

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA
FACULTÉ DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES
DÉPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES**

**Valorisation de l'efficacité biocide d'une plante médicinale
Origanum glandulosum. (Lamiaceae) sur un modèle biologique
Tribolium sp. (Insecte, coleoptera) ravageur des denrées stockées.**

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du
Diplôme de Master académique En sciences de la nature et de la vie.
Filière d'Agronomie.
Option : Phytopharmacie Appliquée

Présenté par : **M^{elle} ELHOUARI Yamna.**

Devant le jury composé de :

M ^r . EL HADI DJ.	MCA	USDB	Président
M ^{me} . ALLAL L.	MCA	USDB	Promotrice
M ^{me} SAHRAOUI F.	MAB	USDB	Examinatrice
M ^{me} BELGUENDOZ R.	MAA	USDB	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2010/2011

Remerciements.

Au terme de ce modeste travail, je remercie Dieu de nous avoir donné la force de faire ce travail et le courage de terminer ce mémoire.

Je tiens à exprimer toute ma grande gratitude, ma profonde reconnaissance mes vifs remerciements à ma promotrice et notre enseignante **Mme ALLAL L**; pour ses efforts, ses enseignements, sa rigueur scientifique, sa disponibilité et ses précieux conseils qui nous ont été d'un grand apport tout au long de notre travail.

J'adresse Mes vifs remerciements Pour les membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'accepter de juger ce travail :

- **Mr. ELHADI DJ.** pour avoir accepté avec beaucoup de compréhension et de gentillesse de présider ce jury ; qu'il soit ici très vivement remercié ;
- A **Mme SAHRAOUI F.**; et **Mme. BELGUENDOZ R.** qui ont accepté d'assister en tant qu'examinatrices.

Mes remerciements vont également au personnel de la bibliothèque de département d'agronomie de BLIDA et toutes les personnes du laboratoire de chimie industrielle et surtout DJAMILA.

A toutes les personnes qui ont collaboré de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Avec l'aide de dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie a :

A ma mère qui m'a offre tout son amour, ses sacrifices et toute l'affection depuis m'a naissance.

A mon chère père qui m'a éduque et m'a donne tout, et pour son amour, sa patience et ses considérables sacrifices pour me parvenir à ce niveau ;que Dieu les protégés et les gardes seins et saufs pour toujours, je les dis mille merci.

A ma sœur «SOUHILA» et mes frères« NABIL, MOHAMED, HOUARI et ABD ELKADER »

A tout ma famille de proche et loin

A tout mes très chères amies et mes collègues.

yamna

Résumé.

En raison des pertes importantes qu'engendrent les insectes nuisibles en poste- récolte et en raison des problèmes environnementaux et de santé, en relation avec l'utilisation des pesticides synthétiques qui sont alarmants, l'application des biopesticides reste l'ultime solution.

La présente d'étude a pour objet de déterminer l'activité biologiques de l'extraits aqueux et l'huile essentielle de L'origan (*Origanum glandulosum*) sur insecte ravageur de blé en poste- récolte *Tribolium sp.*, et d'évaluer les doses létales nécessaire pour tuer 50% des population de cette insecte.

Pour l'étude de pouvoir toxique nous avons utilises deux mode de pénétration (inhalation), Les résultats montrent que l'effet de l'extrait aqueux et l'huile essentielle sur *Tribolium sp.* change selon le compartiment de la plante, la concentration et le temps de traitement utilisé.

Les résultats montrent un effet léthal faible ou neutre de l'extraits aqueux et un effet léthal élevé pour l'huile essentielle sur les adultes de *Tribolium sp.*; ceci peut être du aux quantités de matière active contenue dans les extraits du plante, ou à certaines phénomènes physiologiques de l'insecte.

Mots clés : *Origanum glandulosum*, extraits aqueux, huile essentielle, activité biologique (pouvoir toxique), *Tribolium sp.*

Summary

Because of the losses engendered by insect pests in post-harvest due to environmental and health problems in connection with the use of synthetic pesticides that are alarming, the application bio pesticides is the ultimate solution.

This study aims to determine the biological activity of aqueous extracts and essential oil of oregano (*Origanum glandulosum*) on insect pest of wheat in post-harvest *Tribolium sp.*, And to assess the lethal doses required to kill 50% of the population of this insect.

For the study of toxic power we used two routes of entry (inhalation), the results show that the effect of the aqueous extract and essential oil on *Tribolium sp.* changes depending on the compartment of the plant, concentration and processing time used.

The results show a lethal effect of low or neutral aqueous extracts and a lethal high essential oil on adult *Tribolium sp.* This may be the quantities of active ingredient in the extracts of the plant, or certain physiological phenomena of the insect.

Key words: *Origanum glandulosum*, aqueous extracts, essential oil, biological activity (toxic potency), *Tribolium sp.*

ملخص

بسبب الخسائر الهامة التي تسببها الحشرات الضارة بعد الحصاد وبسبب المشاكل البيئية والصحية من جراء الاستعمال المخيف للمبيدات الاصطناعية التي تنذر بالخطر، و يبقى استعمال المبيدات الحيوية الحل النهائي.

الهدف من دراستنا هو معرفة مدى الفعالية البيولوجية للمستخلص المائي والزيت الأساسي لنبته الزعتر (*Origanum glandulosum*) على الحشرة المخربة للقمح بعد الحصاد، وتقدير التركيز والوقت اللازم من اجل قتل 50 بالمائة من فصيلة هذه الحشرة .

من اجل تحديد هذه السمية استعملنا طريقتين، اتصال عن طريق الاستنشاق، حيث أظهرت النتائج أن فعالية المستخلص المائي و الزيت الأساسي يتغير حسب التركيز، الوقت، و وفق العضو المجرب.

أثبتت النتائج فعالية منخفضة أو منعدمة عند المستخلصات المائية، و فعالية عالية عند الزيت الأساسي، وهذا راجع إلى كمية المادة الفعالة التي تحتويها مستخلصات النبتة أو بعض الظواهر الفيزيولوجية للحشرة.

الكلمات المفتاحية

الزعتر، المستخلصات المائية، الزيت الأساسي، الفعالية البيولوجية (السمية) ،حشرة الحبوب بعد الحصاد.

Liste d'abréviation.

% : pourcent.

‰ : pour-mille.

d : dose.

DL50 : dose létale pour tuer 50% de la population traites.

g : gramme.

h : heure.

HE : huile essentielles.

Fe : feuille.

Fl : fleur.

MC : mortalité corrigée.

mg : milligramme

mg/ml : milligramme par millilitre.

ml : millilitre.

µl : microlitre.

O : origanum.

PAM : plante aromatique et médicinales.

PR : population résiduelle.

T : tribolium.

U.S.D.B : Université Saad Dahlab de Blida

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01: Principaux composés de l'espèce d' <i>Origanum glandulosum</i>	11
Tableau 02 : Solubilité du thymol dans différents solvants	17
Tableau 03: Avantages et inconvénients des procédés d'extraction... ..	21
Tableau 04 : Intérêt économique des PAM les plus fréquentes	23
Tableau 05 : Résultats de la comparaison des moyennes des pourcentages de populations résiduelles du <i>Tribolium</i> sous l'effet temporel des doses et des différents phytoextraits utilisés	37

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Répartition géographique des espèces d'origan dans le monde (Pignatti, 1982).....	09
Figure 02 : Répartition de <i>l'Origanum glandulosum</i>	10
Figure 03 : poches sécrétrices chez les végétaux (Bendriiss, 2003).....	14
Figure. 04 : Biosynthèse du limonène	18
Figure 05 : exemple des composants monoterpéniques	19
Figure 06 : Exemple des composants sesquiterpeniques.....	19
Figure 07 : feuille de l'origan	27
Figure 08 : fleurs de l'origan	27
Figure 09 : Les différentes étapes pour la préparation de l'extrait aqueuse.....	29
Figure 10 : Dispositif d'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau.	30
Figure 11. : Evolution temporelle des populations résiduelles du Tribolium après exposition à un traitement à base des extraits aqueux foliaires de l'origan.....	34
Figure 12. Evolution temporelle des populations résiduelles du Tribolium après exposition à un traitement à base des extraits aqueux des fleurs de l'origan.....	35
Figure 13. Evolution temporelle des populations résiduelles du Tribolium après exposition à un traitement à base des huiles essentielles des feuilles de l'origan.....	35
Figure 14. Evolution temporelle des populations résiduelles du Tribolium après exposition à un traitement à base des huiles essentielles des fleurs de l'origan.....	36
Figure 15. Variation de la toxicité des phytoextraits utilisés en fonction du temps, des doses d'application sur les populations résiduelles du Tribolium	37
Figure 16 : Analyse en composantes principales (ACP) sur les variations temporelles des efficacités des traitements. (he : huile essentielle, fe : feuilles, fl : fleurs, d : différentes doses testées).....	38
Figure 17. : Classification ascendante hiérarchique de l'échantillon de différentes doses testées sur les populations de Tribolium.....	38

Figure 18. Calcul de la DL50 de l'extrait aqueux des feuilles de l'origan (DL 50 = 1,77 g/ml).....	39
Figure 19 : Calcul de la DL50 de l'extrait aqueux des fleurs de l'origan (DL 50 = 4, 57 g/ml).....	40
Figure 20 : Calcul de la DL50 de l'huile essentielle des feuilles de l'origan (DL 50 = 1, 56 µl/ml).....	40
Figure 21 : Calcul de la DL50 de l'huile essentielle des fleurs de l'origan (DL 50 =1, 90 µl/ml)	41

Sommaire

Introduction	01
Partie bibliographique.	
Chapitre I : Généralités sur les biopesticides et l'origan <i>Origanum glandulosum</i> Desf.	
I- Les biopesticides	03
II- Données bibliographiques sur la plante étudiée <i>Origanum glandulosum</i>.....	07
Chapitre II : Généralités sur les huiles essentielles et les métabolites secondaires.	
I. Les huiles essentielles	12
II. Métabolites secondaires.....	24
Partie expérimentale.	
Chapitre I : Matériel et Méthodes.....	26
Chapitre II : résultats et discussion	34
Conclusion et perspective	45
Référence bibliographique.	
Annexe	

INTRODUCTION

INTRODUCTION.

Les céréales constituent depuis longtemps la principale ressource alimentaire de l'homme et des animaux domestiques et possèdent un pouvoir nutritionnel important (Pfohl-leszkowicz, 2001)

Dans la plus part des cas, la production des céréales est assurée par une seule récolte dans l'année alors que la période de consommation est prolongée tout au long de l'année, d'où la nécessité du stockage. Cette nécessité est renforcée par l'importation des céréales dont leur production locale est insuffisante (blé tendre et maïs) ou inapplicable (riz).

Malheureusement, de nombreux agents de détérioration (vertèbres, insectes, moisissure, acariens ...) sont la cause de la perte d'une grande partie de récolte des céréales. Pour limiter ces dégâts, des méthodes de lutte efficace doivent être menées durant cette période de stockage.

Parmi les méthodes de protection au niveau de stocks, la lutte chimique a été la plus utilisée, cette utilisation massive et parfois irrationnelle pendant plusieurs années a entraîné de nombreux problèmes entre autre le développement de phénomène de résistance chez les insectes et la présence des résidus de pesticides sur les denrées stockées, ainsi que des effets nocifs sur l'environnement.

Face à ces problèmes, la nécessité de développer de nouvelles stratégies de lutte s'impose. De nombreux chercheurs se sont orientés vers la lutte écochimique. Cette dernière exploite les substances allélochimiques contenues dans les végétaux (exemple : les huiles essentielles) pour combattre les déprédateurs des stocks.

Parmi les alternatives envisagées, les laboratoires de recherche se penchent depuis plusieurs années, sur la lutte biologique qui vise à contrôler les ravageurs par des biopesticides. Ceux-ci peuvent être à base de bactéries, champignons, virus, nématodes et d'extraits de plantes. Plusieurs études se sont intéressées aux plantes pouvant être utilisées en biodésinfection. Ces plantes contiennent naturellement dans leurs tissus des quantités importantes de molécules bioactives qui ne sont pas intrinsèquement biocides. Cependant, lorsqu'elles sont stressées, elles libèrent une gamme de produits connus pour leurs propriétés biocides. La nature, la localisation et les concentrations des molécules

bioactives dans les tissus de différentes espèces végétales ont été abondamment étudiés.

La valorisation des plantes aromatiques et médicinales demeure un sujet de grande importance pour notre pays. En effet, la flore algérienne étant vaste et pratiquement inexplorée, et de ce point de vue, une source inépuisable de produits à haute valeur ajoutée (Derriche et Benyoucef, 1997).

L'une des valorisations possibles de cette richesse naturelle est l'extraction des essences des plantes aromatiques, qui sont des produits très recherchés par les industries de l'aromatization, de l'aromathérapie et des cosmétiques. Ces secteurs industriels ont généré une activité économique considérable à l'échelle mondiale (Benmeriem et Boureguig, 1996).

Ces substances sont irrégulièrement réparties le règne végétal. Dans la même famille végétale, des espèces peuvent complètement être différentes par leur composition en principes actifs (HERISSET et *al.*, 1970). Certaines familles végétales n'en renferment presque pas ; tandis que d'autres (Ombillifereae, Labiateae, Compositeae, ect ...) en renferment en quantités plus ou moins importantes (HANS, 1977). Les Labiateae ou Lamiaceae est une famille qui comprend plusieurs genres et espèces renferment des huiles essentielles (Guittomeau et Huon, 1993).

En Algérie, les huiles essentielles sont utilisées généralement sous forme de plantes fraîches ou sèches. Ces plantes poussent à l'état spontané, elles sont récoltées d'une manière anarchique.

Dans cette optique, Le but de notre contribution consiste à mettre en évidence l'effet biocide de extrait aqueux et l'huiles essentielles de l'Origan (*Origanum glandulosum*) plante très prisée pour ses diverses qualités vis-à-vis d'un modèle biologique ravageur des denrées entreposés *Tribolium sp* en vue de minimiser l'utilisation des insecticides de synthés pour lutter contre ce ravageur dans les stocks algériens.

CHAPITRE I

**GENERALITES SUR LES
BIOPESTICIDES ET L'ORIGAN**

Origanum glandulosum Desf

Chapitre I : Généralités sur les biopesticides et l'origan *Origanum glandulosum* Desf.

I. Les biopesticides

Introduction

La protection de l'environnement commence de plus en plus à être imposée comme une préoccupation mondiale majeure. Dans le domaine de l'agriculture, l'utilisation des pesticides chimiques a contribué positivement à limiter les pertes dues aux ravageurs, maladies et mauvaises herbes sans se soucier de leurs effets négatifs sur l'environnement (sol, eau...) et même sur la qualité des produits consommés (présence de résidus). Dans ce sens, l'introduction de la lutte intégrée a été un challenge par la concurrence d'utilisation de bio-pesticides à base de substances naturelles et de microorganismes, l'utilisation de prédateurs et de parasitoïdes ainsi que les méthodes dites physiques pour minimiser l'agressivité des espèces nuisibles ((Vincent et Coderre, 1992, Silva *et al.*, 2001).

1. Définition

On regroupe sous le vocable « biopesticides » des produits allant des substances minérales comme le soufre, le sulfate de cuivre, le phosphate de fer ; des substances organiques naturelles extraites de plantes comme la pyrèthrine, la roténone, la nicotine et les azadiractines ; des phéromones et des micro-organismes tels que les bactéries (*Bacillus thuringiensis*), les champignons (*Beauveria bassiana*), les virus (Baculovirus) et les nématodes, (Fravel, 2005).

Les biopesticides d'origine microbienne sont utilisés pour contrôler une maladie ou un ravageur. La littérature rapporte de nombreux travaux réalisés à travers le monde en plein champ et sous serre pour le contrôle d'un certain nombre de maladies causées par des pathogènes telluriques, foliaires ou de post-récoltes (Saravanakumar *et al.*, 2007). Chez la plupart de ces organismes biopesticides, l'activité antagoniste a souvent été associée à la production de métabolites secondaires (Silva *et al.*, 2001).

Les pesticides biochimiques sont des substances qui sont synthétisées naturellement pour contrôler les organismes nuisibles par des mécanismes non toxiques. Ils comprennent des substances telles que les phéromones sexuelles des

insectes qui interfèrent dans l'accouplement ainsi que des extraits variés de plantes parfumées qui attirent les insectes nuisibles dans les pièges (Ranasingh nirakar, 2007). Les phéromones les plus couramment utilisées pour la protection des cultures sont les phéromones sexuelles, qui sont impliquées dans la reproduction des insectes (Royal, 2000). Elles sont le plus souvent émises par les femelles pour attirer les mâles en vue de l'accouplement (Milaire, 1987). Plusieurs familles de molécules sont identifiées comme phéromones, parmi lesquelles, des dérivés d'acides gras, d'alcaloïdes et de terpènes (Strebler G., 1989; Howse *et al.*, 1998).

Un autre volet concerne l'utilisation de biopesticides d'origine végétale dans un programme de lutte intégrée, pour prévenir ou réduire les dégâts causés par les ennemis des cultures.

2. Diversité des produits biologiques.

2.1. Les biocides d'origine botanique

La pharmacopée est en grande partie issue des plantes, même si les laboratoires ont par la suite isolé les molécules intéressantes et appris à les synthétiser. De même, des substances insecticides issues du monde végétal ou animal ont supplanté des produits très toxiques utilisés auparavant comme le DDT et les organochlorés, en réduisant drastiquement les effets secondaires. Plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées d'après les propos de Grainge et Ahmed en 1988.

Dès l'Antiquité, les Chinois, les Grecs et les Romains utilisaient des plantes ou extraits de plantes avec du soufre et de l'arsenic. Il a été rapporté que les Romains utilisaient des poudres préparées à partir de *Veratrum* sp. Comme insecticides et rodenticides tandis que des extraits d'ifs (*Taxus baccata*) ont été utilisés par certains peuples de l'hémisphère nord (Schmutterer, 1992). Sous les tropiques, l'utilisation du neem (*Azadirachta indica* Juss. Meliaceae) est répertoriée depuis au moins 4000 ans selon Larson, (1989) et Weinzeirl, (1998).

2.2. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances ou extraits de certains végétaux extrêmement puissants. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme

sous produits du métabolisme secondaire. Les huiles essentielles sont extraites des plantes par divers procédés dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation (Esseric, 1980 ; Martel, 1977) et la pression mécanique à froid. Le choix de la méthode d'extraction dépend de la qualité recherchée et de la nature du matériel végétal à extraire. Les huiles essentielles sont de véritables concentrés de substances aromatiques et de principes actifs, d'où leur administration à des doses extrêmement faibles. Quelques gouttes suffisent pour agir sur l'ensemble de l'organisme ou sur un système ou un organe spécifique (Toth et *al.*, 2003).

Les huiles essentielles des plantes font partie ces dernières années des voies les plus explorées dans la régulation des ravageurs. Leur application dans la protection des stocks a fait l'objet de nombreux travaux. Leur toxicité s'exprime de différentes manières : activités ovicide, larvicide, anti-nutritionnelle et inhalatoire (Vincent et *al.*, 2000 ; Regnault-Roger et Hamraoui, 1995). Les huiles essentielles de certaines plantes sont utilisées pour leurs activités de contact et inhalatoire qui n'offrent pas souvent le même degré d'efficacité selon la cible visée (Habiba, 2007).

Les huiles essentielles sont des complexes naturels de molécules volatiles et odorantes, synthétisées par les cellules sécrétrices des plantes aromatiques. Celles-ci les conservent dans des poches au niveau de certains organes (Duquenois, 1968) On y trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux grandes familles chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Azevedo et *al.*, 2001) comme par exemple dans les feuilles du basilic, dans les fleurs de rose, dans le fruit du citron, dans les graines de coriandre, dans l'écorce de la cannelle et, pour certaines plantes, c'est dans les racines tels que pour l'ail) (Jacques et Paltz, 1997).

Avec les terpènes, on peut trouver dans les huiles essentielles des aldéhydes, des cétones, des phénols, des lactones, et des esters, (Alilou, et *al.*, 2008) Plus récemment, il a été démontré que de nombreux constituants terpénoïdes d'huiles essentielles végétales sont toxiques au contact, pour un large éventail d'insectes et peuvent être utilisés comme insecticides d'origine végétale (Muhannad, et *al.*, 2002). Les plus puissants sont le thymol, extrait de thym (*Thymus vulgaris*, Lamiacées), la

pulégone, extraite de menthe pouliot (*Mentha pulegium*, Lamiacées) et l'eugénol, extrait du clou de girofle (*Eugenia caryophyllus*, Myrtacées) (Regnault-Roger, 2005).

2.3. Extraits aqueux

Les substances d'origine végétale ont toujours constitué une source majeure pour l'élaboration de nouvelles substances aux propriétés thérapeutiques. Dans cette optique, l'utilisation d'extraits de plantes dotées d'activités insecticides offre une certaine potentialité (Larew et Locke, 1990 ; Gomez, et al., 1997)

En 1997, Ranasingh rapporte que 2121 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, 297 possédant des propriétés répulsives, 27 avec des propriétés attractives et 31 avec des propriétés de stimulateurs de croissance.

Le développement des futurs biopesticides d'origine végétale, est une méthode plus saine et écologique pour la protection des plantes (Niber, 1994, Gottlieb, et al., 2002).

Les extraits d'algues confèrent également une protection des plantes contre les attaques des insectes (Booth, E., 1966, Cluzet, et al., 2004).). La fécondité de certains insectes serait aussi réduite suite à l'application de ces extraits d'algues. L'infestation des racines par les nématodes est aussi réduite en présence d'extraits d'algues, ces extraits jouant sur le taux de fécondité des nématodes.

3. Importance des biopesticides d'origine végétale.

La demande en produits phytosanitaires appelés à un meilleur avenir sans danger, de faible rémanence et qualifiés de produits verts est actuellement en hausse (Philogene et al., 2005).

Dans les produits verts, les composés secondaires considérés comme étant un moyen de défense de la plante productrice contre divers organismes pathogènes et ravageurs sont très nombreux, variés, et certains sont largement distribués, comme les alcaloïdes, les terpènes et les tanins, tandis que d'autres ont une répartition plus restreinte comme les composés soufrés (Auger et Thibout, 2002 ; Benayad, 2008). Les phytoecdystéroïdes ou analogues des hormones de mue des

insectes représentent une classe particulière (200 représentants) (Dinan *et al.* , 2001, Marion-poll *et al.* , 2002) tel que le 20-hydroxyecdysone qui est toxique sur les espèces d'insectes à 2-25 ppm (Dinan, 1989 ; Blackford et Dinan, 1997). Mondy *et al.* , (1997) ont également démontré que les phytoecdystéroïdes ont un effet sur la croissance et la reproduction des insectes.

Les substances soufrées des végétaux comme ceux des *Allium spp* dont les effets toxiques sont connus depuis longtemps, montrent par ailleurs de multiples activités (Grainge et Ahmed,1988 ; Auger et Thibout , 2002 ; Cabidoche *et al.* ,2005) contre les bactéries *Erwinia carotovora* et *Agrobacterium tumefaciens* et plusieurs espèces de *Pseudomonas spp.* et de *Xanthomonas spp* selon Auger et Thibout , (2002).

II. Données bibliographiques sur la plante étudiée *Origanum glandulosum*

1. Historique

Lorsque la civilisation islamique était à son apogée, les médecins utilisaient déjà l'origan et ses huiles pour traiter les maladies infectieuses. Dans les années 1600, l'herboriste britannique Gérard faisait la promotion de l'origan comme traitement idéal du rhume (Anonyme, 2006).

2. Introduction et description

L'origan est le nom commun pour des aromes et saveurs principalement dérivés d'une multitude de genres et d'espèces utilisés partout dans le monde comme épice, ce genre est dérivé du nom grec: **oros** (montagne ou colline), et **ganos** (ornement). Au moins 61 espèces de 17 genres appartenant à six familles sont mentionnées sous le nom de l'origan. La famille Lamiaceae (Labiatae) est considérée comme le groupe le plus important du genre qui fournit la source des épices bien connues d'origan. Deux genres de la famille de Verbenaceae (Lanata et Lippia) sont employés pour la production des herbes d'origan. Les autres familles (Rubiaceae, Scrophulariaceae, Apiaceae et Asreraceae) ont une importance limitée. Cependant, nous rencontrons fréquemment les herbes des familles mentionnées ci-dessus sous le nom de l'origan sur le marché (Bernath, 1996).

3. Classification (Dobignard, 2008 In Belyagoubi, 2006)

Règne : Plantae

Famille : Lamiaceae

Genre : *Origanum*

Espèce : *Origanum glandulosum*.

4. Caractéristiques botaniques

Il existe plus de 3000 espèces de Labiateae répartie sur le globe terrestre dont la majorité se rencontre dans la région méditerranéenne : *Thymus*, *Lavandula*, *Rosmarinus* (Guignard, 1986).

L'*Origanum* est une plante vivace, aromatique à tige dressées, semi-ligneuse à tige dressée, entièrement poilue, grêle à section quadrangulaire de 20 à 80 cm de haut (Mahmoudi, 1986). C'est une plante robuste herbacée appartient a la famille de lamiaceae, (Dobignard, 2008 In Belyagoubi, 2006) appelée également *Origanum hirtum Batt* selon Quezel et Santa, (1963). Cette espèce pousse bien dans les sols calcaires. Ses feuilles sont gris vert, lisses et odorantes et présente une inflorescence en épis dense avec des fleurs comportent un calice tubuleux non bilabié à cinq dents courtes, une corolle blanche à lèvre supérieure marginée et à lèvre inférieure trilobée et quatre étamines divergentes .Le fruit est un tétrakène presque rond et sans albumen.

Dans les climats modérés, la période de floraison s'étend de mai à fin août. Chaque fleur produit, a maturité, quatre petites structures comme des semences. Le feuillage est parsemé de petites glandes contenant des huiles essentielles volatiles ou la plante qui donne son arôme et la saveur (Simon et *al.*, 1984).

5. Taxonomie et répartition géographique

- **Dans le monde**

Pendant les 150 dernières années, plus de 300 noms scientifiques ont été donnés à moins de 70 espèces, sous-espèces, variétés et hybrides actuellement identifiés, bases sur une palette diverse des caractères morphologiques, tels que la longueur des tiges, le nombre de glandes sessiles, les arrangements, le nombre et la

longueur des branches. Letswaart (1980) a identifié 3 groupes, 10 sections, 38 espèces, 6 sous-espèces et 17 hybrides. Depuis lors, 5 espèces supplémentaires (Duman et *al.*, 1995 ; Danin et Kunne, 1996), plus un hybride soulevant le nombre d'espèces à 43 et le nombre d'hybrides à 18 (Duman et *al.*, 1998).

Les membres du genre sont principalement distribués autour de la région méditerranéenne : 35 sur 43 se trouvent exclusivement dans l'est de la Méditerranée (Greuter et *al.*, 1986). La présence de quatre espèces est limitée à l'Ouest de la Méditerranée, tandis que trois sont endémiques à la Libye.

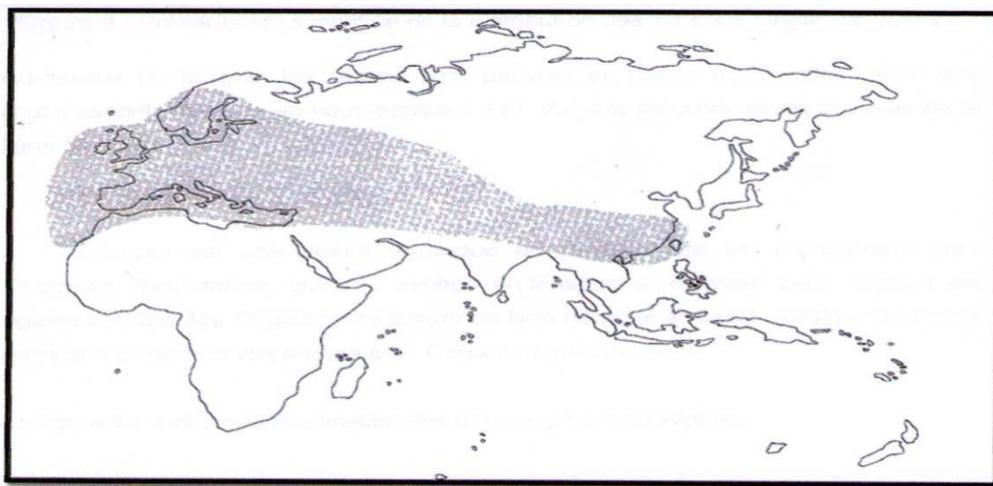


Figure 01 : Répartition géographique des espèces d'origan dans le monde (Pignatti, 1982).

- **En Algérie**

L'origan est une plante répandue en Algérie, elle est représentée par : *Origanum fforibundum*, qui une espèce endémique, également appelée *Origanum cinereum* de Noé (Quezel et Santa, 1963) ; et la sous espèce d'*Origanum vulgare* qui est *Origanum glandulosum*.

La figure 01 indique la localisation de l'origan en Algérie:

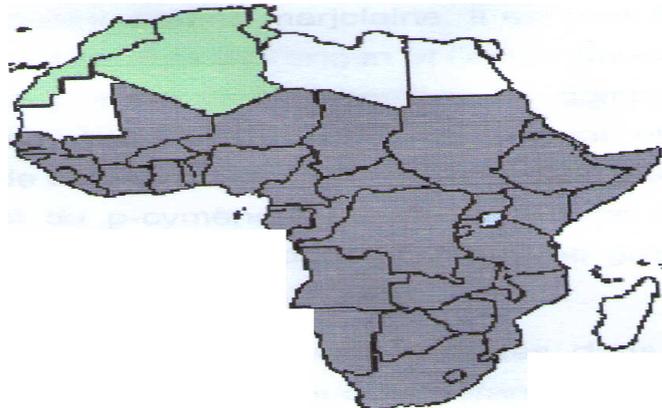
Origanum glandulosum

Figure 02 : Répartition de l'*Origanum glandulosum* (Alain Dobignard, 2008, In challal, 2009).

Origanum glandulosum est Commune dans tout le Tell. Endémique Algéro-Tunisienne, c'est une plante qui pousse dans les garrigues et les broussailles

6. Composition chimique

Le groupe le plus important, d'un point de vue d'application, se rapporte aux huiles volatiles de l'origan, fondamentalement composées de terpénoides. Cependant, la composition peut varier de manière significative parmi différents géotypes. Les espèces d'origan sont riches en mono terpènes phénoliques tels que le carvacrol et secondairement le thymol Il est tout à fait facile de distinguer la différence entre l'odeur piquante de l'origan et l'odeur douce de la marjolaine. Dans le premier groupe, il y a un certain nombre de composés chimiquement relatifs tels que γ -terpinène, p-cymène, éthers de thymol et de carvacrol, thymol et acétates méthyliques de carvacrol, le p-cymène, le p-cymène-8-ol, l'ol du p-cymène-7, le thymoquinone et le thymohydroquinone. La cétone, c-thujène, Sabina de sabinène, sont présents dans le deuxième groupe (Skoula et Harborne, 2002).

D'autres groupes de produit chimique sont généralement détectés dans des espèces d'origan comme les monoterpènes acycliques tels que le géraniol, l'acétate géranylique, le linalool, l'acétate linalylique et le β -myrcène ; bornane-type composés tels que le camphène, le camphre, le bornéol, et le bornyle et l'acétate d'isobornyl ; et sesquiterpenoids, tels que le caryophyllène β , le β -bisabolène, le β -bourbonene, le germacrène-D, le bicyclogermacrène, le α -humulène, le α -muurolène, le γ -muurolène, le γ -cadinène, l'allo-dendrène aromatique, le α -cubebène, le α -copaène, le cadinol de α , l'oxyde de caryophyllène et le germacrène-D-4-ol.

L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de plusieurs espèces d'origan a permis d'identifier les composés majoritaires pour chaque échantillon analysé. Les résultats obtenus sont indiqués dans le Tableau 1.

Tableau 1: Principaux composés de certaines espèces d'Origan

Principaux Composés	Espèces	Références
Thymol et γ -terpinène et <i>cymène</i> et carvacrol	<i>Origanum glandulosum</i>	Bendahou et al. (2007)

CHAPITRE II

**GENERALITES SUR LES HUILES
ESSENTIELLES ET LES
METABOLITES SECONDAIRES**

Chapitre II : Généralités sur les huiles essentielles et les métabolites secondaires.

I. Les huiles essentielles.

1. Historique.

L'utilisation des huiles essentielles remonte à l'Antiquité. C'est autour du bassin méditerranéen que la science médicale va vraiment s'établir avec les grandes civilisations (égyptienne, babylonienne, puis grecque et romaine). Cependant, ce sont les textes égyptiens qui apportent les descriptions les plus détaillées. Les plantes étaient utilisées dans tous les domaines de la vie, pour fabriquer des parfums, des cosmétiques mais, aussi, pour l'embaumement des défunts. Cette dernière utilisation révèle la parfaite maîtrise par les Egyptiens des vertus antibactériennes et antiputrides de certaines huiles essentielles. Les pays arabes vont faire progresser considérablement l'aromathérapie. 1000 ans avant J.-C., les Perses semblent avoir inventé la distillation, mais il faudra attendre 2000 ans pour que ce procédé soit sensiblement perfectionné. C'est Ibn S'Ina (Avicenne), médecin et philosophe (980-1037), qui produit la première huile essentielle pure; c'est une huile essentielle de roses. Pour cela, il met au point un alambic. La distillation par la vapeur d'eau autorisait l'extraction d'huiles essentielles pures de très nombreuses plantes. Avicenne a écrit de nombreux ouvrages médicaux dans les quels il fait une large place aux huiles essentielles, (Anonyme, 2006).

L'extraction des huiles essentielles par distillation à la vapeur d'eau naît à l'époque de la révolution industrielle et permet le développement de produits alimentaires et des parfums. Au début du XX^{ème} siècle, des chercheurs (Chamberland, Cadéac, Martindale) démontrent, par leurs expérimentations, le pouvoir antiseptique des huiles essentielles. Mais les véritables «pères» de l'aromathérapie sont Gattefossé puis Valnet et ses disciples. R.M. Gattefossé, pionnier de la parfumerie moderne, en se brûlant les mains lors d'une explosion dans son laboratoire, a eu le réflexe génial de plonger ses mains dans un récipient rempli d'huile essentielle de lavande. Soulagé instantanément, sa plaie guérit avec une rapidité déconcertante. Etonné par ce résultat, il décide d'étudier les huiles essentielles et leurs propriétés. (Zhiri et Baudoux, 2005).

2. Définitions.

A partir de toute matière première parfumée et botaniquement définie, s'expriment des produits odorants d'un mélange organique dits huiles essentielles (Milpied, 2009). C'est un ensemble de substances huileuses complexes et très volatiles, rassemblées par un mode d'extraction, soit par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, par solvant, ou bien mécaniquement par distillation sèche à partir de l'épicarpe des Citrus par exemple (Bruneton, 1993).

D'après (Naves, 1974), aucune des définitions des huiles essentielles n'a le mérite de la clarté, ni celui de la précision. Cet auteur définit les huiles essentielles comme des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passant avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau.

La notion d'huile essentielle peut varier avec le point de vue auquel se placent des personnes de formations professionnelles aussi dissemblables que des botanistes, des phytochimistes, des industriels, des parfumeurs ou des pharmacologues (Belaiche, 1979). Les composés volatils des huiles essentielles ont la propriété de se solubiliser dans les huiles et les graisses, et par la même occasion ont reçu empiriquement le nom d'huile essentielle. Le terme « huile » souligne le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances et le terme « essentielle » désigne la caractéristique principale de la plante à travers ses exhalaisons (Bernard et al., 1988).

La nouvelle Encyclopedie Punk & Wagnalls,2004 In Amada, 2011), décrit des huiles essentielles en tant que liquides volatils, la plupart du temps insolubles dans l'eau, mais librement solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles végétales.

3. Localisation des huiles essentielles dans la plante :

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs comme chez les labiées odorantes renfermant presque toutes une huile essentielle. Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : les fleurs, les feuilles et moins souvent les écorces, les bois, les racines, les rhizomes, les fruits et les graines.

Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation. Dans le cas de l'orange amer, par exemple, le zeste fournit « l'essence de Curaçao », la fleur fournit « l'essence de Néroli » et les feuilles, ramilles et petits fruits « l'essence du petit grain bigaradier ». La composition de ces trois huiles essentielles est cependant très différente (Bruneton, 1999).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante. On distingue des cellules à huiles essentielles chez les lauracées, des poils sécréteurs chez les lamiacées et les labiées, des poches sécrétrices chez les myrtacées et les rutacées et les canaux sécréteurs chez les opacées ou des astéracées (Bruneton, 1993).

Néanmoins, il existe des structures tissulaires spécialisées pour leur sécrétion : cellules sécrétrices isolées ou épidermiques, poils épidermiques, poches sécrétrices comme pour les agrumes, et canaux excréteurs (Bendriss, 2003).

La biosynthèse terpénique de ces essences se déroule au niveau du compartiment cytosolréticulum endoplasmique (Douglas *et al.*, 1995).

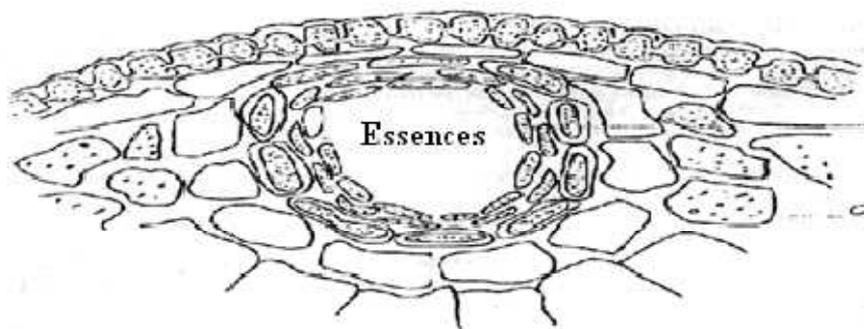


Figure 03. Poches sécrétrices des essences aromatiques chez les végétaux (Bendriss, 2003).

De façon générale, les huiles essentielles sont présentées en très petites quantités : 1 à 2 % de la matière sèche au maximum.

4. Fonction des huiles essentielles

La fonction des terpénoïdes des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure. Il est toutefois vraisemblable qu'ils ont un rôle dans le domaine des interactions végétales (comme agents allélopathiques, notamment inhibiteurs de germination) et aussi dans les interactions végétales-animales: protection contre les prédateurs (insectes, champignons) et attraction des pollinisateurs (Bruneton, 1993)

5. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

Qualitativement selon Bruneton (1999), les huiles essentielles varient selon l'espèce, la variété (origine botanique), selon le cycle végétatif et la génétique d'une plante, et selon l'environnement à savoir : le sol, la lumière, le climat, les prédateurs et microorganismes adhérents au végétal. En outre, l'époque de la récolte qui est liée au cycle physiologique d'une plante, ainsi que la technique et le temps d'obtention influent directement les rendements en huiles essentielles (Flück, 1977).

- **Les dénominations trompeuses du matériel végétal.**

En effet, une huile essentielle doit avant tout autre chose être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue (Garnéro 1976 ; 1991).

- **Influence du cycle végétatif**

Des variations importantes peuvent se produire au cours du cycle végétal autant en ce qui concerne le rendement et la composition chimique en huile essentielle (Garnéro, 1991).

- **Influence des facteurs extrinsèques**

Il s'agit de l'incidence des facteurs de l'environnement (Garnéro, 1996) et des pratiques culturales (L'apport d'engrais et l'influence des variations N, P, K, régime hydrique), la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime de vents exercent une influence directe, (Bruneton, 1999).

- **La récolte du matériel végétal**

Le ramassage du matériel végétal pose très souvent le problème de la contamination par d'autres espèces végétales surtout s'il s'agit de plantes à croissance rapide ou de végétaux qui poussent dans des lieux où se trouvent de

nombreuses autres espèces végétales (Garnéro, 1991 ; 1996).

- **Les transformations du matériel végétal**

Le matériel végétal qui va subir l'hydrodistillation n'est pas toujours traité immédiatement. Des modifications physiques et biochimiques dues à l'action de l'air, du soleil, de l'échauffement en tas peuvent se produire et se révéler fâcheuses pour la qualité de l'huile essentielle, surtout s'il s'agit de fleurs (Garnéro, 1996).

- **Les hybridations ; Les facteurs de mutation, la polyploïdie et les aberrations chromosomiques**

Les hybridations introduisent l'hétérogénéité dans un peuplement végétal (Garnéro, 1991). Une race chimique peut apparaître par mutation. Ce cas a été signalé avec l'exemple pour le Houblon (*Humulus lupulus* L.). Dans la plupart des cas, la polyploïdie augmente les rendements en huile essentielle comme dans le cas du Carvi de la Menthe et de la Camomille) (Garnéro, 1991).

- **Le polymorphisme chimique**

On entend par chimiotype, le type chimique d'une plante classé en fonction du constituant majoritaire de ses huiles essentielles. Par ailleurs, on entend par chimiotype mixte ou intermédiaire, le type chimique d'une plante classé en fonction de deux ou plusieurs constituants majoritaires de prépondérances voisins. (Benmansour, 1998 In Bekhchi- Benhabib, 2001).

Pour une même espèce botanique, il peut exister plusieurs races chimiques ou «chimiotypes». Il est parfois utilisé l'expression de «formes physiologiques» (Garnéro, 1991).

- **Influence du procédé d'obtention**

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

Il faut enfin signaler que la cinétique de distillation n'est pas la même pour tous les constituants d'une huile essentielle (carbures, alcools, cétones, etc.), la composition du distillat varie en fonction du temps (Bruneton, 1999). Aussi, d'après HAYA et AMOUR, (1992) ; la composition des huiles essentielles est variable selon le genre, l'espèce et l'organe considéré (racine, écorce, fruit, feuille, fleur etc...).

6. Propriétés physiques des huiles essentielles :

- Liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes. Très rarement colorées, ce sont « des liquides d'odeur et de saveur généralement fortes » (Wichtl et Anton, 1999).
- Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart devient la lumière polarisée. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels, entraînaibles à la vapeur d'eau, très peu solubles dans l'eau.
- D'après Budavari et O'Neil (1996) ; Smith et *al.* (1996), la solubilité du thymol dans différents solvants est donnée dans le tableau 2.

Tableau 02 : Solubilité du thymol dans différents solvants (Budavari, 1996)

1 g de thymol	Eau	Ethanol	Chloroforme	Huile d'olive	Ether
	1 litre	1 ml	0.7ml	1.7 ml	1.51

Ce sont des produits très odorants, âcres, caustiques, non visqueux, et volatils à température ambiante. Ils sont sensiblement solubles à l'eau, et très solubles à l'alcool et l'éther où ils forment des esprits ou teintures (Edouard et Méneville, 1838). A l'état solide ou en cristaux, les huiles essentielles ont un point de fusion et un point de congélation précis (Garnero, 1985). Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C. (Duraffourd et Lapraz, 2002).

De densité généralement inférieure à 1 car la plus dense reste l'huile essentielle de wintergreen à 1,187 (Duraffourd et Lapraz, 2002), Ce sont des liquides mobiles entraînaibles à la vapeur d'eau (Roux, et Cartier, 2007).

Généralement incolores, hydrophobes, inflammables, et oxydables (Milpied, 2009).

7. Structure chimique des huiles essentielles :

La diversité des composés chimiques des huiles essentielles fait intervenir 3000 constituants de structures confondues. A coté des composés majoritaires (de 2 à 6 généralement) on trouve d'autres composés à l'état de traces. Tous se répartissent sur deux grands groupes ; entre terpènes et composés aromatiques dérivés du phényle propane (Bruneton, 1999). En outre, il est admis que divers molécules comme certains carbures, acides...etc. sont entraînés lors de la distillation ; voir des impuretés comme les pesticides utilisés à la culture qui peuvent se retrouver dans une huile essentielle (Milpied, 2009).

a) Les terpènes :

Ce sont des molécules bioactives, hydrocarbures naturels issues du métabolisme secondaire des végétaux, à formule brute de $(C_5H_x)_n$ dont x vari de 1 à 8 selon l'insaturation de la molécule (Malecky, 2008). A la base, ils dérivent d'une condensation « tête à queue » d'un nombre variable d'unités isopréniques (figure 2) $(C_5H_8)_n$ à une ou plusieurs fonctions chimiques distinctes et des masses moléculaires peu élevées (Gaucher et Lusson, 2000).

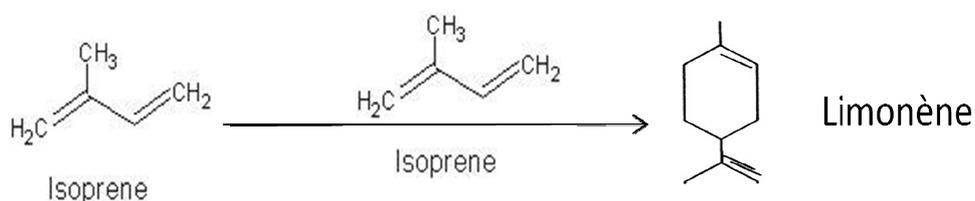
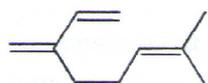


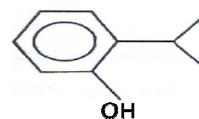
Figure 2 : Biosynthèse du limonène (Malecky, 2008).

Parmi les terpènes les plus rencontrés dans les huiles essentielles :

- **Les mono-terpènes (figure 3)** : Leur précurseur est le géranyl pyrophosphate (Malecky, 2008). Ils représentent le premier maillon de biosynthèse des terpènes des végétaux (Milpied, 2009). Ils peuvent être un carbure acycliques comme le « myrcène », monocyclique tels que le « thymol », et bicyclique voir le « Camphre » à fonction cétone (Bruneton, 2007).



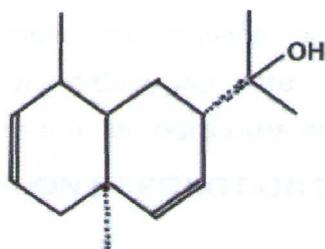
Acyclique: Myrcene



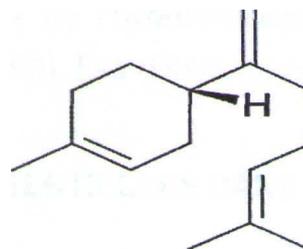
Monocyclique: Thymol

Figure 3 : Exemple des composants monoterpéniques.

- **Les sesquiterpènes (figure 4)** : A trois unités isopréniques (C_5H_8)₃, ils sont l'objet d'une ou de plusieurs cyclisations et réarrangements, soit monocycliques comme le « Atlantone » à fonction cétone, bicyclique comme le « Carotol » à fonction alcool, ou polycycliques (Milpied, 2009).



Beta-

Eudesmol
bisabolène**Figure 4** : Exemple des composants sesquiterpéniques.

b) Composés aromatiques dérivés du Phényl-propane :

Ce sont des allyles et des propényl phénols responsables de l'arôme des essences. Comme les terpènes, ces composés sont classés selon leurs fonctions (Lutige *et al.*, 2002). Moins fréquents que les précédents, ils dérivent du phénylpropane C_6-C_3 (Milpied, 2009). Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpenoïdes, ce sont des arènes issues d'une voie métabolique secondaire dite de l'acide shikimique lui-même intermédiaire de la synthèse de la Lignine à partir du phénylpropane.

Les composés sont néanmoins importants sur le plan qualitatif et quantitatif chez certaines espèces. Par exemple, le trans-anéthol qui est la molécule responsable en grande partie de l'arôme d'anis, constitue environ 80% de l'huile essentielle de fenouil (1 - 3 % d'essence), et d'anis vrai (3% d'essence). Les dérivés

phénylpropanoïques et les terpénoïdes sont associés en nombre et en proportions très variables de telle sorte que le produit est hétérogène et complexe sur le plan chimique. Ils sont biosynthétisés au sein des mêmes organes sécréteurs où ils forment l'essence naturelle.

c) Composés d'origines diverses

Lors de la préparation des huiles essentielles, certains composés aliphatiques, de faible masse moléculaire, sont entraînés lors de l'hydrodistillation (carbures, acides, alcools, aldéhydes, esters ...) (Bruneton, 1999). Les différents composés sont assez stables aux températures ambiantes.

8. Toxicité des huiles essentielles

La toxicité chronique des huiles essentielles est assez mal connue. On connaît par contre beaucoup mieux le risque de toxicité aiguë lié à une ingestion massive, en particulier la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyone (thuya, absinthe, sauge officinale, tanaïsie) ou à pinocamphone (hysopé). Ces cétones induisent des crises épileptiformes, des troubles physiques et sensoriels nécessitant l'hospitalisation. Les principes actifs sont des substances chimiques bien définies qui ont une action sur la physiologie animale. Ils jouent par ailleurs un rôle important dans la résistance des plantes aux insectes (Partes et *al.*, 1998).

9. Les procédés d'obtention des huiles essentielles :

On estime plusieurs modes d'extraction des essences naturelles, parmi lesquels :

a) La distillation :

Illustré par Garnier en 1891, elle sert à séparer l'huile essentielle des autres composés naturels selon la divergence de densité, elle demeure un mode d'extraction ancien et efficace malgré la possibilité d'entraîner des molécules indésirables (Bruneton, 1993). Elle sépare les principes volatils d'un mélange, de ceux qui ne le sont pas, selon les propriétés de ses vapeurs qui après chauffage à ébullition dans une enceinte d'eau, se condensent sur les parois plus froides d'un récipient relié à cette enceinte (Duraffourd et Lapraz, 2002). On parle d'hydrodistillation indirecte quand le végétal baigne à l'eau bouillante, et directe ou « D'entraînement à la vapeur » si le végétal est traversé par un courant de vapeur

d'eau. Dans les deux cas l'huile est entraînée vers le haut et récupérée par décantation (Boukhatem, 2010).

b) L'extraction par solvant :

Extraction chimique qui consiste à séparer une substance donnée d'un mélange par un solvant où la molécule cible est très soluble. L'espèce à extraire abandonne ce mélange par diffusion pour se dissoudre dans le solvant où sa solubilité est plus grande, ce dernier s'évapore et quitte la solution après passage au rotavapeur ou au Soxhlet (Bendriss, 1997 ; Biallo *et al*, 2004 ; Yakhlef, 2010). Le choix du solvant est important car plusieurs facteurs causent la rupture solvant-solution aqueuse : structure moléculaire, composition ionique, température, sélectivité (Calvet, 2005).

c) Autres modes d'extraction des essences végétales :

- **Expression à froid:** Procédé mécanique. Par écrasement des péricarpes des fruits, en particulier ceux des Citrus ou en pressant carrément les fruits charnus, l'essence est séparée du produit par centrifugation (Martini et Seiller, 1999).

- **Enfleurage ou macération à chaud :** Consiste à extraire les principes aromatiques des plantes sur des corps gras jusqu'à saturation, et les récupérer après dissolution à l'alcool (Duraffourd et Lapraz, 2002).

Cependant, ces méthodes d'extraction malgré leurs avantages ne sont pas sans inconvénients (tableau 2).

Tableau 03 : Avantages et inconvénients des procédés d'extraction (Richard et Multon, 1992).

Procédés	Avantages	Inconvénients
Hydro-distillation	Essence concentré de bonne qualité	Evaporation
Expression	Essence non altérables de bonne qualité	Diffusion lente
Enfleurage	Pommade gardant la finesse de l'odeur	Cout très élevé
Solvant organique	Rendement élevé, essence olfactivement proche du végétal	Essences impures Evaporation et cyclisation

10. Rôles des huiles essentielles :

Malgré que le rôle physiologique exact des huiles essentielles reste inconnu, elles demeurent attractives d'insectes en matière de pollinisation, et protecteurs en étant répulsifs contre les prédateurs (Sallé, 1991), antiseptiques et inhibiteurs d'évaporation (Mainbeau, 1994).

Des propriétés thérapeutiques sont reconnues à l'usage d'un nombre important d'essences : antiseptiques vis-à-vis des germes pathogènes y compris les plus antibiorésistants, spasmolytiques et sédatives (Bruneton, 1999), antioxydantes en rapport à leur teneur en phénol (Seiller *et al.*, 2003).

11. Principales utilisations des huiles essentielles

Outre leur utilisation dans le domaine de la pharmacie et de la parfumerie, les huiles essentielles sont actuellement étudiées pour mieux cerner leur efficacité comme agents de conservation naturels pour les aliments. Plusieurs huiles essentielles, ont en laboratoire, une activité antimicrobienne avérée. Les études faites à travers le monde, montrent que les huiles essentielles peuvent être ajoutées à peu près à tous les aliments. Ainsi, les huiles essentielles d'origan, de thym, de cannelle ou de coriandre sont efficaces pour les viandes, les volailles, les charcuteries et les légumes; l'huile essentielle de menthe pour les produits frais (salades, yaourts ...); les huiles essentielles à base de carvacrol ou de citral pour les poissons; les huiles essentielles de thym, de noix de muscade ou de gingembre pour les céréales (plus particulièrement celles riches en carvacrol pour le riz); et les huiles essentielles à base de carvacrol pour les fruits. Moyennant des précautions d'usage, l'emploi des huiles essentielles lors de la transformation des aliments peut présenter un triple intérêt: aromatisant, antioxydant et antimicrobien (Oussalah *et al.* 2007).

Ce sont surtout des industries chimiques qui utilisent des isolats (substances pures isolées des huiles essentielles) comme matières premières pour la synthèse de principes actifs médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, etc. (Bruneton 1999). Les métabolites issus des plantes sont récemment utilisés comme de nouveaux pesticides synthétiques comme la toxaphene (insecticide et herbicide). (Bruneton, 1993).

12. Intérêt économique des huiles essentielles provenant des plantes aromatiques et médicinales

Les espèces qui existent en Algérie sont nombreuses. Il a été sélectionné celles considérées comme les plus importantes retenues sur la base des critères suivants :

- L'importance économique : (produit à forte valeur ajoutée).
- La présence plus ou moins abondante de l'espèce.
- La spécificité de l'espèce, localisation dans une région particulière, intérêt de la population et savoir faire local.

L'inventaire des espèces et leur localisation est donné dans le tableau 4.

Tableau 04 : Intérêt économique des PAM les plus fréquentes. (Source: Intégration de l'agriculture à l'OMC, rapport principal 1999 In Challal, (2007)).

Plante	Localisation	Prix \$/ 5Kg (huiles essentielles)
<i>Pistacia lentiscus</i>	Tell, littoral et montagnes	213
<i>Origanum glandulosum</i>	Blida, Médéa, Djelfa	106
<i>Juniperus oxycedrus</i>	Djelfa, Tamanrasset	83,5
<i>Myrtus communis</i>	l'atlas tellien	134
<i>Pinus haJepensis</i>	largement répandu du littorale a la steppe	135

La Mitidja, et plus particulièrement la région Blidéenne était réputée pour l'extraction d'essences de fleurs d'oranger, de jasmin, de roses et de géraniums.

La multiplication de ces espèces est facile à entreprendre, leur exploitation permettrait de produire des quantités importantes de matières premières exigées pour la transformation et l'extraction des principes actifs ; ce qui aura aussi pour effet de diminuer les collectes et ainsi préserver la biodiversité.

Ces espèces font partie du patrimoine socioculturel, leur vertus et utilisations sont transmises de génération en génération, trouvant ainsi un fort ancrage dans nos sociétés. Les plantes aromatiques ne sont pas en reste. Selon les régions, chaque saison a sa particularité et ses senteurs. Dans les traditions familiales, il est coutumier de recourir à des extraits d'essences de fleurs. Ces parfums embaumaient

les demeures, parfumaient les gâteaux, les convives en étaient aspergés à leur arrivée.

II. Métabolites secondaires.

Les plantes produisent un grand nombre de composés, dont, jusqu'à il n'y a pas très longtemps, on ne connaissait pas le rôle pour la plante. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent de réaction chimiques ultérieures. On les appelle donc des métabolites dont un bon nombre d'entre eux ont un rôle défensif pour les plantes (Baux et *al.* 1996).

1. Classification des métabolites secondaires

1.1. Classes de métabolites secondaires.

Les plantes sont capables de produire de très nombreux métabolites secondaires qui sont classés selon leur structure chimique. A l'inverse des métabolites primaires, les métabolites secondaires ne sont pas synthétisés de manière uniforme dans le règne végétal. Un métabolite secondaire particulier est souvent spécifique à quelques espèces. Trois grandes catégories de métabolites secondaires ont été définies : les composés phénoliques, les isoprénoides et les composés azotés.

2. Voies de biosynthèse.

Le métabolisme secondaire des plantes est lié au métabolisme primaire par cinq voies métaboliques principales: la voie de l'acide shikimique, de l'acide malonique, de l'acide mevalonique, des acides aminés (Taiz et Zeiger, 1998) et du G3P (Glycéraldéhyde-3-phosphate intracellulaire) via la voie des pentoses phosphates (Contin et *al.*, 1998). Les précurseurs principaux de la plupart des métabolites secondaires sont l'acétyl-CoenzymeA, l'erythrose-4-phosphate, le phosphoénolpyruvate, les acides aminés, le pyruvate et le 3-phosphoglycérate.

3. Caractéristiques des alcaloïdes.

Les métabolites secondaires synthétisés par *C. roseus* font partie de la famille des alcaloïdes.

Les alcaloïdes sont une sous famille de composés azotés qui désignent l'ensemble des composés azotés produits par les plantes qui ne sont pas classés dans les sous familles suivantes: peptides, acides aminés non protéiques, amines, glycosides cyanogéniques, glucosinolates, cofacteurs, phytohormones ou métabolites primaires (comme les purines et les pyrimidines qui sont des précurseurs des acides nucléiques). En général, ces composés possèdent au moins un atome d'azote hétérocyclique. Actuellement, la structure chimique d'environ 16000 alcaloïdes est connue. Environ 20 % des espèces de plantes produisent des alcaloïdes (Memelink et *al.*, 2001). Les alcaloïdes ont en général une activité biologique et à ce titre, ils entrent dans la composition de nombreux médicaments comme principe actif.

Les plantes les utilisent pour la plupart d'entre eux dans leur système de défense contre les herbivores et les pathogènes (Caporale, 1995; Wink, 1999), car ces composés sont toxiques.

3.1. Biosynthèse. La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acides aminés tels que le tryptophane, l'ornithine, la lysine, l'asparate, l'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines qui sont couplées à d'autres squelettes carbonés. La strictosidine et la norcoclaurine sont deux composés centraux source de la moitié des alcaloïdes connus.

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I

MATERIELS ET METHODES

Chapitre I : Matériels et méthodes.

Introduction

Notre travail est constitué de trois parties principales :

La première concerne la préparation des extraits bruts des huiles essentielles à partir de la plante (origan) choisie pour l'étude du pouvoir insecticide (avec les deux compartiments feuilles et fleurs).

La seconde partie est consacrée à l'étude du pouvoir insecticide des extraits aqueux et des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de l'espèce végétale aromatique et médicinale l'origan (*Origanum glandulosum*) vis-à-vis du *Tribolium* insecte coléoptère ravageur des denrées stockées.

I. Matériel d'étude

I.1. Matériel biologique.

L'espèce utilisée dans notre étude est le *Tribolium* coléoptère ravageur très commun dans les céréales et leurs dérivés au niveau des stocks. Les *tribolium* sont des insectes appartenant à l'ordre des Coléoptère, sous ordre *polyphage* super-famille *Cucujoidae*.

Ce sont des *Ulominea* de la famille des *Tenebrionidae* qui appartiennent au genre *Tribolium*, celui-ci comprend cinq espèces dont deux sont particulièrement importantes selon (Lepesme, 1944) : *Tribolium confusum* Duv. et *Tribolium castaneum* Herbst.

1.1.1 Etude du genre *Tribolium*.

Le genre *tribolium* se compose de petits coléoptères extrêmement connus à travers le monde (Lepesme, 1944). Leur taille varie de 3 à 4 mm de long et sont de couleur marron plus ou moins foncé (Balachowsky, 1951).

Selon Lepesme (1944), ces insectes sont peu actifs et se nourrissent de produits de mouture. Ils se dissimulent de préférence dans les recoins obscurs *Tribolium confusum* Duv et *Tribolium castaneum* Herbst. sont deux espèces semblable d'aspect et de taille identique, se distinguant par la forme de leurs antennes. Chez *T. confusum* Duv, les antennes vont en s'élargissant régulièrement de la base au sommet, tandis que chez *T. castaneum*_Herbst., les trois derniers articles sont nettement plus gros et forment une sorte de massue. D'autre part le

rebord de la tête déborde latéralement le niveau de l'œil chez la première espèce contrairement à la seconde.

***Tribolium castaneum*.**

De couleur brun rougeâtre. Il est reconnaissable par la distinction très nette des trois parties du corps (tête, thorax et abdomen). Les trois derniers articles des antennes plus gros et formant une massue. Il infeste le riz, le maïs, le sorgho, le millet, les légumineuses, le manioc et la farine de manioc et l'igname. Les adultes et les larves se nourrissent surtout des brisures et attaquent les grains endommagés ou les germes des grains.

***Tribolium confusum*.**

De couleur plus foncée et de taille un peu supérieure à *T. castaneum*. Les derniers articles des antennes s'élargissent sans former de massue. Il ya présence de crête au-dessus des yeux. Il se rencontre sur les mêmes denrées que *T. castaneum* et occasionne les mêmes dégâts que *T. castaneum*.

I.2. Matériel végétal

Nous avons sélectionné pour notre étude une plante appartenant à une famille botanique connue par ses qualités pharmaceutiques. Il s'agit de l'origan *Origanum glandulosum*. Le choix de cette espèce de plante a été basé sur sa disponibilité, son usage en pharmacopée traditionnelle locale et ses propriétés insecticides relatées dans la littérature.



Fig. 07: feuille de l'origan (original)



Fig. 08 : fleurs de l'origan (original).

II. Méthodologies

II.1. Préparation des extraits aqueux (figure 5).

Les parties aériennes des plantes de l'origan *O. glandulosum* ont été récoltées entre mai et juin 2011 avant et après la floraison. Ces dernières sont séparées par compartiment (feuilles et fleurs), étalées et séchées à l'ombre puis rangées dans un sac jusqu'au moment de leur utilisation. Après l'opération de séchage, chaque partie du végétal (feuilles et fleurs) a été subit un broyage afin d'obtenir une poudre plus ou moins fine à l'aide d'un mixeur puis cette poudre a été tamisée.

Le procédé d'extraction utilisé au cours de cette expérimentation est la macération aqueuse qui consiste à maintenir la poudre du matériel végétal en contact avec l'eau à une température ambiante pendant un temps plus ou moins long. Dans le but de faire libérer et extraire toutes les molécules actives existantes chez la plante étudiée, nous avons pris 20g de poudre végétale de chaque compartiment (feuilles et fleurs) que nous avons ajouté à 250ml d'eau distillée stérile. Les solutions obtenues sont mises dans des flacons hermétiquement fermés, stériles et enveloppés par un papier aluminium. Ces flacons ont ensuite été placés sur un agitateur horizontal pendant 72 h à la température du laboratoire. Au total, nous avons eu 2 flacons, chaque flacon est représenté par une solution de macération de feuilles et l'autre pour par une solution de macération de fleurs de l'origan.

Après 72 heures, les homogénats ont été filtrés à l'aide du papier filtre Wattman dans des bouteilles en verre stérile de 250ml, entièrement couverte par du papier aluminium afin d'éviter toute dégradation des molécules actives par la lumière.

L'extrait pur obtenu est conservé ainsi au réfrigérateur à 4°C jusqu'au moment de son utilisation ultérieure.

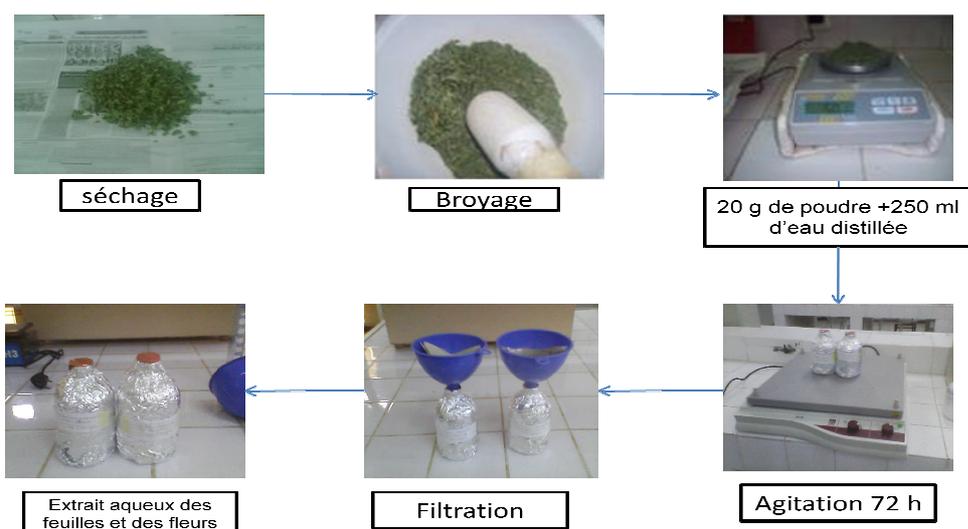


Figure 09 : Les différentes étapes pour la préparation des extraits aqueux des feuilles et des fleurs de l'origan.

II.2. Extraction de l'huile essentielle de l'origan par entraînement à la vapeur d'eau.

II.2.1. Matériel végétal

Les parties végétales utilisées pour extraire les huiles essentielles de l'origan sont les feuilles et les fleurs.

L'installation qui sert à l'extraction de l'huile essentielle de l'origan par entraînement à la vapeur d'eau (figure 6) comprend essentiellement :

Un erlen meyer de deux litres remplie à $\frac{3}{4}$ d'eau déposée sur une plaque chauffante, et relié à une ampoule à décanter qui est rattachée à un ballon de 1000 ml contenant la matière végétale par un tube en verre qui sert à faire passer les courants de vapeur. Ce ballon est relié à un réfrigérant où se condense la vapeur d'eau chargée d'huile essentielle. Le réfrigérant est alimenté par un système de refroidissement (l'eau de robinet) qui permet d'obtenir et de maintenir une température constante comprise entre 10 et 15°C. Ce réfrigérant est attaché par une ampoule à décanter pour la récupération d'huile.

a. Mode opératoire.

On introduit respectivement, 140 g de l'origan dans un ballon et on alimente par un courant de vapeur d'eau après avoir assuré la bonne installation de l'appareillage et le bon fonctionnement du dispositif de montage. Après

condensation, les constituants volatils entraînés par la vapeur d'eau sont récupérés dans la partie terminale de l'appareillage.

On sépare les deux phases d'huile-eau en utilisant deux méthodes :

1. Une décantation directe. Alors que l'émulsion d'eau et d'huile est soumise à une extraction liquide-liquide avec de l'éther diéthylique. Après distillation sous vide dans l'évaporateur rotatif, on récupère d'une part le solvant et d'autre part l'huile essentielle.
2. Ou par voie manuelle ; on met le produit final (obtenu par extraction) dans une pipette fine. On remarque que l'huile essentielle monte en haut et l'eau reste en dessous, puis avec le robinet de la pipette on fait descendre longuement en gardant uniquement notre huile. Enfin, on récupère l'huile essentielle de l'origan pour le compartiment considéré (feuilles et fleurs dans des tubes à essai bouchés afin que l'huile ne s'évapore pas).

Il est à remarquer que nous avons utilisé l'origan (les feuilles et les fleurs) séché pour l'extraction.



dispositif d'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau

Figure 10. Dispositif d'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau. (Original).

II.3. Evaluation de l'activité insecticide des l'extrait aqueux et huiles essentielles de l'origan (feuilles et fleurs)

II.3.1. Le choix des doses

C'est à partir des extraits aqueux, que nous avons préparé la gamme des

concentrations pour l'étude du pouvoir insecticide. Nous avons choisi d'effectuer les tests sur l'extrait pur, la dilution 1/2 et la 2^{ème} dilution ; 1/4 (1 quart d'extrait et 3 quarts d'eau).

A partir des huiles essentielles obtenues, nous préparons les doses à tester après dilution dans le tween 80 (diluée 1%). Nous avons utilisé le tween 80 comme témoin à cause de l'absence de l'activité insecticide et comme diluant pour former des microémulsions et donc l'homogénéisation de la solution d'huiles essentielles. Nous avons utilisé les doses suivantes (1 µl/ml ; 2 µl/ml ,4 µl/ml ,8 µl/ml ,10 µl/ml) :

- première dose ; 1µl de H E + 999 µl de Tween (3% diluée).
- 2 ième dose ; 2 µl de H E + 998 µl de Tween (3% diluée).
- 3 ième dose ; 4 µl de H E + 996 µl de Tween (3% diluée).
- 4 ième dose ; 8 µl de H E + 992 µl de Tween (3% diluée).
- 5 ième dose ; 10 de H E + 990 µl de Tween (3% diluée).
- Témoin : tween (3% diluée).

II.3.2. Application des bioessais des différents phytoextraits.

Afin d'évaluer l'effet insecticide des différents traitements, nous avons choisi le mode d'action par inhalation. La méthode de l'imprégnation de papiers filtres a été utilisée pour évaluer la toxicité par inhalation des extraits aqueux des feuilles et des fleurs avec l'huile essentielle de ces deux compartiments.

Des papiers filtres de 9 cm de diamètre sont imprégnés chacun de 1ml d'une solution de l'extrait aqueux des feuilles et des fleurs et de l'huile essentielle des deux compartiments d'une concentration donnée. (Témoin imprégné avec tween (3% diluée) dans le cas de test d'efficacité de l'huile essentielle).

Après séchage à l'air libre pendant 5 mn, les papiers filtres sont placés dans des boites de pétri de 9 cm de diamètre et de 1.8 cm de hauteur. Dans chaque boite sont déposés 30 individus de l'insecte cible (*Tribolium sp*). Les boites de Pétri sont recouvertes avec de la moustiquaire pour éviter la fuite des insectes.

Pour chaque extrait aqueux (des feuilles et des fleurs) nous avons utilisé trois doses et pour l'huile essentielle (des feuilles et des fleurs), nous avons utilisé cinq doses. Trois répétitions sont réalisées pour chaque dose de même que pour le témoin.

La mortalité des insectes est observée 4 jours après traitement afin de déterminer la DL50 selon la méthode de Finney (1971).

II.4. Exploitation des résultats

L'efficacité d'un produit biocide est évaluée par la mortalité de l'organisme cible. Cependant, le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tués par ce toxique. Il existe en fait dans toute population traitée une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par le toxique, pour cela les pourcentages de mortalité doivent être corrigés par la formule de *Schneider- Orelli* qui est la suivante $MC = 100 * (M-MT)/(100*MT)$, avec MC (%) qui est le pourcentage de mortalité corrigée, M (%) le pourcentage de morts dans la population traitée et M t (%) le pourcentage de morts dans la population témoin. Les pourcentages de mortalité corrigée ont servi à calculer les concentrations létales 50.

II.4.1. Calcul des doses létales 50

L'efficacité d'un toxique se mesure par la DL50 qui représente la quantité de substance toxique qui entraîne la mort de 50% d'individus d'un même lot. Elle est déduite à partir du tracé d'une droite de régression, prenant en compte les probits des valeurs des mortalités corrigées en ordonnées par le biais de la table de BLISS in CAVELIER (1976), et les logs décimaux des doses en abscisse. Les pourcentages de mortalité corrigée sont transformés en probits selon la table des probits. Ces probits sont représentés graphiquement en fonction du logarithme népérien afin d'évaluer la dose létale 50 (DL50) déterminée à partir de l'équation de la droite de régression obtenue en utilisant le logiciel Excel : $Y = ax + b$, Y étant le probit de la valeur de la mortalité corrigée, x le logarithme décimal de la dose, et a la pente de l'équation de la droite de régression. On déterminera la dose qui correspond à un probit de 5 (50% de mortalité) d'où la DL50.

II.4.2. Estimation de la toxicité des traitements

L'évaluation de l'effet toxique des traitements à base des phytoextraits ont été estimés par la comparaison des abondances exprimées en pourcentages des populations résiduelles (PR) selon le test de Dunnett. Le pourcentage des

populations résiduelles du *Tribolium* est exprimé par le rapport du nombre de formes vivantes dans les lots traités sur le nombre de formes vivantes dans les lots témoins exprimé en pourcentage. Les différents pourcentages de PR obtenus permettent de déduire de la nature de la toxicité des substances contenues dans les phytoextraits utilisés (figure 6).

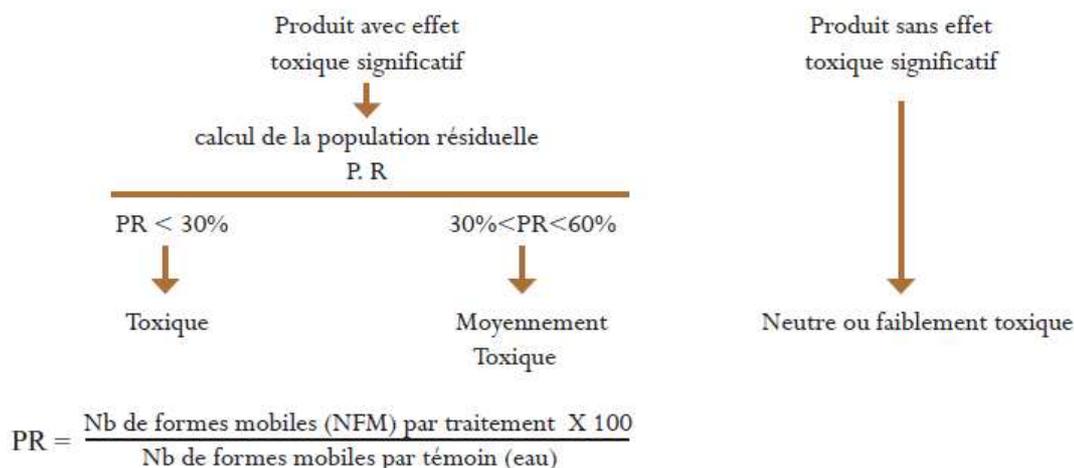


Figure 7: Schéma indiquant l'évaluation des pourcentages de populations résiduelles ainsi que les effets toxiques après traitement (d'après le test de Dunett).

II.4.3. Analyses univariées et multivariées

Nous avons réalisé une analyse de variance lorsque le problème était de savoir si la moyenne d'une variable quantitative (Pourcentage des populations résiduelles du *Tribolium*) variait significativement selon les conditions. Dans les cas où plusieurs facteurs sont en jeu (doses utilisées, effet temporel, compartiment de la plante, nature des phytoextraits) nous avons utilisé le modèle linéaire global (GLM) de l'analyse de la variance indiqué dans la suite des programmes dans le logiciel systat vers.12, pour connaître explicitement l'effet d'un facteur indépendamment.

Dans le cas de variables quantitatives de type phytoextrait testé-doses, nous avons eu recours à une A.C.P (Analyse en composantes principales). La classification hiérarchique des facteurs lignes ou colonnes se fait en considérant les coordonnées sur les premiers axes, de telle sorte qu'au moins 50 % de la variance cumulée soit observée. La distance euclidienne basée sur les mesures de similarité entre variables a été prise en compte avec le logiciel PAST (PAST vers. 1.37, Hammer *et al.*, 2001).

CHAPITRE II

RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. Evolution des populations résiduelles du *Tribolium* sous l'effet de l'extrait aqueux de l'origan.

L'application des différents traitements à base des phytoextraits des solutions aqueuses des feuilles et des fleurs de l'origan s'est traduite par des modifications des effectifs des populations du *Tribolium* dans le temps par rapport aux populations des témoins.

II.1.1. Evolution des populations résiduelles du *Tribolium* sous l'effet de l'extrait aqueux des feuilles de l'origan.

Les pourcentages des populations résiduelles obtenus avec les extraits de feuilles aux doses d2 et d3 se rapprochent sensiblement de ceux des témoins non traités. Les abondances de l'insecte ne commencent à diminuer qu'au bout de 72h. L'application de la dose d1 des extraits foliaires entraîne en revanche une nette diminution qui est progressive à partir de 48h (figure 8) jusqu'au 4eme jour de l'exposition des populations aux traitements.

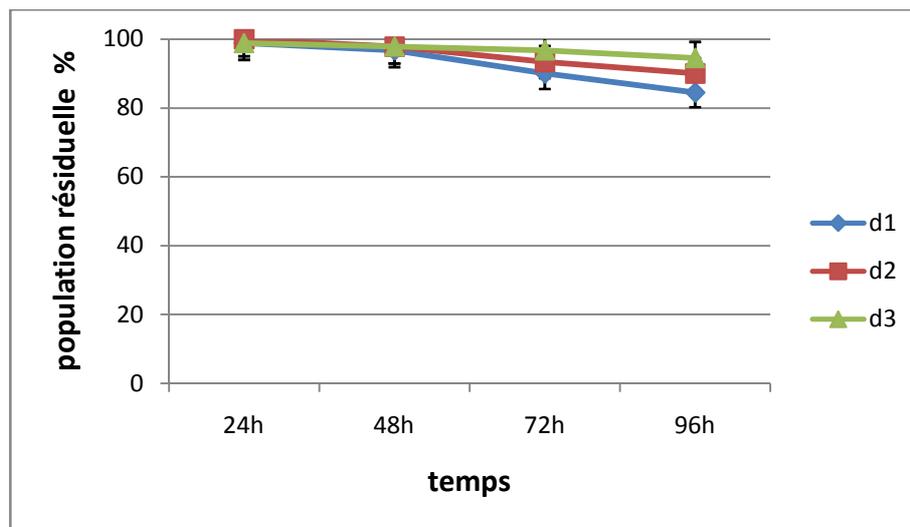


Figure 11. : Evolution temporelle des populations résiduelles du *Tribolium* après exposition à un traitement à base des extraits aqueux foliaires de l'origan.

II.1.2. Evolution des populations résiduelles du *Tribolium* sous l'effet de l'extrait aqueux des fleurs de l'origan.

Les traitements à base des extraits de fleurs de l'origan n'ont pas engendré de baisse du niveau des populations du *tribolium* quelque soit la dose testée. On remarque que les populations résiduelles restent identiques à celles des témoins et

se maintiennent à un niveau stable sauf au 4eme jour où les populations ont baissé en effectifs mais avec un pourcentage supérieur à 80% (figure 9).

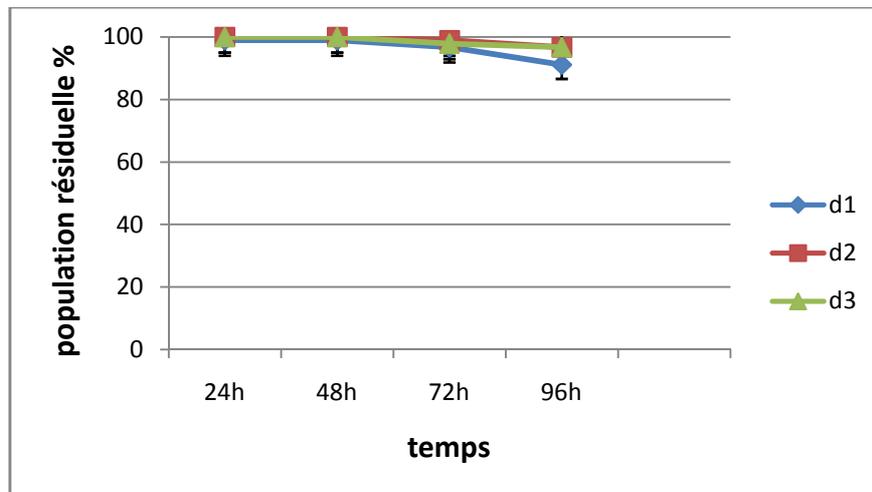


Figure 12. Evolution temporelle des populations résiduelles du Tribolium après exposition à un traitement à base des extraits aqueux des fleurs de l'origan.

II.2. Evolution des populations résiduelles du tribolium sous l'effet des huiles essentielles de l'origan.

II.2.1. Evolution des populations résiduelles du tribolium sous l'effet des huiles essentielles extraites des feuilles de l'origan.

Les résultats de l'évolution des populations résiduelles sous l'effet des traitements à base des huiles essentielles des feuilles de l'origan sont représentés dans la figure 10.

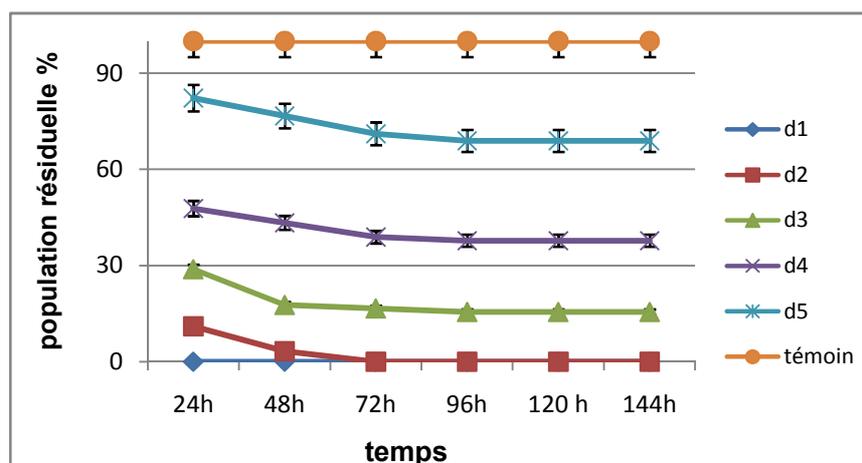


Figure 13. Evolution temporelle des populations résiduelles du Tribolium après exposition à un traitement à base des huiles essentielles des feuilles de l'origan.

On constate de manière globale que les pourcentages des populations résiduelles diminuent sensiblement entre 24h et 72h sous l'effet des substances volatils de l'huile extraite des feuilles, puis il apparait une stabilité des abondances dans le temps (figure 10). La dose d4 testée de l'huile a conduit à une diminution notable des pourcentages de populations résiduelles en dessous de 60%. Ce sont surtout les applications des doses d2, d3 et d5 qui ont affecté le plus les populations du Tribolium dont le niveau des survivants a été réduit en dessous de 30%.

II.2.2. Evolution des populations résiduelles du tribolium sous l'effet des huiles essentielles extraites des fleurs de l'origan.

Comme pour les huiles essentielles des feuilles, les effets des huiles essentielles extraites des fleurs se manifestent sur les insectes dès 24h après application des traitements (figure 11). Pour toutes les doses testées, on remarque que les abondances des populations diminuent jusqu'au 3eme après l'application des huiles de fleurs de l'origan par inhalation. La dose d1 n'a donné qu'une faible réduction des abondances qui restent proches de celles des témoins. En revanche, les doses d4, d3, d2 et d5 ont conduit à de meilleurs effets selon un ordre décroissant d'efficacité (figure 11). Des effets de choc frappants de l'huile extraites des fleurs sont remarqués notamment avec les doses d2 et d5 respectivement après 24h de l'application.

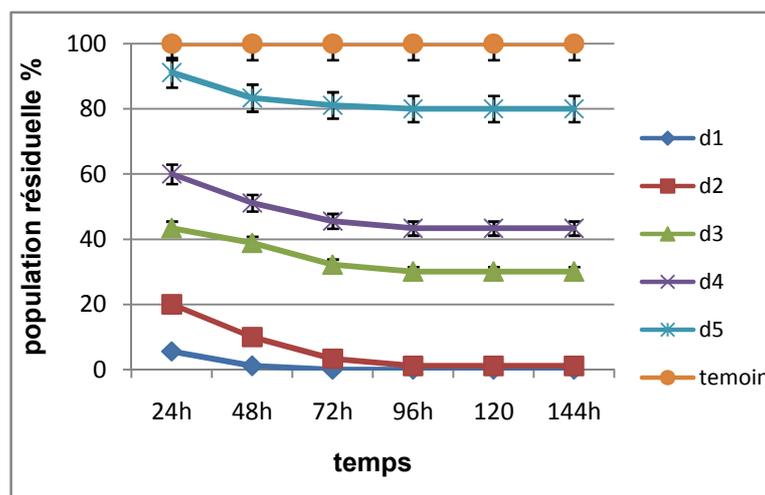


Figure 14. Evolution temporelle des populations résiduelles du Tribolium après exposition à un traitement à base des huiles essentielles des fleurs de l'origan.

II.3. Analyse de la toxicité globale des phytoextraits et des huiles essentielles.

Nous avons appliqué le modèle général linéaire (G.L.M.) de l'analyse de la variance (tableau 4), de manière à étudier séparément les effets des doses, l'effet temporel et l'effet de compartiments sous l'application des extraits aqueux et des huiles essentielles d'origan *sur le Tribolium sp*

Tableau 05. Résultats de la comparaison des moyennes des pourcentages de populations résiduelles du Tribolium sous l'effet temporel des doses et des différents phytoextraits utilisés. ** *: Probabilité très hautement significative à 1 %.

Source	Somme des carrés	ddl	Moyen des écarts	F-ratio	P
TEMPS	876.625	3	292.208	25.218	0.000***
DOSE	32571.683	6	5428.614	468.492	0.000***
EXTRAIT	16059.988	3	5353.329	461.995	0.000***
Erreur	590.958	51	11.587		

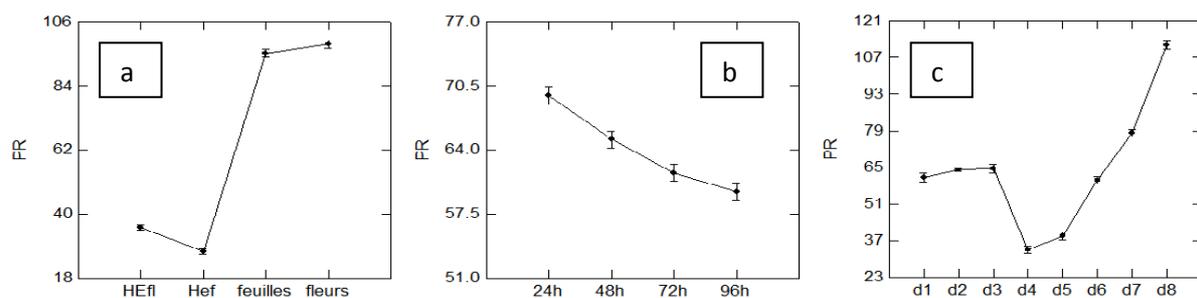


Figure 15. Variation de la toxicité des phytoextraits utilisés en fonction du temps, des doses d'application sur les populations résiduelles du Tribolium.

On peut remarquer d'après le tableau 05 et la figure 15 que les effets de chaque facteur étudié présentent des différences très hautement significatives. Les populations résiduelles sont très réduites sous l'effet des huiles essentielles des feuilles de l'origan, puis celles des fleurs alors que l'effet des extraits des solutions obtenues après macération des feuilles et des fleurs ont donné une efficacité presque nulle d'après nos observations (figure 15 a). Quelque soit le traitement, on peut observer sur la figure 15 b que les niveaux des populations résiduelles du tribolium diminuent progressivement après un effet choc 24h après les applications. Les doses les plus efficaces semblent être d4 et d5 (figure 15 c).

II.4. Evaluation temporelle de l'efficacité globale des phytoextraits des solutions aqueuses et des huiles essentielles de l'origan.

Une analyse en Composantes Principales a été réalisée à partir des données des populations résiduelles sous l'effet des différentes doses appliquées.

L'axe 1 (99,69%) représente les différents traitements effectués et l'axe 2 montrant le plus faible pourcentage de contribution des variances aux informations (0,62%) représente les temps d'exposition des différents temps après l'application des traitements par inhalation (figure 16).

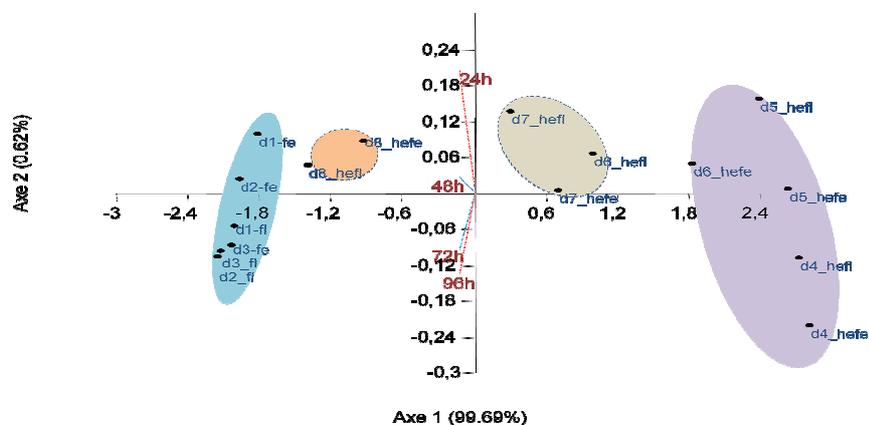


Figure 16 : Analyse en composantes principales (ACP) sur les variations temporelles des efficacités des traitements. (he : huile essentielle, fe : feuilles, fl : fleurs, d : différentes doses testées)

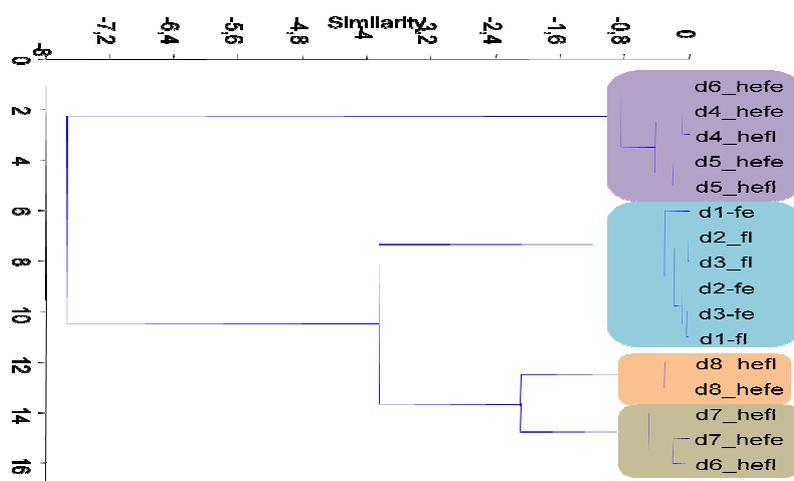


Figure 17. : Classification ascendante hiérarchique de l'échantillon de différentes doses testées sur les populations de Tribolium

Le dendrogramme obtenu à travers la classification ascendante hiérarchique basée sur la mesure de similitude de -1.6, affiche 4 groupes de statut homogène :

Le 1^{er} groupe renferme les doses d6 et d7 de l'huile essentielle des fleurs de l'origan ainsi que la dose d7 de l'huile essentielle des feuilles.

Le 2eme groupe est caractérisé par les doses ayant provoqué une toxicité élevée sur les populations résiduelles du tribolium qui ont engendré un effet de choc après 24h (figure 16 et 17).

Le groupe 3 regroupe les 3 doses utilisées de l'extrait aqueux des fleurs et des feuilles respectivement de l'origan.

Enfin, le groupe 4 affiche les doses des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de l'origan ayant manifesté une toxicité faible à neutre sur les populations du tribolium.

II.5. Analyse des DL50 des différents phytoextraits de l'origan

Les mortalités corrigées dans chaque bioessai ont été transformées en probits sur la base de la table des probits et les doses ont été transformées en logarithmes décimaux. A partir des courbes de régression, les DL50 sont calculées à partir des équations des droites obtenues.

II.5.1. DL50 des extraits aqueux des feuilles de l'origan.

Pour un probit de 5 correspondant à un effet létal de 50% de la population, nous avons obtenu pour l'extrait aqueux des feuilles une DL50 égale à 1, 77 g/ml (figure 18).

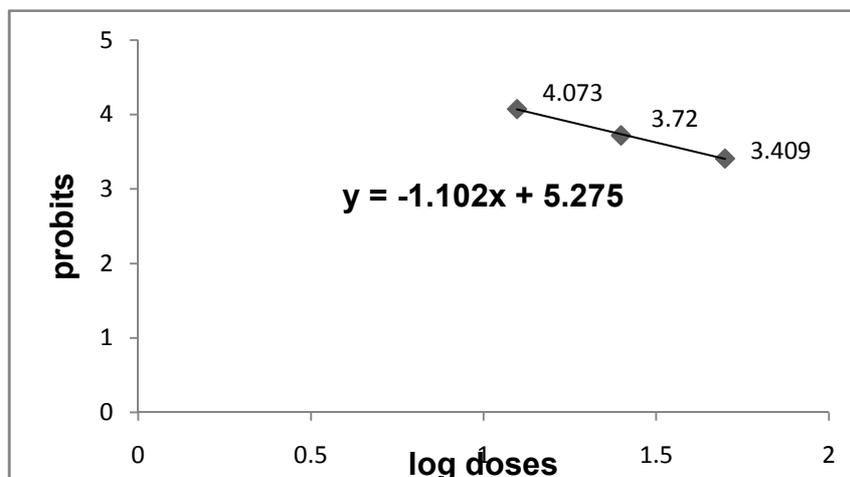


Figure 18. Calcul de la DL50 de l'extrait aqueux des feuilles de l'origan (DL 50 = 1, 77 g/ml).

II.5.2. DL50 des extraits aqueux des fleurs de l'origan

Pour un probit de 5 correspondant à un effet létal de 50% de la population, nous avons obtenu pour l'extrait aqueux des fleurs une DL50 égale à 4.57 g/ml (figure 19).

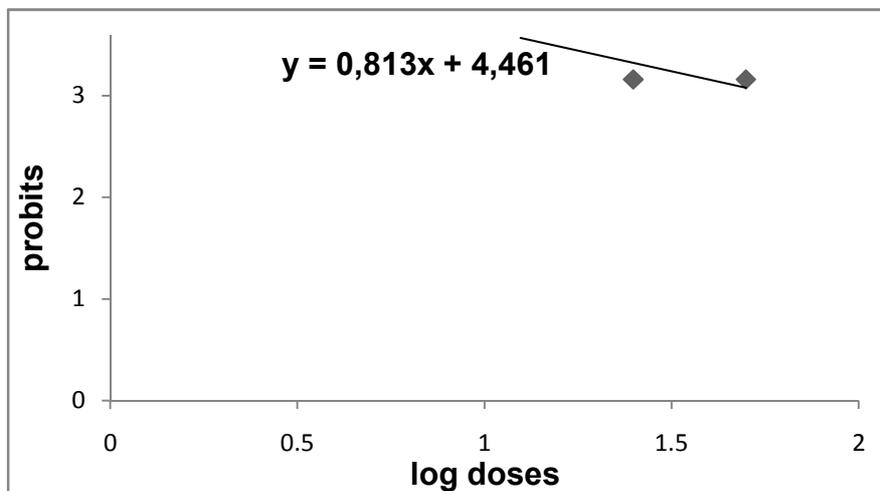


Figure 19 : Calcul de la DL50 de l'extrait aqueux des fleurs de l'origan
(DL 50 = 4, 57 g/ml)

Le DL50 obtenue montre que l'extrait aqueux des feuilles et des fleurs de l'origan a un effet neutre ou faiblement toxique par l'effet inhalation et dans notre cas on peut dire qu'il est inefficace. Cependant on remarque que l'extrait des feuilles a une activité insecticide plus toxique que les fleurs.

II.5.3. DI50 des huiles essentielles extraites des feuilles de l'origan

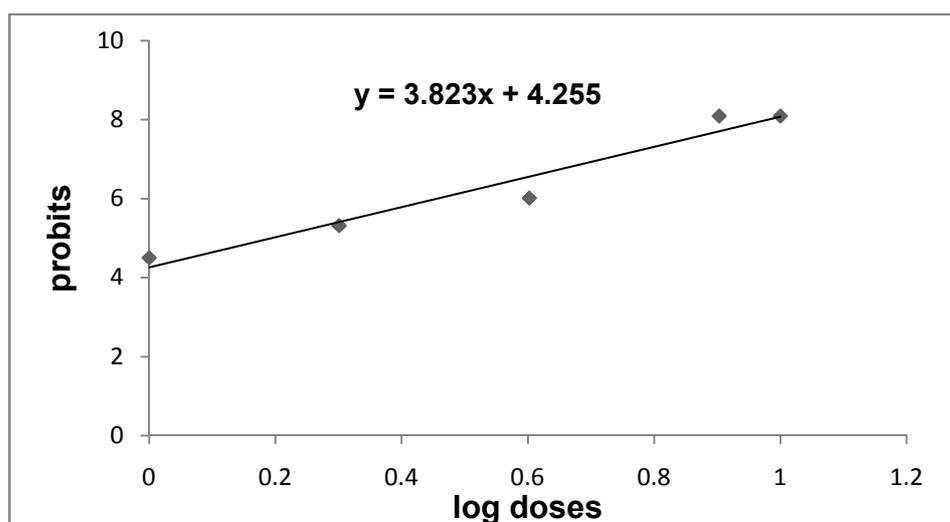


Figure 20 : Efficacité de l'huiles essentielles extraites des feuilles de l'origan sur le tribolium (DL 50 = 1, 56 µl/ml)

II.5.4. DI50 des huiles essentielles extraites des fleurs de l'origan

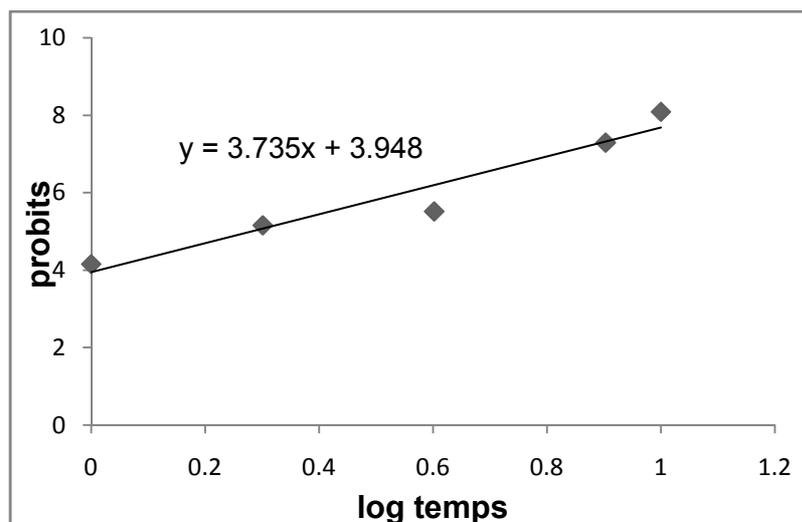


Figure 21: Efficacité de l'extrait aqueux des fleurs de l'origan sur le tribolium par
(DL 50 =1, 90 µl/ml)

Le DL50 obtenue montre que l'huile essentielle extraites des feuilles et des fleurs de l'origan a un effet toxique par l'effet inhalation avec une légère différence de toxicité des deux compartiments.

On remarque que l'huile essentielle des feuilles a une DL50 (1, 56 µl/ml) plus que huile essentielle des fleurs qui a DL50 (1, 90 µl/ml). Signifie que l'extrait des feuilles a une activité insecticide plus toxique que les fleurs

II.6. Discussion.

II.6.1. Effets des extraits aqueux de l'origan

A travers l'étude des effets insecticides de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle des feuilles et des fleurs d'*Origanum glandulosum* sur les populations du tribolium issues d'un élevage de masse sous les conditions de laboratoire, il nous a été permis d'obtenir les résultats suivants. Les extraits des feuilles et fleurs d'*O. glandulosum* causent une mortalité faible sur *Tribolium sp* au bout du 4^{ème} jour d'exposition aux traitements.

Les travaux de Boudjema (2008), qui montrent que *Salvia officinalis* et *Rosmarinus officinalis* ont une forte activité insecticide sur *Tribolium sp* où il a été enregistré une mortalité importante de 80 % chez les insectes traités par l'extrait de Sauge et 30 % chez ceux traités par l'extrait de Romarin.

Les résultats de l'analyse de la variance nous montrent que les trois facteurs «compartiment, dose et temps » ont un effet directe sur la mortalité de *Tribolium sp* pour *O. glandulosum*. Des réponses différent des populations de *T. castaneum* vis-à-vis des extraits des feuilles et fleurs de *O. glandulosum*, appliquées sous mode d'inhalation et dose, ces mortalités hétérogène et imprévisibles, peuvent être due à:

✓ Aux réactions physiologiques imprévues de l'insecte par la cuticule, Le rôle de la cuticule est de prévenir les pertes hydriques. Elle est sécrétée par l'épiderme et comporte plusieurs couches dont la couche externe, composée de cires donnant les propriétés hydrofuges à la cuticule. Les molécules de cette couche cireuse présentent une rangée de groupes aliphatiques vers l'extérieur créant ainsi une couche hydrofuge et imperméable (Wigglesworth 1972).

✓ A la qualité des extraits utilisés et des teneurs en principes actifs actifs contenus extraits du compartiment étudié, les proportion de ces composés varient non seulement d'une espèce a l'autre, mais également à l'intérieur de l'espèce selon l'organe, la variété le stade de développement et les conditions environnementales considérées (Bocher et *al.*, in boudjemaa,2008). Bonhiol en 1980,a montré que la composition chimique des feuilles varie suivant leur position au sommet ou à la base de la plante, de l'exposition l'heure du jour et la saison.

II.6.2. L'huile essentielle.

L'efficacité des huiles essentielles évoqua chez les chercheurs la curiosité de connaitre leur site d'action chez les insectes pour mieux cibler leur but ; dans ce sens, des expérimentations ont montré que les monoterpènes chez la blatte inhibent les cholinestérases, aussi les groupements soufrés agissent sur les canaux a potassium (Isman et *al.* 2001).

Nous avons évalué la toxicité de l'huile essentielle des feuilles de l'origan par inhalation à différents doses sur l'insecte *Triboliumum sp*. Les résultats obtenus ont montré que l'huile essentielle d'*O. glandulosum* cause une mortalité très élevée au bout du 4^{ème} jour d'exposition *aux traitements*.

Ces observations vont dans le même sens que celles indiquées dans le travail de Benkerara (2010) qui a montré que l'huile essentielle de l'origan (*O. glandulosum*) a

une forte activité insecticide sur *Sitophilus oryzae* avec une mortalité importante chez les insectes traités par inhalation.

Les résultats de l'analyse de la variance nous montrent que les trois facteurs «dose, compartiments et temps » ont un effet directe sur la mortalité de *Tribolium sp.* pour *O. glandulosum*. Ces réponses des populations de *Tribolium sp* vis-à-vis de l'huile essentielle de *O. glandulosum*, peuvent s'expliquer par :

- ✓ La nature lipophile de l'huile essentielle qui peut dégrader la couche cireuse de cuticule de l'insecte et causer des pertes en eau. Les trachées et les trachées et trachéoles des insectes sont enduits de cette couche cireuse et sont affectées par l'huile essentielle ce qui peut entraîner leur asphyxie (Wigglesworth 1972).
- ✓ Les composés toxiques ou allélochimiques dans l'huile essentielle. Plusieurs chercheurs montrent l'efficacité toxiques des monoterpènes, (Liska et al., 2010) ont en effet montré une activité de contact et de fumigation du 1.8 cineole, de l'eugénol et du camphre contre le *tribolium sp*.

Les doses nécessaires pour avoir 50% de mortalité des insectes sont variables d'un compartiment à un autre. Il ressort que l'origan a montré une efficacité plus importante (DL50=1, 56 µl/ml) pour les feuilles par rapport aux fleurs (DL50=1.90 µl/ml). Nos résultats corroborent ceux trouvés par Benkerara., (2010), qui a observé un taux de mortalité de 100% avec l'huile essentielle de l'origan à une concentration de 0.136mg/ cm³ par inhalation.

Lee et al., (2004), montrent que les huiles essentielles ayant une forte toxicité par fumigation sont riches en 1,8 cineole, et cet élément a été principalement retrouvé dans les quatre huiles testées de la lavande, du romarin, du thym et du laurier.

Khelfi (2007) cité par Benkerara (2010), signale la toxicité par inhalation de neuf huiles essentielles de plantes Algériennes (l'armoise, faux poivrier, genévrier, eucalyptus, origan, la menthe, romarin, thym, laurier) où la plus forte toxicité était enregistré chez la menthe.

Les activités insecticides des extraits d'huile essentielle des feuilles et des fleurs des *Myrtus communis* contre larves du moustique *Culex pipiens molestus* Forskal ont été déterminées, suivis de ceux d' *Origanum syriacum* L, *Mentha microcorphylla* Koch, *Pistacia lentiscus* L et de *Lavandula stoechas* L avec des valeurs de CL₅₀ égale 16, 36, 39, 70 et 89 de mg /litre respectivement, (Traboulsi et al 2002).

CONCLUSION

Conclusion.

Notre étude a été réalisée pour contribuer à la protection des céréales stockées en utilisant les biopesticides en vue de diminuer l'utilisation des produits chimiques de synthèse, comme il est rentre dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques et médicinales, qui nous nous somme intéressés a l'étude de l'activité insecticide des extrait aqueux (feuilles et fleurs) et l'huile essentielle (feuilles et fleurs) d'une plante spontané l'origan (*Origanum glandulosum*) sur le ravageur des denrées stockées *Tribolium sp.*

Les extraits aqueux de l'origan que se soit leurs compartiments sont extraites par la macération aqueuse et concernant leurs huiles essentielles nous avons extraire par entrainement à la vapeur d'eau.

Notre travail est complété par l'étude de l'activité insecticide de ces essences végétales par mode d'action inhalation.

Au terme de cette étude, nous pouvons conclure que l'application des extraits aqueux (feuilles et fleurs) par mode de traitement inhalation a montré :

➤ Des taux de mortalités qui dépendent de la dose, du temps et le compartiment de la plante étudiée. Ils sont faibles pour les traitements par inhalation avec une probabilité hautement significative qui c'est explique l'effet neutre des ces extraits que se soit leur compartiment.

➤ La population résiduelle augmente avec la dillution des dose avec une probabilité hautement significative .

➤ La dose létale varié selon la compartiment (feuilles ou fleurs). La plus représentable est obtenue chez les feuilles avec **DL 50** égale a **1, 77 g/ml**.

Pour l'application de l'huile essentielle dl'origan par inhalation nous pouvons montrer :

➤ Les huiles essentielles extraites par l'origan que se soit leurs compartiments présentent une action insecticide toxique par le mode d'application inhalation.

➤ Des taux de mortalités qui dépendent de la dose, du temps et le compartiment. Ils sont très élevés pour les traitements par inhalation avec une probabilité hautement significative.

➤ La population résiduelle diminue avec la dilution des dose avec une probabilité hautement significative.

➤ La dose létale varié selon le compartiments . La plus représentable est obtenue chez les feuilles avec **DL 50 égale a 1, 56 µl/ml.**

notre étude sur l'utilisation des plantes comme une alternative de lutte contre les insectes des denrées stockées nous a permis de remarquer que les huiles essentielles extraite des plantes peuvent constituer une source intéressante à exploitée pour diminuer l'utilisation massive des pesticides et établir un nouvelle méthode de lutte non polluante pour l'homme et la biosphère.

L'Algérie recèle un patrimoine végétales très riche, mais celui-ci est malheureusement peu exploite. Il convient donc de réaliser des enquêtes ethnobotaniques sur la flore Algériennes pour sélectionner les plantes à effet insecticide.

L'utilisation de substance végétales en tant que biopesticides dans la protection des denrées stockées contre les insectes a fait l'objet de nombreux études dans les conditions de laboratoire, des études a grande échelle seraient nécessaire afin de vérifier leur efficacité en situation de stockage réelle.

En fin, nous espérons que se modeste travail sera complité par autre travaux porté sur :

- ❖ La recherche d'une méthode adéquat telleque fumigation et l'ingestion.
- ❖ La réalisation des études toxicologiques , ecologiques et agro-economiques, de ces extrait avant leur application au niveau des silos de stokage.
- ❖ La mise en valeur de la matiere active de ces extraits, et quel est l'organe de l'insect ciblé.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Alilou, H., Akssira, M., Idrissi, Hassani, L.M., El Hakmoui, A., Mellouki, F., Rouhi, R., Boira, H., Blasquez, A. et Chebli, B., 2008 .Chemical composition and antifungal activity of *Bubonium imbricatum* volatile oil. *Phytopathol. Mediterr.* (2008) 47, 3–10.

Amada F., 2011. Evaluation de l'efficacité insecticide des substances (végétales) et un produit phytosanitaire contre la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (*Lepidoptera, Gelechiidae*). Thes. Ing. Blida ; 78 P.

Anonyme, 2006. « Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré ». Nutra News. Octobre 2006. P.2-14.

AUGER J, THIBOUT E, 2002- substances soufrées des Allium et des Crucifères et leurs potentialités phytosanitaires. *In* Regnault-Roger, C, Philogène, B J.R, Vincent C .Biopesticides d'origine végétale. Tec & Doc, Paris, pp 77-96.

Azevedo, N.R., Campos, I.F., Fereira, H.D., Prtes, T.A., Santos, S.C., Seraphin, J.C., Paula, J.R. et Ferri, P.H, 2001. Chemical variability in the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Phytochemistry*; pp: 733-736.

Bachir, K., 2011. Contribution a l'étude des huiles essentielles de trois especes de citrus : *sinensis cadenera*, *limon eureka*, *bergamiacastagnarro*. et leur pouvoir antifongique sur le *phytophthora infestans* (mont.) de bary. agent responsable du mildiou de la pomme de terre en algerie. Thèse de mastère Blida, 77 P.

Balachowsky A.S., 1966. Entomologie applique a d'agriculture, coleopteres, Ed. Masson et Cie. T1. V1. Paris. pp 1071-1096.

Baux, P., Marzouk H., Schonher J. et Rauer, H., 1996. Mobilite of organic compounds in plant cuticles as affected by structure and molar volumes of chemicals and plants species, *planta*, 199, pp, 404-412.

Bekhechi-benhabib C., 2001. Analyse d'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (Nunkha) de la région de Tlemcen et étude de son pouvoir antimicrobien. Thèse de magister, Algérie, Institut de Biologie - faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen.

Belaiche .A, 1979- traite de phytothérapie et d'aromathérapie .Ed. Maloine .Paris.

Belyagoubi, 2006 Effets de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Thèse de magistère Algérie, Institut de Biologie - faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen.

Benayad N., 2008- Les huiles essentielles extraites des Plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Eclair Département de Chimie Faculté des Sciences de

Rabat.Maroc.61p.

Bendahou 2007. Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation.

Bendriss. Houari, 2003 : *BENDRISS Houari thèse de magister en génie chimique ; valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de « Ruta chalepensis, et Marrubium vulgare » ; Université Hassiba BEN BOUALI – CHLEF. 133p.*

Benmeriem M. et Boureguig C. , 1996. Extraction des essences par l'hydrodistillation et par solvants volatils des feuilles de la sauge officinale. Thèse ing. INES chimie industrielle, blida, 97p.

Bernath J., 1996. 'Some scientific and practical aspects of production and utilization of oregano in central Europe,' *Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano* CIHEAM, Italy.

Biallo D., Sanogo R., Yasambou H. et autre (2004) Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae). *C. R. Chimie.* : 1073-1080p.

Blackford, M.J.P., Dinan, L.,1997- The effects of ingested 20-hydroxyecdysone on the larvae of *Aglais urticae*, *Inachisio*, *Cynthia cardui* (Lepidoptera: Nymphalidae) and *Tyria jacobaeae* (Lepidoptera: Arctiidae). *Journal of Insect Physiology* 43, pp: 315–327.

Booth, CO., 1964. Seaweed has possibilities apart from its fertiliser use. *The Grower* 62 pp: 442-443.

Bramley, P.M. (1997). Isoprenoid Metabolism. Dans : *Plant Biochemistry*, Academic Press, 416P.

Bruneton J., 2001 : Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 2^{ème} édition : Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 460, 462, 463, 464p.

Bruneton J., 1993. Pharmacoposie, phytochimie, plantes médicinales, 2^{ème} édition Lavoisier, pp : 385 - 623.

Bruneton J., 1999 : Pharmacoposie, phytochimie, plantes médicinales.
Ed. Tec & Doc. ; pp : 461 - 769.

Budavari (S.), O'neil (M. J), Smith (A.), 1996. *The Merk Index - Twelfth edition*, Whitehouse Station: *Merk and Co, INC*, 1996, 2350 P.

Cabidoche Y-M. Benoît M, Blanchart É, Fournet J, Lhoste P, Gautronneau Y, Langlais C, Taupier-letage B, Toribio A.2005- Faisabilité technique de l'agriculture biologique en Martinique : aspects généraux. IRD éd, pp 81-148.

Caporale, L.H. (1995). Chemical ecology : a view from the pharmaceutical industry. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92, 75-82.

Challal, R., 2009. Caractérisation de l'huile essentielle d'origan (*Origanum vulgare subsp glandulosum*) thèse ing. Blida, 95 P.

Cluzet, S., Torregrosa, C., Jacquet, C., Lafitte, C., Fournier, J., Mercier, L., Salamagne, S., Briand, X., Esquerré-Tugayé, MT., Dumas, B., 2004. Gene expression profiling and protection of *Medicago truncatula* against a fungal infection in response to an elicitor from green algae *Ulva spp.* Plant Cell Environ pp: 917-92.

Contin, A., van der Heijden, R., ten Hoopen, H. J. G., Verpoorte, R. (1998). The inoculum size triggers tryptamine or secologanin biosynthesis in a *Catharanthus roseus* cell culture. Plant Science. 139, 205-211.

Derriche R. et Benyoucef EH. , 1997. Séparation et analyse des extraits végétaux. Santé plus, N°55, Alger, 40-41.

Dinan, L., 1989- Ecdysteroid structure and hormonal activity. In: Koolman, J. (Ed.), Ecdysone: From Chemistry to Mode of Action. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, pp. 345–354.

Dinan, L., 2001. Phytoecdysteroids: biological aspects. Review. Department of Biological Sciences, University of Exeter, Hatherly Laboratories, Prince of Wales Road, Exeter, Devon, EX4 4PS, UK. Phytochemistry (2001) pp: 325–339.

Douglas J.; Garvey M.C.; & Croteau R., 1995: Terpenoid metabolism, the plant cell 7, USA, 1015-1026p.

Duman H., Ayteç Z., Ekici M., Karaveliogullari E.A., Donmez.A and Duran A., 1995. Three new species (Labiatae) from Turkey, *Flora mediterranea*, 5, 8, 221.

Duman H., Baser K.H.C. et Ayteç Z., 1998. Two new species and a new hybrid from Anatolia, *Tr. J. Botany*, p 22, 51.

Duquenois, P., 1968. L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie, leur normalisation et l'Europe du médicament. Parf. Cosm. Sov., pp: 414-418.

Duraffourd C., et Lapraz J.C., 2002 : Traité de phytothérapie clinique, médecine et endobiogénie, édition Masson, Paris, 827p.

Esseric, D.Y., 1980. Brevet Fr. n°8012239 in Koba K. 2003. Thèse de doctorat, Université de Lomé 172p.

Fluck H., 1977 : Herbes médicinales : petit guide panoramique. Edition delachaux et Niestlé SA, Paris .125p.

Fravel, D. R., 2005- Commercialization and implementation of biocontrol. Annu. Rev. Phytopathol.43 pp: 337-359.

Garnero J., 1985 : Abrégé de phytochimie, Edition Masson, Paris, 217p.

Garnero, J., 1976. Quelques problèmes rencontrés au cours de l'obtention, du contrôle et de l'étude de la composition d'une huile essentielle *Rivista Italiana*

EPPOS, pp. 105-125.

Garnero, J., 1991. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Editions techniques- Encyclopédie des médecines naturelles. (Paris, France), phytothérapie, Aromathérapie, C-2, pp. 2-20.

Garnero J., 1996. Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur, pp : 1-45.

Gaucher D., Duvachelle S. & Andrivon D., 1998 : Mildiou de la pomme de terre- le champignon évolue, la lutte aussi. Perspectives agricoles 236 :1-20p.

Gomez, P., Cubillo D., Mora, GA., Hilje, L., 1997. Evaluacion de posibles repelentes de *Bemisia tabaci*. II. Extractos vegetales. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*, p. 17–25.

Gottlieb, O. R., Borin, M. R. et Brito, N. R., 2002. Integration of ethnobotany and phytochemistry: dream or reality? *Phytochemistry* pp: 145-152

Boukhatem M-N., Hamaidi M-S., Hakim Y., Saidi F., 2010 : Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature et technologie*, Blida ; Algérie. 37-38-39p.

Grainge, M. et Ahmed, S., 1988. Handbook of Plants with Pest Control Properties. John Wiley & Sons, New York.

Greuter W., Burdet H.M. and Long G., 1986. *Med-Checklist*, Vol 3, Editions de Conservatoire de Jardin Botaniques de la Ville de Geneve, Switzerland.

Guignard, J.L., 1986 : abrégé de botanique 6^{ème} édit. MASSON Edit. Paris, 256p.

Guittomeau G. et Huon A., 1993. Connaître et reconnaître la flore et la végétation méditerranéenne. Edit Ouest France- Renués. France N°868.01.9.5.06.83, 221 p.

Habiba, K., 2007. Étude des potentialités d'utilisation d'huiles essentielles pour le contrôle de deux insectes ravageurs des grains *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) et *Sitophilus zeamais* (Coleoptera : Curculionidae) au Nord Cameroun. Thèse de doctorat : Faculté des Sciences, Centre de Recherche sur la Biodiversité, Université Catholique de Louvain (Belgique).

Hans F. , 1977. Petit guide panoramique. Herbes médicinales. 3^{ème} édit. DELACHAUX et NIESTLE S.A. Edit. Paris, 186 p.

Haya, B. et Amour, R. (1992), Extraction des huiles essentielles par solvants volatils à partir de géranium. Thèse ing. INES chimie industrielle, Blida, 61 p

Howse PE, Stevens IDR & Jones OT .1998- Insect Pheromones and their Use in Pest Management. Chapman & Hall, London/ New York.

Jacques, G. et Paltz, s.a., 1997. Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule du laboratoire "Jacque Paltz".

Keïta, S.M., Vincent, Jean-Pierre, C., Schmit, J.P., Ramaswamy, S. et Bélanger, A., 2000. Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 36:355-364.

Larew, HG., Locke, JC. , 1990. Repellency and toxicity of horticultural oil against whitefly on *Chrysanthemum*. *HortScience*, p. 1406–1407.

Larson, R.O. 1989. The commercialization of neem. pp. 155-168. *In* M. Jacobson. *Focus of Phytochemical Pesticides*. Vol. 1 The neem tree. CRC Press Boca Raton, Fla.

Lepesme, R., 1944. Les coléoptères des denrées alimentaires et produits industriels entreposés, Collection encyclopédique entomologique. Le chevalier. Paris. 335p.

Lis-Balchin, (M.), 1999. Possible health and safety problems in the use of novel plant essential oils and extracts in aromatherapy - *The Journal of The Royal Society for the Promotion of Health - December 1999 - Vol 119, No 4, 240-243.*

Lutige V., Kluge M., Bauer G., 2002 : Botanique, traité fondamental, Edit Lavoisier, Paris 85, 463p.

Mahmoudi, Y. 1986 : la thérapeutique par les plantes communes en Algérie. Edit. Palais de livre Blida, 118p.

Marion-poll, F., Dinan, L., Lafont, R., 2002- La place des phytoecdystéroïdes dans la lutte contre les insectes phytophages. Biopesticides d'origine végétale. Regnault-Roger, C., Philogène, B. et Vincent, C. Paris, Editions Tech & Doc: 97-114

Martel, J.P., 1977. Brevet Fr, n°7712831 in Koba K. 2003. Thèse de doctorat, Université de Lomé. 172p.

Martini MC. and, Seiller M., 1999. Actifs et additifs en cosmétologie. Procédés d'extraction des huiles essentielles. Editions Tee & Doc, Editions medicates internationales. p 563.

Memelink, J., Verpoorte, R., Kijne, J.W. (2001). ORCAnization of jasmonate responsive gene expression in alkaloid metabolism. *Trends in Plant Science*. 6 (5), 212-219

Milpied H., 2009 : Progrès en dermato-allergologie, Edit GERDA, Bordeaux, 392p.

Mainbeau, P., 1994 : La nouvelle aromathérapie, caractérologie des essences et tempéraments humains, 2ème édition Jakin, Paris. 635p.

Milaire H G. 1987- Les méthodes alternatives en protection des cultures cas des ravageurs phytophages. Cercles des Naturalistes de Belgique, extrait Érable 4/1987, p: 5 -1

Malecky M., 2008 : Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse de doctorat en Physiologie de la Nutrition Animale (biotechnologie) ; école doctorale ABIES. France. 171p.

Mondy, N., CAISSA, C., Pitoizet, N., Delbecque, J.-P., Corio-costet, M.-F.,

1997- Effects of the ingestion of *Serratula tinctoria* extracts, a plant containing phytoecdysteroids, on the development of the vineyard pest *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 35, 227–235.

Muhannad, j., Franz, h., Furkertb, Miiller, W., 2002. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 53 pp: 115–123.

Naves V.R, 1964. *Qu'est ce qu'une huile essentielle.* Ed. Masson. Paris.

Niber, B A., 1994. The ability of powders and slurries from ten plant species to protect stored grain from attack by *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrychidae) and *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 30: 297-301.

Ofuya TL. , 1986. Use of wood ash, dry chilli pepper fruits and onion scale leaves for reducing *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) damage in cowpea seeds during storage. *J. Avr. Sci.* 107 (2), p. 467–468.

Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M., 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* 0157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Usteria monocytogenes*. *Food Control*, 18, 414-420.

Partes H.T., Santos J.P., Waquil.M., Fabris J.D., Oliveira.B. and Foster J.E., 1998- Insecticidal activity of monoterpenes against *phyzopertha dominica* F. and *Tribolium* (Herbst). *J. of stored Prod. res.* vol.34(4), pp :243-249.

Pfhol-leszkowicz., 2001- Contribution a l'amélioration de la qualité sanitaire du ble en cour de stockage ,pp.23-30.

Philogene, B.J-R, Fabres, G, Regnault-roger, C. 2005- Protection des cultures, environnement et développement durable : Enjeux pour le XXI^e siècle. In Regnault-Roger, C, Fabres G., Philogène, B J.R. Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Lavoisier Tec & Doc, Paris, p 1-14.

Pignatti, S., 1982. *Flora d' Italia. Edagricole, Bologna, 2, 486-487.*

Quezel P. et Santa S., 1963. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales Tome 2. Ed. CNRS, Paris pp 218-940

Ranasingh Nirakar, 2007- Biopesticides: an Economic Approach for Pest Management. *Orissa Review.* April 2007. Plant Protection, KVK, Rayagada, Gunupur.

Regnault-Roger, C, Hamraoui, A. 1995. Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a Bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L). *Journal of Stores Products Research* 31:291-299.

Regnault-Roger, 2005. Molécules allelochimiques et extraits végétaux dans la protection des plantes : nature, rôle et bilan de leur utilisation au XXI^e siècle. *In*

Regnault-Roger, C, Fabres G. Philogène, B J.R .Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Lavoisier Tec & Doc, Paris, pp 625-650.

Richard et Multon, 1992. la fabrication des extraits : extraction par le dioxyde de carbone, in Epices et Aromates, Tech et Doc, Lavoisier, Paris, 193-153pp

Richardson J.A., 1999. - Potpourri hazards in cats - *Toxicology Brief*, December 1999.

Roux D., Cartier O., 2007 : Cahier du préparateur en pharmacie, botanique, pharmacognosie, et phytothérapie, Tome 3, Edit Wolters Kluwer, Paris, 141p.

Royal J., 2000- Utilisation des substances semi-chimiques en agriculture- Master 2ème

Sailer R., Berger T., Reichling J., 1998. Pharmaceutical and Medicinal Aspects of Australian Tea Tree Oil *Phytomedicine* -1998, vol 5(6), 489-495.

Sallé J., 1991 : les huiles essentielles. Edition Frison-Roche. Paris, 166p.

Saravanakumar, D., Vijayakumar, C., Kumar, N. and Samiyappan, R., 2007- PGPR-induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. *Crop Protect.* pp: 556-565.

Schmutterer, H., 1992. Higher plant as sources of novel pesticides. pp. 3-15. In D. Otto and B. Weber. Insecticides: Mechanism of Action and Resistance. Intercept Ltd Andover, UK.

Silva G, H., Costa J.N, Campos V.P, Oliniera D.F., Pfenning L.H, 2001- Fungal metabolites with activity against nematodes. Bioactive Fungal Metabolites. Impact and Exploitation, International symposium. Br. Mycol. Soc., Wales Swansea, UK, pp:95.

Simon J.E., Chadwick A.F. and Craker L.E., 1984. *Herbs: An Indexed Bibliography 1971-1980. The Scientific Literature on Selected Herbs and Aromatic and Medicinal Plants of the Temperate Zone*, Hamden, CT, Archon Books.

Skoula M. and Harborne J.B., 2002. 'The taxonomy and chemistry of *Origanum*' in Kintzios S., *Medicinal and Aromatic Plants - Industrial profiles - Origanum: The Genera Origanum and Lippia*, London, Taylor & Francis, 67-108.

Smith-Palmer, A., J. Stewart J. , 1998. "Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens" *Lett Appl Microbiol* 26- 2: (118-122).

Strack, D. (1997). Phenolic metabolism. Dans : *Plant Biochemistry*, Academic Press, :387

Streblor G., 1989. Les médiateurs chimiques. Leur incidence sur la bioécologie des animaux. Lavoisier Tec & Doc.

Taiz, L., Zeiger, E. (1998). *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc., Publishers, 2nd ed., Sunderland.

Toth, IK., Bell, KS., Holeva, MC.et Birch, PRJ., 2003. Soft-rot erwiniae: from genes to genomes. *Mol Plant Pathology* 4: 17-30.

Valnet J., 2000 : Traitement des maladies par les légumes, les fruits et les céréales, 8^{ème} édition, Editeur Maloine, Paris.e : 270,271, 273p.

Vincent, c.et coderre, d., 1992. *La lutte biologique*. Éd. Gaëtan Morin éditeur, Québec, canada, p.646.

Weinzeirl, R., 1998. Botanicals insecticides, soaps and oils. pp. 101-121. In JE Rechcigl and NA Rechcigl. *Biological, Biotechnological Control of Insects Pest* in. Lewis Publi., Boca Raton, Florida

Wichtl M. et Anton R., 1999. Plantes thérapeutiques - 1999, Technique et Documentation, Paris.

Williams, LAD., Mansingh, A., 1993. Pesticidal potential of tropical plants - I. Insecticidal activity of leaf extracts of sixty plants. *Insect Sci. Applic.* 14 (5), p. 697-700.

Wink, M. (1997). Special nitrogen metabolism. Dans : Plant Biochemistry, Academic Press, :440

Wink, M. (1999). Plant secondary metabolites from higher plants: biochemistry, function and biotechnology.. Dans : Biochemistry of Plant Secondary Metabolism, Sheffield Academic,: pp. 1-16

Yakhlef G., 2010: Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L., thèse de Magister en biochimie appliqué, université de Batna, 78p.

Zhiri A. et Baudoux D., 2005. Huiles essentielles chémotypees et leurs synergies. Edition Inspir Development. Luxembourg. 2005, pp: 2-50.

ANNEXE

Annexe

Le comptage des morts (m) et survivants (s) de *Tribolium sp* sous l'effet des extraits aqueux et huiles essentielles de l'*Origanum glandulosum*.

1. Extraits aqueux.

- Après 24heures.

lots	temoin		feuilles						fleurs					
			r1		r2		r3		r1		r2		r3	
	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s
d1	0	30	0	30	0	30	1	29	1	29	0	30	0	30
d2	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30
d3	0	30	0	30	0	30	1	29	0	30	0	30	0	30

- Après 48 heures.

lots	temoin		feuilles						fleurs					
			r1		r2		r3		r1		r2		r3	
	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s
d1	0	30	1	29	0	30	1	28	0	29	0	30	0	30
d2	0	30	2	28	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30
d3	0	30	0	30	1	29	0	29	0	30	0	30	0	30

- Après 72 heures.

lots	temoin		feuilles						fleurs					
			r1		r2		r3		r1		r2		r3	
	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s
d1	0	30	3	26	2	28	1	27	1	28	0	30	1	29
d2	0	30	1	27	1	29	2	28	0	30	1	29	0	30
d3	0	30	1	29	0	29	0	29	1	29	1	29	0	30

- Après 96 heures.

lots	temoin		feuilles						fleurs					
			r1		r2		r3		r1		r2		r3	
	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s
d1	0	30	2	24	2	28	3	24	2	26	1	29	2	27
d2	0	30	1	26	1	28	1	27	1	29	1	28	0	30
d3	0	30	0	29	1	28	1	28	1	28	0	29	0	30

Table des matières

Introduction	01
Partie bibliographique.	
Chapitre I : Généralités sur les biopesticides et l'origan <i>Origanum glandulosum</i> Desf.	
I- Les biopesticides	03
Introduction.	03
1. Définition	04
2. Diversité des produits biologiques.	04
2.1. Les biocides d'origine botanique	04
2.2. Les huiles essentielles	04
2.3. Extraits aqueux	06
3. Importance des biopesticides d'origine végétale	06
II- Données bibliographiques sur la plante étudiée <i>Origanum glandulosum</i>	07
1. Historique	07
2. Introduction et description	07
3. Classification	08
4. Caractéristiques botanique.....	08
5. Taxonomie et répartition géographique	08
• Dans le monde.....	08
• En Algérie.	09
6. Composition chimique	10
Chapitre II : Généralités sur les huiles essentielles et les métabolites secondaires.	
I. Les huiles essentielles	12
1. Historique.	12
2. Définitions.	13

3. Localisation des huiles essentielles dans la plante.....	13
4. Fonction des huiles essentielles	15
5. Facteurs de variabilité des huiles essentielles	15
• Les dénominations trompeuses du matériel végétal	15
• Influence du cycle végétatif.	15
• Influence des facteurs extrinsèques.....	15
• La récolte du matériel végétal	15
• Les transformations du matériel végétal	16
• Les hybridations ; Les facteurs de mutation, la polyploïde et les aberrations chromosomiques.....	16
• Le polymorphisme chimique.....	16
• Influence du procédé d'obtention	16
6- Propriétés physiques des huiles essentielles	17
7. structure chimique des huiles essentielles	18
a) Les terpènes	18
b) Les mono-terpènes	18
c) Les sesquiterpènes.	18
d) Composés aromatiques dérivés du Phényle-propane	19
e) Compose d'origines diverses	20
8. Toxicité des huiles essentielles.....	20
9. Les procédés d'obtention des huiles essentielles	20
a) La distillation	20
b) L'extraction par solvant	21
c) Autres modes d'extraction des essences végétales	21
- Expression à froid	21
- Enfleurage ou macération à chaud	21
10. Rôles des huiles essentielles	22
11. PRINCIPALES UTILISATIONS DES HUILES ESSENTIELLES.....	22

12. interet economique des huiles essentielles provenant des plantes aromatiques et medicinales et leur localisation en algerie	23
II. Métabolites secondaires	24
1. Classification des métabolites secondaires	24
2. Voies de biosynthèse.	24
3. Caractéristiques des alcaloïdes.	24
3.1. Biosynthèse.	25

Partie expérimentale.

Chapitre I: MATERIELS ET METHODES.

Introduction	26
I. Matériel d'étude	26
I.1 Matériel biologique.....	26
I.1.1. Etude du genre <i>Tribolium</i>	26
I.2. Matériel végétal	27
II. Méthodologies	28
II.1. Préparation des extraits aqueux.....	28
II.2. Extraction de l'huile essentielle du l'origan par entraînement à la vapeur d'eau....	29
.....	29
II.2.1. Matériel végétal	29
a. Mode opératoire.....	29
II.3. Evaluation de l'activité insecticide des l'extrait aqueux et huiles essentielles de l'origan (feuilles et fleurs)	30
II.3.1. Le choix des doses.....	30
II.3.2. Application des bioessais des différents phytoextraits.....	31
II.3.2. calcul des doses létales 50.....	31
II.4.2. estimation de la toxicitédes traitements.	32
II.4.3. Analyse univariées et multivariées.....	33

Chapitre II. Résultats et discussion

II.1. Evolution des populations résiduelles du <i>Tribolium</i> sous l'effet de l'extrait aqueux de l'origan.....	34
II.1.1. Evolution des populations résiduelles du <i>Tribolium</i> sous l'effet de l'extrait aqueux des feuilles de l'origan.	34
II.1.2. Evolution des populations résiduelles du <i>Tribolium</i> sous l'effet de l'extrait aqueux des fleurs de l'origan.....	34
II.2. Evolution des populations résiduelles du <i>tribolium</i> sous l'effet des huiles essentielles de l'origan.	34
II.2.1. Evolution des populations résiduelles du <i>tribolium</i> sous l'effet des huiles essentielles extraites des feuilles de l'origan.....	35
II.2.2. Evolution des populations résiduelles du <i>tribolium</i> sous l'effet des huiles essentielles extraites des fleurs de l'origan.	36
II.3. Analyse de la toxicité globale des phytoextraits et des huiles essentielles.....	37
.....	37
II.4. Evaluation temporelle de l'efficacité globale des phytoextraits des solutions aqueuses et des huiles essentielles de l'origan.	38
II.5. Analyse des DL50 des différents phytoextraits de l'origan	39
II.5.1. DL50 des extraits aqueux des feuilles de l'origan.....	39
II.5.2. DL50 des extraits aqueux des fleurs de l'origan	40
II.5.3. DI50 des huiles essentielles extraites des feuilles de l'origan.....	40
II.5.4. DI50 des huiles essentielles extraites des fleurs de l'origan	41
II.6. Discussion.	41
Conclusion et perspective.....	45
Référence bibliographique.	
Annexe	

