

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de BLIDA -1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie des Populations et Organismes

Mémoire de Fin d'Etudes en Vue de l'Obtention du Diplôme de  
Master 2 en Sciences Biologiques

*Option : Génomique et Biotechnologie Végétale*

*Thème*

---

**Essai d'applications de l'huile essentielle de la lavande  
papillon (*Lavandula stoechas* L.) sur ses activités biologiques  
(antimicrobienne et insecticide).**

---

Présenté par : KAIBOUCHE Nacera & LAISSAOUI Omar

Le : 30/06/2016 à 11 :00h

Devant le jury composé de:

Mme AYADI R.	MCB	Université Blida 1	Présidente
Mme BENMANSOUR N.	MAA	Université Blida 1	Examinatrice
Mme AMARA N.	MAA	Université Blida 1	Promotrice
Mr BOUKHATEM M.N.	MCA	Université Blida 1	Co-Promoteur

---

Année Universitaire : 2015-2016

## Remerciements

---

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et nos vifs reconnaissances à **Mme AMARA N.** pour avoir accepté de nous encadré et de diriger ce travail. Qu'elle trouve ici nos sentiments de gratitude et de reconnaissance.

Nous vifs remerciements à **Mr. BOUKHATEM M. N.** Qui a accepte de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire.

Nous tenons à remercier **Mme. AYADI R.** d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Notre remerciement s'adresse également à **Mme. BENMANSOURE N.** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons à remercier tous nos enseignants et nos collègues de Biologie et toutes personnes qui nous ont aidés de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**ATB** : Antibiotique

**ATF** : Antifongiques

**CRAPC** : Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques

**CG-SM** : Chromatographie Gazeuse-Spectromètre de Masse

**DZI** : Diamètre de Zone d'Inhibition

**PAM** : Plantes Aromatique et Médicinale

**PA** : principe actif

**HE** : Huile Essentielle

**ATCC**: American Type Culture Collection

**MH** : Muller-Hinton

**SAB** : Sabouraud additionné de Chloramphénicol

**GRAS** : Generally Recognized As Safe

**ECBU** : Examen Cytobactériologique des Urines

**INPV** : institut national de la protection des végétaux

## LISTE DES TABLEAUX

Titre	Page
<b>Tableau I.</b> Taxonomie de La lavande à toupet	06
<b>Tableau II.</b> Les principaux constituants des huiles essentielles du genre <i>L. stoechas</i>	09
<b>Tableau III.</b> Souches bactériennes utilisées pour le screening antibactérien <i>in vitro</i> de l'essence de <i>Lavandula stoechas</i> .	14
<b>Tableau IV.</b> Souches fongiques utilisées pour le screening antifongique <i>in vitro</i> de l'essence de <i>Lavandula stoechas</i> .	15
<b>Tableau V.</b> Propriétés organoleptiques de l'essence aromatique de <i>Lavandula stoechas</i> .	21
<b>Tableau VI.</b> Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i>	22
<b>Tableau VII.</b> Résultats de l'activité antibactérienne <i>in vitro</i> de l'essence aromatique de <i>Lavandula stoechas</i>	24
<b>Tableau VIII.</b> Résultats de l'activité antifongique <i>in vitro</i> de l'essence aromatique de <i>Lavandula stoechas</i>	28
<b>Tableau IX.</b> Efficacité de l'HE par contact vis-à-vis le puceron ( <i>Aphis spiraecola</i> )	Annexe
<b>Tableau X.</b> Efficacité de l'HE par contact vis-à-vis la mineuse de la tomate ( <i>Tuta absoluta</i> )	Annexe
<b>Tableau XI.</b> Efficacité de l'HE par contact vis-à-vis la coccinelle asiatique ( <i>Harmonia axyridis</i> )	Annexe
<b>Tableau XII.</b> Analyse de la variance du taux de la mortalité des adultes d' <i>Aphis spiraecola</i>	Annexe
<b>Tableau XIII.</b> Analyse de la variance du taux de la mortalité des larves de <i>Tuta absoluta</i>	Annexe
<b>Tableau XIV.</b> Analyse de la variance du taux de la mortalité des adultes d' <i>Harmonia axyridis</i>	Annexe
<b>Tableau XV.</b> Classification et cycle évolutif des trois insectes étudiés	Annexe

## LISTE DES FIGURES

Titre	Page
<b>Figure 1.1.</b> Illustration de la partie aérienne <i>Lavandula stoechas</i>	04
<b>Figure 1.2 :</b> Distribution géographique <i>Lavandula stoechas</i> en bassin méditerranéen	06
<b>Figure 2.1 :</b> Illustration de la méthode de microatmosphère	18
<b>Figure 2.2 :</b> Illustration de la méthode de l'aromatogramme	18
<b>Figure 2.3 :</b> Observation des trois insectes par la loupe binoculaire	19
<b>Figure 3.1 :</b> Profil chromatographique de l'essence aromatique de <i>Lavandula stoechas</i> .	23
<b>Figure 3.2 :</b> Résultats de l'activité antibactérienne de l'essence aromatique de <i>Lavandula stoechas</i>	26
<b>Figure 3.3 :</b> Résultats de l'activité antifongique de l'essence aromatique de <i>Lavandula stoechas</i>	30
<b>Figure 3.7 :</b> Cinétique de la mortalité des insectes ( <i>Aphis spiraecola</i> ) vis à vis l'HE	31
<b>Figure 3.8 :</b> Détermination de la DL50 et la DL90 de l'HE vis-à-vis les insectes d' <i>Aphis spiraecola</i> .	32
<b>Figure 3.9 :</b> Cinétique de la mortalité des insectes ( <i>Tuta absoluta</i> ) vis à vis l'HE	33
<b>Figure 3.10 :</b> Détermination de la DL50 et la DL90 de l'HE vis-à-vis les larves de <i>Tuta absoluta</i>	33
<b>Figure 3.11 :</b> Cinétique de la mortalité des insectes ( <i>Harmonia axyridis</i> ) vis à vis l'HE	34
<b>Figure 3.12 :</b> Détermination de la DL50 et la DL90 de l'HE vis-à-vis les adulte ( <i>Harmonia axyridis</i> )	35
<b>Figure 1 :</b> Test d'activité bio insecticide de l'HE contre les insectes d' <i>Aphis spiraecola</i>	Annexe
<b>Figure 2:</b> Test d'activité bio insecticide de l'HE contre les larves <i>Tuta absoluta</i> .	Annexe
<b>Figure 3 :</b> Test d'activité bio insecticide de l'HE contre les insectes d' d' <i>Harmonia axyridis</i> .	Annexe

# TABLE DES MATIERES

**Résumé**

**Liste des Abréviations**

**Liste des Figures**

**Liste des Tableaux**

**Introduction** 1

## **Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique**

1-1 Etude de la lavande	3
1.1.1. Historique	3
1.1.2. Description botanique	3
1.1.3. Etymologie et noms vernaculaires	4
1.1.4. Classification botanique	5
1.1.5. Origine et répartition géographique	6
1.1.6. Ecologie	7
1.1.7. Production et intérêt commercial	7
1.1.8. Usages	8
1.1.9. Huile essentielle de <i>Lavandula stoechas L.</i>	9
1.1.9.1. Composition chimique	9
1.1.9.2. Indications thérapeutiques de l'huile essentielle	10
1.1.9.3. Toxicité de l'huile essentielle	12

## **Chapitre 2: Matériel et Méthodes**

<b>2.1. Matériel</b>	13
2.1.1. Matériel biologique	13
2.1.2. Matériel non biologique	13
<b>2.2. Méthodes</b>	15
2.2.1. Étude analytique de l'huile essentielle	15
2.2.1.1. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle	15
2.2.1.2. Analyses chromatographiques de la fraction aromatique	15
2.2.2. Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle	17

2.2.2.1. Microatmosphère	17
2.2.2.2. Aromatogramme sur milieu solide	17
2.2.3. Evaluation du potentiel bio insecticide de l'huile essentielle	19

## **Chapitre 3 : Résultats et Discussion**

3.1. Etude analytique de l'huile essentielle	21
3.1.1. Caractéristiques organoleptiques	21
3.1.2. Détermination du profil chromatographique	21
3.2. Résultats de l'activité antimicrobienne en phase vapeur	24
3.3. Résultats de l'activité antimicrobienne en phase liquide	29
3.4. Activité bio insecticide de l'huile essentielle	34
<b>Conclusion</b>	36
<b>Références Bibliographiques</b>	38
<b>Annexe</b>	

## RESUME

Notre étude s'intéresse à valoriser la fraction aromatique d'une plante médicinale Algérienne, lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.), en aromathérapie anti-infectieuse, comme ingrédient actif dans la conservation des denrées alimentaires et comme bio insecticide.

L'extraction de l'essence aromatique de la partie aérienne fraîche de la plante a été effectuée à l'échelle industrielle par entraînement à la vapeur d'eau. L'huile essentielle (HE) analysée par Chromatographie Gazeuse-Spectrométrie de Masse contient le fenchone (39,23%) comme composé majoritaire, suivi par le Camphre (18,04%) et le 1.8 Cinéol (17,64%). Les autres composés sont présents avec un taux inférieur à 3%.

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'HE a été accomplie par deux méthodes (microatmosphère et aromatogramme), sur des germes microbiens (15 souches bactériennes et 04 souches fongiques). L'HE a présenté une activité antibactérienne majeure sur les souches de *Staphylococcus aureus* avec une inhibition totale (90 mm) a été constatée en aromatogramme pour la dose de 60µl d'HE par disque.

En microatmosphère, l'essence aromatique s'est avéré aussi un puissant fongicide car la majorité des souches testées ont été inhibées totalement. De plus, une action sur la majorité des bactéries à Gram+, a été notée.

L'essai bio insecticide a montré que l'HE de *Lavandula stoechas* a un effet biocide sur les trois insectes quelle que soit leurs stade de développement, surtout lorsqu'il est appliqué sous sa forme pure ; provoquant une mortalité de 100% après 48h d'exposition.

**Mots-clés :** lavande papillon ; *Lavandula stoechas* ; Microatmosphère ; Aromatogramme ; Fongicide ; Huile essentielle.

## ABSTRACT

Our study focuses on enhancing the aromatic fraction of a medicinal plant Algerian butterfly lavender (*Lavandula stoechas* L.), anti-infective aromatherapy, as active ingredient in the conservation of both food and bio insecticide.

The extraction of the aromatic essence of fresh aerial part of the plant was carried out on an industrial scale by stripping with water vapor. The essential oil (HE) analyzed by Mass Spectrometry Jovian-chromatography contains fenchone (39.23%) as the major component, followed by camphor (18.04%) and 1.8 Cineol (17.64%). The other compounds are present with a rate lower than 3%.

The study of the antimicrobial activity of the HE was accomplished by two methods (Vapour diffusion and Disc diffusion), a broad spectrum of microbial germs (15 bacterial strains and 04 fungal strains). The HE presented a major antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* strains with a complete inhibition (90 mm) was recorded in aromatogramme for 60µl dose of EO per disc.

Microatmosphere in the aromatic essence was as a powerful fungicide because the majority of the strains tested were inhibited completely. Furthermore, an action on the majority of Gram + bacteria, was noted.

The test bio insecticide showed that HE *Lavandula* has a biocidal effect on the three insects whatever their stage of development, especially when applied in its pure form; causing 100% mortality after 48h exposure.

**Keywords:** wild lavandula ; *Lavandula stoechas* ; Vapour diffusion ; Disc diffusion Fungal effect ; Essential oil.

# INTRODUCTION

---

Parmi les différents moyens à disposition pour empêcher un développement microbien, on peut citer les huiles essentielles (HE). Ces extraits de végétaux odorants font l'objet de nombreuses recherches scientifiques dans le domaine médical et ils ont démontré leur efficacité pour le traitement de nombreuses pathologies. Au contraire de la grande majorité des agents antimicrobiens utilisés pour la désinfection de l'air, ces substances ne sont pas ou sont peu toxiques (**Dung et al., 2008**).

La qualité microbiologique d'un aliment constitue l'une des bases essentielles de son aptitude à satisfaire la sécurité du consommateur. Un aliment, exposé à la détérioration par les bactéries, moisissures et les insectes peut diminuer ses caractéristiques sensorielles, nutritives et sanitaires (**Rozier et al., 1986**). Malgré l'amélioration des techniques de conservation des aliments, la nature des conservateurs alimentaires reste une des questions les plus importantes pour la santé publique. L'un des principaux problèmes de l'industrie agro-alimentaire est d'assurer une bonne conservation des aliments, (**Burt, 2004**).

Des quantités substantielles de denrées alimentaires stockées sont attaquées par des bactéries, des moisissures et des insectes dans le monde entier. En particulier dans les pays en voie de développement, les aliments stockés subissent des dommages sérieux, menant aux pertes économiques et au risque sanitaire (**Ownagh et al., 2010**). Par la suite, plusieurs conservateurs synthétiques ont été limités dans plusieurs pays, en raison de leurs effets toxicologiques indésirables à long terme, y compris la cancérogénicité (**Ho et al., 2009**). De même, la tendance actuelle des consommateurs à chercher une alimentation plus naturelle a incité la recherche, le développement et l'application de nouveaux produits naturels ayant des activités antimicrobiennes et bio insecticides dans le but de les utiliser comme alternatives aux conservateurs synthétiques dans le domaine des industries agroalimentaires. Les plantes aromatiques ont été traditionnellement employées pour l'assaisonnement et la prolongation de la durée de conservation des aliments (**Wang et al., 2010**). La plupart de leurs propriétés sont dues aux huiles essentielles produites par leur métabolisme secondaire (**Rozier et al., 1986**).

Ces huiles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison, d'une part, de leurs activités antimicrobiennes (**Dung et al., 2008**), d'autre part, la plupart sont classées dans la liste des substances GRAS (*Generally Recognized As Safe*), qui les rendent utiles en tant que conservateurs naturels dans les industries agroalimentaires (**Gachkar et al., 2007**).

## Introduction

Les HE peuvent être utilisées comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages ; Ces extraits contiennent des composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, soit des monoterpènes avec leurs phénols reliés, et des terpènes plus complexes, dont les sesquiterpènes (**Cseke et Kaufman 1999**).

Au cours des dernières années, l'exploitation économique des espèces du genre *Lavandula* a augmentée en raison de l'utilisation de leurs HE. Ces huiles peuvent être obtenues de plantes sauvages ou cultivées. Plusieurs travaux ont étudiés la composition chimique et l'activité biologique des huiles de lavande, mais peu de travaux en Algérie ont porté sur l'espèce (*Lavandula steochas* L). Ce qui nous a amenée à étudier cette plante.

L'intérêt que représentent les lavandes sauvages (*Lavandula steochas .L*) est qui trouvent des applications dans divers domaines, médical et agricole, nous a poussés à envisager des possibilités de valoriser l'essence végétale de cette plante à parfum, en vue d'offrir une alternative aux insecticides de synthèse.

L'objectif assigné à notre travail consiste à étudier la composition chimique de l'essence de la lavande, par chromatographie gazeuse couplé à une spectrométrie de masse.

L'évaluation des propriétés antimicrobiennes de cette essence a été déterminée, *in vitro*, sur des souches bactériennes et fongiques, en utilisant deux méthodes (microatmosphère et aromatoگرامme).

La détermination de l'efficacité bio insecticide de l'HE *in vitro* contre trois insectes, puceron "*Aphis speraecola*", la mineuse de la tomate "*Tuta absoluta*" et la coccinelle asiatique "*Harmonia axyridis*" à été menée.

### 1.1. Etude de la lavande

#### 1.1.1 Historique

Au cours des dernières années, l'exploitation économique des espèces du genre *Lavandula* a augmentée en raison de l'utilisation de leurs huiles essentielles. Ces huiles peuvent être obtenues de plantes sauvages ou cultivées. Au Moyen Âge, les pouvoirs désinfectants étaient reconnus et on en faisait des fumigations et des emplâtres destinés à combattre la peste (**Benabdelkader, 2012**).

A cette époque, on trouvait la lavande dans les jardins de monastères où, associée à d'autres plantes aromatiques et médicinales (PAM), elle était utilisée à but curative. Les plantes étaient d'ailleurs les seuls éléments de la pharmacopée (**Benabdelkader, 2012**).

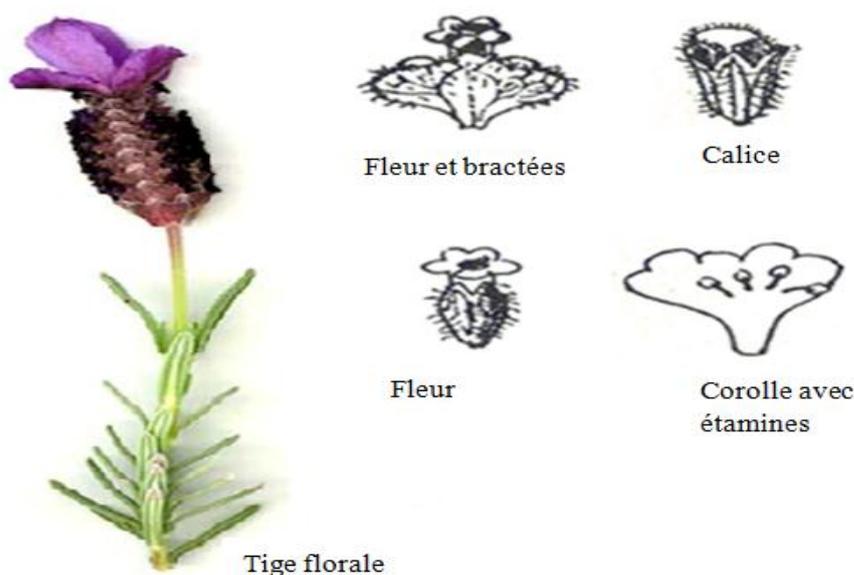
Le développement au XIII<sup>ème</sup> siècle des Facultés de Marseille et Montpellier (France) a joué un rôle important dans la connaissance des bienfaits des plantes locales et les recherches des universitaires s'appliquaient aux moyens d'en extraire les principes actifs (PA). On la retrouve citée dans de nombreux textes (**Gontard, 1940 ; Monge2013 ; Cassé, 2013**).

En 1952, les premiers essais de coupe mécanique et le développement des cultures de lavandin entraînent le déplacement des cultures. Dans le même temps, deux autres facteurs ont contribué à la diminution constante des surfaces cultivées en lavande : le développement de produit de synthèse et l'apparition d'une maladie encore mal expliquée : le dépérissement prématuré des plants qui affecte directement la durée de vie et la productivité des plantations. L'HE de lavande fine n'est plus utilisé dans les produits de grande consommation, où les produits de synthèse moins coûteux l'ont remplacée. Elle demeure irremplaçable dans les deux domaines prestigieux de son histoire : la parfumerie de luxe et la sphère médicale avec le développement de la phytothérapie et de l'aromathérapie (**Gontard, 1940 ; Monge2013 ; Cassé, 2013**).

#### 1.1.2. Description botanique

*stoechas* se présente sous la forme d'un arbrisseau ou d'un buisson très aromatique et très ramifié pouvant atteindre un mètre de haut avec une lourde odeur semblable à celle du pin. Les feuilles opposées de 2-4 cm de long sont sessiles, tomenteuses, oblongues, lancéolées, linéaires, étroites et recourbées sur les bords et sont souvent grises. Les inflorescences de coupe carrée sont sessiles, compactes et surmontées d'une couronne de bractées florales violettes, élargies, stériles,

obovales ou spatulées de 1 à 2 cm de longueur. Les bractées fertiles sont largement ovales, membraneuses, veinées et plus courtes que le calice. Le Calice est sessile, à treize nervures avec des lobes moyens modifiés en un appendice. La Corolle est de couleur violet foncée ou mauve (**Figure 1.1**), les stigmates sont capités. Le nombre de chromosomes dans tous les taxons étudiés est de  $2n = 30$  (**Chaytor, 1937**). Les fruits sont sans intérêt économique. Ils permettent cependant la production de graines, Le fruit est un akène plus exactement appelé "nucule" (**Chaytor, 1937**).



**Figure 1.1 . Illustration de la partie aérienne fleurie de *L. stoechas* (Benabdelkader, 2012).**

### 1.1.3. Etymologie et noms vernaculaires

Le mot lavande dérive du verbe « laver ». Il est peut être issu de l'italien lavando (action de laver). Cette étymologie laisse penser que très tôt la lavande a été utilisée pour parfumer le linge fraîchement lavé. Des sachets de fleurs séchées sont traditionnellement placés dans les armoires pour éloigner les mites et parfumer la garde-robe. Mais il est également possible que Lavandula et lavande soient tirés du latin « livere » (qui signifie "pour être bleuâtre") qui, en latin médiéval, a donné le terme *lavindula* (**Benabdelkader, 2012**).

Noms vernaculaires de *lavandula stoechas* selon (**Bellakhdar et al., 1997**).

Arabe : Halhal, astuhudus, meharga.

Berbère : Amezzir, timerza, imezzir.

Anglais : Spanish lavender (in America), lavender (in Europe), Italian lavender, top lavender

Français : lavande stoechade, lavande papillon, lavande stéchas, lavande à toupet.

### 1.1.4. Classification botanique

Le genre *Lavandula L.*, est composé d'environ 39 espèces, de nombreux hybrides et près de 400 cultivars enregistrés, Comme beaucoup de Lamiacées, les lavandes sont connues pour leurs HE riches en terpènes (Upson et Andrews, 2004).

Une des premières classifications modernes majeures du genre *Lavandula* se trouve dans "A Taxonomic Study of the Genus *Lavandula*" de Chaytor (1937). Sa révision reconnaît 28 espèces ainsi que de nombreux taxons infra-spécifiques répartis en 5 sections, *Stoechas*, *Spica*, *Subnuda*, *Pterostoechas* et *Chaetostachys*. Cependant, toutes les principales formes cultivées et commercialisées résident dans les sections *Stoechas* et *Spica*. Récemment, la classification phylogénétique du genre *Lavandula* a été réexaminée par Upson et Andrews (2004). Cette étude a conduit à reconnaître 39 espèces réparties en 3 sous-genres *Fabricia*, *Sabaudia* et *Lavandula* qui sont également divisés en sections qui se répartissent en différentes espèces. Par exemple, *Lavandula* comprend les sections *Lavandula*, *Dentatae* et *Stoechas* ; *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *L. lanata* représentent les différentes espèces. Cette organisation taxonomique a été réalisée sur la base de plus de 40 critères anatomiques mais aussi par une analyse phylogénétique basée sur la comparaison de séquences nucléaires (*Internal Transcribed Spacer* - séquence interne traduite). Le premier grand groupe génétique interne au genre *Lavandula* correspond au sous-genre *Lavandula*, et le second *Fabricia*. Le groupe *Sabaudia* est moins clairement isolé (statistiquement soutenu) ainsi que la section *Hasikenses* au sein du sous-genre *Fabricia*. Au sein du sous-genre *Lavandula*, les sous-clades correspondent aux sections existantes sauf la section *Dentatae* qui est devenue une section à part, indépendante de la section *Stoechas*. Au sein du sous-genre *Fabricia*, les sous-clades correspondent aux sections *Pterostoechas*, *Subnuda* et *Chaetostachys*. (Upson et Andrews, 2004).

Les noms latins des lavandes ne posent plus guère de problèmes, il n'en va pas de même avec les noms courants. La même lavande devient française, anglaise ou espagnole selon le pays où elle est classée (Small et Deutsch, 2001 ; Dupin et Festy, 2012). On distingue quatre espèces principales :

*L. angustifolia*, *L. stoechas*, *L. latifolia* et l'hybride *L. x intermedia*

La classification botanique de l'espèce *L. stoechas* (Upson et Andrews, 2004) est la suivante :

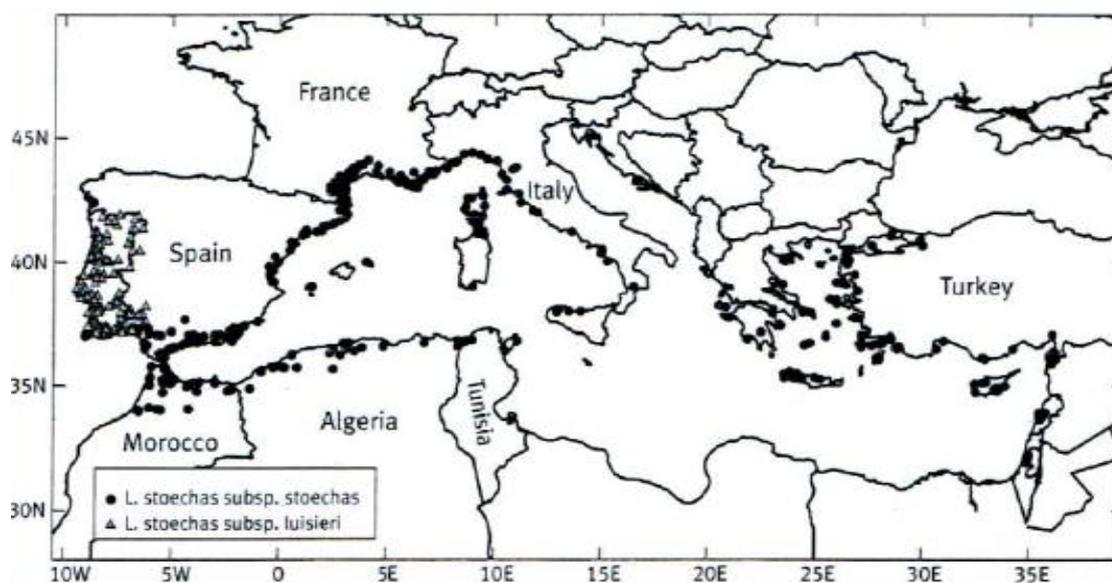
**Tableau I.** Taxonomie de La lavande à toupet

Règne	Plantae
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Nepetoideae
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula stoechas</i> L.

(Upson et Andrews, 2004)

### 1.1.5. Origine et répartition géographique

*Lavandula stoechas* a été historiquement la première lavande à être formellement décrite et dont le territoire géographique est le plus vaste. Elle est répandue dans tout le bassin méditerranéen (Europe méridionale, l'Afrique du Nord et le Moyen Orient) avec une petite disjonction sur la frontière Lybie-Egypte (**Figure 1.2**). Actuellement, elle a été introduite et est cultivée en Bretagne, Nouvelle Zélande et en Australie (Lis-Balchin, 2002 ; Lim, 2014).



**Figure 1.2.** Distribution géographique de *Lavandula stoechas* en bassin méditerranéen (Upson et Andrews, 2004).

### 1.1.6. Ecologie

La lavande papillon (*Lavandula stoechas*), est une plante originaire du bassin méditerranéen. C'est un arbrisseau aux feuilles persistantes, qui fleurit au printemps. Dans leur habitat naturel, les lavandes vivent sur des sols arides et calcaires ; en fait, elles s'accommodent aux divers types de sols, sauf de ceux qui seraient exagérément humides. Elle supporte d'ailleurs la sécheresse, les sols pauvres et les grands vents. Mais elle préfère les sols siliceux et les terrains acides. Elle tolère le froid jusqu'à -5°C. La floraison, plus précoce que chez les autres lavandes, se déroule d'avril à mai puis en automne (Peter, 2004 ; Lim, 2014).

### 1.1.7. Production et intérêt commercial

Commercialement, plus de 462 tonnes d'HE sont produites annuellement à partir d'espèces du genre *Lavandula* (Lawrence, 1992). La popularité persistante et la valeur commerciale de la lavande a été confirmée quand elle a été nommée « herbe de l'année 1999 » par le réseau de la culture et la commercialisation d'herbes médicinales, aromatiques et à parfum aux Etats-Unis d'Amérique. Leurs HE sont de haut intérêt économique dans les industries des parfums, des cosmétiques, des arômes agro-alimentaires, pharmaceutiques et de nos jours également dans l'aromathérapie (Lis-Balchin, 2002 ; Upson et Andrews, 2004). La proportion des principaux terpènes dans l'HE est un critère d'évaluation de la qualité de l'HE. Les teneurs relatives de ces substances jouent un rôle important dans le choix de telle ou telle variété par l'herboriste ou l'industriel (Lis-Balchin, 2002).

En 2009, les surfaces cultivées en France étaient de près de 15 000 ha pour le lavandin et 4000 ha pour la lavande, la production était d'environ 10 tonnes pendant le début des années 1980. *L.stoechas*, est de moindre importance comme source d'HE, mais avec ses hybrides, cette espèce est de plus en plus populaire en tant que plante ornementale (Peyton 1983 in Upson et Andrews, 2004). Des quantités limitées (moins de 1 tonne) de *L. stoechas* sont produites en Espagne à partir de plantes sauvages. L'HE, riche en fenchone, est principalement utilisé en aromathérapie.

La Bulgarie avec une production de 45 tonnes en 2010 et entre 55 à 60 tonnes en 2011 est devenue le premier producteur mondial de lavande avec 45 tonnes devant la France produisant de 25 à 30 tonnes à cette date. Les deux pays fournissent les trois quarts de la production internationale et entre 80% et 90% de l'huile essentielle de lavande bulgare est vendue en France (Upson et Andrews, 2004).

### 1.1.8 Usages

Les lavandes sont parmi les plantes médicinales les plus utilisées. Des preuves documentées de l'utilisation des lavandes comme agent thérapeutique remontent jusqu'aux anciens Romains, Grecs et Arabes (**Lis-Balchin, 2002 ; Dupin et Festy, 2012 ; Lim, 2014**). Les espèces du genre *Lavandula* sont aussi des plantes mellifères qui génèrent des miels de couleurs et odeurs propres à chaque espèce. Les fleurs de la lavande fine constituent des sources majeures de nectar pour les abeilles (**Guyot-Declerck, 2002**). De nombreuses plantes de lavande sont également vendues comme plantes ornementales pour les jardins populaires. Enfin, il a été mentionné que certaines lavandes sont aussi utiles dans l'agriculture biologique comme bio-insecticides. Elles constituent des cultures de choix dans les terres arides (**González-Coloma et al., 2006**).

Les fleurs de lavande, séchées, sont très résistantes et conservent leurs arômes très longtemps, les anciens utilisent la lavande dans l'eau du bain pour son parfum et ses propriétés antiseptiques et calmantes.

L'essence de lavande contient des composants différents selon les espèces, On l'obtient par distillation des sommités florales. C'est bien sûr la parfumerie qui fait le plus gros usage de la lavande on peut tout parfumer avec la lavande, depuis les savonnettes jusqu'aux détergents et au papier hygiénique. Dans les parfums proprement dits, la lavande est surtout réservée aux hommes, soit en soliflore dans les eaux de toilette, et dans les eaux de Cologne (**Lis-Balchin, 2002 ; Dupin et Festy, 2012 ; Lim, 2014**).

Bien que *L. stoechas* fût la première lavande à être utilisée en parfumerie, son HE est aujourd'hui délaissée en raison de son odeur fortement camphrée et de la concurrence importante des autres lavandes qui se prêtent mieux à la culture intensive et dont l'odeur est plus agréable. La forte teneur en camphre généralement observée limite ses applications en cosmétologie (**Monge, 2013**).

On peut faire infuser des fleurs de lavande dans du lait, utilisé ensuite pour la préparation de glace ou de crème à la lavande. Dans certaines régions du Maghreb, *Lavandula stoechas* est utilisée dans quelques préparations culinaires comme le couscous (**Benabdelkader, 2012**).

### 1.1.9. Huile essentielle de *Lavandula stoechas* L.

#### 1.1.9.1. Composition chimique

Les études sur la composition chimique des HE (**Tableau II**) des espèces du genre *Lavandula* montrent qu'elles sont plus riches en monoterpènes qu'en sesquiterpènes et que ces deux groupes de molécules constituent la majeure partie des HE. Les Etudes des constituants volatils des espèces de lavande ont révélé la présence de plus de 200 constituants chimiques, beaucoup d'entre eux étant présents sous forme de trace. Certaines espèces telles que *L. stoechas* synthétisent plus de 100 terpènes différents alors que d'autres espèces telle que *L. canariensis* expriment une diversité terpénique beaucoup plus faible. *L. stoechas* a été plus particulièrement étudiée du fait de son aire de répartition large et de son utilisation traditionnelle très ancienne. Globalement, les espèces du sous-genre *Lavandula* sont les plus étudiées à cause de l'intérêt commercial de leurs HE (**Upson et Andrews, 2004**)

**Tableau II.** Les principaux constituants des HE de l'espèce du genre *L. stoechas*

Sous-genre	Section	Espèce	Origine	Organe	Principaux constituants (%)	Références
<i>Stoechas</i>		<i>L. stoechas</i>	Corse (France)	-	fenchone (14-75) camphre (2-56) 1,8-cinéol (3-14) acétate de myrtényle (1-4)	Ristorcelli <i>et al.</i> (1998)
			Crète	Feuilles et fleurs	fenchone (44-48) 1,8-cinéol (5-16) camphre (4-6) acétate de myrtényle (2-9)	Skoula <i>et al.</i> (1996)
			Cherchel (Algérie)	Feuilles et fleurs	fenchone (31) camphre (22) <i>p</i> -cymène (6)	Dob <i>et al.</i> (2006a)
			Cagliari (Italie)	Fleurs, feuilles et tiges	fenchone (59-72) camphre (9-15) acétate de myrtényle (3-5)	Angioni <i>et al.</i> (2006)
			Australie	-	camphre (48) fenchone (21) 1,8-cinéol (9)	Moon <i>et al.</i> (2007)
			Kairouane (Tunisie)	Feuilles	fenchone (68.2) camphre (11.2) 1,8-cinéol + limonène (4.9)	Bouzouita <i>et al.</i> (2005)

(Benabdelkader, 2012)

#### 1.1.9.2. Indications thérapeutiques de l'huile essentielle de lavande

La lavande utilisée dans la médecine populaire qui la considérait comme tonique, résolvente et carminative. Ils la prescrivent pour lutter contre des infections pulmonaires (**Said, 1996**). En Crète,

l'infusion des feuilles est utilisée par des thérapeutes traditionnels comme spasmolytique, contre le diabète, les douleurs menstruelles féminines, les calculs rénaux, l'otite, l'hypertension, La plante est également utilisée comme antispasmodique dans les douleurs des coliques, expectorant, stimulant (**Giray et al., 2008**) Elle est appelée 'le balai du cerveau'. Elle est d'ailleurs utilisée sous forme de fumigation pour soigner "le mal des sinus" et pour les différentes maladies du système nerveux central, comme l'épilepsie et la migraine, la lavande a aussi des effets positifs sur les plaies, les infections urinaires, les maladies cardiaques et l'eczéma. Finalement, elle possède également des vertus analgésiques, sédatives, antiseptiques et antimicrobiennes (**Cavanagh et Wilkinson, 2002**).

L'HE de *L. stoechas* obtenu par entraînement à la vapeur d'eau ou par hydrodistillation des inflorescences ou de l'ensemble des parties aériennes de la plante a été utilisée comme remède contre les affections coliques et pulmonaires, pour soulager les maux nerveux de tête, les affections hépatiques et pour le nettoyage des plaies (**Gülçin et al., 2004**). Dans les hôpitaux français, on utilisait pendant plusieurs décennies des HE, dont celle de la lavande, pour désinfecter l'air et enrayer ainsi les infections microbiennes et fongiques. Ses nombreuses indications et son innocuité font de l'HE de lavande un des fleurons de l'aromathérapie moderne (**Lim, 2014**).

Récemment, La lavande y est utilisée comme relaxant (**Lis-Balchin et Hart, 1999**). Les aromathérapeutes considèrent l'HE de lavande comme la plus bénéfique, avec des cultivars sauvages cultivés à haute altitude. La preuve scientifique est encore manquante pour un possible effet de détente générale après une inhalation (**Lis-Balchin, 2002**). L'HE de lavande est antiseptique et bactéricide. Appliquée pure sur la peau elle soulagerait les brûlures et les piqûres d'insectes. Appliquée sur les tempes, elle soulagerait les douleurs migraineuses. On attribue à la variété latifolia un effet apaisant lors de crises de dermatite atopique (**Rhind et Pirie, 2012**).

En Algérie, *L. stoechas* est très connue sous le nom local "Helhal". Elle est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays. Dans la médecine populaire algérienne, les parties aériennes, surtout les inflorescences, sont utilisées comme un agent antiseptique et stimulant (**Benabdelkaser, 2012**).

Dans le domaine clinique, plusieurs recherches ont été menées pour asseoir le bien fondé de l'utilisation de l'essence de lavande. Les principales études concernent principalement le système nerveux. En voici quelques exemples de ces études :

**Anxiété, agitation :** L'HE de lavande est utilisée pour traiter l'anxiété et l'agitation fait l'objet d'un nombre croissant d'essais cliniques (Woronuk *et al.*, 2011). Diffusée dans l'air ou appliquée sur la peau par massage, elle a permis de diminuer l'agitation et l'agressivité de personnes âgées souffrant de démences (Motomura *et al.*, 2001 ; Holmes *et al.*, 2002 ; Lin *et al.*, 2007). Plusieurs études mentionnent également que la lavande atténue l'anxiété de personnes exposées, volontairement ou pas, à une situation génératrice de stress : isolement volontaire (Motomura *et al.*, 2001), admission aux soins intensifs, attente ou suite d'une intervention médicale (Buckle, 1993 ; Braden *et al.*, 2009).

Ainsi, des chercheurs asiatiques ont constaté que l'HE de lavande réduit la pression sanguine et certains marqueurs physiologiques du stress (taux de cortisol) (Toda et Morimoto, 2008 ; Shiina *et al.*, 2008 ; Hoya *et al.*, 2008 ; Field *et al.*, 2008). Par ailleurs, administrée par voie orale sous forme de gélules (Silexan<sup>®</sup>), l'HE de lavande a permis d'améliorer le sommeil ainsi que la condition mentale et physique de volontaires souffrant de troubles anxieux (Kasper *et al.*, 2010). En cela, elle a fait aussi bien que le lorazépam, un médicament de la famille des benzodiazépines, habituellement prescrit dans le traitement de l'anxiété (Woelk et Schläfke, 2010).

**Insomnie :** Des études, *in vitro* et sur des animaux ainsi que quelques essais cliniques préliminaires, tendent à valider l'usage traditionnel de la lavande, pour favoriser un bon sommeil ou traiter l'insomnie (Lewith *et al.*, 2005), que celle-ci soit associée ou non à des symptômes de dépression. Un bain parfumé à l'HE de lavande a aussi réduit l'agitation et favorisé le sommeil profond de bébés par rapport à un bain non parfumé (Field *et al.*, 2008). La diffusion d'HE de lavande a également augmenté la concentration de jeunes adultes soumis à une série de tests informatisés. L'effet a été observé au cours des séances de l'après-midi, une période plus propice à la somnolence (Sakamoto *et al.*, 2005).

**Réduction de la douleur :** Les résultats d'essais, *in vitro* et d'études sur des animaux, démontrent que la lavande a des propriétés antispasmodiques et légèrement anesthésiques (Lis-Balchin et Hart, 1999 ; Ghelardini et Galeotti, 1999). Au cours d'études cliniques préliminaires, la lavande, souvent combinée à d'autres HE (en massage, en diffusion ou en inhalation), a soulagé des patients souffrant de diverses douleurs : douleur à l'épaule à la suite d'un accident vasculaire (Shin et Lee, 2007), cancer en phase terminale, douleur après une laparoscopie (Kim *et al.*, 2007) et douleur au cours d'un changement de pansements (Kane *et al.*, 2004). La lavande, utilisée en bain de pieds et au cours de traitements de réflexologie a réduit la fatigue extrême dont souffraient des patients atteints de cancer en phase terminale (Kohara *et al.*, 2004).

La Commission Européenne a approuvé l'usage interne de la lavande, en infusion et en HE, pour le traitement de l'agitation et de l'insomnie ainsi que pour les troubles digestifs d'origine nerveuse (dyspepsie, malaises intestinaux, ballonnements, etc.). Elle a également approuvé son usage externe, en balnéothérapie, pour le traitement des troubles fonctionnels de la circulation sanguine.

### 1.1.9.3. Toxicité de l'huile essentielle

*Lavandula stoechas* à une faible toxicité et des HE non diluées peuvent être utilisées pour traiter certaines brûlures et avoir des effets bénéfiques sur la cicatrisation. Cependant, des cas de dermatite allergique après contact direct avec la peau ont été rapportés (**Lis-Balchin, 2002**).

### 3.1. Etude analytique de l'huile essentielle

#### 3.1.1. Caractéristiques organoleptiques

Les résultats du contrôle des paramètres organoleptiques de l'HE de *Lavandula stoechas* sont colligés dans le **Tableau V**. Ces paramètres sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes (AFNOR 2000).

**Tableau V.** Propriétés organoleptiques de l'essence aromatique de *Lavandula stoechas*.

Caractéristiques Organoleptiques	Résultats	Normes AFNOR (2000)
<b>Aspect</b>	Liquide mobile	Liquide mobile, limpide
<b>Couleur</b>	Jaune	Jaune clair
<b>Odeur</b>	Caractéristique, agréable, rappelant l'odeur des sommités fleuries, légèrement camphrée	Odeur caractéristique de lavande, très légèrement camphrée

La détermination des propriétés organoleptiques est une étape nécessaire de vérification et de contrôle de la qualité, mais demeure insuffisante pour caractériser l'HE. Il sera primordial de déterminer le profil chromatographique de cette fraction aromatique.

#### 3.1.2. Détermination du profil chromatographique de l'huile essentielle

Les résultats de l'analyse chromatographique (**Tableau VI** et **Figure 3.1**) rapportent, dans l'ordre d'élution, la composition qualitative et quantitative de l'essence de lavande papillon. Au total, vingt-huit (28) composés ont été détectés. Pour l'identification, nous avons d'abord calculé leurs Indices de Rétention (IR) ; ensuite nous les avons comparés à ceux de la littérature.

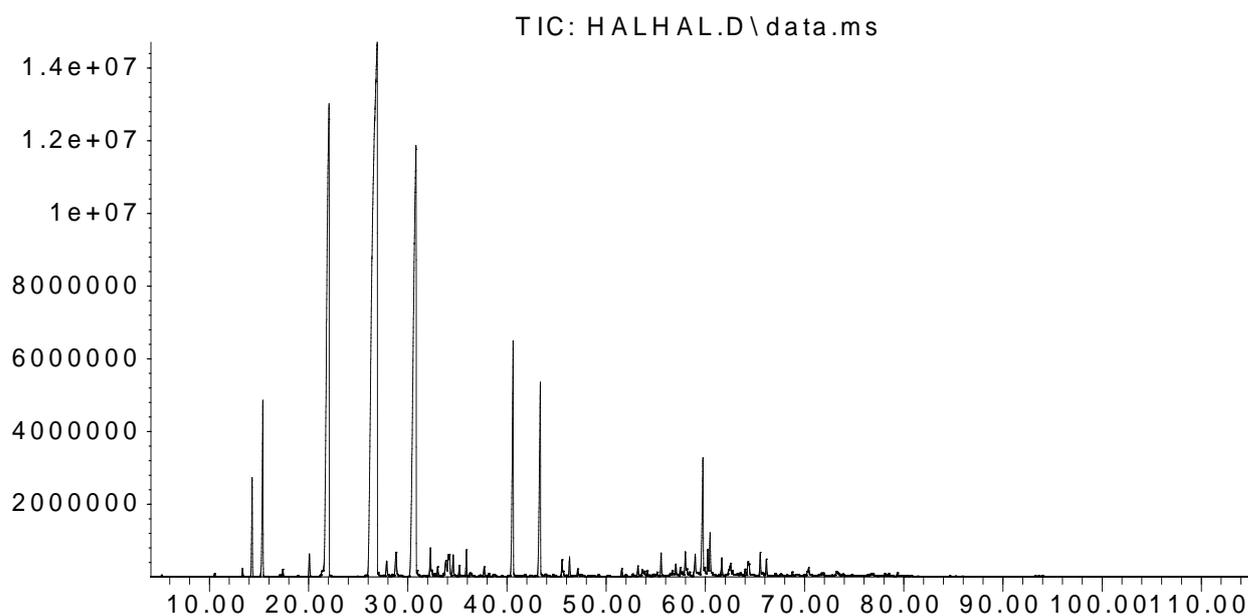
**Tableau VI.** Composition chimique de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* par CG-SM.

N°	Composés	%	RI
1	Pinene <Alpha->	1.15	926
2	Camphene	2.36	951
3	Pinene <Beta->	0.12	974
4	Carene<Delta-3->	0.30	1014
5	<b>1,8 Cineol (Eucalyptol)</b>	<b>17.64</b>	1088
6	<b>Fenchone</b>	<b>39.23</b>	1091
7	Linalool	0.28	1098
8	Fenchol <exo->	0.47	1117
9	<b>Camphre</b>	<b>18.04</b>	1149
10	Borneol	0.53	1173
11	Terpin-4-ol	0.14	1184
12	P Cymen-8-ol <Para->	0.70	1186
13	Verbenone	0.15	1207
14	Fenchyl acetate <exo->	0.32	1236
15	Carvone	0.15	1245
16	Borneol acetate	3.97	1285
18	Cyclosativene	0.30	1356
19	Copaene<alpha->	0.24	1368
20	Selinene <Beta->	0.14	1485
21	Calamenene<Cis->	0.31	1521
23	Caryophyllene oxide	0.46	1570
24	Veridiflorol	2.17	1565
25	Ledol	0.37	1590
27	Cadinol <Alpha->	0.41	1653
28	Cadalene	0.36	1674

IR : Indice de Rétention calculé sur une colonne apolaire (HP5-MS)

A la lecture des résultats, il apparait clairement que le fenchone représente le composé majoritaire de l'essence du lavande papillon avec un taux de 39,23%, suivi par le Camphre (18,04%) et le 1.8 Cinéol (17,64%) encore appelé Eucalyptol. Les autres composés sont présents avec un taux inférieur à 3%. D'un point de vue biochimique, la famille des monoterpènes oxygénés, représentée par les alcools et leurs esters, est la plus abondante avec un taux supérieur à 70%.

Abundance



Time-->

**Figure 3.1.** Profil chromatographique de l'essence aromatique de *Lavandula stoechas*.

Les études des constituants volatiles des espèces de lavande ont révélé la présence de plus de 200 constituants chimiques, beaucoup d'entre eux étant présents sous forme de traces. Certaines espèces telles que *L. stoechas* synthétisent plus de 100 terpènes différents alors que d'autres espèces telles que *L. canariensis* expriment une diversité terpénique beaucoup plus faible. *L. stoechas* a été plus particulièrement étudiée du fait de son aire de répartition large et de son utilisation traditionnelle très ancienne (Cavanagh et Wilkinson, 2006, Benabdelkader, 2012).

Dans une autre étude réalisée sur quatre populations sauvages de *L. stoechas* de la Crète (Skoula *et al.* 1996), les auteurs ont montré que les principaux constituants des HE sont alternativement, ou en combinaison le fenchone, le camphre, le 1,8-cinéol, l' $\alpha$ -pinène et l'acétate de myrtényle. Par ailleurs, alors que le fenchone était un élément majeur de l'HE de toutes les quatre populations, trois étaient également riches en camphre et la quatrième en 1,8-cinéol. Pour notre échantillon, l'essence analysée de la lavande à papillon paraît être de **chénotype fenchone**, avec la présence d'un 2<sup>ème</sup> composé majoritaire, le camphre et le 1.8-cinéol. Dans une autre étude (Gören *et al.* (2002), l'HE d'une *L.stoechas* originaire de Turquie, se caractérisait plutôt par un profil jamais retrouvé et ayant une forte teneur en pulégone (40.4 %), menthol (18.1 %) et menthone (12.6 %), en parallèle avec une absence totale de fenchone et de camphre.

### 3.2. Résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE en phase liquide

L'activité antibactérienne de l'essence aromatique de *Lavandula stoechas* effectuée par deux méthodes différentes et complémentaires (aromatogramme et microatmosphère) a été réalisée sur plusieurs souches microbiennes. Au total, 06 bactéries à Gram + et 09 à Gram- ainsi que quatre 04 champignons (03 levures et 01 moisissure) ont été utilisées lors de ce screening. Les résultats de ce test antimicrobien sont rapportés dans les **Tableaux VII** et **VIII**. A noter que le diamètre du disque (9 mm) a été inclus dans le calcul du Diamètre de la Zone d'Inhibition (DZI).

**Tableau VII .** Résultats de l'activité antibactérienne *in vitro* de l'essence aromatique de *Lavandula stoechas* en comparaison avec les antibiotiques

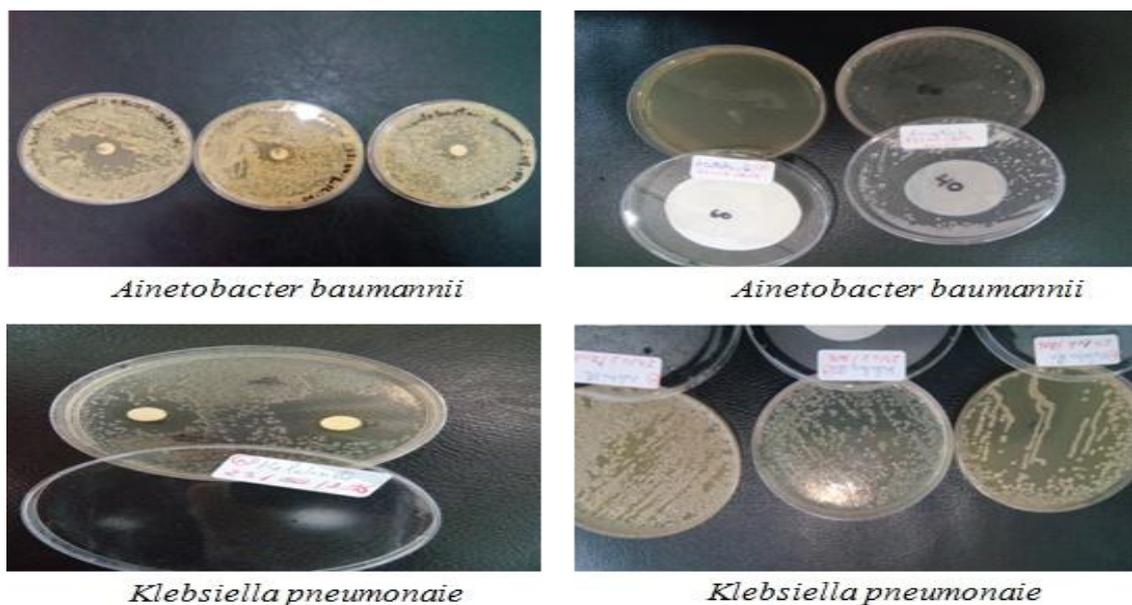
	Méthode utilisée			
	Aromatogramme		Microatmosphère	
	Quantité Huile Essentielle (µL/disque)			
	20	60	20	60
<b>Souches Gram-</b>				
<i>Escherichia coli</i> (Ec1)	15	26	-	30
<i>E. coli</i> (Ec 2)	20	35	12	35
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	30	65	30	55
<i>Proteus mirabilis</i>	18	35	-	-
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	12	25	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i>	20	30	45	90
<i>Citobacter freundii</i>	-	-	20	48
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	24	-	45
<i>Salmonella typhi</i>	-	16	-	-
<b>Souches Gram+</b>				
<i>Bacillus cereus</i>	28	60	15	36
<i>Staphylococcus aureus</i> (Sa1)	22	45	20	65
<i>S. aureus</i> (Sa2)	20	80	55	90
<i>S. aureus</i> (Sa3)	24	80	50	90
<i>S. saprophyticus</i>	14	24	-	-
<i>Streptococcus</i> sp. (β-hémolytique)	-	25	-	30

(-) : aucune zone d'inhibition

### Chapitre 3 : Résultats et discussion

A la lecture des résultats obtenus lors de ce screening antibactérien par aromagramme, il apparaît clairement qu'à la plus faible dose, *Klebsiella pneumoniae* est l'espèce la plus sensible à l'action inhibitrice de l'HE avec un DZI égal à 30 mm, suivi par *E. coli* (Ec 3) (20mm) et *Proteus mirabilis* (18 mm). Cette action bactériostatique a été enregistrée pour les souches à Gram-. De plus et avec le dosage le plus élevé (60 µl), *Klebsiella Pneumoniae* demeure toujours est la souche la plus sensible à l'action inhibitrice de l'HE avec un DZI de l'ordre de 65 mm, suivi par *E. coli* (Ec 3) et *Proteus mirabilis* (35mm).

Pour les bactéries à Gram +, de faibles valeurs de DZI ont été obtenues pour la plus faible dose (20 µL), ne dépassant pas la valeur de 28 mm pour *Bacillus cereus* et 24 mm pour *Staphylococcus aureus* (Sa2). De plus et avec la quantité la plus élevée (60 µL), deux espèces bactériennes à savoir *Staphylococcus aureus* (Sa2) et *S. aureus* (Sa3) ont été inhibées totalement en aromagramme, suivi par *Bacillus cereus* (60 mm) et *Staphylococcus aureus* (Sa1) (45 mm).



**Figure 3.2.** Résultats de l'activité antibactérienne de l'essence aromatique de *Lavandula stoechas* (Originale, 2016).

Nous avons remarqué qu'il existe une certaine différence de sensibilité entre les bactéries à Gram+ et à Gram-. Ceci est en totale adéquation avec la majorité des travaux antérieurs (Tepe et al., 2005). Ces derniers confirment que les Gram+ sont plus sensibles à l'action antimicrobienne de l'HE que les Gram-. En fait, les Gram- possèdent une résistance intrinsèque aux agents biocides, qui est en relation avec la nature de leur paroi. L'espace périplasmique est rempli d'enzymes qui dégradent les

substances complexes pour qu'ils puissent traverser la membrane cytoplasmique, et inactivent les produits chimiques toxiques (ATB, métaux lourds, HE,...) (Burt, 2004).

Les résultats de notre screening antimicrobien semblent être en accord avec d'autres travaux indiquant que les HE de population non-algériennes de *L. stoechas* possèdent également des activités antiseptiques (Benabdelkader, 2012). Il a été rapporté que l'huile volatile de lavandes sauvages, en provenance de Tunisie, a une activité antibactérienne vis-à-vis des *Staphylococcus aureus* (Bouzouita et al., 2005). De même, des activités antibactériennes ont été signalées pour l'HE de *L. stoechas* sauvage de Turquie (Gören et al., 2002). Récemment, plusieurs publications scientifiques ont mis en exergue les propriétés inhibitrices de plusieurs espèces du genre *Lavandula*, en particulier vis-à-vis de *Aspergillus nidulans* et *Trichophyton mentagrophytes* (Moon et al., 2009). Cependant, la comparaison de l'efficacité des extraits aromatiques, ou des constituants individuels, à travers les différentes publications, reste difficile à établir. Cette difficulté réside dans le fait que les paramètres expérimentaux (méthodes employées, conditions physiologiques des germes, dose utilisée) diffèrent entre les études.

Pour les résultats obtenus en aromatoigramme, les souches fongiques demeurent les plus sensibles à l'action inhibitrice de l'essence aromatique *in vitro*. *Candida albicans* est l'espèce la plus sensible à l'action inhibitrice de l'HE avec un DZI égal à 45 mm, suivi par *Saccharomyces cerevisiae* (Sc1), *Saccharomyces cerevisiae* (Sc2) (30mm) et *Aspergillus braziliensens* (20 mm).

**Tableau VIII.** Résultats de l'activité antifongique *in vitro* de l'essence aromatique de *Lavandula stoechas* en comparaison avec des antifongiques.

Souches	Méthode utilisée			
	Aromatogramme		Microatmosphère	
	Quantité HE (µL/disque)			
	20	60	20	60
<i>Candida albicans</i>	24	45	24	90
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Sc1)	18	30	35	90
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Sc2)	15	30	00	55
<i>Aspergillus braziliensens</i>	12	20	–	70

Beaucoup de chercheurs ont confirmé la présence de l'activité antifongique des métabolites terpéniques des lavandes. Nos résultats sont en concordance avec ceux de plusieurs travaux antérieurs (**Lis-Balchin, 2002 ; Zuzarte et al., 2013**). Le mécanisme d'action des extraits aromatiques sur les souches fongiques n'a pas été totalement élucidé. Cependant, certaines études soulignent que l'action antifongique de ces substances terpéniques est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci, entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (**Cox et al., 2000**). La lyse des cellules de levure a été montrée par la libération de substances absorbant à 260 nm (**Chami et al., 2005**).

L'activité antibactérienne des HE ainsi que leur mode d'action sont directement influencés par la nature et la proportion de leurs constituants qui entrent dans leur composition. Les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antibactérienne observée (**Dorman et Deans, 2000**). En effet, il est admis que l'activité antimicrobienne des HE se classe dans l'ordre décroissant selon la nature de leurs composés majoritaires: phénols > alcools > aldéhydes > cétones > oxydes > hydrocarbures > esters (**Dorman et Deans, 2000**).

Dans notre étude, la composition de l'HE utilisée est dominée par la présence de fenchone, camphre, et 1,8-cinéol qui sont réputés comme des composés terpéniques ayant un pouvoir antimicrobien (**Dorman and Deans, 2000**).

Le travail mené par (**Dorman et Deans, 2000**), les alcools terpénoïdes ont montré une activité contre les germes testés, en agissant comme des agents dénaturant les protéines ou des agents déshydratants. Les alcools sont d'ailleurs reconnus pour exercer un effet plutôt bactéricide que bactériostatique (**Dorman et Deans, 2000**).

Dans une autre étude, c'est le linalool qui s'est montré le plus efficace avec l'inhibition de 17 bactéries. Il était suivi par le cinéole et le géraniol (chacun d'eux inhibant 16 bactéries), puis par le menthol et le citral qui ont inhibé respectivement 15 et 14 bactéries (**Pattnaik et al., 1997**). De ce fait, le pouvoir antimicrobien de l'essence de la lavande pourra être relié, sans doute, à son profil biochimique caractérisé par la prédominance des composés oxygénés (90%) (**Cavanagh et Wilkinson, 2002**).

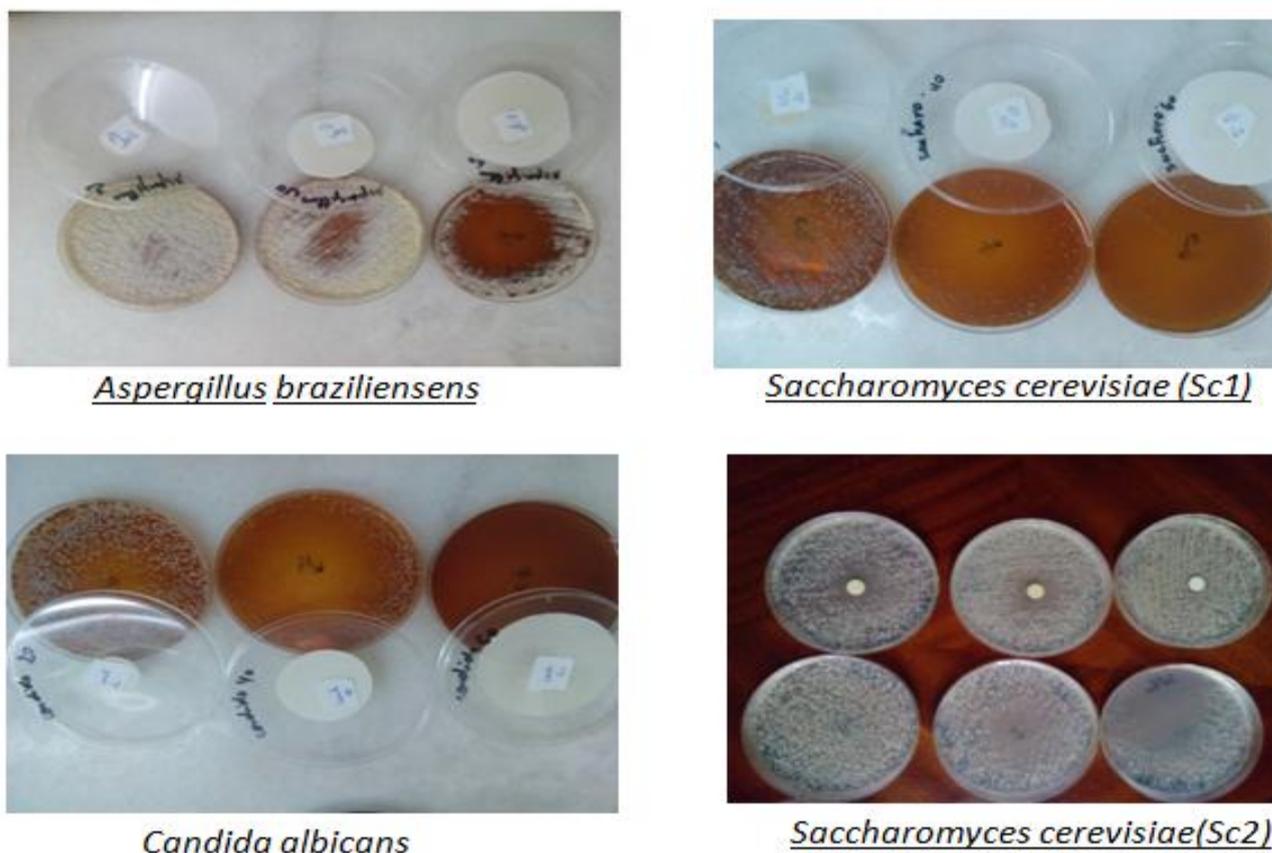
### 3.3. Résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE en phase vapeur

D'après les résultats obtenus en microatmosphère, nous avons remarqué que *Staphylococcus aureus* (Sa3), est la souche la plus sensible à l'action inhibitrice de la phase vapeur de l'essence de lavande avec un DZI de l'ordre de 55 mm pour la plus faible dose, suivie par *S. aureus* (Sa2) 50 mm

et *S. aureus* (Sa1) 20 mm (**Tableau VII**). Un pouvoir antibactérien de la phase vapeur de l'essence a été remarquée pour les bactéries à Gram +. Par ailleurs, une inhibition totale a été enregistrée avec certains staphylocoques pathogènes.

Concernant les bactéries à Gram -, les DZI obtenus ne dépassent pas, dans les meilleurs des cas, une valeur de 45 mm pour *Acinetobacter baumannii* avec la plus faible dose, suivi par *Klebsiella Pneumoniae* (30 mm). De plus et avec le dosage le plus élevé (60 µl), l'espèce bactérienne *Acinetobacter baumannii* a été inhibée totalement en microatmosphère, suivi par *Klebsiella Pneumoniae* (55mm) et *Citobacter freundii* (48mm). Ces résultats semblent être différents de ceux obtenus en aromatoigramme. En outre, les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi* ont manifesté une résistance totale à l'action inhibitrice de la phase vapeur. Par ailleurs, les meilleurs résultats obtenus en phase vapeur demeurent, sans conteste, ceux du pouvoir antifongique de l'essence de lavande (**Tableau VIII**). Les levures *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae* (Sa1) ont été inhibées totalement en microatmosphère, suivie par *Aspergillus braziliensis* (70 mm) et *Saccharomyces cerevisiae* (Sa2) (55mm).

Le mode d'action fongicide des HE a été abordé par quelques études qui sont arrivées à la conclusion que ce mécanisme se manifeste par une altération de la membrane plasmique de la cellule fongique (**Cox et al., 2001**).



**Figure 3.3.** Résultats de l'activité antifongique de l'essence aromatique de *Lavandula stoechas* (Originale, 2016).

En thérapie, l'essence de lavande pourra trouver une place comme désinfectant atmosphérique en milieu hospitalier afin de lutter contre les infections nosocomiales et les contaminations aéroportées, ainsi que pour le contrôle de l'hygiène de l'air. Bien conduite, la diffusion atmosphérique devient un procédé idéal visant à la protection et à la prévention contre les infections nosocomiales et les pathologies hivernales (De Billerbeck, 2002 ; Laird et Phillips, 2012). Rappelons pour mémoire que ce sont les médecins, « parfumeurs et fumigateurs », qui ont été chargés de la désinfection des locaux et de l'hygiène hospitalière au XVIII<sup>ème</sup> siècle. En plus de leurs actions bactéricide et fongicide, les essences de lavande ont la particularité d'avoir des effets psychophysiologiques bénéfiques (Lis-Balchin, 2002).

Les résultats que nous avons obtenus sont très prometteurs pour l'utilisation de l'essence de la lavande comme principe actif, dans des préparations galéniques à visée thérapeutique, ou pour lutter contre les infections microbienne et fongique. Ces résultats obtenus *in vitro* sont très encourageants pour une éventuelle application *in vivo*, voire même dans une matrice alimentaire.

3.6. Activité bio insecticide de l'HE (par contact-inhalation)

- Sur les pucerons *Aphis spiraecola* (adultes)

A la lecture des résultats obtenus pour les insectes adultes *Aphis spiraecola* (La Figure 3.7, Tableau IX - Annexe), il apparaît que l'HE a provoqué un pourcentage de mortalité allant de 21,46 à 100% au bout de 48h d'exposition de la plus faible dose à la plus forte dose (de 20µl à la dose pure). Ces mortalités se sont échelonnées dans le temps. En effet au bout de 48h elle passe de (1,67 à 21.46%), (5,59 à 57,66%), (7,25 à 87,11%), (9,5 à 100%) respectivement pour les quatre doses (20,40,80µl et pure).

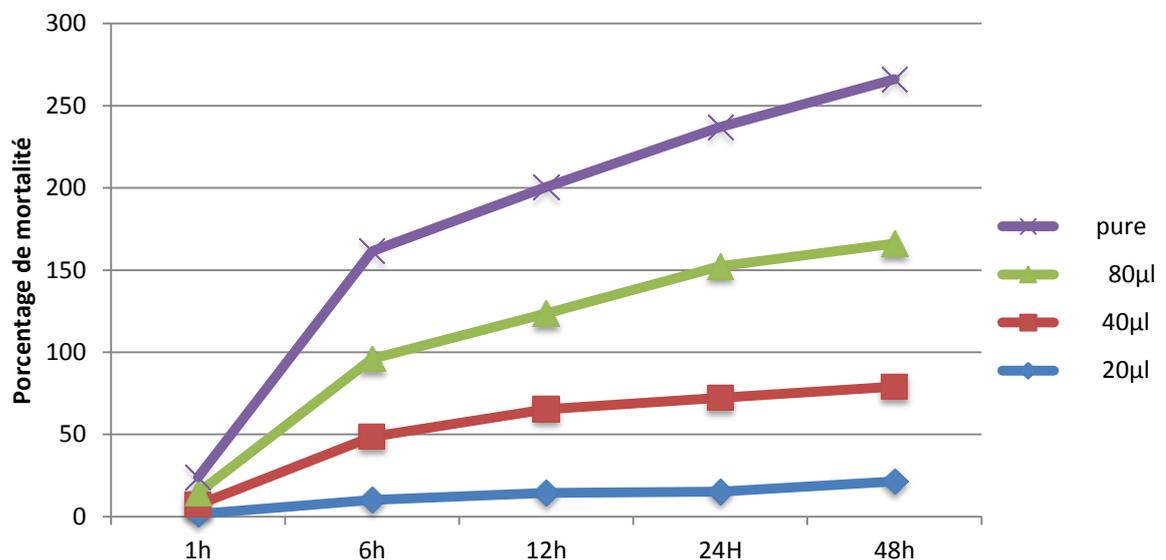
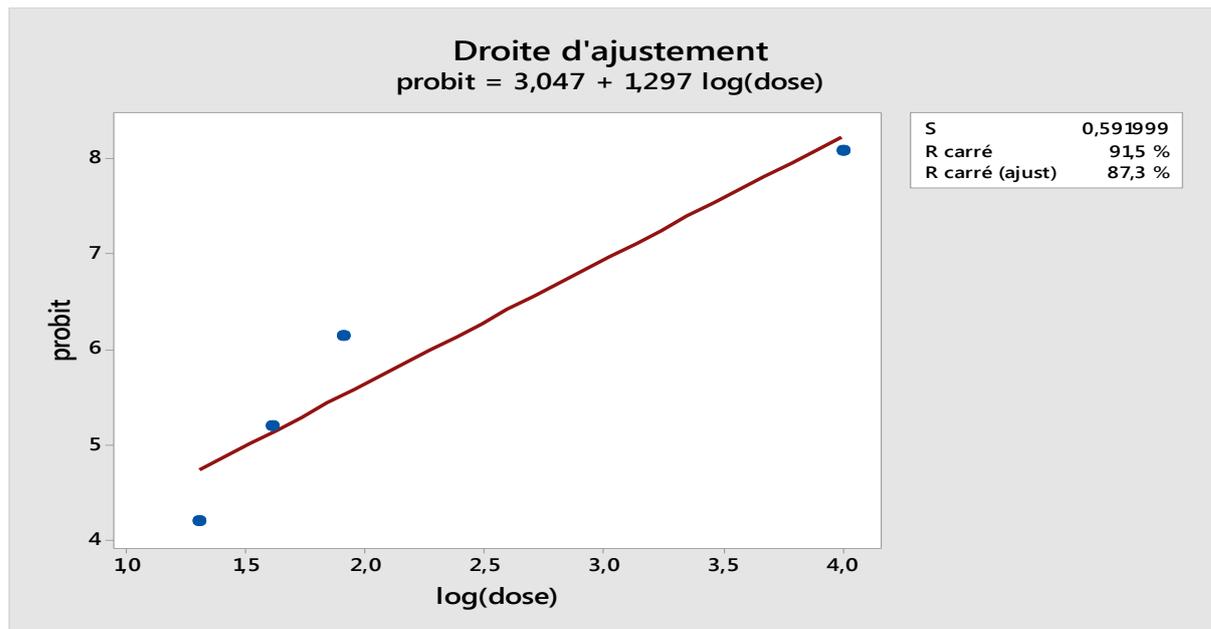


Figure 3.7. Cinétique du taux de mortalité des insectes (*Aphis spiraecola*) vis à vis l'HE.

La mortalité de 50% a été engendré par les doses 20 µl et 40µl. A la dose pure le taux de mortalité a dépassé les 90%. Ces résultats sont confirmés par la DL50 et la DL90 et calculées à partir de la droite de régression, qui sont respectivement 31.62 µl et 309.02 µl.



Log(dose) : logarithme décimal des doses ; probit : les valeurs de mortalités corrigées et transformées

**Figure 3.8.** Détermination de la DL50 et la DL90 de l'HE vis-à-vis les insectes d'*Aphis spiraecola*.

L'analyse de variance du taux de la mortalité des adultes *Aphis spiraecola* des différences significatives entre les quatre doses utilisées avec une valeur de  $F=4.10$  ( $F$ : coefficient de signification) et  $P=0.025 \leq 0.05$  (**Tableau XII - Annexe**).

- **Sur la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* (larves)**

D'après les résultats (**Figure 3.9, Tableau X-Annexe**), l'HE est révélé toxique contre les larves (*Tuta absoluta*) à la dose 80 $\mu$ l et la dose pure. À la première heure d'exposition au traitement, les taux de mortalités pour les deux doses (80 $\mu$ l et pure) sont respectivement 13,33 et 60%. Après 48h d'exposition il y a eu une augmentation de cette dernière qui a atteint 75 et 100% respectivement. À la même durée d'exposition, la dose 20 et 40  $\mu$ l n'a provoqué qu'un taux faible de mortalité 25 et 41,6% respectivement.

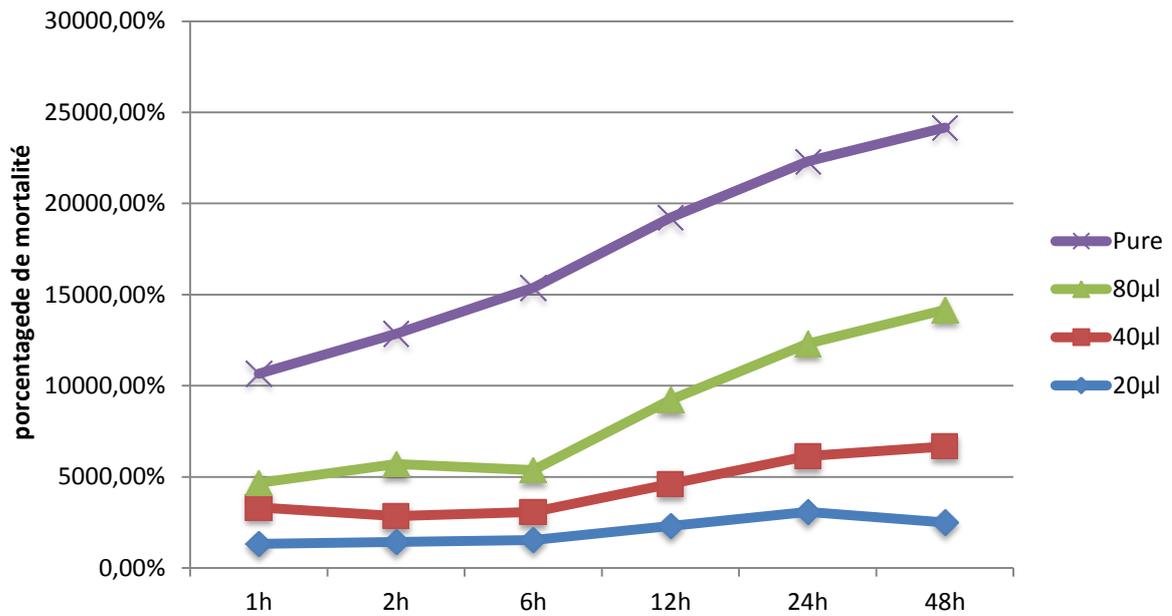


Figure 3.9. Cinétique de la mortalité des insectes (*Tuta absoluta*) vis à vis l'HE.

La DL<sub>50</sub> et la DL<sub>90</sub> sont de 46.45µl et de 410.20µl successivement, nous avons remarqué que la DL<sub>50</sub> est compris entre 40µl et 80µl, alors que la DL<sub>90</sub> se situe entre 80µl et la dose pure (Figure3.10).

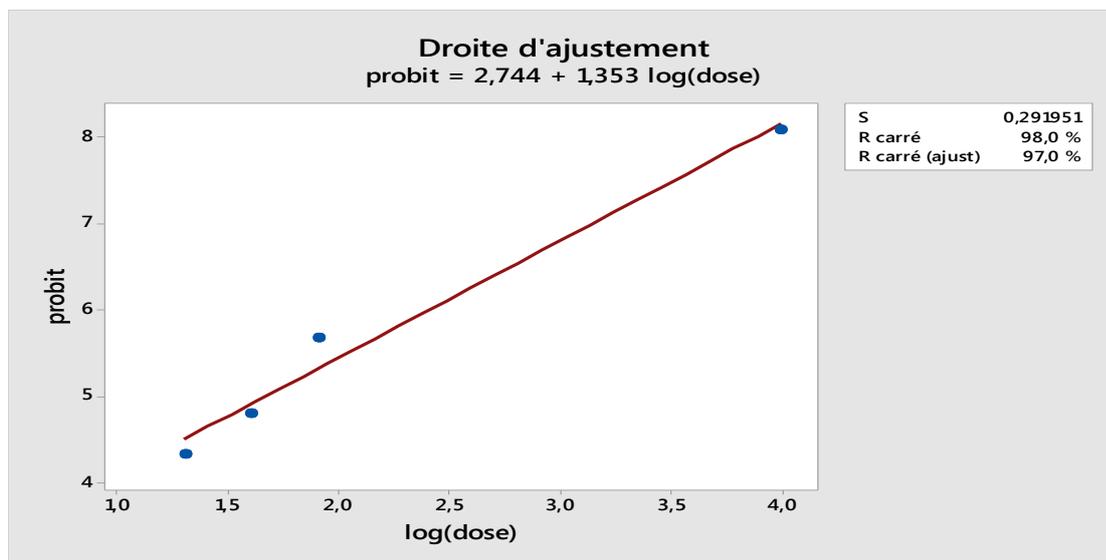
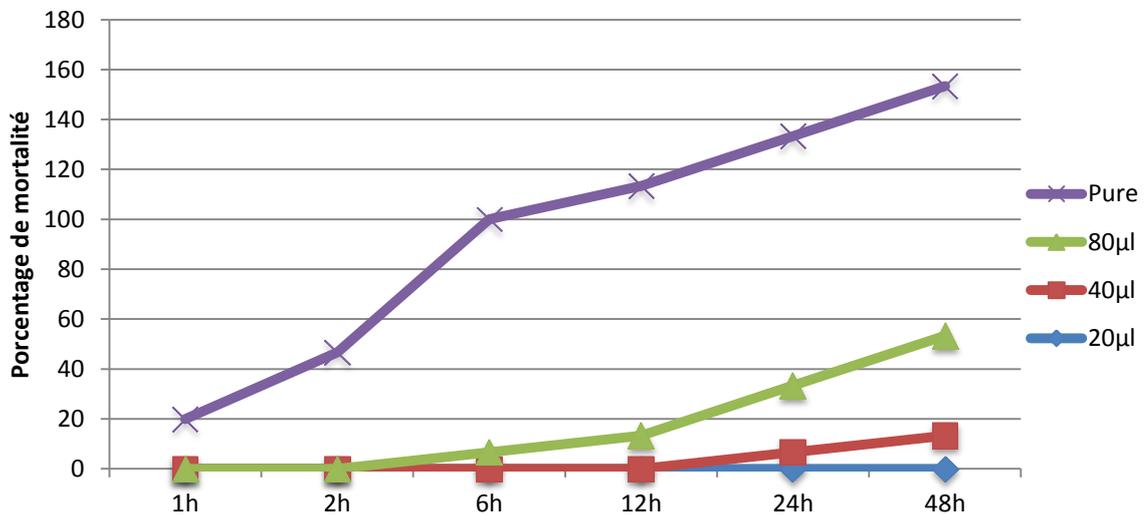


Figure 3.10. Détermination de la DL50 et la DL90 de l'HE vis-à-vis les larves de *Tuta absoluta*.

L'analyse de variance de la mortalité des larves de *Tuta absoluta* montre une différence hautement significative entre les doses utilisées avec une valeur de  $F=22.37$  et  $P = 0.000 \leq 0.05$  (Tableau XIII- Annexe).

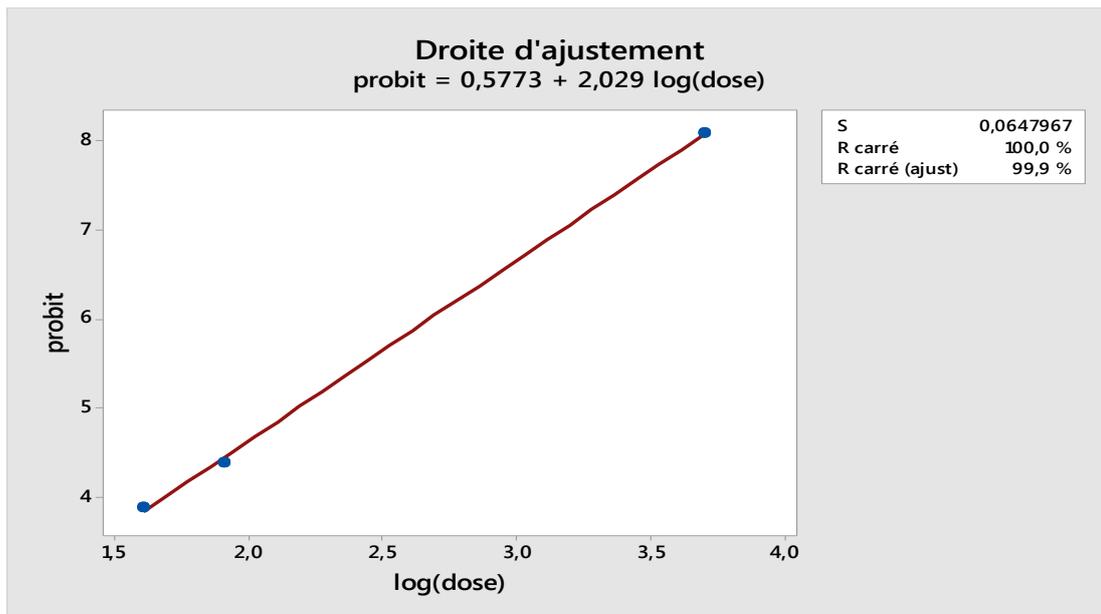
- Sur la coccinelle asiatique *Harmonia axyridis* (adultes)

Les résultats obtenus pour la coccinelle asiatique (*Harmonia axyridis*) (Figure 3.11, Tableau XI-Annexe), ont montré que les mortalités enregistrées pour l'HE pure a provoqué 100% de mortalité après 48h de traitement. Pour les autres doses les mortalités enregistrées sont inférieures à 50%.



**Figure 3.11.** Cinétique de la mortalité des insectes (*Harmonia axyridis*) vis à vis l'HE.

La DL50 et la DL90 ont été calculées à partir de fonction de la droite de régression sont de 151µl et 645.65µl respectivement (figure 3.12).



**Figure 3.12.** Détermination de la DL50 et la DL90 de l'HE vis-à-vis les adulte d' *Harmonia axyridis*.

L'analyse de variance du taux de la mortalité des adultes d'*Harmonia axyridis* montre une différence hautement significative entre les dose de traitement avec une valeur de  $F=20.74$  et  $P=0.000 \leq 0.05$  (**Tableau XIV- Annexe**).

Les essais réalisés ont montré que l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* a un effet bio-insecticide sur les trois insectes quelle que soit leurs stade de développement. En effet cette toxicité a été enregistrée selon les niveaux de concentration de l'HE et la durée d'exposition.

Les résultats ont montré que l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* est plus toxique lorsqu'il est appliqué sous sa forme pure ; provoquant une mortalité de 100% après 48h d'exposition.

De nombreux travaux ont été réalisés sur ce sujet en utilisant la même essence et aussi le même genre d'insectes (puceron). En effet les études menées par (**Amirat et al., 2011**) ont montré une bonne activité bio-insecticide de l'HE de la même plante qui peu agir comme toxiques ou répulsifs.

Selon **Amirat et Tebboub, (2011)**, les huiles de *Lavandula stoechas* manifeste des effets toxiques et répulsifs vis-à-vis des pucerons (*Aphis pomi*), les taux des mortalités de puceron augmentent proportionnellement avec la dose de l'HE. Ces travaux confirment nos résultats pour *Aphis spiraecola*.

Par contre, les larves de *Tuta absoluta* sont beaucoup plus résistantes aux différentes dilutions (20, 40 et 80µl), comparativement aux adultes d'*Aphis spiraecola*, car ces larves creusent des galeries ou elles peuvent pénétrer dans les feuilles. Ces galeries offrent un échappe ou bien une protection pour ces larves.

Selon **Ngamo et Hance (2007)** une huile essentielle n'exerce pas forcément la même activité aux différents stades du cycle biologique d'un insecte, comme il existe une grande variation dans la sensibilité des espèces d'insectes pour une même huile essentielle.

Selon **Bostanian et al. (2005)** les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou, ils sont moins efficaces avec des insectes à carapace dure tels que les coléoptères et hyménoptères adultes.

Pour les essais de l'HE sur chaque insecte, les résultats des tests statistiques montrent qu'il existe une variation concernant le taux de mortalité, qui dépend de la dose utilisée en huiles essentielles et la durée d'exposition. L'évaluation de la mortalité des larves de *Tuta absoluta* et les adultes d'*Harmonia axyridis* ont révèlè une différence hautement significative. Selon **Kim et al. (2003)** les effets toxiques des huiles essentielles dépendent de l'espèce d'insecte, et du temps d'exposition.

La toxicité des huiles essentielles sur les insectes est induite par l'action de leurs composés majoritaires (**Seri-Kouassi et al., 2004**). En effet, l'efficacité insecticide des HE peut être singulière ou lorsqu'elles sont mises ensemble (**Ngamo et Hance, 2007**).

Les mécanismes d'action des huiles essentielles sont méconnus et relativement peu d'études ont été réalisées à ce sujet (**ISMAN, 2005**). Les travaux récents montrent que les monoterpènes agissent au niveau des récepteurs de l'acétyl-cholinestérase des jonctions neuromusculaires (**Ngamo et Hance, 2007**) Effectivement, d'après les travaux d'**Obeng-Ofori (1997)**, le 1,8-cinéole au contact avec les insectes agit en bloquant la synthèse de l'hormone juvénile, il inhibe l'acétyl-cholinestérase en occupant le site hydrophobique de cet enzyme qui est très actif. En général, les huiles essentielles sont de nos jours connues comme des neurotoxines (**Ngamo et Hanc, 2007**).

### 2.1. Objectif du travail

Notre étude s'est étalée sur une période de 4 mois, de février jusqu'au mois de mai 2016. Les différentes expérimentations ont été effectuées dans les structures suivantes :

- Centre de Recherche (CRAPC) (Bou-Ismaïl) afin de déterminer la composition chimique de l'HE de la lavande et son profil chromatographique.
- Laboratoire bactériologie de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) de Fabour et laboratoire d'hygiène de l'Etablissement Public de la Santé (EPSP) Blida dans le but d'asseoir les propriétés antibactériennes et antifongiques de l'essence de lavande *in vitro*.
- Laboratoire d'Entomologie de l'institut national de la protection des végétaux (I.N.P.V) de Boufarik dans le but d'évaluation de l'activité bio insecticide de l'essence de lavande *in vitro*.

### 2.1. Matériel

#### 2.1.1. Matériel biologique

##### 2.1.1.1 Matériel végétal

L'huile essentielle de Lavande papillon (*Lavandula stoechas*) a été extraite par la société « Ziphee.Bio » spécialisée dans la production des huiles essentielles, sise à Lakhdaria (Bouira). L'HE a été extraite à partir de la partie aérienne fraîche de la plante (tige, feuilles et fleurs) au mois de Juin 2015. Le procédé d'extraction utilisé est l'entraînement à la vapeur d'eau conduit à échelle industrielle.

Aussi, l'HE est certifiée « 100% naturelle » car n'ayant été additionnée ou mélangée à aucun solvant organique durant la phase de production. L'HE a été conservée dans des flacons stériles teintés à 4°C à l'abri de l'air et de la lumière, pendant toute la durée de notre travail, pour éviter d'éventuels phénomènes d'oxydation ou de contamination.

##### 2.1.1.2. Souches microbiennes étudiées

Afin d'évaluer le pouvoir antiseptique de l'essence aromatique de la lavande, un screening antimicrobien de l'essence aromatique de lavande papillon a été effectué, *in vitro*, sur quinze (15) souches bactériennes et quatre (04) isolats fongiques. Certaines souches sont de référence ATCC (American Type Culture Collection) alors que d'autres ont été isolées à partir des prélèvements de malades ayant contracté différentes infections (intoxications alimentaires, infections urinaires ou cutanées), au niveau du laboratoire bactériologie (EPH Fabour, et laboratoire d'hygiène de Blida).

Ces bactéries et champignons ont été conservés et maintenus en vie, par des repiquages continus, sur des milieux de culture adéquats.

**Tableau III.** Souches bactériennes utilisées pour le screening antibactérien *in vitro* de l'essence de *Lavandula stoechas*.

Souches bactériennes	Origine	Famille
<b>Bactéries à Gram -</b>		
<i>Salmonella typhi</i>	ATCC25911	Enterobacteriaceae
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	Pseudomonadaceae
<i>Escherichia coli</i> (Ec1)	ATCC 25922	Enterobacteriaceae
<i>Escherichia coli</i> (Ec2)	ECBU	Enterobacteriaceae
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ECBU	Pseudomonadaceae
<i>Citobacter freundii</i>	ECBU	Enterobacteriaceae
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Pus	Enterobacteriaceae
<i>Proteus mirabilis</i>	Pus	Enterobacteriaceae
<i>Salmonella Enteritidis</i>	Pus	Enterobacteriaceae
<b>Bactéries à Gram +</b>		
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876	Bacillaceae
<i>Staphylococcus aureus</i> (Sa1)	ATCC 25923	Micrococcaceae
<i>Staphylococcus aureus</i> (Sa2)	ATCC 6538	Micrococcaceae
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	ECBU	Micrococcineae
<i>Staphylococcus aureus</i> (Sa3)	Pus	Micrococcaceae
<i>Streptococcus sp.</i> ( $\beta$ hémolytique)	Pus	Micrococcineae

ATCC: American Culture Collection; ECBU: Examen Cytobactériologique des Urines.

**Tableau IV.** Souches fongique utilisées pour le screening antifongique *in vitro* de l'essence de *Lavandula stoechas*.

Souche fongique	Origine	Famille
<b>Levures</b>		
<i>Candida albicans</i>	ATCC24433	Cryptococcaceae
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Sc1)	ATCC9763	Saccharomycetaceae
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Sc2)	Alimentaire	Saccharomycetaceae
<b>Moisissure</b>		
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC16404	Trichocomaceae

### 2.1.1.3. Matériel animale

L'étude a porté sur trois espèces d'insectes différentes, elles sont prélevées à partir d'une parcelle mise en place à cet effet à la station expérimentale de l'Institut National de la Protection des Végétaux (I.N.P.V) Boufarik.

Les pucerons *Aphis sphaecola* sont prélevés à partir des feuilles infestées des arbres de clémentinier. La mineuse de la tomate *Tuta absoluta*, est prélevé des plants de la tomate (variété Cawa). La collecte des coccinelles asiatiques *Harmonia axyridis* a été faite dans un champ de roseau commun où il y a une grande invasion de puceron.

### 2.1.2. Matériel non biologique

Milieux de culture, les instruments utilisés et les réactifs : (voir annexe).

## 2. 2. Méthodes

### 2.2.1. Étude analytique de l'huile essentielle

#### 2.2.1.1. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle

Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur et odeur) de l'essence aromatique de la lavande sauvage ont été notées.

#### 2.2.1.2. Analyses chromatographiques de la fraction aromatique

##### **-Principe de la Chromatographie gazeuse-Spectrométrie de masse (CG-SM)**

Le spectromètre de masse couplé à un chromatographe en phase gazeuse permet d'identifier et de quantifier les constituants d'un mélange de molécules volatiles. En soumettant une HE à la CG-SM, nous déclenchons un processus à plusieurs étapes :

- ionisation des molécules qui se volatilisent sous l'effet de la haute température.
- accélération des ions formés qui se dirigent vers le dispositif de séparation.
- séparation des ions et leur distribution suivant leur rapport masse /charge et leur détection.
- traitement du signal : le signal de sortie de l'appareil conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leurs rapports m/z.

La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs « bibliothèques » de référence permet son identification. Ce couplage augmente considérablement la quantité et la qualité des informations obtenues (Adams, 2004).

### -Conditions opératoires

Les analyses chromatographiques de l'HE ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse type Hewlett-Packard (6890) couplé avec un spectromètre de masse (Quadripôle). La fragmentation est effectuée par impact électronique à 70eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS (30m x 0.25mm), l'épaisseur du film est de 0.25µm. La température de la colonne est programmée de 45°C pendant 8 min, palier 2°C min<sup>-1</sup> jusqu'à 300°C. Le gaz vecteur est l'hélium pur dont le débit est fixé à 0.5 ml. min<sup>-1</sup>. Le mode d'injection est le mode split (rapport de fuite : 1/70) avec une valeur d'injection 0.2µl. L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse NIST 98 et piloté par un logiciel « *HP ChemStation* » permettant de suivre l'évolution des analyses chromatographiques.

### -Identification des constituants

L'identification des constituants a été faite sur la base de la comparaison de leurs Indices de Rétention (IR) avec ceux des composés de référence de la littérature (Adams, 2004). Une confirmation est apportée à l'aide des spectres de masse en comparaison avec ceux des composés standard de la banque de données informatisée (NIST 98).

La préparation de la table des n-alcane pour la mesure des indices de Kovats des composés identifiés dans l'HE a été faite comme suit : Solution des n-alcane de C<sub>8</sub> à C<sub>26</sub> (origine: Aldrich et Fluka Chemicals) à 5% dans le pentane, soit 0,1g de chaque alcane dans 20 ml de pentane, conservé au réfrigérateur. L'identification des composés a été effectuée par comparaison de leurs IR (Indices de Kovats) et des spectres de masse ions-fragments caractéristiques obtenus expérimentalement à ceux cités dans la littérature et/ou inventoriés dans les banques de bibliothèques spectrales (Wiley7, NIST 2002). Les indices de Kovats (IK) sont calculés comme suit :

$$IK = 100 n + 100 * (TR_c - TR_n / TR_{n+1} - TR_n)$$

**n**: Nombre d'atomes de carbone de l'alcane élué avant le composé;

**TR<sub>c</sub>** : Temps de rétention du composé ;

**TR<sub>n</sub>** : Temps de rétention de l'alcane à n atomes de carbone élué avant le composé ;

**TR<sub>n+1</sub>** : Temps de rétention de l'alcane à n+1 atomes de carbone élué après le composé.

### 2.2.2. Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle

#### 2.2.2.1. Microatmosphère ou méthode en phase vapeur

Nous avons utilisés cette méthode dans le but d'exploiter les propriétés antimicrobiennes de la phase volatile de l'HE (**Figure 2.2**). Cette méthode est rarement citée car les auteurs qui se sont penchés spécifiquement sur l'activité de la phase gazeuse sont encore peu nombreux (**Tyagi et Malik, 2011**). La différence entre cette technique et les aromagrammes réside principalement dans la position du disque imprégné. Cette technique permet de mettre en évidence la diffusion des composants volatils des HE à l'intérieur d'une boîte Pétri. Le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. La boîte est fermée avec le couvercle en bas et mise à l'étuve à des températures adéquates. Il se produit une évaporation des substances qui, en contact avec les microorganismes ensemencés sur la gélose, vont inhiber leur croissance. A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par une zone translucide sur la gélose de contour plus ou moins nette à tendance circulaire.

### 2.2.2.2. Technique en milieu solide : Méthode des aromagrammes

Nous avons adopté la technique de (**Tyagi et Malik, 2011**) pour évaluer dans un premier temps l'activité antimicrobienne de l'HE. L'aromatogramme qui est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé. Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des produits à tester, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces et d'avoir été largement évaluée. Cette technique (**Figure 2.1**) repose sur le pouvoir migratoire par diffusion des HE à l'intérieur d'une boîte Pétri, dans un milieu nutritif solide. Dans cette méthode, nous avons utilisé des disques de papier filtre de 9 mm de diamètre (Schleicher & Schuell, Bio Science GmbH, Dassel et Germany), imprégnés d'une quantité d'HE (20 et 60  $\mu\text{l}$ /disque) que nous déposons à la surface d'un milieu gélosé (Muller-Hinton (MH) pour les bactéries ou la gélose Sabouraud additionné de Chloramphénicol (SAB) pour les champignons) préalablement ensemencé en surface avec une suspension. La boîte est ensuite fermée et incubée dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 72h ou 5 jours pour les levures et les moisissures, respectivement. Chaque dose diffusée à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries et les champignons croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'essence suffisante qui inhibe leur croissance. A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en mm.

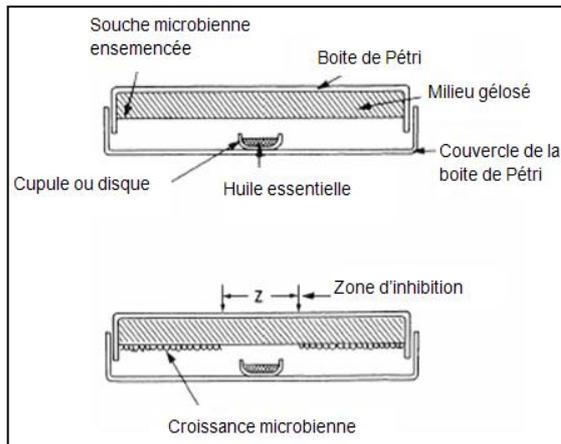


Figure 2.1. Illustration de la méthode de microatmosphère (Zaika, 1988).

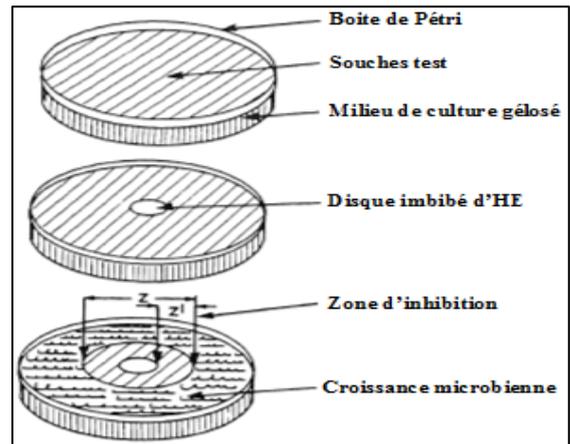


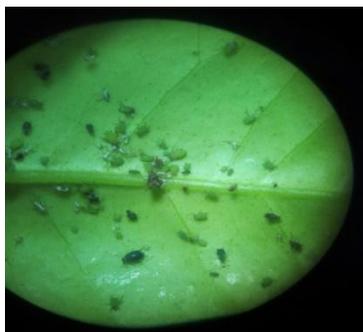
Figure 2.2. Illustration de la méthode de l'aromatogramme (Zaika, 1988).

#### 2.2.4. Evaluation de l'activité bio insecticide de l'HE (par contact-inhalation)

Les doses d'huile essentielle ont été utilisées est préparées en diluant chaque fois dans 10ml de solvant (acétone) les volumes successifs 20 µl, 40 µl, 80 µl, et une dose pure.

Dans ce test nous avons utilisé 60 insectes de *Aphis spiraecola* qui ont été mises dans chaque boite de Pétri contenant un support végétal (1 à 2 feuilles de clémentinier) avec les différentes doses de l'HE, l'acétone est utilisé comme témoins pour les trois essais, 05 larves de *Tuta absoluta* ont été introduites dans chaque boite de Pétri contenant un support végétal (1 à 2 feuilles de la tomate variété Cawa) et 05 insectes adultes d'*Harmonia axyridis* dans un support d'élevage contenant des feuilles de roseau infestées par le puceron (1 à 2 feuilles).

Chaque essai est répété trois fois, la lecture des résultats a été faite après 1h, 2h, 4h, 6h, 24h, et 48h. Les boites sont conservées dans des conditions ambiantes de température et hygrométrie.



Les pucerons (*Aphis spiraecola*)



La mineuse de la tomate (*Tuta absoluta*)



La coccinelle (*Harmonia axyridis*)

**Figure 2.3.** Observation des trois insectes par la loupe binoculaire (**Originale, 2016**)

- **Estimation de la mortalité et calcul de DL50 et DL 90**

Le comptage des insectes morts (adultes et larves) est réalisé pendant une période de 48 heures. Les mortalités enregistrées ont été exprimées après la correction des résultats du témoin. L'efficacité d'un produit est évaluée par la mortalité. Le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tué. Il existe, en fait dans toute population traitée une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée, les pourcentages de mortalité doivent être corrigés par la formule d'Abbott (**Abbott, 1925**).

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

**MC** : Mortalité corrigée.

**M** : Pourcentage de morts dans la population traitée.

**Mt** : Pourcentage de morts dans la population témoin.

Dans le but de mieux comprendre la relation qui existe entre la mortalité des doses utilisées et le temps d'exposition de l'huile essentielle, nous avons déterminé leur DL50 et DL90.

La dose létale pour 50% de la population d'insectes DL50 est calculée par la méthode des Probits (**Fanny, 2008**). Les pourcentages de mortalité sont transformés en Probits. La régression du logarithme de la dose en fonction des Probits des mortalités à l'aide de logiciel MINITAB (version 17) a permis de déterminer la DL50 et DL90 de HE de *Lavandula stoechas*.

Pour estimer le taux de mortalité de l'effet bio insecticide d'HE, une analyse de la variance (ANOVA) a été effectuée en fonction des concentrations et de la durée à l'aide d'un logiciel MINITAB (version 17).

## CONCLUSION

---

Les plantes aromatiques et médicinales riches en principes actifs trouvent des applications dans de nombreux domaines notamment dans le domaine alimentaire.

Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in vitro* des activités antibactériennes, antifongique et bio insecticide de l'huile essentielle d'une plante médicinale, largement répandue dans le bassin méditerranéen, la lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.).

La composition chimique de l'HE par analyse chromatographique CG-SM nous a permis d'identifier et de quantifier 28 composés, fenchone (39,23%), Camphre (18,04%), et le 1.8 cinéol (17,64%) comme composés majoritaires.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE sur différents germes pathogènes, isolés cliniquement ou provenant d'une collection de référence. Par deux méthodes (microatmosphère et aromatoگرامme) ont montré que huile étudiée est fortement inhibitrice pour les concentrations utilisées.

L'essence de *Lavandula stoechas* L. peut être considérée comme un antibactérien car elle présente une bonne action inhibitrice sur plusieurs souches bactériennes comme les Staphylocoques pathogènes ou certains Entérobactéries. Cette essence pourra être cataloguée aussi comme un antifongique puissant car elle présente un large spectre d'action sur les levures et les moisissures telles que *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Aspergillus brasiliensis* avec des zones d'inhibition très importantes. Ces résultats laissent entrevoir la possibilité d'une éventuelle utilisation des essences de lavande dans la désinfection de l'air dans les hôpitaux.

L'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. a montré une activité biocide et répulsive intéressante sur les pucerons *Aphis speraeicola*, et la mineuse de la tomate *Tuta absoluta*, par contre il a été enregistré un taux de mortalité au-dessus 50 % sauf pour la dose pure chez les adultes de coccinelle asiatique *Harmonia axyridis*.

En perspective cette essence peut être utilisée comme matière première active dans la formulation de biopesticide.

En effet nos travaux peuvent se poursuivre dans ce sens afin de trouver une formulation appropriée qui sera testée en milieu paysan sur une parcelle de culture.

L'utilisation des essences de lavande dans la désinfection de l'air dans les hôpitaux ou encore dans la lutte contre les infections nosocomiales.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AFNOR. (2000). Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris, France.
2. ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectroscopy. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2004. p.1-69.
3. Amirat N., Tebbob S., Sebti M., 2011. Effet Insecticides de l'huile essentielle chémotypées de deux plantes aromatiques *lavandula stoechas* et *origanum glandulosum* de la région de Jijel.
4. Bellakhdar, J., 1997 la pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. IBIS Pess.318 P.
5. Benabdelkader, T. (2012). Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des *lavandes ailées*, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de Doctorat en Science, Filière de Biologie. Université Jean Monnet-Saint-Etienne (France) en co-tutelle avec l'Ecole normale supérieure de Kouba (Alger, Algérie).
6. Bostanlan. J., Akalach M., and Chiasson H., 2005. Effects of a *Chenopodium* based botanical insecticide/acaricide on *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) and *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae). *Pest Manag. Sci*, 61, pp: 979-984.
7. Bouzouita, N., Kachouri, F., Hamdi, M., Chaabouni, M. M., Aissa, R. B., Zgoulli, S., & Lognay, G. C. (2005). Volatile constituents and antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* L. oil from Tunisia. *Journal of Essential Oil Research*, 17(5), 584-586.
8. Braden, R., Reichow, S., & Halm, M. A. (2009). The use of the essential oil lavandin to reduce preoperative anxiety in surgical patients. *Journal of Perianesthesia Nursing*, 24(6), 348-355.
9. Bradley, B. F., Brown, S. L., Chu, S., & Lea, R. W. (2009). Effects of orally administered lavender essential oil on responses to anxiety-provoking film clips. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 24(4), 319-330.
10. Bruneton J. « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales ». Editions Tec & Doc, Paris 1999, éditions médicales internationales, pp: 483-560.
11. Buckle, J. (1992). Aromatherapy. *Nursing Times*, 89(20), 32-35.
12. Cassé, C. (2013). La mémoire de l'exploitation de la lavande dans le pays barrêmeois.
13. Cavanagh, H. M. A., & Wilkinson, J. M. (2002). Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*, 16(4), 301-308.
14. Chami, F., Chami, N., Bennis, S., Bouchikhi, T., & Remmal, A. (2005). Oregano and clove essential oils induce surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytotherapy Research*, 19(5), 405-408.
15. Chaytor, D. A. (1937). A taxonomic study of the genus *Lavandula*. *Journal of the Linnean Society of London, Botany*, 51(338), 153-204.
16. Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., & Wyllie, S. G. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88(1), 170-175.
17. Cox S.D., Mann C.M. & Markham J.L., 2001. Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Microbiology* 91: pp. 492-497.
18. Cseke, L.J. et p.b. kaufman. 1999. How and Why and why these compounds are synthesized by plants. Pages 37-90 in p.b kaufman, L.J. cseke, S. Waber, J.A. Duke et H.L. Brielmann (eds.), Naturel products from plants. CRC Press, Boca Raton, FL.
19. De Billerbeck, V. G., Roques, C., Vanière, P., & Marquier, P. (2002). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Hygiènes*, 3, 248-51...
20. Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308-316.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

21. Dung N.T., Kim J.M. and Kang S.C., 2008. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. *Food and Chemical Toxicology* 46: pp.3632-3639.
22. Dupin C, Festy D. (2012). La lavande, c'est malin: Huile essentielle, fraîche ou séchée, découvrez les incroyables vertus de cette fleur pour la beauté, la santé, la maison. Leduc Éditions, France.
23. Field, T., Field, T., Cullen, C., Largie, S., Diego, M., Schanberg, S., & Kuhn, C. (2008). Lavender bath oil reduces stress and crying and enhances sleep in very young infants. *Early Human Development*, 84(6), 399-401.
24. Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. and Rasooli I., 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.*, 102: pp.898-904.
25. Ghelardini, C., Galeotti, N., Salvatore, G., & Mazzanti, G. (1999). Local anaesthetic activity of the essential oil of *Lavandula angustifolia*. *Planta Medica*, 65(8), 700-703.
26. Giray, E. S., Kırıcı, S., Kaya, D. A., Türk, M., Sönmez, Ö., & Inan, M. (2008). Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta*, 74(4), 930-935.
27. Gontard, M. (1940). La culture de la lavande en France. *Les Études rhodaniennes*, 16(1),43-60.
28. González-Coloma, A., Martín-Benito, D., Mohamed, N., García-Vallejo, M. C., & Soria, A. C. (2006). Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(8), 609-616.
29. Goren, A. C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydogmus, Z., & Pezzuto, J. M. (2002). The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Zeitschrift fur Naturforschung C-Journal of Biosciences*, 57(9-10), 797-800.
30. Gülçin, İ., Şat, İ. G., Beydemir, Ş., Elmastaş, M., & Küfrevioğlu, Ö. İ. (2004). Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chemistry*, 87(3), 393-400.
31. Guyot-Declerck, C., Renson, S., Bouseta, A., & Collin, S. (2002). Floral quality and discrimination of *Lavandula stoechas*, *Lavandula angustifolia*, and *Lavandula angustifolia* × *latifolia* honeys. *Food Chemistry*, 79(4), 453-459.
32. Ho C.L., Wang E.I.C., and Su Y.C., 2009. Essential oil compositions and bioactivities of the various parts of *Cinnamomum camphora* Sieb. var. *linaloolifera* Fujuta. 31 (2) : pp. 77-96.
33. Holmes, C., Hopkins, V., Hensford, C., MacLaughlin, V., Wilkinson, D., & Rosenvinge, H. (2002). Lavender oil as a treatment for agitated behaviour in severe dementia: a placebo controlled study. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 17(4), 305-308.
34. Hoya, Y., Matsumura, I., Fujita, T., & Yanaga, K. (2008). The use of non pharmacological interventions to reduce anxiety in patients undergoing gastroscopy in a setting with an optimal soothing environment. *Gastroenterology Nursing*, 31(6), 395-399.
35. Isman, M. B., 2005. Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.*, N° 51, pp. 45-66.
36. Jeanfils, J., Burlion, N., & Andrien, F. (1991). Antimicrobial activities of essential oils from different plant species. *Revue de l'Agriculture-Landbouwtijdschrift (Belgium)*.
37. Kane, F. M., Brodie, E. E., Coull, A., Coyne, L., Howd, A., Milne, A., & Robbins, R. (2004). The analgesic effect of odour and music upon dressing change. *British Journal of Nursing*, 13(Sup4), S4-S12.
38. Kasper, S., Gastpar, M., Müller, W. E., Volz, H. P., Möller, H. J., Dienel, A., & Schläfke, S. (2010). Silexan, an orally administered *Lavandula* oil preparation, is effective in the treatment of 'subsyndromal' anxiety disorder: a randomized, double-blind, placebo controlled trial. *International Clinical Psychopharmacology*, 25(5), 277-287.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

39. Kim, J. T., Ren, C. J., Fielding, G. A., Pitti, A., Kasumi, T., Wajda, M., & Bekker, A. (2007). Treatment with lavender aromatherapy in the post-anesthesia care unit reduces opioid requirements of morbidly obese patients undergoing laparoscopic adjustable gastric banding. *Obesity Surgery*, 17(7), 920-925.
40. Kim S., Roh J., Kim D., Leeh., & Ahn Y., 2003. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *J. Stored Prod. Res*, 39, pp: 293-303.
41. Kohara, H., Miyauchi, T., Suehiro, Y., Ueoka, H., Takeyama, H., & Morita, T. (2004). Combined modality treatment of aromatherapy, footsoak, and reflexology relieves fatigue in patients with cancer. *Journal of Palliative Medicine*, 7(6), 791-796.
42. Laird, K., & Phillips, C. (2012). Vapour phase: a potential future use for essential oils as antimicrobials?. *Letters in Applied Microbiology*, 54(3), 169-174.
43. Lawrence, B. M. (1992). Chemical components of Labiatae oils and their exploitation. *Advances in Labiatae science*, 399-436.
44. Lewith, G. T., Godfrey, A. D., & Prescott, P. (2005). A single-blinded, randomized pilot study evaluating the aroma of *Lavandula augustifolia* as a treatment for mild insomnia. *Journal of Alternative & Complementary Medicine*, 11(4), 631-637.
45. Lim, T. K. (2014). *Edible medicinal and non-medicinal plants* (Vol. 1, pp. 656-687). Springer.
46. Lis-Balchin, M. (Ed.). (2002). *Lavender: the genus Lavandula*. CRC press.
47. Lis-Balchin, M., & Hart, S. (1999). Studies on the mode of action of the essential oil of Lavender (*Lavandula angustifolia*). *Phytotherapy Research*, 13(6), 540-542.
48. Monge, R. (2013). Les Routes de la Lavande: au carrefour du développement culturel et de la valorisation de la ressource. *Routes touristiques et itinéraires culturels, entre mémoire et développement* (pp. 139-147).
49. Motomura N, Sakurai A, Yotsuya Y. Reduction of mental stress with lavender odorant. *Percept Mot Skills*. 2001; 93Z713\* 718
50. Ngamo L.S.T et Hance Th., 2007. Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternative de lutte en milieu tropical. *Tropicultura*, 2007. 25, 4, 2015-220.
51. Obeng-Ofori D., Reichmuth C.H., Bekele J. & Hassanali A., 1997. Biological activity of 1,8-cineole, a major component of essential oil of *Ocimumkenyense* (Ayobangira) against stored product beetles, *Journal of Applied Entomology*,
52. Ownagh A., Hasani A., Mardani K. and Ebrahimzadeh S., 2010. Antifungal effects of thyme, agastache and satreja essential oils on *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* and *Fusarium solani*. *Veterinary Research Forum*. 2; pp. 99-105.
53. Pattnaik, S., Subramanyam, V. R., Bapaji, M., & Kole, C. R. (1997). Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios*, (89), 39-46.
54. Peter, K. V. (2004). *Handbook of herbs and spices*. v. 1. Woodhead publishing.
55. Rhind, J. P., & Pirie, D. (2012). *Essential oils: a handbook for aromatherapy practice*. Singing Dragon.
56. Ristorcelli, D., Tomi, F., & Casanova, J. (1998). 13C-NMR as a tool for identification and enantiomeric differentiation of major terpenes exemplified by the essential oil of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas*. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(3), 154-158.
57. Said, H. M., & Saeed, A. (1996). *Medicinal herbal: A textbook for medical students and doctors* (Vol. 1). Hamdard Foundation Pakistan.
58. Sakamoto, R., Minoura, K., Usui, A., Ishizuka, Y., & Kanba, S. (2005). Effectiveness of aroma on work efficiency: lavender aroma during recesses prevents deterioration of work performance. *Chemical Senses*, 30(8), 683-691.
59. Seri-Kouassi B. P., Kanko C., et Aboua L. R. N., Bekon K. A., Glitho A. I., 2004. Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* F. du niébé. *C. R. Chimie* 7, pp : 1043–1046.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

60. Shin, B. C., & Lee, M. S. (2007). Effects of aromatherapy acupuncture on hemiplegic shoulder pain and motor power in stroke patients: a pilot study. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 13(2), 247-252.
61. Skoula, M., Abidi, C., & Kokkalou, E. (1996). Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(3), 255-260.
62. Small, E., & Deutsch, G. (2001). *Herbes culinaires pour nos Jardins de Pays Froid*. Ismant Peony Press.
63. Soden, K., Vincent, K., Craske, S., Lucas, C., & Ashley, S. (2004). A randomized controlled trial of aromatherapy massage in a hospice setting. *Palliative Medicine*, 18(2), 87-92.
64. Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., & Polissiou, M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, 90(3), 333-340.
65. Toda, M., & Morimoto, K. (2008). Effect of lavender aroma on salivary endocrinological stress markers. *Archives of Oral Biology*, 53(10), 964-968.
66. Tyagi, A. K., & Malik, A. (2010). Liquid and vapour-phase antifungal activities of selected essential oils against *Candida albicans*: microscopic observations and chemical characterization of *Cymbopogon citratus*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10(1), 65.
67. Tyagi, A. K., & Malik, A. (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. *Food Control*, 22(11), 1707-1714.
68. Upson, T., & Andrews, S. (2004). The genus *Lavandula*. *Royal Botanic Gardens, ISBN, 1842460102*.
69. Wang H.F., Yih K.H. and Huang K.F., 2010. Comparative study of the antioxidant activity of forty-five commonly used essential oils and their potential active components. *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 18, №1, pp. 24-33.
70. Woelk, H., & Schläfke, S. (2010). A multi-center, double-blind, randomised study of the Lavender oil preparation Silexan in comparison to Lorazepam for generalized anxiety disorder. *Phytomedicine*, 17(2), 94-99.
71. Woronuk, G., Demissie, Z., Rheault, M., & Mahmoud, S. (2011). Biosynthesis and therapeutic properties of *Lavandula* essential oil constituents. *Planta Medica*, 77(1), 7.
72. Zaika, L. L. (1988). Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination1. *Journal of Food Safety*, 9(2), 97-118.

## Annexe

### Appareillages, Verreries et les réactifs

#### Appareillages

CG-SM  
Etuve bactériologique  
incubateur  
Bec benzène  
La loupe

#### Verreries et instruments

Boites Pétri  
Pipettes Pasteurs  
Flacons en verre  
Ecouillons  
Disque d'antibiotiques  
Tubes à essais  
Pincés  
Micropipettes

#### Réactifs

L'acétone  
Eau physiologique

---

### Milieux de culture

Suivant les méthodes et les souches microbiennes testées, nous avons utilisé des milieux de culture solides, en l'occurrence la gélose Muller-Hinton (MH) pour les bactéries et la gélose Sabouraud additionné de Chloramphénicol (SAB) pour les champignons. Aussi, des milieux de culture sélectifs ont été utilisés dans le but d'identifier certains germes bactériens (gélose Chapman pour les staphylocoques, milieu Hektoen pour les entérobactéries, ainsi que la Gélose Nutritive (GN) pour l'isolement des micro-organismes non exigeants.

**Tableau IX.** Efficacité de l'HE par contact vis-à-vis le puceron (*Aphis spiraecola*)

Dose (µl)	Temps (h)	Mortalité observée			Mortalité moyenne (%)	Mortalité corrigée (%)	Probit
		E1	E2	E3			
Pure	1h	07	05	06	10	9,5	3,66
	6h	39	42	38	66.11	65,53	5,41
	12h	45	46	49	77.77	76,87	5,74
	24h	55	49	50	85,55	84,70	6,04
	48h	60	60	60	100	100	8,09
20	1h	00	01	03	2.22	1,67	2,95
	6h	05	09	07	11.66	10,16	3,72
	12h	11	12	09	17.77	14,45	3,92
	24h	14	12	10	20	15,29	3,96
	48h	17	15	20	28,88	21,46	4,19
40	1h	03	04	04	6.11	5,59	3,45
	6h	21	25	25	39.44	38,41	4,69
	12h	30	34	31	52.77	50,86	5,03
	24h	36	37	34	59.44	57,05	5,18
	48h	38	38	35	61,66	57,66	5,2
80	1h	05	04	05	7.77	7,25	3,52
	6h	31	29	27	48.33	47,45	4,92
	12h	38	36	34	60	58,38	5,2
	24h	48	50	48	81.11	80	5,84
	48h	55	51	53	88,33	87,11	6,13
Témoin	1h	00	00	01	0.55		
	6h	01	00	02	1.66		
	12h	03	02	02	3.88		
	24h	04	03	03	5.55		
	48h	07	05	05	9,44		

**Tableau X.** Efficacité de l'HE par contact vis-à-vis la mineuse de la tomate (*Tuta absoluta*)

Dose (µl)	Temps (h)	Mortalité observée			Mortalité moyenne (%)	Mortalité corrigée (%)	Probit
		E1	E2	E3			
pure	1	03	04	02	60	60	5,25
	4	04	04	03	73,33	71,42	5,55
	6	05	05	05	100	100	8,09
	12	05	05	05	100	100	8,09
	24	05	05	05	100	100	8,09
	48	05	05	05	100	100	8,09
20	1	01	01	00	13,33	13,33	3,87
	4	02	01	00	20	14,29	3,92
	6	02	02	00	26,66	15,38	3,96
	12	02	02	01	33,33	23,07	4,26
	24	02	02	02	40	30,77	4,5
	48	02	02	02	40	25	4,33
40	1	01	01	01	20	20	4,16
	4	01	01	01	20	14,29	3,92
	6	01	01	02	26,66	15,38	3,96
	12	01	01	03	33,33	23,07	4,26
	24	01	02	03	40	30,77	4,5
	48	02	03	03	53,33	41,66	4,8
80	1	01	01	00	13,33	13,33	3,87
	4	01	02	02	33,33	28,57	4,45
	6	01	02	02	33,33	23,07	4,26
	12	02	03	03	53,33	46,15	4,9
	24	03	04	03	66,66	61,53	5,31
	48	04	05	03	80	75	5,67
Témoin	1	00	00	00	00		
	4	00	01	00	6,66		
	6	00	01	01	13,33		
	12	00	01	01	13,33		
	24	00	01	01	13,33		
	48	01	01	01	20		

**Tableau XI . Efficacité de l'HE par contact vis-à-vis la coccinelle asiatique (*Harmonia axyridis*)**

Dose (µl)	Temps (h)	Mortalité observée			Mortalité moyenne (%)	Mortalité corrigée (%)	Probit
		E1	E2	E3			
pure	1	01	01	01	20	20	4,16
	4	02	03	02	46,66	46,66	4,92
	6	04	05	05	93,33	93,33	6,48
	12	05	05	05	100	100	8,09
	24	05	05	05	100	100	8,09
	48	05	05	05	100	100	8,09
20	1	00	00	00	00	00	-
	4	00	00	00	00	00	-
	6	00	00	00	00	00	-
	12	00	00	00	00	00	-
	24	00	00	00	00	00	-
	48	00	00	00	00	00	-
40	1	00	00	00	00	00	-
	4	00	00	00	00	00	-
	6	00	00	00	00	00	-
	12	00	00	00	00	00	-
	24	01	00	00	6,66	6,66	3,52
	48	01	01	00	13,33	13,33	3,87
80	1	00	00	00	00	00	-
	4	00	00	00	00	00	-
	6	01	00	00	6,66	6,66	3,52
	12	01	00	01	13,33	13,33	3,87
	24	02	01	01	26,66	26,66	4,39
	48	02	02	02	40	40	4,75
Témoin	1	00	00	00	00		
	4	00	00	00	00		
	6	00	00	00	00		
	12	00	00	00	00		
	24	00	00	00	00		
	48	00	00	00	00		

**Tableau XII.** Analyse de la variance du taux de la mortalité des adultes d'*Aphis spiraecola*

Source	DL	SC ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de P
dose ( $\mu$ l)	3	8389	2796.2	<b>17.04</b>	<b>00.00</b>
Temps(h)	4	8941	2235.2	<b>13.62</b>	<b>00.00</b>
Erreur	12	1969	164.1		
Total	19	19299			

F: coefficient de signification.

**Tableau XIII.** Analyse de la variance du taux de la mortalité des larves de *Tuta absoluta*

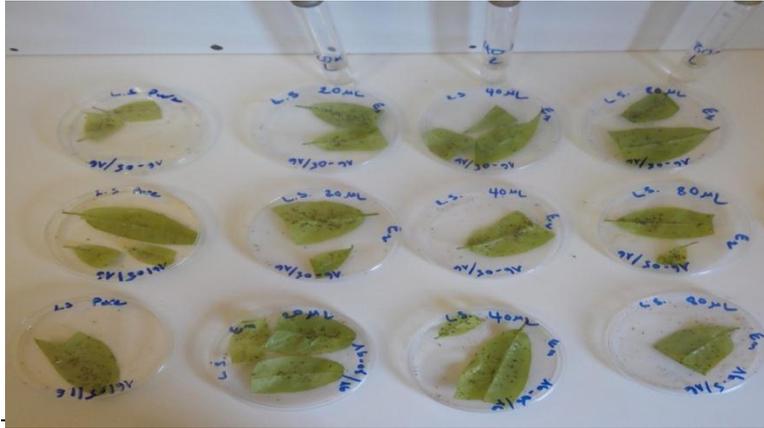
Source	DL	SC ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de P
dose ( $\mu$ l)	3	17681	5893.7	52.37	00.00
Temps(h)	4	3581	716.2	6.36	00.02
Erreur	15	1688	112.5		
Total	23	22950			

**Tableau XIV .** Analyse de la variance du taux de la mortalité des adultes d'*Harmonia axyridis*

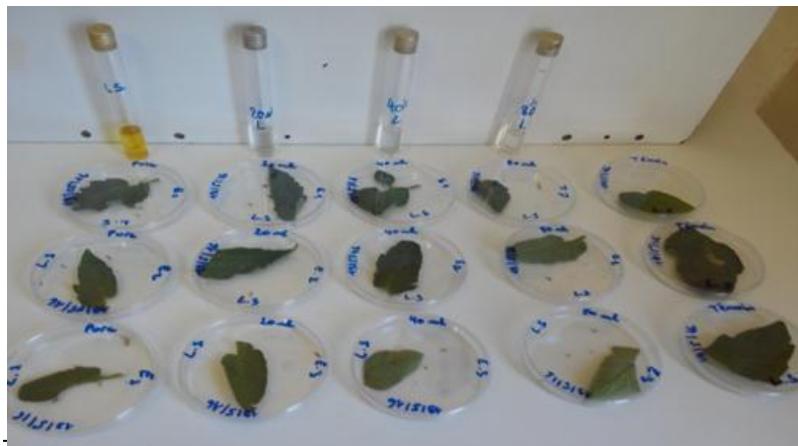
Source	DL	SC ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de P
dose ( $\mu$ l)	3	23205	7735.1	<b>27.88</b>	<b>00.00</b>
Temps(h)	5	3298	659.6	<b>2.38</b>	<b>00.08</b>
Erreur	15	4161	277.4		
Total	23	30665			

**Tableau XV.** Classification et cycle évolutif des trois insectes étudiés.

Les insects	classification	Description	Cycle évolutif
<p>Le puceron vert des agrumes</p> <p><i>Aphis spiraecola</i></p> 	<p>Appelé encore puceron vert de l'oranger.</p> <p>Règne : Animalia</p> <p>Embranchement : Arthropoda</p> <p>Classe : Insecta</p> <p>Ordre : Hemiptera</p> <p>Famille : Aphididae</p> <p>Espèce : Aphis spiraecola</p>	<p>Les virginipares aptères d'environ 2 mm de longueur ont la même couleur que les jeunes feuilles d'agrumes, <b>Front</b> plat ou légèrement sinué.</p> <p><b>Antennes</b> égales à la moitié du corps</p> <p><b>Abdomen</b> sans aucune pigmentation</p> <p><b>Cornicules</b> noires, droites, légèrement coniques (avec une base un peu plus épaisse que la partie apicale) <b>Cauda</b> noire, allongée et contractée au niveau du 1/3 basal, Les virginipares ailées sont de couleur brun foncé à noir, sauf l'abdomen qui reste habituellement verdâtre.</p>	<p>Les pucerons effectuent leur cycle sur la face inférieure des feuilles et sur les jeunes rameaux. Plusieurs dizaines de générations annuelles se succèdent et se superposent.</p> <p>La multiplication est essentiellement parthénogénétique, les femelles engendrant de nouvelles générations sans avoir été fécondées.</p>
<p>La mineuse de la tomate</p> <p><i>Tuta absoluta</i></p> 	<p>Règne : Animalia</p> <p>Embranchement : Arthropoda</p> <p>Classe : Insecta</p> <p>Ordre : Lépidoptères</p> <p>Famille : Gelechiidae</p> <p>Genre : Tuta</p>	<p><i>T.absoluta</i>, ravageur de la tomate et autres Solanacées, est un macrolépidoptère, dont : l'adulte est un petit papillon de nuit (7mm) de couleur grise, le mâle est plus petit que la femelle, les œufs sont de petites taille 0,36mm de long et 0,22 mm de large de forme cylindrique et de couleur crème à jaunâtre.</p>	<p>La larve passe par quatre stades dont un stade baladeur, sa couleur varie selon le stade, elle est beige claire au premier stade, puis verdâtre à rose du deuxième à quatrième stade, au dernier stade, la face dorsale se colore en rouge et la taille peut atteindre 7,5 mm de diamètre</p>
<p>La coccinelle Asiatique</p> <p><i>Harmonia axyridis</i></p> 	<p>Règne : Animalia</p> <p>Embranchement : Arthropoda</p> <p>Classe : Insecta</p> <p>Ordre : Coleoptera</p> <p>Famille : Coccinellidae</p> <p>Genre : Harmonia</p>	<p>Cette coccinelle présente une large gamme de coloris, allant du rouge à points noirs au noir à points rouges, en passant par de nombreuses nuances de jaune. Les élytres sont ornés de zéro à 19 points.</p> <p>Le mâle est plus petit que la femelle, avec des tailles variant<sup>1</sup> de 4,9 à 8,2 mm de long et de 4,0 à 6,6 mm de large.</p>	<p>La coccinelle passe par plusieurs formes au cours de sa vie : l'adulte pond des œuf qui éclosent et donnent naissance aux larves de premier stade (11), ces dernières se développent et devient des larves de deuxième, troisième et quatrième stade (12, 13, 14). Puis elles se transforment en nymphe, stade immobile au cours duquel l'insecte change d'aspect, pour enfin émerger sous la forme adulte.</p>



**Figure 1.** Test d'activité bio insecticide de l'HE contre les insectes d'*Aphis spiraecola*



**Figure 2 .** Test d'activité bio insecticide de l'HE contre les larves *Tuta absoluta*.



**Figure 3.** Test d'activité bio insecticide de l'HE contre les insectes d' d'*Harmonia axyridis*.

# Introduction

# Chapitre 1

## Synthèse Bibliographique

# Chapitre 2

## Matériel et méthodes

# Chapitre 3

## Résultats et discussion

# Conclusion

# Annexe

Références  
bibliographiques