

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
Université SAAD DAHLAB de Blida

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DÉPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES EN VUE DE  
L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER ACADEMIQUE EN SCIENCES  
DE LA NATURE ET DE LA VIE

Option : phytopharmacie appliquée

Thème

**ÉTUDE DE L'EFFET INSECTICIDE DE L'HUILE  
ESSENTIELLE DU MYRTE (*MYRTUS COMMUNIS*) SUR  
*TRIBOLIUM CONFUSUM***

Présenté par :

**M<sup>elle</sup> BIREM Fahima**

Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> SABRI.K	MAB	USDB	Présidente de jury
M <sup>me</sup> AMRINE.C.S	MAB	USDB	Promotrice
M <sup>me</sup> NEBIH.D	MAA	USDB	Examinatrice
M <sup>me</sup> BABA AISSA.K	MAB	USDB	Examinatrice

ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2012/2013

## *REMERCIEMENTS*

*Au terme de ce modeste travail, je remercié en premier lieu le bon Dieu de m'avoir guidé sur le droit chemin de la volonté et du courage qu'il m'a attribué.*

*Mes remerciements s'adressent à M<sup>elle</sup> Amrine Soumia de m'avoir encadré durant la réalisation de mon Master, pour ces précieux conseils, son dévouement, sa patience, sa générosité et sa disponibilité à tout moment. Je remercié également : M<sup>me</sup> qui a bien voulu accepter de présider mon jury. M<sup>me</sup> et M<sup>me</sup> pour avoir bien voulu faire parti du jury et examiner ce modeste travail.*

*Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à tous les enseignants de la spécialité Phytopharmacie appliquée. Un très grand merci à tous qui a participé de pré ou de loin dans la réalisation de ce modeste travail.*

*Enfin, ce travail n'aurait pas été mené au terme sans les concessions et les encouragements de mes chères parents que Dieu me les protège et mon agréable promotrice auquel je dis tout simplement merci.*

## *DÉDICACE*

*JE DEDIE CE MODESTE TRAVAIL :*

*A mes très chers parents la lumière de ma vie, pour leur tendresse, leurs encouragements et leurs sacrifices, pour l'espoir qu'ils ont semé en moi, qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.*

*A mes chers sœurs : Lynda et ces deux enfants Abderaouf et Nesrine, Fatma zohra, Hadjira et son enfant Yacine.*

*A mon unique frère Karim.*

*A tout les enseignants de l'agronomie surtout de la spécialité Phytopharmacie appliquée.*

*A tous les techniciens des laboratoires de département d'agronomie surtout Amina.*

*A mes amies : Alia et Farida.*

*Birem Fahima*

## Résumé

### **Étude de l'effet insecticide de l'huile essentielle du Myrte (*Myrtus communis*) sur *Tribolium confusum***

Les pesticides utilisés en agriculture apparaissent responsable d'une pollution de la plus part des biotopes, d'un appauvrissement de la biodiversité et de la raréfaction des eaux pures nécessaires à la vie humaine. Pour réduire les inconvénients qui incombent à ces produits chimiques, l'utilisation de Biopesticides d'origine végétale paraît une des solutions pour minimiser ces préjudices. A partir de cette situation redoutable on a aimé mettre en place notre étude qui avait pour but d'évaluer l'effet insecticide de l'huile essentielle du Myrte (*Myrtus communis*) sur le ravageur des denrées stockées *Tribolium confusum*. L'huile essentielle du Myrte a été obtenue par entraînement à la vapeur avec un rendement de l'ordre de 0,53%.

Les résultats de l'analyse chromatographique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* révèlent 88 composants chimiques, 50% se sont des monoterpènes, dont 15 composés ont été identifiés. Le composé majoritaire est l' $\alpha$ -pinène (62,4742%) suivi de 1.8-cineole (23,2393%) et par d'autres composants comme :  $\beta$ -linalool (1,5941%), trans-caryophyllène (1,3202%), alpha terpinéol (0,8132%), tinalool (0,7691%),  $\alpha$ -terpinène (0,1974%),  $\delta$ -3-carène (0,1543%), thymol (0,1106%).

Les résultats de la présente étude portant sur l'évaluation du pouvoir insecticide de l'espèce cultivée *Myrtus communis*, révèle que cette plante présente des potentialités et pourrait être utilisée et exploitée avec succès pour la gestion des populations des ravageurs des stocks qui entraînent des pertes considérables sur le rendement et la qualité des denrées stockées. Les résultats ont montré que l'huile essentielle de *Myrtus communis* avec les différentes dilutions présentent un pouvoir insecticide contre les individus du *Tribolium* testé. Nous avons observé que l'action de l'huile essentielle avec le mode inhalation présente une efficacité meilleure que le mode contact sur *Tribolium confusum* pour la dose D3 avec un pourcentage de mortalité allant jusqu'à 88,87% au 2<sup>ème</sup> jour de traitement, par contre avec le mode contact seulement 17,6%.

**Mots clé :** *Myrtus communis*, huile essentielle, *Tribolium confusum*, denrées stockées, contact, inhalation, activité insecticide, analyse chromatographique.

## Summary

### **Study of the insecticidal effect of the essential oil of myrtle (*Myrtus communis*) on *Tribolium confusum***

Pesticides used in agriculture appear responsible for pollution of most of the habitats, a loss of biodiversity and the depletion of clean water necessary for human life. To reduce the disadvantages borne by these chemicals, the use of Biopesticides of plant origin seems one way to minimize these losses. From this location we liked formidable implement our study was to evaluate the insecticidal effect of the essential oil of myrtle (*Myrtus communis*) on the pest of stored *Tribolium confusum*. The essential oil of myrtle was obtained by steam distillation in a yield of about 0.53 %.

The results of the chromatographic analysis of the essential oil of *Myrtus communis* revealed 88 chemicals, 50 % were of monoterpenes, 15 compounds were identified. The major compound is  $\alpha$ -pinene (62,4742 %) followed by 1.8-cineole (23,2393%) and other components such as :  $\beta$ -linalool (1,5941%) , trans-caryophyllene (1,3202%), alpha terpineol (0,8132%), tinalool (0,7691%),  $\alpha$ -terpinene (0,1974%),  $\delta$ -3-carene (0,1543%), thymol (0,1106%).

The results of this study on the evaluation of insecticidal crop species *Myrtus communis*, reveals that this plant has potential and could be used and operated successfully for managing populations of storage pests that cause losses significant performance and quality of stored. The results showed that the essential oil of *Myrtus communis* with different dilutions have an insecticidal against individuals of Tribolum tested. We observed that the action of the essential oil with the inhalation method has a better efficiency than the contact mode on *Tribolium confusum* for D3 dose with a percentage of 88,87 % mortality up to the 2<sup>nd</sup> day of treatment, against by the contact mode with only 17,6 %.

**Keywords :** *Myrtus communis*, essential oil, *Tribolium confusum*, stored food, contact, inhalation, insecticidal activity, chromatographic analysis.

## ملخص

### ***Tribolium confusum* *Myrtus communis* على الحيوبي المبيد تأثير دراسة للأس**

تظهر المبيدات المستخدمة في الزراعة مسؤولة عن تلوث معظم الموائل، وفقدان التنوع البيولوجي واستنفاد المياه النظيفة اللازمة ل حياة الإنسان. للحد من العيوب التي تتحملها هذه المواد الكيميائية، واستخدام المبيدات الحيوبيية من أصل نباتي يبدو طريقة واحدة ل لحد من هذه الخسائر. من هذا الموقع أحببنا هائل تنفيذ كان دراستنا لتقييم تأثير الحشرات من الضروري النفط من الأس *Myrtus communis* على الآفات من تخزين *Tribolium confusum*. تم الحصول على الزيوت الأساسية من الأس عن طريق التقطير بالبخار في محصول بلغ نحو 0,53 %.

نتائج التحليل الكروماتوغرافي من الضروري النفط من *Myrtus communis* كشف 88 والمواد الكيميائية، وكانت 50 % من monoterpenes ، تم تحديد 15 مركبات . المجمع الرئيسي هو  $\alpha$ -pinene (62,4742) %، يليه 1.8-cineole (23,2393) % و مكونات أخرى مثل :  $\beta$ -linalool (1,5941) %، trans-caryophyllene (1,3202) % ، alpha terpineol (0,8132) % ، tinalool (0,7691) % ،  $\alpha$ -terpinene (0,1974) % ،  $\delta$ -3-carene (0,1543) % ، thymol (0,1106) %.

نتائج هذه الدراسة على تقييم أنواع المحاصيل الحشرات الأس الشائع ، يكشف عن أن هذا المصنع لديها امكانات ويمكن استخدامها وتشغيلها بنجاح لإدارة السكان من الآفات التي تسبب خسائر التخزين كبيرة في الأداء وجودة تخزينها . وأظهرت النتائج أن من الضروري النفط من *Myrtus communis* مع التخفيفات مختلفة لها الحشرات ضد الأفراد من *Tribolium* اختبارها. لاحظنا أن العمل من الضروري النفط مع أسلوب استنشاق ديه كفاءة أفضل من وضع الاتصال على كونيوسم ل جرعة D3 مع نسبة وفيات 88.87 % لتصل إلى 2 يوم من العلاج، ضد من وضع الاتصال مع 17.6 % فقط .

الكلمات الرئيسية : الأس ، *Myrtus communis* ، *Tribolium confusum* ، المواد الغذائية المخزنة ، الاتصال ، استنشاق ، النشاط الحشرات ، التحليل الكروماتوغرافي .

## ÍNDICE GÉNÉRAL

### Pages

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

2

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### Partie I : Etude de l'insecte

1.1. Caractères généraux de la famille des ténébrionidés .....	7
1.2. Etude du genre Tribolium.....	7
1.3. Habitat et régime alimentaire.....	8
1.4. Présentation du ravageur (Tribolium confusum .....	8
1.4.1. Classification.....	9
1.4.2. Biologie et cycle de vie.....	9
1.4.3. Régime alimentaire et dégâts.....	10

### Partie II : Etude de la plante

2.1. Généralités.....	12
2.2. Position systématique.....	12
2.3. Description botanique de l'espèce Myrtus communis.....	12
2.4. Culture .....	13
2.5. Aire de répartition .....	13
2.6. Phytochimie .....	14
2.7. Propriétés médicinales et utilisations.....	14

### Partie III : Les huiles essentielles

3.1. Historique et généralités.....	16
3.2. Définition.....	17
3.3. Répartition et localisation des huiles essentielles.....	17
3.4. Fonctions et intérêts des huiles essentielles.....	18
3.5. Facteurs de variabilité des huiles essentielles.....	20
3.5.1. Facteurs d'origine naturelle intrinsèque.....	20

3.5.1.1. Le cycle végétatif.....	20
3.5.1.2. L'organe producteur.....	20
3.5.1.3. L'origine botanique.....	20
3.5.2. Facteurs d'origine naturelle extrinseque.....	21
3.5.3. Facteurs d'origine technologique.....	21
3.6. Chémotype.....	22
3.7. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles .....	23
3.8. Toxicité des huiles essentielles.....	24
3.9. La conservation des huiles essentielles .....	25
3.10. Composition chimique des huiles essentielles.....	25
3.10.1. Les terpénoïdes.....	26
3.10.2. Les hémiterpènes.....	27
3.10.3. Les monoterpènes.....	27
3.10.4. Les sesquiterpènes.....	28
3.10.5. Les composés aromatiques dérivés du phenylpropane.....	28
3.10.6. Les composés d'origines diverses .....	29

#### **Partie IV : Utilisation des huiles essentielles en tant que biopesticides**

4.1. Activité insecticide des huiles essentielles.....	31
4.2. Activité acaricide, fongicide et bactéricide des huiles essentielles.....	34
4.3. Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	35
4.4. Activité nématocide des huiles essentielles.....	36
4.5. Activité antioxydante des huiles essentielles.....	37
4.6. Autres effets.....	38

#### **Partie V : Techniques d'extraction des huiles essentielles**

5.1. Entraînement à la vapeur d'eau.....	40
5.2. Hydrodistillation.....	41
5.3. Expression à froid.....	43
5.4. Distillation « sèche ».....	43
5.5. Extraction assistée par micro-ondes.....	43
5.5.1. Hydrodistillation.....	43

5.5.2. Entraînement à l'air.....	44
5.5.3. Hydrodiffusion.....	45
5.5.4. Extraction par micro-ondes.....	46

## **Partie VI : Analyse chromatographique**

6.1. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles .....	49
6.1.1. Chromatographie sur couche mince.....	50
6.1.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	51
6.1.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).....	51
6.1.4. Chromatographie liquide à haute performance.....	52
6.1.5. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	52

## **MATÉRIELS ET MÉTHODES**

### **ESSAI DE L'EFFICACITE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE MYRTE (MYRTUS COMMUNIS) CONTRE L'INSECTE DES DENRÉES STOCKÉES TRIBOLIUM CONFUSUM (DUVAL.)**

	54
1. Introduction.....	54
2. Objectifs.....	54
3. Matériel biologique.....	54
3.1. Espèce entomologique (animal).....	54
3.2. Espèce végétal.....	55
3.3. Méthodes d'extraction des végétaux.....	57
a. Príncipe.....	57
b. Détermination du rendement de l'huile essentielle.....	58
4. Analyse chromatographique de l'huile essentielle.....	58
5. Evaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle.....	59
5.1. Préparation des doses.....	59
5.2. Application des traitements biologiques.....	60
5.2.1. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par contact.....	60

5.2.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par inhalation.....	61
6. Estimation de la toxicité des traitements.....	62
7. Expression des résultats.....	63
7.1. Correction de la mortalité.....	63
7.2. Calcul des doses létales.....	64
7.3. Analyse statistique.....	64
7.4. Analyse des résultats obtenus.....	

## RÉSULTATS

	67
1. Introduction.....	67
2. Evaluation du rendement de <i>Myrtus communis</i> .....	67
2.1. Rendement obtenu.....	67
3. Etude analytique de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> par (CG/SM) .....	70
4. Effet insecticide de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> sur <i>Tribolium confusum</i> .....	
4.1. Effet d'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> sur le taux de mortalités cumulée du <i>Tribolium confusum</i> .....	70
4.1.1. Test d'efficacité par contact.....	71
4.1.2. Test d'efficacité par inhalation.....	72
5. Analyses de la variance.....	
5.1. Analyse de la variance de l'efficacité de L'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> sur le taux de mortalité cumulée .....	72
5.1.1. Evaluation de l'efficacité insecticide de l'huile essentielle de Myrte.....	72
a. Effet Modes de traitement .....	74
b. Effet Doses de traitement.....	75
c. Effet Périodes de traitement.....	
6. Évolution temporelle de la population résiduelle du <i>Tribolium confusum</i> sous l'effet de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> .....	78
6.1. Évolution temporelle de la population résiduelle d'huile essentielle de Myrte par contact.....	78
6.2. Évolution temporelle de la population résiduelle d'huile essentielle de Myrte par inhalation.....	79

---

**DISCUSSION**

1. Evaluation de rendement de l'huile essentielle.....	82
2. Analyse chromatographique de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> .....	84
3. Evaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> .....	87
3.1. Mode contact.....	88
3.2. Mode inhalation.....	91

<b>CONCLUSION</b> .....	95
-------------------------	----

<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	98
--	----

<b>ANNEXE</b> .....	119
---------------------	-----

## LA LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Larve de <i>Tribolium confusum</i> .....	10
<b>Figure 2.</b> Adulte de <i>Tribolium confusum</i> .....	10
<b>Figure 3.</b> Photos de <i>Myrtus communis</i> (originale) .....	13
<b>Figure 4.</b> Processus d'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur .....	41
<b>Figure 5.</b> Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile essentielle .....	42
<b>Figure 6.</b> Schéma d'un montage d'hydrodistillation assistée par micro-ondes sous pression réduite .....	44
<b>Figure 7.</b> Schéma d'un montage de l'entraînement à l'air assisté par micro-ondes .....	45
<b>Figure 8.</b> Schéma d'un montage d'hydrodiffusion assistée par micro-ondes .....	46
<b>Figure 9.</b> Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes .....	47
<b>Figure 10.</b> Chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM .....	50
<b>Figure 11.</b> Étuve d'élevage des insectes (Originale) .....	55
<b>Figure 12.</b> Région de récolte de <i>Myrtus communis</i> .....	56
<b>Figure 13.</b> Plante de <i>Myrtus communis</i> portant des fruits (originale) .....	56
<b>Figure 14.</b> Feuilles de <i>Myrtus communis</i> écrasées (originale) .....	57
<b>Figure 15.</b> Appareillage de la (CG/MS) (originale) (originale) .....	59
<b>Figure 16.</b> Test de l'activité insecticide de l'huile essentielle par contact (originale) .....	61
<b>Figure 17.</b> Test de l'activité insecticide de l'huile essentielle par inhalation (originale) .....	62

<b>Figure 18.</b> Pourcentage des populations résiduelles (PR) selon le test de Dunnett .....	63
<b>Figure 19.</b> Chrommatogramme de la CG-SM de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> .....	69
<b>Figure 20.</b> Taux de mortalité de <i>Tribolium confusum</i> traité avec l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> par contact .....	70
<b>Figure 21.</b> Taux de mortalité de <i>Tribolium confusum</i> traité avec l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> par inhalation .....	71
<b>Figure 22.</b> Effet de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> sur le taux de mortalité de <i>Tribolium confusum</i> en fonction du mode de traitement (contact, inhalation).....	74
<b>Figure 23.</b> Effet de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> sur le taux de mortalité de <i>Tribolium confusum</i> en fonction des doses de traitement .....	74
<b>Figure 24.</b> Effet de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> sur le taux de mortalité de <i>Tribolium confusum</i> en fonction des périodes de traitement .....	75
<b>Figure 25.</b> Effet de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> sur le taux de mortalité de <i>Tribolium confusum</i> en fonction de l'interaction Doses*Périodes...	77
<b>Figure 26.</b> Effet de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> sur le taux de mortalité de <i>Tribolium confusum</i> en fonction de l'interaction périodes*doses ...	77
<b>Figure 27.</b> Evolution temporelle de population résiduelle de <i>Tribolium confusum</i> traitée avec l'HE de <i>Myrtus communis</i> par contact .....	78
<b>Figure 28.</b> Evolution temporelle de population résiduelle de <i>Tribolium confusum</i> traitée avec l'HE de <i>Myrtus communis</i> par inhalation .....	79

## LA LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b> Principaux composés chimiques de l'HE de Myrte .....	68
<b>Tableau 2.</b> Modèle GLM appliqué à l'évaluation de l'huile essentielle sur <i>Tribolium confusum</i> en fonction du mode de traitement, les doses utilisées et la période de traitement .....	72
<b>Tableau 3.</b> Modèle GLM appliqué à l'évaluation de l'huile essentielle sur <i>Tribolium confusum</i> en fonction de la période de traitement, les doses utilisées et l'interaction périodes*Doses .....	75

**INTRODUCTION GÉNÉRALE**

**Introduction générale :**

La conservation des céréales et leurs produits secondaires sont des problèmes à multiples interrelations, sont habituellement attaquées par les insectes au cours de leur entreposage depuis le début de la civilisation humaine, liées à la complexité de l'écosystème port récolte des grains entreposés. Ce système thermodynamique constitue une entité formée d'une part des divers organismes biologiques (grains, microorganismes, insectes, rongeurs, acariens et petits vertébrés) et d'autre part de l'environnement dont lequel ils évoluent. Celui-ci est caractérisé par des facteurs biophysiques en étroites relations (température, humidité relative, teneur en oxygène...) dont les conséquences sont des altérations qualitatives et quantitatives des grains et des produits secondaires (Feillet, 2000).

Parmi les méthodes de protection les plus efficaces au niveau des stocks sont les pesticides chimiques (Relinger *et al.*, 1988 ; Haubruge *et al.*, 1988 ; Hall, 1970). Pour la protection des stocks divers et les semences, les pesticides fréquemment utilisés sont les organophosphorés, les pyréthroïdes de synthèse et des produits composés à partir des matières actives appartenant aux deux familles (Gwinner *et al.*, 1996).

Les pertes dues, aux insectes, aux pathogènes et aux mauvaises herbes correspondent à 35% de la production agricole ; si l'on y ajoute les pertes après récolte, on estime à 45% les pertes dues à ces ravageurs et micro-organismes (Vincent et Coderre, 1992). En Algérie les dégâts provoqués seulement par les insectes sur les céréales stockés ne sont pas loin d'atteindre et à dépasser 20% de pertes selon les années (Anonyme, 1981).

En raison de son efficacité et de son application facile et pratique, l'utilisation d'insecticides chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus utilisée pour lutter contre les insectes nuisibles. Cependant, l'emploi intensif et inconsidéré de ces insecticides a provoqué une contamination de la biosphère et de la chaîne alimentaire, une éradication des espèces non cible telles que la faune auxiliaire et l'apparition d'insectes résistants. Ces dangers ont conduit l'OMS à interdire l'usage

de certains insecticides chimiques, d'autres vont être prohibés dans un futur proche (Bajpai et *al.*, 2008).

Les plantes se défendent par divers moyens physiques et chimiques en synthétisant des métabolites secondaires extraordinairement diversifiés. Ces derniers sont souvent connus pour leur toxicité pour les herbivores, et ils affectent profondément le comportement des insectes phytophages. De nombreuses molécules, qui présentent une action défensive du végétal contre les ravageurs, ont été identifiées. Ainsi plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées. Les Plantes Aromatiques et Médicinales (PAM) constituent une véritable banque de ces molécules bioactives (Regnault-Roger et *al.*, 2005).

L'Algérie, par son aire géographique et sa diversité climatique est riche en flore naturelle. La gamme des plantes médicinales et aromatiques fait partie du grand patrimoine végétal de notre pays. Ces plantes sont riches en principe actifs (Iserin, 2001).

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

Dans le cadre de la recherche sur les procédés de lutte biologique basés sur des nouvelles molécules, nous nous sommes intéressés à la mise en évidence de l'activité insecticide d'huile essentielle d'une plante le Myrte (*Myrtus communis*) avec différentes concentrations et avec deux modes de traitements (contact et inhalation) sur un ravageur des denrées stockés (*Tribolium confusum*) dans le but de minimiser l'utilisation des insecticides de synthèses dans les stocks Algériens et afin de les insérer dans un programme de lutte intégrée.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés particulièrement à l'huile essentielle du *Myrtus communis*, où quatre objectifs ont été tracés :

- Extraction par entraînement à la vapeur de l'huile essentielle du *Myrtus communis*.
- Evaluation de la composition chimique de l'huile essentielle par analyse chromatographique (CG/SM).
- Etude de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Myrtus communis* sur le ravageur de denrées stockées *Tribolium confusum* avec deux modes de traitement (contact et inhalation).

**PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

**PARTIE I**  
**ETUDE DE L'INSECTE**

## **PARTIE I : ETUDE DE L'INSECTE**

### **1.1. Caractères généraux de la famille des ténébrionidés :**

La famille des ténébrionidés occupe une grande place dans l'entomofaune des denrées stockées, ce qui explique l'importance d'espèces vivantes dans cette dernière. Ce sont des petits coléoptères de taille comprise entre 2 à 8 mm, les larves sont vermiformes. Ce sont des insectes qui fuient la lumière et sont de moeurs nocturnes (Steffan, 1978).

Leurs particularités, c'est qu'ils possèdent cinq articles aux tarse des deux premières paires de pattes et quatre seulement à ceux des pattes postérieures. Leurs antennes sont moniliformes présentant onze articles, renflés à leur extrémité et insérés latéralement en avant des yeux, leurs ongles sont simples et non pectinés. Leurs mandibules sont robustes et courtes, les palpes maxillaires présentent quatre articles, les palpes labiaux possèdent trois articles. L'abdomen ne présente que cinq segments visibles, l'avant dernier étant plus court que les autres (Lepesme, 1944).

Selon Lepesme (1944), cette famille est subdivisée en trois sous familles :

**Les Blaptinae** : Ce sont de gros coléoptères de 2 à 4 cm de long, ils vivent dissimulés dans les endroits obscurs, et se nourrissent de matières organiques en décomposition.

**Les Diaperinae** : Dont une espèce intéresse les denrées stockées qui est *alphitophagie sbifasciatus Say*.

**Les Ulominae** : Cette sous-famille occupe une grande importance dans la faune des denrées stockées par le nombre d'espèces qui atteint quinze et dont fait partie l'espèce *Tribolium confusum L.*

### **1.2. Etude du genre Tribolium :**

Le genre *Tribolium* se compose de petits coléoptères extrêmement communs en France et en Amérique du nord (Lepesme, 1944). Selon Lepigre (1966), leurs taille varie de 3 à 4 mm de long, leurs couleurs est d'un brun plus ou moins foncé. Ces insectes sont peu actifs et se dissimulent de préférence dans les recoins obscurs.

Steffan (1978), affirme qu'on peut les apercevoir courir au crépuscule par temps chaud. Cependant, il existe plusieurs espèces de *Tribolium* dont deux espèces également communes se montrent nuisibles ce sont *T. castaneum* H. et *T. confusum* L. Ces deux espèces semblables d'aspect et de taille identique se distinguent par la forme de leurs antennes. Chez *T. confusum* L, celle-ci vont en s'élargissant régulièrement de la base au sommet, tandis que chez *T. castaneum* H. les trois derniers articles sont nettement plus gros. D'autre part, le rebord de la tête déborde latéralement le niveau de l'oeil, chez la première espèce et non chez la deuxième (Lepesme, 1944). Dans le monde entier, *T. castaneum* H. est le plus commun des insectes des denrées entreposées. C'est essentiellement une espèce des pays chauds, il ne peut vivre dans les pays froids que dans les locaux chauffés.

### **1.3. Habitat et régime alimentaire :**

Les *Triboliums* ont été signalés sur plus d'une centaine de denrées alimentaires. Les préférences alimentaires peuvent varier suivant races géographiques ou les lignées génétiques (Steffan, 1978). D'une façon générale, les *Triboliums* recherchent surtout les denrées alimentaires amylacées telle que la farine, celle-ci contaminée perd sa valeur commerciale en dégageant une odeur forte et en acquérant un gout de moisi capable de persister dans le pain et les gâteaux (Lepesme, 1944).

Durant le printemps, l'été et l'automne, on trouve dans les substances infestées tous les états du cycle biologique de l'espèce, œufs, larves, nymphes et adultes ; par contre, en hiver seul les adultes sont présents sur la denrée (Lepigre, 1966).

### **1.4. Présentation du ravageur (*Tribolium confusum*) :**

Le *Tribolium* brun de la farine est un petit coléoptère brun rougeâtre de 3,5 mm de long. Son corps est lisse et allongé (Figure 1). La larve vermiforme peut atteindre 6

mm de longueur à son plein développement. Elle se distingue par les deux courtes pointes qui terminent son abdomen (Figure 2) (Brich, 1953).

#### **1.4.1. Classification :**

D'après Lapesme (1944), les espèces du genre *Tribolium* appartiennent à la superfamille des *cucujoidae*, famille des *Tenebrionidae*, sous famille *Ulominae.*, elles sont au nombre de 5 dont deux sont particulièrement importants :

- *Tribolium confusum* (Duv).
- *Tribolium castaneum* (Herbst).

#### **1.4.2. Biologie et cycle de vie :**

Le premier accouplement a lieu environ 2 jours après l'émergence des imagos et dure de 3 à 15 minute. Chez *Tribolium confusum* (Duv.) l'échelonnement des pontes est conditionné par plusieurs copulations. Les oeufs sont pondus en vrac sur les marchandises et ils sont difficiles à déceler. Au cours de sa vie, la femelle pond entre 500 et 1000 oeufs. Les jeunes larves, passent par 5 à 12 stades larvaires selon des conditions de température et d'humidité. La larve, circule librement dans la denrée infestée ou elle nymphose. L'émergence de l'adulte a lieu six jours après la nymphose à 32,5°C et une humidité relative de 70 %, la durée du cycle est de 24 à 26 jours, *Tribolium confusum* (Duval.) est une espèce dont l'optimum thermique se situe entre 32°C et 35 ° C, son développement s'arrête au-dessous de 22°C. Il résiste aux basses hygrométries. En absence d'alimentation, *Tribolium confusum* exerce le cannibalisme, dévore les oeufs et les larves de leur congénère (Steffan, 1978).

D'après Lapesme (1944), les femelles pondent 300 à 400 oeufs dans les aliments qu'elles infestent, au rythme de 2 à 3 oeufs par jour. Ces oeufs sont collants et s'agglutinent autour des particules alimentaires, ce qui les rend difficiles à distinguer. Les larves éclosent environ 10 jours plus tard et se nourrissent dans ce milieu; ce n'est qu'après 7 ou 8 mues qu'elles passent au stade nymphal. La durée du stade larvaire varie de 22 jours à plus de 100 jours, selon la température ambiante, le taux d'humidité et la nourriture disponible. Le stade nymphal dure en moyenne 8 jours. La durée du

cycle complet varie généralement entre 7 semaines et 3 mois. La femelle du *Tribolium* peut vivre jusqu'à 2 ans et le mâle jusqu'à 3 ans.

#### 1.4.3. Régime alimentaire et dégâts :

D'après Steffan (1978), dans le grain de blé, le *Tribolium* devient un déprédateur secondaire ne s'attaquant qu'aux grains brisés ou entamés par un déprédateur primaire *Sitophilus oryzae*. C'est ainsi qu'une expérience effectuée à une température de 30°C sur une population de 25 *Tribolium* adultes placés dans un blé entier à 12% de teneur en eau ne s'élèvera, après 5 mois, qu'à 70 individus. Avec du blé contenant 2% de grains cassés, cet effectif est au bout de même temps sera de 450 individus ; lorsque le blé comprend 8% de grains cassés, la population peut être contenir 2000 *Tribolium* au terme de 5 mois de stockage.

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

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



Figure 1 : Larve de *T.confusum*



Figure 2 : Adulte de *T. confusum*

(Anonyme, 2010)



**PARTIE II**  
**ETUDE DE LA PLANTE**

## **PARTIE II : ETUDE DE LA PLANTE**

### **2.1. Généralités :**

La Famille des myrtacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 3800 espèces réparties en 133 genres (Oldrich et *al.*, 2005).

### **2.2. Position systématique :**

On peut définir la famille des Myrtacées du point de vue botanique selon les divisions suivantes (Grêté, 1965).

Règne : Plantae

Sous-règne : Eucaryotae

Embranchement : Spermaphytæ

Sous-embranchement : Angiospermae

Classe : Dicotylédonae

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : Myrte

Espèce : *Myrtus communis* L.

### **2.3. Description botanique de l'espèce *Myrtus communis* :**

C'est un arbuste sempervirent de 1 à 3 mètres de haut, à tiges très ramifiées, dès la base; ses buissons touffus et aromatiques portent des feuilles entières, ovales lancéolées, luisantes, coriaces, opposées, par deux ou quelquefois par trois ; fleurs blanches solitaires à l'aisselle des feuilles, axillaires, hermaphrodites, périanthe à cinq sépales et cinq pétales; nombreuses étamines et un style saillant ; baies bleu-noir, globuleux, couronnées par le calice persistant (Quezel et Santa, 1963) (Figure 3). Espèce méditerranéenne, commune dans le Tell et sur le littoral du centre, connu sous le nom de "Rihan" (Baba Aïssa Farid, 1991).



**Figure 3 : Photos de *Myrtus communis* L. (originale)**

#### **2.4. Culture :**

D'après Bianchini et Azzura (1975), la multiplication du myrte se fait, soit par bouturage qui est facile à réaliser au mois de mai pour les boutures herbacées et en été pour les boutures semiligneuses, soit par marcottage qui s'effectue aussi simple au printemps ou en automne, ou alors, par semis en septembre. La récolte se fait en été. Pour entretenir le myrte, il faut effectuer une taille éventuelle de mise en forme au mois de mai.

Le Myrte pousse en plein soleil ou en demi-ombre, supporte assez bien le froid. Malgré cela, la plante ne pousse que dans les régions méditerranéennes, dans un terrain argilo-siliceux bien drainé car le myrte résiste à la sécheresse. Il a besoin d'un arrosage régulier mais pas trop fréquent. La multiplication du myrte se fait, soit par bouturage en juin avec des rameaux semi-lignifiés, soit par marcottage en début d'automne, ou alors, par semis en septembre. Le myrte fleurit en avril, juin et sa floraison peut se prolonger jusqu'à octobre. La récolte se fait en été. Pour entretenir le myrte, il suffit de le tailler au mois de mai (Bianchini et Azzura, 1975).

#### **2.5. Aire de répartition :**

Le myrte est une plante spontanée des régions méditerranéennes, généralement à proximité de Canaries et s'étend également en Asie jusqu'à la Perse (Bartels, 1998). En Algérie, d'après Quesel et Santa (1963), le myrte est très commun dans le Tell et plus

précisément dans le littoral Algéro-constantinois, il paraît manquer ailleurs. Il est souvent rencontré dans les guarrigues et les broussailles.

Le myrte est une plante spontanée de notre flore et typique des régions méditerranéennes, bien que son aire de diffusion s'étend également en Asie et jusqu'en Perse (Paris et Morse, 1967 ; Bianchini et Corbetta, 1975). D'après Quesel (1963), on le rencontre souvent dans les garrigues et les broussailles. Très commune dans le Tell et plus précisément dans le littoral Algéro-Constantinois.

## **2.6. Phytochimie :**

D'après Roulier *et al.* (2005), le myrte est composé principalement des tanins, de l'huile essentielle et de résine. Les feuilles présentent la particularité d'avoir comme des petites glandes qui renferment une concentration importante d'huile essentielle. La distillation des rameaux feuillés donne une huile essentielle de composition différente selon les lieux géographiques. Cette huile est peu courante et non toxique, son odeur est fine et puissante.

## **2.7. Propriétés médicinales et utilisations :**

D'après Valnet (1983), le myrte est utilisé depuis très longtemps tant dans la pharmacopée que dans la parfumerie. Les baies servent à confectionner les confitures. Les boutons floraux peuvent être utilisés comme du poivre, les feuilles parfument les viandes et les grillades.

Les applications du myrte sont par voie interne, en infusion, décoctions, sirop, teintures, solutions alcooliques de myrtilol, ou par voie externe, décoctions en compresse ou lavage des plaies par exemple.

Selon Beniston (1985), une huile aromatique est extraite de l'écorce, des feuilles et des fleurs de myrte et est utilisée en parfumerie. Les fruits sont comestibles.

D'après Valnet (1983), le myrte est tonique, à une concentration cicatrisante, antiseptique, astringente et hémostatique. Il est également utilisé contre les leucorrhées, les hémorroïdes, les affections pulmonaires, l'essence est employée en parfumerie. L'huile du myrte est recommandée pour les cas de bronchite, sinusite, otite, diarrhée et prostatite, elle peut être appliquée pure sur la peau.

**PARTIE III**  
**LES HUILES ESSENTIELLES**

## **PARTIE III : LES HUILES ESSENTIELLES :**

### **3.1. Historique et généralités :**

La médecine était basée sur une grande connaissance de l'herboristerie et de la botanique, les quelles permettaient de lutter efficacement contre les divers maux dont souffraient les patients (Ausloos, 2002).

Les plantes ont été de tout temps utilisées par l'Homme soit dans sa nourriture, comme médicament et parfois même dans ses rites religieux (Anonyme, 2007). De même, leurs extraits étaient déjà connus et utilisés par les Egyptiens, les Perses et les Grecs pour leurs propriétés aromatisantes et médicinales (Schauemberg et Paris, 1977). Au début du 16<sup>ème</sup> siècle, "Paracelese" un médecin suisse étudie l'extraction de "l'âme" de végétaux à laquelle on donnera le nom "d'esprit" puis "d'essence" et finalement "d'huile essentielle" (Bardeau, 1979).

Les huiles essentielles sont des substances naturelles existant depuis l'antiquité. Les arômes et les parfums furent parmi les premiers signes de la reconnaissance qui marquèrent la vie de l'homme (Mengal et *al.*, 1993).

L'utilisation des extraits de plantes comme insecticides est connue depuis longtemps. Dans certaines régions d'Afrique noire, les feuilles de tabac malaxées dans l'eau étaient utilisées pour lutter contre les moustiques. Au Maroc, l'utilisation de plantes contre les invasions de moustiques est une pratique très courante, surtout dans les régions rurales (Svoboda, 2000).

D'après Hart et *al.* (2008) Le terme huiles essentielles (HES) dérive de « quinta essentia », un nom donné par le médecin suisse Paracelsus aux extraits de plantes obtenues par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante.

Approximativement 3000 HES sont connues, alors que 300 sont commercialement importantes. Grâce à leurs activités antimicrobiennes, antifongiques, antiparasitaires et à leurs fragrances, les HES sont utilisées dans les domaines

pharmaceutiques, alimentaires, cosmétiques... Néanmoins, une seule huile peut avoir plusieurs utilisations à la fois (Bakkali *et al.*, 2008).

### **3.2. Définition :**

Ce sont des produits odorants de composition chimique complexes renfermant des principes actifs volatiles et contenus dans les végétaux. Toutes les parties de la plante peuvent contenir des huiles essentielles dans des vésicules spécialisées (Charpentier *et al.*, 2008).

Volak et Stodola (1983) définissent l'huile essentielle comme étant des liquides volatiles, réfringents, optiquement actifs, voisins des huiles, d'odeur tout à fait caractéristique. Elles se forment dans un grand nombre de plante comme sous produit du métabolisme secondaire.

La nouvelle encyclopédie Funk et Wangnalls (2004), décrit les huiles essentielles en tant que liquide volatile, la plupart du temps insolubles dans l'eau mais librement solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles végétale et minérale.

En 2000, l'association française de normalisation AFNOR, définit une huile essentielle comme étant un produit obtenu à partir d'une matière végétale soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques ou encore par distillation sec, l'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques. Cette définition est restrictive car elle exclut aussi bien les produits extraits à l'aide de solvants que ceux obtenus par tout autre procédé.

### **3.3. Répartition et localisation des huiles essentielles :**

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 ou dans es tissus des végétaux, on distingue des cellules à huiles essentielles chez les Lauracées ou Zingiberacées, des poils sécréteurs chez les Lamiacées et les Labiées, des poches sécrétrices chez les Myrtacées et les Rutacées et les canaux sécréteurs chez les Apiacées ou des Astéracées (Bruneton, 1999).

Selon Baaliouamer (1987) les huiles essentielles sont souvent plus concentrées dans les brindilles, les fleurs et les graines. Dans une même plante, ces huiles peuvent exister à la fois dans différents organes. La composition chimique pouvant varier d'un organe à un autre. Ainsi dans le cas du citronnier, la fleur et le fruit fournissent des essences de composition chimique différente.

Tous les organes végétaux peuvent renfermer des huiles essentielles en particulier les sommités fleuries (Lavande, Menthe). On les trouve aussi dans les écorces (Cannelier), les racines (Vétiver), les rhizomes (Gingembre), les fruits (Anis, Fenouil, Badiane), le bois (Camphrier), les feuilles (Citronnelle, Eucalyptus), les graines (Muscade) et les boutons floraux (clou de Girofle) (Belaiche, 1979 ; Paris et Hurabielle, 1981 ; Bruneton, 1999 ; Ghuestem et *al.*, 2001).

Les HES peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : feuilles, fleurs, écorces, rhizomes, fruits et graines. La synthèse et l'accumulation des HES sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées. Les HES sont synthétisées dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent dans des cellules glandulaires recouvertes d'une cuticule. Les cellules endodermales se situent toujours à l'abri de ces substances, grâce à la présence d'un autre type de cellules appelées les cellules de gardes. La forme et le nombre des structures histologiques sécrétrices varient d'une famille botanique à l'autre et même d'une espèce à une autre. Néanmoins, plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce (Karray-Bouraoui et *al.*, 2009). Les trichomes glandulaires sont les formes les plus répandues, ils représentent à la fois le site de biosynthèse et de stockage des HES (Combrinck et *al.*, 2007).

#### **3.4. Fonctions et intérêts des huiles essentielles :**

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

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (Rai et *al.*, 2003). Elles sont en général considérées comme des déchets du métabolisme (Amiot, 2005) ou des sous produits de l'activité métabolique d'une plante (Banthrope et *al.*, 1992 in Amiot, 2005). Cependant, plusieurs effets apparent utiles ont été décrits telles que la réduction de la compétition des autres espèces de plantes (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines par exemple le cinéole et le camphre, libérés dans l'atmosphère par *Salvia leucophylla* sont absorbés par le sol sec, inhibant la germination des espèces prairiales ainsi que la protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides et contre les herbivores par gout et effets défavorables sur le système nerveux (Porter, 2001 ; Guignard et Dupont, 2004).

Certains auteurs pensent que les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et favoriseraient ainsi la pollinisation (Bruneton, 1999 ; Guignard et Dupont, 2000). D'autres auteurs affirment que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal et semblent aider la plante à s'adapter à son environnement. Belaiche (1979), signale que l'utilité des huiles essentielles pour les plantes désertiques est liée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes. Les vapeurs aromatiques permettent de saturer l'air autour de la plante empêchant, le jour, la température de l'air de monter jusqu'à un degré insupportable pour la vie végétale et la nuit de baisser de façon excessive.

Valnet (1984) disait que les huiles essentielles sont utiles et efficaces dans de nombreux aspects de la vie quotidienne, elles ont des fonctions très variées depuis très longtemps, elles sont utilisées pour leurs vertus médicinales ainsi que pour leurs arômes. Aussi elles sont utilisées en Agroalimentaire, essentiellement dans la technologie de fabrication des boissons non alcoolisées

Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement. Par exemple, ces huiles confèrent un rôle défensif contre les champignons et microorganismes et attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs. Un feuillage renfermant une teneur élevée en essences végétales (Ex : laurier) le protège contre les

herbivores. Le rôle des huiles essentielles au niveau des racines, des écorces et du bois confère à la plante un effet antiseptique vis-à-vis des parasites telluriques (Richter, 1993). Il est toutefois vraisemblable que ces huiles interviennent aussi bien dans les interactions végétal-végétal (inhibition de la germination et de la croissance) que dans les interactions végétal-animal.

### **3.5. Facteurs de variabilité des huiles essentielles :**

La composition d'une huile essentielle varie au sein d'une même espèce sous l'influence de plusieurs paramètres :

#### **3.5.1. Facteurs d'origine naturelle intrinsèque :**

##### **3.5.1.1. Le cycle végétatif :**

D'après Bruneton (1999) Pour une espèce donnée la proportion des différents constituants d'une huile essentielle peut varier de façon importante tout au long du développement. Ainsi, la période pendant laquelle la plante est cueillie influence nettement la composition de son huile essentielle.

Garnero (1985), considère que la variabilité est d'ordre génétique, localisation, maturité. En effet, au cours du cycle végétatif, des modifications importantes dans la composition des essences végétales peuvent être relevées.

##### **3.5.1.2. L'organe producteur :**

La composition de l'huile essentielle d'une même espèce végétale peut varier selon sa localisation dans ce végétal (Feuilles, écorce, fleurs....etc) (Sallé et Pelletier, 1991).

##### **3.5.1.3. L'origine botanique :**

Selon Soto-Mendivil et *al.* (2006) et Baydar et *al.* (2004), La teneur en huile essentielle ainsi que sa composition peuvent varier d'une espèce végétale à une autre.

### **3.5.2. Facteurs d'origine naturelle extrinsèque :**

D'après Baydar et *al.* (2004), Les facteurs environnementaux influencent directement sur la production et la qualité de l'huile essentielle. La température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents exercent une influence directe, surtout chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficielles (tel que les poils sécréteurs des Lamiaceae).

En effet, un climat sec et ensoleillé favorise leur production, cause pour laquelle les plantes sont plus riches en huile essentielle lorsqu'elles poussent dans un climat chaud et sec.

La composition de l'HE peut également dépendre de la saison et des conditions géographiques (Soto-Mendivil et *al.*, 2006).

### **3.5.3. Facteurs d'origine technologique :**

Le mode de récolte; les conditions de transport, de séchage et de stockage des plantes peuvent générer des dégradations enzymatiques importantes. Même les procédés d'extraction et de stockage des huiles essentielles peuvent être responsables de leur instabilité (Baydar et *al.*, 2004). Lors de l'extraction, plusieurs perturbations peuvent avoir lieu, en particulier sous l'effet de la température et la durée d'extraction (Evans, 1998).

Selon Senator (1996) in Djibo et *al.* (2004), la présence ou l'absence de certains constituants dans la plante dépend de l'un ou de la combinaison de trois facteurs (le patrimoine génétique, l'âge et l'environnement de la plante). En effet, l'influence des facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité (Boira et Blanquer, 1998 ; Palà-paul et *al.*, 2001), l'altitude et latitude (Azevedo et *al.*, 2001 ; Oliveira et *al.*, 2005), la nature du sol (Oliveira et *al.*, 2005 ; Peng et Yang, 2005 ; Zheljzkov et *al.*, 2005), sur la composition chimique et le rendement des huiles essentielles a été décrite. Certains auteurs se sont préoccupés d'autres facteurs tels que le cycle végétatif (Juteau et *al.*, 2002 ; Schwob et *al.*, 2004 ; Yayi et *al.*, 2004 ; Jordan et *al.*, 2006 ; Sefidkon et *al.*, 2007).

La composition et le rendement des huiles essentielles peuvent varier selon l'âge, les facteurs climatiques et pédologiques (la nature du sol), analytiques (les

procédés d'extraction), génétiques (les gènes) et physiologiques (stade de développement) (Regnault-Roger, 2005). Duval (1993) a démontré qu'elle peut varier également : dans les feuilles de plants jeunes que dans les feuilles de plants âgés, les fruits mûrs que dans les feuilles, les feuilles que dans les racines et les fruits de plants âgés que dans ceux des plants jeunes.

Le rendement et la composition des HES varient selon l'environnement (température, salinité, pluviosité...), la période de récolte (saison, stade de développement), l'état de plante (fraîche ou séchée) et la technique d'extraction (hydrodistillation, entraînement à la vapeur d'eau, extraction par solvant...). Ces variations sont aussi observées entre les HES extraites des différentes parties de la même plante (feuilles, fleurs, tiges, graines et racines) (Dorman et Deans, 2000). (Dudareva et *al.*, 2004). De même que des HES extraites des feuilles de coriandre (*Coriandrum sativum*) sont différentes des huiles extraites des graines de la même plante (Delaquis et *al.*, 2002).

Ghuestem et *al.* (2001), indiquent, que la teneur des plantes en huile essentielle est faible, souvent inférieure à 1%. Il existe, cependant, des exceptions telles que le clou de girofle qui renferme plus de 15%.

### **3.6. Chémotype :**

La composition chimique de l'huile essentielle de certaines plantes peut varier à l'intérieure d'une même espèce. En effet une même plante aromatique, botaniquement définie, synthétise une essence qui sera biochimiquement différente en fonction du biotope dans lequel elle se développera ; ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes, types biogénétiques, races chimiques ou races biologiques.

Biochimiquement différent, deux chémotypes présenteront non seulement des activités thérapeutiques différentes (Lydie, 2002), mais aussi des toxicités très variables (Baudoux, 1997). La non-connaissance de cette notion capitale et le manque de précision laissent la porte ouverte aux échecs thérapeutiques et à la toxicité de certaines d'entre elles (Laouer, 2004).

On voit selon Bruneton (1999), l'importance qu'il y a, pour assurer la qualité du produit et sa constance, à étudier, définir et contrôler l'ensemble des paramètres, de la culture à l'élaboration du produit final. Toute généralisation s'avère hasardeuse.

### **3.7. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :**

Selon Duraffourd et *al.*, (1978); Bruneton (1999) les propriétés physiques des huiles essentielles sont résumées comme suit :

- Ce sont des substances généralement liquides extrêmement volatiles et perdent rapidement leurs propriétés.
- Rarement colorées (cas de la cannelle qui est rougeâtre et la camomille qui est bleutée).
- Elles ont une odeur souvent forte.
- Elles ont une densité inférieure à l'unité.
- Leur indice de réfraction et pouvoir rotatoire sont généralement élevés puisqu'elles sont composées principalement de molécules asymétriques.
- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther et dans la plupart des solvants organiques.
- Elles sont insolubles dans l'eau.
- Leur point d'ébullition se situe entre 60° et 240 °C.
- Les huiles essentielles sont sensibles à l'oxydation, ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux.

La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entraînable à la vapeur d'eau ; il existe, cependant, des exceptions telles que les huiles essentielles de Sassafras, de Girofle et de Cannelle dont la densité est supérieure à celle de l'eau. Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire (Paris et Hurabeille, 1981 ; Duraffourd et *al.*, 1990 ; Sallé et Pelletier, 1991). La densité nous renseigne selon Garnerio (1996) sur la composition chimique : ainsi une densité inférieure à 0.9 indique la présence, dans cette huile, de composés terpéniques et aliphatiques à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 indique une composition très variée en composés terpéniques polycycliques.

Les huiles essentielles s'oxydent facilement à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène, en même temps, leurs odeurs se modifient, leurs points d'ébullition augmentent et leurs solubilités diminuent. Elles absorbent le chlore, le brome et l'iode en dégageant de la chaleur (Duraffourd et *al.*, 1990).

### **3.8. Toxicité des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont des molécules actives. Elles peuvent avoir de graves effets secondaires. Il est important de respecter la posologie et la durée de la prise. Parmi ces effets, citons : des allergisants ou hypersensibilisants, photosensibilisants dus aux furocoumarines, neurotoxiques dus aux cétones, néphrotoxiques dus aux terpènes majoritaires dans l'huile essentielle de Térébenthine et des rameaux de Genévrier, hépatotoxiques dus aux phénols pris pendant des laps de temps trop importants ou à doses massives L'eugénol, qui est l'un des constituants du Thym, est hépatotoxique. Chez l'enfant, 10 ml eugénol peut conduire à une insuffisance rénale. Il a été démontré que le linalol, l'un des constituants d'une autre espèce de thym, est cytotoxique pour les cellules de la peau humaine (Eisenhut, 2007 *in* Elkolli, 2008).

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aigue par voie orale faible ou très faible : la majorité des huiles qui sont couramment utilisées ont une dose létale (DL50) comprise entre 2 et 5 g/kg (Anis, Eucalyptus, Girofle...etc.) ou, ce qui est le plus fréquent, supérieure à 5 g/kg (Camomille, Lavande...etc.). D'autres, une quinzaine, ont une DL50 comprise entre 1 et 2 g /kg : Basilic, Estragon, Hysope (1,5ml/kg). Les plus toxiques sont les huiles essentielles de Boldo (0,13 g/kg ; convulsions apparaissant dès 0,07 g/kg), de Chénopode (0,25 g/kg), de Thuya (0,83 g/kg), ainsi que l'essence de moutarde (0,34 g/kg) (Bruneton, 1999).

Ngamo (2004) a démontré que les huiles essentielles sont des neurotoxines à toxicité aigue vis-à-vis des arthropodes, elle est par contre peu toxique pour les animaux à sang chaud et les oiseaux. Chez l'Homme ces huiles peuvent être très toxiques à des doses élevées ainsi, l'huile de romarin est cholérétique, diurétique et provoque une action spasmolytique (Anonyme, 2005).

### **3.9. La conservation des huiles essentielles :**

A cause de leur évaporation rapide, leur sensibilité à l'air et à la lumière, les huiles essentielles doivent être conservées dans des flacons opaques et fermés hermétiquement (Valnet, 1984 ; Sallé, 1991).

Selon Sallé (1991), les huiles essentielles se conservent dans des flacons en verre fumé, fermés par des bouchons bien hermétiques. En effet, il importe d'éviter leur oxydation à l'air et leur polymérisation à la lumière par l'utilisation de flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun, entièrement remplis et fermés de façon étanche. Elles se conservent à une chaleur ambiante sauf les huiles essentielles d'orange, mandarine, pamplemousse et citron (ils sont obtenus par expression à froid). Les huiles essentielles se conservent 12 à 18 mois après leur fabrication car leurs propriétés diminuent avec le temps et deviennent alors inactives.

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

La température : obligation de stockage à basse température (entre 08°C et 25°C).

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

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

La durée de conservation admise est de 02 à 05 ans.

### **3.10. Composition chimique des huiles essentielles :**

Les composés chimiques des huiles essentielles appartiennent à deux familles chimiques bien distinctes à savoir, les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Bruneton, 1993).

Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Le nombre de composants isolés est d'environ des milliers et il en reste beaucoup à découvrir. Pour Bruneton 1999, ces

constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents. Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils.

### **3.10.1. Les terpénoïdes :**

Les terpénoïdes retrouvés dans les huiles essentielles sont les terpènes les plus volatiles, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée tels que les monoterpènes et les sesquiterpènes (Bruneton, 1993).

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone ( $C_5H_8$ ) reconnue par Wallach dès 1887 *in* Lamarti et *al.* (1994). Cet isoprène est à la base du concept de la «règle isoprénique» énoncée en 1953 par Ruzicka *in* Lamarti et *al.* (1994). Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle (IPP), désigné sous le nom d'isoprène actif comme le véritable précurseur de la molécule terpénique. Les systèmes enzymatiques responsables de cette conversion (IPP en composés terpéniques dans les trois compartiments: cytoplasmes, mitochondries et plastes) sont hydrosolubles ou membranaires. Ces derniers permettent l'élongation de la chaîne isoprénique conduisant à tout l'éventail des composés terpéniques à 10, 15, 20 et 30 atomes de carbones (Lamarti et *al.*, 1994). Pibiri (2006), souligne que seuls les terpènes dont la masse moléculaire est relativement faible (mono – et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999) et leur confère un caractère volatil et est à la base de leurs propriétés olfactives.

Il convient de souligner que la synthèse des terpènes n'est pas propre aux végétaux. Le squalène, ainsi que son nom l'indique est un terpène abondant chez les requins. Des sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent également chez les spongiaires et les coelentérés (Guignard, 2000).

Les terpènes sont constitués d'un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Dans certaines huiles essentielles, les hydrocarbures prédominent (ex. l'essence de Térébenthine) dans d'autres, la majeure partie de l'essence est constituée de composés oxygénés. Il est à noter que l'odeur et le goût des huiles essentielles sont donnés par ces composés oxygénés. Parmi ces composés oxygénés, on note d'alcools (géraniol, linalol), d'esters (acétate de linalyle), d'aldéhydes (menthone, camphre, thuyone), les cétones, les éthers, les phénols et les peroxydes (Paris et Hurabielle, 1981; Svoboda et Hampson, 1999).

### **3.10.2. Les hémiterpènes :**

Ils ne comportent qu'une seule unité isoprène (méthyl-2-butadiène-1, 3) en C<sub>5</sub>. Bien que comparé aux autres terpènes, les hémiterpènes sont rares dans la nature (Paul José Teisseire, 1991). Cependant une cinquantaine de composés sont connus jusqu'à présent. C'est le cas du prénil 30 ; l'un des constituants des huiles essentielles de *Cananga odorata* (Annonaceae) et *Humulus lupulus* (Cannabaceae). Le (S)-(-)-3-Méthylbut-3-ène-2-ol 31 est aussi très répandu dans la nature, c'est l'un des constituants des huiles essentielles d'oranges et pamplemousses (Eberhard Breitmaier, 2006).

### **3.10.3. Les monoterpènes :**

Ils comportent 10 atomes de carbone et peuvent être scindés en deux unités isopréniques. Ils sont classés en monoterpènes acycliques, monocycliques et bicycliques. On rencontre dans chaque série, les produits oxygénés tels qu'alcools, aldéhydes, cétones, oxydes, esters... (Paul José Teisseire, 1991 ; Eberhard Breitmaier, 2006).

Pour Bakkali et *al.* (2008), les monoterpènes constituent parfois plus 90% de l'huile essentielle. Cyclisés en méthylcyclopentanes et glycosylés, ils constituent les iridoïdes (Bruneton, 1999). La glycosylation les rendant solubles, on les trouve non pas dans des appareils sécréteurs mais dans toutes les parties de la plante (Peter et *al.*, 1999).

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> (Rahal, 2004). Ces composés peuvent être:

monoterpènes acycliques (myrcène, ocimènes), monoterpènes monocycliques ( $\alpha$ - et  $\gamma$ -terpinène, p-cymène) et aux monoterpènes bicycliques (pinènes,  $\Delta^3$ -carène, camphène, sabinène). Selon Bruneton (1999), la réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions: alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols.

#### **3.10.4. Les sesquiterpènes :**

Les sesquiterpènes sont des molécules possédant 15 atomes de carbone et qui peuvent être virtuellement déconnectées en trois unités isopréniques. Ils se rencontrent aussi dans les huiles essentielles des végétaux supérieurs et, en tant que tels, ils peuvent intervenir dans les propriétés pharmacologiques attribuées à ces fractions volatiles (Bruneton, 1999).

Un autre groupe de sesquiterpènes est caractérisé par la présence d'une  $\gamma$ -lactone, est majoritairement répandu chez le genre *Artemisia* (Colin, 2002). Ces molécules sont fréquemment localisées dans les poils sécréteurs des feuilles, des tiges et des bractées de l'inflorescence (Krief, 2003). Elles sont souvent responsables de phénomènes allergiques (Bruneton, 1999).

Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est  $C_{15}H_{24}$  soit une fois et demie (sesqui) la molécule des terpènes (Belaiche, 1979). Ils présentent une grande variété dans les structures conduisant à un nombre élevé de possibilités, ce qui a retardé l'élucidation de leurs structures (Rahal, 2004). Les sesquiterpènes peuvent être également, comme les monoterpènes, acycliques (farnésol), monocycliques (humulène,  $\alpha$ -zingibèrene) ou polycycliques (matricine, artéannuine,  $\beta$ , artémisinine). Ils renferment aussi des fonctions comme alcools (farnésol, carotol,  $\beta$ -santalol, patchoulol), cétones (nootkatone, cis-longipinane-2.7-dione,  $\beta$ -vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle) (Bruneton, 1999 ; Laouer, 2004).

#### **3.10.5. Les composés aromatiques dérivés du phenylpropane :**

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phénylpropane ( $C_6-C_3$ ), mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et dont la biogenèse est totalement différente (Paris et Hurabielle, 1981). Bruneton (1999),

considère que ces composés sont très souvent des allyl- et propenyl phénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'Apiacées (Anis, Fenouil: anéthole, anisaldehyde, méthyl-chavicol=estragole. Persil : apiole) mais aussi de celles du Girofle (eugénol), de la Muscade (safrol, eugénol), de l'Estragon (eugénol), du Basilic (eugénol), de l'Acore (asarones) ou des Cannelles (cinnamaldéhyde eugénol safrol). On peut également selon le même auteur, rencontrer dans les huiles essentielles des composés en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'antranilate de méthyle. Les lactones dérivées des cinnamiques (par exemple les coumarines) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaibles par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines huiles essentielles.

### **3.10.6. Les composés d'origines diverses :**

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînaibles par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares. Enfin, il n'est pas rare de trouver dans les concrètes des produits de masses moléculaires plus importantes non entraînaibles à la vapeur d'eau, mais extractibles par les solvants : homologues des phénylpropanes, diterpènes, etc... (Bruneton, 1999). Le composé soufré le plus rencontré est l'allyl-isothiocyanate issu de la dégradation d'un glucoside sinigraside qui se trouve dans les graines de moutarde noire. Ce composé est incolore, fluide et de saveur piquante. Certaines plantes aromatiques produisent des huiles essentielles dont les composés terpéniques renfermant l'élément nitrogène. Parmi ces composés on cite l'indole, qui se trouve dans l'huile essentielle de citron et des fleurs de jasmin.

**PARTIE IV : UTILISATION DES HUILES  
ESSENTIELLES EN TANT QUE BIOPESTICIDES**

## **PARTIE IV : UTILISATION DES HUILES ESSENTIELLES EN TANT QUE BIOPESTICIDES :**

L'importance du rôle joué par les huiles essentielles a été démontrée depuis des millénaires d'années. Actuellement, elles peuvent être efficaces contre plusieurs ennemis de cultures.

L'utilisation répandue des insecticides synthétiques a mené à beaucoup de conséquences négatives (c.-à-d., résistance des insectes, toxicité sur la faune auxiliaire, problèmes de résidu, pollution environnemental) ayant pour résultat l'attention croissante étant donnée aux produits naturels (Isman, 2006). Les plantes peuvent fournir des solutions de rechange potentielles aux agents actuellement utilisés contre les insectes parce qu'elles constituent une source riche en produits chimiques bioactifs. Beaucoup d'effort a été donc concentré sur les matériaux dérivés de plante pour les produits potentiellement utiles en tant qu'agents commerciaux de lutte contre les insectes (Kim et *al.*, 2003). Les plantes aromatiques sont parmi les insecticides les plus efficaces d'origine botanique et les huiles essentielles constituent souvent la fraction bioactive des extraits de plantes (Shaaya et *al.*, 1997).

### **4.1. Activité insecticide des huiles essentielles :**

L'effet des huiles essentielles a fait l'objet de nombreuses recherches contre plusieurs insectes appartenant à plusieurs ordres, elles provoquent la toxicité soit par :

- Inhalation : due par l'abondance des composés volatiles sur les insectes adultes.
- Contact : par la formation de film imperméable qui suffoque l'insecte (larvicide) soit en inhibant l'éclosion des oeufs (ovicide) ou en bloquant son développement et sa multiplication.
- Ingestion : se fait lorsque ces huiles pénètrent à l'intérieur de l'insecte et bloque l'activité alimentaire des larves (Philogene et *al.*, 2005, Regnault-Roger, 2005).

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, ingestion et par fumigation a été bien démontré contre les déprédateurs des denrées entreposées, de nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des formes d'utilisation des plantes qui permettent de renforcer et de rentabiliser leur activité insecticide (Isman, 1999). L'objectif est

d'améliorer les techniques traditionnelles basées sur l'utilisation des ressources végétales renouvelables pour une meilleure gestion des déprédateurs dans les stocks de niébé de plus grande importance.

L'utilisation d'insecticides se développe de plus en plus, notamment en poudrage ou en pulvérisation. Néanmoins, les efforts se sont portés sur la recherche de nouveaux insecticides plus efficaces et moins dangereux que ceux actuellement utilisés. L'utilisation des huiles essentielles à propriétés insecticides peut représenter une solution alternative à la lutte chimique. Les travaux qui mettent en évidence l'efficacité de ce choix, ne cessent d'augmenter du jour à l'autre en voici quelques uns :

- Composée majoritairement de monoterpènes oxygénés ; l'huile essentielle de *Salvia hydrangea* (Lamiaceae) constitue un remède pour lutter contre deux espèces d'insectes (*Sitophilus granarius* et *Tribolium confusum*) (Recep Kotan et al., 2008).
- Les huiles essentielles de *Bellardia trixago* (L.) All et *Artemisia judaica* exercent un effet larvicide sur les larves *Spodoptera littoralis* (Samir et al., 2008 ; Carmen Formisano et al., 2008).
- L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, par ingestion et par fumigation a été bien démontré. Contre les déprédateurs des denrées entreposées, plusieurs études ont été réalisées sur l'efficacité des huiles essentielles. A titre d'exemple El-Nahl et al. en 1989 avaient testé l'effet toxique des vapeurs de l'huile essentielle d'*Acorus calamus* L. de l'Inde, ils avaient trouvé que *Callosobruchus chinensis* L. était le plus sensible suivi de *Sitophilus granarius* L., *Sitophilus oryzae* L., *Tribolium confusum* et *Rhyzoperta dominica*. Dans cette expérimentation, le facteur influençant sur l'efficacité des vapeurs était la durée d'exposition au film toxique.
- Ainsi, l'efficacité des huiles essentielles du céleri : *Apium graveolens* (Apiaceae), d'oranger douce : *Citrus sinensis* (Rutaceae), de gommier bleue : *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), de laurier noble : *Laurus nobilis* (Lauraceae), de lavande : *Lavandula hybridae*, de basilic : *Ocimum basilicum*, d'origan : *Origanum vulgare*, du romarin : *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) et du

Thuja d'orient : *Thuja orientalis* (Cupressaceae) a été mentionnée contre un ravageur des denrées stockées *Acanthoscelides obtectus* (Bruchidae) (Papachritos et Stampoulos, 2002).

- Regnault-Roger (2005), affirme que les huiles essentielles de thym (*Thymus vulgaris*), de l'origan (*Origanum vulgare*), du romarin (*Rosmarinus officinalis*), du basilic (*Ocimum basilicum*), de la sauge (*Salvia officinalis*) et du coriandre (*Coriandrum sativum*) sont très toxiques vis-à-vis de *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera : Bruchidae), à une dose inférieure à 10 mg/dm<sup>3</sup>.

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

En 2003, Tapondjou et al. montrèrent l'efficacité de l'huile essentielle de la même plante, en plus de celle d'*Eucalyptus saligna* sur *Callosobruchus maculatus*, et *C. ambrosioides*. Ces deux huiles exercent également un effet répulsif sur la bruche de niébé.

En Algérie, l'efficacité de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Mentha spicata* et ses composés le 1,8 cinéole et le carvone a été relevée vis-à-vis de *Rhyzopertha dominica* (Khalfi et al., 2006). De même une mortalité de 100% des adultes de ce ravageur après inhalation à une concentration de 0,392 mg/cm<sup>3</sup> de l'huile de *Artemisia herba alba* a été rapportée par Boutekedjiret et al. (2007).

Khalfi et al. (2008), ont signalé que les huiles essentielles de l'armoise blanche *Artemisia herba alba* (Asteraceae), le genévrier *Juniperus phoenicea* (Cupressaceae) et le faux poivrier *Schinus molle* (Anacardiaceae) présentent respectivement un pourcentage de répulsivité de 88%, 97% et 95% vis à vis de *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera-Bostrychidae).

En 2001, Kechout avait testé l'efficacité de l'huile essentielle du Thym sur *Sitophilus orysae* L., traduite par un taux de mortalité évalué à 85%. Sur *Rhyzopertha dominica* (Fabricus), des essais sur l'efficacité des huiles essentielles de romarin et de thym, par contact et par inhalation, ont encore prouvé l'effet insecticide de ces deux huiles. En effet, le romarin s'est montré efficace par contact à la dose de 1,384mg/cm<sup>2</sup> en provoquant 89,72% de mortalité alors que le thym à la même dose donna un taux de 100%. Par inhalation, les enregistrements des mortalités ont dévoilé l'efficacité du thym qui dépassait celle du romarin : 40,93% contre 38,92% à la plus forte dose 1,44 mg/cm<sup>3</sup>. Les essais ont également montré que la répulsivité du thym est plus importante que celle du romarin, elle est estimée à + 50% et + 46,66% respectivement (EL Guedoui, 2003).

#### **4.2. Activité acaricide, fongicide et bactéricide des huiles essentielles :**

Phytophages ou ectoparasites, les acariens ont été la cible de plusieurs essais testant l'efficacité des huiles essentielles pour une éventuelle utilisation dans la lutte contre ces déprédateurs. Contre *Varroa jacobsoni*, parasite des colonies d'abeilles, plusieurs travaux ont été menés sur l'effet toxique de certaines essences et de leurs composant (Calderone et al., 1997).

Parmi ces derniers, c'est le thymol qui a engendré le meilleur résultat, en addition, il a été démontré que le traitement répétitif en dehors de la période de miellée n'augmente pas les résidus dans le miel et reste sous le seuil de détection gustative qui se situe entre 1,1 et 1,6 mg/kg. Il a été prouvé jusqu'à présent qu'un seul traitement à base d'huile essentielle ou d'un composé est généralement suffisant pour maintenir la population de l'acarien *Varroa* au dessous du seuil de dégât économique pendant toute la saison (Imdorf et al., 1999).

Tunl et Sahinkaya (1998), mentionnent que les huiles essentielles du cumin : *Cuminum cyminus*, de l'anis vert : *Pimpinella anisum* (Apiaceae) et d'eucalyptus : *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae), de l'origan : *Origanum syriacum* (Lamiaceae) sont très toxiques contre l'araignée rouge *Tetranychus cinnabarinus* (Tetranychidae).

De même, les huiles essentielles de *Origanum glandulosum* et de l'armoise blanche *Artemisia alba* (Asteraceae) provoquent un taux de mortalité de 100% et 99% à

des concentrations de 2% et 4% respectivement sur les formes mobiles et 100% à des concentrations de 4% et 2% respectivement sur les oeufs de *Tetranychus cinnabarinus* (Tetranychidae) (Chouat, 2005).

Oxenham et al. (2005), citent l'activité fongicide de l'huile essentielle du basilic (*Ocimum basilicum*) (Lamiaceae) contre l'agent causal de la rouille *Uromyces fabae* sur culture d'haricot (*Broad fabae*). L'efficacité des principaux composés le méthyle chavicole et le linalol de l'huile essentielle de cette même plante inhibe la croissance de la maladie tâche chocolat causée par *Botrytis fabae* de plus de 78% et 50% à des concentrations de 1000 ppm et 300 ppm respectivement sur culture d'haricot. L'application de l'eugénol, un autre composé de l'huile du basilic à 5000 ppm réduit la croissance de ce champignon à 98%.

Kishore et al. (2007), rapportent que les huiles essentielles de la cannelle *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae) et le girofle *Syzygium aromaticum* (Myrtaceae) inhibent la germination de spores de *Cercospora arachidicola*, *Phaeoisariopsis personata* et *Puccinia arachidis* de plus de 90% à une concentration de 0.01%.

Enfin, Soyly et al. (2007), notent que les huiles de l'origan : *Origanum syriacum* et du fenouil : *Foeniculum vulgare* inhibent la croissance, réduisent le développement de *Sclerotinia sclerotiorum* dans le sol à des concentrations de 0.3 µg/ml et 0.2 µg/ml et augmentent le rendement des plants de tomate.

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

#### **4.3. Activité antimicrobienne des huiles essentielles :**

La confirmation scientifique de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles une efficacité qui s'exerce à l'encontre d'agents pathogènes variés (bactéries, champignons, levures ...), affectant l'être humain, les animaux et les plantes est fondée sur de nombreuses études. Ci-dessous, sont cités quelques exemples :

Les huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* L, composées majoritairement de linalol et épi- $\alpha$ -cadinol, exercent un grand pouvoir inhibiteur envers neuf microorganismes pathogènes de nature bactérienne à savoir :

- *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pasteurella multocida*. Et fongique : *Aspergillus niger*, *Mucor mucedo*, *Fusarium solani*, *Botryodiplodia theobromae*, *Rhizopus solan* (Abdullah Ijaz Hussain et al., 2008).
- Le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* L. (chimiotype à citral) et *Cymbopogon nardus* L (chimiotype à citronellal/géranol) ; a été étudié *in vitro* sur sept souches fongiques (*Trichophyton mentagrophytes* (B), *Microsporum canis* (B), *Microsporum gypseum* (B), *Candida albicans* (B), *Cryptococcus neoformans* (B), *Malassezia pachydermatis*, *Aspergillus fumigatus* (B)) responsables d'infections mixtes chez le chien et le chat. Les résultats ont montré une activité fongistatique très valable que l'on pourrait exploiter à des fins vétérinaires (Kobak et al., 2004).

#### **4.4. Activité nématocide des huiles essentielles :**

A l'heure actuelle, plus de 200 espèces de plantes appartenant à 80 familles différentes sont étudiées pour leurs propriétés nématocides (Djian-Caporalino et al., 2005). Ainsi, déjà en 1982 (Chatterjee et al.) signalent les propriétés nématocides des huiles essentielles des feuilles de deux espèces de *Ocimum* (*Lamiaceae*), en 1991 l'activité nématocide de *Hyptis suaveolens* (*Lamiaceae*) connue pour sa richesse en huile essentielle et ses constituants le D-limonène et le menthol a été également rapportée par Sirha et Sukul (1991).

Ces dernières années les travaux de recherche dans ce sens se sont développés contre les *Meloidogyne* mais aussi contre de nombreux nématodes phytophages. Parmi une dizaine d'huiles essentielles extraites de plantes appartenant à différentes familles botaniques testées sur des mâles, des femelles et des juvéniles de *Bursaphelenchus xylophilus* les plus efficaces sont celles de l'ail (*Allium sativum*) et de la cannelle

(*Cinnamomum verum*). L'huile essentielle de galanga camphré (*Kaempferia galanga*) provoque une mortalité de 100% vis-à-vis de *Bursaphelenchus xylophilus* à une concentration de 60µg /ml (Choi et al., 2006).

Auger et Thibout (2005), notent que la cystéine qui est le constituant principal de l'ail *Allium grayi* et *Allium fistulosum* (Alliaceae) a un effet ovicide et larvicide sur les nématodes à galles *Meloidogyne incognita*. Selon, ces mêmes auteurs l'efficacité nématicide de l'huile essentielle de l'ail a été également mentionnée contre *Heterodera schachtii*, *Pratylenchus sp.* et *Globodera sp.* Les huiles essentielles du thym inhibent l'éclosion de larves L2 de deuxième stade de *Meloidogyne javanica* à une concentration de 1000 µl/l (Perez et Lewis, 2006).

Certains travaux ont permis l'isolement et la caractérisation de certains principes actifs, c'est le cas de la serpentine extraite de la pervanche de Madagascar efficace à 0.5 % contre les *Meloidogyne* (Djian-Caporalino et al., 2005). Ces données montrent l'intérêt que suscite l'utilisation des substances naturelles comme méthode alternative contre plusieurs organismes nuisibles et maladies. De plus, elles peuvent assurer un contrôle plus durable car elles sont biodégradables et non polluantes.

#### **4.5. Activité antioxydante des huiles essentielles :**

Si les effets antioxydants qu'on prête aux dérivés phénoliques semblent indiscutables, il n'en convient pas moins de rester prudent : les polyphénols étant présents de façon ubiquitaire dans le règne végétal, leur responsabilité dans une action donnée semble souvent avoir été établie sur le fait qu'aucune autre molécule susceptible de justifier l'activité n'était présente dans telle ou telle plante réputée efficace ou par simple référence à un résultat obtenu *in vitro*, sans confirmation sur un modèle biologique pertinent (Hennebelle et al., 2004).

Par ailleurs, d'autres résultats obtenus *in vitro* montrent que les huiles essentielles sont douées d'un pouvoir antioxydant très élevé. C'est le cas, par exemple, d'huile essentielle des deux plantes : *Bidens pilosa* Linn. Var. *Radiata* et *Salvia aramiensis*. (Luigia Longo et al., 2007 ; Jean-François Cavalli, 2002).

**4.6. Autres effets :**

Les huiles essentielles sont anti-inflammatoires, neurotropes (analgésiques, antalgiques, anesthésiques et sédatives), tonifiantes, digestives (spasmolytiques, oestrogéniques..), diurétiques et cardio-régulatrices (Bruneton, 1999).

**PARTIE V : TECHNIQUES  
D'EXTRACTION DES HUILES**

## **PARTIE V : TECHNIQUES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES :**

L'obtention des huiles essentielles fait appel à deux méthodes générales :

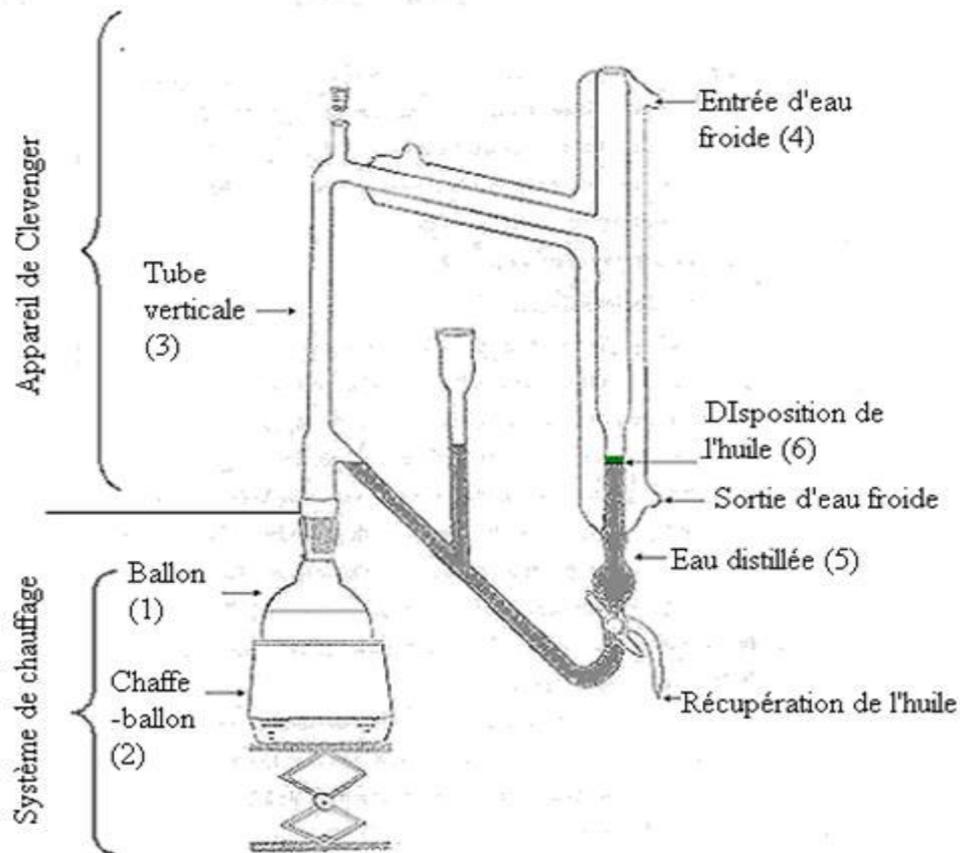
- Soit l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation.
- Soit l'expression à froid des écorces de fruits de citrus.

La technique à employer devrait être choisie selon les caractéristiques d'huile essentielle. (Crespo et *al.*, 1991).

### **5.1. Entraînement à la vapeur d'eau :**

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles (Figure 4). Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel végétal, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite condensé avant d'être séparé par décantation. Il est possible de travailler en surpression modérée, cependant la qualité du produit peut en souffrir (Bruneton, 1999 ; Marie Elisabeth Lucchesi, 2005).

La plante est placée sur une grille perforée au-dessus de la base d'alambic, et n'est pas en contact avec l'eau (Belaiche, 1979). Les particules de vapeur d'eau, se dirigeant vers le haut, font éclater les cellules contenant l'essence et entraînent avec elles les molécules odorantes. La vapeur passe ensuite à travers un récipient réfrigérant où la température diminue, provoquant le déclenchement des molécules huileuses des particules de vapeur, qui se condense en eau. L'huile et l'eau se séparent du fait de leur poids spécifique différent (Bernard et *al.*, 1988).



**Figure 4 : Processus d'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur**

L'hydrodiffusion (Figure 5) est une variante de l'entraînement à la vapeur. Elle consiste à pulser un flux ascendant de vapeur d'eau à très faible pression (0,02 à 0,15 bar) à travers la masse végétale. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau – huile essentielle » dispersé dans la matière végétale (Bruneton, 1999 ; Marie Elisabeth Lucchesi, 2005).

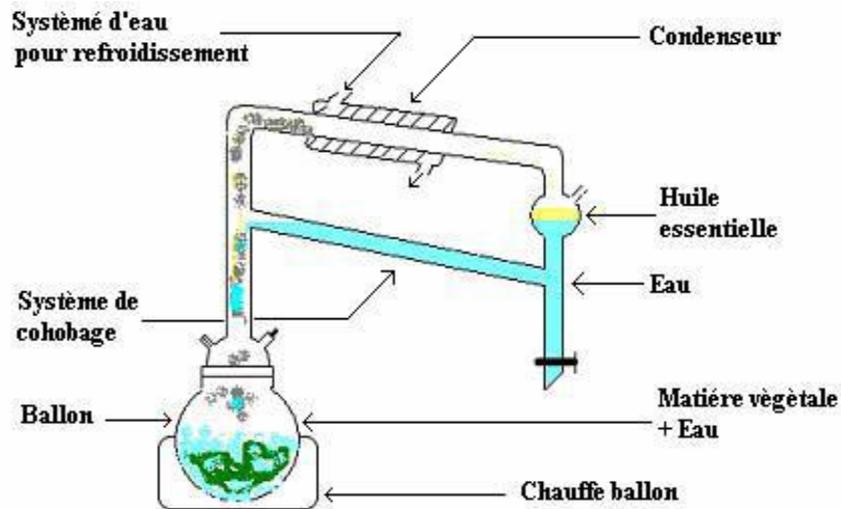
## **5.2. Hydrodistillation :**

L'hydrodistillation (Figures 4) est sans aucun doute le procédé le plus ancien, en effet il fut développé par les Arabes dès le moyen âge (Bakkali et *al.*, 2008 ; Paul José Teisseire, 1991). C'est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité (Marie Elisabeth Lucchesi, 2005).

Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Les vapeurs (mélange azéotrope « eau + huile essentielle ») sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (Bruneton, 1999 ; Marie Elisabeth Lucchesi, 2005).

L'hydrodistillation peut être réalisée sous pression réduite, la conséquence étant une diminution de la température favorise la qualité du produit obtenu (Jalali Heravi et Sereshti, 2007).

Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide (Bruneton, 1999).



**Figure 5 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile essentielle (Hernandez Ochoa, 2005)**

### **5.3. Expression à froid :**

Les huiles essentielles de fruits d'hespéridés ou encore d'agrumes sont dites fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes. C'est pourquoi, spécifiquement pour cette catégorie de matière première, est utilisé un procédé totalement différent d'une distillation classique, qui est l'expression à froid. (Marie Elisabeth Lucchesi, 2005 ; Daniela Rigano et *al.*, 2006).

Le principe de cette technique est basé sur la rupture ou la dilacération des parois des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits et sur la pression du contenu de ces sacs sur les parois. Un courant d'eau permet d'exercer une action abrasive sur la surface du fruit, ce dernier éclate libérant l'huile est le jus. Après élimination des déchets solides, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation (Bruneton, 1999 ; Marie Elisabeth Lucchesi, 2005).

Certaines machines rompent les poches par dépression (incision, perforation) et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau.

### **5.4. Distillation « sèche » :**

Il s'agit d'une méthode d'extraction des huiles essentielles caractéristique des végétaux fragiles tels que les pétales de rose. Elle consiste à chauffer de façon très modérée les plantes ou parties de plantes sans ajout d'eau ni de solvants organiques, puis à condenser les substances volatiles. Cette technique présente un avantage certain au niveau de la qualité, cependant elle aboutit à des rendements extrêmement faibles en huile essentielle. (Marie Elisabeth Lucchesi, 2005).

### **5.5. Extraction assistée par micro-ondes :**

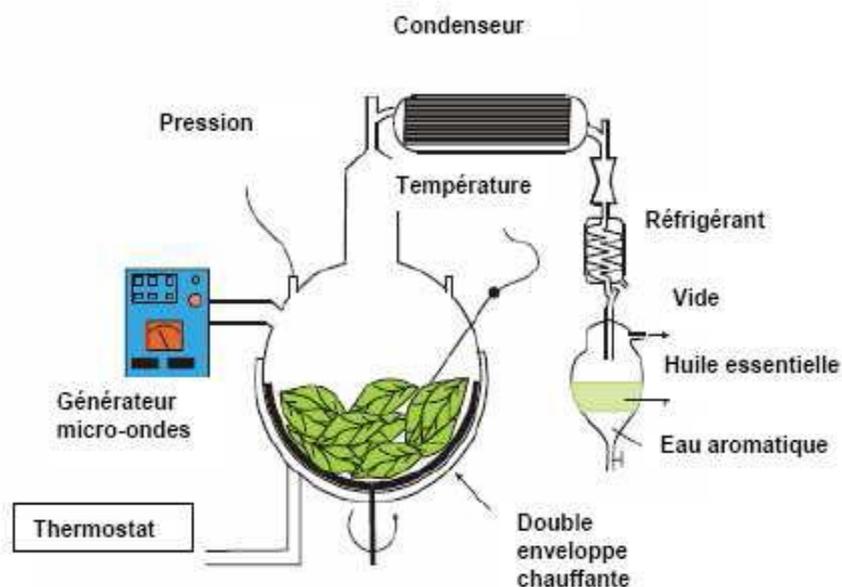
#### **5.5.1. Hydrodistillation :**

L'hydrodistillation assistée par micro-ondes (Figure 6) est basée entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique. Elle consiste à placer une partie du montage

d'hydrodistillation dans le four à micro-ondes. Le matériel végétal est donc placé en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un ballon disposé dans l'enceinte du four à micro-ondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four. Dans le but d'éventuelles améliorations de la qualité et la quantité du produit, l'extraction peut être réalisée sous pression réduite. (Marie Elisabeth Lucchesi, 2005 ; Mohammad-Taghi Golmakani et Karamatollah Rezaei, 2008).

Les avantages cités sont la rapidité, la productibilité et la similitude de la composition de l'huile par rapport à une hydrodistillation classique.

Selon Bruneton (1999), l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. La non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation (Chalchat et *al.*, 1997).



**Figure 6 : Schéma d'un montage d'hydrodistillation assistée par micro-ondes sous pression réduite**

### 5.5.2. Entraînement à l'air :

Le système proposé (Figure 7) est inspiré du procédé l'entraînement à la vapeur classique. Il se compose en fait de trois parties : un compresseur envoyant de l'air dans le ballon où se trouve la matière végétale placé dans un four micro-ondes. La vapeur d'eau saturée en molécules volatiles est ensuite entraînée vers un second ballon de récupération plongé dans de la glace et situé à l'extérieur du four à micro-ondes. (Marie Elisabeth Lucchesi, 2005 ; Daniela Rigano et *al.*, 2006).

Cette technique a été proposée par Craveiro et *al* (1989). L'huile essentielle de *Lippia sidoides*, extraite en 5 minutes sous chauffage micro-ondes était présentée comme qualitativement identique à celle obtenue par entraînement à la vapeur en 90 minutes (Marie Elisabeth Lucchesi, 2005 ; Daniela Rigano et *al.*, 2006).

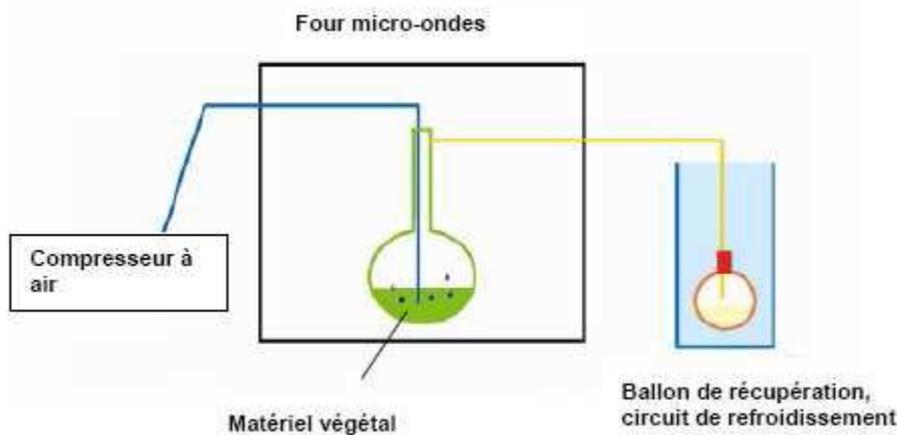
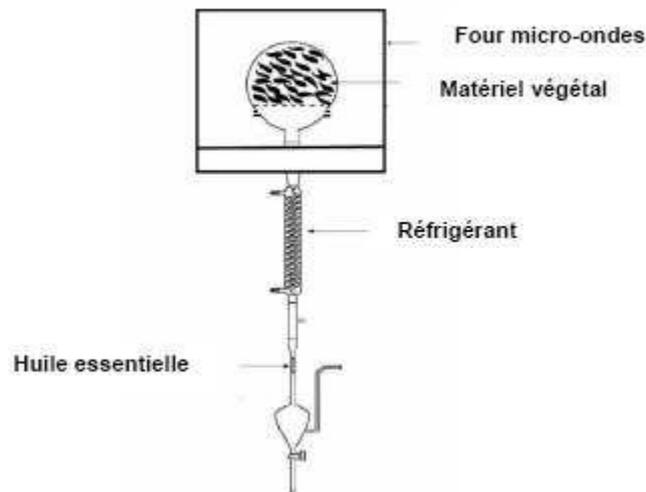


Figure 7 : Schéma d'un montage de l'entraînement à l'air assisté par micro-ondes

### 5.5.3. Hydrodiffusion :

L'hydrodiffusion assistée par micro-ondes (Figure 8) a été développée depuis quelques mois (janvier 2008) par Marilynne Abert Vian et *al.* C'est une combinaison de l'hydrodiffusion classique aux micro-ondes. Le ballon où se trouve le matériel végétal (sans solvant) est soumis à un chauffage par micro-ondes. Les cellules végétales éclatent sous l'effet de la chaleur et libèrent l'eau *in situ* et les molécules aromatiques.

Le mélange « vapeur d'eau + huile essentielle » est alors poussé vers le condenseur sous l'effet de la pesanteur. L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Dans ce cas, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau sur les cellules végétales. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau – huile essentielle » dispersé dans la matière végétal qui s'écouleront vers un collecteur.

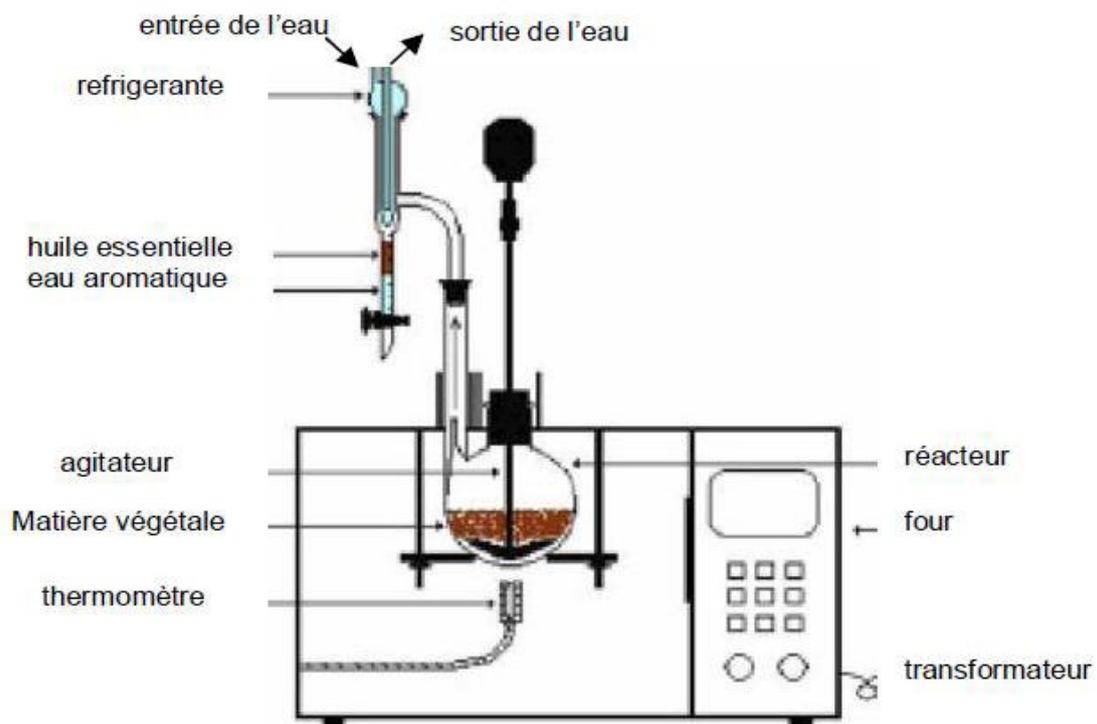


**Figure 8 : Schéma d'un montage d'hydrodiffusion assistée par micro-ondes**

#### **5.5.4. Extraction par micro-ondes :**

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances (Paré, 1997). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). On filtre et on récupère ensuite l'extrait. L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes (France Ida, 1996). Ce procédé (Figure 9), très rapide et peu consommateur d'énergie, livre un produit qui, est le plus souvent, de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (Bruneton, 1999).

Par ailleurs, l'analyse des huiles essentielles obtenues par cette méthode a montré selon Scheffer (1996) que la composition qualitative des huiles essentielles était la même que celle des huiles obtenues par distillation mais le pourcentage des constituants variait de manière significative.



**Figure 9 : Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes (Lagunez-Rivera, 2006)**

**PARTIE VI**  
**ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE**

## **PARTIE VI : ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE**

Les propriétés parfumantes, aromatisantes, thérapeutiques et toxicologiques d'une huile essentielle sont étroitement liées à sa composition chimique.

La chromatographie est une technique d'analyse qui consiste à séparer les constituants d'un mélange par entraînement au moyen d'une phase mobile ou gaz vecteur, le long d'une phase stationnaire qui peut être solide ou liquide fixé. Vu le nombre de composés et la diversité des constituants d'une huile essentielle, la chromatographie en phase gazeuse (CPG) sur colonne capillaire en programmation de température est la mieux adaptée pour la séparation et l'analyse de ces mélanges complexes et elle réalise à la fois une analyse qualitative et quantitative (Paris et Godon, 1979).

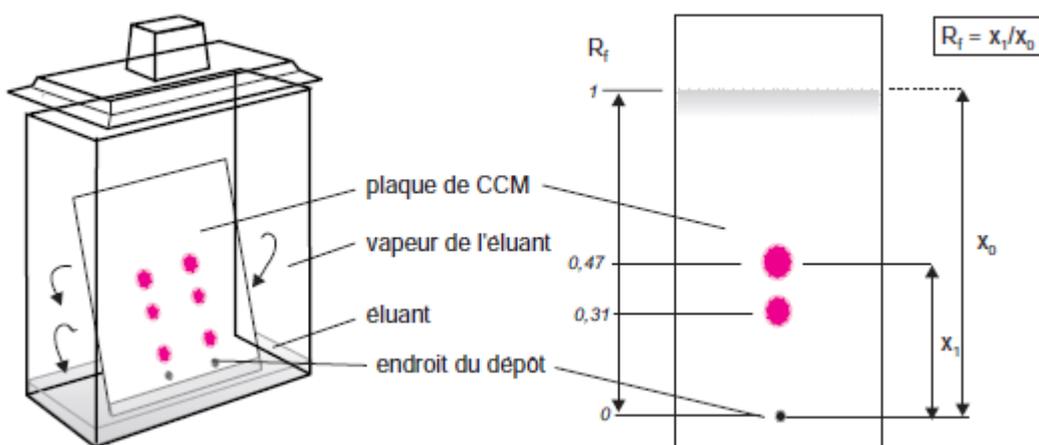
### **6.1. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles :**

L'instrumentation moderne est progressivement confrontée à des analyses de plus en plus complexes, liées au nombre important de constituant présents et aux quantités extrêmement faibles à détecter. En effet l'analyse d'une huile est complexe, de par son très grand nombre de constituants chimiques volatils mais aussi, souvent, de par l'importance des composés à l'état de traces qui font le caractère spécifique de l'huile (France-Ida, 1998).

La chromatographie est le procédé fréquemment utilisé pour séparer les constituants des huiles essentielles. Elle se base sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leurs adsorptions et de leurs désorptions successives sur la phase stationnaire, soit de leurs solubilités différentes dans chaque phase (Schwedt, 1993). Plusieurs méthodes existent :

### 6.1.1. Chromatographie sur couche mince :

La CCM est utilisée comme technique de routine, pour l'analyse rapide de fractions obtenues à la suite d'une séparation initiale (Figure 10). L'efficacité de la CCM comme technique de séparation est souvent mise à profit dans la phase ultime de purification, au moins sur de faibles quantités, lorsque les autres techniques ont montré leurs limites (Pradeau et Dauphin, 2007). La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption: la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant (Caude et Jardy, 1996). Après la migration, le repérage des molécules s'effectue soit par ultra-violet (UV), soit par un colorant spécifique ou encore par exposition aux vapeurs d'iode. La distance de migration des composés est ensuite mesurée et comparée à celle du front de la phase mobile, ceci permet de définir la référence frontale  $R_f$  caractéristique de chaque composé. Bruneton (1999) précise que la technique du CCM, bien que beaucoup moins performante que la chromatographie en phase gazeuse, peut être utilisée en routine pour le contrôle de qualité des huiles essentielles.



**Figure 10 : Chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM (Rouessac et al., 2004)**

### **6.1.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :**

Elle s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition dans l'injecteur. C'est de loin la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur. Le principe de la chromatographie en phase gazeuse basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, possédant des propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer, on parle de chromatographie gaz-liquide ou chromatographie de partage. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine...), on parle de chromatographie gaz-solide ou chromatographie d'adsorption (Audigie et *al.*, 1995).

La CPG permet une évaluation quantitative et qualitative de la composition chimique des huiles essentielles. Elle présente de nombreux avantages : facilité de mise en oeuvre, temps d'analyse assez court et fiabilité des résultats (Bruneton, 1999).

### **6.1.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) :**

Si la chromatographie permet à elle seule de séparer correctement les différents constituants d'un mélange, il est néanmoins délicat de se livrer à une interprétation structurale permettant une identification certaine, car les paramètres déduits de la rétention sélective des solutés au travers de la colonne sont souvent lourds à manier et, dans la plupart des cas, peu reliés aux édifices moléculaires organiques. L'idée de coupler une autre méthode physique d'investigation après séparation chromatographique, dans le but d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique, s'est concrétisée dès 1960 dans la combinaison entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM (De Maack et Sablier, 1994).

Le principe de cette méthode consiste à transférer par le gaz vecteur (phase mobile) les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse

variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs librairies de référence permet son identification à condition que la similitude des spectres, inconnus et référence, soit suffisante et que les indices de rétention soient identiques, dans des conditions opératoires comparables (Desjobert et *al.*, 1997; Bruneton, 1999).

#### **6.1.4. Chromatographie liquide à haute performance :**

La chromatographie liquide à haute performance utilise une phase stationnaire très fine. Les particules solides ont un diamètre pouvant atteindre jusqu'à 5 µm. Le garnissage est tassé dans une colonne fermée. La phase mobile liquide circule sous l'effet d'une haute pression. L'injection de l'échantillon à analyser est pratiquée en introduisant un faible volume de produit (quelques microlitres) dans l'éluant sous pression. Après leur séparation, les différents constituants de l'échantillon sont détectés en sortie de colonne. Un ordinateur assure l'acquisition et le traitement des données (Audigie et *al.*, 1995). Cette technique est peu intéressante pour les fractions volatiles, toutefois elle est efficace pour étudier les constituants non volatils des concrètes et des absolues ou pour opérer des préfractionnements, on peut la coupler également à un analyseur de masse (Bruneton, 1999).

#### **6.1.5. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) :**

La résonance magnétique nucléaire à haute résolution est un outil exceptionnel pour déterminer la structure d'une molécule naturelle ou synthétique. Grâce à la diversité des paramètres mesurables, elle permet d'aborder l'ensemble des problèmes posés par l'examen d'une molécule en solution. L'originalité de la RMN par rapport aux autres techniques spectroscopiques réside dans le fait d'apporter une information précise et individuelle sur la très grande majorité des atomes constitutifs de la molécule, de fournir la possibilité d'identifier les connexions entre atomes des diverses entités, squelette, groupes fonctionnels et finalement de permettre de les situer dans l'espace les uns par rapport aux autres. La stratégie présentée pour la détermination de structure par RMN est très efficace pour les molécules de dimension moyenne. Les méthodes de base de la RMN monodimensionnelle et bidimensionnelle sont le plus souvent suffisantes pour atteindre l'objectif fixé (Platzer, 2002).

**MATÉRIELS ET MÉTHODES**

## **CHAPITRE II : ESSAI DE L'EFFICACITE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE MYRTE (*MYRTUS COMMUNIS*) CONTRE L'INSECTE DES DENRÉES STOCKÉES *TRIBOLIUM CONFUSUM* (DUVAL.)**

### **1. Introduction :**

Les biopesticides d'origine végétal peuvent constituer une solution alternative aux produits chimiques. Ces derniers temps face aux interventions phytosanitaires qui présentent des effets néfastes sur l'environnement et qui favorisent le développement des insectes nuisibles résistants aux matières actives utilisée (Regnault-Roger, 2005).

L'intérêt du développement de nouvelles formulations à base des huiles essentielles et d'extraits aqueux des végétaux est dû à leurs avantages écologiques et environnementaux indéniables (Pandey et *al.*, 1982).

### **2. Objectifs :**

Ce présent travail à pour objectif d'évaluer l'efficacité insecticide de l'huile essentielle de Myrte (*Myrtus communis*) sur des individus (Adultes) de l'insecte ravageur des denrées stockées : *Tribolium confusum* (Duval), en essayant de minimiser progressivement l'utilisation des produits chimiques. Cette étude comprend trois parties essentielles :

- La première partie consiste à l'extraction de l'huile essentielle de la plante spontanée de Myrte (*Myrtus communis*) par Entraînement à la vapeur.
- La deuxième partie consiste a identifié les composés chimiques de *Myrtus communis* à partir de l'huile essentielle obtenue par chromatographie en phase gazeuse couplée (CG/SM).
- La troisième partie concerne l'étude du pouvoir insecticide de cette huile essentielle vis à vis du *Tribolium confusum*.

### **3. Matériel biologique :**

#### **3.1. Espèce entomologique (animal) :**

Les individus de *Tribolium confusum* qui ont servis à notre expérimentation provient du laboratoire de Zoophytiatrie, Département des sciences agronomiques, Université SAAD DAHLEB (BLIDA) à partir d'une souche issue de CCLS (Coopérative des Céréales et des Légumes Secs). L'élevage de masse est conduit dans des bocaux perforés contenant de la farine commerciale dont l'ouverture est fermée, l'ensemble est conduit dans une étuve obscure réglée à une température de (25 à 30°C) et une humidité relative de 70%. Afin d'éviter le phénomène de surpopulation et du cannibalisme, nous avons procéder à un transfert régulier des adultes dans de nouveaux bocaux, permettant ainsi d'assurer de nouvelles infestations (Figure 11).



**Figure 11 : Étuve d'élevage des insectes**

### **3.2. Espèce végétal. :**

La plante utilisée pour ce travail est récoltée de la région montagneuse du village Ammal, commune d'Ammal, Daïra de Thénia, Wilaya de Boumerdes (Figure 12) durant les mois d'Avril et Mai (Figure 13).



Figure 12 : Région de récolte de *Myrtus communis*



Figure 13 : Plante de *Myrtus communis* (originale)

Les parties végétales utilisées pour extraire l'huile essentielle du *Myrtus communis* sont les feuilles.

### **3.3. Méthode d'extraction des végétaux :**

#### **A. Principe :**

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée au niveau du laboratoire d'Agronomie, département des Sciences Agronomiques, Université SAAD DAHLEB (BLIDA) par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau. La méthode d'extraction est la suivante :

Les feuilles de la plante récupérées ont été utilisées immédiatement après la récolte. La matière fraîche de *Myrtus communis* est coupée en petits morceaux pour faciliter l'extraction de l'huile essentielle (Figure 14), elle est pesée et mise dans un ballon de 2000 ml. La matière végétale est ensuite immergée d'eau distillée au deux tiers du ballon (soit 1200 à 1500 ml d'eau distillée), le ballon est ensuite déposé sur un chauffe ballon avec réglage. La durée de distillation est de 2 à 3 heures. L'huile essentielle (phase surnageant) est séparée de l'eau par décantation (différence de densités). Ensuite, l'huile essentielle est conditionnée dans un flacon en verre fumé, hermétiquement fermé pour éviter tout risque d'altération, est conservé à une température de 4°C jusqu'à l'utilisation dans l'expérimentation.



**Figure 14 : Feuilles de *Myrtus communis* écrasées (originale)**

## **B. Détermination du rendement d'huile essentielle :**

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre le volume d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traiter (Belyagoubi, 2006).

Le rendement est défini comme étant le rapport de la masse d'huile essentielle obtenue sur la masse de matière végétale.

$$\mathbf{R\ (\%) = (mHE/mMV) \times 100}$$

mHE: masse d'huile essentielle (g)

mMV: masse de matière végétale (g)

R(%) : rendement en huile essentielle (%)

L'huile essentielle obtenue a été conservée au réfrigérateur à 4°C dans des flacons en verre, couverts d'aluminium pour les préserver contre la chaleur et la lumière, afin d'éviter toute sorte de dégradation ou modification de leurs molécules actives.

## **4. Analyse chromatographique de l'huile essentielle :**

Les analyses de la composition chimique de notre huile essentielle *Myrtus communis* ont été effectuée sur un Chromatographie en phase gazeuse à régulation électronique de pression de type Chrompack CP 9002 (Figure 15).



**Figure 15 : Appareillage de la (CG/MS) (originale)**

Cette analyse a été effectuée au niveau de laboratoire de l'Ecole National Supérieur d'Agronomie (ENSA) d'El Harrach, Alger, selon les conditions opératoires suivantes :

- Colonne capillaire en silice fondue de type DB-5.
- Longueur : 30 m.
- Diamètre : 0,25 mm.
- Epaisseur du film : 0,25  $\mu\text{m}$ .

Les conditions opératoires sont :

- Détecteur à ionisation de flamme réglé à 280°C.
- Alimentation par le mélange de gaz H<sub>2</sub>/ air.
- Injecteur splitsplitless réglé à 250°C.
- Le gaz vecteur est l'azote à 1 ml/min.
- Le mode d'injection est split (rapport de fuite de 1/50).
- Température de la colonne est programmée de 50°C (3 mn) à 250°C à raison de 2°C/mn, puis est maintenue à 250°C pendant 10 mn.

## **5. Evaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle :**

### **5.1. Préparation des doses :**

À partir de huile essentielle obtenue, nous préparons les doses à tester après dilution dans le tween 80 (diluée 3%) selon une progression géométrique de raison de 2. 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'huile essentielle.

Pour ces substances nous avons utilisé les doses suivantes :

- 1<sup>ère</sup> dose : 01 mg de H E + 99 mg de Tween (3% diluée).
- 2<sup>ème</sup> dose : 05 mg de H E + 95 mg de Tween (3% diluée).
- 3<sup>ème</sup> dose : 10 mg de H E + 90 mg de Tween (3% diluée).
- Témoin : 100 mg de Tween (3% diluée).

## **5.2. Application des traitements biologiques :**

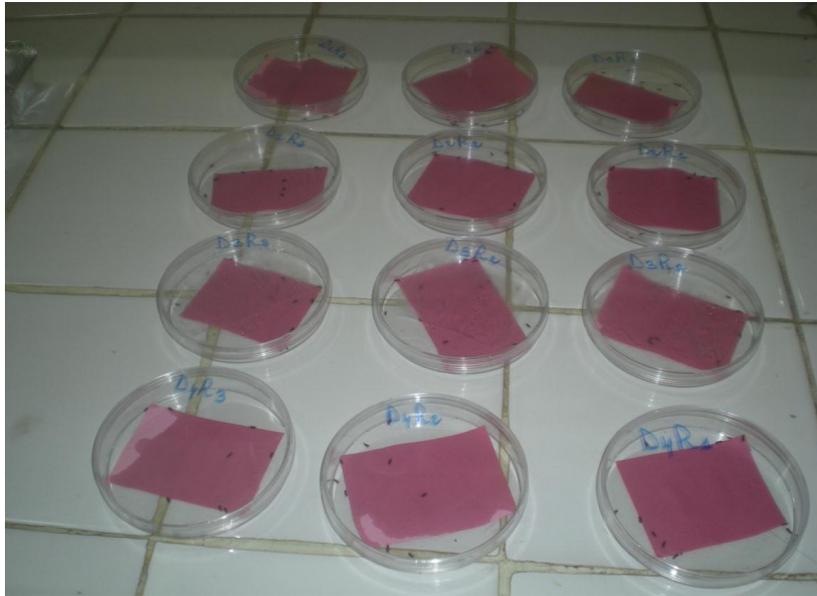
Pour le mode du test, nous avons utilisé deux modes de traitement : contact et inhalation.

### **5.2.1. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par contact :**

La méthode de l'imprégnation de papiers filtres a été utilisée pour évaluer la toxicité des huiles par contact.

Des papiers filtres de 9 cm de diamètre sont imprégnés chacun de 1 ml de la solution d'huile essentielle d'une concentration donnée. Témoin imprégné avec le tween 80 diluée 3%. Après séchage à l'air libre les papiers filtres sont placés dans des boites de Pétri de 9 cm de diamètre et de 1 cm de hauteur. Dans chaque boite sont déposés 20 individus de l'insecte étudié. Pour empêcher la sortie des insectes, les boites sont recouvertes de moustiquaire et placées dans leur étuve respective. Nous avons utilisé quatre doses en progression géométrique de raison 2. Cinq répétitions sont réalisées pour chaque concentration de même que pour le témoin. Les insectes exposés pendant 24 heures aux traitements sont ensuite transférés dans des boites contenant de la farine non traitée et placés dans les étuves. La mortalité des insectes est évaluée 6 jours après

traitement afin de déterminer la DL50 et la CL50 selon la méthode de Finney (1971) (Figure 16).



**Figure 16 : Test de l'activité insecticide de l'huile essentielle par contact (originale)**

### **5.2.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par inhalation :**

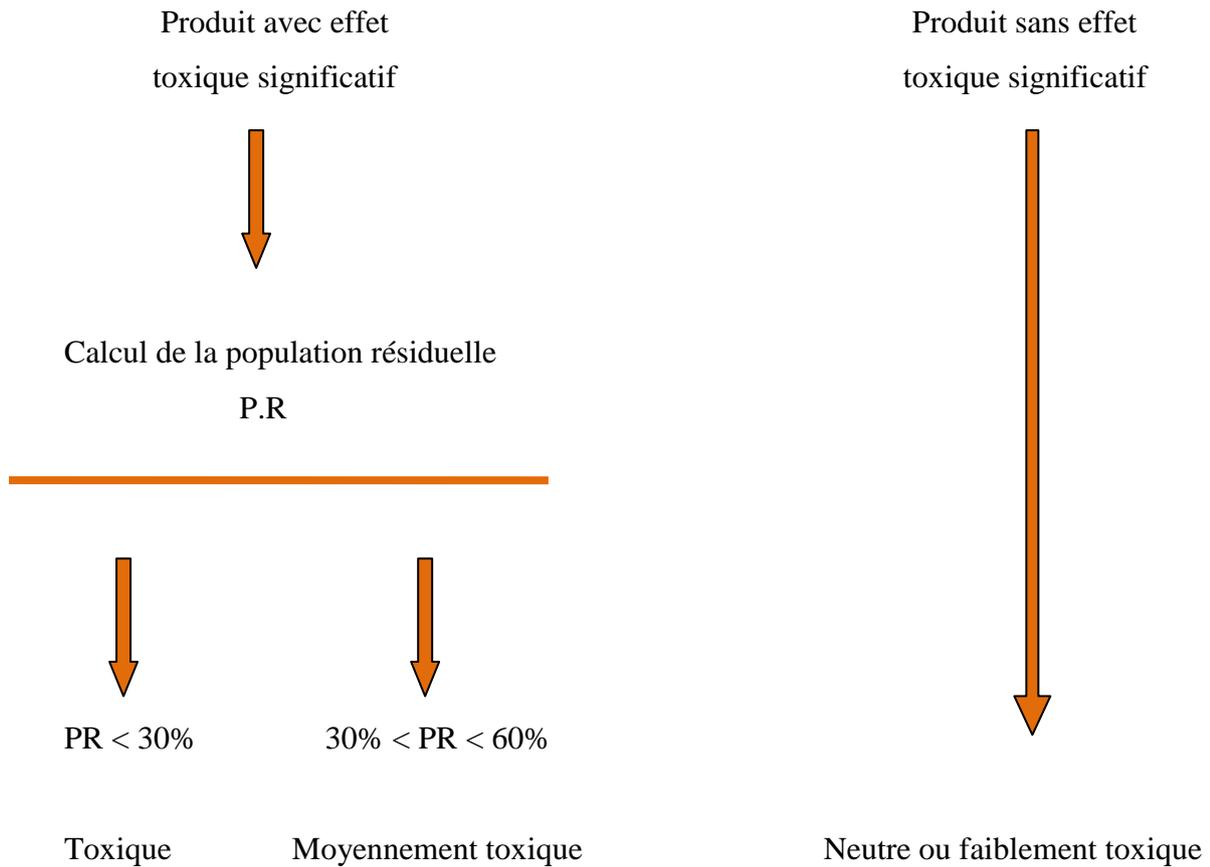
Des morceaux de cotons sont imprégnés par 1 ml d'une solution d'huile essentielle avec concentration donnée. Témoin imprégné avec le tween 80 diluée 3%. Après évaporation du solvant, les cotons sont placés dans les couvercles et vissés hermétiquement sur des pots de 4 cm de diamètre et 3,5 cm de hauteur, à condition qu'il n'ya aucun contact avec les insectes. De même que pour l'essai contact, chaque pot contient 20 insectes avec quatre doses en progression géométrique de raison 2 sont testés sur *Tribolium confusum*. Pour chaque dose (témoin compris) nous avons réalisés cinq répétitions. Après 24 heures d'exposition aux vapeurs d'huile essentielle, les insectes sont transférés dans des pots contenant de la farine non traitée et placés dans leur étuve respective. La mortalité des insectes est observée 6 jours après traitement (Figure 17).



**Figure 17 : Test de l'activité insecticide de l'huile essentielle par inhalation (original)**

**6. Estimation de la toxicité des traitements :**

L'évaluation de l'effet toxique des traitements de l'huile essentielle de *Myrtus communis* a été estimée par la comparaison des abondances exprimées en pourcentage des populations résiduelles (PR) selon le test de Dunnett. Les différents pourcentages de PR obtenus permettent de déduire de la nature de la toxicité des substances contenues dans l'huile essentielle utilisée (Figure 18).



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

**P.R.** < 30% molécule toxique

30% < **P.R.** < 60% molécule moyennement toxique

**P.R.** > 60% molécule neutre ou faiblement toxique

**Figure 18 : Pourcentage des populations résiduelles (PR) selon le test de Dunnett**

## **7. Expression des résultats :**

### **7.1. Correction de la mortalité :**

L'efficacité d'un produit 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 tué par ce toxique. Il existe, en fait dans

toute population traitée une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par ce toxique, pour cela les pourcentages de mortalité doivent être corrigés par la formule d'Abbott de Schneider-Orelli qui est la suivante :

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

MC: La mortalité corrigée

M : Pourcentage de morts dans la population traitée

Mt : Pourcentage de morts dans la population témoin

### **7.2. Calcul des doses létales :**

L'efficacité d'un toxique se mesure par sa DL50 et CL90 qui représentent les quantités de substance toxique entraînant la mort de 50% et 90% d'individus d'un même lot respectivement. Elles sont déduites à partir du tracé des droites de régression. Pour cela, les pourcentages de mortalité corrigés sont transformés en probits (annexe A).

Ces probits sont représentés graphiquement en fonction de logarithme népérien afin d'évaluer la dose létale 50 (DL50) pour l'essai contact et la concentration létale 50 (CL50) pour l'essai inhalation de produit (Ces deux doses sont déterminées à partir de l'équation d'une droite obtenue théoriquement).

On déterminera la dose qui correspond à un probit de 5 (50% de mortalité) d'où la DL50 et CL50.

### **7.3. Analyse statistique :**

Pour estimer l'effet insecticide d'huile essentielle, une analyse de la variance (ANOVA) avec deux critères de classification a été effectuée avec le nombre d'insectes morts en fonction des concentrations et du temps à l'aide du logiciel Statistica version 6.0. La comparaison des moyennes de différentes huiles essentielles a été effectuée par le test de Newman et Keuls.

Tous les essais ont été répétés au moins trois fois, par la suite un calcul des moyennes a été réalisé. Les résultats recueillis sur les tests du pouvoir insecticide de HE et ont fait l'objet d'analyses statistiques.

Afin de vérifier une éventuelle efficacité des produits vis-à-vis de *Tribolium confusum* du produit selon leur mode d'application, des analyses ont été faites en utilisant la procédure décrite par le SYSTAT vers. 12, nous avons procédé à l'analyse de la variance à 5 critères :

Facteur 1 : Dose avec 5 niveaux

Facteur 2 : Temps avec 6 niveaux

Facteur 3 : Mode avec 2 niveaux

#### **7.4. Analyse des résultats obtenus :**

L'activité insecticide de l'huile essentielle de *Myrtus communis*, a été évaluée par la population résiduelle des individus de *Tribolium confusum*. Trois répétitions ont été réalisées afin de déterminer l'effet insecticide, ces répétitions ont été résumées par le calcul de la moyenne.

Nous avons utilisé le logiciel SYSTAT VERSION 13. En déterminant la variance à l'aide du test G.L.M (General Linear Model). Les différences ont été considérées significatives à  $P < 0.05$ , Pour pouvoir vérifier l'efficacité et la comparaison des substances étudiées vis à vis le charançon de blé en tenant compte les concentrations et les dates.



**RÉSULTATS**

## **1. Introduction :**

Dans le but d'atteindre les objectifs cités en méthodologie, Notre étude expérimentale consiste à :

- L'évaluation du rendement de l'huile essentielle de *Myrtus communis*
- Analyse chromatographique de l'huile essentielle de *Myrtus communis*.
- L'évaluation du pouvoir insecticide de l'huile essentielle sur l'insecte ravageur *Tribolium confusum* par deux modes d'application (contact, inhalation).
- Comparaison de l'efficacité des différents modes d'applications sur *Tribolium confusum*.

## **2. Evaluation du rendement de *Myrtus communis* :**

### **2.1. Rendement obtenu :**

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par entraînement à la vapeur, le rendement en huile essentielle de l'espèce végétale utilisée est comme suit d'après la formule :

$$\mathbf{R (\%) = (mHE/mMV) \times 100}$$

mHE: masse d'huile essentielle (g)

mMV: masse de matière végétale (g)

R(%) : rendement en huile essentielle (%)

Le rendement de *Myrtus communis* en huile essentielle est : 0,53%.

## **3. Etude analytique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* par (CG/SM) :**

L'identification des composants chimiques de l'huile essentielle de Myrte (*Myrtus communis*) est réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse, les résultats de notre étude sur la composition chimique de cette huile essentielle nous présentent le temps de rétention, les noms et les pourcentages des différents composants identifiés.

L'huile essentielle de *Myrtus communis* montre une grande diversité dans sa composition avec 88 composants chimiques (Figure 19), elle est riche en monoterpènes (50%) dont une quinzaine a pu être identifiée et reportée dans le tableau 1.

La composition chimique de l'huile essentielle de notre plante est composée essentiellement par deux composés :  $\alpha$ -Pinène (62.4742%) qui est le composé majoritaire suivi par 1.8-Cineole (23.2393%), les autres composants se présentent en traces comme  $\beta$ -linalool (1.5941%),  $\delta$ -3-Carene (0.1543%).....

**Tableau 1** : Principaux composés chimiques de l'HE de Myrte :

Temps de rétention Tr (min)	Composés identifiés	Pourcentage %
15.049	<b><math>\alpha</math>-Pinène</b>	<b>62.4742</b>
16.797	$\beta$ -Pinene	0.0479
17.938	$\delta$ -3-Carene	0.1543
19.655	$\alpha$ -Terpinene	0.1974
21.142	<b>1.8-Cineole</b>	<b>23.2393</b>
25.723	Linalool	0.7691
30.305	Borneol	0.0418
32.293	Alpha terpeneol	0.8132
34.32	Citonalol	0.0301
35.20	Nerol	0.0528
39.005	Thymol	0.1106
43.91	Eugenol	0.0311
45.901	trans-Caryophyllene	1.3202
47.331	$\beta$ -linalool	1.5941
55.46	Nerolidol	0.0624

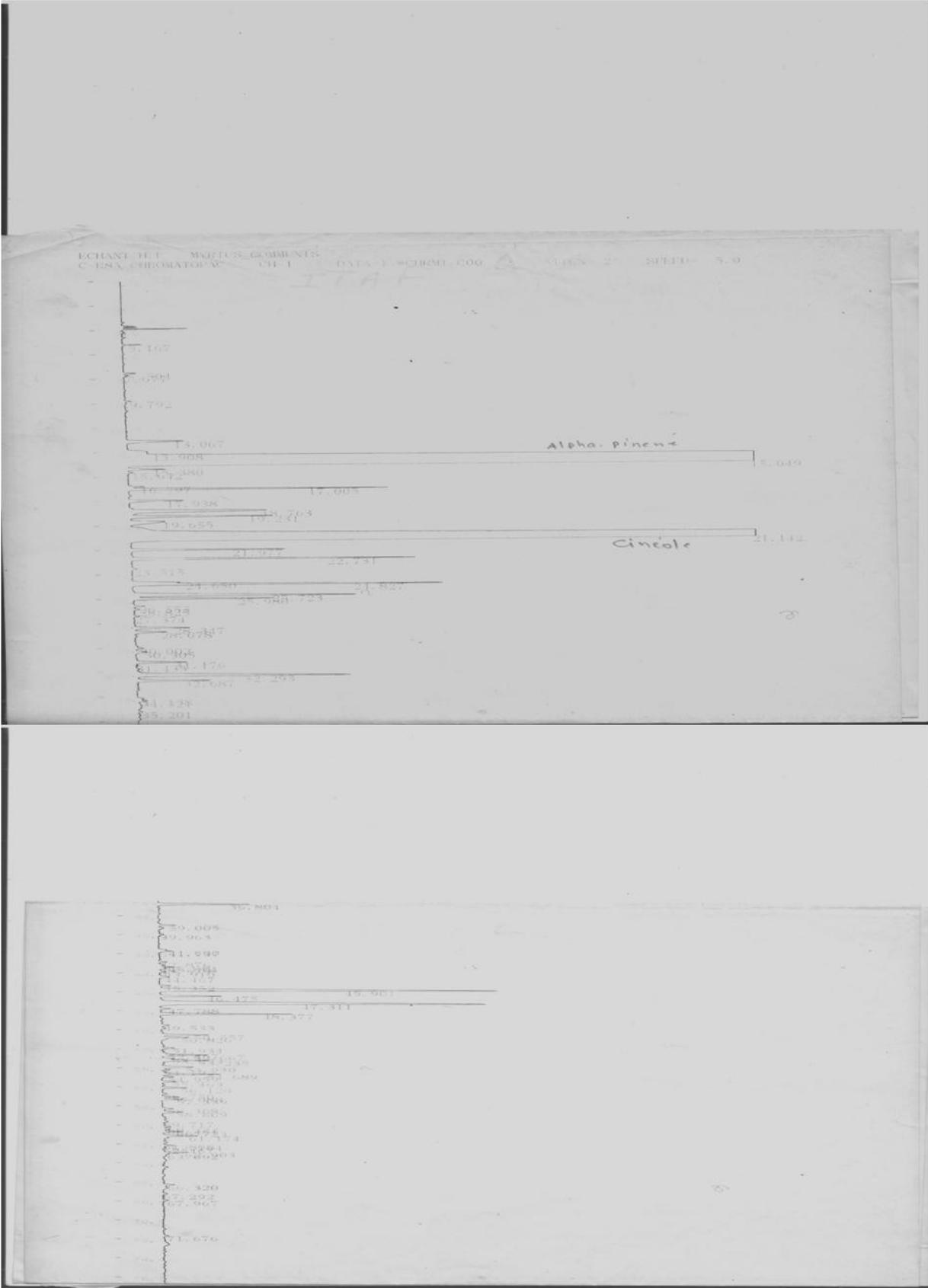


Figure 19 : Chromatogramme de la CG-SM de l'huile essentielle de *Myrtus communis*

#### 4. Effet insecticide de l'huile essentielle de *Myrtus communis* sur *Tribolium confusum* :

##### 4.1. Effet d'huile essentielle de *Myrtus communis* sur le taux de mortalités cumulée du *Tribolium confusum* :

##### 4.1.1. Test d'efficacité par contact :

D'après la Figure 20, on constate qu'en fonction de la durée de traitements (24 heure, 48 heure, 72 heure, 96 heure jusqu'au sixième jour), chez les individus de *Tribolium confusum* traité par l'huile essentielle de *Myrtus communis* par contact, aucune mortalité n'a été enregistrée avec la dose 1 et 2 pendant les 6 jours de traitement (la dose 1 et 2 n'ont aucun effet de toxicité sur l'insecte). Pour la dose 3 l'effet insecticide de l'huile essentielle est apparue au 2<sup>ème</sup> jour avec un taux de mortalité de 6,67% qui augmente durant le temps de traitement jusqu'à atteindre 17,8% le 6<sup>ème</sup> jour. Pour le témoin, le taux de mortalité est nul.

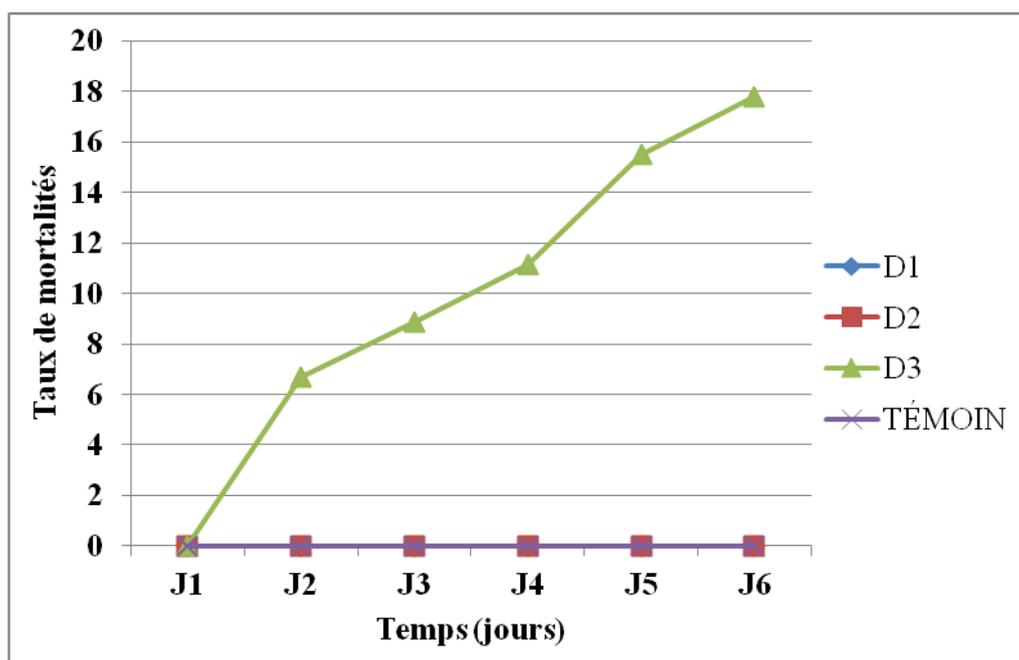
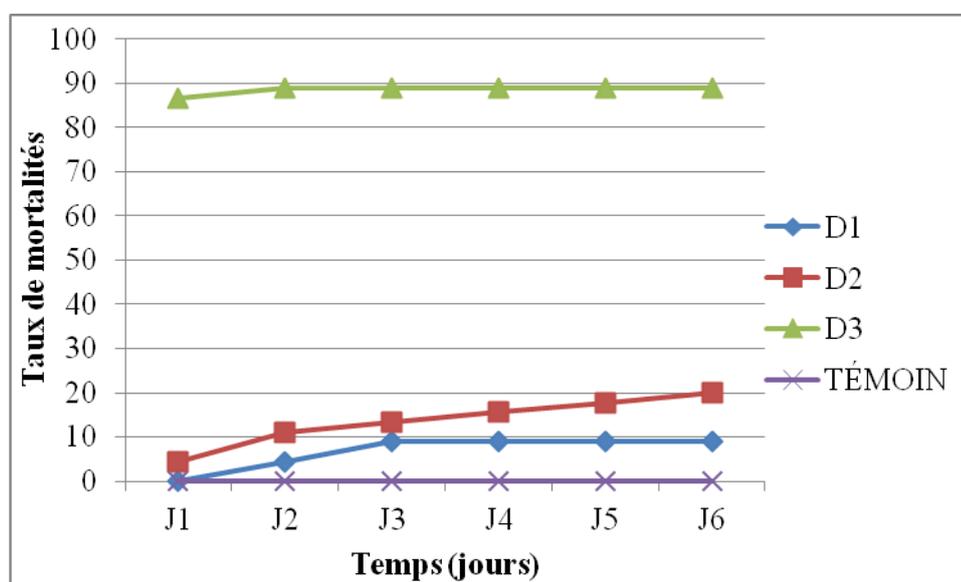


Figure 20 : Taux de mortalité de *Tribolium confusum* traité avec l'huile essentielle de *Myrtus communis* par contact

#### 4.1.2. Test d'efficacité par inhalation :

D'après la Figure 21, Chez les individus de *Tribolium confusum*, on constate qu'en fonction de la durée de traitements (24 heure, 48 heure, 72 heure, 96 heure jusqu'au sixième jour). La dose 1 a enregistré à partir du 2<sup>ème</sup> jour un taux de mortalité de 4,47%, qui a augmenté le 3<sup>ème</sup> jour à 8,87% et qui est stable durant les 3 jours restants. La dose 2 a noté un taux de mortalité dès le 1<sup>er</sup> jour avec 4,47% qui a augmenté durant la période de traitement jusqu'à atteindre 20% le 6<sup>ème</sup> jour. Par contre la dose 3 a montré un taux de mortalité très important depuis le premier jour du traitement avec un pourcentage de 86,67% et 88,87% du 2<sup>ème</sup> au 6<sup>ème</sup> jour, c'est-à-dire au bout du 2<sup>ème</sup> jour on a enregistré le plus grand nombre de mortalité. Pour le témoin, aucune mortalité n'a été enregistrée.



**Figure 21 : Taux de mortalité de *Tribolium confusum* traité avec l'huile essentielle de *Myrtus communis* par inhalation**

## **5. Analyses de la variance :**

### **5.1. Analyse de la variance de l'efficacité de L'huile essentielle de *Myrtus communis* sur le taux de mortalité cumulée (sensibilité des insectes) :**

Pour mieux interpréter les résultats, on a procédé à une analyse de la variance à trois facteurs :

- Facteur 1 : Mode d'application avec 2 niveaux (contact, inhalation).
- Facteur 2 : Dose d'application avec 4 niveaux (Témoin, D1, D2, D3).
- Facteur 3 : Temps avec 6 niveaux (j1, j2, j3, j4, j5, j6).

Les résultats de cette analyse sont mentionnés dans le tableau 2.

Nous avons utilisé le modèle général linéaire (G.L.M.) de manière à évaluer la variation du taux de mortalité de l'insecte testé en fonction des doses d'huile essentielle. Ce modèle permet d'étudier l'effet strict et individuel des différents facteurs sans faire intervenir les interactions entre les facteurs.

L'activité insecticide de l'huile essentielle du *Myrtus communis* a été évaluée avec le mode traitement par contact et par inhalation sur le taux de mortalités des adultes du ravageur des denrées stockées de la farine *Tribolium confusum*.

#### **5.1.1. Evaluation de l'efficacite insecticide de l'huile essentielle de Myrte :**

##### **a. Effet Modes de traitement :**

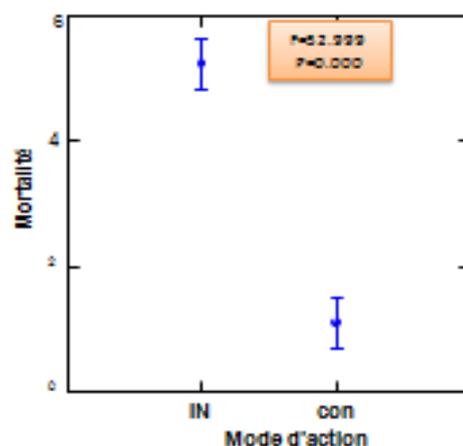
**Tableau 2 : Modèle GLM appliqué à l'évaluation de l'huile essentielle sur *Tribolium confusum* en fonction du mode de traitement, les doses utilisées et la période de traitement**

Source	Sommes des carrés	DDL	Moyens des écarts	F-ratio	P
Modes	456.333	1	456.333	52.990	0.000***
Doses	1266.000	2	633.000	73.505	0.000***
Périodes	94.111	5	18.822	2.186	0.062
Error	852.556	99	8.612	-	-

N.S : non significative ; \* : Probabilité significative à 5 % ; \*\* : Probabilité significative à 1% ; \*\*\* : Probabilité significative à 0,1 %.

Le tableau 2 révèle que les facteurs mode de traitement (contact, inhalation) et les différentes doses appliquées (D1, D2, D3) montrent un effet hautement significatif sur la variabilité du taux de mortalité des insectes de *Tribolium* traités par contact et inhalation avec les valeurs respectives (F-ratio=52.990 ; P=0.000 ; P<0.1%) et (F-ratio=73.505 ; P=0.000 ; P<0.1). En revanche le facteur période de traitement (24h, 48h, 72h, 96h, 120, 144h) révèle l'existence d'une efficacité non significatif avec une variabilité du taux de mortalité de (F-ratio=2.186 ; P=0.062 ; P>5%).

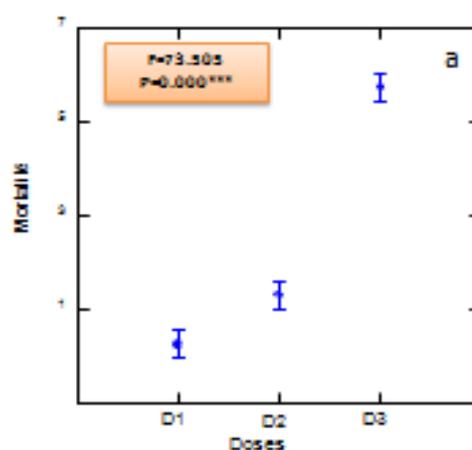
La Figure 22 montre l'effet de l'huile essentielle de Myrte sur le taux de mortalité de *Tribolium* en fonction du mode de traitement qui révèle que le taux de mortalité des individus de *Tribolium confusum* est différent entre mode de traitement (contact, inhalation). Le taux de mortalité par inhalation est plus important que par contact. Ainsi le mode de traitement par inhalation montre un effet plus toxique sur les insectes de *Tribolium* que le mode de traitement par contact.



**Figure 22 : Effet de l'huile essentielle de *Myrtus communis* sur le taux de mortalité de *Tribolium confusum* en fonction du mode de traitement (contact, inhalation)**

**b. Effet Doses de traitement :**

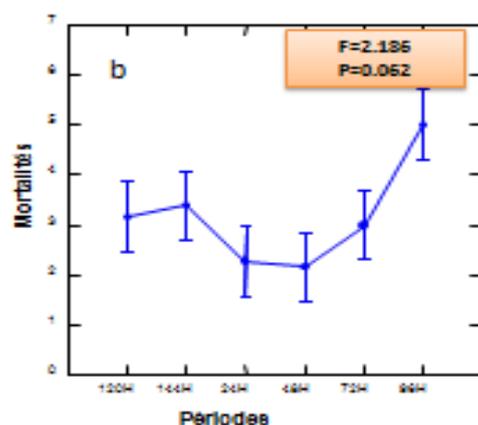
La Figure 23 montre que le taux de mortalité de *Tribolium confusum* traité par contact et inhalation est hautement significatif (F-ratio=73.505 ; P=0.000 ; P<0.1%), plus la dose de traitement augmente, plus le taux de mortalité des insectes augmente et devient plus toxique. Avec les doses 1 et 2 le taux de mortalité des insectes est faible, mais la dose 3 montre un taux de mortalité très élevé et une efficacité croissante et graduelle allant de la dose D1 à la plus forte D4.



**Figure 23 : Effet de l'huile essentielle de *Myrtus communis* sur le taux de mortalité de *Tribolium confusum* en fonction des doses de traitement**

**c. Effet Périodes de traitement :**

L'évaluation du taux de mortalité des insectes traité par mode contact et inhalation en fonction de la période de traitement montre un effet non significatif ( $F\text{-ratio}=2.186$  ;  $P=0.062$  ;  $P>5\%$ ). On note une mortalité des individus de *Tribolium confusum* dès les premières 24h, celle-ci est faible entre 24h et 48h, elle augmente à partir de 72h pour atteindre le maximum de mortalité en 96h (4<sup>ème</sup> jour de traitement), ensuite elle diminue entre 120h et 144h (Figure 24).



**Figure 24 : Effet de l'huile essentielle de *Myrtus communis* sur le taux de mortalité de *Tribolium confusum* en fonction des périodes de traitement**

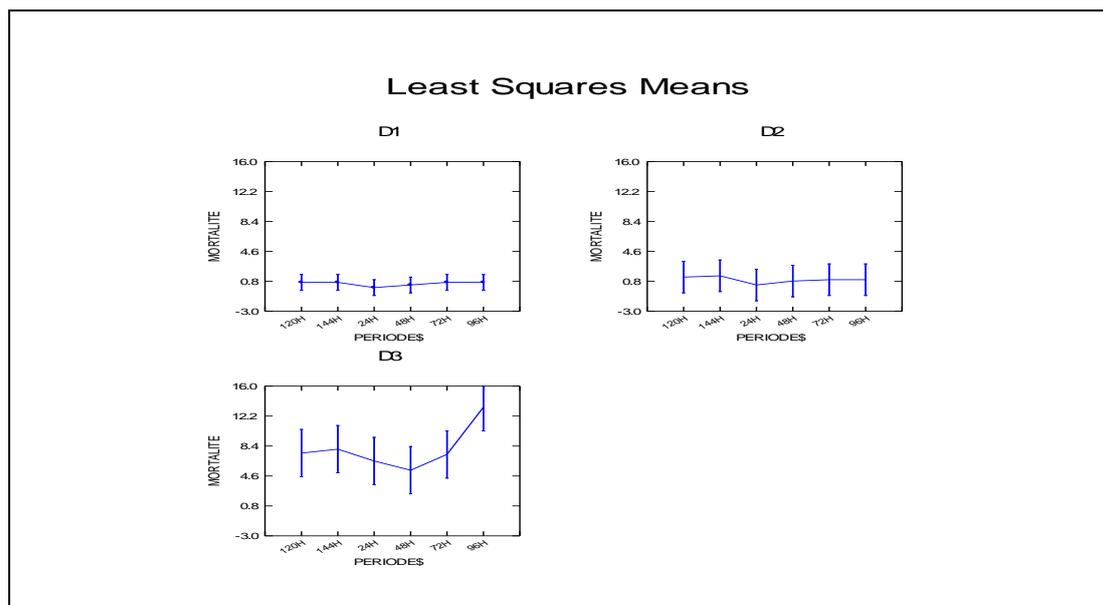
**Tableau 3 : Modèle GLM appliqué à l'évaluation de l'huile essentielle sur *Tribolium confusum* en fonction de la période de traitement, les doses utilisées et l'interaction périodes\*Doses**

Source	Sommes des carrés	DDL	Moyens des écarts	F-ratio	P
Périodes	94.111	5	18.822	1.454	0.213
Doses	1.266.000	2	633.000	48.915	0.000***
Périodes*Doses	144.222	10	14.422	1.114	0.360
Error	1164.667	90	12.941	-	-
Doses*Périodes	21.111	10	2.111	0.511	0.871
Error	148.667	36	4.130	-	-

N.S : non significative ; \* : Probabilité significative à 5 % ; \*\* : Probabilité significative à 1 % ; \*\*\* : Probabilité significative à 0,1 %.

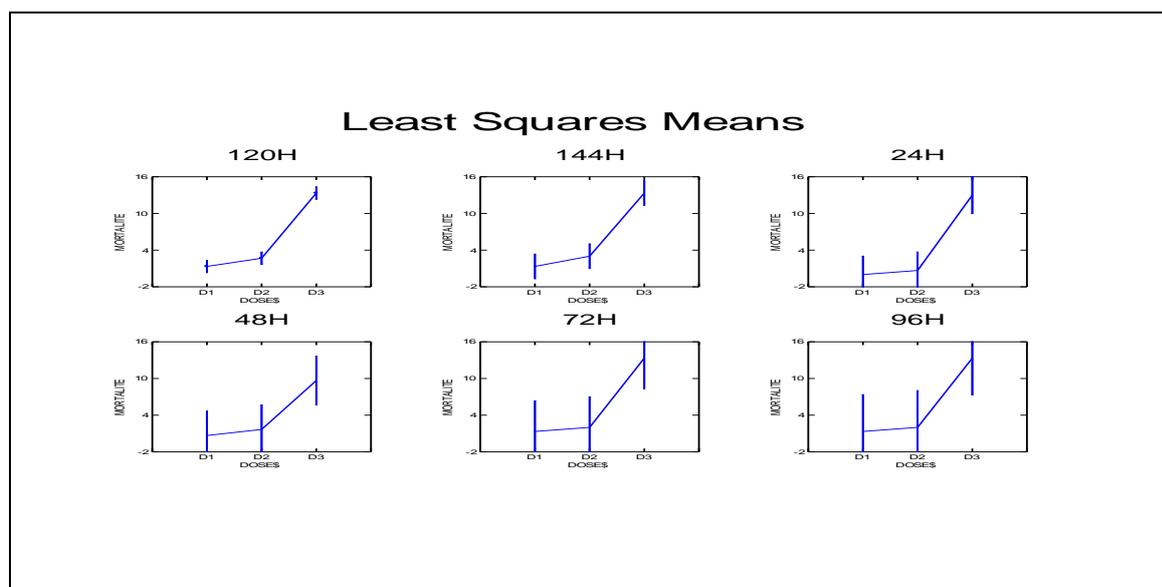
Le tableau 3 d'analyse de la variance montre que l'effet de la période de traitement (24h.....144h) montre un effet non significatif, c'est-à-dire la période de traitement n'a pas d'effet sur le taux de mortalité (F-ratio=1.454 ; P=0.213 ; P>5%). En revanche les doses de traitement (D1, D2, D3) montrent un effet hautement significatif (F-ratio=48.915 ; P=0.000 ; P<0.1%), c'est-à-dire en augmentant les doses de traitement le taux de mortalité augmente lui aussi.

Concernant, l'interaction Périodes\*Doses, celle-ci reflète un effet non significatif (F-ratio=1.114 ; P=0.360, P>5%), c'est-à-dire que les doses de traitement (D1, D2, D3) en fonction des périodes de traitement n'ont pas d'effet sur le taux de mortalité des insectes de *Tribolium* (Figure 25).



**Figure 25 : Effet de l’huile essentielle de *Myrtus communis* sur le taux de mortalité de *Tribolium confusum* en fonction de l’interaction Périodes\*Doses**

La figure 26 de l’interaction Doses\*Périodes montre un effet non significatif (F-ratio=0.511 ; P=0.871, P>5%), ceux-ci explique que les périodes de traitement (24h, 48h, 72h, 96h, 120h, 144h) en fonction des doses de traitement (D1, D2, D3) n’ont aucun effet sur le taux de mortalité de Tribolium.



**Figure 26 : Effet de l’huile essentielle de *Myrtus communis* sur le taux de mortalité de *Tribolium confusum* en fonction de l’interaction Doses\*Périodes**

## 6. Évolution temporelle de la population résiduelle du *Tribolium confusum* sous l'effet de l'huile essentielle de *Myrtus communis* :

### 6.1. Évolution temporelle de la population résiduelle par contact :

Les populations résiduelles sont estimées à travers la différence entre la disponibilité des individus avant et après traitement. Une projection a été réalisée en faisant ressortir cette dernière en fonction du temps.

D'après la Figure 27, le pourcentage de forme vivante de *Tribolium confusum* obtenus après l'application d'huile essentielle de *Myrtus communis* montre un effet faiblement toxique pour les trois doses utilisées. Cependant, on note que l'huile essentielle appliquée avec les doses D1 (H.E à 1%) et D2 (H.E à 5%) montrent une faible toxicité durant la période de traitement avec un pourcentage de population résiduelle de 100%. La dose D3 (H.E à 10%) elle aussi montre une faible toxicité durant l'essai, mais le taux de population résiduelle a subi une faible diminution qui a passée de 100% le 1<sup>er</sup> jour jusqu'à atteindre 82,2% le 6<sup>ème</sup> jour. Le Témoin (D4) présente un taux de population résiduelle de 100% ( $95 < PR < 100\%$ ) (Effet neutre).

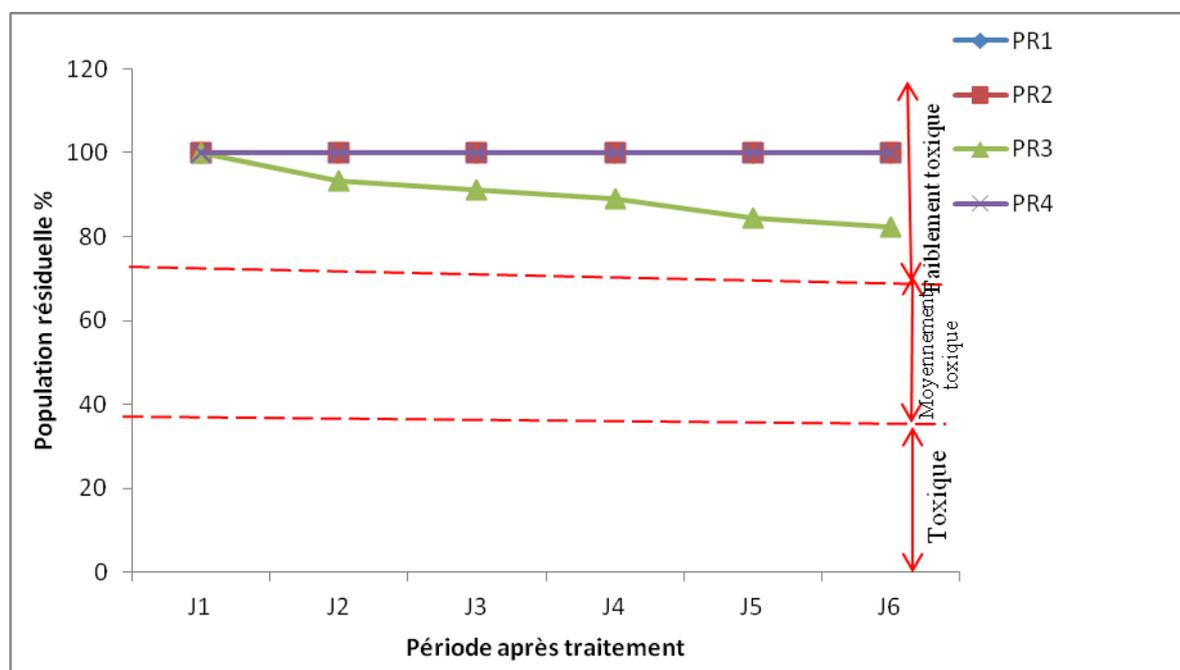


Figure 27 : Evolution temporelle de population résiduelle de *Tribolium confusum* traitée avec l'HE de *Myrtus communis* par contact

## 6.2. Évolution temporelle de la population résiduelle par inhalation :

D'après la Figure 28, l'évolution temporelle des populations résiduelles montre un effet faiblement toxique pour l'huile essentielle appliquée à la dose D1 et D2 du 1<sup>er</sup> au 6<sup>ème</sup> jour. Pour la dose D1, le pourcentage de population résiduelle était de 100% le 1<sup>er</sup> jour qui a subit une légère diminution jusqu'à atteindre 91,11% le 6<sup>ème</sup> jour. La dose D2 a révélé un pourcentage de 95,56% le 1<sup>er</sup> jour et 80% le 6<sup>ème</sup> jour. Quant à la dose D3, celle-ci a montré un effet toxique du début jusqu'à la fin de l'essai qui était de 13,33% le 1<sup>er</sup> jour et 11,11% le 6<sup>ème</sup> jour, donc la D3 a révélé une toxicité dès le 1<sup>er</sup> jour du traitement. Le Témoin (D4) présente un taux de population résiduelle de 100% ( $95 < PR < 100\%$ ) (Effet neutre).

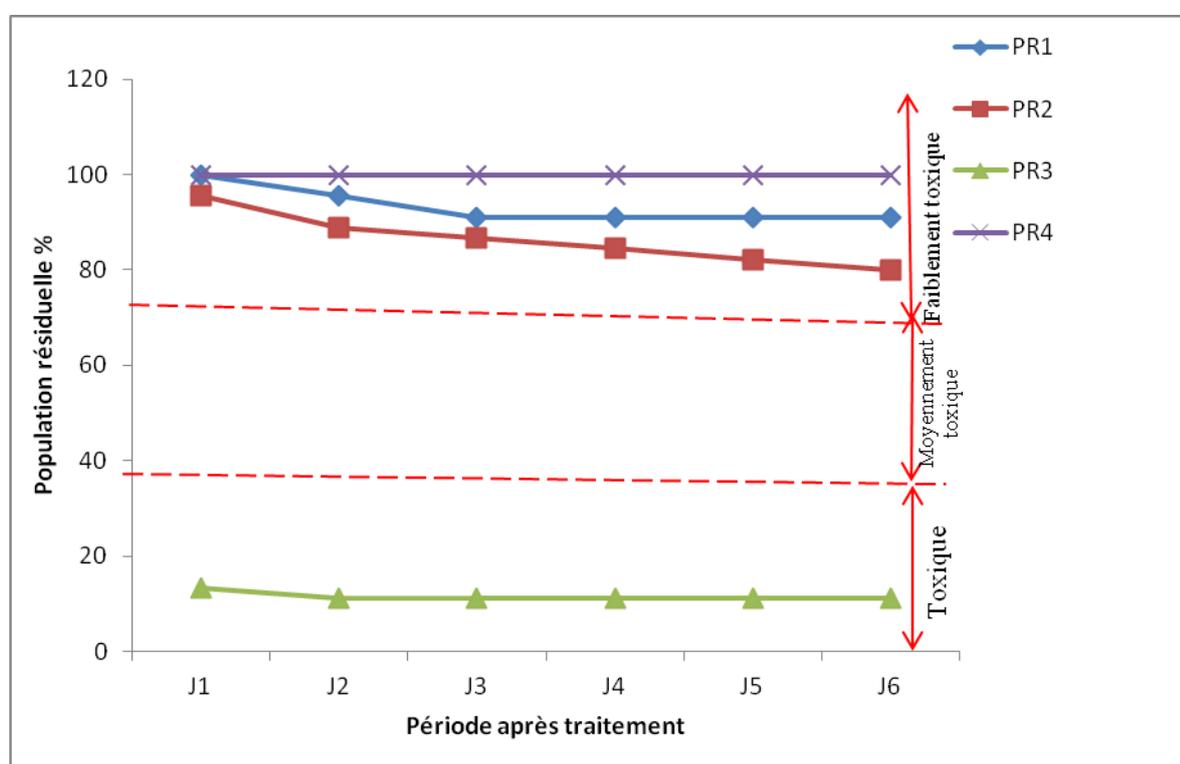


Figure 28 : Evolution temporelle de population résiduelle de *Tribolium confusum* traitée avec l'HE de *Myrtus communis* par inhalation



**DISCUSSIONS**

Ces dernières années, les biopesticides ont fait l'objet d'une recherche considérable dont l'intérêt de leur utilisation a augmenté en réponse au problème de l'impact des pesticides chimiques à large spectre sur l'environnement, la santé et l'apparition d'une résistance à ces derniers.

Les plantes sont capables de produire des substances naturelles très variées, en effet, en plus des métabolites primaires classiques (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques), elles synthétisent et accumulent perpétuellement des métabolites secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source immense de molécules exploitables par l'homme dans des domaines aussi distincts comme la pharmacologie, l'agroalimentaire ou encore en agriculture dans le cadre de la phytoprotection (Auger et Thibout., 2002).

D'après Cseke et Kaufman (1999), les huiles essentielles végétales sont des métabolites secondaires sécrétés par les plantes comme moyens de défense contre les ravageurs phytophages. En laboratoire, des huiles végétales ont été testées par de nombreux auteurs comme Teugwa et *al.* (2002), Gakuru et Foua-Bi (1996), Morallo et Tantengco (1986) contre les ravageurs des denrées stockées.

Actuellement, les huiles essentielles et les extraits aqueux des plantes commencent à avoir un intérêt très prometteur comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ces produits font l'objet des études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour les traitements insecticides, bactéricides, nématocides et fongicides (Yakhlef., 2010).

Dans le présent travail, l'activité insecticide de l'espèce végétale étudiée *Myrtus communis* sur des individus (Adultes) de l'insecte ravageur des denrées stockées *Tribolium confusum* constitue une étude préliminaire sur la recherche de nouvelles molécules bioactives à intérêt pesticide. Les résultats des tests du pouvoir insecticide sont intéressants du fait qu'ils constituent une première initiative de recherche sur des plantes spontanées d'intérêt agronomique. Ces résultats ont montré une efficacité élevée entre les deux modes de traitement utilisé (contact et inhalation), les doses appliquées ainsi que les périodes de traitement. On peut même expliquer et confirmer que la plante étudiée possède des propriétés biocides appréciées.

## **1. Evaluation de rendement de l'huile essentielle :**

Vu l'absence des normes AFNOR relatives aux caractères organoleptiques de l'huile essentielle de *Myrtus communis*, nous avons essayé de comparer nos résultats avec ceux rapportés par quelques travaux de recherches effectués sur l'huile essentielle du myrte. Notre huile essentielle a un aspect liquide et une couleur jaune pâle avec une odeur rappelant celle des feuilles. Nous constatons que la couleur et l'odeur de notre huile est identique à huile essentielle de la région de Cherchell (Benbalkacem et *al.*, 2005) et à l'aspect et la couleur d'huile essentielle Marocaine mais l'odeur est différente (mentholée et camphrée), cette différence d'odeur peut être attribuée à la variation quantitative des composés qui contribuent à l'odeur de l'huile essentielle. En effet, il s'est avéré que l'huile essentielle du myrte Tunisien est très riche en esters d'où la note fruité caractéristique de cette huile (Vausselin, 2004).

Le rendement de notre l'huile essentielle (Myrte) obtenue par entraînement à la vapeur à partir des feuilles fraîches est de l'ordre de : 0,53% est importante par rapport à celle trouvée par Benbelkacem et *al.* (2005) pour le myrte frais de la région de Cherchell obtenu par hydrodistillation et récolté en mois de mai avec un rendement de 0,196%, mais qui se rapproche à celle du myrte frais récolté en mois de juillet qui est de 0,729%. Le même auteur a trouvé que le rendement en huile essentielle pour le myrte sec récolté en mois de mai est de 0,101% et 0,626% en mois de juillet. Pour notre travail, la période de récolte des feuilles de myrte frais était entre avril et mai coïncidant avec la période de débourrement du myrte. Eldjoudi et Kochrane (2012) et Boubrit et Boussad (2007), ont trouvé le rendement en huile essentielle par hydrodistillation est de respectivement 0,089% et 0,056%. Ces valeurs sont très faibles par rapport à celle trouvé dans notre travail. Bouza et Hamimi (2007), ont obtenu par entraînement à la vapeur à partir des feuilles du myrte sec originaire d'Alger (Bainem) un rendement de l'ordre de 0,317%. Par la même méthode, Touibia (2011) note que l'huile essentielle extraite à partir de plante fraîche, présente un rendement égal à 0,195%. Cependant les travaux de Gardeli et *al.* (2008), ont rapporté que *Myrtus communis*, originaire de Grèce, présente un rendement relativement élevé égal à 1,45%.

Au Maroc, la distillation des feuilles de myrte donne une huile jaune-ambré et le rendement moyen en huile varie de 0,3 à 0,4% selon plusieurs facteurs comme la saison de récolte, l'origine de la plante et la méthode d'extraction (Ismaili et *al.*, 2001).

D'après Kelen et Tepe (2008), Le rendement en huile essentielle dépend de nombreux facteurs : la qualité de la matière végétale (sèche ou fraîche), la période de séchage de la plante, ainsi que la technique d'extraction et l'origine géographique. Selon certains auteurs, la composition chimique et le rendement en huile essentielle varient suivant diverses conditions : la méthode employée, les parties végétales utilisées et les produits et réactifs utilisés pendant l'extraction, l'environnement, le génotype de la plante, son origine géographique, la période de récolte de cette plante, le degré de séchage, les conditions de séchage, la température et la durée de séchage, présence de parasites, de virus et mauvaises herbes (Bajpai et *al.*, 2008 ; Kelen et Tepe, 2008).

## **2. Analyse chromatographique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* :**

Les résultats de l'analyse chromatographique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* révèlent 88 composants chimiques, 50% se sont des monoterpènes, dont 15 composés ont été identifiés. Le composé majoritaire est l' $\alpha$ -pinène (62,4742%) suivi de 1.8-cineole (23,2393%) et par d'autres composants comme :  $\beta$ -linalool (1,5941%), trans-caryophyllène (1,3202%),  $\alpha$ -terpinéol (0,8132%), linalool (0,7691%),  $\alpha$ -terpinène (0,1974%),  $\delta$ -3-carène (0,1543%), thymol (0,1106%).

D'après Chiasson et *al.* (2001), la technique d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau ou l'hydrodistillation sont largement utilisées pour produire des huiles essentielles de grande qualité par rapport aux autres méthodes d'extraction.

Nos résultats concordent avec ceux menés par Lawrence (1978) qui a établi pour la première fois, une composition riche en monoterpènes avec l' $\alpha$ -Pinène et le 1.8-Cinéole comme composés majoritaires. D'après Lee et *al.* (2002), la composition chimique de *Myrtus communis* est constituée principalement par les monoterpènes qui sont volatiles et par des composés lipophiles qui peuvent rapidement pénétrer dans l'insecte et interfère ses fonctions physiologiques.

Bradesi et *al.* (1997), notent que la composition de l'huile essentielle de Corse est constituée de 18 composés dont les majoritaires sont l' $\alpha$ -pinène (54,3%), le 1.8-cinéole (24,7%), le limonène (5,3%), l'acétate de géranyle (1,5%) et l' $\alpha$ -terpinéol (1,3%). Les travaux réalisés par Belkhairia (2001) sur l'huile essentielle de *Myrtus communis* Tunisienne ou les composés majoritaires étaient l' $\alpha$ -pinène (50%) et le 1.8-cineole (20%). Des observations similaires ont été faites par Benbelkacem et *al.* (2005) dont les principaux composants étaient l' $\alpha$ -pinène (38,11%) et 1.8-cineole (31,26%). Nos résultats rejoignent aussi les résultats d'Aiboud (2012), les composés principaux sont les monoterpènes avec  $\alpha$ -pinène (49,17%), 1.8-cineole.

Bouzabata et *al.* (2013), la composition chimique de 55 échantillons d'huiles essentielles de *Myrtus communis* récoltés dans 16 régions différentes de l'est à l'ouest d'Algérie, les huiles se composaient principalement de monoterpènes,  $\alpha$ -pinène (27,4 à 59,2%) et 1.8-cinéole (6,1 à 34,3%) étant les principaux composants.

Dans les travaux menés par Chalchat et *al.* (1998) d'Addis Abeba, une étude sur l'huile essentielle du myrte d'Ethiopie obtenue par extraction à la vapeur d'eau, l'analyse a révélé que cette dernière est formée essentiellement de 1.8-cineole (16,4%) et d' $\alpha$ -pinène (14,2%). Bouza et Hamimi (2007), ont trouvé dans leurs travaux que l'huile du myrte récolté en mai à Bainem (Institut National de la Recherche Forestière) est composée principalement par neryl acétate et méthyle isoeugénol. Pour, Mahboubi et Ghazian [23], les principaux composants de l'huile essentielle du myrte en Iran sont : 1.8-cineole (36,1%), de  $\alpha$ -pinène (22,5%), linalool (8,4%), bornyl acétate (5,2%),  $\alpha$ -terpinéol (4,4%), linalyl acétate (4,2%) et limonène (3,8%).

Pour Aidi Wannes et *al.* (2007), suggèrent que l'huile essentielle du myrte est principalement constituée par l' $\alpha$ -pinène (28%) et le limonène (11%). De même les travaux menés par Touibia (2011), l'huile essentielle du myrte frais est formée essentiellement d' $\alpha$ -pinène et de limonène avec des valeurs respectives de 16,22% et 15,93%. Selon Eldjoudi et Kochrane (2012), l'identification par CG-SM a permis d'identifier 07 composés principaux de l'huile essentielle du myrte, dont  $\alpha$ -pinène et D-limoène sont les composés majeurs avec 40,95% et 25,26% respectivement.

Par contre, Les huiles essentielles d'Espagne sont caractérisées par une grande teneur en acétate de myrtenyl (Boelens & Jiménez, 1991, 1992). Cependant, les huiles essentielles du myrte originaire de Grèce (Gauthier et *al.*, 1988), de Californie (Lawrence, 1993) et de Russie (Lawrence, 1990) sont dominées par le linalol et le limonène en plus de  $\alpha$ -pinène et du 1.8-cineole.

D'après Ouelhadj et *al.* (2011) l'analyse chromatographique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* a permis d'identifier 17 composés (95,98%) ou les composés majoritaires sont : 1.8-cineole (46,98%) et cis-géraniol (25,18%), accompagnés d'autres constituants à des teneurs relativement faibles.

Selon Regnault-Roger (2008), il est admis que les monoterpénoïdes sont neurotoxiques et qu'ils agissent sur différentes cibles selon leur nature chimique, de plus, l'activité d'un monoterpénoïde semble dépendre de l'espèce d'insecte visé.

D'après Verreck (2007), la composition d'une huile essentielle peut varier fortement en fonction de : l'origine de la plante; l'ensoleillement; la nature du sol; la source botanique; période de récolte et la technique d'extraction des huiles essentielles. Les conditions environnementales, la température, la quantité de lumière, la pluviométrie, les conditions édaphiques représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée (Curado et *al.*, 2006). La différence de la teneur en composés majeurs serait en rapport avec l'origine écologique des plantes et les conditions climatiques (Bajpai et *al.*, 2008).

Selon Chiasson et *al.* (2001) la composition chimique de l'huile essentielle variée d'une plante à une autre et d'après Dorman et Deans (2000) le principal facteur modifiant l'activité insecticide des huiles essentielles est le type et la structure moléculaire des composants actifs présents. Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes. Seuls les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, sont rencontrés soit par des monoterpènes (myrcène  $\beta$ -pinène,  $\alpha$ -ter pinène, etc.) et des sesquiterpènes ( $\beta$ -caryophyllène,  $\alpha$ -humulène,  $\beta$ -bisabolène, etc.) (Sell., 2006).

### **3. Evaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Myrtus communis* :**

Selon Regnault-Roger (2008) les plantes aromatiques exercent une double activité de par la présence d'un cocktail de ces différentes molécules :

- Elles déciment une partie de la population adulte : les monoterpènes confèrent une action toxique rapide de type inhalatoire tandis que les polyphénols fournissent une activité insecticide d'une intensité moindre mais qui s'exerce dans la durée.
- Elles inhibent la fécondité et possèdent une action ovicide et larvicide.

D'après Ashauer et *al.* (2006), le mode d'action physiologique du toxique correspond aux paramètres affectés, plus précisément :

- Pour la survie, l'effet est une augmentation du taux de mortalité.
- Pour la croissance, il s'agit d'une augmentation du taux de construction de nouveaux tissus, ou de la diminution du taux de nutrition.
- Pour la reproduction, il s'agit soit d'un effet sur la croissance qui réduirait la reproduction, soit d'une réduction directe de la fécondité.

A travers l'analyse quantitative et qualitative de l'huile essentielle par CPG, nous pouvons avancer que l'activité insecticide de l'huile essentielle étudiée est due à la présence des composés chimiques majoritaires (principe actif) ainsi que la rapidité de leur effet volatile.

Les résultats du test du pouvoir insecticide sont intéressants. Elles ont montré une forte activité biocide sur *Tribolium confusum* en relation avec l'huile essentielle, sa concentration et le mode utilisé.

L'absence de mortalité au niveau du témoin montre que notre test reste fiable pour l'étude de l'effet insecticide des huiles essentielles testées. Tous ces tests effectués peuvent confirmer que le traitement des denrées alimentaires par l'huile essentielle issue des plantes aromatiques et médicinales peut être très efficace pour lutter contre les ravageurs de ces denrées. Ces huiles contiennent des produits chimiques très intéressants au niveau activité.

### 3.1. Mode contact :

D'après l'expérience de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Myrtus communis* sur *Tribolium confusum* par mode contact et inhalation, les résultats des deux modes de traitement n'ont pas montré un effet toxique de la même manière vis-à-vis de *Tribolium confusum*. Cette différence de toxicité varie en fonction du mode de traitement, des doses utilisées et du temps de traitement.

Pour le mode contact, les doses D1 et D2 ont enregistré un taux de mortalité nul durant tout l'essai, pour la dose D3, celle-ci a montré un effet toxique faible à partir du 2<sup>ème</sup> jour, qui a augmenté durant la période de traitement mais d'une manière faible avec un taux de mortalité de l'ordre de 17,8% au 6<sup>ème</sup> jour de traitement. Pour la population résiduelle de *Tribolium*, celle-ci n'a subi aucune diminution avec les doses D1 et D2, elle était de 100%. En revanche la dose D3 a enregistré une faible diminution, du 1<sup>er</sup> au 6<sup>ème</sup> jour jusqu'à atteindre 82,2%. Avec le mode contact, l'huile essentielle du myrte a révélé un effet faiblement toxique sur les adultes du *Tribolium* avec les trois doses utilisées.

Fekir et Hamzi (2011), le pourcentage de mortalité de *Tribolium castaneum* traité avec l'huile de *thym* par la méthode de contact les mortalités ont été observées le 1<sup>er</sup> jour après traitement. Au 6<sup>ème</sup> jour après traitement seulement 65% sont mortes avec la D3 et 56,66 % avec la D2. Avec la dose D1 le taux de mortalité était de 45% au 4<sup>ème</sup> jour.

Said (2011), les résultats relatifs aux traitements biologiques par le biais de l'huile essentielle à base d'origan et l'extrait aqueux d'ortie ont montré une toxicité temporelle plus ou moins similaire. Les applications réalisées ont enregistré un effet choc dès les premières 24h s'est affaiblie au bout de 48h, à 72h et à 96h. Les données relatives à la comparaison de l'efficacité des deux biopesticides utilisés nous montrent que l'huile essentielle à base d'origan présente une forte toxicité sur les larves de *Tribolium*. La persistance de cette efficacité est meilleure vis-à-vis des larves de l'insecte étudié pendant 96 heures. Pour l'extrait aqueux à base d'ortie, la toxicité obtenue après son application est attribuée à sa teneur de certains composés chimiques, sa faible efficacité par rapport à l'huile essentielle à base d'origan, peut être attribuée à l'absence de certaines molécules qui n'ont pas été extrait par la méthode d'extraction adoptée dans nos essais. En effet à ce stade de l'étude, nous pouvons conclure que les

deux biopesticides semblent donc manifester vis à vis des larves de *Tribolium*, une toxicité beaucoup plus par contact direct que par inhalation.

Tapondjou et *al.* (2005) ont bien mis en exergue l'activité insecticide des huiles essentielles du cyprès et de l'eucalyptus vis-à-vis de *Sitophilus zeamais* et de *Tribolium confusum*, mais ces auteurs ont obtenus des Doses Létales (DL 50) différentes pour les deux insectes appliquées par contact; ils ont obtenu 0,36 µl/cm<sup>2</sup> pour *Sitophilus zeamais* et 0,48µl/cm<sup>2</sup> pour *Tribolium confusum*, démontrant ainsi l'efficacité de ces deux huiles essentielles sur ces deux insectes.

Ces résultats rejoignent d'une manière plusieurs travaux par contact sur *Tribolium confusum*, le Thym et la Menthe verte ont provoqué 100% de mortalité, vient se positionner après le Romarin avec un taux de 97,37%, l'Eucalyptus 72,63% et enfin la Citronnelle avec 52,26%. (Benazzeddine., 2010).

D'après Aiboud (2012), l'huile essentielle du myrte s'est révélée la moins efficace dans les tests par contact contre la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* par rapport au Thym, Clou de girofle, Bois d'inde et l'Eucalyptus.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par de nombreux auteurs qui ont mis en évidence l'efficacité de nombreuses huiles essentielles. C'est ainsi que Kellouche et *al.* (2010) ont montré qu'à partir de la dose 40ul/50 g de graines de niébé, les huiles essentielles d'*Eucalytus globulus*, d'*Eucalytus citriodora*, de *Myrtus commnis* (Myrtaceae), de *Pogostemon cablin* (Lamiaceae), de *Cupressus sempervirens* (Cupressaceae), de *Salvia officinalis* (Labiaceae), de *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae) et de *Citrus mendurensis* (Rutaceae) ont réduit d'une manière très significative la longévité des adultes de *C.maculatus*.

Les huiles essentielles d'*Eucalytus saligna* et de *Cupressus sempervirens* ont aussi révélé un effet très toxique sur *Sitophilus zeamais* (Coleoptera : Curculionidae) et *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae) dans les traitements par contact (Tapondjou et *al.*, 2005).

Tunc et *al.* (2000) notent également que l'huile essentielle de l'origan provoque une mortalité de 89% chez *Tribolium confusum* après 96 heures d'exposition par contre l'huile essentielle de Romarin à une faible activité avec une mortalité de l'ordre de 65%

chez *Tribolium confusum*, pour l'huile essentielle d'Eucalyptus le taux de mortalité est de 18%.

Les travaux de Prates et *al.* (1998) portant sur l'efficacité monoterpène dont 1.8 cineol par contact qui donne 100% de mortalité sur *Rhyzopertha dominica* et 58,3% sur *Tribolium confusum*.

Fekir et Hamzi (2011), Les concentrations de Thym nécessaires pour avoir 50% de mortalité des insectes par inhalation sont variables d'un insecte à un autre, Il ressort que l'huile essentielle a montré une efficacité plus importante sur *Rhyzopertha dominica* (CL50= 0,1µl/cm<sup>2</sup>) au 4<sup>ème</sup> jour, pour le *Tribolium castaneum* (Le 50% de mortalité n'a pas atteint jusqu'à 8<sup>ème</sup> jour).

Certains travaux sommaires à travers le monde ont consisté à tester *in vitro* les extraits aqueux, alcooliques et lipidiques des différents tissus d'espèces insecticides sur les ravageurs des denrées stockées, principalement les *Rhyzopertha dominica* et *Tribolium confusum* (Isman., 2002).

Les résultats du pouvoir insecticide de menthe ont montré une activité très faible de l'extrait en particulier ceux de la partie aérienne avec un effet choc précoce remarquable se traduisant par un pourcentage de mortalité de 1.6% chez les adultes de *Tribolium confusum* et 3.33% chez les adultes de *Rhyzopertha dominica* après 6h de traitement. Pour le mode de pénétration par inhalation, nous avons constatés que les deux produits étudiés possèdent une action biocide sur notre ravageur. Un taux de mortalité de 81.66% a été obtenu sur *capucin* et 60% sur *Tribolium castaneum* (Yahyaoui, 2005).

### **3.2. Mode inhalation :**

Pour le mode traitement par inhalation, une diminution graduelle de survie des insectes a été observée à partir du 1<sup>er</sup> jour de l'essai et a augmenté d'une manière faible pour les doses D1 et D2 qui ont montré un effet faiblement toxique de l'ordre de 8,87% et 20% respectivement au 6<sup>ème</sup> jour de l'essai. En revanche la dose D3 a révélé dès le 1<sup>er</sup> jour un taux de mortalité élevé de l'ordre de 86,66% et 88,87% du 2<sup>ème</sup> au 6<sup>ème</sup> jour. Donc la dose D3 a montré un effet toxique vis-vis du *Tribolium confusum* avec un taux de mortalité élevé au 2<sup>ème</sup> jour et qui a resté stable durant la période de traitement. La population résiduelle a révélé un pourcentage très élevé les doses D1 et D2 avec respectivement les valeurs 91,11% et 80% au 6<sup>ème</sup> jour de l'essai. Par contre, la dose D3 a noté un taux de population résiduelle très faible de l'ordre de 13,33% le 1<sup>er</sup> jour et 11,11 du 2<sup>ème</sup> au 6<sup>ème</sup> jour. Ceux-ci nous mène à conclure que le mode inhalation à un effet moyennement toxique pour les doses D1 et D2 et un effet toxique pour la dose D3.

Il ressort que l'huile essentielle de *Myrtus communis* possède une action biocide sur notre ravageur *Tribolium confusum* avec le mode inhalation et la dose D3 au 2<sup>ème</sup> jour de traitement. L'absence de mortalité au niveau du témoin montre que notre test reste fiable pour l'étude de l'effet insecticide de l'huile essentielle testée. L'activité insecticide de l'huile essentielle du Myrte ne nécessite pas beaucoup de temps pour se manifester; la mortalité maximale étant enregistrée pendant les deux jours qui suivent les traitements. Plus la dose était élevée, plus le temps de réaction était court.

Nos résultats rejoignent ceux trouvés par Regnault-Roger et Hamraoui (1993), ces derniers signalent la toxicité par inhalation des espèces végétales appartenant à la famille des Labiées tels que *Thymus vulgaris L.* et *Rosmarinus Officinalis L.*, ils citent également d'autres familles dont les Myrtacées et des Graminées vis-à-vis de la bruche du haricot.

Huang et al. (2002) ont mentionné que l'huile essentielle de *allereana cardamomum* présentait une toxicité par inhalation plus élevée sur *Sitophilus zeamais* que sur *Tribolium castaneum*. Fekir et Hamzi (2011) Chez les individus traités l'effet est apparu en 1<sup>er</sup> jour après traitement avec toutes les doses, Au 2<sup>ème</sup> jour après traitement seulement 20% sont morts avec la D1 et 38,33% avec la D2, Mais avec les doses D3 on a pu obtenir des taux de 48,33. Au 4<sup>ème</sup> jour on a atteint un taux 30% avec la dose D1 et 50% avec la dose D2 et 61,66 avec la dose D3. 35% de mortalité est obtenu au bout de

6<sup>ème</sup> jour avec la dose D1, au 5<sup>ème</sup> jour un taux de 53,33% avec la D2 alors qu'avec la D3, a été atteint 66,66%. Le taux de mortalités est nul chez les séries témoins.

Pour Aiboud (2012), les huiles essentielles du myrte, d'eucalyptus, d'origan, de clou de girofle sont les plus toxiques par le mode inhalation vis-à-vis des larves de *C.maculatus* avec 100% de mortalité chez les jeunes larves de 12 jours exposés au myrte à la dose 40ul/l et un effet insecticide très hautement significatif sur la durée de vie des adultes de *C.maculatus* excepté le basilic dont l'effet est faible.

Par mode inhalation sur *Tribolium confusum*, après 24 heures de traitement le romarin et la menthe verte ont provoqué 100% de mortalité, les mêmes pourcentages en été enregistré pour le thym et l'eucalyptus après 120 heures, enfin la citronnelle qui a donné des résultats ne dépassant pas 55% après 144 heures d'exposition. D'après ces résultats les huiles essentielles sont plus toxiques par inhalation sur *Tribolium confusum* que sur *S.oryzae* à l'exception de la citronnelle qui est moins efficace sur cette dernière espèce que sur l'autre (Benazzeddine., 2010).

Regnault-Roger et al. (1993), signalent la toxicité par inhalation des espèces végétales appartenant à la famille des Labiées tels que *Thymus vulgaris* L. et *Rosmarinus officinalis* L., ils citent également d'autres familles dont les Myrtacées et les Graminées vis-à-vis de la bruche du haricot. (Santos et al., 1997) qui révèlent l'effet inhalatif des huiles essentielles d'*Eucalyptus canalidensis* et *Eucalyptus cameroni* contre *Rhizopertha dominica* et *Tribolium castaneum*. Yahyaoui (2005), a réalisé des tests sur l'efficacité par inhalation et contact des huiles essentielles de la Menthe verte sur *Rhizopertha dominica* et *Tribolium confusum*, à la dose de 3,12 %, l'huile essentielle de menthe verte agit pratiquement de la même manière sur *Rhizopertha dominica* et sur *Tribolium confusum* et a provoqué 100% de mortalité.

Les huiles essentielles de graines d'ajowan, d'aneth et de nigelle cultivée ont été évaluées pour la lutte contre le petit ver de la farine *Tribolium castaneum*. Les résultats ont montré que les huiles essentielles de ces trois plantes possédaient des qualités insecticides intéressantes à tous les stades de développement du ver de la farine (la ponte, mortalité des larves et des adultes).

Chaubey (2007) évoque aussi dans son article les plantes *Anethum sowa*, *Artemisia annua*, *Lippia alba* et *Elettaria cardamomum* qui possédaient un effet répulsif

et toxique contre *Tribolium castaneum*. Il cite également une autre source qui avance l'hypothèse que ces huiles essentielles provoquent une suffocation et une inhibition du développement sur les différents processus métaboliques de l'insecte.

Saidana et *al.* (2007), Seize extraits des parties aériennes de plantes halophiles ont été préparés avec des solvants organiques. Ces extraits sont testés pour leurs activités bio-insecticides sur les larves et les adultes de *Tribolium confusum*. Les différents extraits utilisés montrent une toxicité plus importante chez les larves que chez les adultes de *Tribolium*.

**CONCLUSION GÉNÉRALE**

---

## CONCLUSION GÉNÉRALE

Au cours des dernières décennies, l'attention portée aux effets secondaires des pesticides a profondément modifié la perception à l'égard des pesticides. Ils sont devenus, pour certains, des produits dangereux que l'on devrait bannir ou, au mieux, un mal nécessaire.

Ces conséquences écotoxicologiques plus contraignantes mènent à une augmentation importante des coûts de développement de nouveaux produits phytosanitaires. Le concept de lutte intégrée se réfère principalement à l'écologie, aux rapports existants entre les organismes vivants et leur environnement ou leur espace vital. A l'origine, cette démarche visait la réduction du nombre d'interventions avec des pesticides tout en minimisant leurs effets secondaires. Par conséquent, le développement des futurs biopesticides d'origine végétale, est une méthode plus saine et écologique pour la protection des plantes (Gottlieb *et al.*, 2002).

Notre travail à pour objectifs :

- Calculer le rendement d'huile essentielle de *Myrtus communis* obtenue par entraînement à la vapeur.
- Analyse chromatographique de l'huile récupérée qui nous a permis d'identifier la quasi totalité de ces constituants.
- Étude de l'effet insecticide de cette l'huile vis-à-vis de l'insecte ravageur des denrées stockées *Tribolium confusum* appartenant à la famille de Ténébrionidé par deux modes de traitement (contact et inhalation).

Dans cette étude, nous avons essayé de valoriser une espèce aromatique et spontanée appartenant à la flore Algérienne pouvant être utilisée comme biopesticide dans la phytoprotection.

Le rendement de notre l'huile essentielle (Myrte) obtenue par entraînement à la vapeur est de l'ordre de : 0,53% est importante. Les résultats de l'analyse chromatographique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* révèlent 88 composants chimiques, 50% se sont des monoterpènes, dont 15 composés ont été identifiés. Le

composé majoritaire est l' $\alpha$ -pinène (62,4742%) suivi de 1.8-cineole (23,2393%) et par d'autres composants comme :  $\beta$ -linalool (1,5941%), trans-caryophyllene (1,3202%), alpha terpinéol (0,8132%), tinalool (0,7691%),  $\alpha$ -terpinene (0,1974%),  $\delta$ -3-carène (0,1543%), thymol (0,1106%).

Les résultats de la présente étude portant sur l'évaluation du pouvoir insecticide de l'espèce cultivée *Myrtus communis*, révèle que cette plante présente des potentialités et pourrait être utilisée et exploitée avec succès pour la gestion des populations des ravageurs des stocks qui entraînent des pertes considérables sur le rendement et la qualité des denrées stockées. Les résultats ont montré que l'huile essentielle de *Myrtus communis* avec les différentes dilutions présentent un pouvoir insecticide contre les individus du *Tribolium* testé. Nous avons observé que l'action de l'huile essentielle avec le mode inhalation présente une efficacité meilleure que le mode contact sur *Tribolium confusum* pour la dose D3 avec un pourcentage de mortalité allant jusqu'à 88,87% au 2<sup>ème</sup> jour de traitement, par contre avec le mode contact seulement 17,6%.

En conclusion, nous pouvons dire que les propriétés insecticides des composés volatils de l'huile essentielle de *Myrtus communis* semblent intéressantes, elles présentent un potentiel pour le contrôle des ravageurs des denrées stockées, plus particulièrement utilisés par fumigation.

Ce travail base sur l'utilisation des plantes aromatiques comme insecticide, ainsi nous ouvre de larges perspectives d'une part dans le domaine des connaissances fondamentales et d'autres part dans le domaine appliqué, pour ce là nous recommandons des recherches sur :

- L'évaluation des effets des autres plantes aromatiques locales sur les insectes nuisibles des grains.
- L'évaluation des effets des huiles essentielles sur les insectes utiles et d'autres insectes nuisibles des stocks de denrées.
- L'évaluation des effets des huiles essentielles sur la qualité organoleptique et nutritionnelle des denrées stockées.
- L'identification des principes actifs des huiles essentielles des plantes locales et leur formulation pour leur application dans le traitement des stocks.

**RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- **ABDULLAH IJAZ HUSSAIN, FAROOQ ANWAR, SYED TUFAIL HUSSAIN SHERAZI, ROMAN PRZYBYLSKI., 2008** - Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*. 108. pp 986–995.
- **AIBOUD K., 2012** – Etude de l’efficacité de quelques huiles essentielles à l’égard de la buche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) et impacts des traitements sur la germination des graines de vigna *unguiculata* (L.) Walp. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques. Magister.
- **AIDI WANNES W., MHAMDI B., SRITI J., NAFFTI M., KCHOUK M.E., MARZOUK B., 2007** – Composition de l’huile essentielle de la feuille du myrte (*Myrtus communis* L.). Institut des régions arides. Médenine.
- **AFNOR., 2000** - Association Française de normalisation. Norme française : huile essentielle. Ed. Afnor. Paris. 663p.
- **AMIOT J., 2005** - *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l’écologie évolutive des composés secondaires. Thèse-doctorat-Ecole Nationale Supérieure d’Agronomie de Montpellier. France.
- **ANONYME., 1981** - Le problème des denrées stockées en Algérie. Inst.nat.protec. Végé /MAP. Rapport ref.et 67/DS/1981.
- **ANONYME., 2005** - Plantes aromatiques (épices, aromates, condiments et huiles essentielles). Ed. Lavoisier et Tec et Doc. Italie. pp 26-32.
- **ANONYME., 2007** - Index des produits phytosanitaires à usage agricole. Ed. Direction de la protection des végétaux et des contrôles techniques, Ministère de l’agriculture et du développement rural. 252p.
- **AUDIGIE C.L., DUPON G. ET ZONSGAIN F., 1995** – Principes des méthodes d’analyse biochimique. T1, 2<sup>ème</sup> ED. Doin. Paris. 44p.

- **AUGER J ET THIBOUTE., 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.
- **AUSLOOS P., 2002** - Les huiles essentielles. CNIL. N 80.6p.
- **AZEVEDO N.R., CAMPOS I.F.P., FERREIRA H.D., PORTES T.A., SANTOS S.C., SERAPHIN J.C. PAULA J.R. AND FERRI P.H., 2001** - Chemical variability in the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Phytochemistry*. 57. pp 733-736.
- **BAALIOUAMER A., 1987-** Analyse qualitative et semi-quantitative des huiles essentielles de citrus provenant des la station de Boufarik. Thèses doctorat d'état esscien.phy. U.S.T.H.B. 143 p.
- **BABA AÏSSA F., 1991** - Les plantes médicinales en Algérie Co-édition Bouchème et A Diwan. 69 p.
- **BAJPAI V.K., RAHMAN A., KANG S.C., 2008** - Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb. to control food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 125. pp 117-122.
- **BAKKALI F., AVERBECK S., AVERBECK D., IDAOMAR M., 2008** - Biological effects of essential oils. *Food Chemical Toxicology*. 46. pp 446-475.
- **BARDEAU F., 1979** - La médecine par les fleurs. Ed. Robert la fonte. Paris. pp 47-61.
- **BAUDOUX D., 1997** - Un procédé, une analyse, une définition. *Aroma News*. Lettre d'information de N.A.R.D: Natural Aromatherapy Research and Development.
- **BAYDAR H., SAGDIC O., OZKAN G., KARADOGAN T., 2004** - Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymus* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*. 15. pp 169-172.
- **BELAICHE P., 1979** – Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme. EM.S.A. Editeur Maloine. Paris. pp 18-35.
- **BELKHAIRIA B., 2001** – Huile essentielle du myrte de Tunisie. (19). pp 221-227.

- **BELYAGOUBI L., 2006** – Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Université Abou Bekr Belkaid. Faculté des Sciences. Tlemcen.
- **BENAZZEDDINE S., 2010** - Effet insecticide de cinq huiles essentielles vis-à-vis vis-à-vis de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera ; Curculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptera ; Tenebrionidae). Ecole nationale supérieure agronomique El-Harrach d'Alger - Ingénieur d'état en science agronomique.
- **BEN BELKACEM S., CHANANE S., ET DJELTI I., 2005** – Extraction et caractérisation de l'huile essentielle du myrte (*Myrtus communis L*) récolté dans la région de Cherchell. Efficacité de cette huile vis-à-vis de *Rhizopertha dominica* (Coleoptera ; Bostrichidae) au laboratoire. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. Univ. Blida. 73p.
- **BENISTON N., 1985** – Fleur d'Algérie. Ed. Unité Réghaia. Alger. 395p.
- **BERNARD T., BRAVOR ET GASSE T., 1988** - Extraction des huiles essentielles.
- **BIANCHINI F ET AZZURA C.P., 1975** – Le guide vert des plantes et des fleurs. Artes Graficas Toledo S.A. Espagne. pp 371-397.
- **BIANCHINI F ET CORBETTA F., 1975** – Atlas des plantes médicinales. Fernand Nathan éditeur. Paris. pp 158-192.
- **BIANCHINI F ET AZZURA C.P., 1975** – Le guide vert des plantes et des fleurs. Artes Grafics Toledo S.A. Espagne. 397p.
- **BOELENS M.H. & R. JIMENEZ., 1991** - The chemical composition of Spanish myrtle oils, part I. *J. Essent. Oil Res.* 3. pp 173-177.
- **BOELENS M.H. & R. JIMENEZ, 1992** - The chemical composition of Spanish myrtle oils, part II. *J. Essent. Oil Res.* 4. pp 349-353.
- **BOIRA H. ET BLANQUER A., 1998** - Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella L.* *Biochemical Systematic and Ecology.* 26. pp 811-822.

- **BOUBRIT S., ET BOUSSAD N., 2007** – Détermination ”in vitro” du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d’Eucalyptus, Myrte, Clou de girofle et Sarriette et leur application à la conservation de la viande. Mémoire d’ingénieur. Univ. Mouloud Mammeri. Tizi-ouzou. Algérie. 96p.
- **BOUTEKJIRET C., KHALFI O. ET HACIB H., 2007** - Evaluation de l’activité insecticide de l’huile essentielle d’Armoise blanche : *Artemisia herba alba*. Congrès International sur les plantes aromatiques et médicinales. Fès. Maroc.
- **BOUZA Y ET HAMIMI M., 2007** – Contribution à l’étude des huiles essentielles du myrte et de la santoline et évaluation de leur effet antiseptique. Mémoire d’ingénieur. Univ. Blida. Algérie.
- **BOUZABATAA A., VINCENT C., ANGE B., LAHOUARI A., JOSEPH C AND FELIX T., 2013** - Chemical Variability of Algerian *Myrtus communis* L. Vol. 10.
- **BRADESI P., F. TOMI, J. CASANOVA, J. COSTA & A.F. BERNARDINI, 1997-** Chemical composition of myrtle leaf essential oil from Corsica (France). *J. Essent. Oil Res.* 9 (3). pp 283-288.
- **BRICH I C., 1953** - Experimental background to study of distribution and abundance of insectes. *Ecol.* 34. pp 698-711.
- **BRUNETON J., 1993** - Pharmacognosie, phytochimie, plante médicinale. 2<sup>ème</sup> édition. Ed. Lavoisier. Paris. pp 406-435.
- **BRUNETON J., 1999.** Essential oils in Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> éd. Ed. Tec et Doc. Lavoisier. Paris. pp 484-535.
- **CALDERONE N.W., TWILSON W. AND SPIVAK M., 1997** - Plant extracts used for control of the parasitic mites *Varroa jacobsoni* ( Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) in colonies of *Apis mellifera* ( Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.* N° 9. pp 1080-1086.
- **CARMEN FORMISANO., DANIELA RIGANO., FELICE SENATORE., MONIQUE S.J. SIMMONDS., ANGELA BISIO., MAURIZIO BRUNO., SERGIO ROSSELLI., 2008** - Essential oil composition and antifeedant properties of

- Bellardia trixago* (L.) All. (sin. *Bartsia trixago* L.) (Scrophulariaceae). Biochemical Systematics and Ecolog. 36. pp 454–457.
- **CAUDE M. ET JARDY A., 1996** - Méthodes chromatographiques. Dossier P1445. Base documentaire : Techniques d'analyse. Vol : Papier TA2.
  - **CHIASSON H., BELANGER A., BOSTANIAN N., VINCENT C., POLIQUIN A., 2001** - Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. Journal of Economic Entomology 94. pp 167-171.
  - **CHALCHAT J.K., CARRY L. P., MENUT C., LAMATY G., MALHURET R. AND CHOPINEAU J., 1997** – Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. J. Essent. Oil Res. 9. pp 67-75.
  - **CHALCHAT J.C., GARRY R.F., MICHET A., 1998** - Essential oils of myrtle (*Myrtus communis* L.) of the Mediterranean littoral. *Journal of Essential Oil Research*. 10. pp 613-617.
  - **CHARPENTIER B., FLORENCE H-L., ALAIN H., 2008** - Guide du préparateur en pharmacie 3<sup>ème</sup> Edition Masson. 1358p.
  - **CHATTERJEE A., LASKAR S., AND GHOSHMAJUMDAR S., 1982** - Nematicidal principles from two species of Lamiaceae. J. Nematol.Vol.14. pp 118-120.
  - **CHAUBEY M. K., 2007** - Insecticidal activity of *Trachypermum ammi* (Umbelliferae). *Anethum graveolens* (Umbelliferae) and *Nigella sativa* (Ranunculaceae) essential oils against stored-product beetle *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera : Tenebrionidae). African Journal of Agricultural Research. Vol : 2 (11 ). pp 596-600.
  - **CHOI I., PARK J.C., SHINS S.C., PARK I.K., 2006** - Nematicidal activity of medicinal plant extracts and tow cinnamates isolated from *Kaempferia galangal* L. (proh hom) against the pine wood nematodes, *Bursaphelenchus xylophilus*. Nematology. Vol : 8. pp 359-365.

- **CHOUAT Z., 2005** - Efficacité de deux huiles essentielles et d'un acaricide vis à vis de *Tetranychus cinnabarinus* Bois duval (1867) (*Acari: Tetranychidae*). Mem.Ing.Agr. Inst. Nat.Agro. Alger. 61p.
- **COLIN W., 2002** - Artemisia Medicinal and aromatic plants-Industrial profiles. Vol : 18. Taylor & Francis.
- **COMBRINCK S., DU PLOOY G.W., MCCRINDLE R.I., BOTHA B.M., 2007** - Morphology and Histochemistry of the Glandular Trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae). *Annals of botany*. 99 (6). pp 1111–1119.
- **CRAVEIRO AA., MATOS FJA., ALENCAR JW. AND PLUME MM., 1989** - Microwave oven extraction of an essential oil. *Flavour Fragr J*4. pp 43-44.
- **CRESPO M.E., JIMENEZ J. AND NAVARRO C., 1991** - Special Methods for the Essential Oils of the Genus *Thymus*. *Modern Methods for plant analysis* 12. pp 41-61.
- **CSEKE, L.J. ET KAUFMAN, P.B., 1999** - How and why these compounds are synthesized by plants. In Kaufman, P.B., Cseke, L.J., Warber, S., Duke, J.A. et Brichmann, H.L., (eds). *Natural Products from plants*. CRC Press. Boca Raton. F.L. pp 37-90.
- **CURADO M.A., OLIEIRA C.B.A, JESUS J.G., SANTOS S.C., SERAPHIN J.C., FERRI P.H., 2006** - Environmental factors influence on chemical polymorphism of the essential oils of *Lychnophora ericoides*. *Phytochemistry*. 67. pp 2363-2369.
- **DANIELA RIGANO, NELLY APOSTOLIDES ARNOLD, MAURIZIO BRUNO, CARMEN FORMISANO, ARMANDO GRASSIA, SONIA PIACENTE, FRANCO PIOZZI, FELICE SENATORE., 2006** - Phenolic compounds of *Marrubium globosum* ssp. *Libanoticum* from Lebanon, *Biochemical Systematics and Ecology*. 34. pp 256-258.
- **DE FEO V., BRUNO M., TAHIRI B., NAPOLITANO F. AND SENATORE F., 2003** - Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Thymus spinulosus* Ten (Lamiaceae). *J. Agric. Chem.* N° 51. pp. 3849-3853.

- **DELAQUIS R.J., STANICH K., GIRARD B., MASSA G., 2002** - Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. 74. pp 101–109.
- **DE MAACK F. ET SABLIER M., 1994** - Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Dossier : P2614. Vol papier n° TA3. Bases documentaires. Techniques d'analyse.
- **DESJOBERT J. M., BIANCHINI A., TOMMY P., COSTA J. ET BERNARDINI A.F., 1997** – Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*. 25 (6). pp 13-16.
- **DJIAN-CAPORALINO C., BOURDY G. ET CAYROL J.C., 2005** - Nematicidal and nématode résistant plants in biopesticides of plant origine.Ed. Lavoisier. Paris. 323 p.
- **DJIBO A.K., SAMATE A.D. ET NACRO M., 2004** - Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* Linn., syn. *O.canumsins* du Burkina Faso. *Comptes Rendus Chimie*. 7. pp 1033-1037.
- **DORMAN H.J.D. AND DEANS S.G., 2000** - Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88 (2). pp 308–316,
- **DUDAREVA N., PICHERSKY E. AND GERSHENZON J., 2004** - Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiology*. 135. pp 1893–1902.
- **DURAFFOURD C., D'HERVICOURT L. ET LAPRAZ J. C., 1990** - Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2<sup>ème</sup> éd. Masson. Paris.
- **DURAFFOURD C., VALNET. J., LAROZ J.C., 1978** - Une médecine nouvelle. Paris. 41p.
- **DUVAL J., 1993** - Les plantes nématicides. Ecological Agriculture projet. *Nematol.* (2). pp 1-28.

- **EBERHARD BREITMAIER., 2006** – Terpenes. Wiley-VCH Verlag Gmbh & Co. Kгаа. Weinheim.
- **ELDJOUDI L. ET KOCHRANE A., 2012** – Contribution à l'étude et à la caractérisation de l'huile essentielle du myrte commun (*Myrtus communis L*) et son effet antimicrobien.
- **EL GUEDOUI R., 2003** - Extraction des huiles essentielles de romarin et de thym. Comportement insecticides de ces deux huiles sur *Rhyzoperta dominica*. Mem.Ing.Genie chimie.Eco.Nat.Poly. El- Harrach.70p.
- **EL KOLLI M., 2008** – Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Athemis pedunculata* Desp., d'*Athemis punctata* Vahl. et de *Daucus crinitus* Desf. Mémoire de Magistère. Département de biologie. Faculté des sciences. UFA de Sétif.
- **EL NAHL A.K.M., SCHMIDT G.H. AND RISHA E.M., 1989** - Vapours of Acorus calamus oil - A sapce treatment for stored product insects. *Journal of stored products research*. Vol 25. N° 4. pp 211-216.
- **EVANS W.C., 1998** - Trease and Evan's pharmacognosy.14<sup>th</sup> édition. pp.48-65.
- **FEILLET P., 2000** - Le grain de blé composition et utilisation. Ed. I.N.R.A. Paris. 283p.
- **FEKIR S., HAMZI M., 2011** - Contribution à l'étude de l'effet insecticide de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de thym (*thymus capitatus*) sur rhyzopertha *dominica* et *tribolium castaneum*. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master académique en sciences de la nature et de la vie option : phytopharmacie appliquée. Université Said Dahleb. Blida. 94p.
- **FINNEY D.J., 1971** - Statistical Methods in Biological Assay, 2<sup>nd</sup> edition. London: Griffin. 333p.
- **FRANCE-IDA J., 1996** - Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. Info-essence. 3. pp 5-6.
- **FRANCE-IDA J., 1998** – Comment s'assurer de la pureté d'une huile essentielle? Info – essences. 7. pp 1-2.

- **FUNK ET WAGNALLS., 2004** - Encyclopédie britannique Funk et Wagnalls.  
URL: [http:// www.Funkandwagnalls.com](http://www.Funkandwagnalls.com).
- **GAKURU S. ET FOUA-BI K., 1996** - Effet d'extraits de plantes sur la bruche du niébé *Coltosobructius maculatus Fab.* et le charançon du riz *Sitophilus orizae L.* Cahiers Agriculture. Vol. 5. T 1. pp 39-42.
- **GARDELI C., PAPAGEORGIOU V., MALLOUCHOS A., THEODOSIS K., KOMAITIS M., 2008** - Essential oil composition of *Pistacia lentiscus L.* and *Myrtus communis L.*: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. Food Chem. 107. pp 1120–1130.
- **GARNERO J., 1985** - Technique de l'ingénieur, les huiles essentielles. Vol.12. pp 65-66.
- **GARNERO J., 1996** - Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur Dossier : K345. Base documentaire : Constantes physico-chimiques. Vol. Papier n°: K2. pp 1-45.
- **GHUESTEM A., SEGUIN E., PARIS M. ET ORECCHIONI A.M., 2001** - Le préparateur en pharmacie. Dossier 2. Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. TEC et DOC. Paris.
- **GRÊTE P., 1965** - Précis de botanique, Systématique des angiospermes Tome II. 2<sup>ème</sup> édition révisée. Faculté de Pharmacie de Paris – Masson. 429p.
- **GUIGNARD J.L., 2000** – Biochimie végétale. 2<sup>ème</sup> Ed. De l'abrégé Dunod. Paris. pp 177-185.
- **GWINNER, J., HAMISCH, R. ET MUCK, O., 1996** - Manuel sur la manutention et la conservation des grains après récolte. GTZ. Eschborn. 368p.
- **HALL, D.W., 1970** - Handling and Storage of Food Grains in Tropical and Subtropical Areas. FAO. Rome. 350p.
- **HAUBRUGE E., SHIFFERS B., GABRIEL E., VERBSTRÆTEN., 1988** - «Étude de la relation dose efficacité de six insecticides à l'égard de *Sitophilus granarius*L., *S. oryzae*L., et *S. zeamais* Mots. (Col., Curculionidae) ». Med. Fac. Landbouww Ryksuniv. (Gent). 53. pp 719-26.

- **HENNEBELLE T., SAHPAZ S., BAILLEU F., 2004** - Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. 1. pp 3-6.
- **HUANG Y., HO S., LEE H. C. ET YAP Y.L., 2002** – Insecticidal properties of eugenol and methyleugenol and their effect on nutrition of *Silophilus :cumais*/Motshj. (*Coléoptera: curculionidae*) and *Tribolium castaneum* (*Coléoptera. Tenebrionidae*). *Journal of Stored Products Research* N° 38. pp 403-412.
- **IMDORF A., BOGDANOV S., OCHOA R.I. ET CALDERONE N.M., 1999** - Utilisation des huiles essentielles dans la lutte contre *Varroa jacobsoni*, parasite des colonies d'abeilles. Centre Suisse de recherche apicole. Dept. Entom. Cornell University Ithaca. USA. 4p.
- **ISERIN P., 2001** - Encyclopédie des plantes médicinales-Identifications, préparations, soins. 2<sup>ème</sup> édition. Larousse-Bordas. P 232.
- **ISMAILI R., M. FECHTAL, A. ZINE EL ABIDINE, M. HACHIMI & A. SESBOU, 2001** - Effet de la transplantation sur le rendement et la composition chimique du Myrte (*Myrtus communis* L.) *Ann. Rech. For. Maroc*. 34. pp 87-93.
- **ISMAN M.B., 1999** - Pesticides based on plant essential oils. *Pesticide Outlook*. April. pp 68-72.
- **ISMAN M.B., 2006** - « Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world ». *Ann. Rev. Entomol.* 51. pp 45-66.
- **JALALI HERAVI. ET SERESHTI H., 2007** - Determination of essential oil components of *Artemisia haussknechtii* Boiss. Using simultaneous hydrodistillation-static headspace liquid phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1160. pp 81–89.
- **JEAN-FRANÇOIS CAVALLI., 2002** - Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar, thèse de doctorat, Université de Corse. France.

- **JORDAN M.J., MARTINEZ R.M., GOODNER K.L., BALDWIN E.A. AND SOTOMAYOR J.A., 2006** - Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial Crops and Products*.
- **JUTEAU F., MASOTTE V., BESSIERE J.M. AND VIANO J., 2002** - Compositional characteristics of essential oil of *Artemisia campestris var. glutinosa*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 30. pp 1065-1070.
- **KARRAY-BOURAOUI N., RABHI M., NEFFATI M., BALDAN B., RANIERI A., MARZOUK B. ET AL., 2009** - Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*. *Industrial Crops and Products*. 30. pp 338–343.
- **KECHOUT F. 2001** - Efficacité de trois extraits végétaux et de deux insecticides vis-à-vis de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera, Curculionidae). Thèse ing. sci.agr. I.N.A. El-Harrach. pp 30-35.
- **KHALFI O., BENYOUCEF EH., YAHYAOUI N., 2006** - Extraction, Analysis and insecticidal activity of Sprint mite essential oils from Algeria against *Rhyzoperta dominica*. *J.E.O.D.P.* N° 9 (1). pp 17-21.
- **KHALFI O., SAHRAOUI N. BENTAHAR F. AND BOUTEKEDJIRET C., 2008** - Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulosum* (Desf) essential oil from Algeria. *Journal Science of Food and Agriculture*. 88. pp 1562-1566.
- **KELEN M AND TEPE B., 2008** – Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*. 99. pp 4096-4104.
- **KELLOUCHE A., AIT-AIDER F., LABDAOUI K., MOULA D., OUENDI K., HAMADI N., OURAMDANE A., FREPOT B ET MELLOUK M., 2010** – Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus Fabricius* (Coleoptera: Bruchidae), *Int. J. Integ. Biol.* Vol. 10 (N°2). pp 86-89.
- **KIM, S., J. ROH, D. KIM, H. LEE ET Y. AHN., 2003** - Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *J. Stored Prod. Res.* 39. pp 293-303.

- **KISHORE G.K., PANDE S., HARISH S., 2007** - Evaluation of essential oils and their components for broad spectrum antifungal activity and control of late leaf spot and crown rot disease in peanut. *Plant disease*. Vol. 91. pp 375-379.
- **KOBAK SANDAK., RAYAUD C., NENONENE Y.A., MILLET J., CHAUMONT J.P., 2004** - Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon* sp. Africains vis-à-vis de germes pathogènes d'animaux de compagnie. *Ann. Méd. Vét.* 148. pp 202-206.
- **KRIEF S., 2003** - Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse de doctorat. Muséum National d'histoire naturelle. France.
- **LAGUNEZ-RIVERA L., 2006** - Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse.
- **LAMARTI A., BADOUC A., DEFFILEUX G., ET CARDE J.P., 1994** - Biogénèse des monoterpènes I-localisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 133. pp 69-78.
- **LAOUER H., 2004** - Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état. Département de Biologie. Faculté des sciences. UFA de Sétif.
- **LAWRENCE B.M., 1978** - *Essential oils 1976-1977*. Carol Stream, Illinois : Allured Publishing, 1978, 175 pages.
- **LAWRENCE B.M., 1990** - Progress in essential oils. Myrtle oil. *Perfum. Flavor.* 15 (3), 65-66.
- **LAWRENCE B.M., 1993** - Progress in essential oils: Myrtle oil. *Perfum. Flavor.*, 18 (2), 52-55.
- **LEE, S., PETERSON, C.J., COATS, J.R., 2002** - Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. *Journal of Stored Products Research*. 39 (1). pp 77-85.

- **LEPESME P., 1944** - Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels Entreposés. Collection : Encyclopédie entomologique, le chevalier. Paris. 335 p.
- **LEPIGRE A.L., 1966** - La désinsectisation des stocks de céréales. Ed. Off interprof, des céréales. Paris. 406p.
- **LUIGIA LONGO., ANNA SCARDINO., GIUSEP PE VASAPOLLO., 2007** - Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L. *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 8. pp 360–364.
- **LYDIE A., 2002** - Aromathérapie/ fiches individuelles des huiles essentielles. Article thym. *Documentation Florilab Aromathérapie*. [www.aromalves.com](http://www.aromalves.com).
- **MAHBOUBI M ET GHAZIAN BIDGOLI F., 2010** - In vitro synergistic efficacy of combination of amphotericin B with *Myrtus communis* essential oil against clinical isolates of *Candida albicans*. *Phytomedicine*. 17. pp 771-774.
- **MARIE ELISABETH LUCCHESI., 2005** - Extraction sans solvant assistée par Micro-ondes : Conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de la réunion. France.
- **MEJLHOLM O ET DALGAARD P., 2002** - Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. *Letters in Applied Microbiology*. 34. pp 27-31.
- **MENGA1 P., BEHN D., GIL M.B. ET MOMPON B., 1993** - VMHD: Extraction d'huile essentielle par micro-ondes, *Parfums, Cosmétiques, Arômes*, (114), pp. 66-67.
- **MOHAMMAD-TAGHI GOLMAKANI., KARAMATOLLAH REZAEI., 2008** - Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*. 109. pp 925–930.
- **MORALLO R.B ET TANTENGCO G.B., 1986** - «Biological activity offlowers extract as insecticides; NTSA Technology». *J EntamaI.*, II. pp 37-46.

- **NGAMO L. S. T., 2004** - A la recherche d'une alternative aux polluants naturels persistants. Bull. Info. Phytosanitaire n° 43.
- **OLDRICH L., KLEJDUS B., LADISLAV K., MICHAELA D., KHALED A., VLASTIMIL K., RICHARD H., 2005** - Biochemical systematics and Ecology 33. pp 983-992.
- **OLIVEIRA M.J., IANI F.P.C., OLIVEIRA C.B.A., SANTOS M.R., SOUZA P.S., SANTOS S.C., SERAPHIN J.C. AND FERRI P.H., 2005** – Influence of growth phase on the essential oil composition of *Hyptis suaveolens*. Biochemical Systematics and Ecology. 33. pp 275-285.
- **OUELHADJ A., BEDDAR K., DJENANE D., 2011** - Chemical composition and Antifungal activity of the *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus* essential oils of Mediterranean regions in laboratory medium and Strawberry fruit.
- **OXENHAM S.K., SVOBODA K.P., ET WALTERS D.R., 2005** - Antifungal activity of the essential oil of basil (*Ocimum basilicum*). Journal of phytoathology. Vol.153. pp174-180.
- **PALÀ-PAUL J., PEREZ-ALONSO M.J., VELASCO-NEGUERUEL A., PALA-PAUL R., SANZ J., AND CONEJERO F., 2001** - Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia L.ssp rosmarinifolia*. Biochemical Systematic and Ecology. 29. pp 663-672.
- **PANDEY, D. K., TRIPATHI N. N., TRIPATHI R. D., DIXIT S. N, 1982** - Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 89. pp 344-349.
- **PAPACHRITOS D.P., STAMPOULOS D.C., 2002** - Reppellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oils vapour on *Acanthoscelides obtecus* (Say) (Coleoptera : bruchidae). Journal of Stored Products Researchs. Vol.38, pp.117-128.
- **PARE J., 1997** - Procédé assisté par micro-ondes. Info-essences. Bulletin sur les huiles essentielles. 4. 4p.
- **PARIS ET MOYSE., 1967** – Matière médicale. Tome II. Masson & C<sup>ie</sup>. Paris. 447p.

- **PARIS M. ET HURABIELLE M., 1981** – Abrégé de matière médicale (pharmacognosie). Ed. Masson. 339p.
- **PAUL JOSÉ TEISSEIRE., 1991** - Chimie de substances odorantes. Ed. Lavoisier.
- **PENG H.Y., AND YANG X.E., 2005** - Volatile constituents in the flowers of *Elsholtzia argyi* and their variation : a possible utilization of plant resources after phytoremediation. *Journal of Zhejiang University Science*. 6B (2). pp 91-95.
- **PETER B. KAUFMAN., LELAND J. CSEKE., SARA WARBER., JAMES A. DUKE, HARRY L. AND BRIELMANN., 1999** - Natural products from plants. CRC press.
- **PEREZ E.E. ET LEWIS E.E., 2006** - Use of entomopathogenic nematodes and thym oil to suppress plan parasitic nematodes on English borwood. *Plant diseases*. Vol. 90. pp 471-475.
- **PHILOGENE B.J.R., REGNAULT C.R. ET VINCENT C., 2005** - Produits phytosanitaires, insecticides d'origine végétale, promesse d'hier et d'aujourd'hui in bioesticides d'origine végétales. Ed. Lavoisier et Intercept L.T.D. Paris. pp 1-15.
- **PIBIRI M. C., 2006** - Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat de la Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit. EPFL. Lausanne. 161p.
- **PLATZER N., 2002** - Application de la RMN à la détermination des structures. Base Documentaire, Techniques d'analyse. Dossier : P1092. Vol. TA1.
- **PORTER N., 2001** - Essential oils and their production. *Crop & Food Research*. Number 39.
- **PRADEAU D. ET DAUPHIN C., 2007** - Chromatographie planaire : applications. Bases documentaires : Techniques d'analyse. Vol. Papier n° TA2. 1476p.
- **PRATES, H.T, SANTOS, J.P. WAQUIL, J.M, FABRIS, J.D. AND OLIVEIRA, AB., 1998** - Foster J.E. Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* F. and *Tribolium castaneum* H. *J Stored. Prod. Res.* 34. pp 9-243.

- **QUEZEL P. ET SANTA S., 1963** – Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Centre National de la Recherche Scientifique. Paris. pp 566-1170.
- **RAHAL S., 2004** - Chimie des produits naturels et des êtres vivants. O.P.U. Edition. 162p.
- **RAI M.K., ACHARYA D. AND WADEGAONKAR P., 2003** - Plant derived-antimycotics : potential of Asteraceous plants. In: plant-derived antimycotics : Current Trends and Future prospects. Haworth press. N-York, Londin, Oxford. pp 165-185.
- **RECEP KOTAN., SABAN KORDALI., AHMET CAKIR., MEMIS KESDEK., YUSUF KAYA., HAMDULLAH KILIC., 2008** - Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea* DC. Ex Benth. *Biochemical Systematics and Ecology*. pp 1–9.
- **REGNAULT-ROGER C., 2005** - Molécules allélochimiques et extraits végétaux dans la protection des plantes in enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et environnement. Ed. Tec et doc. Paris. pp 625-650.
- **REGTNAULT-ROGER C., ET HAMRAOUI A., 1993** - Influence d'huiles essentielles aromatiques sur *Acanthoscelid.es obtectus* (Say.), bruche du haricot (*Phasoelusvulgans L.*) ACTABOT. Gallica. 140 (2). pp 217-222.
- **REGNAULT-ROGER C, HAMRAOUI A, HOLEMAN M, THERON E, PINEL R., 1993** - Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera : Bruchidae), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris L.*). *J.Chem. Ecol*, 19. pp 1233-1244.
- **REGNAULT-ROGER C., PHILOGENE B.J.R., FABRES G., 2005** - Enjeux phytosanitaires pour l’agriculture et l’environnement. Lavoisier Tec and Doc. Paris. 1013p.
- **RELINGER, L.M., ZETTLER, J.L., DAVIS. R ET SIMONAITIS, RA., 1988** - «Evaluation of pirimiphosmethyl as a protectant for export grain». *J. Eeon. Ent.* 81. pp 718-721.

- **RICHTER, G., 1993** - Métabolisme des végétaux (Physiologie et Biochimie). Presses polytechniques et universitaires romandes. Lansanne CH015.
- **ROULIER A ET ROULIER G., 2002** – Les huiles essentielles pour votre santé. Diffusion Ed. Dangles. 447p.
- **SAÏDANA D., BEN HALIMA-KAMEL M., MAHJOUB M.A., HAOUAS D., MIGHRI Z. & HELAL A.N., 2007** - Insecticidal activities of Tunisian halophytic plant extracts against larvae and adults of *Tribolium confusum* tropicultura. pp 193-199.
- **SALLÉ J.L., 1991** – Les huiles essentielles : synthese d’aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche. Paris. 167p.
- **SALLÉ J.L. ET PELLETIER J., 1991** - Les huiles essentielles, synthèse d’aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche. pp 19-45.
- **SAMIR A.M. ABDELGALEIL., MOUSTAFA A. ABBASSY., ABDEL-SALAM H. BELAL., MONA A.A. AND ABDEL RASOUL., 2008** - Bioactivity of two major constituents isolated from the essential oil of *Artemisia judaica* L. *Bioresource Technolog.* 99. pp 5947–5950.
- **SANTOS J. P., PRATES H. T., WAQUIL J. M., OLIVERA A., 1997** - Evaluation of plants origin substance on control of stored product pest. CNPMS, n° 19 (2/3), pp. 237-240.
- **SCHAUENBERG P. ET PARIS F., 1977** - Guide des plantes médicinales, analyse nouvelle. Paris, 41p.
- **SCHEFFER J.J.C., 1996** - Various methods for the isolation of essential oils. *Phytother. Res.* 10 : S6-S7.
- **SCHWEDT G., 1993** - Méthodes d’analyse. Ed. Flammarion.
- **SCHWOB I., BESSIERE J.M., MASOTTI V. AND VIANO J., 2004** - Changes in essential oil composition in Saint John’s wort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. *Biochemical Systematics and Ecology.* 32. pp 735-745.

- **SEFIDKON F., ABBASI K. JAMZAD Z. AND AHMADI S., 2007** – The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* jamzad. Food chemistry. 100. pp 1054-1058.
- **SELL C.S., 2006** - The Chemistry of Fragrance. From Perfumer to Consumer. 2<sup>nd</sup> edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. 329p.
- **SHAAYA E., KOSTJUKOVSKI M., EILBERG J., & SUKPRAKARN C., 1997** - Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored product insects. J. Stored Prod. Res. 33. pp 7–15.
- **SIRHA BABU S.P. AND SUKUL N.C., 1991** - Essential oils as nematocidal properties ; Environnement et Ecology. Vol. 4. pp 118-1120.
- **SOTO-MENDIVIL, E.A., J.F. MORENO-RODRIGUEZ, M. ESTARRON-ESPINOSA, J.A. GARCIA-FAJARDO AND E.N. OBLEDO-VASQUEZ., 2006** - Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*. e-Gnosis. Vol. 4.
- **SOYLU S., YIGITBAS H., SOYLU E.M., KURT S., 2007** - Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. Journal of applied microbiology. Vol. 103. pp1021-1030.
- **STEEFAN J.R., 1978** - Description et biologie .les insectes et les acariens des céréales stockées. Stored Prod. Pest control. Pont de la maye N°37. pp 209-210.
- **SVOBODA K. P., 2000** - Secretory structures of Aromatic and medicinal plant. Microscopix Publications. Powys. UK.4.
- **SVOBODA K. P. AND HAMPSON J. B., 1999** – Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. <http://www.csl.gov.uv/ienica/seminars/>
- **TAPONDJOU L.A., ADLER C., BOUDA H. & FONTEM D.A., 2003** - Bioefficacité des poudres et des huiles essentielles des feuilles de *Chenopodium ambrosioides* et *Eucalyptus saligna* à l'égard de la bruche du niébé, *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera, Bruchidae). *Cahier d'étude et de recherche francophones/Agricultures*. 12 (6). pp 401-407.

- **TAPONDJOU L.A., ADLER C., FONTEM D.A., BOUDA H AND REICHMUTH C., 2005** – Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. Journal of Stored Products Research. Vol. 41 (N°1). pp 91-102.
- **TEUGWA M. C., PIAM G., TANE P., AMVAM ZOLLO P. H., 2002** - Activité insecticide des extraits d'*Ageratum houstonianum*, de *Clausena anisata* et de *Croton macrostachyus* sur la bruche du niébé (*Vigna unguiculata* Walp.). FoodAfrica, p. 1-4.
- **TOUAIBIA M., 2011** – Contribution à l'étude de deux plantes médicinales : *Myrtus communis* et *Myrtus nivelli* Batt et Trab, obtenus in situ et in vitro. Mémoire de Magister en Biologie. Univ. Blida. Algérie. 175p.
- **TUNC I., BERGER B., ERLER F ET DAGLI F., 2000** – Ovicidal activity of essential oils from five plants against two-stored product insects. J. Stored Prod. Res. 36 (2). pp 161-168.
- **TUNL L. AND SAHINKAYA S., 1998** - Sensitivity of two greenhouse pests to vapors of essential oils. Entomol. Exp. Appl. Vol. 86. n°2. pp 183-187.
- **VALNET J., 1983** – Phytothérapie, traitement des maladies par les plantes. 2<sup>ème</sup> Ed. Maloine.
- **VALNET J., 1984** - Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. 10e Ed. Maloine S.A. éditeur. Paris p 544.
- **VAUSSELIN P., 2004** – Les huiles essentielles et la therapie par les huiles essentielles. Guide ressources. Vol. 9. n°6. pp 69-73.
- **VERRECK J., 2007** - Journées portes ouvertes à l'ISIA de Gembloux (Belgique).
- **VINCENT, C. ET CODERRE, D. (EDS), 1992** - *La lutte biologique*, Gaëtan Morin (Ed.). (Montréal) et Lavoisier Tech Doc. Paris. 671p.
- **VOLAK J. ET STODOLA J., 1983** - Plantes médicinales. Ed .Grund. Paris. 319 p.
- **YAHYAOUI N., 2005**- Extraction. analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *menthaspicata* L sur *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera,

- Bostrychidae) et *Tribolium confusum* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae). Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie. INA, El-Harrach. 95p.
- **YAKHLEF G., 2010** - Etude de l'activité biologiques de feuilles de *Thymus vulgaris* et *Laurus nobilis*. Thèse mag. Univ Batna. 110p.
  - **YAYI E., GBENOU J.D., AHOUSI L.A., MOUDACHIROU M. ET CHALCHAT J.C., 2004** - *Ocimum gratissimum* L., Siège de variations chimiques complexes au cours du développement. Comptes Rendus Chimie. 7 : pp 1013-1018.
  - **ZHELJAZKOV V.D., CRAKER L.E.AND XING B., 2005** - Effects of Cd, Pb and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint and basil. Environmental and experimental botany.