Chemical Ecology* 20, 1223-1280.
- 54. Peñuelas, J., and Llusià, J., 2003.** BVOCs: plant defense against climate warming? *Trends Plant Sci.* 3, 105-109. doi:10.1016/S1360-1385.
- 55. Peñuelas, J., and Llusià, J., 2004.** Plant VOC emissions: making use of the unavoidable. 8, 402-404. doi:10.1016/j.tree.2004.06.002.

- 56. Fischbach, R.J., Staudt, M., Zimmer, I., Rambal, S., and Schnitzler, J.P., 2002.** Seasonal pattern of monoterpene synthase activities in leaves of the evergreen tree *Quercus ilex*. *Physiologia Plantarum* 114, 354-360.
- 57. Fernandez, C., Monnier, Y., Ormeño, E., Baldy, V., Greff, S., Pasqualini, V., Mevy, J.P., and Bousquet-Mélou, A., 2009.** Variations in Allelochemical Composition of Leachates of Different Organs and Maturity Stages of *Pinus halepensis*. *J. Chem. Ecol.* 35, 970-979.
- 58. Singsaas, E.L., and Sharkey, T.D., 1998.** The regulation of isoprene emission responses to rapid leaf temperature fluctuations, *Plant, Cell Environ.* 21, 1181-1188.
- 59. Hanson, D.T., and Sharkey, T.D., 2001.** Effect of growth conditions on isoprene emission and other thermotolerance-enhancing compounds, *Plant, Cell Environ.* 24, 929-936.
- 60. Sharkey, T.D., Chen, X., and Yeh, S., 2001.** Isoprene increases thermotolerance of fosmidomycin-fed leaves, *Plant Physiol.* 125, 2001-2006.
- 61. Loreto, F., Förster, A., Dürr, M., Csiky, O., and Seufert, G., 1998.** On the monoterpene emission under heat stress and on the increased thermotolerance of leaves of *Quercus ilex* L. fumigated with selected monoterpenes, *Plant, Cell Environ.* 21, 101-107.
- 62. Delfine, S., Csiky, O., Seufert, G., and Loreto, F., 2000.** Fumigation with exogenous monoterpenes of a non-isoprenoid-emitting oak (*Quercus suber*): monoterpene acquisition, translocation, and effect on the photosynthetic properties at high temperatures, *New Phytologist* 146, 27-36.
- 63. Singsaas, E.L., 2000.** Terpenes and the thermotolerance of photosynthesis, *New Phytologist*, 146, 1-4.
- 64. Copolovici, L. O., Filella, I., Llusià, J., Niinemets, U., and Peñuelas, J., 2005.** The capacity for thermal protection of photosynthetic electron transport varies for different monoterpenes in *Quercus ilex*. *Plant Physiology* 139, 485-496.
- 65. Llusià, J., Peñuelas, J., Asensio, D., and Munne-Bosch, S., 2005.** Airborne limonene confers limited thermotolerance to *Quercus ilex*. *Physiol. Plant.* 123, 40-48.

- 66. Peñuelas, J., Llusà, J., Asensio, D., and Munne-Bosch, S., 2005.** Linking isoprene with plant thermotolerance, antioxidants and monoterpene emissions. *Plant, Cell Environ.* 28, 278-286.
- 67. Chen, J.W., Bai, K.D., and Cao, K.F., 2009.** Inhibition of monoterpene biosynthesis accelerates oxidative stress and leads to enhancement of antioxidant defenses in leaves of rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Acta Physiol. Plant.* 31, 95-101.
- 68. Logan, B.A., and Monson, R.K., 1999.** Thermotolerance of leaf discs from four isoprene-emitting species is not enhanced by exposure to exogenous isoprene. *Plant Physiol.* 120, 821-826.
- 69. Logan, B.A., Monson, R.K. and Potosnak, M.J., 2000.** Biochemistry and physiology of foliar isoprene production, *Plant Science* 5, 477-481.
- 70. Loreto, F., 2002.** Distribution of isoprenoid emitters in the *Quercus* genus around the world: chemo-taxonomical implications and evolutionary considerations based on the ecological function of the trait: *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 5, 185-192.
- 71. De Pascale, S., Maggio, A., Fogliano, V., Ambrosino, P., and Ritieni, A., 2001.** Irrigation with saline water improves carotenoids content and antioxidant activity of tomato. *J. Hortic. Sci. Biotechnol* 76, 447-453.
- 72. Morin-Savy, S., 2005.** Biosynthèse de caroténoïdes aromatiques hydroxylés par des bactéries non photosynthétiques : Des carotènes aux xanthophylles. Thèse de Doctorat, Université de Bretagne Occidentale, 172p
- 73. Gallé, A., Haldimann, P., and Feller, U., 2007.** Photosynthetic performance and water relations in young pubescent oak (*Quercus pubescens*) trees during drought stress and recovery. *New Phytologist* 174, 799-810.
- 74. Munne-Bosch, S., 2005.** The role of alpha-tocopherol in plant stress tolerance. *Journal of Plant Physiology* 162, 743-748.
- 75. Affek, H.P., and Yakir, D., 2003.** Protection by Isoprene against Singlet Oxygen in Leaves. *Plant Physiology* 129, 269-277.
- 76. Peñuelas, J., and Llusà, J., 2002.** Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus*. *New Phytol.* 155, 227-237.

- 77. Peñuelas, J., and Llusà, J., 2003.** BVOCs: plant defense against climate warming? *Trends Plant Sci.* 3, 105-109. doi:10.1016/S1360-1385.
- 78. Velikova, V., Edreva, A., Tsonev, T., Gesheva, E., Dagnon, S., Loreto, F., Gurel, A., and Jones, H., 2007.** Secondary metabolites: Tools for stress protection in plants: Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative *Physiology*, v. 146, p. 27.
- 79. Vickers, C.E., Possell, M., Cojocariu, C.I., Velikova, V.B., Laothawornkitkul, J., Ryan, A., Mullineaux, P.M., and Hewitt, C.N., 2009.** Isoprene synthesis protects transgenic tobacco plants from oxidative stress. *Plant Cell and Environment* 32, 520-531.
- 80. Heiden, A.C., Hoffmann, T., Kahl, J., Kley, D., Klockow, D., Langebartels, C., Mehlhorn, H., Sandermann, H., Schraudner, M., Schuh, G., and Wildt, J., 1999.** Emission of volatile organic compounds from ozone-exposed plants: Ecological Applications 9, 1160-1167.
- 81. Chen, J.W., Bai, K.D., and Cao, K.F., 2008.** Inhibition of monoterpene biosynthesis accelerates oxidative stress and leads to enhancement of antioxidant defenses in leaves of rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Acta Physiol. Plant.* 31, 95-101.
- 82. Pichersky, E., and Gang, D.R., 2000.** Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends in Plant Science* 5, 439-445.
- 83. Letchamo, W., and Vomel, A., 2001.** A comparative investigation of chamomile genotypes under extremely varying ecological conditions. *Acta Hort.* 306, 105-114.
- 84. Sudha, G., and Ravishankar, G.A., 2002.** Involvement and interaction of various signaling compounds on the plant metabolic events during defense response, resistance to stress factors, formation of secondary metabolites and their molecular aspects. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 71, 181-212.
- 85. Naghdi Badi, H., Yazdani, D., Mohammad, A.S., and Nazari, F., 2004.** Effects of spacing and harvesting on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. *Ind. Crop. Prod.* 19, 231-236.
- 86. Gatehouse, J.A., 2002.** Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction: *New Phytologist* 156, 145-169.

- 87. Hoballah, M.E.F., Tamo, C., and Turlings, T.C.J., 2002.** Differential attractiveness of induced odors emitted by eight maize varieties for the parasitoid *Cotesia marginiventris*: Is quality or quantity important?. *Journal of Chemical Ecology* 28, 951-968.
- 88. Oppenheim, S. J., and Gould, F., 2002.** Is attraction fatal? The effects of herbivore-induced plant volatiles on herbivore parasitism. *Ecology* 83, 3416-3425.
- 89. Mumm, R., Tiemann, T., Schulz, S., and Hilker, M., 2004.** Analysis of volatiles from black pine (*Pinus nigra*): significance of wounding and egg deposition by a herbivorous sawfly: *Phytochemistry* 65, 3221-3230.
- 90. Arimura, G.I., Garms, S., MaVeil, M., Bossi, S., Schulze, B., Leitner, M., Mithöfer, A., and Boland, W., 2008.** Herbivore-induced terpenoid emission in *Medicago truncatula*: concerted action of jasmonate, ethylene and calcium signaling. *Planta* 227, 453-464.
- 91. Tzakou, O., Bazos, I., and Yannitsaros, A., 2007.** Volatile metabolites of *Pistacia atlantica* Desf. from Greece. *Flavour Fragrance J.* 22, 358-362.
- 92. Flamini, G., Bader, A., Cioni, P.L., Katbeh-Bader, A. and Morelli, I., 2004.** Composition of the essential oil of leaves, galls, and ripe and unripe fruits of Jordanian *Pistacia palaestina* Boiss. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 52, 572-576.
- 93. Kivcak, B., Akay, S., Demirci, B., and Baker, K.H.C., 2004.** Chemical composition of essential oils from leaves and twigs of *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia*, and *Pistacia terebinthus* from Turkey. *Pharmaceutical Biology* 42, 360-366.
- 94. Vidrich, V., Fusi, P., Graziano, A., Silvestrini, E., Michelozzi, M., and Marco, F., 2004.** Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. *Journal of Essential Oil Research* 16, 223-226.
- 95. Gambliel, H.A., and Cates, R.G., 1995.** Terpene Changes Due to Maturation and Canopy Level in Douglas-Fir (*Pseudotsuga-menziessii*) Flush Needle Oil. *Biochem. Syst. Ecol.* 23,469-476.
- 96. Barnola, L.F., Cedeño, A., and Hasegawa, M., 1997.** Intraindividual variations of volatile terpene contents in *Pinus caribaea* needles and its possible relationship to *Atta laevigata* herbivory. *Biochem. Syst. Ecol.* 25, 707-716.

- 97. Latta, R.G., Linhart, Y.B., Lundquist, L., and Snyder, M.A., 2000.** Patterns on monoterpenes variation within individual trees in Ponderosa Pine. *Journal of Chemical Ecology* 26, 1341-1357.
- 98. Eberhardt, T.L., Sheridan, P.M., and Mahfouz, J.M., 2009.** Monoterpene persistence in the sapwood and heartwood of long leaf pine stumps: assessment of differences in composition and stability under field conditions. *Can. J. For. Res.-Rev. Can. Rech. For.* 39, 1357-1365.
- 99. Ormeño, E., Fernandez, C., Bousquet-Mélou, A., Greff, S., Morin, E., Robles, C., Vila, B., and Bonin, G., 2007:** Monoterpene and sesquiterpene emissions of three Mediterranean species through calcareous and siliceous soils in natural conditions. *Atmos. Environ.*, 41, 629–639.
- 100. Fischbach, R.J., Staudt, M., Zimmer, I., Rambal, S., and Schnitzler, J.P., 2002.** Seasonal pattern of monoterpene synthase activities in leaves of the evergreen tree *Quercus ilex*. *Physiologia Plantarum* 114, 354-360.
- 101. Loreto, F., Ciccioli, P., Brancaleoni, E., Cecinato, A., Frattoni, M., and Sharkey, T.D., 1996b.** Different sources of reduced carbon contribute to form three classes of terpenoid emitted by *Quercus ilex* L. leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 9966-9969.
- 102. Sharkey, T.D., and Yeh, S., 2001.** Isoprene emission from plants: Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 52, 407-436.
- 103. Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P., and Angioni, A., 2007.** Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 55, 7093-7098.
- 104. Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., and Komaitis, M., 2008.** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chem.* 107, 1120-1130.
- 105. Hussain, A.I., Anwar F., Sherazi S.T.H., and Przybylski, R., 2008.** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem.* 108, 986-995.

- 106. Llusà, J., and Peñuelas, J., 2000.** Seasonal patterns of terpene content and emission from seven Mediterranean woody species in field conditions: *American Journal of Botany* 87, 133-140.
- 107. Llusà, J., and Peñuelas J., 1998.** Changes in terpene content and emission in potted Mediterranean woody plants under severe drought. *Can. J. Bot./Rev Can. Bot.* 76, 1366-1373.
- 108. Turtola, S., Manninen, A.M., Rikala, R., and Kainulainen, P., 2003.** Drought stress altersthe concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings. *J. Chem. Ecol.* 29, 1981-1995.
- 109. Delfine, S., Loreto, F., Pinelli, P., Tognetti, R., and Alvino, A., 2005.** Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress: *Agriculture Ecosystems & Environment* 106, 243-252.
- 110. Blanch, J.S., Peñuelas, J., Sardans, J., and Llusà, J., 2009.** Drought warming and soil fertilization effects on leaf volatile terpene concentrations in *Pinus halepensis* and *Quercus ilex*. *Acta Physiol. Plant.* 31, 207-218.
- 111. Llusà, J., Peñuelas, J., Ogaya, R., and Alessio, G., 2010.** Annual and seasonal changes in foliar terpene content and emission rates in *Cistus albidus* L. submitted to soil drought in Prades forest (Catalonia, NE Spain): *Acta Physiologiae Plantarum* 32, 387- 394.
- 112. Ormeño, E., Mevy, J.P., Vila, B., Bousquet-Melou, A., Greff, S., Bonin, G., and Fernandez, C., 2007a.** Water deficit stress induces different monoterpene and sesquiterpene emission changes in Mediterranean species. Relationship between terpene emissions and plantwater potential. *Chemosphere* 67, 276-284.
- 113. Lavoit, A.V., Staudt, M., Schnitzler, J.P., Landais, D., Massol, F., Rocheteau, A.,Rodriguez, R., Zimmer, I., and Rambal, S., 2009.** Drought reduced monoterpene emissions from the evergreen Mediterranean oak *Quercus ilex*: results from a throughfall displacement experiment. *Biogeosciences* 6, 1167-1180.
- 114. Llusà, J., Peñuelas, J., Prieto, P., and Estiarte, M., 2009.** Net Ecosystem Exchange and Whole Plant Isoprenoid Emissions by a Mediterranean Shrubland Exposed to Experimental Climate Change. *Russ. J. Plant Physiol.* 56, 29-37.

- 115. Naydenov, K., and Alexandrov, A., 1999.** Geographic variability of some of the monoterpenes (alpha-pinene, camphene and beta-pinene) in autochthonous population of Scots pine (*Pinus sylvestris*) in Rila-Rhodopses massif. *Biotechnol Biotec Eq* 13, 14-18.
- 116. Ibanez, J., and Usubillaga, A., 2006.** Analysis of the essential oil of two different altitudinal populations of *Coespeletia moritziana* (Sch Bip.ex Wedd) cuatrec. *Flavour and Fragrance Journal* 21, 760-763.
- 117. Haider, F., Kumar, N., Banerjee, S., Naqvi, A.A., and Bagchi, G.D., 2009.** Effect of Altitude on the essential Oil Constituents of *Artemisia roxburghiana* Besser var. *purpurascens* (Jacq.) Hook. *J. Essent. Oil Res.* 21, 303-304.
- 118. Vokou, D., Kokkini, S., and Bessiere. J.M., 1993.** Geographic-Variation of Greek Oregano (*Origanum-vulgare ssp Hirtum*) Essential Oils. *Biochem. Syst. Ecol.* 21, 287-295.
- 119. Johnson, C.B., Kirby, J., Naxakis, G., and Pearson, S., 1999.** Substantial UV-B-mediated induction of essential oils in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Phytochemistry* 51, 507-510.
- 120. Spitaler, R., Schlorhauser, P.D., Ellmerer, E.P., Merfort, I., Bortenschlager, S., Stuppner, H., and Zidorn, C., 2006.** Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Arnica montana* cv. ARBO. *Phytochemistry* 67, 409-417.
- 121. Bilger, W., Rolland, M., and Nybakken, L., 2007.** UV screening in higher plants induced by low temperature in the absence of UV-B radiation. *Photoch. Photobiol. Sci.* 6, 190-195.
- 122. Spitaler, R., Winkler, A., Lins, I., Yanar, S., Stuppner, H., and Zidorn, C., 2008.** Altitudinal Variation of Phenolic Contents in Flowering Heads of *Arnica montana* cv. ARBO: a 3-Year Comparison. *J Chem Ecol.* 34, 369–375.
- 123. Albert, A., Sareedenchai, V., Heller, W., Seidlitz, H.K., and Zidorn, C., 2009.** Temperature is the key to altitudinal variation of phenolics in *Arnica montana* L. cv. ARBO. *Oecologia* 160, 1–8.
- 124. Staudt, M., and Seufert, G., 1995.** Light-dependent emission of monoterpenes by holm oak (*Quercus ilex* L.). *Naturwissenschaften* 82, 89-92

- 125. Wassner, D.E., and Ravetta, D.A., 2005.** Temperature effects on leaf properties, resin content, and composition in *Grindelia chilensis* (Asteraceae). *Ind. Crop. Prod.* 21, 155-163.
- 126. Zavala, J.A., and Ravetta, D.A., 2002.** The effect of solar UV-B radiation on terpenes and biomass production in *Grindelia chilensis* (Asteraceae), a woody perennial of Patagonia, Argentina. *Plant Ecology* 161, 185–191
- 127. Jaakola, L., Mättä-Riihinen, K., Kärenlampi, S., and Hohtola, A., 2004.** Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves. *Planta* 218, 721-728.
- 128. Kainulainen, P., Utriainen, J., Holopainen, J.K., Oksanen, J., and Holopainen, T., 2000.** Influence of elevated ozone and limited nitrogen availability on conifer seedlings in an openair fumigation system: effects on growth, nutrient content, mycorrhiza, needle ultrastructure starch and secondary compounds. *Glob. Chang Biol.* 6, 345-355.
- 129. Lee, K.D., and Yang, M.S., 2005.** Changes in Mineral and Terpene Concentration Following Calcium Fertilization of *Chrysanthemum boreale* M. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 1, 222-226.
- 130. Yang, M.S., Tawaha, A.R.M., and Lee, K.D., 2005.** Effects of Ammonium Concentration on the Yield, Mineral Content and Active Terpene Components of *Chrysanthemum coronarium* L. in a Hydroponic System. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 1, 170-175.
- 131. Ormeño, E., Baldy, V., Ballini, C., and Fernandez, C., 2008.** Production and diversity of volatile terpenes from plants on calcareous and siliceous soils: Effect of soil nutrients. *J. Chem. Ecol.* 34, 1219-1229.
- 132. Adams, R.P., 1991.** Cedar wood oil – analysis and properties. In: Linskens, H.F., Jackson, J.F. (Eds.), *Modern Methods of Plant Analysis, New Series: Essential Oils and Waxes* Springer-Verlag, Berlin.
- 133. Lo Presti, M., Sciarrone, D., Crupi, M.L., Costa R., Ragusa, S., Dugo, G., and Mondello, L., 2008.** Evaluation of the volatile and chiral composition in *Pistacia lentiscus* L., essential oil. *Flavour and Fragrance Journal* 4, 249-257.

- 134. Kogan M., 1975** Plant resistance in pest management. In Introduction to insect pest management, ed. W. a. Sons; New York, pp. 103-146.
- 135. Painter R. H., 1951.** Insect resistance in crop plants: University of Kansas Press. 520 p.
- 136. Pillemer E. A. et Tingey W. M., 1978.** Hooked trichomes and resistance of *Phaseolus vulgaris* to *Empoasca fabae* (Harris). Entomol. Exp. Appl. vol. 24, pp.83-94.
- 137. Fery R. L. et Cuthbert J. F. P., 1979.** Measurement of podwall resistance to the cowpea cucurlio in the southern pea, *Vigna unguiculata* (L.). Walp. Hortic. Sci. vol. 14, pp. 29-30.
- 138. Fraenkel G. S., 1959.** The raison d'être of secondary compounds. Science ; vol. 129, pp. 1466-1470.
- 139. Schultz J. C., 1988.** Many factors influence the evolution of herbivore diets, but plant chemistry is central. Ecology, vol. 69, pp. 896-897.
- 140. Louis S. 2004.** Diversité structurale et d'activité biologique des albumines entomotoxiques de type 1b des graines de légumineuses. Thèse de doctorat, Institut national des sciences appliquées de Lyon, 260p.
- 141. Auger J., Dugravot S., Naudin A., Abo-Ghalia A., Pierre D. et Thibout E., 2002.** Utilisation des composés allelochimiques des *Allium* en tant qu'insecticides, Use of pheromones and other semiochemicals in integrated production IOBC wprs Bulletin Vo. 25.
- 142. Bloomquist J. R. 1999.** Insecticides: Chemistries and characteristics. Bloomquist : Insecticides.
- 143. Ketoh K. G. 1998.** Utilisation des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques au Togo comme biopesticides dans la gestion des stades de développement de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de Doctorat, Univ. du Bénin, Lomé, 141 p.
- 144. Taylor T. A. 1974.** On the population dynamics of *Taeniothrips sjostedti* (Tribom) (Thrisanoptera: Thripidae) on cowpea and alternate host, *Centrosema ubescens* Benth., in Nigeria. *Rev. Zool. Africaine*, **88**,689-702.

- 145. Arnason J. T., Mackinnon S., Isman M. B. and Durst A. 1992.** Insecticides in tropical plants with neurotoxic modes of action. *Phytochem.*, 28,107-131.
- 146. Nuto Y., 1995.** Synergistic action of co-occurring toxins in the root bark of *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Rutaceae) against the cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Thesis of PhD S.U.N.Y. Syracuse, New York, 107 p.
- 147. Goudoum A. (2010).** Impact des huiles essentielles sur le potentiel technologique et nutritionnel des grains et farine de maïs au cours du stockage. Thèse de Doctorat, ENSAI, Université de Ngaoundéré, Cameroun, 180 p.
- 148. Bernard T., Perineau F., Bravo R., Delmas M. & Gaset A. (1988).** Extraction des huiles essentielles: chimie et technologie. *Informations Chimie*, 298 : 179-184.
- 149. Banthorpe D.V. (1994).** Terpenoids. In Mann J., Davidson R.S., Hobbs J., Banthorpe D., Harborne J. *Natural Products: Their chemistry and biological significance.* Longman Scientific and Technical, England, pp 289-359.
- 150. Mazen K.E.T., 2002.** Molecular regulation of plant monoterpenes biosynthesis in relation to fragrance. Thesis Proefschrift Wageningen, University, Netherland, 206 p.
- 151. Wallach, 1907.** Contributions to our knowledge terpenes and ethereal oils. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 80 : 585-591.
- 152. Kesselmeier J. & Staudt M. ,1999.** Biogenic volatile organic compounds (VOC): An overview on emission, physiology and ecology. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 33 : 23-88.
- 153. Hecht S., Amslinger S., Jauch J., Kis K., Trentinaglia V., Adam P., Eisenreich W., Bachera A., Rohdich F., 2002.** Studies on the non-mevalonate isoprenoid biosynthetic pathway. Simple methods for preparation of isotope-labeled (E)-1-hydroxy-2-methylbut-2-enyl 4-diphosphate. *Tetrahedron Letters*. 43 : 8929-8933.
- 154. Bartram S., Jux A., Gleixner G., Boland W., 2006.** Dynamic pathway allocation in early terpenoid biosynthesis of stress-induced lima bean leaves. *Phytochemistry*. 67 : 1661-1672

- 155. Mahmoud S.S. & Croteau R.B., 2002.** Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science* 7(8): 366-373.
- 156. Loza T., 1999.** Monoterpenes in essential oils. Biosynthesis and properties. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 464 : 49-62.
- 157. Deguerry F., Pastore L., Wu S., Clark A., Chappell J. & Schalk M. ,2006.** The diverse sesquiterpene profile of patchouli, *Pogostemon cablin*, is correlated with a limited number of sesquiterpene synthases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 454: 123-136.
- 158. Wichtl M. et Anton R.** *Plantes thérapeutiques* 2^{ème} Edition, Lavoisier Tec et Doc, Paris, 2003.
- 159. Huignard J., Lapied B., Dugravot S., Magnin-Robert M. et Ketoh K. G. 2008b.** Modes d'actions neurotoxiques des dérivés soufrés et de certaines huiles essentielles et risques liés à leur utilisation. In « Biopesticides d'origine végétale », 2ème Ed., 219-230.
- 160. Mills, C., Cleary, B. J, Gilmer, J. F., and Walsh, J., 2004.** Inhibition acetylcholinesterase by Tea Tree oil. *J. of Pharmacy and Pharmacol.*, 56,375-379.
- 161. Ryan M. F., Byrne O. 1988.** Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *J. Chem. Ecol.*, 14, 1965–1975.
- 162. Oinonen, P. P., Jokela J. K., Hatakka A. I., Vuorela, P. M., 2006.** Linarin, a selective acetylcholinesterase inhibitor from *Mentha arvensis*. *Fitoterapia*, 77, 429-434.
- 163. Savelev S. U., Okello E. J. & Perry E. K. 2004.** Butyryl- and acetylcholinesterase inhibitory activities in essential oils of salvia species and their constituents. *Phytother Res.*, 18, 315-324.
- 164. Ketoh, G. K., Lecoronc H., Zhu K. Y., Koumaglo K. H., Glitho, I. A., Huignard J., Ramaswamy S. & Lapied B. 2008.** Comparative effects of two plant essential oils extracted from *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon schoenanthus* on American cockroach, *Periplaneta americana* L. sent for publication in journal of *Comp. Biochem. and physiol.*

- 165. Priestley C. M., Williamson E. M., Wafford K. A., Satelle D. B. 2003.**Thymol, a constituent of thyme essential oils, is a positive modulator of human GABA and a homooligosteric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *Br J. Pharmacol*, **140**, 1363-1372.
- 166. Enan E. E. 2005a.** Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **35**,309-321.
- 167. Roeder T. 1999.**Otopamine in invertebrates. *Progress Neurobiol*, **59**,533-561.
- 168. Enan E. E. 2001.**Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of olfaction. *Comp. Biochem. Physiol.* **130C**, 325 – 337.
- 169. Enan E. E. 2005b.** Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to essential oils. *Arch Insect Biochem. Physiol.*, **59**,161-171.
- 170. Huignard J., Lapied B., Dugravot S., Magnin-Robert M. et Ketoh K. G. 2008b.**Modes d'actions neurotoxiques des dérivés soufrés et de certaines huiles essentielles et risques liés à leur utilisation. In « *Biopesticides d'origine végétale*», 2ème Ed., 219-230.
- 171. Kostyukovsky M., Rafaeli A., Gileadi C., Demchenko N., Shaaya E. 2002.**Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants. *Pest Manag Sci*, **58**, 1101-1106.
- 172. Price D. N., Berry M. S. 2006.**Comparison of effects of octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut and dorsal unpaired median neurons of cockroaches. *J Insect Physiol*, **52**,309-319.
- 173. Cassier P., Lafont R., Deschamps M., Porchet M., Soyez D. 1997.** La reproduction des Invertébrés : Stratégies, modalités et régulation ; Intérêt fondamental et appliqué. Ed. Masson, 354 p.
- 174. Poitou F. (1996).** Composition of the essential oil of *Xylopiya aethiopicadried* fruits from Benin. *Journal of Essential Oil Research*, **8** (3): 329-330.
- 175. Ngamo T.L.S., Ngassoum M.B., Jirovertz L., Ousman A., Nukenine E. & Moukala O.E. (2001).**Protection of stored Maize against *Sitophilus zeamais*

(Motsch.) by use of essential oils of spices from Cameroon. *Medical faculty Landbouww University of Gent*, **66** (2a) : 473-478.

176. Jirovertz L., Buchbauer G., Puschmann C. & Ngassoum M.B. (2000). Investigations of aromatic plants from Cameroon: analysis of the essentials oils of flowers of *Hyptis spicigera* (Linn) Poit. By GC, GC/MS and *olfactometry*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, **3** (2): 71-77.

177. Baba Moussa F., Koumaglo K., Ayedoun A.K., Moudachirou M. & Bouchet P. (1997). Activité antifongique d'huiles essentielles extraites de différentes plantes du Bénin et du Togo. *Cryptogamie-Mycologie*, **18** (2) : 165-168.

178. Boakye Y., Fiagbe N.I.Y. & Ayim J.S.K. (1977). Antimicrobial properties of some West African medicinal plants IV- Antimicrobial activity of *Xylopic Acid* and other constituents of the fruits of *Xylophia aethiopica*(Annonaceae). *Llyodia*, **40** (6): 543-545.

179. Thomas O.O. (1989). Re-examination of the antimicrobial activities of *Xylophia aethiopica*, *Carica papaya*, *Ocimum gratissimum* and *Jatropha curcas*. *Fitoterapia*, **60** : 147-161.

180. Garry R.P., Chalchat J.C., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. & Chopineau J. (1997).Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. IV. Activity of some African essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, **9**: 67-75.

181. Amvam Zollo P.H., Biyiti L., Tchoumboungang F., Menut C., Lamaty G. & Bouchet P. (1998). Aromatic plants of tropical central Africa. Part XXXII. Chemical composition and antifungal activity of thirteen essential oils from Aromatic plants of Cameroon. *Flavour and Fragrance Journal*, **13**: 107-114.

182. Andriantsiferana M.H., Mananjarasoa E., Rakotovao M., & Ramanoelina A.R.P. (1998). Composition and antimicrobial activity of leaf oil *Pittosporum senacia* var. *Coursii Cufodontis*. *Journal of Essential Oil Research*, **10**: 459-462.

183. Tchoumboungang F. (1997). Contribution à la détermination des teneurs, des caractéristiques chimiques et des activités antifongiques des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques, condimentaires et médicinales du

Cameroun. Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, Cameroun, 270 p.

- 184. Pruthi J.S. (1980).** Spices and condiments: chemistry, microbiology and technology. Adv. Food Res. Suppl. 4, Academic Press, New-York (USA). 449 p.
- 185. Morten H., Tina M., and Rikke L. M. (2012).** Essential oils food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3 (12) : 1-24
- 186. Dubey K.N., Tiwari N.T., Mandin D., Andriamboavonjy H. & Chaumont J.P. (2000).** Antifungal properties of *Ocimum gratissimum* essential oil (ethyl cinnamate chemotype). *Fitoterapia*, **71**: 567-569.
- 187. Nakamura C.V., Nakamura T.U., Bando E., Melo A.F.N. & Cortze D.A.A. (1999).** Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. Essential oil. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz, Rio de Janeiro*, **94** (5) : 675-678.
- 188. Nguéfack J., Leth V., Amvam Zollo P. H. & Mathur B.S. (2004).** Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. *International Journal of Food Microbiology*, **94** (3): 329-334.
- 189. Onawunmi G.O., Yisak W.A. & Ogunlana. (1984).** Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Journal of Ethnopharmacology*, **12** (3): 279-286.
- 190. Seaman, D. (1990).** Trends in the formulation of pesticides: An overview. *Pesticide Science*, 29(4), 437. doi:10.1002/ps.2780290408
- 191. Boyetchko, S., Pedersen, E., Punja, Z., & Reddy, M. (1998).** Formulation of Biopesticides. In F.R. Hall & J.J. Menn (Eds.), *Biopesticides: Use and Delivery Methods in Biotechnology*. (pp. 487-508). Totowa, NJ: Humana Press.
- 192. Bale J., Masters G.J., Hodkinson I.D., Awmack C., Martijn B., brown V.K., Butterfield J., Buse A., Coulson J.C., Farrar J., Good J.E., Harrington R., Hartley S., Jones T.J., Lindroth R.L., Press M.C., Symrnioudis I., Watt A.D., Hittaker J.B., 2002.** Herbivory in global climate change research: Direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Global change biology* 8, 1-16.

- 193. chararas C., 1980.** Ecophysiology of insect parasites of forests. Ed. Ets Jacques Vadebourg, Paris. 297 p.
- 194. Banglous F. et Gausson H., 1957:** Les climats biologiques et leur classification. Annales de géographie 56^e année: 194-220, 8pl. de graphiques, Paris.
- 195. Castro-Díez, P., 1998 :** Variaciones estructurales y funcionales de los fanerófitos dominantes en las comunidades de encina a largo de un gradiente climático atlántico-mediterráneo. Doctoral Thesis. University of León.
- 196. Munné-Bosch, S., and Peñuelas, J., 2003.** Photo- and antioxidative protection during summer leaf senescence in *Pistacia lentiscus* L. grown under Mediterranean field conditions. Ann. Bot. 92, 385-391.
- 197. Benhammou, N., Bekkara, F.A., and Panovska, T.K., 2008.** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. Afr. J. Pharm. Pharmacol. 2, 022-028.
- 198. Coombes, A.J. 1992.** *Trees*. Dorling Kindersley, Ltd., London. 320 pp.
- 199. Milne-Redhead, 1990.** "The BSBI Black Poplar survey." *Watsonia* 18: 1-5.
- 200. Lucchesi John C., 2005.** Chromatin remodeling in dosage compensation. *Ann. Rev. Genetics* 39: 615-651.
- 201. Belyagoubi L., 2006.** Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Thèse de Magister. Univ Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Faculté des Sciences. Département de Biologie, 110p.
- 202. Moussaoui k., Ahmed H., Zitouni G. et Djazouli Z., 2014.** Université Blida1, faculté des sciences de la nature et de la vie, département de Biotechnologie institut technique des Elevages Route de Chebli Baba Ali.
- 203. Kawashty S.A., Mosharrafa S.A.M., El-Gibali M. et Saleh NAM. 2000.** The flavonoids of four *Pistacia species* in Egypt. *Biochem. Syst. Ecol*, 28: 915-917.
- 204. Ait Said S., 2011.** Strategies adaptatives de deux espèces du genre *Pistacia* (*P. lentiscus* L. et *P. atlantica* Desf.) aux conditions d'altitude, de salinité et d'aridité : approches morpho-anatomiques, phytochimiques et Ecophysiologiques, Université Mouloud Maamri de Tizi-ouzou, Algérie, 180p.

- 205. Hafsé M, Fikr, K i Benbrahim, Saidi ., and Abdellah F., 2013.** Volatile Components and Antibacterial Profile of Essential Oils Extracted from Leaves and Twigs of *Pistacia lentiscus* L. British Microbiology Research Journal 3(4): 602-611
- 206. Abi-Ayad M, Abi-Ayad F Z, Lazzouni H A, Rebiahi, S A, Ziani C, and Bessiere, 2011.** Chemical composition and antifungal activity of Aleppo pine essential oil. J Med Plants Res.; 22: 5436–5433.
- 207. Farah A, Satrani B, Fechtal M, Chaouch A, Talbi M., 2001.** Composition chimique et activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles d'Eucalyptus camaldulensis et son hybride naturel (clone 583). Acta Bot Gall.;148:190-183.
- 208. Amhamdi H., Aouinti F, Wathelet J.P. et Elbachiri A. , 2009.** Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco. University Mohamed I. Morocco, 3(2): 90–95.
- 209. Mekni N., 2011.** GC/MS Chemical Analysis of *Pistacia lentiscus* fatty oil from the north of Tunisia. Faculty of Sciences of Tunis, Tunisia, 3(4): 2245-.2248.
- 210. Zrira S., Elamrani A.A. et Benjilali B., 2003** Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Morocco-a seasonal variation. Flavour Fragr. J, 18: 475-480.
- 211. Congiu R., Falconieri D., Marongiu B., Piras A. et Porcedda S ., 2002.** Extraction and isolation of *Pistacia lentiscus* L. essential oil by supercritical CO₂ , Flavour Fragr. J, 17: 239-244.
- 212. Lecomte J., 1982** Cah. Liaison O-P-I-E., 16 (1)., 44, 17-20.
- 213. Hanson A.D., Nelson C.E., et Everson E.H., 1977.** Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two constating barley cultivars, Crop. Sci. 17 : 720-726.
- 214. Stewart G.R. et Lee J., 1974.** The role of proline accumulation in halophytes. Planta. 12 : 279-289.
- 215. Smith A.M., Stitt M. (2007)** Coordination of carbon supply and plant growth. Plant Cell Environment 30: 1126-1149.

- 216. Bieleski RL (1982)** Sugar alcohols. In: Plant Carbohydrates. I. Intracellular carbohydrates (FALoewus, W Tanner, eds) Encyclopedia of Plant Physiol, New series 13A, Springer-Verlag, Berlin, 158-192.
- 217. Bieleski RL, Redgwell RJ ,1977.** Synthesis of sorbitol in apricot leaves. Aust J Plant Physiol 4, 1-10.
- 218. Anderson JD, Andrews P, Hough L ,1962.** The biosynthesis and metabolism of polyols. II. The metabolism of 14 C-labelled glucose, D-glucuronic acid and D-glucitol (sorbitol) by plum leaves. Biochem J 84, 140-146.
- 219. Whetter JM, Taper CD ,1966.** Occurrence of sorbitol (D-glucitol) and certain related sugars in germinating seeds and developing seedlings of Malus. CanJ Bot 44, 51-55.
- 220. Bieleski RL, Redgwell RJ , 1977** Synthesis of sorbitol in apricot leaves. Aust J Plant Physiol 4, 1-10.
- 221. Grant CR, ap Rees T, 1981.** Sorbitol metabolism by apple seedlings. Phytochemistry 20, 1505-1511.
- 222. Escobar-Gutiérrez AJ , 1995.** Photosynthèse, partition du carbone et métabolisme du sorbitol dans les feuilles adultes de pêcher (*Prunus persica* (L) Batsch). Thèse de docteur de l'université de Poitiers, France