



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCINTIFIQUE

UNIVERSITE BLIDA-1-

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie des Populations et des Organismes

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention d'un diplôme de Master en biologie

Option : biodiversité et physiologie végétale

Intitulé

**Etude de la variabilité histologique, phytochimique et  
essais préliminaires de l'activité phytopathologique de  
l'*Eucalyptus globulus* de deux régions différentes  
d'Algérie.**

Présenté par

**NADJI Chahrazed**

Devant les jurys :

<b>Mme Touaibia. M</b>	Maitre de conférences A	USDB	Présidente
<b>Mme Zerkaoui. A</b>	Maitre assistante A	USDB	Examinatrice
<b>Mme Benassel. N</b>	Maitre assistante A	USDB	Promotrice

**Année Universitaire 2019-2020**

# Remerciement

Je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage pour persévérer et réaliser ce modeste travail.

J'exprime ma profonde gratitude et mes remerciements à ma promotrice **Mme Benassel N**, pour ces précieux conseils et les orientations donnés lors de la réalisation de ce travail.

Je remercie très sincèrement les honorables membres de jury :

**Madame Touaibia M**, maitre de conférences A à la faculté des sciences de la nature et de la vie Blida 1, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

**Madame Zerkaoui A**, maitre assistante A à la faculté des sciences de la nature et de la vie Blida 1, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Je saisis l'occasion pour exprimer ma gratitude à tous mes enseignants pendant tous mon parcours universitaire, en particulier ceux de la spécialité de biodiversité et physiologie végétale, qui ont contribué à ma formation.

# Dédicaces

C'est avec un très grand honneur je dédie ce modeste travail :

À mes chers **parents**, sans vous je ne serais pas là, pour tout votre amour et votre soutien, si précieux, pendant toutes ces années, et encore aujourd'hui, et encore demain pour l'enfance merveilleuse que vous m'avez donnée et à laquelle il ne manquait rien.

À mon père, en témoignage de ma reconnaissance envers le soutien, les sacrifices et les efforts qu'il m'a témoigné tout le long de mes études.

À ma source de bonheur, ma mère qu'elle était toujours là pour moi.

Que le bon ALLAH vous garde pour moi en bonne santé.

Comment vous dire merci.....

Avec tout mon amour, et toute ma reconnaissance.

À mon cher frère **Tarek** (Allah yerahmo), pour leur encouragement et leur soutien qu'Allah le récompense.

Mes chères sœurs **Wiem** et **Lamia**, mon fiancé **Ilyes** pour leurs affection, tendresse et soutien moral.

À mes petits chers : **Abd el illah, Iyad, Maram, Maria, Tarek** et **Mohamed Anes**.

À toute ma famille.

À tout ce qui m'on aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail qui ne serait que par leur humble présence.

*Chahrazed*

# Table des matières

Remerciements

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Glossaire

Résumé

Abstract

الملخص

Introduction.....	1
I-Généralités.....	3
I-1-Généralités sur l'eucalyptus .....	3
I-1-1-Description botanique de l'espèce <i>Eucalyptus globulus</i> .....	3
I-1-1-1-Appareil végétatif.....	3
I-1-1-2-Appareil reproducteur.....	4
I-1-2-Systématique.....	5
I-1-3-Répartition géographique.....	6
I-1-4-Usage et intérêt.....	7
I-1-5- Composition chimique.....	7
I-2-Généralités sur les métabolites secondaires.....	8
I-2-1- Les composés phénoliques.....	8
I-2-2- Les composés terpéniques.....	8
I-2-3- Les alcaloïdes.....	9
I-3-Généralités sur les huiles essentielles.....	9
I-4-Généralités sur les tissus des végétaux.....	9
I-4-1- les tissus primaires.....	9
I-4-2- les tissus secondaires.....	10
I-5-Généralités sur les bios pesticides.....	10
II- Matériel et méthodes.....	11
II-1- Matériel végétal.....	11
II-2- Méthodes.....	11
II-2-1- Technique d'étude histologique.....	11

II-2-2- Caractérisation phytochimique de la plante.....	12
II-2-2-1- Extraction de l'huile essentielle par hydro distillation.....	12
II-2-2-2-Analyse par CG/MS.....	14
II-2-3- Essais préliminaires de l'activité bio insecticide.....	16
<b>III- Résultats et discussions.....</b>	<b>17</b>
III-1- Résultats de l'étude histologique.....	17
III-2- Résultats de l'étude phytochimique.....	20
III-2-1- Rendement en huile essentielle.....	20
III-2-2- Analyse par CG MS.....	21
III-3- Résultats de l'activité bio insecticide.....	23
<b>Conclusion.....</b>	<b>26</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>27</b>

## Liste des abréviations

**HE** : huile essentielle.

**CG/MS** : la chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de base.

**FAA** : formaline-acide acétique-alcool.

**R** : le rendement.

**M %** : la mortalité.

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Répartition des Eucalyptus à travers le monde .....	07
Tableau 2 : la comparaison morpho-anatomique de deux espèces d'Eucalyptus .....	18
Tableau 3 : La composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> d'Ain defla extraite par distillation à la vapeur .....	20
Tableau 4 : La composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> de Tizi-Ouzou extraite par distillation à la vapeur .....	21
Tableau 5 : L'effet d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur l'insecte <i>Callosobruchus maculatus</i> et la germination des graines de <i>Vigna.unguiculata</i> .....	22

## Liste des figures

Figure 1 : l'écorce d' <i>Eucalyptus globulus</i> (originale) .....	04
Figure 2 : fleurs d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	04
Figure 3 : fruits d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	05
Figure 4 : Schéma d'un dispositif d'extraction par hydrodistillation des huiles essentielles à l'aide d'un appareil de type Clevenger .....	13
Figure 5 : Distillateur conventionnel (SAIDAL 2011).....	14
Figure 6 : Epiderme des feuilles chez l'eucalyptus [microscopie optique; teinté à la safranine].....	19
Figure 7 : Anatomie de l'eucalyptus - épiderme en vue de surface (microscopie électronique à balayage).....	19



## Glossaire des termes scientifiques

**Anisocytique** : terme qualifiant un stomate dont les cellules de garde sont entourées par trois cellules épidermiques annexes de tailles différentes (**Dali Yahia, 2017**).

**Anomocytique** : terme qualifiant un stomate dont les cellules de garde sont entourées par des cellules épidermiques annexes sans morphologie particulière (**Dali Yahia, 2017**).

**Anticlinal** : Un anticlinal est une forme de pli dessinant une bosse convexe tournée vers le haut. Dans un anticlinal, les pentes des flancs dupli divergent de part et d'autre de sa charnière de plissement (**François, 2016**).

**Cire épicuticulaire** : La cuticule des plantes et des insectes est couverte par une cire épicuticulaire, constituée de composés appartenant à un vaste groupe de substances lipophiles, qui diminue la mouillabilité de la surface et réduit la perte d'humidité (**Jean-François et al., 2012**).

**cuticule** : est un très mince film hyalin de substances grasses (comme une cire) qui recouvre la surface de nombreuses feuilles, tiges, fruits et autres organes végétaux, empêchant la dessiccation (**Jean-François et al., 2012**).

**Feuille amphis-stomatique** : qualifie une plante dont les feuilles (et de la plante) portent des stomates sur ses deux faces (**Jean-François et al., 2012**).

**Hypostomatique** : se dit quand les stomates sont situés uniquement sur la face inférieure (**Jean-François et al., 2012**).

**Intumescence** : consiste en l'augmentation d'un volume, un gonflement par lequel une chose enfle. Typiquement, une vague provoque une intumescence de la surface de l'eau (**Jean-François et al., 2012**).

**Papille** : est primitivement une petite saillie charnue, une petite structure proéminente à la surface d'une muqueuse, ou plus précisément une cellule épidermique faisant une légère saillie et conférant à l'organe un aspect velouté ou rugueux. Les pétales d'une fleur ont des papilles, ce qui confère à ces derniers une texture soyeuse (**Jean-François et al., 2012**).

**Stomate** : orifice de petite taille présent dans l'épiderme des organes aériens des végétaux permettant les échanges gazeux entre la plante et l'air ambiant, ainsi que la régulation de la pression osmotique (**Dali Yahia, 2017**).

## Résumé

La présente étude est basée sur les travaux de recherches antérieures. Elle vise à déterminer la variabilité histologique, phytochimique et le pouvoir bio pesticide (activité bio insecticide) de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus* originaire de deux régions différentes d'Algérie.

L'analyse histologique des feuilles de l'*Eucalyptus globulus* comparée à l'*Eucalyptus grandis* a montrée une différence dans la forme et la taille des stomates.

La composition chimique de l'huile essentielle extraite à l'aide d'un distillateur de type Clevenger a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). Les résultats ont révélé que le rendement en huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* de Tizi-Ouzou (0.48%) est important que celui d'Ain defla (0.2%).

Le composant majoritaire (1,8-cineole) est le même dans les 2 échantillons de l'HE des 2 régions mais il existe une différence dans les composants de chaque huile essentielle comme le Cis-Carveol et Carene-4-ol sont présents dans l'H.E d'Ain defla est absent chez celle de Tizi-Ouzou, 4-Carbomethanol et  $\alpha$ -terpinène sont présents dans l'H.E de Tizi-Ouzou est absents chez l'H.E d'Ain defla.

L'évaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur les insectes *Callosobruchus maculatus*, a révélé un effet anti- appétissant intéressant. Cette étude préliminaire a montré que l'huile *Eucalyptus globulus* à une toxicité élevée vis-à-vis de ces insectes étudiés.

**Les mots clés :** *Eucalyptus globulus*, Huile essentielle, GC-MS, histologie, insecticide.

## Abstract

This study is based on the work of previous research. It aims to determine the histological and phytochemical variability and the bio-pesticidal power (bio-insecticidal activity) of the essential oil of *Eucalyptus globulus* originating from two different regions of Algeria.

Histological analysis of the leaves of *Eucalyptus globulus* compared to *Eucalyptus grandis* showed a difference in the shape and size of the stomata.

The chemical composition of the essential oil extracted using a Clevenger type distiller was analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). The results revealed that the yield of *Eucalyptus globulus* essential oil from Tizi-Ouzou (0.48%) is higher than that of Ain defla (0.2%).

The major component (1,8-cineole) is the same in the 2 samples of EO from the 2 regions but there is a difference in the components of each essential oil as Cis-Carveol and Caren-4-ol are present in the EO of Ain defla is absent in that of Tizi-Ouzou, 4-Carbomethanol and  $\alpha$ -terpinene are present in the EO of Tizi-Ouzou is absent in the EO of Ain defla.

Evaluation of the insecticidal activity of the essential oil of *Eucalyptus globulus* on the insects *Callosobruchus maculatus*, revealed an interesting anti-appetite effect. This preliminary study has shown that *Eucalyptus globulus* oil has a high toxicity towards these studied insects.

**Key words:** *Eucalyptus globulus*, Essential oil, GC-MS, histology, insecticide.

## ملخص

تعتمد هذه الدراسة على عمل بحث سابق يهدف إلى تحديد التباين النسيجي والكيميائي النباتي وقوة المبيدات الحيوية (نشاط مبيد الحشرات الحيوي) للزيت الأساسي للأوكالبتوس الكروي المنشأ من منطقتين مختلفتين من الجزائر. أظهر التحليل النسيجي لأوراق الأوكالبتوس الكروي مقارنة بأوكالبتوس غرانديز اختلافًا في شكل وحجم الثغور. تحليل التركيب الكيميائي للزيت الأساسي المستخرج باستخدام جهاز تقطير من نوع كليفينجر تم بواسطة كروماتوجرافيا الغاز إلى جانب قياس الطيف (ك-غ- ق ك). أوضحت النتائج أن محصول الزيت الأساسي من أوكالبتوس تيزي وزو (0.48%) أعلى من محصول أوكالبتوس عين الدفلى (0.20%). المكون الرئيسي (1,8- سينبول) هو نفسه في العينتين ولكن هناك اختلاف في مكونات كل زيت أساسي حيث يوجد سيس-كارفيول وكارين-4-اول في عينة عين الدفلى و غير موجودتين في عينة تيزي وزو ، أما 4-كاربوميثانول و  $\alpha$ - تربينين فهما موجودتين في الزيت الأساسي لعينة تيزي وزو و غائبة في الزيت الأساسي لعينة عين الدفلى. أظهر التقييم أن فعالية المبيدات الحشرية للزيت الأساسي للأوكالبتوس الكروي على حشرات كالوسوبروشس ماكولاتوس له تأثير مضاد للشهية مثير للاهتمام . فيما أظهرت الدراسة الأولية أن زيت الأوكالبتوس ذو سمية عالية تجاه هذه الحشرات المدروسة.

**الكلمات المفتاحية:** أوكالبتوس كروي، زيت أساسي ،(ك-غ- ق ك) ، علم الأنسجة ، مبيد حشري.

# ***INTRODUCTION***

## **Introduction**

Selon **Joyarad (2020)**, la biodiversité veut dire la diversité biologique qui concerne l'ensemble des êtres vivants, les interactions qu'ils ont entre eux et avec le milieu où ils vivent. Tous les niveaux d'organisation du vivant sont concernés : cela va du gène à l'individu, puis à l'espèce en interaction étroite avec les milieux où ils se trouvent et avec les espèces qui l'entourent, et en particulier les écosystèmes.

La variabilité des plantes cultivées se définit par la variance des caractéristiques génétiques et phénotypiques des plantes. On peut distinguer deux composants de cette diversité, qui sont d'une part la diversité intra-spécifique, résultant de la variabilité génétique au sein d'une même plante cultivée, et la diversité inter-spécifique, résultant du nombre des espèces couramment cultivées.

Il existe une différence entre deux espèces appartenant au même genre ou deux plantes appartenant à la même espèce et cela est dû aux facteurs biotiques comme la symbiose, concurrence, parasitisme...etc. Et facteurs abiotiques tels que la composition du sol, la lumière la température, l'altitude...etc.

Cependant, deux plantes appartenant à la même espèce qui vivent dans deux biotopes différents, peuvent présenter des différences morphologiques, anatomiques, phytochimiques etc.

A cet effet, que nous nous sommes intéressées à l'étude de l'*Eucalyptus globulus* provenant de deux régions différentes d'Algérie.

Le but initial de ce travail, est de chercher une éventuelle variabilité anatomique, phytochimique et faire des tests préliminaires concernant l'activité bio insecticide de l'eucalyptus.

Vu la situation actuelle et les difficultés rencontrées pour réaliser l'étude expérimentale, nous avons orienté notre travail vers une étude théorique. Nous nous sommes basées sur des travaux de recherche qui vont dans le sens de notre objectif (**Boukhatem et al., 2014 ; Taleb-Toudert, 2015 et Migacz et al., 2018**).

Cette étude s'articule sur trois chapitres dont le premier concerne les généralités sur la plante étudiée, les métabolites secondaires, les H.E, les tissus des végétaux et les bios insecticides, Le deuxième chapitre sur le matériel et méthodes. Le troisième chapitre est réservé aux

résultats et discussions. Ce document est clôturé par une conclusion et des références bibliographiques.

# ***GÉNÉRALITÉS***



## **chapitre1 : Généralités**

### **I.1. Généralités sur la plante « *Eucalyptus globulus* »**

C'est un très bel arbre de 30 à 35m. Il peut atteindre jusqu'à 100m de haut dans son milieu naturel (**ghedira et al., 2008**). L'arbre fut découvert en 1792 par Labillardiere en Tasmanie. Le baron Ferdinand Von Muller, directeur du Botanical Gardens de Melbourne, fit connaître ses qualités médicinales. Gimbert signala que l'eucalyptus était propre à assainir les régions marécageuses là où il était planté et qu'il désinfectait l'atmosphère par son essence volatile. La région d'Alger fut désinfectée par la plantation d'eucalyptus. On vérifia son effet anti malarique en permettant la disparition de moustiques en Campanie (Italie), en Sicile, en Sardaigne et au lac Fezara en Algérie.

#### **I.1.1. Description botanique**

##### **I.1.1.1.Appareil végétatif**

- Les feuilles jeunes sont sessiles, ovales, disposées horizontalement de forme rondes, de couleur bleuâtre puis vert blanchâtre. Elle mesure de 10 à 15 cm de long sur 4 à 8 cm de large, tandis que les feuilles adultes sont alternes, pétiolées, étroites, allongées, pointues, de couleur vert glauque (vert bleuté) et mesure de 16 à 25cm de long sur 2 à 5 cm de large (**Ait Youssef ,2006**)
- Le tronc comprend une écorce à la base foncée et rugueuse et, en hauteur, lisse, gris cendré (figure 1), laissant s'exfolier son épiderme en longs lambeaux souples et odorantes ; il possède également des lenticelles gorgées de gomme plasmique et un bois rouge.



**Figure 1** : l'écorce d'*Eucalyptus globulus*.

#### I.1.1.2. Appareil reproducteur

- Les fleurs naissant à l'aisselle des feuilles et sont de couleur blanc crème(en bouton de couleur blanc-bleu), solitaires, mellifères, relativement larges. La base se sépales adhère à l'ovaire infère ; le calice et la corolle sont soudées : les sépales forment les quatre arêtes d'une urne (ou toupie) coriace à quatre pans dont le couvercle caduc (ou coiffe) et formé de quatre pétales concrescents (opercule). L'ovaire a trois, quatre ou cinq loges et est prolongés par un style unique et un stigmate en bouton ; il est tapissé d'un tissu nectarifères brun roux, et sa paroi renferme des poches d'essence aromatique (**ghedira et al., 2008**).



**Figure 2 :** fleurs d'*Eucalyptus globulus*.

- Le fruit ligneux mesure 1,5 à 2,5 cm de diamètre. C'est est une grosse capsule glauque prenant une teinte marron à maturité, dure, anguleuse, verruqueuse et s'ouvrant légèrement par trois, quatre ou cinq fentes (qui dessinent une étoile à son sommet) pour libérer nombreuses graines sombres et minuscules (figure 3).



**Figure3 :** fruits d'*Eucalyptus globulus* (Pietro, 2015).

### **I.1.2. systématique**

D'après Goetz et Ghedira (2012), l'espèce *Eucalyptus globulus* est classée comme suit :

- **Règne:** Plantae

- **Sous-règne** : Tracheobionta
- **division**: Magnoliophyta
- **Classe** : Dicotylédones
- **Ordre** : Myrtales
- **Famille** : Myrtaceae
- **Genre** : *Eucalyptus*
- **Espèce**: *Eucalyptus globulus* (Labill.)

**Etymologie** : Le nom « eucalyptus » du grec « eu » qui signifie « bon » ou « bien » et de « kalypto » qui signifie « couvrir », car les pétales et sépales sont soudés. Le nom commun de « gommier » fait allusion à la gomme résineuse rouge qu'ils exsudent quand ils sont blessés (Lis-Blachin, 2006 ; Louppe, 2008).

Diverses appellations ont été attribuées à l'*E. globulus*. Nous citerons quelques unes :

En français : eucalyptus officinal ; gommier bleu ; arbre à fièvre ; arbre au koala (Ait Youssef, 2006).

En arabe : kalibtous, kritus, kalitus.

En targui ou berbère : calitous.

En anglais : australien Fever tree ; bleu gum tree ; tasmanian bleugum (Goetz et Ghedira, 2012).

### I.1.3. Répartition géographique

#### ❖ En Algérie

Selon Goatz et al., (2012), la plantation massive d'arbres à base d'eucalyptus à eu pendant les années 60 à 70. Les espèces *E. globulus*, *E. camaldulensis*, *E.*

*gomphocephala*, sont les plus répandues dans la région méditerranéenne. En Algérie à l'Est de (El-kala, Annaba, Skikda), le centre (Tizi-Ouzou, Bainem) et l'Ouest (Mostaganem) et ceci afin de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et papetiers.

#### ❖ À travers le monde

La répartition des Eucalyptus à travers le monde selon (Warot, 2006), est représentée dans le tableau ci dessous.

**Tableau 1** : Répartition des Eucalyptus à travers le monde, (Warot, 2006).

Les pays	Nombre de pays	Surface (10 <sup>3</sup> Ha)
Afrique	37	1513
Amérique centrale	7	54
Amérique du sud	13	6200
Asie	12	4737
Méditerranée	7	961
Pacifique	3	183

#### I.1.4. Usage et intérêt

Cette plante est déjà utilisée par les aborigènes d'Australie pour traiter les infections, contient une huile essentielle aujourd'hui employée presque partout dans le monde pour soigner la toux, les rhumes (Kothe, 2007).

Ses feuilles constituent un bon remède contre la rhinite, la sinusite, la bronchite ou encore l'état grippal. L'eucalyptus peut être utilisé pour la désinfection des plaies (Goetz et Ghedira, 2012).

Dans son continent d'origine, l'Australie, l'eucalyptus fournit la nourriture exclusive du koala, un de leurs animaux fétiches, et selon Erau, (2019), il est utilisée dans la décoration car c'est une plante ornementale.

L'eucalyptus était propre à assainir les régions marécageuses là où il était planté et qu'il désinfectait l'atmosphère par son essence volatile, on vérifia son effet anti malarique en permettant la disparition des moustiques, il est considérés aussi comme antispasmodiques antipyrétique, antalgiques des Céphalées. (Ghedira et al., 2008).

Selon Naik et al-Khayri, (2016) l'eucalyptus exerce une activité anti oxydantes.

### **I.1.5. Composition chimique**

L'essence d'eucalyptus est extraite par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles sèches (adultes plus riche en huile) ou encore des tiges terminales fraîches. Le rendement de l'opération d'extraction de l'HE varie de 1 à 3% (**Louppe, 2008**).

Il existe plus des centaines de variétés d'eucalyptus, et toutes ne possèdent pas les mêmes composants. Cependant, il ya certains composants qui reviennent dans la majorité des cas, et ceux-ci sont bien souvent ceux qui sont à l'origine des bienfaits que l'on attribue à l'eucalyptus.

Parmi ces composés, le cinéol ou eucalyptol (70% à 80%) est sans doute le plus connu car il est un expectorant, peut soulager la toux, et lutter contre les problèmes des voies respiratoires. Les autres constituants de cette HE sont très divers, nombreux et minoritaires. Pinène, limonène, et au moins 250 autres composés dont citronellal, cryptone, pipéritone viendront étoffer la liste des nombreux composés aux vertus médicinales de l'eucalyptus (**Batish et al., 2008; Leicach et al., 2012; silvant, 2015**).

L'eucalyptol ou le 1.8 cineole c'est le composé majoritaire avec une concentration de 70 à 85% (**song et al., 2009**) et celui là c'est ce qu'on appel le chémotype qui est responsable de la diversité.

### **I.2.Généralités sur les métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont des composés de faible masse moléculaire (<1000 Da généralement) qui ne jouent pas un rôle fondamental pour les plantes comme les métabolites primaires, mais qui sont impliqués dans l'adaptation des plantes à leur environnement, notamment dans les interactions biotiques (**Ramakrishna et Ravishankar, 2011 ; Naik et al-Khayri, 2016**). Connus comme principes actifs pour la production de médicaments, d'additifs alimentaires et d'aromes, ou de parfums, ils contribuent notamment à la formation des odeurs et des couleurs chez les plantes (**Ramakrishna et Ravishankar, 2011 ; Murthy et al., 2014**). Ils pourraient par exemple fournir aux plantes des avantages dans la survie en les protégeant des stress biotiques ou abiotiques, en améliorant la disponibilité des éléments nutritifs, en agissant comme mécanisme de défense métabolique, ou en améliorant les interactions compétitives avec d'autres organismes (**Breitling et al., 2013**).

Il existe trois classes principales :

#### **I.2.1. Les composés phénoliques**

L'élément fondamentale structurale qui caractérise les phénols est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (**Bruneton, 2009**).



La structure de base du phénylpropanoïde est un cycle phényle avec une chaîne latérale de trois atomes de carbone attachée C6-C3 (**Browsher *et al.*, 2008**).

### **I.2.2. Les composés terpéniques**

Les terpènes sont décrits comme des composés qui sont essentiellement des constituants d'une huile essentielle et qui contiennent des atomes de carbone et d'hydrogène avec ou sans oxygène. Ils ont reçu un intérêt considérable pour l'administration dermique et transdermique de médicaments ayant un large éventail de propriétés physico-chimiques (**Pandit *et al.*, 2015**).

### **I.2.3. Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont un groupe très divers de composés qui contiennent une structure cyclique et un atome d'azote. Dans la plupart des cas l'atome d'azote est situé à l'intérieur de la structure hétérocyclique (**Jin-Jian *et al.*, 2012**).

Parmi eux, les poly phénols constituent une vaste diversité de composés bioactifs impliqués dans de nombreux processus d'interactions biotiques depuis la symbiose jusqu'à la résistance aux maladies (**Cheyrier et comte, 2013**). Ils sont définis comme des « dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique et/ou de celui d'un poly acétate » (**Bruneton, 2009**).

## **I.3. Généralités sur les huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont des substances odorantes, volatiles, huileuses, de nature hydrophobe totalement solubles dans les alcools, l'éther, les huiles végétales et minérales. Lorsqu'elles sont pures et naturelles, elles contiennent aucun corps gras et uniquement constituées de molécules aromatiques volatiles, liquides à températures ambiante, de consistance huileuse mais non grasse, leur densité est inférieure à celle de l'eau à l'exception de quelques cas (cannelle et girofle), volatiles, insolubles dans l'eau rarement colorées, et elles conviennent de les conserver à l'abri de l'air et de la lumière (**Duval, 2012**).

## **I.4. Généralités sur les tissus des végétaux**

Ils sont divisés en 2 :

### **I.4.1. Les tissus primaires**

Ils sont issus du méristème primaire. On distingue les tissus suivants :

- Les tissus de protection et de revêtements : on a l'épiderme qui est une assise continue des cellules qui recouvrent les rameaux feuillés (tiges et feuilles) (**Roland *et al.*, 2008**).
- Les parenchymes: sont les tissus de remplissage présents dans tous les organes de la plante (**Roger, 2007**).

- Pour la racine, il ya 3 types de tissus de revêtement l'assise pilifère, l'assise subéreuse et le suberoïde.
- Les tissus de soutien : ils assurent la souplesse et la rigidité aux organes de la plante (**Roger, 2007**). Il existe deux types, le collenchyme et le sclérenchyme.
- Les tissus conducteurs (xylème et phloème) ou tissus vasculaires : ils forment le système vasculaire qui assure les corrélations entre les différentes parties de la plante (**Roland et al., 2008**). Le xylème assure la circulation de la sève brute et le phloème assure le transport de la sève élaborée.
- Les tissus sécréteurs: extrêmement variables dans leurs aspect et dans leur rôle, ces tissus n'interviennent pas directement dans l'architecture simple du végétal et élaborent des substances chimiques, produits normaux du métabolisme, mais qui sont généralement considérés comme des substances de déchet (**Yves et al., 2005**).

#### **I.4.2. Les tissus secondaires**

Ils sont issus de deux méristèmes secondaires : Le cambium et le phellogène.

Le Phellogène donne les tissus protecteurs (le suber ou le liège et le phelloderme) et le cambium donne les tissus conducteurs (le bois et le liber). Le méristème secondaire apparait après les méristèmes primaires. Il assure la croissance en épaisseur, donne les tissus secondaires qui constituent la structure secondaire (**Laberche, 2010**).

Selon **Naik et al-Khayri (2016)** l'eucalyptus exerce une activité anti oxydantes.

#### **I.5.Généralités sur les bio pesticides**

Selon **Impion, (2011)** le bio pesticide est un mot formé par un préfixe « bios » qui signifie « vie » en grec et « pesticide » qui veut dire « tuer les insectes ,les champignons et les parasites ». Ce qui veut dire que les bio-pesticides s'inscrivent dans la lutte contre les organismes fléaux et sont basés sur l'utilisation d'agents ou facteurs liés à la vie. Un bio pesticide se définit comme tout produit de protection des plantes à base d'organismes vivants ou substances extraits d'organismes vivants.

Actuellement, on rapporte que 121 espèces de plantes possèdent des propriétés de lutte antiparasitaire; un total de 1005 espèces identifiées, présentent des propriétés insecticides, 384 avec des propriétés anti-appétissantes, 397 possédant des propriétés répulsives, 27 avec des propriétés attractives et 31 avec des propriétés de stimulateurs de croissance (**constant, 2009**).



**MATÉRIELS**

**ET**

**MÉTHODES**

## **Chapitre2 : matériels et méthodes**

### **II.1.Technique d'étude histologique**

En raison du manque des travaux sur l'histologie de l'Eucalyptus en Algérie et vu la situation actuelle, nous nous sommes inspirées de l'étude histologique et anatomique de deux espèces d'Eucalyptus originaires du Brésil à savoir *E. grandis* W. Hill, et *E. globulus* Labill. Publié dans l'article de **Migacz et al.,(2018)**.

#### **Matériel**

Pour les études anatomiques, des échantillons de feuilles ont été prélevés sur des plantes âgées de 12 mois. Au moins six échantillons de feuilles matures et jeunes ont été prélevés sur chaque espèce et utilisées pour des analyses microscopiques.

#### **Méthodes**

##### **II.1.1. Préparation des échantillons pour la microscopie optique**

Les feuilles ont été fixés dans une solution de formaline-acide acétique-alcool (FAA) (**Johansen, 1940**) pendant 7 jours et lavés dans de l'eau distillée puis stockés dans du éthanol à 70%(v/v) (**Berlyn et Miksche, 1976**). Des coupes transversales du limbe ont été préparées à main levée à l'aide de lames de rasoir. Les coupes ont été hydratées et colorées avec du bleu de toluidine (**O'Brien et al., 1964**) ou doublement colorées avec la fuchsine basique et du bleu d'Astra (**Roeser, 1972**). Les coupes ont ensuite été montées sur des lames de verre dans une goutte de glycérine solution. (50% dans l'eau). Pour l'analyse des caractères épidermiques des feuilles, les spécimens des feuilles ont été éliminés en les plongeant dans une solution commerciale de blanchiment (2,5% d'hypochlorite de sodium) jusqu'elles deviennent transparentes. Ensuite, les échantillons ont été immergés brièvement dans une solution d'acide acétique diluée, lavés avec de l'eau et filtrés dans la safranine (**Fuchs, 1963**). Les échantillons préparés ont été observés et des photomicrographies ont été préparées en utilisant un microscope Olympus CX31 équipé d'un appareil photo numérique Olympus C-7070. La terminologie de **Brathlott et al .,(1998)** a été utilisé pour décrire les cires épicuticulaires.

##### **II.1.2.L'analyse histochimique**

Des solutions standard de chlorure ferrique (**Johansen, 1940**) et de dichromate de potassium (**Gabe, 1968**) ont été utilisées pour détecter la présence de composés phénoliques; phloroglucinol / HCl pour identifier les tissus lignifiés (**Sass, 1951**); une solution d'iode pour

colorer l'amidon (**Berlyn et Miksche, 1976**) et soudan III a été utilisée pour détecter les composés lipophiles (**Foster, 1949**).

## **II.2. Caractérisation phytochimique de la plante**

Pour l'étude de la variabilité phytochimique, nous nous sommes basées sur les travaux de (**Boukhatem et al., 2014**) sur l'*Eucalyptus globulus* de d'Ain-Defla. , et ceux (**Taleb-Toudert ,2015**) sur l'*Eucalyptus globulus* de la willaya de Tizi-Ouzou.

### **Matériel**

- ***Eucalyptus globulus* de la willaya d'Ain-Defla**

Des feuilles d'*Eucalyptus globulus* Labill., ont été récoltées dans la partie Est de Ain-Defla (ville de Hammam Righa), en mars 2012, à partir d'un seul site de collecte. Les feuilles ont été séchées à l'air à l'ombre à température ambiante, à l'abri de la lumière directe, jusqu'à une analyse plus approfondie. L'identité du spécimen végétal a été confirmée au Département de botanique de l'Institut national d'agronomie (Alger, Algérie) (**Boukhatem et al., 2014**).

- ***Eucalyptus globulus* de la willaya de Tizi-Ouzou**

La matière végétale utilisée pour l'extraction des huiles essentielles, sont des feuilles de l'*Eucalyptus* qui ont été récoltées en juin 2011, dans la willaya de Tizi-Ouzou (au village Oumaden) au Nord d'Algérie (**Taleb-Toudert ,2015**).

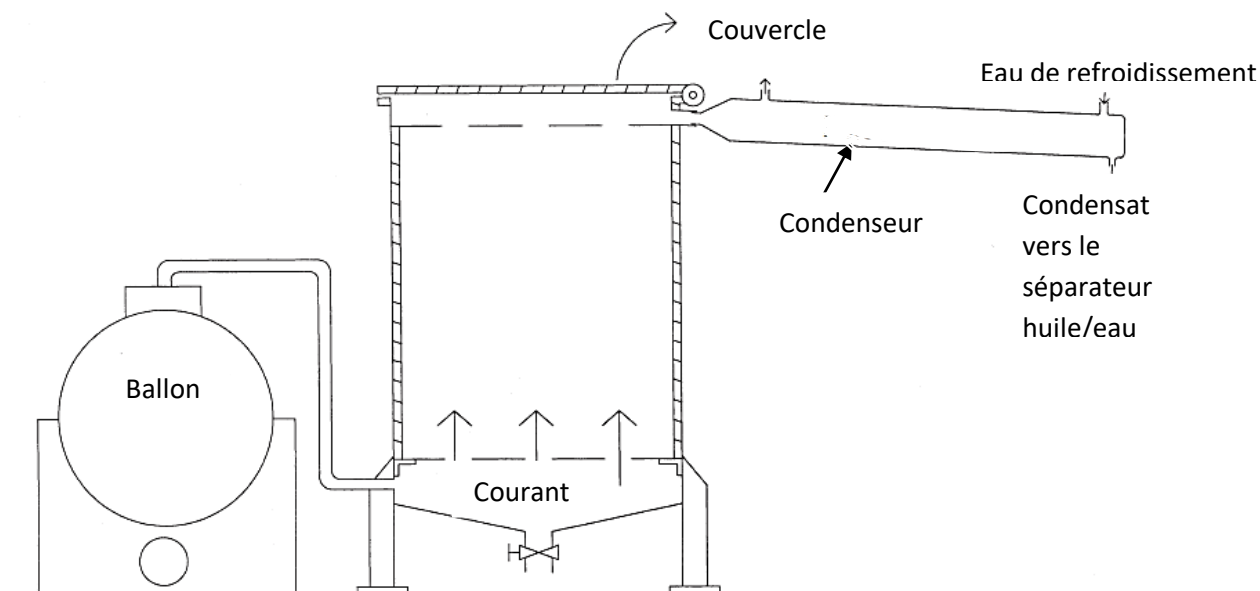
### **Méthodes**

#### **II.2-1. Extraction d'huile essentielle**

- ***Eucalyptus globulus* de la willaya d'Ain-Defla**

L'huile essentielle d'eucalyptus a été distillée à partir des parties aériennes des plantes par hydrodistillation. La quantité totale de plante fraîche utilisée variait de 600 à 700 kg. Le matériel végétal était encombré dans l'alambic et disposé en couches pour permettre une distribution appropriée de la vapeur. Le processus consiste à faire passer de la vapeur d'eau à basse pression à travers un réservoir (appelé alambic) rempli de plantes aromatiques. La vapeur capture évidemment les saveurs volatiles qui sont enfermées dans la plante, qui voyagent ensuite à travers une serpentine réfrigérée à l'eau froide et se condensent en un liquide. Le distillat aura un mélange de vapeur d'eau et d'HE qui reviennent à leur forme liquide dans le récipient de condensation et sont séparés à l'aide d'un ballon florentin. L'HE et

l'eau appelée eau florale ou hydrolat sont conservées. La figure 4 suivante résume le processus de distillation à la vapeur.



**Figure 4** : Schéma d'un dispositif d'extraction par hydrodistillation des huiles essentielles à l'aide d'un appareil de type Clevenger.

Les huiles ont été séchées sur sulfate de sodium et stockées dans des bouteilles en verre brun propres, et conservées dans une chambre à température contrôlée, jusqu'au moment de leurs analyses. La teneur en huile de l'*Eucalyptus globulus* a été déterminée en pourcentage de rendement en huile qui a été calculé en pourcentage du rapport du poids de l'huile au poids des feuilles d'eucalyptus (Boukhatem *et al.*, 2014).

- ***Eucalyptus globulus* de la willaya de Tizi-Ouzou**

Les feuilles des espèces végétales utilisées sont découpées en petits morceaux pour faciliter leur introduction dans un ballon en verre de 2 l, rempli d'eau jusqu'aux 2/3 de sa capacité. L'eau est ensuite chauffée dans le chauffe ballon jusqu'à ébullition, ce qui entraîne la formation d'une vapeur qui va entraîner les constituants volatiles (Figure 5). Ces vapeurs s'élèvent et passent dans le réfrigérant qui est constamment refroidi à une température comprise entre 15°C et 18°C.



**Figure 5 :** Distillateur conventionnel (SAIDAL 2011).

Une température basse, favorise la formation de cristaux dans le réfrigérant, ce qui pourrait freiner l'éclatement des gouttelettes d'eau. Lorsque la température est trop élevée, le phénomène de condensation ne se réalise pas.

Au contact des parois du réfrigérant, les vapeurs chaudes se condensent et s'écoulent au goutte à goutte dans un récipient où elles forment le distillat. Ce dernier est un mélange de deux phases non miscibles (huiles essentielle + eau) qui seront séparées par extraction liquide-liquide (décantation), au moyen d'un solvant organique (de l'éther diéthylique dans notre cas). L'huile essentielle primaire récupérée est mélangée à l'éther diéthylique (phase organique). Pour éliminer toute trace d'eau, la phase organique est séchée sur une surface de sulfate de sodium anhydre. Après évaporation de l'éther, l'huile finale obtenue est conservée dans des flacons en verre opaque à une température de 4°C (Taleb-Toudert ,2015).

### II.3.2. Analyse par CG/MS

- *Eucalyptus globulus* de la willaya d'Ain-Defla

La détermination de la composition chimique de l'HE extraite d'*Eucalyptus globulus* a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse. Les analyses par chromatographie en phase gazeuse (GC) ont été effectuées avec un Hewlett Packard 6890 Séries équipé d'un processeur de données HP-Chemstation, équipé d'une colonne capillaire HP-5MS (30 mx 0,25 mm id, 0,25 µm d'épaisseur de film (Hewlett Packard, Palo Alto, USA ); température de la colonne, 45 ° C (8 min) à 230 ° C à 2 ° C / min, 180 ° C, 230 ° C (15 min); température de l'injecteur 250 ° C; température du détecteur 250 ° C; rapport de division 1: 20; gaz vecteur N<sub>2</sub>. Volume injecté 1 µL. L'analyse par

chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS) a été réalisée dans un HP 6890 GC en utilisant un détecteur sélectif de masse Hewlett Packard 6890 / MSD5973, équipé du logiciel HP Chemstation et des spectres Wiley 275 données. Une colonne capillaire en silice fondue HP-5MS (30 mx 0,25 mm), épaisseur de film de 0,25 µm (Hewlett Packard, Palo Alto, USA) a été utilisée. Le programme de température était le même que celui utilisé dans l'analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC): interface 280 ° C; rapport de division 1:20; gaz vecteur He; débit: 1,0 mL / min; énergie d'ionisation 70 eV; volume injecté 1 µL.

Les composés détectés ont été identifiés en traitant les données GC-MS brutes et en les comparant avec la base de données spectrale de masse d'Institute National de Standard et Technologie (NIST, USA) et à partir des temps de rétention et des spectres de masse des composés standards. Les quantités relatives de composés détectés ont été calculées sur la base des aires de pic de GC (**Boukhatem *et al.*, 2014**).

- ***Eucalyptus globulus* de la willaya de Tizi-Ouzou**

Pour l'identification des composés volatiles des huiles extraites, nous avons utilisé la technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse à l'INRAP (Institut national de Recherche et d'Analyses physicochimiques, Technopole Sidi Thabet, en Tunisie).

L'appareil de GC/MS est un agilent et le système d'injection est le split splitless. La longueur de la colonne est de 30 m, son diamètre est de 0,25 mm et la colonne est d'une épaisseur de 0,25 µm.

La température initiale de 40°C est maintenue pendant une minute. La température augmente à raison de 2 °C/mn, jusqu'à atteindre 240°C. Cette dernière est maintenue pendant 20 mn. La température régnant dans l'injecteur et l'interface est de 250° C, celle de la source est de 230°C.

Le chromatogramme des ions totaux est enregistré en utilisant une source d'impact électronique et l'énergie cinétique des ions est de 70 eV. Les standards ont été identifiés par les masses spectrales pour l'US National Institut des Standards.

Les résultats des analyses des huiles essentielles sont présentés sous forme de chromatogrammes et d'un rapport de Database / Nist (Institut National de Standard et de Technologie).

Le chromatogramme de chaque huile essentielle comporte plusieurs pics. Chaque pic est représenté par un temps de rétention qui représente la nature du composé de l'huile essentielle

et par un pourcentage de l'aire du pic, qui constitue le pourcentage du composé de l'huile par rapport aux autres composés.

Quant aux rapports de Database NIST, c'est un tableau qui regroupe les caractéristiques de chaque pic du chromatogramme (huile essentielle), selon la méthode C / msd chem /1Method / HP16 HE. SAM-0,1M. (Taleb-Toudert ,2015).

### **II.3. Essai de l'activité bio insecticide**

Pour l'activité insecticide nous nous sommes basées sur les travaux de **Taleb-Toudert (2015)**.

#### **Matériel**

##### **Présentation de la plante hôte**

Les graines de *Vigna. unguiculata*, utilisées comme substrat de ponte pour la bruche du niébé, proviennent d'une ferme privée de Tirmatine dans la région de Tizi-Ouzou. Les graines sont conservées au réfrigérateur pendant une vingtaine de jours pour prévenir toute contamination préalable (Taleb-Toudert ,2015).

##### **Présentation de l'insecte ravageur**

Selon **Taleb-Toudert (2015)**, la population de *Callosobruchus maculatus* utilisée dans les essais provient d'un élevage de masse entretenu sous des conditions de laboratoire : une température de  $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$  et  $75 \pm 10\%$  d'humidité relative.

#### **Méthode**

Selon **Taleb-Toudert (2015)**, les insectes étudiés sont *Callosobruchus maculatus*, une espèce d'insectes coléoptères de la famille Bruchidae. Dix couples de bruches adultes ont été introduits dans des boîtes de pétri contenant 50g de *V.unguiculata* préalablement traitées avec l'HE, à différentes doses (4, 8,12, 16  $\mu\text{l}/50\text{g}$ ). L'évaluation de l'activité bio insecticide de ces substances naturelles est réalisée en effectuant quatre répétitions pour chaque dose ainsi que pour les lots témoins.

La toxicité d'HE, dans ce test (par contact), est évaluée sur les différents paramètres biologiques du bruche, à savoir la longévité, le nombre d'œuf pondus sur les graines, le taux d'éclosion et le taux de variabilité de ces œufs. Les individus morts sont retirés quotidiennement des boîtes et ce jusqu'à la mort de tous les individus testés.

**RÉSULTATS**

**ET**

**DISCUSSIONS**



## Chapitre 3: résultats et discussions

### III.1. Résultats de l'étude histologique

Des études antérieures rapportent que les cellules épidermiques des feuilles des espèces d'Eucalyptus ont généralement des parois anticlinales droites (**Oliveira et al., 2005 ; Malinowski et al., 2009**). La présente étude réalisée par **Migacz et al.,(2018)**, confirme cette observation. En effet on observe que les parois cellulaires anticlinales sont droites sur les deux épidermes foliaires chez les deux espèces examinées (Figure 6). Des stomates anomocytaires ont été fréquemment signalés pour les espèces d'Eucalyptus (**Santos et al., 2008; Al-Edany et Al -Saadi, 2012; Saulle et al., 2018**). Cependant, le type anisocyttaire est également trouvé dans le genre, comme dans *E. camaldulensis* Dehnh (**Tantawy, 2004**). Chez les espèces étudiées, les stomates sont légèrement enfoncés sous la surface des feuilles (Figure 7). Compte tenu de la présence de stomates dans les feuilles, les feuilles amphistomatiques sont courantes chez les eucalyptus (**Santos et al., 2008; Döll-Boscardin et al., 2010; Saulle et al., 2018**). Cependant, une caractéristique hypo-stomatique a également été trouvée dans le genre, comme chez les jeunes feuilles d'*E. globulus* (**Malinowski et al., 2009**).

Dans cette étude, les deux espèces ont des feuilles amphistomatiques (Figure 6) et les stomates sont de type anomocytique. L'indice stomatique est le pourcentage du nombre de stomates formés par la quantité totale de cellules épidermiques, y compris les stomates, chaque stomate étant comptée comme une cellule. La taille et l'indice des stomates ont une plus grande pertinence taxonomique (**Cutter, 1986**). Les plus gros stomates sont observés chez *E. globulus* (65,61 × 51,06 m) du côté axial et chez *E. grandis* du côté basal (56,48 × 46,16 m). L'indice stomatique du côté axial est inférieur à celui du côté basal chez toutes les espèces (tableau2).

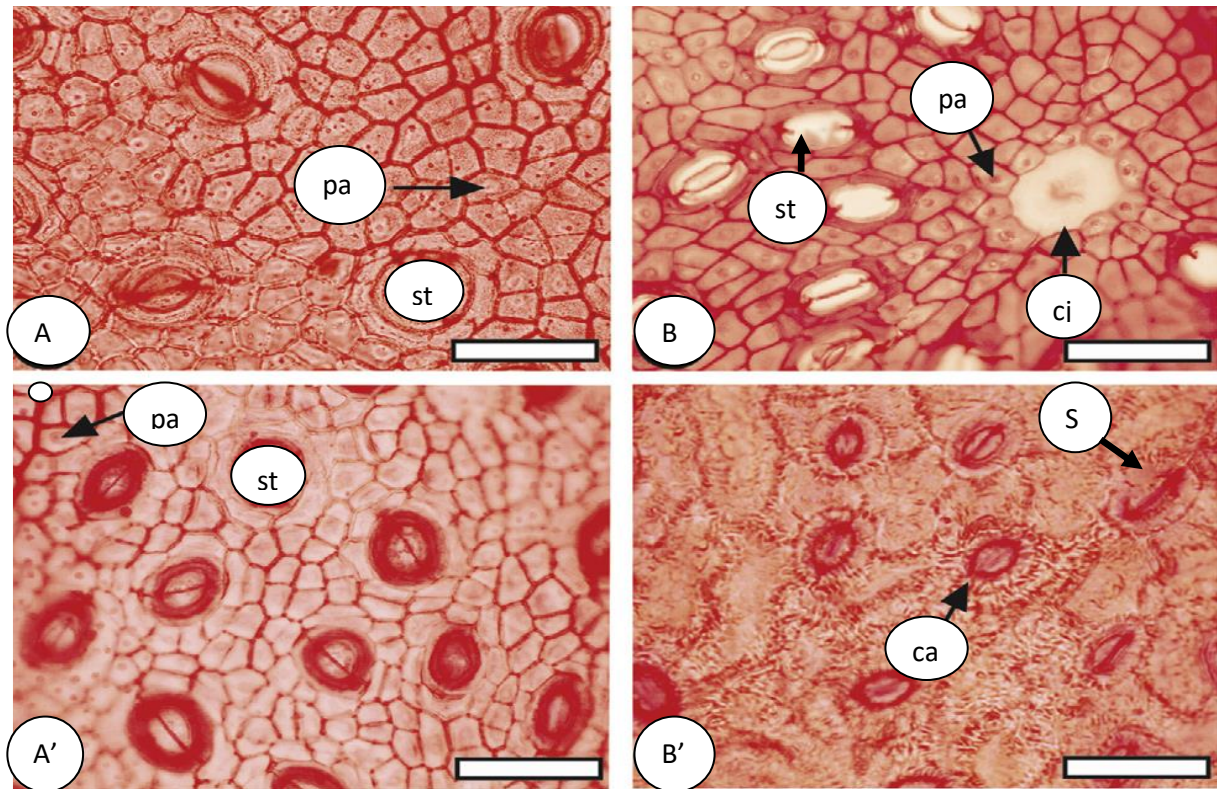
**Santos et ses collaborateurs (2008)**, ont calculé les valeurs de l'indice stomatique pour *E. grandis* à 1,03 pour le côté axial et 16,05 pour le côté basal. Cependant, ces auteurs ont utilisé des feuilles de jeunes plantes (120 jours) pour leur analyse. Les cellules sous-jacentes sont associées à des cavités sécrétoires et se distinguent des cellules ordinaires en termes de forme, de taille et / ou de couleur et ont une valeur taxonomique (**Gomes et al., 2009**). Sur les deux côtés des feuilles des deux espèces d'Eucalyptus étudiées, une paire de cellules recouvrant les cavités sécrétoires est observée au même niveau que les stomates (Figure7). Les cellules surdimensionnées sont également observées dans plusieurs autres espèces d'Eucalyptus

(Santos *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2008). Cependant, des variations du nombre de cellules sous-jacentes peuvent être trouvées, par exemple quatre cellules sous-jacentes se trouvent dans *E. pyrocarpa* F.Muell. (Santos *et al.*, 2008). Chez les espèces d'Eucalyptus, la cuticule des surfaces épidermiques des feuilles est généralement lisse à légèrement striée, et parfois des papilles sont également présentes (Santos *et al.*, 2008; Iftikhar *et al.*, 2009; Döll-Boscardin *et al.*, 2010). Cependant, aucune papille n'est observée chez *E. platypus*, *E. spathulata* et *E. viridis* (Knight *et al.*, 2004). Les deux espèces incluses dans cette étude montrent une cuticule légèrement striée (Figure 7). Les papilles sont également observées dans les deux espèces (Fig 6). Pinkard *et al.*, (2006) ont étudié les intumescences sur les feuilles de *E.globulus* et *E. nitens* H.Deane & Maiden et les ont appelées structures de type lenticelle ou lenticelle. Ils ont affirmé que la distribution des cristaux est utile dans l'identification des espèces (Franceschi et Nakata, 2005; Meric, 2009; Santos *et al.*, 2018; Saule *et al.*, 2018).

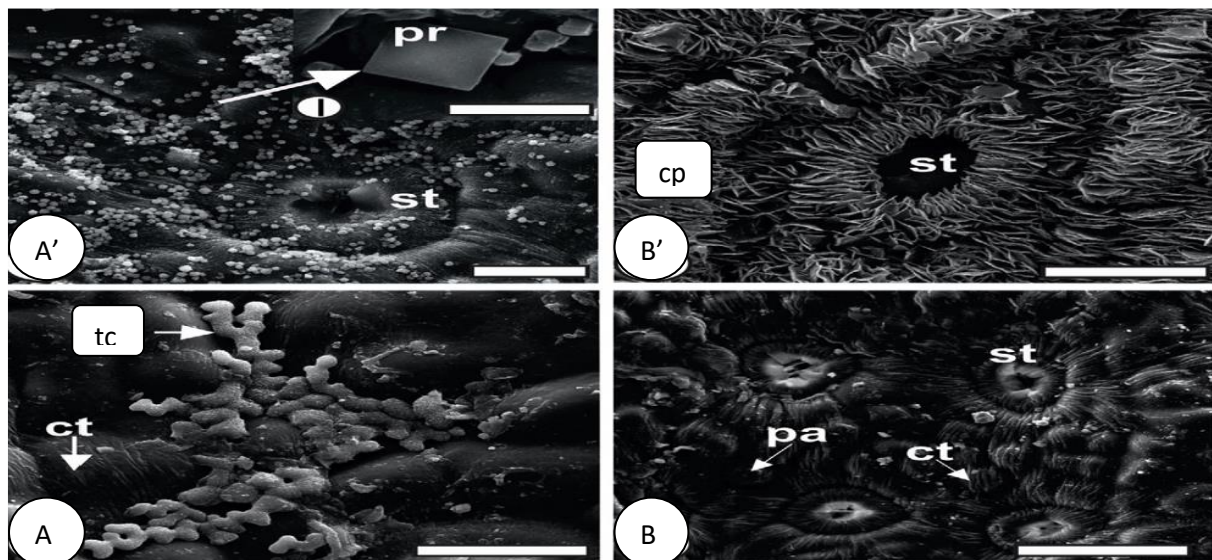
**Tableau 2** : la comparaison anatomique de deux espèces d'Eucalyptus.

Caractéristiques morpho-anatomiques des feuilles		<i>E. grandis</i>	<i>E.globulus</i>
Indice stomatique%	ax	3.53	3.77
Indice stomatique%	ba	5.53	7.48
Taille stomatique (Longueur moyenne × largeur en m)	ax	58.34 ± 5.95	65.61 ± 4.87
	ba	49.87 ± 3.70	51.06 ± 4.10
Taille stomatique (Longueur moyenne × largeur en m)	ax	56.48 ± 5.29	45.90 ± 4.89
	ba	46.16 ± 4.23	36.11 ± 2.97
Cuticule		Légèrement strié	Légèrement strié
Cire épicuticulaire		Plaquettes parallèles du côté axial	Tubules sur le côté basal
Cristaux prismatiques sur la surface épidermique		absent	présent

Ax : axial, ba : basal



**Figure 6** : Epiderme des feuilles chez l'eucalyptus [microscopie optique; teinté à la safranine]. *E. globulus* (A, A'), *E. grandis* (B, B'). Côté axial (A, B), côté basal (A', B') [cj, cellule sous-jacente; pa, papilles; st, stomates; ca, cires agrégées].



**Figure 7** : Anatomie de l'épiderme de l'eucalyptus en vue de surface (microscopie électronique à balayage) *E. globulus* (A, A'), *E. grandis* (B, B') Côté axial (A, B), côté basal (A', B'). [ct, cuticule; le, lenticelle; pa, papilles; pr, cristal prismatique; st, stomates; ca, cires agrégées; cc, croûtes de cires; gc, granulés de cires; cp, cires de plaquettes parallèles; cr, cires de rosette; tc, tubules de cire.

## III.2. Résultats de l'étude phytochimique

### III.2.1. Rendement en huile essentielle

- **Ain defla**

Selon **Boukhatem et al., (2014)**, le pourcentage du rendement en huile essentielle obtenu à partir du processus de distillation à la vapeur des feuilles fraîches d'*E.globulus* est de 0.2%.

- **Tizi-Ouzou**

Selon **Taleb-Toudert (2015)**. Le pourcentage de rendement en huile essentielle d'*E. globulus* obtenu est de 0,48 %.

### Discussions

D'après les résultats on observe que le rendement de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* de Tizi-Ouzou est important par rapport à celui d'Ain defla.

Selon **Boukhatem et al., (2014)** pour *E.globulus* d'Ain defla, les résultats sont similaires à ceux rapportés dans la littérature ou le rendement était 0.22%(basé sur le poids frais des jeunes feuilles) par contre, pour celui de Tizi le rendement est supérieur à ceux rapportés dans la littérature avec *E.alba*, mais plutôt petit par rapport aux résultats rapportés dans la littérature ou le rendement était de 1.63 avec *E.citriodora* (**Coppen, 2003**). Selon **Taleb-Toudert (2015)**, au maroc *E. camadulensis* fournissent les teneurs les plus élevées, en moyenne 1% contre 0.82% pour *E. tertiornis* et 0,37% pour *E.grandi* (**Farah et al., 2002**), ces résultats sont étayés par l'étude d'*E.saligna* du cameroun, dont le rendement en HE a été estimé à 0,85%, par **Tedonkeng, (2004)**.

Selon **Boukhatem et al., (2014)**, les rendements de différents H.E d'eucalyptus à partir de matières végétales fraîches de certains arbres congolais sélectionnés variaient considérablement d'une espèce à l'autre. La disparité avec ces rendements par rapport à ceux précédemment rapportés dans la littérature pour les plantes aromatiques d'Eucalyptus récoltées dans d'autres zones géographiques du monde pourrait être liée à plusieurs facteurs tels que le climat, la nature du sol, l'heure de récolte, le mode d'extraction et l'âge de l'arbre (**Coppen, 2003; Zrira et al., 2004**).

### III.2.2. Analyse par CG MS

- **Ain defla**

Selon **Boukhatem et al., (2014)**. L'analyse chimique d'HE d'*Eucalyptus globulus* fait ressortir un nombre déterminé des constituants représenté dans le tableau 4.

**Tableau 4.** La composition chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* d'Ain defla extraite par distillation à la vapeur.

N°	Le temps de rétention (mn)	Les composés	%
1	13.117	$\alpha$ -Pinène	24.600
2	13.517	Camphene	0.117
3	14.460	$\beta$ -Pinène	0.217
4	16.323	<b>1,8-cineole</b>	<b>51.083</b>
5	17.083	$\alpha$ -Campholenal	0.390
6	18.729	Fenchol	0.179
7	19.587	L-pinocarveol	9.987
8	20.233	Borneol	0.346
9	20.541	4-Terpineol	0.178
10	20.781	Caren-4-ol	0.195
11	20.907	$\alpha$ -Terpineol	0.486
12	21.044	Myrtenol	0.202
13	21.850	Cis-Carveol	0.187
14	30.509	globulol	2.817
		<b>Le total identifié</b>	<b>90.984</b>

- **Tizi-Ouzou**

Selon **Taleb-Toudert (2015)**. L'analyse chimique de l'HE d'*Eucalyptus globulus* fait ressortir un nombre déterminé des constituants représenté dans le tableau 5.

**Tableau 5.** La composition chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* de Tizi-Ouzou extraite par distillation à la vapeur.

N°	Les composés	%
1	$\alpha$ -Pinène	7.69
2	Camphene	0.08
3	$\beta$ -Pinène	0.39
4	<b>1,8-cineole</b>	<b>47.05</b>
5	$\alpha$ -Campholenal	0.15
6	D-Fenchyl-Alcool	0.23
7	$\alpha$ -terpène	0.18
8	Borneol	-
9	4-Terpineol	-
10	$\alpha$ -terpinène	3.58
11	$\alpha$ -Terpinéol	2.35
12	Myrtenol	0.17
13	4-Carbomethanol	0.41
14	globulol	8.65
	<b>Le total identifié</b>	<b>93.89</b>

### Discussions

D'après les résultats on constate que les composants majoritaires des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* appartenant à deux régions différentes (Ain defla et Tizi-Ouzou) sont les mêmes, mais il existe une variabilité au niveau des composants constitutifs de les deux huiles essentielles tels que le 4-Carbomethanol et  $\alpha$ -terpinène sont présents dans l'HE de Tizi-Ouzou mais absents chez l'HE d'Ain defla, par contre le Cis-Carveol et Carene-4-ol sont présents chez l'HE d'Ain defla mais absents dans l'HE de Tizi-Ouzou.

L'HE d'*Eucalyptus globulus* est caractérisé par un pourcentage élevé en 1,8-cineole (51.083%et 47.05%) et  $\alpha$ -Pinène (24.6% et 7.69%) d'Ain defla et Tizi. 1,8-cineole détermine la valeur commerciale d'huile et son importance en tant que matière première pour diverses industries. Différents pourcentages de 1,8-cineole dans l'huile des feuilles d'*E. globulus* ont été mentionnés : 64,5% en Uruguay, 77% à cuba, 86,7% en Californie, 58% à 82% au Maroc 48,7% en Afrique, et 50%à 65% en argentine (Viturro *et al.*, 2003).la majorité de l'huile volatile extraite du *E.globulus* contient au moins 5% à 95%de 1,8-cinéole, c'est un constituant

typique trouvé dans la plupart des *Eucalyptus*. Les conditions géographiques et climatiques ont été impliquées comme facteurs responsables de ces variations. D'autres facteurs peuvent inclure : le moment de récolte, l'âge de la plante et la méthode d'extraction, le défaut de cette technique comprend la modification des composants par auto-oxydation pendant la distillation. Les résultats sont similaires à ceux de **Tsiri et al., (2003)** et **Cimanga et al., (2002)**, qui ont révélé que les principaux composants des huiles d'eucalyptus étaient 1,8-cinéole. Ces résultats montrent que l'huile volatile de chaque espèce d'arbre a une composition chimique particulière quantitative et qualitative. Des composants tels que 1,8-cinéole,  $\alpha$  et  $\beta$ -Pinène, *p*-cymène et citronellal se sont révélés d'être les dominants. Les constituants énumérés dans les tableaux ont également été déterminés en quantités diverses dans les espèces d'arbres similaires collectées dans d'autres régions du monde (**Coppen, 2003; ashraf et al., 2010; Iqbal et al., 2004**). par exemple, l'HE *Eucalyptus globulus* de la municipalité de Sobral e Brésil a été caractérisée par 1,8-cinéole (83,89%), limonène (8,16%),  $\alpha$ -pinène (4,15%), respectivement, tandis que dans la partie centrale de Congo en Afrique, l'HE d'eucalyptus est principalement chémotype 1,8-cinéole (44,30%), à haute teneur en camphène (23,10%), mais l'*Eucalyptus globulus*, de Portugal, contient du 1,8-cinéole (63,80%) et le  $\alpha$ -pinène (14%) comme composantes majeures de son HE (**Djenane et al., 2011**).

En Inde, avec une huile essentielle dominée par le 1,8-cinéole (44,10%), Camphène (29,70%),  $\alpha$ -pinène (8,4%) (**Shahnaz et al., 2013**).

### **III.3. Résultats de l'activité bio insecticide**

Selon **Taleb-Toudert, (2015)**. Le résultat et l'effet bio insecticide d'HE d'*Eucalyptus globulus* est présenté dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 6.** L'effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur l'insecte *Callosobruchus maculatus* et la germination des graines de *Vigna.unguiculata*.

Doses ( $\mu$ l)	Effet sur la longévité des adultes d'HE	Effet d'HE sur la fécondité des femelles	Effet d'HE sur la variabilité embryonnaire	Effet d'HE sur la variabilité post-embryonnaire	Effet de traitement avec l'HE sur la germination des graines
0	170,2 $\pm$ 1,25	740 $\pm$ 43,20	650,2 $\pm$ 89,25	621,91 $\pm$ 91,48	91,25 $\pm$ 8,53
4	23,5 $\pm$ 17,97	1,5 $\pm$ 0,57	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	95 $\pm$ 4,08
8	4,5 $\pm$ 0,57	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0
12	2 $\pm$ 0,81	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0
16	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0

La présente étude a révélé que l'efficacité de l'huile essentielle testée est en fonction de leurs principaux constituants majoritaires, quelque soit le facteur biologique de *C.maculatus* considéré.

L'HE analysée est constituée majoritairement de monoterpènes comme l'  $\alpha$ -pinène,  $\beta$  – Pinène, le camphor et l'eucalyptol.

Ces composés ont été souvent caractérisés par leur activité biocide et répulsive contre de nombreux insectes ravageurs des denrées stockées (**Keita et al., 2000 ; Ketoh et al., 2002 ; Kellouche et al., 2004 ; Papachristos Stamoupolos, 2002 et Kellouche et al., 2010**).

Par ailleurs, les résultats obtenus dans l'étude révèlent que l'HE est bioactive à l'égard de bruche du niébé dans les traitements par contact en affectant l'ensemble des paramètres biologiques du bruche du niébé.

### Discussions

ces résultats obtenus corroborent avec ceux de **Hedjal et al., (2013)** qui ont mis en évidence un effet biocide des huiles essentielles de six conifères, provenant d'Algérie et de Tunisie, aussi bien sur la longévité des adultes et le nombre d'œufs pondus que sur le taux de variabilité de ces œufs, chez *C.maculatus*.



La réduction de l'émergence des adultes, enregistrée dans les tests, pourrait s'expliquer en partie par la faible éclosion des œufs pondus. Il est probable que les vapeurs des huiles essentielles diffusent à travers le chorion ou le siphon respiratoire des œufs et affectent les processus physiologiques et biochimiques associés au développement embryonnaire (**Raja et al., 2001**).

Ces résultats confirment le même effet rapporté par **Sabraoui et al., (2016)** qui mis en évidence un effet insecticide des huiles essentielles sur la mineuse de pois chiche, *Liriomyza cicerina* R.

# ***CONCLUSION***

## Conclusion

Dans ce travail, nous avons étudié la composition chimique, l'anatomie et effet insecticide de l'*Eucalyptus globulus*(HE) appartenant à deux régions différentes. L'étude histologique des 2 échantillons d'eucalyptus a montré : que chaque espèce est différente de l'autre, d'une région à l'autre, dans notre étude la variabilité se trouve au niveau des stomates.

L'analyse de la composition chimique par CG/MS des huiles essentielles des 2 échantillons de l'eucalyptus collectés dans deux régions différentes a permis de conclure que : le composants majoritaires chez les deux échantillons d'Eucalyptus est le même: 1,8-cineole, mais il existe une variabilité au niveau des composants constitufs de chaque HE, car il y à des composants qui sont présents chez l'une est absents chez l'autre.

L'huile essentielle de Tizi-Ouzou a des composants et un rendement plus que l'huile essentielle d'Ain defla donc elle est plus riche que l'autre, cette variabilité peut être du au période de récolte, durée d'extraction, la composition du sol... etc.

L'étude de l'activité bio insecticide d'huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus* sur l'insecte *Callosobruchus maculatus* a confirmée que l'HE d'eucalyptus étudié a une activité insecticide très importante.la toxicité d'HE testée varie largement en fonction de la nature de l'HE, de la concentration utilisée et de la durée de traitement. Ces résultats nous encouragent à poursuivre nos recherches scientifiques sur d'autres souches d'activité insecticide de cette huile essentielle.

Ce travail s'intéresse à l'étude de la variabilité histologique, phytochimique et essai préliminaire de l'activité bio insecticide l'huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus* de deux régions différentes.

Comme perspective, c'est intéressant :

- ✓ De s'intéresser à étudier la variabilité génétique d'*Eucalyptus globulus* des régions différentes.
- ✓ De tester l'efficacité des bios insecticides sur d'autres insectes ravageurs de culture.
- ✓ De tester le bio insecticide en plein champ ou dans les serres dans des conditions réelles.
- ✓ De cultiver ces plantes aromatique et médicinale sur des grandes surfaces et donner une importance à ces richesses naturelles sachant que rien n'est fait au hasard.

## Références bibliographiques

- **Ait Youssef, M. (2006).** plantes médicinales de Kabylie préface du docteur Jean-Philippe Brette ; Edition Ibis Press Paris.
- **Al-Edany, T., Al-Saadi, S., (2012).** Taxonomic significance of anatomical characters insome species of the family (Myrtaceae). Am. J. Plant Sci. 3, 572–581.
- **Ashraf M, Ali Q, Anwar F, Hussain A. I. (2010).** Asian Journal of chemistry 22(3) 1779-1786.
- **Batish, D.R., Pal Singh, H., Kohli, R.K., & Kaur, S. (2008).** Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. Forest Ecology and Management, 256(12) : 2166-2174p.
- **Berlyn, G.P., Miksche, J.P., (1976).** Botanical microtechnique and cytochemistry. Iowa state University Press, Ames, IA.
- **Boukhatem M.N, Ferhat M.A, Kameli A, Saidi F, Kerkadi W, Sadok bouziane M. (2014).** Quality assessment of the essetial oil from *Eucalyptus globulus* Labill of Blida (Algeria) origin.17 (3) 303-315.
- **Brathlott, W., Neinhuis, C., Cutler, D., Ditsch, F., Meusel, I., Wilhelmi, H., (1998).** Classification and terminology of plant epicuticular waxes. Bot .J. Linn. Soc. 126, 277-236.
- **Breitling R, Cenicerros A, Takano E. (2013).** Metabolomics for secondary Metabolite Research. Métabolites 3 :1076-1083. doi : 10.3390/metabo3041076
- **Browsher, C., Steer, M. and Tobin, A. (2008).** Plant Biochemistry by Garland science, Taylor and Francis. P344, 336, 363.
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4<sup>e</sup> éd). Lavoisier, revue et augmentée.
- **Cheyrier V, Comte G. (2013).** Plant phenolic: recet advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. Plant Physiol Biochem PPB72:1-20.Doi: 10.1016/j.plaphy.2013.05.009.
- **Cimanga K., Kambu K, Tona L, Vlietnick A.J. (2002).** Journal of ethnopharmacology 79(2) 213-220.
- **Constant N, (2009).** L'utilisation du pyrèthre naturel pour lutter contre la cicadelle de la flavescence dorée en viticulture biologique. AIVB-LR.
- **Coppen J.J, Press CRC. (2003)** 112-145.
- **Cutter E.G, (1986).** Anatomia vegetal Parte I – Células e tecidos, Roca, São Paulo.

- **Dali yahia M.K. (2017).** Eude phytochimique Bioguidée de plantes aromatiques sahariennes. Thèse de doctorat en médecine, université de Tlemcen.
- **Djenane D, Lefsih K, Yanguela J, Roncalés P.(2011).** Composition chimique et activité anti-Salmonella enteritidis CECT 4300 des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, de *Lavandula angustifolia* et de *Satureja hortensis*. Tests in vitro et efficacité sur les oeufs entiers liquides conservés à 7+- 1°C.
- **Döll-Boscardin, P.M., Farago, P.V., Nakashima, T., Santos, P.E.T., Paula, J.F.P. (2010).** Estudo anatômico e prospect, ão fitoquímica de folhas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cambage. Lat. Am. J. Pharm. 29, 4–101
- **Duval L, (2012).** Les huiles essentielles à l'officine. Thèse de doctorat en pharmacie. Rouen, France, 155p.
- **Erau Pauline, (2019).** l'eucalyptus, botanique, composition chimique, l'utilisation thérapeutique et conseil à l'officine. These de doctorat en pharmacie. Marseille.
- **Farah.A, Fechtal.M, Chaouch. A. (2002).** Effet du sens du croisement sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles des différents hybrides d'*Eucalyptus* cultivés au Maroc : 445-451.
- **Foster, A.S., (1949).** Practical Plant Anatomy, 2nd ed. D. Van Nostrand, Princeton.
- **Franceschi, V.R., Nakata, P.A. (2005).** Calcium oxalate in plants: formation and function. Annu. Rev. Plant Biol. 56, 41–71
- **François Michel.(2016).** Le dico des mots de la géologie, sur un projet de la commission Patrimoine géologique de Réserves Naturelles de France, 11p.
- **Fuchs C.H, (1963).** Fuchsin staining with NaOH clearing for lignified éléments of whole plants or plants organs. Stain Technol. 38, 141-144.
- **Gabe, M, (1968).** Techniques histologiques. Masson & Cie, Paris.
- **Ghedira kamel, Goetz Paul, Le jeune. R, (2008).** Phytothérapie monographie médicalisée .Springer-Verlag France, Paris ; 197-198p.
- **Goetz Paul, Ghedira Kamel. (2012).** Phytothérapie anti-infectieuse.Springer-Verlag France, Paris; 394p.
- **Gomes, S.M., Somavilla, N.S.D., Gomes-Bezerra, K.M., Miranda, C.S.C., Plauto, S., Graciano-Ribeiro, D.(2009).** Anatomia foliar de espécies de Myr-taceae: contribuic, ões à taxonomia e filogenia. Acta Bot. Bras. 23,224–238.
- **Hedjal Chehhab, M. Toudert-Taleb, K. Khoudja, M.L. Benabdesselam, R. Mellouk, M. & Kellouche, A. (2013).** Essential oils compositions of six conifers and their

biological activity against the cowpea weevil, *callosobruchus maculatus* Fabricius, 1775 (Coleoptera: Bruchidae) and *Vigna unguiculata* seeds. African entomology. Vol.21 (2): 243-254.

- **Iftikhar, A., Qaiser, A., Syed, H., Mansoor, N., Nargis, Z., Sara, K. (2009).** Leaf anatomical adaptations in some exotic species of Eucalyptus L. (Myrtaceae). Pak. J. Bot. 41,2717–2727.
- **Impion M, (2011).** Etude de l'efficacité des extraits de *Curcuma longa*, *Tihonia diversifolia* et *Zingiber officinale* sur les micro-organismes de l'air. Cas de *laspergillus* et *aspergillus figer*, p53.
- **Iqbal Z, Hussain I, Hussain A, Ashraf M.Y. (2004).** Pakistan Journal of Botany 35 843-852.
- **Jean-François Fortier, Arnaud Florentin, Denis Terver, Nicolas. (2007).** Encyclopédie française, aquaportail .
- **Jin jian Lu, Jiao-Lin Bao, Xiu-Ping Chen, Min Huang, YI-Tao Wang. (2012).** Alkaloids isolated from natural herbs as the anticancer agents. Evidence- based complementary and alternative medicine.
- **Johansen, D.A, (1940).** Plant Microtechnique. McGraw Hill Book, New York.
- **Joyard Jaques, (2020).** Encyclopédie de l'environnement .Qu'est-ce que la biodiversité ?
- **Keita, S.M. vincent, C. schmit, J.P, Ramasway, S. & Belanger. A, (2000).** Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae). Journal of Stored Products Research. Vol. 36 :335-364.
- **Kellouche .A et Soltani N, (2004).** Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une entre elle sur *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae).International Journal of Tropical Insect Science. Vol.24(1) : 184-191.
- **Kellouche. A, Ait Aider. F, Labdaui .K, Moula.D, Hamadi.N, Ouramdane.A, Frerot. B, & Mellouk. M, (2010).** Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera : Bruchidae). International Journal of Integrative Biology. Vol. 10 : 86-89.
- **Ketoh G.K, Glitho A.I. & Huignard J, (2002).** Susceptibilité of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Hymenoptera : Pteromalidae) to three essential oils. J. Eco. Entomol. Vol. 95 : 174-182.

- **Knight, T.G., Wallwork, K., Meredith, A.B., Sedgley, M. (2004).** Leaf epicuticular wax and cuticle ultrastructure of four Eucalyptus species and their hybrids. *Int. J. Plant Sci.* 165, 27–36.
- **Kothe, Hans W. (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Romagnat : Terres, 140P.
- **Laberche Jean-Claude, (2010).** Livre de biologie végétale 3ed, DUNOD.
- **Leicach, S.R., Guarnaschelli, A. B., Garau, A. M., Chludil, H. D., Grass, M.Y., & Fernandez, P.C. (2012).** Chemical defenses in Eucalyptus species : A Sustainable strategy Based on Antique Knowledge to Diminish Agrochemical Dependency. INTECH Open Access Publisher.
- **Lis-Blachin M, (2006).** Aromatherapy science: A guide for healthcare professionals. Pharmaceutical Press, Londres, Grande-Bretagne.
- **Loupe, D, (2008).** PROTA : Ressources végétales de l’Afrique tropicale. Backhuys Publishers, Wageningen, Pays-Bas.
- **Malinowski, L.R.L., Nakasshima, T., Alquini, Y. (2009).** Caracterização morfo-anatômica de folhas jovens de *Eucalyptus globulus* Labill ssp. *bicostata* (Maiden et al.) J.B. Kirkpat (Myrtaceae). *Lat. Am. J. Pharm.* 28, 756–761.
- **Meric, C, (2009).** Calcium oxalate crystals in some species of the tribe Inuleae (Asteraceae). *Acta Biol. Cracov. Bot.* 51, 105–110.
- **Migacz I.P. ; Paola Aparecida Raeskib, Valter Paes de Almeida, Vijayasankar Ramanc, Silvana Nisgoskid, Graciela Inês Bolzón de Muniz, Paulo Vitor Farago, Ikhlas Ahmed Khanc, Jane Manfron Budela. (2018).** Comparative leaf morphology of six species of Eucalyptus cultivated in Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 28 273–281.
- **Murthy HN, Lee E-J, Paek K-Y. (2014).** Production of secondary metabolites from cell and organ cultures: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation. *Plant Cell PCTOC* 118 :1-16. Doi : 10.1007/s11240-014-0467-7.
- **Naik PM, al-Khayri JM. (2016).** Impact of Abiotic Elicitors on In vitro Production of Plant Secondary Metabolites: A Review.1 (1):7. *J Adv. Res Biotech* 1 :7.
- **O’Brien, T.P., Feder, N., McCully, M.E. (1964).** Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59, 368-373.
- **Oliveira, F., Akisue, G., Akisue, M.K.(2005).** Farmacognosia. Atheneu, São Paulo.

- **Pandit, J., aqil, M., et Sultana, Y. (2015).** Terpenes and essential oils as skin penetration enhancers. dragicevics, N., Maibach, H.I., percutaneous penetration enhancers chemical methods in penetration enhancement modifications of stratum corneum. Springer, P174-183.
- **Papachristos D.P. et Stamopoulos D.C.(2002).** Reppellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (say) (Coleoptera : Bruchidae). Journal of Stored Products Research. Vol.38 : 117-128.
- **Puccio Pietro, (2015).** Monaco Nature Encyclopedia. Discover the biodiversity.
- **Pinkard, E; Gill, W; Mohammed, C.(2006).** Physiology and anatomy of lenticel-like structures on leavez of *Eucalyptus nitens* and *Eucalyptus globulus* seedlings. Tree Physiol. 26, 989–999.
- **Raja. N, Albert. S, Ignacimuthu. S& Dorn, S. (2001).** Effect of volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. Journal of Stored Produts Research. Vol 37: 127-132.
- **Ramakrishna A, Ravishankar GA. (2011).** Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant signal Behav 6 :1720-1731. Doi : 10.4161\psb.6.11.17613.
- **Roeser K.R, (1972).** Die Nadel der Schwarzkiefer-Massenproductt und Kunstwerk der Natur. Mikrokosmos 61, 33-36.
- **Roger P, (2007).** Experimentation en biologie et physiologie végétales, edition Quae, Paris, 58p.
- **Roland J-K, Françoise R, Hayat El Maarouf B. (2008).** Atlas biologie végétal 2. L'organisation des végétaux à fleurs, 9<sup>e</sup> Edition, DUNOD, paris.
- **Sabraoui. A, El Bouhssini. M, Lhaloui. S, Boulamtat. R& Bouchelta. A. (2016).** Effet insecticide des huiles essentielles sur la mineuse de pois chiche, *Liriomyza cicerina* R. revue Marocaine de protection des plantes, N° 9 :39-46.
- **S. Zrira, J.M.Bessiere, B.Bejlali,. (2004).** Flavour and Fragance Journal 19(2) 172-175.
- **Santos, T.L.D., Ferreira, L.R., Ferreira, F.A., Duarte, W.M., Tiburcio, R.A.S., Machado, A.F.L.(2006).** Intoxicac, ão de eucalipto submetido à deriva simulada de diferentesherbicidas. Planta Daninha 24, 521–526



- **Santos, L.D.T., Thadeo, M., Iarema, L., Meira, R.M.S.A., Ferreira, F.A. (2008).** Foliar anatomy and histochemistry in seven species of Eucalyptus. *Rev. Arvore* 32,769–779.
- **Santos, V.L.P; Raman, V; Bobek, V.B; Migacz, I.P; Franco, C.R.C., Khan, I.A; Budel, J.M. (2018).** Anatomy and microscopy of *Piper caldense*, a folk medicinal plant from Brazil. *Rev. Bras. Farmacogn.* 28, 9–15.
- **Sass, J.E.(1951).** Botanical Microtechnique, 2nd ed. Iowa State College, Ames.
- **Saulle, C.C., Raman, V., Oliveira, A.V.G., Maia, B.H.L.N.S., Meneghetti, E.K., Flores, T.B., Farago, P.V., Khan, I.A., Budel, J.M. (2018).** Anatomy and volatile oil chemistry of *Eucalyptus saligna* cultivated in South Brazil. *Rev. Bras. Farmacogn.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2018.03.001>.
- **Shahnaz S.H. et Mohammed A.(2013).** Volatile oil constituents of the leaves of *Eucalyptus citriodora* and influence on clinically isolated pathogenic microorganisms. *Journal of scientific & innovative Research*, 2(5) : 852-858.
- **Silvant c, (2015).** L'aromathérapie : la nature au service de l'humanité. Editions Publibook, Paris, France.
- **Song, A., Wang, Y., Liu, Y., (2009).** Study on the chemical constituents of the essential oils of the leaves of *eucalyptus globules* Labill from china. *Asian journal of traditional medicines*, 4(4) : 134-140p.
- **Taleb-Toudert Karima, (2015).** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). . Thèse de doctorat en biologie. Tizi-Ouzou, Algérie.
- **Tantawy, M.E, (2004).** Morpho-anatomical study on certain taxa of Myrtaceae. *Asian J. Plant Sci.* 3, 274–285.
- **Tedonkeng P.E., Amvam Zollo P.H., Tendonkeng F. Kana J.R., Fongang D. & Tapondjou L.A. (2004).** Chemical composition and acaricide effect of the essential oils from the leaves of *chromolaena odorata* L. King and Robins. And *eucalyptus saligna* Smith, on ticks (*Rhipicephalus lunulatus* Neumann) of the West African Dwarf goat in West Cameroon. *Livestock Research for Rural Development*. Vol. 16 N°9 : 1-10.
- **Tsiri O ;Kresti C ; G. Spyropoulos, (2003).** *Flavour and Fragrance Journal* 18(3) 244-247.

- **viturro I, Molina A.C, Heit C.I. (2003).** Journal of Essential Oil Research 15(3) 206-208.
- **Warot S. (2006).** Les eucalyptus utilisés en Aromathérapie. Mémoire de fin de formation en Phyto-Aromathérapie. p3.
- **Yves T, Michel B, Max H, Catherine T. (2005).** Le monde des végétaux, organisation, physiologie et génomique, dunod, paris, 14, 15, 16, 71-86, 236-240p.