



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE

De fin d'études

En vue d'obtention du diplôme de MASTER en Biologie
Option : Biologie des populations et organismes

Thème

Extraction des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et
Allium sativum : Activité anti-oxydante et effet sur le
charançon du riz (*Sitophilus oryzae* : Coleoptera
Curculionidae) ravageur des denrées stockées

Travail réalisé par : CHABI Ali Amar

KHEFFACHE Fouad

Le : 12/07/2022

Devant le jury composé de :

Présidente : M^{me} BRAHMI Karima

Professeur UMMTO

Promotrice : M^{me} TALEB TOUDERT Karima

MCA. UMMTO

Examinatrice : M^{me} LEKMACHE Yasmina

MAA. UMMTO

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

En premier lieu, on remercie Dieu le tout puissant pour nous avoir accordé le courage, la volonté, la force et la patience de bien mener ce modeste travail.

*On tient à adresser nos plus vifs remerciements à notre promotrice **Mme Taleb karima** Maître de conférence classe A à L'U.M.M.T.O, pour avoir accepté de diriger ce travail et pour ses orientations dont on a bénéficié. Elle nous a réservé des moments précieux de discussion et nous a facilité toutes les conditions pour mener à bien ce travail, malgré ses multiples obligations ; qu'elle soit assurée de tout notre respect et gratitude.*

*On remercie très profondément **Mme Brahmi karima**, Professeur à L'U.M.M.T.O, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury, malgré ses multiples obligations.*

Qu'elle trouve ici nos sincères impressions de gratitude et de respect.

*Nos remerciements vont aussi à **Mme Lekmache Yasmina** Maître-assistante classe A, pour l'attention qu'elle a bien voulu porter à ce travail, en qualité d'examinatrice. Nous sommes particulièrement honorées par votre participation à ce jury.*

*Sans oublier **Mlle Laoudi Tinhinane** et **Mr Faci Massinissa**, pour leur précieuse aide dans le traitement des données statistiques.*

Nos remerciements vont aussi à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

Nous dédicaçons ce mémoire :

A nos chers parents, Pour leur Patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements.

A nos frères et sœurs.

A nos grands parents.

A nos tantes, oncles, cousins et cousines.

A nos amies et nos camarades.

Liste des figures

Figure 1 : Plant de riz (ADRAO, 1995).....	5
Figure 2 : Coupe transversale du paddy (Gix, 2008).....	6
Figure 3 : Trou de ponte de <i>S.oryzae</i> (Benazzeddine, 2010).....	9
Figure 4 : Larve de <i>S.oryzae</i> (Gx30) (MADENE, 2014).....	9
Figure 5 : Nymphe endogène de <i>S.oryzae</i> (Gx30) (Photo originale, 2022).....	10
Figure 6 : Adulte de <i>S.oryzae</i> (Gx30) (Photo originale, 2022).....	10
Figure 7 : Cycle de développement de <i>S.oryzae</i> . (CORDONNIER, 2021).....	12
Figures 8 : Grains vidés par <i>S.oryzae</i> sur des grains de riz (Gx40) (Photo originale, 2022).....	13
Figure 9 : Charançon adulte émergeant d'un grain d'orge complètement vidé (Gx40) (Photo originale, 2022).....	13
Figure 10 : Nymphe (A) et adulte (B) de <i>C.elegans</i> parasitoïde de <i>S.oryzae</i> (Gx40) (Photo originale, 2022).....	16
Figure 11 : <i>C.elegans</i> retrouvé dans notre élevage en masse de <i>S.oryzae</i> (Gx40) (Photo originale, 2022).....	16
Figure 12 : Quelques organes sécréteurs d'huiles essentielles (Tayoub, 2006).....	22
Figure 13 : Montage d'hydrodistillation (EL HAIB, 2011).....	28
Figure 14 : Montage d'extraction par hydrodiffusion (EL HAIB, 2011).....	29
Figure 15 : Montage d'extraction par le CO2 supercritique (EL HAIB, 2011).....	30
Figure 16 : Montage d'extraction assistée par micro-onde (EL HAIB, 2011).....	30
Figure 17 : montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (Lucchesi,2005).....	31

Figure 18 : Feuilles d' <i>E.globulus</i> (Photo originale, 2022).....	32
Figure 19 : plante d' <i>A.sativum</i> (BARATON, 2017).....	33
Figure 20 : Élevage en masse de <i>S.oryzae</i> (Photo originale, 2022).....	34
Figure 21 : matériel du laboratoire utilisé (Photo originale, 2022).....	35
Figure 22 : Dispositif expérimental du test de répulsivité (Photo originale, 2022).....	38
Figure 23 : Dispositif expérimental du test de fumigation (Photo originale, 2022).....	39
Figure 24 (A) : Coupe transversale de la feuille d' <i>E.globulus</i> observée au microscope optique x 100 montrant une assise épidermique (Ae), le parenchyme palissadique (Pp), le parenchyme lacuneux (Pl), le phloème (Ph), le xylème (Xy) et la poche sécrétrice (Ps).	
(B) : Coupe transversale de la feuille d' <i>E.globulus</i> observée au microscope optique x 400 montrant le canal sécréteur (Cs) composé de la lumière du canal (Lc) et les cellules sécrétrices (Cs), l'épiderme (Ep), le parenchyme palissadique (Pp), et la lacune (La) (Photo originale, 2022).....	42
Figure 25 (A) : Coupe transversale de la tige d' <i>E.globulus</i> observée au microscope optique x 400 montrant le cortex (Co), l'épiderme (Ep), une poche sécrétrice mature (Ps1) et une poche sécrétrice en formation (Ps2).	
(B) : Coupe transversale de la tige d' <i>E.globulus</i> observée au microscope optique x 100 montrant le cylindre centrale (Cc) composé de la moëlle parenchymateuse (Mp) et sclérenchyme (Sc) ainsi qu'un canal conducteur (Cc), enfin poches sécrétrices (Ps) (Photo originale, 2022).....	43
Figure 26 (A) : Coupe transversale de la tige d' <i>A.sativum</i> observée au microscope optique x 100 montrant le parenchyme cortical (Pc), le cylindre central (Cc), les faisceaux cribro-vasculaire (F Cv) et les cellules à huile essentielle (C He).	
(B) : Coupe transversale du caïeu d' <i>A.sativum</i> observée au microscope optique x 400 montrant le parenchyme (Pa), la moëlle parenchymateuse (Mp) et les cellules à huile essentielle (C He) (Photo originale,2022).....	44
Figure 27 : détermination de l'IC ₅₀ de l'HE d' <i>A.sativum</i>	46
Figure 28 : activité anti-oxydante de l'HE d' <i>A.sativum</i>	47

Figure 29 : détermination de l'IC ₅₀ de l'HE d' <i>E.globulus</i>	47
Figure 30 : activité anti-oxydante de l'HE d' <i>E.globulus</i>	48
Figure 31 : détermination de l'IC ₅₀ de l'acide ascorbique.....	48
Figure 32 : activité anti-oxydante de l'acide ascorbique.....	49
Figure 33 : Taux de répulsion d' <i>A.sativum</i> en fonction de la dose.....	51
Figure 34 : Taux de répulsion d' <i>E.globulus</i> en fonction de la dose.....	51
Figure 35 : Taux moyen de mortalité des adultes de <i>S.oryzae</i> traités par fumigation aux différentes doses d'huiles essentielles d' <i>A.sativum</i>	53
Figure 36 : Taux moyen de mortalité des adultes de <i>S.oryzae</i> traités par inhalation aux différentes doses des huiles essentielles d' <i>E.globulus</i>	53
Figure 37 : Effet de l'huile essentielle d' <i>E.globulus</i> après traitement par fumigation sur les adultes de <i>S.oryzae</i> (Photo originale, 2022).....	54
Figure 38 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation avec l'huile essentielle d' <i>A.sativum</i>).....	54
Figure 39 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation avec l'huile essentielle d' <i>E.globulus</i>).....	55

Liste des tableaux

Tableau 1. Pourcentage de répulsion selon le classement de Mc Donald et <i>al.</i> , (1970).....	38
Tableau 2. Taux moyen de répulsion (%) (\pm L'écart type) (Mc Donald et <i>al.</i> , 1970) sur papier filtre des huiles essentielles testées contre les adultes de <i>S.oryzae</i>	50
Tableau 3. Classement des huiles selon leurs propriétés répulsives (PMR : pourcentage moyen de répulsion).....	50
Tableau 4. Taux moyen de mortalité des adultes de <i>S.oryzae</i> traité par les huiles essentielles des espèces d' <i>A.sativum</i> et <i>E.globulus</i> de dans le temps en fonction de la dose (PMM : pourcentage moyen de mortalité pour chaque dose).....	52
Tableau 5. Taux moyen de mortalité (%) (moyennes \pm écart-type) des adultes de <i>S.oryzae</i> traité par les huiles essentielles des espèces d' <i>E.globulus</i> et d' <i>A.sativum</i> dans le temps en fonction de la dose.....	59
Tableau 6. Taux moyens de mortalités (%) (moyennes \pm écart-type) observées chez les adultes de <i>S.oryzae</i> traité avec les HE d' <i>E.globulus</i> et <i>A.sativum</i> selon l'huile et la dose utilisée.....	60

Liste des abréviations

% Pourcentage

°C Degré Celsius

µl Microlitre

ANOVA ANalysis Of Variance

CL₅₀ Concentration létale à 50%

Cm² centimètres carré

DDT Le Dichloro diphényltrichloroéthane (insecticide)

DL₅₀ Dose létale à 50%

DPPH 2,2-Diphényl 1-picrylhydrazyle

FAO Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

G Gramme

G grossissement

H Heure

HE huile essentielle

IC₅₀ La concentration inhibitrice médiane

kg Kilogramme

L Litre

Log logarithme

mg Milligramme

ml Millilitre

mn minutes

nm nanomètre

P probabilité

Probits modèle employés en statistiques pour la réalisation de la droite de régression

SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
Chapitre 1 : synthèse bibliographique	
I. Généralités sur la plante hôte.....	3
II.1.Caractères généraux de la famille des Curculionidae.....	7
II.2 Charançon du riz <i>Sitophilus oryzae</i> L.....	7
II.2.1. Position systématique de <i>S.oryzae</i>	7
II.2.2. Origine et répartition géographique de <i>S.oryzae</i>	8
II.2.3. Description morphologique des différents stades du charançon du riz.....	8
II.2.4. Biologie et cycle de développement de <i>S.oryzae</i>	11
II.2.5. Importance économique et Dégâts.....	12
II.2.6. Ennemis naturels de <i>S.oryzae</i>	14
II.2.7. Lutte.....	17
II.2.7.1.Lutte préventive.....	17
II.2.7.2.Lutte curative.....	17
II.2.7.2.1. Méthodes traditionnelles.....	18
II.2.7.2.2. Méthodes de lutte modernes.....	18
II.2.7.2.2.1.Lutte chimique.....	18
II.2.7.2.2.2. Lutte physique et mécanique.....	20
II.2.7.2.2.2.1. Lutte par le froid.....	20
II.2.7.2.2.2.2. Lutte par la chaleur.....	20
II.2.7.2.2.2.3. Radiations ionisantes.....	20
II.2.7.2.2.2.4. Radiations non ionisantes.....	20

II.2.7.2.2.3. Lutte biotechnique (lutte par confusion sexuelle).....	21
II.2.7.2.2.4. Lutte biologique.....	21
III. Huiles essentielles.....	21
III.1. Localisation.....	22
III.2. Composition chimique.....	22
III.2.1. Les monoterpènes.....	23
III.2.2. Les sesquiterpènes.....	23
III.2.3. Les composés aromatiques.....	23
III.2.4. Composés d'origine diverse.....	23
III.3. Rôle physiologique.....	23
III.4. Propriétés et caractéristiques.....	24
III.5. Facteurs de variabilité des huiles essentielles.....	24
III.5.1. Origine botanique.....	24
III.5.2. Cycle végétatif.....	24
III.6. Intérêt thérapeutique, écologique et économique.....	25
III.7. Qualité et rendement des huiles essentielles.....	26
III.8. Conservation des huiles essentielles.....	26
III.9. Toxicité des huiles essentielles.....	26
III.10. Procédés d'extraction.....	27
III.10.1. Hydrodistillation.....	27
III.10.2. L'hydrodiffusion.....	28
III.10.3. Extraction par du CO2 supercritique.....	29
III.10.4. Extraction assistée par micro-onde.....	30

Chapitre II : Matériels et Méthodes

I. Matériels.....	31
I.1. Matériels biologiques utilisés.....	31
I.1.1. Huiles essentielles.....	31
I.1.1.1. Présentation de l'eucalyptus (<i>Eucalyptus globulus</i>).....	31
I.1.1.2. Présentation de l'ail (<i>Allium sativum</i>).....	33
I.1.2. Présentation de <i>S.oryzae</i>	34
I.2. Matériel du laboratoire.....	34
II. Réalisation de coupes anatomiques pour l'étude des structures sécrétrices d'huiles essentielles des plantes étudiées au microscope optique.....	35
III. Evaluation de l'activité anti-oxydante des huiles essentielles étudiées.....	26
IV. Évaluation de la bio-activité des huiles essentielles.....	37
IV.1. Test de répulsivité sur les adultes de <i>S.oryzae</i>	37
IV.2. Test de fumigation sur les adultes de <i>S.oryzae</i>	38
IV.2.2.Calcul des DL ₅₀	39
V. Analyse statistique.....	40
V.1. Test ANOVA.....	40

Chapitre 3 : résultats et discussion

I.Résultats.....	41
I.1. Mise en évidence des structures sécrétrices d'huiles essentielles des plantes étudiées.....	41
I.2. évaluation de l'activité anti-oxydante des huiles essentielles étudiées.....	44
I.3. Evaluation de la bio-activité des huiles essentielles contre les adultes de <i>S.oryzae</i> par répulsion.....	49

I.4. Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles contre les adultes de <i>S.oryzae</i> par fumigation.....	51
II. Discussion.....	55
II.1. traitement par fumigation.....	55
II.2. traitement par répulsion.....	60
Conclusion.....	62
Références bibliographiques.....	64

Annexe :

Tableau 1. Analyse de la variance au seuil 5% pour les taux de mortalité des adultes de *S.oryzae* traité avec les HE d'*E.globulus* et *A.sativum* par fumigation aux différentes doses, et différentes durées d'exposition.....75

Tableau 2. Doses d'huile essentielle d'*A.sativum* transformées en logarithmes décimaux (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).....75

Tableau 3. Doses d'huile essentielle d'*E.globulus* transformées en logarithmes décimaux (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).....75

Introduction

Introduction

Les céréales et leurs dérivés représentent une source majeure de protéines dans de nombreux pays en développement, Silvy (1992) affirme qu'environ 100 millions de tonnes perdues pendant le stockage sont enregistré sur ces denrées, dont 13 millions sont causées par les insectes. Alors que dans les pays développés ces pertes sont de l'ordre de 3%, en Afrique elles atteignent 30% (Silvy, 1992).

De plus, l'utilisation généralisée des insecticides pour protéger les stocks de récoltes a entraîné des résistances chez les insectes traités, et des problèmes liés à la santé de l'homme et l'environnement (Leonard et Ngamo, 2004).

Il est plus qu'important de rechercher des moyens de limiter l'usage de ces pesticides dangereux. À cette fin, de nombreux travaux récents se sont concentrés sur la recherche de substances ayant des capacités insecticides et respectueuses de la santé humaine et de l'environnement.

Les produits d'origine naturelle, notamment issus du règne végétale occupent désormais une place importante dans les systèmes de contrôle, tant dans les pays développés que dans les pays en développement, et leur rôle dans la recherche en médecine botanique dans certains pays du monde n'est plus à prouver (Lahlou, 2004).

En effet, les dérivées de substances naturelles, en particulier les huiles essentielles, représentent actuellement une des meilleures solutions alternatives pour protéger les denrées stockées.

Au cours de la dernière décennie, leur utilisation a fait l'objet de plusieurs efforts de recherche et a suscité un intérêt scientifique considérable, comme en témoigne le nombre d'efforts visant à évaluer l'efficacité des huiles essentielles dans la protection des céréales et le stockage des produits alimentaires (Shaaya et al., 1997 ; Kellouche et Soltani, 2004).

La problématique générale de ce mémoire concerne la valorisation des ressources végétales d'intérêt agronomique dans le cadre de la protection de l'environnement et la santé en

Introduction

contribuant à la recherche de molécules naturelles qui remplaceraient les insecticides chimiques appliqués au niveau des milieux de stockage des denrées.

Dans cette optique, nous proposons dans ce travail et à travers notre expérimentation d'évaluer les potentialités bio-insecticides de deux huiles essentielles extraites à partir de deux plantes appartenant à deux familles botaniques différentes : *Eucalyptus globulus* (Myrtacées) et *Allium sativum* (Amaryllidaceae), retenues pour leurs propriétés pharmacologiques, insecticides et leur utilisation traditionnelle. Cette évaluation a été réalisée sur un important ravageur des denrées céréalières stockées à savoir le charançon du riz : *Sitophilus oryzae* (Coleoptera : Curculionidae).

Notre travail s'articule principalement autour des axes suivants :

- ✓ Dans le premier chapitre nous avons abordé les aspects bibliographiques, dans lesquels nous avons passé en revue les informations concernant les huiles essentielles et *Sitophilus oryzae* (L).
- ✓ Le deuxième chapitre est consacré au matériel et méthodes utilisées.
- ✓ Dans le troisième chapitre sont exposés les résultats expérimentaux, leurs discussions et leurs interprétations, qui se termine par une conclusion.

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur la plante hôte

C'est il ya environ 10 000 ans, lors de la révolution néolithique que l'homme a commencé à cultiver du riz. Il s'est d'abord développé en Chine puis dans le reste du monde. La récolte du riz sauvage a en effet été confirmée en Chine dès 13 000 av. J-C. Puis ce riz a disparu probablement à cause de la sécheresse, et le riz cultivé est apparu vers 9000 av.J-C. Après croisement avec l'espèce sauvage pérenne *Oryza rufipogon* (moins de 680 000 ans) (Gao et al., 2006) et l'espèce sauvage annuelle *Oryza nivara*, ces différentes espèces de riz ont coexisté pendant des milliers d'années, facilitant les échanges génétiques. Ce n'est qu'il y a environ 5 000 ans en Chine que le riz domestique a arrêté la mutation et l'hybridation et est devenu la seule forme de culture du riz.

Le riz est une céréale appartenant à la famille des Poaceae (anciennement appelé Graminées), qui pousse dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées chaudes, dont le fruit ou caryopse est riche en amidon. Il spécifie toutes les plantes du genre *Oryza*, dont les deux seuls espèces cultigènes (Mollard et al., 2008), qui sont cultivés le plus souvent dans des champs plus ou moins inondés appelés rizières : *Oryza sativa* (couramment appelé « riz asiatique ») et *Oryza glaberrima* (couramment appelé « riz ouest-africain » ou « riz de Casamance »).

Dans le langage courant, le terme riz désigne le plus souvent son grain, élément essentiel de l'alimentation de nombreuses populations à travers le monde, notamment en Asie, Amérique du Sud, et en Afrique. C'est la première céréale mondiale de consommation humaine car elle représente à elle seule 20 % des besoins énergétiques alimentaires mondiaux, et la deuxième après le maïs en termes de tonnage récolté. Le riz est un aliment de base des cuisines asiatique, indienne, et malgache (FAO, 2004).

➤ Position systématique du riz

Selon (Tateoka, 1963), le riz appartient au :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta (vasculaire)

Division : Magnoliophyta (angiospermes)

Classe : Liliopsida (monocotylédones)

Sous-classe : Commelinidae

Ordre : Cypéales

Famille : Poaceae (anciennement appelées graminées)

Genre : *Oryza*

Espèce : *Oryza sativa*

Nom anglais : Rice

➤ **Origine botanique du riz.**

Des auteurs tels que (Sarla et al., 2005) pensent que le riz est originaire de deux régions : l'espèce *Oryza glaberrima* d'Afrique et l'espèce *Oryza sativa* du sud de la Chine. L'homme a commencé à cultiver le riz pendant la révolution néolithique, mais ses origines sont bien plus anciennes puisque des traces de riz ont été trouvées sur l'ancien continent indo-africain du Gondwana il y a 600 millions d'années. Il existe des milliers de variétés de riz cultivé, qui se répartissent en trois groupes : le groupe *japonica*, à épillets courts, le groupe *indica*, à épillets très longs et groupe intermédiaire, ou *javanica*. On peut aussi les classer selon leur degré de précocité, selon la durée de leur cycle végétatif, avec une moyenne de 160 jours, soit en variétés très précoces (90 à 100 jours) ou précoces, semi-précoces, tardives, très tardives (plus de 210 jours). Selon le mode de végétation, on distingue des variétés aquatiques qui poussent en terres inondées, les variétés de montagne qui croissent en culture sèches ou pluviales, ou encore les variétés flottantes. La variété « riz sauvage » appartient à un genre voisin, la zizanie (*Zizania Aquatica L.*), originaire du nord des États-Unis. La culture est appelé riziculture et les champs cultivées rizières. Elle requiert un taux important d'humidité (Sasaki et Moore, 1997).

➤ **Description du plant de riz**

C'est une plante annuelle glabre à chaume (la paille) dressée ou étalée, dont la hauteur varie de moins d'un à deux mètres, et jusqu'à cinq mètres pour les riz flottants. Elle est prédisposée au tallage et forme un bouquet de tiges, à racines fasciculées (Figure 1). Les Fleurs, en épillets uniflores, sont groupées en panicules de 20 à 30 cm, dressées ou pendantes. Le fruit est un caryopse enfermé dans deux glumelles grandes, coriaces et adhérentes, l'ensemble formant le paddy. On distingue en fonction de la texture du grain les variétés : ordinaires, à tégument blanc ou rouge et glutineuses (ou riz gluant). Les variétés de riz africains sont généralement rouges (Camara, 2009).

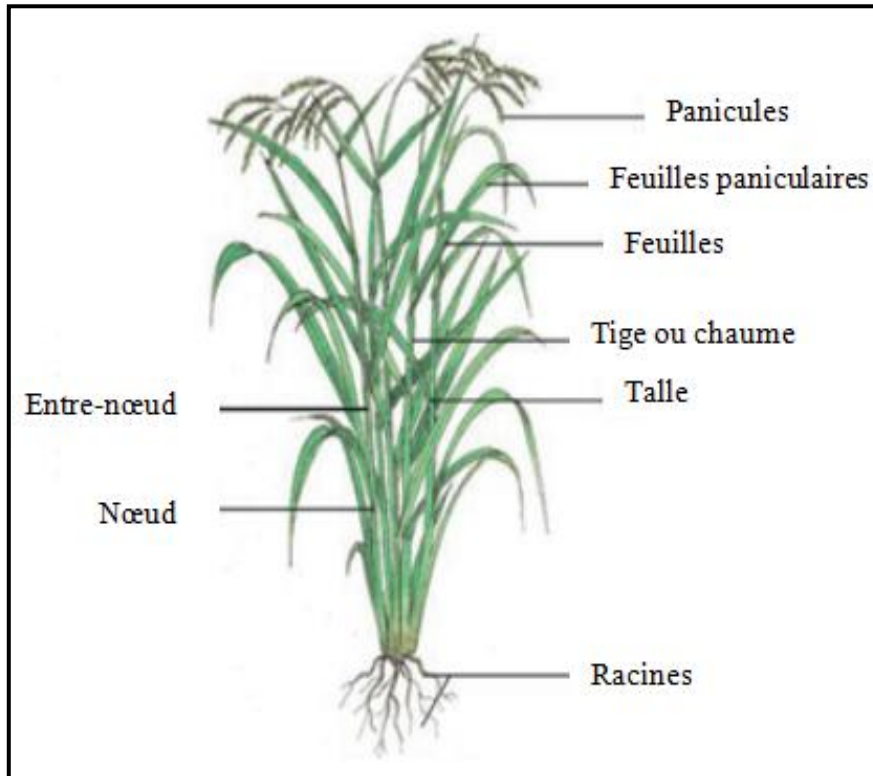


Figure 1 : Plant de riz (ADRAO, 1995).

➤ Structure d'un grain de riz

Le grain de riz est le fruit obtenu après la fécondation de l'ovaire, La forme et la taille, la longueur et la largeur des grains sont très différentes selon les variétés. Dans la plupart des cas, la longueur du grain de riz varie de 4 à 10 mm et sa largeur atteint les 3,5 mm. Puisque le riz est une céréale vêtue, le riz paddy est enveloppé de deux pièces florales rigides : les glumes et les glumelles. Ces enveloppes sont détachées après traitement technologique tel que l'usinage ou pilonnage pour obtenir respectivement du riz usiné ou du riz pilonné. Le riz cargo est un grain qui est débarrassé de ses enveloppes externes après décorticage. Le riz blanchi est un grain qui est dépouillé de ses téguments après blanchissage. Sur la partie externe du grain, on trouve le péricarpe. Ce dernier, coloré rouge donne les variétés dites "riz rouge", couleur qui se perd plus ou moins lors du processus de blanchiment (Dufournet, 1965). La partie comestible du riz, le caryopse, se compose de trois parties : l'enveloppe, l'albumen et l'embryon ou le germe.

L'enveloppe externe qui constitue le son, est riche en nutriments divers : teneur non négligeable en protéines (7%), en lipides (2%), en éléments minéraux, en vitamines du

groupe B (excepté vitamine B12) et très riche en fibres (cellulose, hémicellulose et lignine).

L'albumen ou endosperme est constitué de différentes couches cellulaires de l'extérieur vers l'intérieur : la couche d'aleurone et subaleurone riche en protéines et en lipides et d'autres couches de cellules amylicées.

La couche d'aleurone recouvre la partie inférieure de l'albumen qui forme le germe. Ce dernier se détache plus facilement et constitue un organe de réserve riche en protéines et en lipides.

Le riz cargo se compose de couches externes du péricarpe, du tégument et du nucelle, ainsi que du germe et de l'albumen, ce qui le rend plus nutritif (Juliano et Bechtel, 1985).

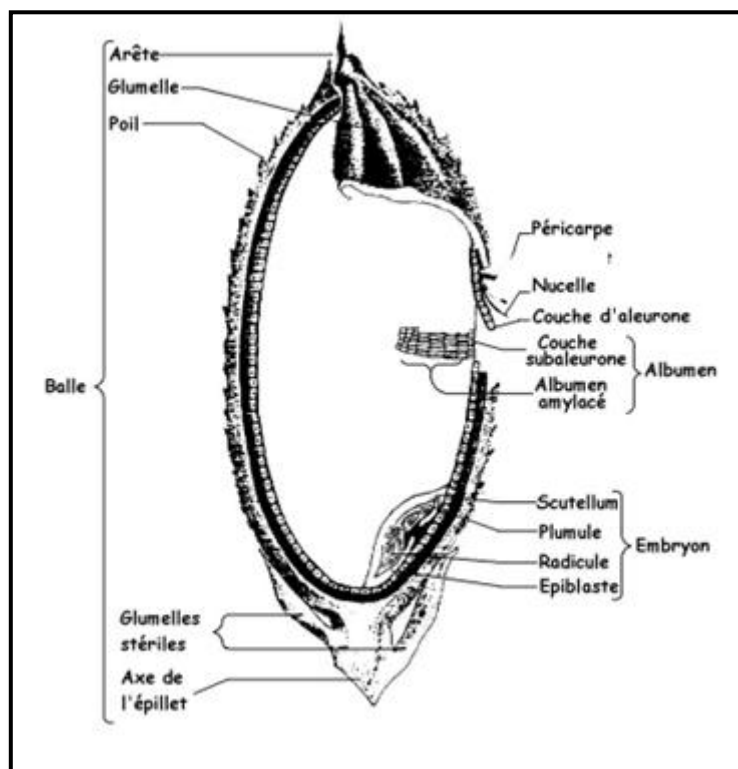


Figure 2 : Coupe transversale du paddy (Gix, 2008).

Néanmoins, les stocks de riz sont sans cesse confrontés aux attaques de différents insectes ravageurs qui causent des dégâts économique et des pertes considérable et ce beaucoup plus dans les pays en voie de développement, qui ne peuvent pas se permettre d'aussi grandes

pertes sur la denrée précieuse qu'est le riz et les céréales en général qui représentent un aliment de base.

Les graines de riz entreposées sont souvent confrontées à de multiples agressions par les insectes appartenant à l'ordre des Coléoptères pendant le stockage et la conservation.

Ces insectes se divisent en deux groupes :

- Les ravageurs primaires : qui s'attaquent aux grains intacts, dont *Sitophilus oryzae* (Coleoptera : Curculionidae).
- Les ravageurs secondaires : qui ne peuvent attaquer le grain qu'à partir de l'ouverture résultante par le ravageur primaire comme voie d'entrée, dans ce cas de ravageur secondaire, on retrouve *Tribolium confusum* (Duv.) (Bekon et Fleurat, 1989).

S.oryzae (L.) est un ravageur cosmopolite et est considéré comme l'une des espèces les plus dévastatrices de céréales entreposées (Grenier et al., 2000). C'est un ravageur primaire qui infeste facilement les graines saines, permettant aux ravageurs secondaires qui ne peuvent pas pulluler sur les graines saines de causer des dommages supplémentaires (Hill, 1990).

II.1.Caractères généraux de la famille des Curculionidae

Les Curculionidae sont une famille d'insectes phytophages appartenant à l'ordre des Coléoptères et constituent la famille la plus importante du groupe des Rhynchophora.

Elle se compose d'insectes facilement identifiable par leur tête se prolongeant en un bec allongé à l'extrémité du quel se situent les organes buccaux broyeurs (le rostre) (Lepesme, 1944).

Cette famille pourrait regrouper plus de 200 000 espèces à travers le monde, dont quelque 53 000 sont décrites (Hoffmann, 1950), ce qui constituerait la plus grande famille du règne animal en nombre d'espèces, elle est divisée en 9 sous-familles.

C'est un groupe très hétérogène caractérisé par des systèmes internes très complexes. (Delobel et Tran 1993).

II.2 Charançon du riz *Sitophilus oryzae* L.

II.2.1. Position systématique de *S.oryzae*

Il a été décrit pour la première fois par Linné en 1753 et nommé *Curculio oryzae*, puis corrigé par Cinz en 1959 en l'actuel *Sitophilus oryzae* (Steffan, 1978).

Il lui a été donné plusieurs synonymes tels que; *Calandra oryzae* (Fabricius) Gistel, 1848; *Calandra Minor Sasaki*, 1899, *Calandra sasakii Takahashi*, 1929.

On l'appelle communément charançon ou calandre du riz en français et rice weevil en anglais (Lepesme, 1944)

S.oryzae appartient à la famille des Curculionidae, actuellement rangé parmi les Dryophthoridae de la sous-famille des Dryophthorinae du genre *Sitophilus* (Delobel et Tran 1993), qui, outre le charançon du riz, comprend deux autres espèces d'intérêt économique :

- *Sitophilus granarius* ou charançon du blé (Linnaeus,1959).
- *Sitophilus zeamais* ou charançon du maïs (Motschulsky), 1855.

Selon Lepesme (1944), *S.oryzae* L est classé comme suit :

Règne: Animalia

Embranchement: Arthropoda.

Classe: Insecta.

Ordre: Coleoptera.

Sous ordre: Heterogastra.

Famille: Curculionidae.

Sous famille: Calandrinae.

Genre: *Sitophilus*

Espèce: *Sitophilus oryzae*(L.)

II.2.2. Origine et répartition géographique de *S.oryzae*

S.oryzae est une espèce inféodée aux régions tropicales et Subtropicales, bien que le pays d'origine de cette espèce soit la région indienne. Il s'avère qu'en raison du commerce international, cet insecte est actuellement distribué dans le monde entier.

En zone tropicale, *S.oryzae* L. est souvent confondu avec *Sitophilus zeamais*, Espèces très similaires, mais de plus grosses taille, et qui déprécie surtout le maïs (Godon et Willm, 1991).

En effet, contrairement au charançon du maïs, *S.oryzae* ne se multiplie pas dans les champs, mais prolifère uniquement dans les graines stockées. C'est une espèce très résistante au froid et qui n'hiverne pas dans des conditions de température ambiante.

II.2.3. Description morphologique des différents stades du charançon du riz

- L'œuf

Les œufs fraîchement pondus sont piriformes, opaques blanchâtres et brillants, devenant rosâtres avant l'éclosion. Chaque œuf mesure entre 0,5-0,8 mm de long et 0,2-0,3 mm de large (Steffan, 1978) et est capable d'atteindre 0,46 mm de long et 0,11 mm de large à l'éclosion (Sattigi, 1982). Il est recouvert d'un enduit collant avec une protubérance qui lui permet d'adhérer et se fixer à la denrée infestée (Rivnay, 1962) (figure 3).

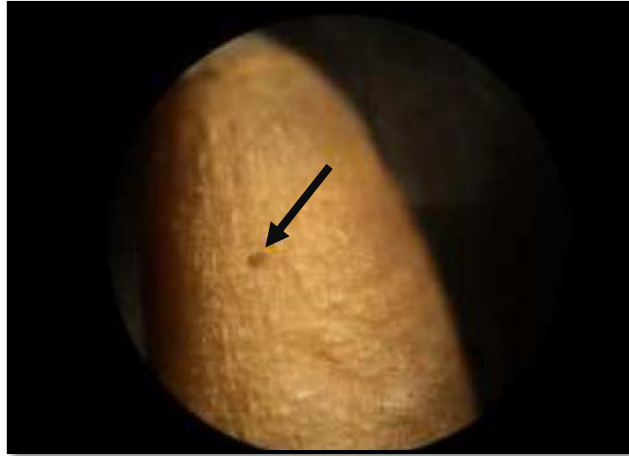


Figure 3 : Trou de ponte de *S.oryzae* (Benazzeddine, 2010).

➤ **La larve**

Elle est blanchâtre de forme subcirculaire, se caractérise par son aspect ramassé. Très peu velue, sa tête est d'un brun clair, portant des mandibules plus sombres, fortes et triangulaire (Steffan, 1978).

elle se distingue des autres larves de coléoptères des denrée stockées par l'absence de pattes d'une part, et d'autre part, physiologiquement, par le nombre de mues constant et faible, comptant 3 mues pour les 4 stades larvaires (Lacoste, 1970 ; Steffan, année 1978). À maturité, les larves mesurent de 2,5 à 3 mm de long (Delobel et Tran, 1993) (figure 4).



Figure 4 : Larve de *S.oryzae* (Gx30) (MADENE, 2014).

➤ **La nymphe**

La nymphe est de forme cylindrique, de 3,75 à 4 mm de long et 1,75 mm de large, et sa couleur passe du blanc au brun à mesure qu'elle évolue en subissant la mélanisation et la sclérotinisation de la cuticule (Rivnay, 1962) (figure 5).



Figure 5 : Nymphe endogène de *S.oryzae* (Gx30) (Photo originale, 2022).

➤ **L'imago (l'adulte)**

L'imago est un petit coléoptère de 2,5 à 4 mm (Delobel et Tran, 1993; Lacoste, 1970 in Fleurat-Lessard, 1982), brun rougeâtre plus ou moins foncé, présentant fréquemment deux taches ocres souvent indistinctes sur chaque élytre (Delobel et Tran, 1993). Le pronotum recouvert de ponctuations oblongues est traversé par une ligne médiane non ponctuée. Les antennes sont coudées, et se composent généralement de 8 parties se terminant en massue (figure 6).



Figure 6 : Adulte de *S.oryzae* (Gx30) (Photo originale, 2022).

II.2.4. Biologie et cycle de développement de *S.oryzae*

S.oryzae est un charançon nocturne plus actif la nuit que le jour. Il peut vivre éternellement dans l'obscurité totale, ces déplacements sont relativement rapides, il peut voler, il se propage donc rapidement dans les entrepôts (Steffan in Scotti, 1978).

Les imagos acquièrent la maturité sexuelle le jour même de leur sortie du grain, ils s'accouplent lorsqu'ils sont âgés de trois jours, leur accouplement dure de 15 minutes à 1h30, et se répète plusieurs fois au cours de leur existence (Balachowsky, 1962). Une à deux semaines après l'accouplement, le ponte a lieu à une certaine profondeur dans le grain.

Les observations suggèrent que les femelles choisissent les grains avant de pondre. Elles peuvent détecter des œufs ou des larves déjà présentes dans un grain. Elles ne pondent jamais d'œufs dans des grains déjà occupé. Les femelles de *S.oryzae* (L.) creusent le grain et pondent des œufs dans chaque trou, puis bouchent les trous de ponte avec du mucus sécrété par l'oviducte. Au cours de sa vie, la femelle pond en moyenne 300 œufs, avec un maximum de plus de 500 (Rivnay, 1962).

Dans des conditions favorables, l'insecte passe par trois stades larvaires en un mois. Les larves du dernier stade développent une sorte de chambre de nymphose, ou elles passent d'abord par un stade prénympal qui dure de 20 à 50 heures, puis se transforme en nymphe.

Selon Lepesme (1944), les calandres hivernent à la fois sous forme d'adultes et de larves. Dans cet état, ils ne sont pas pleinement actifs.

D'après Steffan in scotti (1978), les adultes émergent à une température de 28°C et une humidité relative de $70 \pm 5\%$. Ces conditions sont considérées comme optimales pour la croissance; leur développement peut commencer avec des niveaux d'humidité du grain supérieurs à 9%. Dans ces conditions, la durée du cycle de développement est de 25 jours. Leur durée de vie peut dépasser 4 mois. Le cycle de développement de *s.oryzae* est résumé par le schéma de la figure 7.

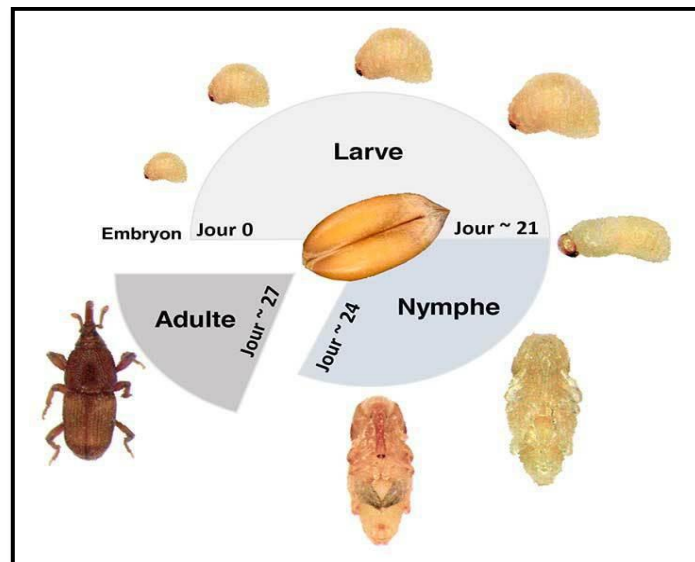


Figure 7 : Cycle de développement de *S.oryzae*. (CORDONNIER, 2021).

II.2.5. Importance économique et Dégâts

Selon Godon et Willm (1991), le risque global d'infestation par le charançon du riz sur le blé et le riz est en moyenne de 80 %. Cela peut entraîner des pertes pondérales et détérioration qualitative des denrées stockées, ce qui peut entraîner la prolifération des ravageurs secondaires et des infections cryptogamiques. Lepigre (1951), rapporte qu'une seule larve de charançon est capable de vider presque un grain de blé ou de riz au cours de son développement et cela sans altérer l'enveloppe extérieure (figures 8 et 9).

Leurs hôtes préférés sont le blé, l'orge, le maïs et le riz. Parfois même, ils se nourrissent du millet, de châtaignes, de pommes de terre séchées, de figes sèches, de feuilles ou du tabac manufacturé.

Les céréales produites localement en Algérie sont plus ou moins sensibles aux attaques des insectes de stockage entraînant, selon les années, des pertes en Afrique qui pourraient atteindre plus de 20 % (FAO, 2012).



Figures 8 : Grains vidés par *S.oryzae* sur des grains de riz (Gx40) (Photo originale, 2022).



Figure 9 : Charançon adulte émergeant d'un grain d'orge complètement vidé (Gx40) (Photo originale, 2022).

II.2.6. Ennemis naturels de *S.oryzae*

Nombreux sont les parasites qui arrêtent les dégâts causés par ces charançons en s'attaquant à leurs larves et nymphes. Les plus courants sont de l'ordre des Hyménoptères de la famille des Pteromalidae et Bethylidae (Kellouche, 1987).

Certains membres des autres familles peuvent éventuellement être trouvés occasionnellement dans les stocks de denrées, ayant émergé du corps d'autres insectes, mais seules ces deux familles sont régulièrement rencontrées. Ils sont techniquement appelés "parasitoïdes", car seul le stade larvaire est parasité (les larves âgées) (Kellouche, communication personnelle).

Au sein de la famille des Pteromalidae, se trouvent de nombreuses espèces parasites d'importants ravageurs des plantes cultivées en termes de dégâts, et elles sont importantes en tant que partie du complexe de contrôle naturel régulant les populations d'insectes nuisibles bien que leur utilisation n'est pas vraiment très répandue. Il existe différents niveaux de spécificité d'hôte au sein de la famille, mais il est fréquent que chaque genre de guêpe s'attaque à une famille d'insectes, ou à une partie d'une famille (Hill, 2003).

Trois espèces sont particulièrement importantes en tant qu'ennemis naturels des coléoptères des produits stockés, mais il n'est pas certain qu'elles aient un réel effet sur les populations de ravageurs : *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1981), *Chaetospila elegans* (Westwood, 1874), *Lariophagus distinguendus* (Foerster, 1841).

➤ *Chaetospila elegans*

Anciennement appelé *Theocolax elegans* ce parasite est une espèce de petits chalcidiens (hyménoptères apocrites térébrants) de la famille des Pteromalidae et de la sous-famille des Cerocephalinae.

Les larves de ces guêpes parasitent le genre *Sitophilus* (figure 11) et le stade larvaire de certains autres ravageurs des denrées alimentaire stockées notamment *Lasioderma*, *Rhizopertha* et *Prostephanus*.

• Position systématique

Selon westwood, (1874) *C.elegans* est classé comme suit :

Règne: Animalia

Embranchement: Arthropoda

Classe: Insecta

Ordre: Hymenoptera

Super-famille: Chalcidoidea

Famille: Pteromalidae

Sous-famille: Cerocephalinae

Genre: *Theocolax*

Espèce: *Theocolax elegans* (Westwood, 1874)

Synonyme = *Chaetospila elegans* Westwood, 1874

- **Caractéristiques et biologie de *C.elegans***

Ces parasitoïdes hyménoptères sont très petits (1-2 mm) et ne se nourrissent pas du grain (figure 10). Ils meurent ou quittent le grain en 5 à 10 jours si aucun coléoptère n'est présent dans le grain. Ces parasitoïdes se trouvent naturellement dans le grain stocké, ce qui suggère qu'une fois libérés, ils peuvent continuer à supprimer les ravageurs pendant de nombreuses années (FLINN et al, 1998) comme les guêpes adultes sont externes au grain, elles peuvent être facilement retirées de celui-ci à l'aide des procédés de nettoyage habituels.

Concernant la biologie de *C.elegans* La femelle paralyse la larve hôte avant de pondre généralement un œuf unique. La larve de ce chalcidien est ectoparasite solitaire.

D'après BARE (1942), la durée de développement de ce parasitoïde est de 18 à 23 jours généralement, dans des conditions expérimentales non précisées.

A titre d'exemple, l'incubation et le développement larvaire durent 10 jours et les nymphes acquièrent leur pigmentation 7 jours plus tard ; les adultes émergent au bout de 19 jours pour les males et 21 jours pour les femelles, à 25°C et 70% d'hygrométrie sur les larves de *S.oryzae*, néanmoins d'autres études montrent que la durée et les conditions de développement sont plus ou moins différentes selon les espèces hôtes parasités (kellouche, 1987).

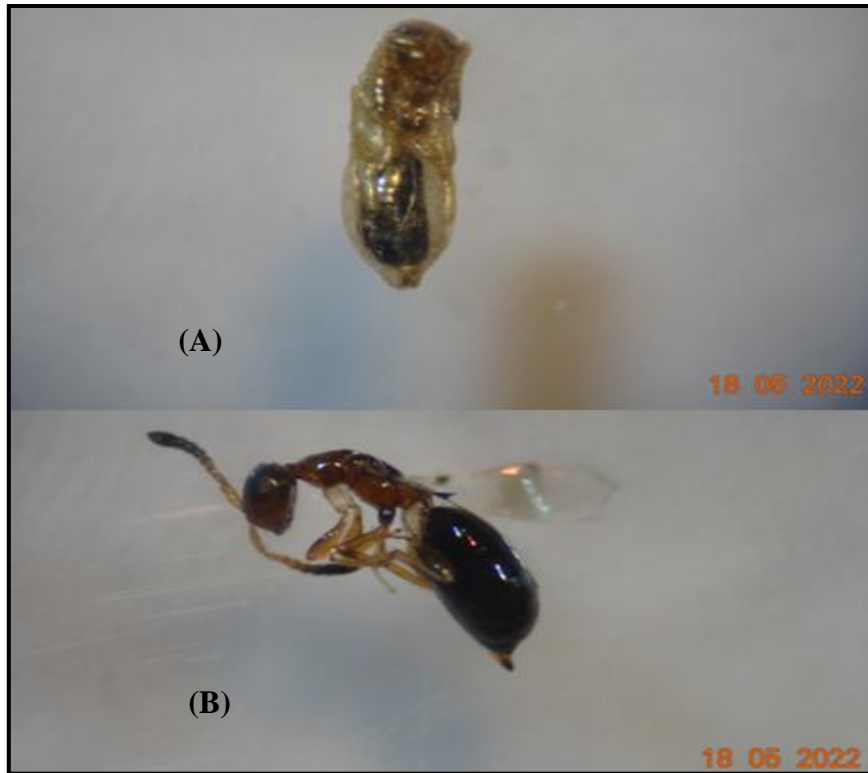


Figure 10 : Nympe (A) et adulte (B) de *C.elegans* parasitoïde de *S.oryzae* (Gx40) (Photo originale, 2022).



Figure 11 : *C.elegans* retrouvé dans notre élevage en masse de *S.oryzae* (Gx40) (Photo originale, 2022).

II.2.7. Lutte

Protéger les céréales stockées contre les agressions d'insectes et d'acariens soulève toutes sortes de problèmes, il faut donc invoquer un ensemble de techniques différentes, qu'il est important d'appliquer avec réflexion. La principale préoccupation d'un stockeur est de garder son inventaire de céréales intact.

II.2.7.1.Lutte préventive

Il est largement admis que plus de 80 % de la lutte contre les insectes repose sur Les interventions sanitaires reposant sur :

- ❖ **Une protection des locaux de stockage** : avant de mettre en stock les denrées, un bon nettoyage des structures de stockage est Nécessaire :
 - balayage correcte des locaux, brossage des murs et colmatage des fissures ;
 - Tous les déchets balayés et rassemblés doivent être détruits car ils peuvent constituer un foyer d'infestation. Dans les magasins, les sacs vides doivent être traités et les vieux sacs doivent être détruits.
 - Tels que les locaux de stockage, les alentours des bâtiments, doivent être propres et parfaitement dégagé (Belmouaz, 2004).
- la désinsectisation de l'emballage et des locaux de stockages qui doivent être hermétiquement fermés ainsi que la denrée destinée au stockage
- Utilisez des emballages solides tels que les sacs doublés en polyéthylène, des sacs en coton que Les insectes ne peuvent pas percer (Amari, 2014).
- ❖ **Une protection de la denrée** : avant stockage, le produit doit être correctement nettoyé, la présence de casse constitue un facteur favorable au développement des insectes.

Tout nouveau lot doit a priori être considéré comme suspect et correctement inspecté, car l'introduction de produits attaqués, même en petite quantité, peut infecter les magasins ou les silos. La lutte contre les insectes est souvent vaine si l'on ne considère pas que c'est l'ensemble des structures de stockage qui doit être correctement entretenu, et si l'on ne respecte pas les principes fondamentaux qui peuvent prévenir l'infestation (Aidani, 2015).

II.2.7.2.Lutte curative

La lutte curative vise donc à éliminer et empêcher les insectes déjà présents de s'introduire dans le stock et de se multiplier

II.2.7.2.1. Méthodes traditionnelles

Les méthodes traditionnelles sont basées sur :

- L'enfumage des denrées les plus importantes pour les producteurs sont souvent stockées par-dessus des foyers domestiques, ils sont donc enfumés presque en permanence. Cet enfumage ne tue pas les insectes, mais les éloigne et évite les infestations comme *Pistacia lentiscus*.
- Exposition au soleil : L'exposition des denrées à un fort rayonnement solaire favorise le départ des insectes adultes ne supportant pas les températures élevées ou la lumière forte (en stock les insectes se replient souvent dans les endroits sombres). Le produit doit être déposé en fines couches, et les formes cachées dans le grain ne sont pas atteintes.
- Utiliser des plantes répulsives : Dans certaines régions, il est d'usage de mélanger les grains avec des plantes qui ont des propriétés insectifuges. A l'image du piment, poivre noir, basilic...
- Utiliser de matières inertes : De la cendre ou du sable fin est mélangé aux grains. Ces matériaux poudreux Comblant les vides entre les grains et forment des obstacles à la progression des femelles cherchant à pondre des œufs, et provoquant leur déshydratation. Dans tous les cas, le matériau doit être Propre et de taille suffisamment fine (Aidani, 2015).

II.2.7.2.2. Méthodes de lutte modernes

II.2.7.2.2.1.Lutte chimique

Au fur et à mesure que la chimie se développait, on s'est vite rendu compte qu'il existait tout un arsenal capable de détruire les ennemis de L'homme. Cette méthode a conduit à une Incroyable élimination des ravageurs, du moins à court terme, et a une détérioration parallèle, mais pas nécessairement visible, de la qualité de l'environnement.

Depuis l'avènement des composés organiques synthétiques, les insecticides ont été divisés en Insecticides organiques (organochlorés, organophosphorés, carbamates et pyréthroïdes) qui représentent la grande majorité des Insecticides organiques de synthèse employés ou actuellement utilisés (Ducom, 1978), et inorganique (généralement à base d'arsenic ou fluorosilice, désormais interdit).

Largement répandue, en raison de leur efficacité, ils doivent néanmoins être appliqués avec précaution afin délimiter les risques sanitaires qu'ils peuvent faire peser sur les consommateurs de ces denrées.

Deux types de traitement sont couramment utilisés :

A. Traitement par contact

Il s'agit notamment de recouvrir les grains, l'emballage et les locaux de stockage d'une pellicule de produits insecticides qui agit par contact sur les déprédateurs, son effet est plus ou moins rapide avec un temps d'action plus long.

B. Traitement par fumigation

La fumigation implique l'utilisation d'un « fumigant » (qui est un gaz toxique) pour traiter les graines. Le but principal de la fumigation est de favoriser la pénétration des gaz à l'intérieur du grain, détruisant ainsi les œufs, larves et nymphes qui s'y développent (Cruz et Troude, 1988).

C. Inconvénients

La lutte chimique s'avère efficace dans la protection des stocks contre les attaques des ravageurs (Fleurat-Leussard, 1978), son utilisation est malheureusement limitée par de nombreuses contraintes telles que les problèmes liés à la pollution de la biosphère à court ou à long terme car les recherches sur la dispersion des pesticides dans l'environnement ont démontrés que ces produits sont présents à plusieurs niveaux dans la biosphère qui n'ont pourtant subi aucun traitement (Sahinkaya, 1998).

L'utilisation de ces molécules chimiques a également entraîné des perturbations écotoxicologiques, accompagnées d'une augmentation spectaculaire du nombre d'espèces devenues résistantes aux pesticides chimiques (Isman, 2000), leur dégradation naturelle et spontanée dans le sol est extrêmement rare, La cinétique de leur disparition dans le sol par voie biologique débute toujours par une période de latence plus ou moins longue, durant laquelle le taux de dégradation est proche de zéro :des études ont prouvé que Le DDT (dichloro diphenyl trichloroéthane) a une demi-vie de 10 ans dans l'eau et de 40 ans dans le sol exposé (Lee et al., 2001). (Benayad, 2013).

Tous ces produits phytosanitaires ont un point commun : ils sont Neurotoxiques. Des Résidus de pesticides ont été détectés dans de nombreux étage de la Chaîne alimentaire, on pourra noter également le fait que ces produits sont très couteux.

II.2.7.2.2.2. Lutte physique et mécanique

Ils couvrent toutes les techniques mécano-thérapeutiques qui peuvent potentiellement rendre le stock sain. En général, ces techniques sont inefficaces contre les formes cachées. Elles sont surtout recommandées pour remédier aux problèmes associés aux résidus chimiques liés aux différents Traitements chimiques appliqués aux denrées stockées. Il existe donc déjà plusieurs techniques Essayées et approuvées avec divers succès : broyage mécanique, traitement par le froid et la chaleur, stockage étanche ou sous atmosphère contrôlée et les radiations ionisantes (Benayad, 2013).

II.2.7.2.2.2.1. Lutte par le froid

Le principe est d'abaisser la température de stockage, ce qui Provoque un ralentissement du développement des insectes, qui freine une fois que les températures sont en dessous de 10°C.

II.2.7.2.2.2.2. Lutte par la chaleur

Consiste à une élévation de la température (température au-dessus de 50°C), ce qui induit la mort des insectes. Le passage des produits dans un séchoir élimine les insectes occupant les graines.

II.2.7.2.2.2.3. Radiations ionisantes

Les mâles sont plus sensibles aux rayonnements gamma par rapport aux femelles, et la dose létale dépend de l'insecte ainsi que la durée du traitement.

Le traitement des insectes par rayons gamma, à doses élevées entraine la mort de tous les stades de développement des insectes (Diop et al., 1997), en revanche, l'exposition à faibles doses provoque leur stérilité (Dongret et al., 1997).

II.2.7.2.2.2.4. Radiations non ionisantes

Les infrarouges et radiofréquences, par exemple, peuvent chauffer les produits infestés à des températures mortelles pour tous les insectes qui y sont présents, quelle que soit l'espèce ou le stade de développement (Singh et al., 1988.)

II.2.7.2.2.3. Lutte biotechnique (lutte par confusion sexuelle)

La technique consiste à multiplier les points d'émissions du bouquet de phéromones sexuelles rendant les mâles attirés incapables d'identifier et localiser des femelles de la même espèce (Fargo et al., 1994), ce qui entraîne une réduction du taux d'accouplement et donc le déclin de la génération suivante.

II.2.7.2.2.4. Lutte biologique

Ce mode opératoire s'inscrit dans le cadre du développement durable et de la sauvegarde des écosystèmes. Il vise à réduire le nombre d'insectes ravageurs en exploitant leur ennemis naturels : qui sont soit des prédateurs, des parasites ou des agents pathogènes, ainsi que des produits naturels provenant du règne végétale, comme les poudres minérales, les huiles végétales, ou huiles essentielles etc., issue de la discipline : phytothérapie.

Les plantes aromatiques sont utilisées depuis longtemps en médecine vus leurs propriétés curatives; elles sont traditionnellement utilisées pour protéger les graines entreposées (Sanon et al., 2002). Actuellement, la lutte biologique est le mode le plus privilégié dans les programmes de recherche, compte tenue de ses intérêts économiques et agro-environnementaux qui assurent le maintien d'un équilibre bioécologique (Amari et al., 2014), à l'image de certains composés phénoliques mais principalement les huiles essentielles.

III. Huiles essentielles

Les huiles essentielles, également appelées essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes, présentes en minuscules gouttelettes sur les feuilles, les écorces de fruits, les résines, le bois. Elles sont présentes en faible quantité par rapport à la masse végétale (Padrini et Lucheroni, 1996). Selon la Pharmacopée française (1965), les huiles essentielles sont définies comme : «des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenu dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation» (Bruneton, 1993). Elles sont parfumées et très volatiles (Padrini et Lucheroni, 1996). Généralement, ce sont des vermifuges ou des antiseptiques antibactériens stomachiques. Il existe environ 600 essences utilisés en aromathérapie aujourd'hui, et son essor s'étend aux domaines médical et touristique (Beloued, 1998).

Par conséquent, il est fortement déconseillé d'utiliser les huiles essentielles comme répulsifs cutanés pour la protection personnelle contre les insectes.

III.1. Localisation

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes des plantes telles que: les sommités fleuries (menthe, lavande), les feuilles (eucalyptus, laurier), Rhizome (gingembre), fruit (agrumes, badiane, fenouil), racine (vétiver), graine (noix de muscade), bien que cela soit moins courant dans l'écorce (cannelle) (Yahyaoui, 2005). Elles sont produites par des glandes sécrétrices qui sont localisées sur presque toutes les parties de la plante. Leur sécrétion se fait au sein du cytoplasme de certaines cellules ou s'agrège en petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles (Bouamer et al. 2004).

La synthèse et accumulation d'huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, généralement situées au niveau ou à proximité de la surface de la plante qui sont : cellules à huile essentielle des Lauracées, les poils sécréteur des Lamiaceae, Poches sécrétrices des Myrtaceae, Rutaceae et Lamiaceae, et Les canaux sécréteurs qui sont présents chez de nombreuses familles, (figure 12). De façon intéressante Les organes d'une même espèce peuvent contenir des huiles essentielles différentes en terme de composition selon la partie de la plante d'où elles viennent.

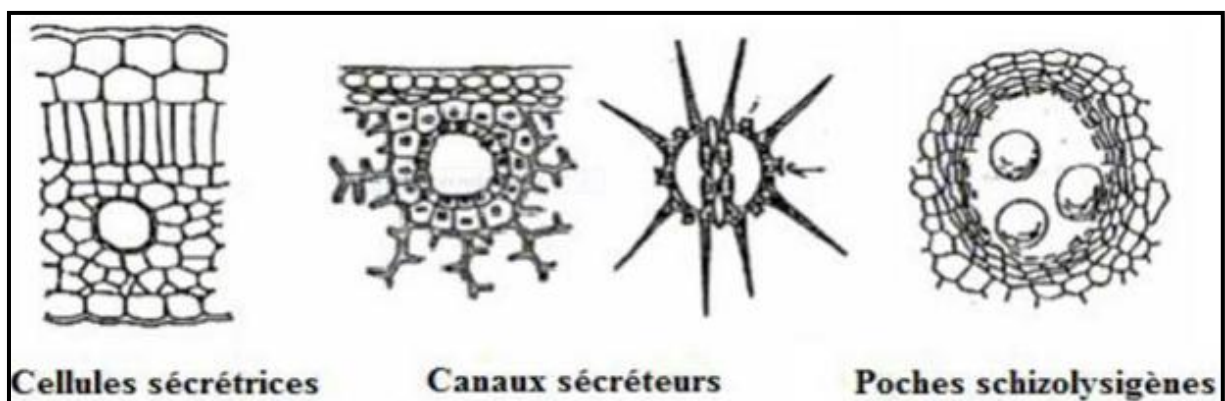


Figure 12 : Quelques organes sécréteurs d'huiles essentielles (Tayoub, 2006).

III.2. Composition chimique

Les huiles essentielles se constituent principalement de deux groupes de composés odorants Différents selon la voie métabolique adoptée ou utilisée. Ce sont des terpènes (monoterpènes et sesquiterpènes), prédominant dans la plupart des essences et composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Kurkin, 2003).

III.2.1. Les monoterpènes

Les monoterpènes sont les composants les plus simples des terpènes, dont la plupart sont présent dans les huiles essentielles (90%). Ils ont deux unités isoprène (C_5H_8), Selon la méthode de couplage "tête-queue". Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. Un certain nombre de produits naturels sont attachés à ces terpènes dont les fonctions chimiques sont spéciales (Padua, 1999).

III.2.2. Les sesquiterpènes

Il s'agit de dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). C'est la catégorie de terpénoïde la plus diversifiée et elle est divisé en plusieurs classes Structurales, acyclique, monocyclique, bicyclique, tricyclique, polycyclique. Ils existent sous forme d'hydrocarbures ou d'hydrocarbures oxygénés Tels que les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (Padua, 1999).

III.2.3. Les composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés Aromatiques dérivés du phénylpropane (Kurkin, 2003). Elle comprend des composés odorants tels que la Vanilline, Eugénol, Anethole, ainsi que de nombreux autres. Leur présence est d'avantage chez Les huiles essentielles des apiacées (persil, anis, fenouil, etc.) et Caractéristiques de celle des clous de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, etc. (Bruneton, 1993)

III.2.4. Composés d'origine diverse

Les huiles essentielles peuvent contenir d'autres produits provenant de la dégradation d'Acides gras tels que : le (3Z)-hexen-1-ol et d'autres résultants de la dégradation des Terpènes, tels que les ionones. De plus, des composés azotés et soufrés peuvent être rencontrés, mais Ils sont généralement rares dans les huiles essentielles (Selles, 2012)

III.3. Rôle physiologique

Les plantes aromatiques produisent des huiles essentielles sous forme de métabolites secondaire, mais leurs rôles exacts dans les processus de la vie du végétale restent inconnus (Rai et et al., 2003). Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes. Les insectes, dans ce dernier cas, facilitent la pollinisation. D'autres la considère Comme source d'énergie, favorisant certaines réactions chimiques, maintenant ainsi l'humidité des Plantes vivant dans les climats désertiques (Belaiche, 1979). Certaines huiles

essentielles sont utilisées pour la Défense des plantes contre les herbivores, les insectes et les micro-organismes (leo et al, 2017).

III.4. Propriétés et caractéristiques

Les huiles essentielles présentent un certain nombre de propriétés physiques en commun qui sont les suivantes :

- elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants. et dans la plupart des solvants organiques, et sont peu solubles dans l'eau.
- elles ont des points d'ébullition allant de 160°C à 240°C.
- Elles sont généralement moins denses que l'eau, allant de 0,75 à 0,99 (les huiles essentielles de saffran, de clou de girofle ou de cannelle sont des exceptions).
- elles ont un indice de réfraction élevé.
- elles sont dextrogyres ou lévogyres et rarement inactives sous lumière polarisée.
- elles dissolvent de manière efficace les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.
- Ce sont des parfums à durée de vie limitée.
- Très volatiles et sensible à l'oxydation.
- Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins liquide, très parfumées et Volatiles.
- À température ambiante, elles sont généralement liquides,
- Ce sont des produits stimulants qui s'utilisent à l'intérieur et à l'extérieur du corps, Parfois pur, généralement dissoutes dans de l'alcool ou un solvant approprié (Bruneton, 1999).

III.5. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

III.5.1. Origine botanique

La composition des huiles essentielles varie selon les espèces productrices (Padrini et Lucheroni, 1996). Il paraît donc utile de souligner l'importance qu'il convient d'accorder à la Nomenclature (Bruneton, 1999).

III.5.2. Cycle végétatif

Pour une plante donnée, les proportions de composants d'une huile essentielle peuvent varier tout au long du processus de développement. Des changements parfois très importants sont généralement observés chez certaines espèces, par exemple pour la coriandre, la teneur

en linalol chez Les fruits mûrs est supérieur de 50 % que chez les fruits verts. Ainsi, le choix de la date de récolte est essentielle (Bruneton, 1999).

III.6. Intérêt thérapeutique, écologique et économique

Les huiles essentielles ont de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries ou au niveau du microbiote vaginale (Viollon et al., 1993). Et d'origine fongique contre les dermatophytes (Chaumont et Leger, 1989). Cependant, ils sont également cytotoxiques, ce qui les rapprochent Par conséquent des antiseptiques et désinfectants agissant comme des agents antibactériens à large spectre (Sivropoulou, 1996).

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs peuvent également être utilisés comme agents protecteurs contre les Champignons phytopathogènes (Zambonelli, 2004) et les organismes qui envahissent les denrées alimentaires (Mangena et al. 1999).

Les huiles essentielles jouent des rôles écologiques dans les interactions plantes, plantes-animaux, et pourraient même constituer des supports de communication par des transferts de messages biologiques sélectifs (Robert et al., 1993).

En effet, elles contribuent à l'équilibre des écosystèmes, attirant les abeilles et Insectes responsables de la pollinisation, protégeant les plantes contre les herbivores et Rongeurs, elles possèdent des propriétés antifongiques, antibactériennes, allelopathiques Dans les régions arides, et peuvent agir comme solvant bioactif pour les composés lipophiles (Torssell, 1983 ; Croteau, 1987).

Traditionnellement, les huiles essentielles étaient présentes dans le processus de fabrication de nombreux produits finis destinés aux consommateurs. Par conséquent, elles sont utilisées dans l'Agroalimentaire (gâteaux, biscuits, soupes, sauces, chocolats, etc.), à fin d'aromatiser les aliments. Elles rentrent également dans la composition des parfums, en cosmétiques et Savonnerie. Elles sont également utilisés dans la fabrication d'adhésifs (colle, ruban adhésif, etc.), dans l'alimentation animale, dans la préparation de sprays Insecticide. L'homéopathie et l'aromathérapie sont des exemples courants d'utilisation des huiles Essentiels en médecine alternative, et leur popularité a considérablement accru ces dernières années (Bakkali, 2007).

III.7. Qualité et rendement des huiles essentielles

La qualité des huiles essentielles dépend de plusieurs facteurs, dont la méthode d'acquisition, l'état de maturité, état de conservation et provenance. En effet, pour être complètement efficace, la plante doit provenir d'un site de culture favorable et avoir été cueillie, bien préparée et conservée soigneusement.

La teneur en huiles essentielles est généralement faible. Le rendement peut donc varier de 1% à 10% (Grosjean, 2013). En effet, pour obtenir quelques grammes d'essence seulement, il faut une grande quantité de matière végétale, Par exemple, pour 100kg de plantes, l'on obtient :

Eucalyptus : 3kg d'essence.

Genièvre : de 0.500 à 1.2kg.

Hysope : 400g.

Pour les essences les plus prisées, comme celle de la rose, le jasmin, ou la fleur d'orange, Les rendements sont encore plus faibles. Il faut au moins trente roses pour extraire une goutte d'essence et mille kilogrammes de fleurs de jasmin pour obtenir un litre (Padrini et Lucheroni, 1996).

III.8. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances très fragiles qui s'abîment facilement, rendant difficile leur conservation. Les risques d'exacerbation sont multiples :

Photoisomérisation, photocyclisation, coupure oxydative du propénylphénols, peroxydation des carbures et décomposition en cétones et alcools (limonène) (Bruneton, 1999). Ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas encapsulés dans des flacons propres et secs en aluminium, acier inoxydable ou verre teinté, à l'abri de la lumière et de la chaleur (Bruneton, 1999; Grosjean, 2013).

III.9. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque, comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation, de plus en plus populaire, tend à se généraliser avec l'avènement de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie (Smith et *al.*, 2000).

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles

riches en cinnamaldéhyde (Smith *et al.*, 2000) ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines (Naganuma *et al.*, 1985).

Les huiles essentielles contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses. Ce sont : Cannelle de Ceylan, Basilic exotique, Menthe, Clou de girofle, Niaouli, Thym à thymol, Marjolaine, Sarriette, Lemon-grass. De plus, certaines huiles essentielles peuvent provoquer des réactions cutanées allergiques. Les réactions de la maladie sont variées et peuvent apparaître jusqu'à 3 jours après le contact du produit avec la peau. Ils vont d'une simple démangeaison à l'eczéma allergique en passant par des plaques, un aspect psoriasique, voire des pigmentations ou dépigmentations locales (Meynadier et Raisonpeyron, 1997 in Pons- Guiraud 2008).

Les cétones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (Grosjean, 2013). Il existe aussi quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers (Homburger *et al.*, 1968). Ainsi, l'administration de 2 gr de menthol (extrait d'huile essentielle Menthe) est mortel et 10 gr d'eucalyptol peut également entraîner la mort. Il est donc indispensable que les huiles essentielles, ne soient plus délivrer en vente libre excepté des huiles Particulièrement diluées pour éviter tout accident (Vassart, 2012).

III.10. Procédés d'extraction

Bien qu'actuellement, de nombreux procédés sont utilisés mais la majorité des huiles essentielles est obtenue par distillation par entraînement à la vapeur d'eau sous basse pression, ce procédé consiste à faire traverser par de la vapeur d'eau une cuve remplie de plantes aromatiques.

Voici quelques une des nombreuses autres techniques d'extraction :

III.10.1. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult). Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules aromatiques qu'elles contiennent. Ces dernières forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité (Pavida *et al.*, 1976). Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger représenté et schématiser dans la figure 13.

Les eaux aromatiques ainsi prélevées sont ensuite recyclées dans l'hydrodistillateur afin de maintenir le rapport plante/eau à son niveau initial. La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait (Pavida et *al.*, 1976).

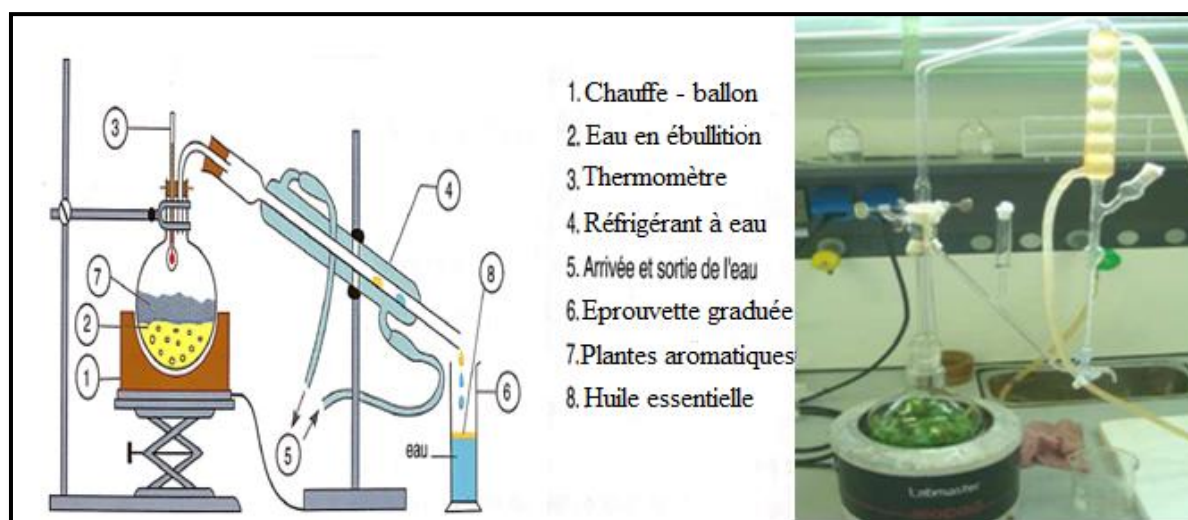


Figure 13 : Montage d'hydrodistillation (EL HAIB, 2011).

III.10.2. L'hydrodiffusion

Est une variante de l'entraînement à la vapeur. Dans le cas de l'hydrodiffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « Vapeur d'eau + huile essentielle » dispersé dans la matière végétale, ce procédé est schématiser dans la figure 14. Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, elle permet un gain de temps (Bruneton, 1993) et une économie d'énergie grâce à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur (Lucchesi 2005).

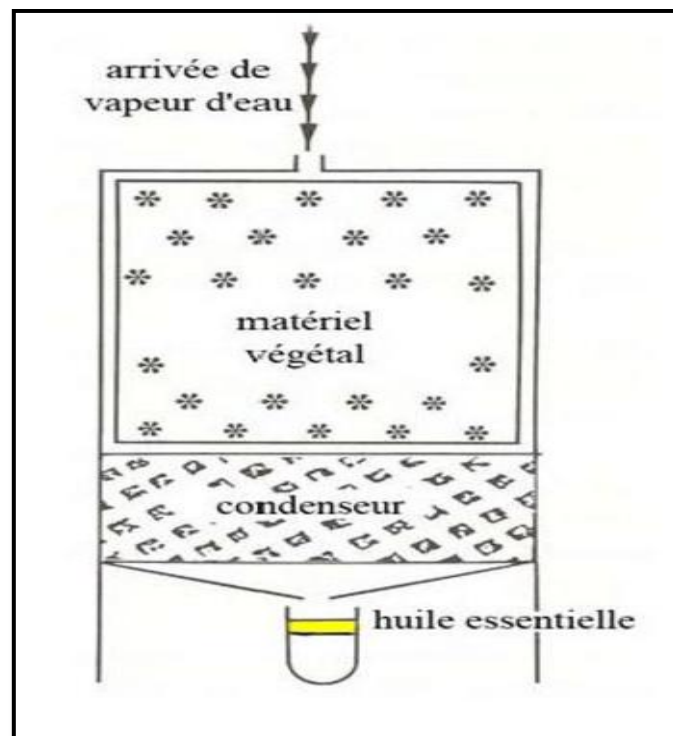


Figure 14 : Montage d'extraction par hydrodiffusion (EL HAIB, 2011).

III.10.3. Extraction par du CO₂ supercritique

La technologie est basée sur la solubilité des composants dans le dioxyde de carbone à l'état super-critique. De par cette propriété, le CO₂ permet une extraction dans le domaine liquide (supercritique) et une séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction sélectionnée. Il est ensuite injecté dans un extracteur contenant du matériel végétal, après quoi le liquide se détend et se transforme en un état gazeux, qui est dirigé vers un séparateur où il sera séparé en extrait et solvant, comme illustré dans la figure 15.

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'élimination et de récupération (recyclage) du solvant par simple compression et détente (Bousbia, 2011). De plus, dans le cas du dioxyde de carbone, la température d'extraction est plus faible et donc non agressive pour les composants les plus fragiles. Cette technique est principalement utilisée pour les essences difficiles à distiller.

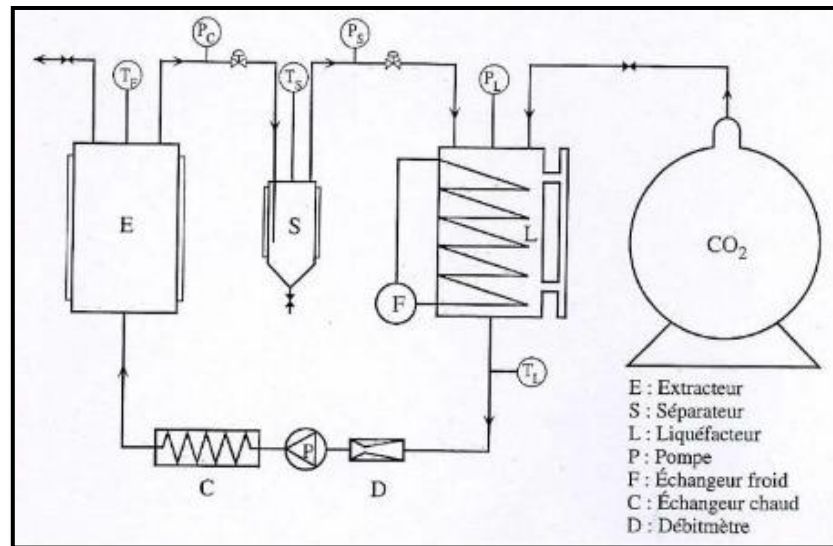


Figure 15 : Montage d'extraction par le CO₂ supercritique (EL HAIB, 2011).

III.10.4. Extraction assistée par micro-onde

Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Elle consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les microondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires (Lucchesi, 2005). L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement, cette technique est schématiser dans la figure 16.

L'avantage principal de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'obtenir un bon rendement d'extrait.

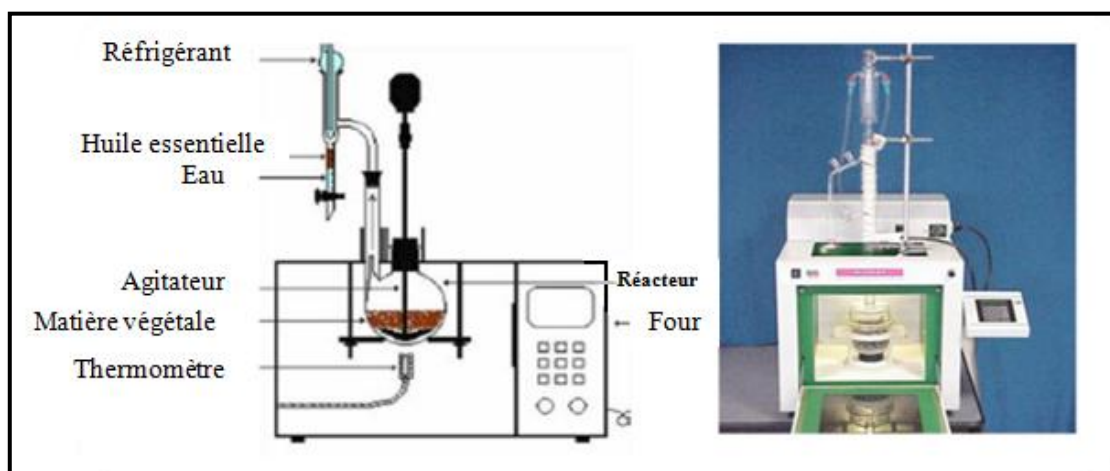


Figure 16 : Montage d'extraction assistée par micro-onde (EL HAIB, 2011).

Chapitre 2

Matériels et méthodes

I. Matériels

I.1. Matériels biologiques utilisés

I.1.1. Huiles essentielles

Les huiles essentielles utilisées ont été extraites avec le procédé d'extraction par **entraînement à la vapeur d'eau** au laboratoire d'entomologie appliqué à l'Ummto qui est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle, comme représenté dans le schéma de la figure 17. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Lucchesi, 2005).

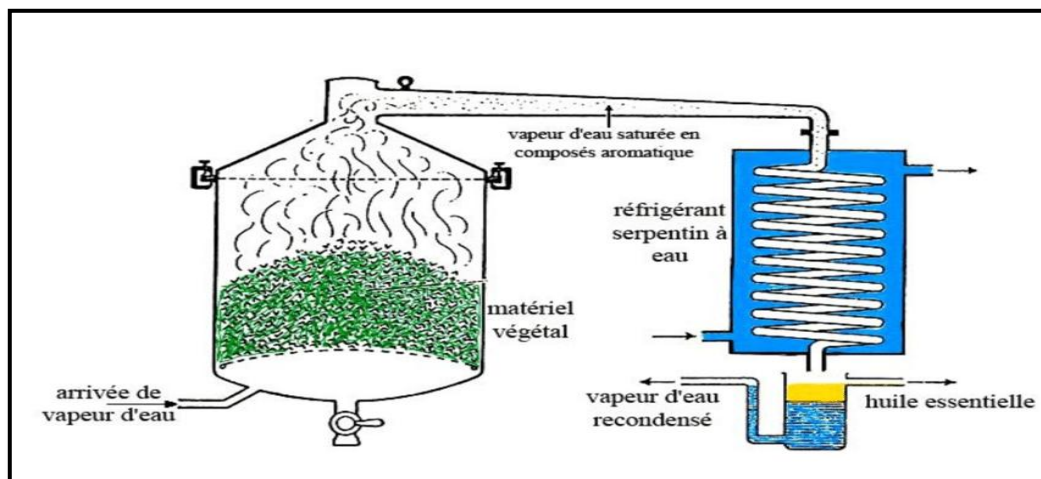


Figure 17 : montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (Lucchesi, 2005).

I.1.1.1. Présentation de l'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*)

- Description botanique

L'Eucalyptus commun ou Gommier bleu (*Eucalyptus globulus*) est un arbre sempervirent appartenant à la famille des Myrtaceae originaire d'Australie. Il est largement cultivé et peut atteindre jusqu'à 92 m de haut.

L'écorce du gommier bleu pèle en larges bandes. Les feuilles des arbres juvéniles apparaissent par paires sur des tiges carrées. Elles mesurent de 6 à 15 cm de long et sont couvertes d'une pruine cireuse bleu-gris, qui est à l'origine du nom de « gommier bleu ». Les feuilles des arbres matures sont alternes, étroites, en forme de faux et d'un vert foncé luisant. Elles poussent sur des tiges cylindriques et mesurent de 15 à 35 cm de long. Les boutons floraux en forme de toupie sont côtelés et recouverts d'un opercule aplati portant un bouton central. Les fleurs couleur crème sont solitaires à l'aisselle des feuilles et produisent un abondant nectar que les abeilles transforment en un miel à saveur prononcée. Les fruits ligneux mesurent de 1,5 à 2,5 cm de diamètre (Goetz, 2008), et leurs capsules sont très dures. De nombreuses petites graines s'échappent par des valves qui s'ouvrent au sommet du fruit (figure 18).



Figure 18 : Feuilles d'*E.globulus* (Photo originale, 2022).

- **Position systématique**

Selon Cronquist (1981), *E.globulus* est classé comme suit :

Règne: Plantae

Sous règne: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida - Dicotylédones

Sous –classe: Rosidae

Ordre: Myrtales

Famille: Myrtaceae

Genre: *Eucalyptus*

Espèce: *Eucalyptus globulus*, Labill., 1800

I.1.1.2. Présentation de l'ail (*Allium sativum*)

- **Description botanique**

Plante herbacée, bulbeuse et vivace assez grande à nombreuses feuilles engainant le bas de la tige. Elle peut croître jusqu'à 50 à 120 cm de hauteur.

L'inflorescence est rare chez beaucoup de cultivars et n'apparaît qu'occasionnellement en cas de stress. Elle est enveloppée d'une spathe en une seule pièce tombant assez rapidement. Les fleurs sont groupées en ombelles. Assez peu nombreuses, elles sont de couleur blanche ou rose et s'épanouissent en été.

Le fruit est une capsule à trois loges, mais celle-ci est très rarement produite et la hampe florale donne plus souvent naissance à des bulbilles florales sauf pour les cultivars originaires d'Asie centrale et du Caucase qui sont proches du type sauvage. (Paul Iserin et al., 1997)(Irs)
La multiplication végétative est plutôt la règle par le biais des bulbes formés à la base de la tige. Ce sont des bulbes composés de trois à vingt bulbilles arquées appelés caïeux (ou cayeux, ou gousses). Chacun est entouré d'une tunique parcheminée et le groupe d'un même pied est lui-même inclus dans une tunique identique à multiples couches (figure 19).

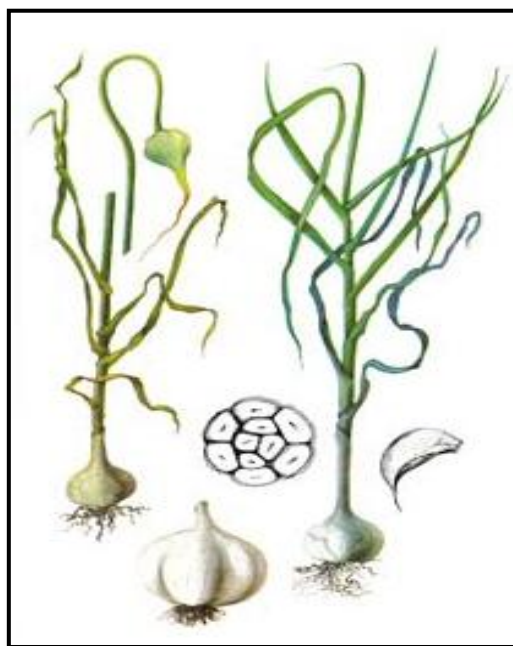


Figure 19 : plante d'*A.sativum* (BARATON, 2017).

- **Position systématique**

Selon Cronquist (1981) *A.sativum* est classé comme suit :

Règne: Plantae

Sous-règne: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Classe: Liliopsida

Sous-classe: Liliidae

Ordre: Liliales

Famille: Amaryllidaceae

Genre: *Allium*

Espèce: *Allium sativum* L., 1753

I.1.2. Présentation de *S.oryzae*

La souche de *S.oryzae* provient du département de zoologie de l'école nationale supérieure d'agronomie (ENSA), L'élevage en masse des adultes se fait dans des bocaux en verre d'une capacité de 450g contenant 100g d'orge (figure 20), ils ont ensuite été mis dans une étuve réglé à une température de 28°C et une humidité relative de $70 \pm 5\%$ au laboratoire d'entomologie appliqué à l'Ummto.



Figure 20 : Élevage en masse de *S.oryzae* (Photo originale, 2022).

I.2. Matériel du laboratoire

Pour les différentes expériences, nous avons utilisé le matériel suivant :

- des boîtes de pétri en verre de 14 cm de diamètre et de 3 cm de hauteur pour les tests de répulsivité.
- des flacons en plastique de 55ml de volume pour les tests d'inhalation.
- une micropipette (0.5-10 μ l) pour un pipetage de précision des huiles essentielles et une pipette (5 ml) avec une Aspire-pipette à refoulement rapide pour pipetage d'acétone.
- du papier filtre de 14 cm de diamètre pour les tests de répulsivité et d'inhalation.
- de l'acétone pour la dilution des huiles essentielles (test de répulsivité).
- des tubes eppendorf pour réaliser les dilutions d'huiles essentielles, et prélever les insectes à traiter.
- autres accessoires : ciseaux, rouleau adhésif, fil, et embouts jaune. (figure 21)



Figure 21 : matériel du laboratoire utilisé (Photo originale, 2022).

II. Réalisation de coupes anatomiques pour l'étude des structures sécrétrices d'huiles essentielles des plantes étudiées

➤ Méthode

Technique de la double coloration (Deyson, 1954)

La structure anatomique des feuilles des différentes espèces végétales a été observée en effectuant des coupes minces parfaitement orientées qui seront soumises à une double coloration.

Deyson (1954), conseille de mettre un fragment de végétal entre 2 morceaux de moelle de sureau et d'effectuer des coupes à main levée avec une lame de rasoir, le mouvement doit être perpendiculaire au grand axe de l'organe pour les sections transversales.

Les coupes sont récupérées dans des verres de montre contenant de l'hypochlorite de sodium pendant 5 à 20 mn.

Les coupes sont rincées abondamment pendant 5 mn. Elles sont ensuite soumises à l'action d'un bain d'acide acétique (1%) pendant 1 mn pour neutraliser l'action de l'hypochlorite de sodium et faciliter la fixation des colorants sur les parois cellulaires.

- **Coloration des coupes**

Les coupes sont colorées au **vert de methyl** pendant 2 à 5 mn. Elles sont ensuite rincées à l'eau distillée puis soumises à la coloration au **rouge congo** pendant 5 à 10 mn puis rincées à l'eau distillée. Les coupes les plus minces sont sélectionnées et monter entre lame et lamelle dans une goutte d'eau distillée puis observées au microscope optique au G : 10x10 et 40x10.

III. Evaluation de l'activité anti-oxydante des huiles essentielles étudiées

➤ **Méthode**

Le pouvoir anti-oxydant de la solution standard et des huiles essentielles sont déterminés selon la méthode de DPPH, des mesures spectrophotométrique sont alors effectuées (Jiri el al, 2010).

Test du DPPH : ce test permet de mettre en évidence le pouvoir anti-radicalaire d'un antioxydant pur (acide ascorbique) ou d'huile essentielle, la solution d'alcool de DPPH est de couleur mauve foncé. Sous l'action d'un antioxydant qui le réduit en DPPH-H, cette absorbance diminue jusqu'à atteindre un pallier.

Une solution d'acide ascorbique est utilisée. Selon la loi de Beer Lambert, la gamme identifiable de l'absorbance optimal d'un spectrophotomètre est fixée entre 0,221 et 0,798.

A partir de cette solution mère sont réalisées dans des tubes à essais, une série de dilution en cascade allant de 100%, 50 %, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% et 1,875%. Deux répétitions ont été préparées pour chaque dilution.

400µl de DPPH sont versées dans chacun des tubes contenant 400µl de méthanol.

Après une période d'incubation de 30 minutes, à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517nm contre un blanc contenant la solution de DPPH et du solvant (méthanol). La valeur de l'absorbance du blanc est considérée comme étant le temps du début de la réaction.

IV. Évaluation de la bio-activité des huiles essentielles

IV.1. Test de répulsivité sur les adultes de *S.oryzae*

Ce test consiste à étudier l'effet répulsif des deux huiles essentielles sur les adultes de *S.oryzae*.

Pour le réaliser nous avons suivi les étapes suivantes :

- découpage en deux parties égales un disque de papier filtre de 14cm de diamètre.
- préparation de quatre doses différentes de 2, 4, 6, et 8µl dans 1 ml d'acétone pour chaque huile essentielle.
- pour chaque test un demi-disque est traité avec une dose d'huile essentielle diluée dans l'acétone et le deuxième ne reçoit que de l'acétone et un témoin ou l'on traite qu'un demi-disque avec 1ml d'acétone (trois répétitions pour chaque dose).
- après évaporation du solvant, nous rassemblons les deux parties traitée et non traitée par une bande adhésive et nous les plaçons dans une boîte de pétri en verre (figure 22).
- dix charançons adultes sont ensuite déposés au centre de la boîte.
- au bout de 24h, nous comptons le nombre de charançons présents sur la partie du disque traitée avec l'huile essentielle et le nombre d'individus présents sur la partie traitée uniquement avec l'acétone.
- le pourcentage de répulsion (PR) est calculé comme suit :

$$\text{PR (\%)} = \frac{[N_c - N_t]}{[N_c + N_t]} \times 100$$

N_c : nombre d'insectes présents sur le demi-disque traité avec l'acétone uniquement.

N_t : nombre d'insectes présents sur le demi-disque traité avec la solution huileuse.

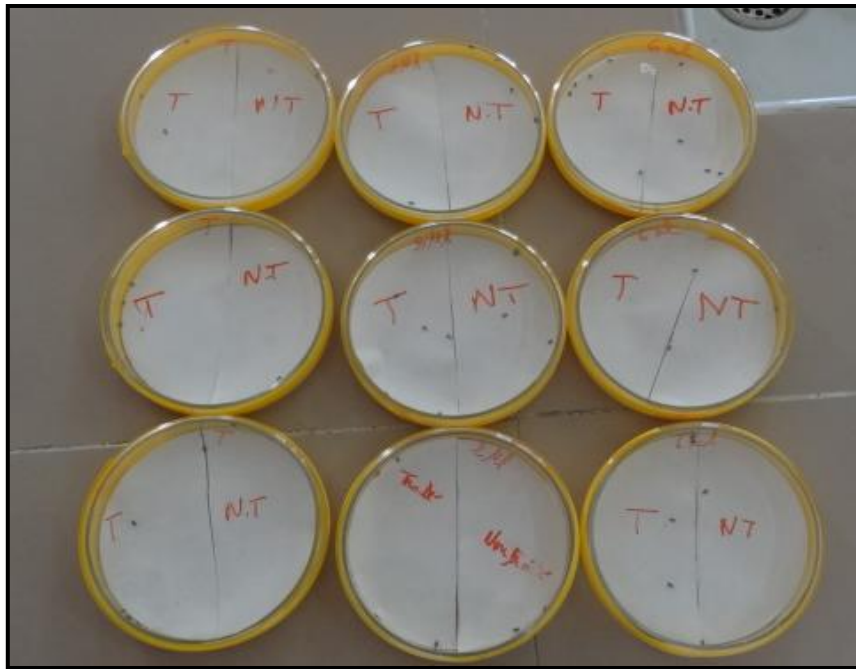


Figure 22 : Dispositif expérimental du test de répulsivité (Photo originale, 2022).

Le pourcentage de répulsion moyen pour chaque huile est calculé et attribué à l'une des différentes classes répulsives, selon le classement de Mc Donald et *al.*, (1970) qui sont indiqués dans le tableau 1.

Tableau 1. Pourcentage de répulsion selon le classement de Mc Donald et *al.*, (1970).

Classe	Intervalle de répulsion	Propriétés
Classe 0	$PR \leq 0,1\%$	Très faiblement répulsif
Classe 1	$0,1 \% < PR \leq 20\%$	Faiblement répulsif
Classe 2	$20\% < PR \leq 40 \%$	Modérément répulsif
Classe 3	$40 \% < PR \leq 60 \%$	Moyennement répulsif
Classe 4	$60\% < PR \leq 80 \%$	Répulsif
Classe 5	$80 \% < PR \leq 100 \%$	Très répulsif

IV.2. Test de fumigation sur les adultes de *S.oryzae*

Ce test consiste à étudier l'effet des deux huiles essentielles par inhalation sur le taux de mortalité des adultes de *S.oryzae* par fumigation en adoptant la méthode décrite par Papachristos et Stamopoulos (2002) :

- Dans des flacons en plastique de 60 ml de volume, une dose d'huile est déposée sur un petit morceau de papier filtre de 1cm de diamètre suspendu à l'aide d'un fil à la face interne du couvercle (figure 23).

- Dix charançons sont introduits dans chaque flacon plus 2g d'orge comme substrat alimentaire, qui est ensuite fermé hermétiquement.
- Pour l'ensemble des essais, trois répétitions ont été réalisées pour chaque dose (2, 4, 6 et 8µl) et le temps d'exposition est de 24, 48, 72 et 96 heures.
- Le dénombrement des individus morts se fait chaque jour pendant quatre jours (un témoin a été réalisé en parallèle).
- La mortalité a été calculée et corrigée selon la formule d'Abbott en tenant compte de la mortalité naturelle (Mt) observée sur le témoin :

$$Mc\% = (M - Mt / 100 - Mt) \times 100$$

Mc : mortalité corrigée

M : Le pourcentage de mortalité dans les populations traitées

Mt : mortalité dans la population témoin



Figure 23 : Dispositif expérimental du test de fumigation (Photo originale, 2022).

IV.2.2. Calcul des DL₅₀

L'efficacité d'une substance toxique se mesure par sa DL₅₀ qui définit la quantité de substance toxique entraînant la mort de 50% des individus de la population traitée. Elle est déterminée à partir du tracé des droites de régression. Pour cela les pourcentages de mortalité corrigés sont transformés en probits et les doses en Log doses. En effet, le nombre d'individus morts dans une population traitée par une substance toxique n'est pas le nombre réel d'individus tués par cette substance. Il existe dans toute population une mortalité naturelle qui

s'ajoute à la mortalité provoquée par la substance appliquée. Les pourcentages de mortalité doivent être corrigés par la formule d'Abbott.

V. Analyse statistique

V.1. Test ANOVA

Les résultats des différents essais ont été soumis au test de l'analyse de la variance (ANOVA) selon un ou deux critères de classification pour l'action des deux huiles essentielles, lorsque cette analyse montre des différences significatives entre les différents traitements, elle est complétée par le test de NEWMAN et KEULS au seuil $p = 5\%$, en utilisant le logiciel Statbox version 6.4.

Si la probabilité :

$P > 0.05$: les variables montrent une différence non significative.

$P \leq 0.05$: les variables montrent une différence significative

$P \leq 0.001$: les variables montrent une différence hautement significative

$P \leq 0.001$: les variables montrent une différence très hautement significative (DAGNELIE, 1975).

Chapitre 3

Résultats et discussion

I. Résultats

I.1. Mise en évidence des structures sécrétrices d'huiles essentielles des plantes étudiées au microscope optique

Des coupes anatomiques ont été réalisées à partir des différents tissus des plantes utilisés afin de visualiser les différentes structures cellulaires qui les constituent. Les coupes obtenues ont été soumises à la technique de la double coloration au **Rouge congo- Vert de méthyl**, les résultats des observations au microscope optique sont représentés ci-dessous :

Anatomie des organes des espèces étudiées :

➤ *E.globulus*

Caractéristiques histologiques de la feuille et la tige d'*E.globulus*

- Structure de la feuille d'*E.globulus*

L'observation microscopiques des coupe transversale a permis de distingués au niveau du limbe, l'épiderme le mésophile, le système vasculaire et les glandes sécrétrice.

- l'épiderme est une assise a rôle protecteur a paroi pectocellulosique sur les faces latérale et interne (Gorenflot, 1986).sur les faces adaxiales et abaxiales se distingues la cuticule imprégnant l'épiderme pourvue de stomate.
- le mésophile formé du parenchyme palissadique chlorophyllien à cellules allongées à parois pectocellulosiques.
- Le parenchyme lacuneux juxtapose le parenchyme palissadique formé de cellules plus ou moins arrondie.
- au centre de l'organe (la feuille) la nervure principale est essentiellement formée d'un faisceau cribro-vasculaire dont le xylème est orienté vers la face ventrale du limbe et le phloème vers la face dorsale.
- le xylème est un complexe tissulaire formé de cellule parenchymateuse (parfois de fibres) assurant la conduction de la sève brute.
- le phloème est conducteur de la sève élaboré. Il est hétérogène formé d'éléments conducteur associé a des cellules parenchymateuse et des fibres.
- dans le phloème s'observent des canaux sécréteurs mimant des cavités entourées de cellules sécrétrices d'huile essentielle.
- le faisceau libero-ligneux est entouré de sclérenchyme
- les canaux sécréteurs :

La coupe transversale montre un canal sécréteur protégé par un amas de cellules sclérenchymateuses. Le canal sphérique est entouré d'un amas de cellules sécrétrices (figure 24).

- structure de la tige d'*E.globulus*

La tige est formé d'un épiderme, d'une zone corticale (écorce) et le cylindre central parsemé de canaux sécréteurs et au centre la moelle (figure 25).

L'épiderme est une assise protectrice formé de cellules à parois pectocellulosiques sur les faces latérales et internes et sur la face externe apparait un dépôt de cutine

La zone corticale est parenchymateuse. Sous l'épiderme apparait du collenchyme et un anneau de sclérenchyme dans la partie profonde de la zone corticale.

Le cylindre centrale est formé de tissus conducteur. Disposés dans chaque faisceau s'observent vers l'intérieure de la tige, les vaisseaux ligneux du xylème et vers l'extérieur, des tubes criblés du phloème.

La moëlle parenchymateuse occupe le centre de la tige.

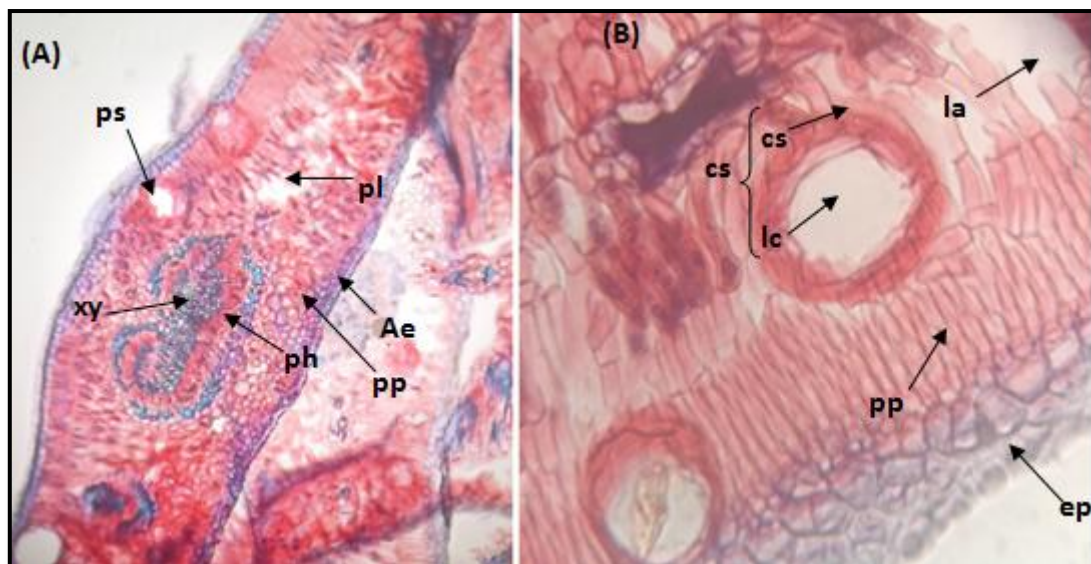


Figure 24 (A) : Coupe transversale de la feuille d'*E.globulus* observée au microscope optique x 100 montrant une assise épidermique (Ae), le parenchyme palissadique (Pp), le parenchyme lacuneux (Pl), le phloème (Ph), le xylème (Xy) et la poche sécrétrice (Ps).

(B) : Coupe transversale de la feuille d'*E.globulus* observée au microscope optique x 400 montrant le canal sécréteur (Cs) composé de la lumière du canal (Lc) et les cellules sécrétrices (Cs), l'épiderme (Ep), le parenchyme palissadique (Pp), et la lacune (La) (Photo originale,2022).

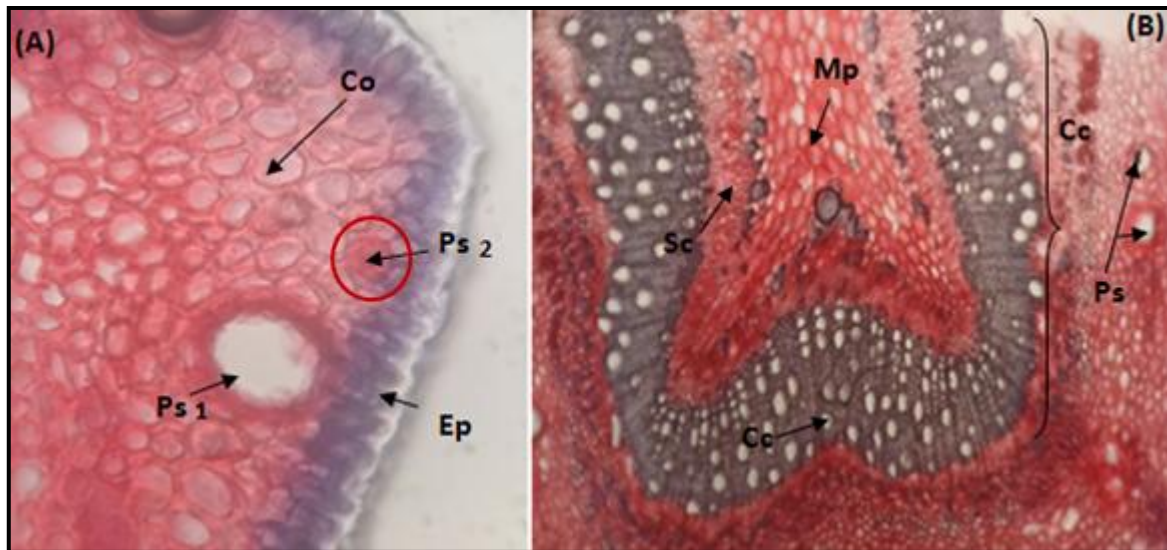


Figure 25 (A) : Coupe transversale de la tige d'*E.globulus* observée au microscope optique x 400 montrant le cortex (Co), l'épiderme (Ep), une poche sécrétrice mature (Ps1) et une poche sécrétrice en formation (Ps2).

(B) : Coupe transversale de la tige d'*E.globulus* observée au microscope optique x 100 montrant le cylindre centrale (Cc) composé de la moëlle parenchymateuse (Mp) et sclérenchyme (Sc) ainsi qu'un canal conducteur (Cc), enfin poches sécrétrices (Ps) (Photo originale,2022).

➤ *A.sativum*

Caractéristiques histologiques de la feuille et du caïeu d'*A.sativum*

- Description de la tige d'*A.sativum*

La tige est protégée de l'extérieur par une assise épidermique tapissé d'une fine couche de cuticule sous laquelle apparaît le parenchyme cortical sous lequel une ceinture de xylème parcourt la tige. Des faisceaux conducteurs répartis sur plusieurs cercles avec un xylème centrifuge, caractéristique d'une tige de monocotylédone, le centre de la tige est rempli par le parenchyme médullaire.

- Description du caïeu d'*A.sativum*

Le caïeu est protégé à l'extérieur par une enveloppe sèche puis apparaissent les enveloppes internes. La coupe transversale montre un parenchyme non chlorophyllien dont les cellules sont à parois pectocellulosiques formant le parenchyme cortical. Le centre du caïeu est occupé par une gemmule.

Entre l'épiderme et le parenchyme cortical apparaît une assise de cellules sécrétrices d'huile essentielles (figure 26).

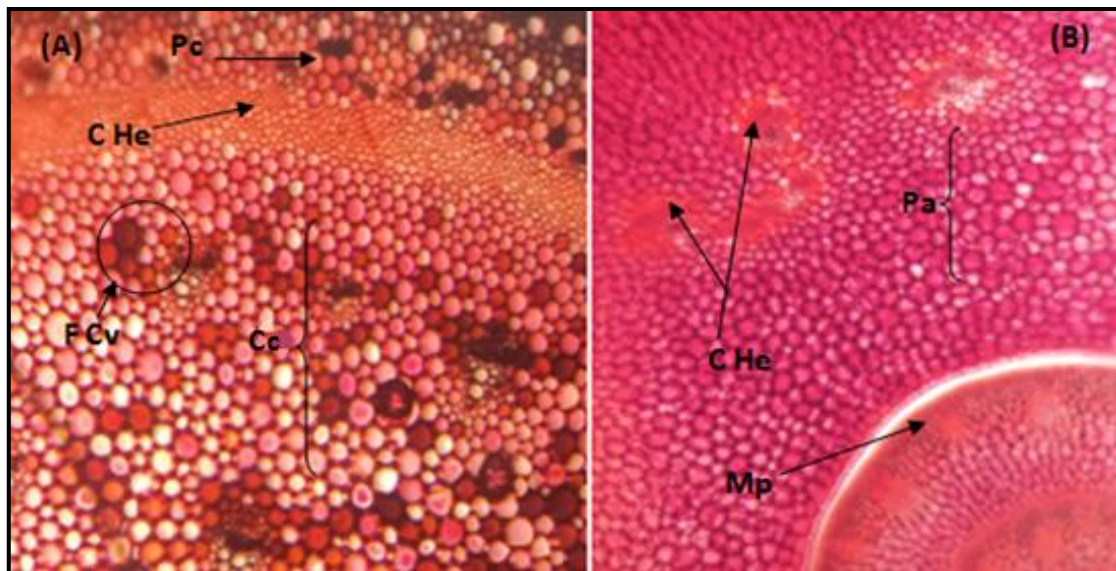


Figure 26 (A) : Coupe transversale de la tige d'*A.sativum* observée au microscope optique x 100 montrant le parenchyme cortical (Pc), le cylindre central (Cc), les faisceaux cribro-vasculaire (F Cv) et les cellules à huile essentielle (C He).

(B) : Coupe transversale du caïeu d'*A.sativum* observée au microscope optique x 400 montrant le parenchyme (Pa), la moëlle parenchymateuse (Mp) et les cellules à huile essentielle (C He) (Photo originale, 2022).

I.2. évaluation de l'activité anti-oxydante des huiles essentielles étudiées

L'évolution de l'activité anti-oxydante révèle la fixation du DPPH par l'acide ascorbique et les huiles essentielles d'*A.sativum* et *E.globulus*.

Les résultats de l'analyse par le test de DPPH sont exprimés par la valeur IC_{50} . L'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité anti-radicalaire en pourcentage (%) déterminé par la relation :

$$I\% = [(abs_0 - abs_1) / (abs_0)] \times 100$$

Où $a (abs_0)$ est l'absorbance du blanc et (abs_1) est l'absorbance en présence de l'anti-oxydant à différentes concentrations

Les mesures de l'absorbance effectuées par spectrophotométrie à 515nm ont révélé les valeurs illustrées par les graphes des figures 27, 28, 29, 30, 31, 32.

Les concentrations correspondantes à 50% d'inhibition (IC_{50}) constituant l'activité anti-radicalaire des deux huiles essentielles. Les valeurs ainsi déterminées ont été comparées à celle révélée par l'acide ascorbique, il en ressort que :

$$IC_{50} E.globulus = 142.86 \mu\text{l/mg}$$

$$IC_{50} A.sativum = 103.01 \mu\text{l/mg}$$

$$IC_{50} \text{ Acide ascorbique} = 15.98 \mu\text{l/mg.}$$

Pour pouvoir comparer l'activité anti-oxydante des HE et de l'acide ascorbique, nous avons calculé l'indice de l'activité anti-oxydante par la formule :

$$AA = 1 / IC_{50}$$

Les résultats obtenus sont respectivement de 0.0069 $\mu\text{l/mg}$ pour *E.globulus*, 0.0097 $\mu\text{l/mg}$ Pour *A.sativum* et 0.062 $\mu\text{l/mg}$ pour l'acide ascorbique.

L'activité anti-oxydante la plus importante a été enregistrée avec l'huile essentielle d'*A.sativum*.

L'activité anti-oxydante traduit la neutralisation des radicaux libres empêchant ou ralentissant ainsi l'oxydation.

Des études menées par de nombreux auteurs attribuent l'activité anti-oxydante à l'action des composées phénoliques, d'autres auteurs ont rapportés l'activité anti-radicalaire libre par des huiles ne possédant pas de composés phénoliques, et cette action est attribuée plutôt aux composées comme le Carvacrol, thymol ou Eugenol (Amorati et al. 2013).

A.sativum a souvent été citer comme présentant une activité anti-oxydante importante mais l'He extraite pour notre étude n'a pas montré une activité anti-oxydante exceptionnelle, ceci pourrait s'expliquer par son origine géographique (Raut et Karuppayil, 2014).

Contrairement à l'acide ascorbique, les huiles étudiées ne présentent pas d'activité anti-oxydante ou alors faible. Djeddi et al. (2015) ont obtenue les mêmes résultats en travaillant avec l'HE de *thymus numidicus* provenant d'Annaba (Algérie). En effet, ces auteurs ont estimé l'effet IC_{50} à 226.54 et une activité de piégeage de radicaux libres de 22.06 ± 3.07 à une concentration de 1000 mg/l^{-1} tout en rapportant dans leur travail que l'HE de *T.numidicus* provenant du centre Algérien dans la région d'Azazga s'est montrée fort anti-oxydante avec

un potentiel de $82.4 \pm 1.9\%$ ce qui a été expliqué par sa richesse en α terpineol, l'IC₅₀ est inversement lié à la capacité anti-oxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse plus l'activité anti-oxydante d'un composé est importante.

L'analyse par CGMS des deux huiles testées a montré que l'HE d'*A.sativum* est constituée majoritairement de Diallyl-trisulfide (47%) appelé aussi allitridine, composé organosulfuré provenant de l'hydrolyse de l'allicine. Ce composé est connu pour son activité anti-oxydante puissante (Derdah, communication personnelle).

Quant à l'HE d'*E.globulus*, elle est constituée à près de 92% d'Eucalyptol, puissant insecticide.

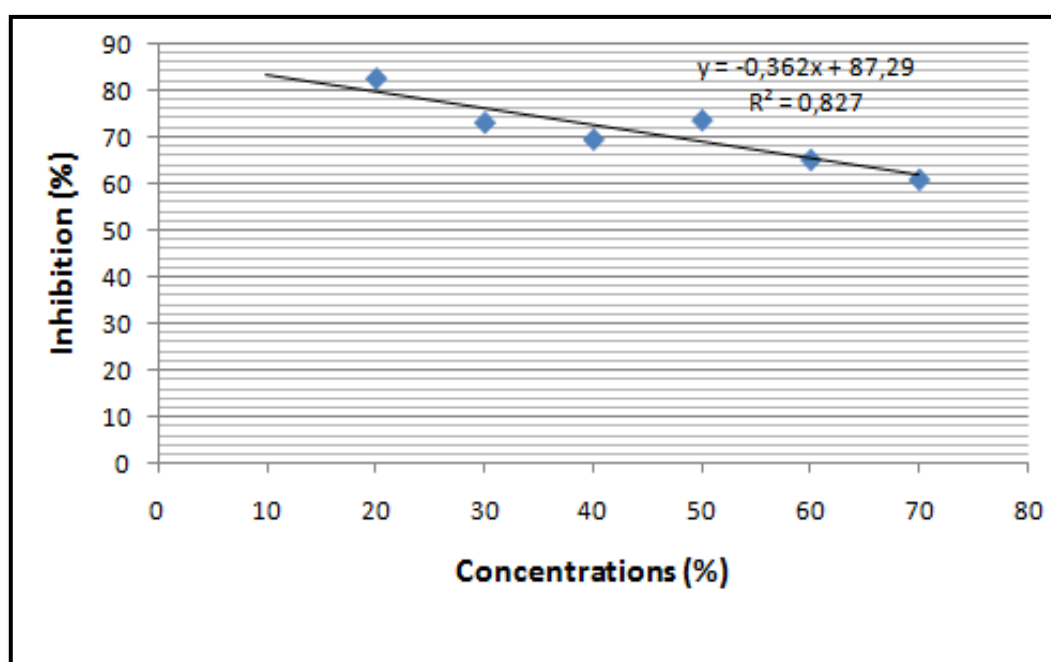


Figure 27 : détermination de l'IC₅₀ de l'HE d'*A.sativum*.

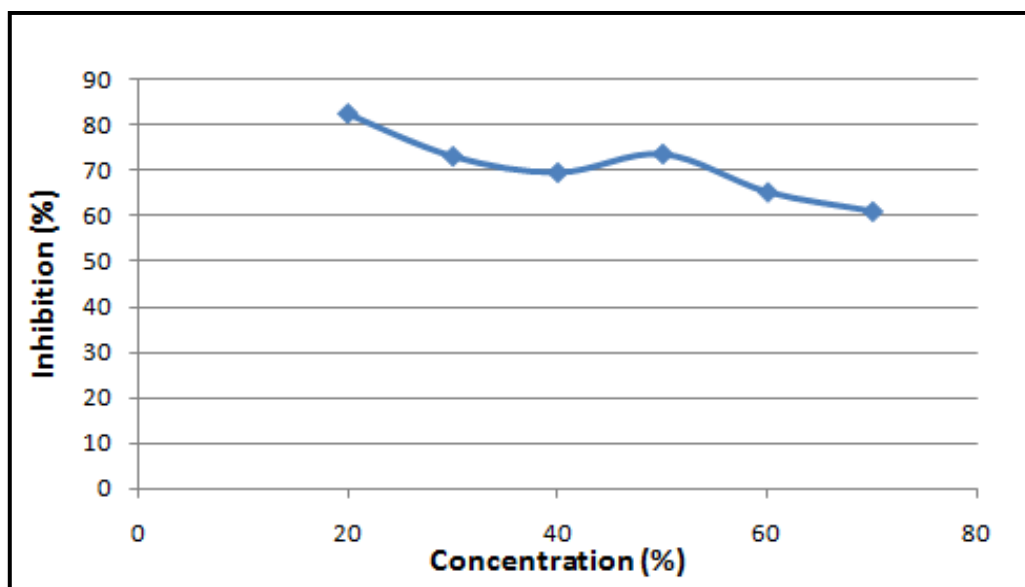


Figure 28 : activité anti-oxydante de l'HE d'*A. sativum*.

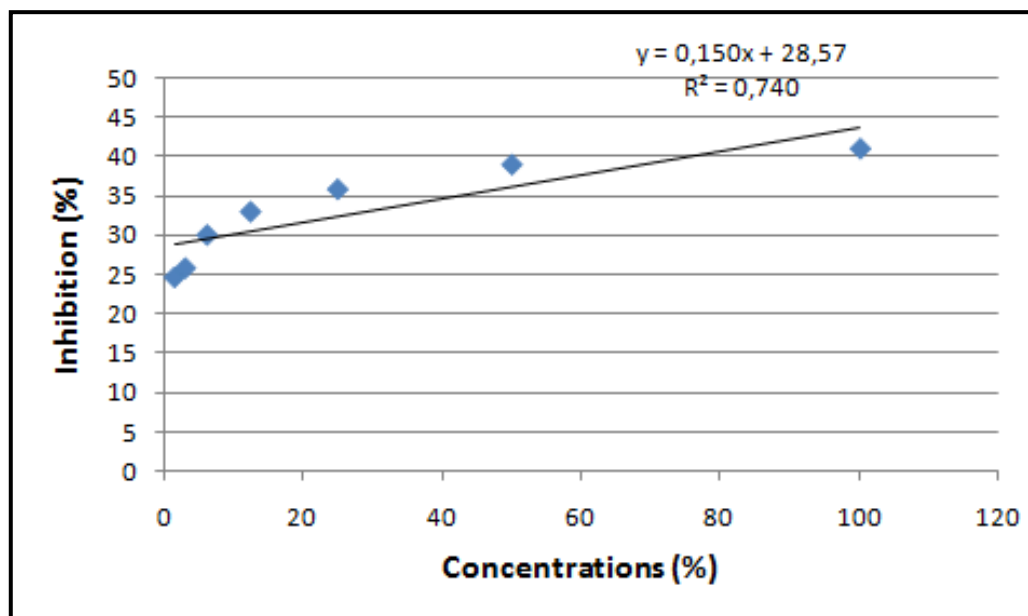


Figure 29 : détermination de l'IC₅₀ de l'HE d'*E. globulus*.

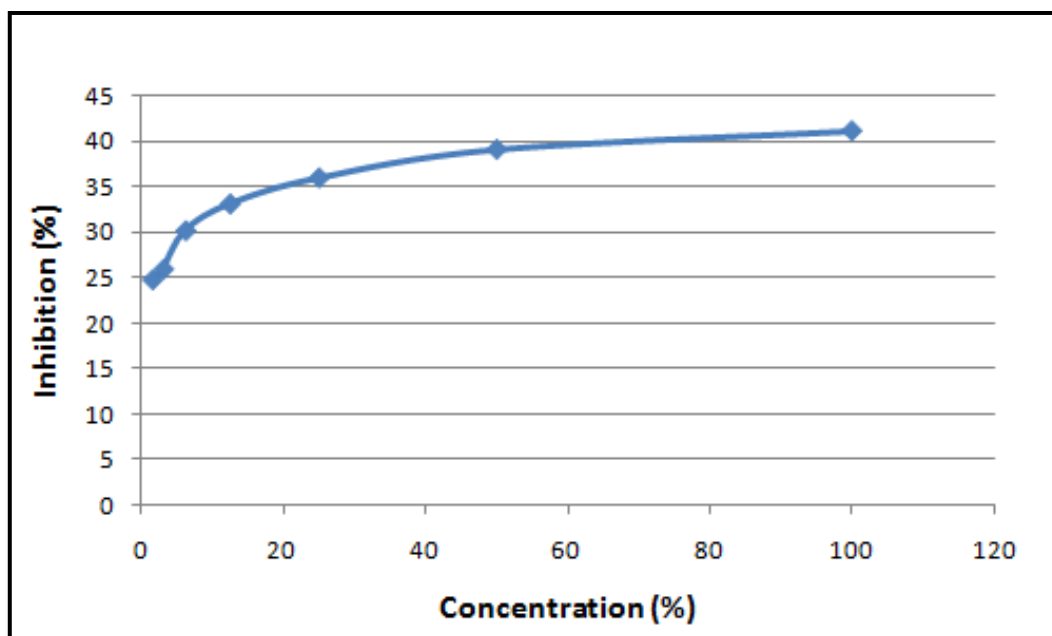


Figure 30 : activité anti-oxydante de l'HE d'*E. globulus*.

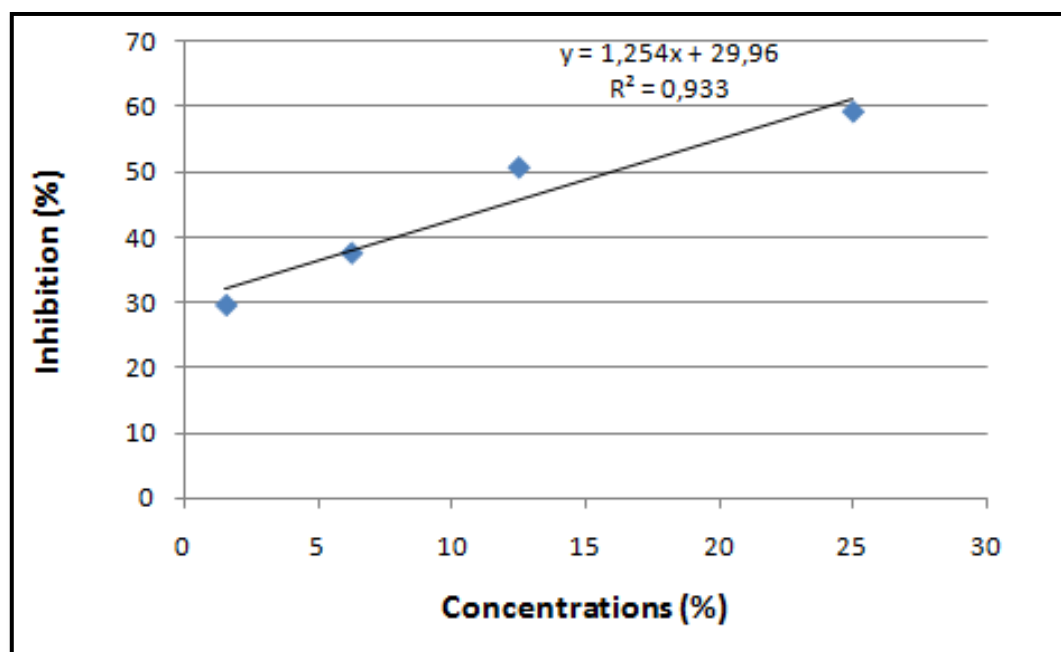


Figure 31 : détermination de l'IC₅₀ de l'acide ascorbique.

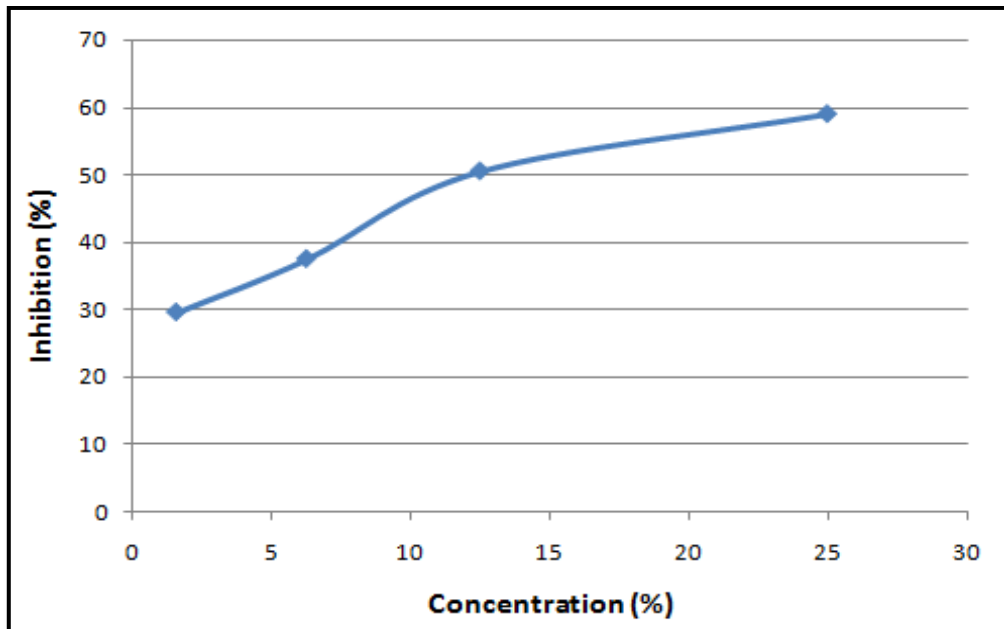


Figure 32 : activité anti-oxydante de l'acide ascorbique.

I.3. Evaluation de la bio-activité des huiles essentielles contre les adultes de *S.oryzae* par répulsion

Les résultats des tests de répulsivité sont résumés dans le tableau 2 et illustré par les figures 33 et 34. Ils révèlent que le nombre d'adultes de *S.oryzae* comptés augmentent dans les deux parties traitées et non traitées tout en augmentant la dose, et ce pour les deux huiles testées. L'effet le plus important a été observé avec l'HE d'*A.sativum* avec un taux de répulsivité de 86,78% à la dose 8 μ l (Tableau 2).

Un taux de répulsivité de 66,76% a été enregistré avec l'HE d'*E.globulus* à la dose 8 μ l.

Les taux moyens de répulsivité calculées ont montrées que c'est l'HE d'*A.sativum* qui s'est montré la plus répulsive avec 59,99% suivie par *E.globulus* moyennement répulsive avec 41,66% de répulsivité (Tableau 3).

La classification de Mc Donald (1970) permet de classer les deux huiles selon le tableau ci-dessous.

Tableau 2. Taux moyen de répulsion (%) (\pm L'écart type) (Mc Donald et *al.*, 1970) sur papier filtre des huiles essentielles testées contre les adultes de *S.oryzae*.

Huiles	Doses	Moyennes d'individus présents dans la partie		Répulsion(%)
		Non traitée	Traitée	
<i>Allium sativum</i>	2 μ l	6.66	3.33	33.33
	4 μ l	7	3	55.55
	6 μ l	8	2	60
	8 μ l	9.33	0.66	86.78
Taux moyens de répulsion				59.99
Classe répulsive				IV
<i>Eucalyptus globulus</i>	2 μ l	5.66	4.33	13.31
	4 μ l	6	4	20
	6 μ l	7	3	40
	8 μ l	8.33	1.66	66.76
Taux moyens de répulsion				41.66
Classe répulsive				III

Tableau 3. Classement des huiles selon leurs propriétés répulsives (PMR : pourcentage moyen de répulsion).

	<i>E.globulus</i>	<i>A.sativum</i>
PMR (%)	41.66	59.99
Classe répulsive	III	IV
Effet	Moyennement répulsive	Répulsive

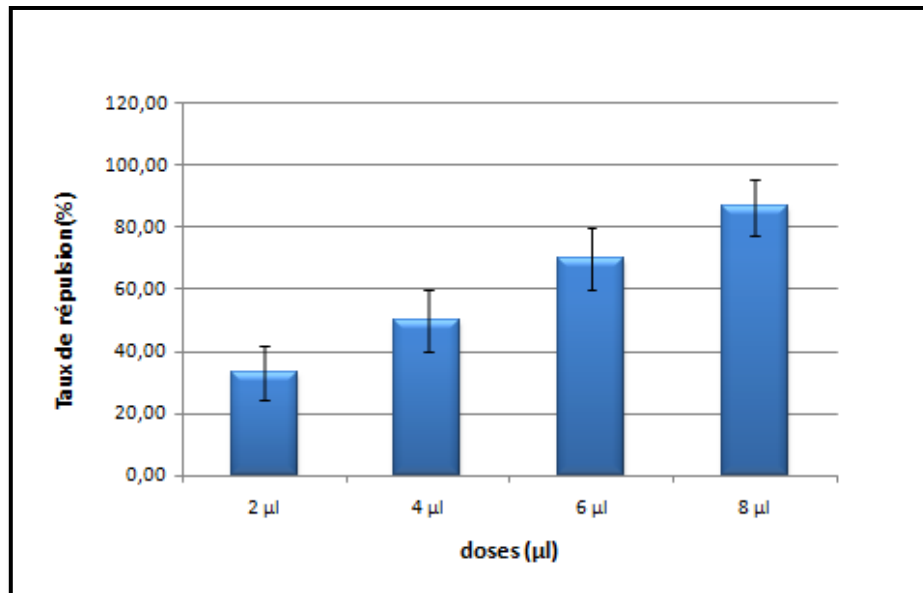


Figure 33 : Taux de répulsion d'*A.sativum* en fonction de la dose.

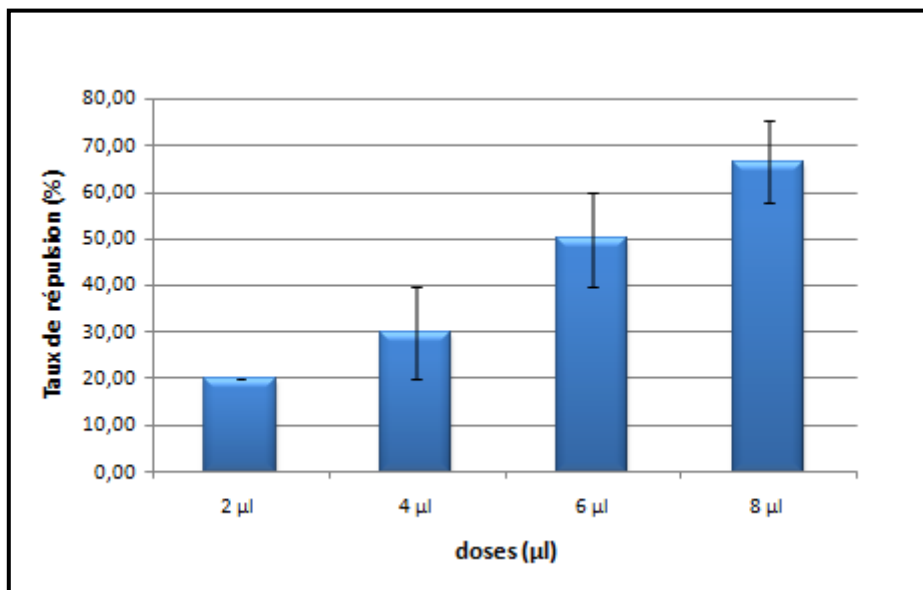


Figure 34 : Taux de répulsion d'*E.globulus* en fonction de la dose.

I.4. Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles contre les adultes de *S.oryzae* par fumigation

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 4 et illustré par les figures 35 et 36. Les huiles essentielles d'*A.sativum* et d'*E.globulus* affectent significativement la survie des adultes de *S.oryzae*. Dans les lots traités, la survie des adultes diminue graduellement du premier au quatrième jour et ceci proportionnellement à la concentration des huiles essentielles utilisées et la durée d'exposition, alors que dans le lot témoin aucune mortalité n'a été observée même après 96h.

Tableau 4. Taux moyen de mortalité des adultes de *S.oryzae* traité par les huiles essentielles des espèces d'*A.sativum* et *E.globulus* de dans le temps en fonction de la dose (PMM : pourcentage moyen de mortalité pour chaque dose).

Temps Doses	24h	48h	72h	96h	
<i>Allium sativum</i>					PMM(%)
Témoin	0	0	0	0	0
2 µl	0	10	16.6	16.6	10.8
4 µl	3.3	20	36.6	53.3	28.3
6 µl	30	53.3	80	96.6	64.97
8 µl	63.3	93.3	100	-	89.15
<i>Eucalyptus globulus</i>					
Témoin	0	0	0	0	0
2 µl	20	43.3	43.3	43.3	34.47
4 µl	66.6	66.6	66.6	66.6	66.6
6 µl	100	-	-	-	100
8 µl	100	-	-	-	100

En comparant l'effet des deux huiles à la plus faible dose (2µl /l d'air) on remarque que l'HE d'*A.sativum* n'a provoqué aucune mortalité chez les adultes de *S.oryzae* en 24h, contrairement à l'HE d'*E.globulus* qui elle a induit 45% de mortalité à la même dose pour 24h d'exposition seulement (tableau 5).

L'huile essentielle de *E.globulus* a provoqué 100% de mortalité chez les adultes de *S.oryzae*, après 24h d'exposition à la plus forte dose (6 et 8µl /l d'air). Pour obtenir le même résultat

avec l'huile essentielle de *A.sativum*, il faut exposer les charançons adultes à la dose maximale (8µl/ l d'air) pendant 72h.

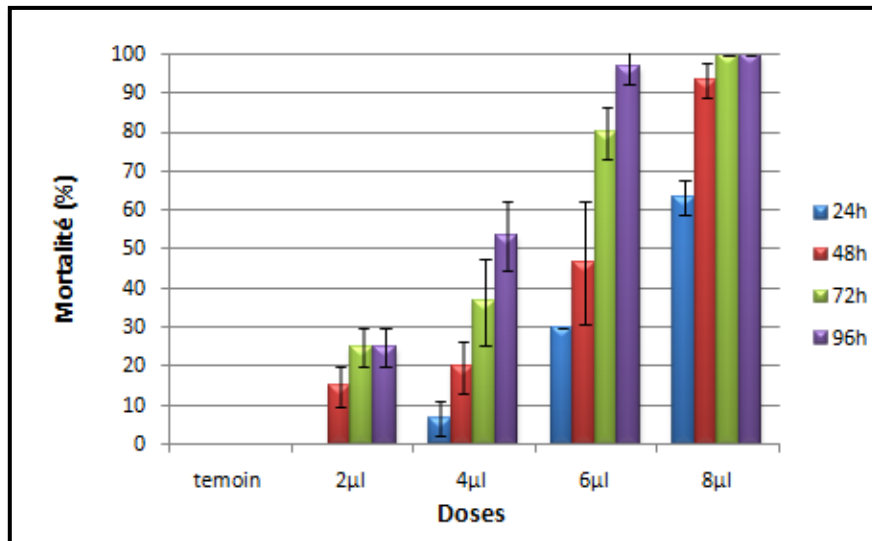


Figure 35 : Taux moyen de mortalité des adultes de *S.oryzae* traités par fumigation aux différentes doses d'huiles essentielles d'*A.sativum*.

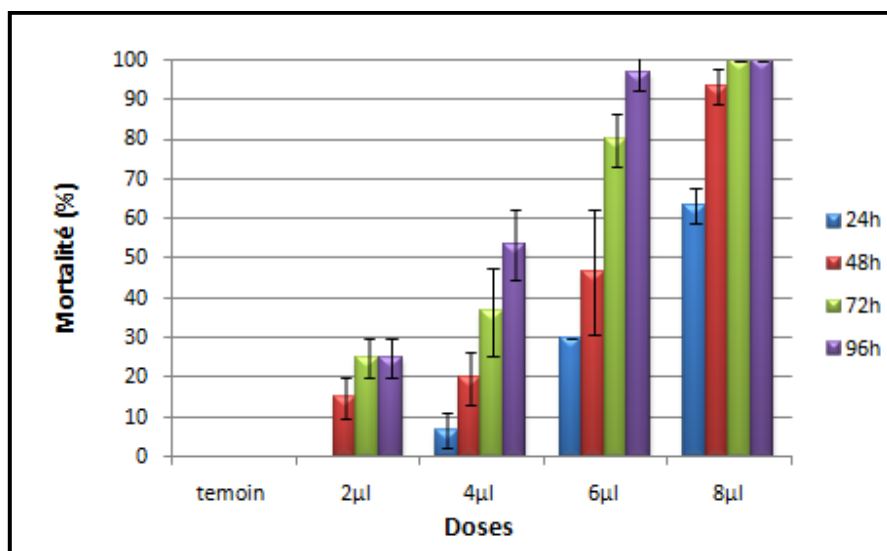


Figure 36 : Taux moyen de mortalité des adultes de *S.oryzae* traités par inhalation aux différentes doses des huiles essentielles d'*E.globulus*.



Figure 37 : Effet de l'huile essentielle d'*E.globulus* après traitement par fumigation sur les adultes de *S.oryzae* (Photo originale, 2022).

Les graphes matérialisant les résultats obtenus consignés dans les tableaux 2 et 3 (Annexe) ont permis de déterminer les valeurs des DL_{50} des différentes huiles essentielles . Elles sont de : 7,58 $\mu\text{l/ ml}$ d'air pour *A.sativum*, 3.38 $\mu\text{l/ ml}$ d'air pour *E. globulus*. Ces résultats montrent que les huiles essentielles sont actives sur *S.oryzae* par fumigation, bien que celles qui s'est montrée plus efficace est celle d'*E.globulus* avec la plus faible DL_{50} de l'ordre de 3,38 $\mu\text{l/ ml}$ d'air. Les coefficients de corrélation obtenus sont compris entre 0.91 et 0.94 ce qui indique une forte corrélation entre la mortalité et la dose d'huile utilisée. L'ensemble des résultats est indiqué sur les graphes des figures 38 et 39.

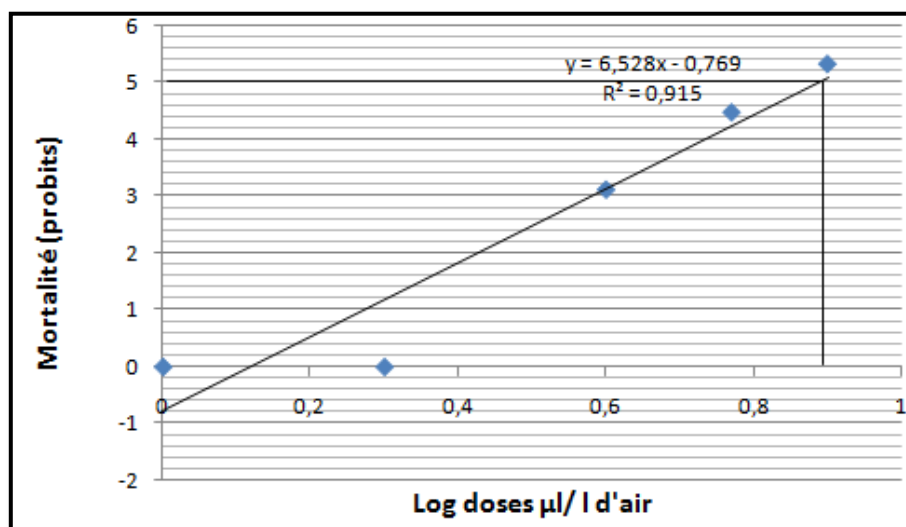


Figure 38 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation avec l'huile essentielle d'*A.sativum*).

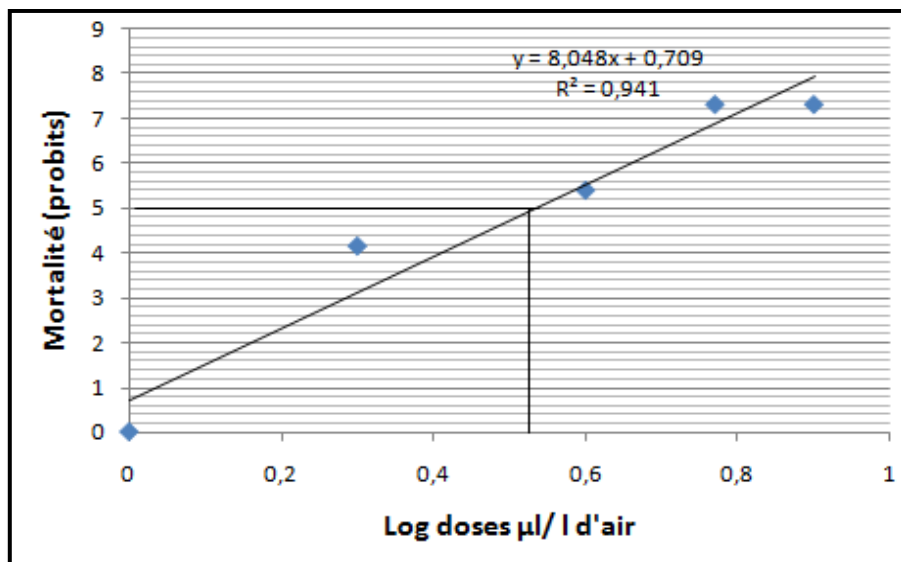


Figure 39 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation avec l'huile essentielle d'*E.globulus*).

Tapondjon et al (2005) ont mis en exergue l'activité insecticide des HE du cyprès et d'*E.globulus* vis à vis de *S.zeamais* et de *Tribolium confusum* et ont obtenue des doses létales (DL_{50}) différentes pour les 2 insectes appliquées par contacte en obtenant $0.36\mu\text{l}/\text{cm}^2$ pour *S.zeamais* est $0.48\mu\text{l}/\text{cm}^2$ pour *T.confusum* démontrant ainsi l'efficacité de ces deux HE sur ces deux insectes. La toxicité par inhalation des espèces végétales appartenant a la famille des Mytacées et Poacées vis-à-vis de la bruche du haricot (Regnault-Roger et hemraoui, 1993).

II. Discussion

L'étude avait pour but de tester l'activité biocide d'extraits de plantes connues pour leurs attribues pharmacologiques pouvant servir d'insecticides adaptés aux systèmes de stockage traditionnels ou modernes des denrées alimentaires.

II.1. traitement par fumigation

L'analyse de la variance au seuil 5% montre une différence très hautement significative pour le facteur l'huile ($P=0.00$; $F=184.615$; $\text{DDL}=1$), facteur dose ($P=0.00$; $F=234.314$; $\text{DDL}=4$), et temps ($P=0.00001$; $F=12.41$; $\text{DDL}=3$) et le l'interaction huile-dose ($P=0.000$; $F=24.263$; $\text{DDL}=4$) (Annexe : tableau 1)

Nos résultats montrent que les HE d'*A.sativum* et *E.globulus* réduisent la durée de vie des adultes de *S.oryzae* au fur à mesure que la dose et la durée d'exposition augmentent. Le teste de Newman et Keuls classe les doses en quarte groupes homogènes (tableau 6).

L'effet de *E.globulus* par fumigation est induit à partir de la plus faible dose (2 µl) et ce après seulement 24h d'exposition à ces vapeurs engendrant un taux moyen de mortalité de 45%, et ce dernier atteint les 100% à la dose 6 µl/ l d'air après 24h d'exposition (tableau 5).

Pour évaluer la réelle efficacité de cette huile, nous avons déterminé la dose létale engendrant 50% de mortalité (DL₅₀) chez *S.oryzae*, et cette dose est obtenue à partir du tracé de la droite de régression des probits en fonction des logarithmes des doses (figure 39).

Les résultats obtenus dans notre étude révèlent que l'huile essentielle d'*E.globulus* et *A.sativum* sont bioactives à l'égard du charançon du riz par fumigation en affectant directement le taux de viabilité de ce dernier. Les DL₅₀ calculées sont respectivement de 3.38µl/ ml d'air Pour *E.globulus* et 7.58 µl/ ml d'air pour *A.sativum*.

Ces résultats indiquent clairement que l'HE d'*E.globulus* impacte de manière plus importante la mortalité des adultes de *S.oryzae* que celle d'*A.sativum*.

Une étude menée par El Idrissi et al (2014) se rapportant à l'effet d'une Chenopodiacée sur *S.oryzae* lors du stockage du blé dur (*Triticum turgidum*) par fumigation a entraîné un effet adulticide très significatif sur *S.oryzae*. Cette étude a conclu que la survie des charançons s'échelonnait entre un et cinq jours alors que dans le lot témoin, ce paramètre oscille entre trois et huit jours. La toxicité de l'HE dépend de la concentration et la durée d'exposition et la survie des adultes diminue au fur et à mesure que la concentration en huile essentielle et la durée d'exposition augmentent.

L'efficacité de l'HE d'*E.globulus* que nous avons testée a montré une importante activité adulticide sur *S.oryzae* avec une DL₅₀ de 3.38 µl/ml d'air a été citée comme efficace par Abd El Salam (2010) avec une CL₅₀ de 10,6 µl/ l d'air bien plus supérieure à la notre. Cette différence d'activité pourrait être expliquée par l'origine géographique de la plante, la nature du sol, l'organe de la plante ...etc..

Nos résultats concordent avec ceux de Sabraoui et al. (2016) qui ont mis en évidence un effet biocide de quatre huiles essentielles de la famille des Myrtacées et Lamiacées provenant du Maroc, sur la mortalité chez les adultes de *liriomyza cicerina* R. ou l'HE d'*E.globulus* a montré une mortalité de 100% à de faibles doses (33µl/ l d'air) après seulement six heures d'exposition.

Dans le même ordre d'idées procopio et al. (2003) qui ont trouvé les mêmes résultats lors de l'évaluation des adultes de *sitophilus zeamais* en les exposants à des poudres de six espèces végétale dont l'eucalyptus qui s'est avéré biocide.

Dans une autre optique Karahaçan (2015) affiche les mêmes résultats dans ces travaux où il a évalué la toxicité des huiles essentielles d'*E.globulus*, *citrus sinensis*, *rosmarinus officinalis* extraites à partir de feuilles sèches et peau de fruit sèche sur le ravageur secondaire *T.castaneum* par fumigation où l'HE d'Eucalyptus s'est montrée la plus efficace avec une moyenne maximale de mortalité obtenue à 100% après 72h d'exposition seulement à la dose 40 µl/ l d'air.

L'huile essentielle d'*E.globulus* se compose majoritairement de monoterpènes plus particulièrement d'Eucalyptol ou 1.8-cinéole avec un taux de 79.77% (Taleb, 2015). La caractérisation de l'HE d'*E.globulus* que nous avons testée est constituée majoritairement d'Eucalyptol à 92% (Derdah, communication personnelle).

Bouchelta et al. (2016) ont rapporté qu'elle est constituée de d-limonène à 6.88 %, γ -terpinene à 5.83%. L'efficacité de cette huile pourrait être attribuée à sa richesse en composés terpéniques qui agissent en se fixant sur les récepteurs de l'octopamine, agissant comme un neurotransmetteur chez les invertébrés (roeder, 1999). C'est ainsi qu'Enan (2002) a conclu lors d'une étude que l'application de l'Eugénol, de l' α terpinéol et de l'alcool cinnamique bloquent les sites récepteur de l'octopamine chez *Stomoxys calcitrans* (Diptera : Muscidae).

Garcia et al (2005) suggèrent que ce sont les groupements hydroxyle, contenus dans les composés des HE qui seraient responsables de l'activité biocide de *Tribolium castaneum*. Cette bioactivité se traduit souvent par une action sur la physiologie des insectes, en induisant des effets anti-appétants ou déférents affectant ainsi la croissance, la fécondité et le développement des insectes.

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

L'efficacité des huiles essentielle par fumigation a été mentionnée par plusieurs auteurs (Lee et al, 2003), Cet effet serait dû au 1.8-cinéole réputé pour ces potentialités biocide par fumigation.

Quant à l'HE d'*A.sativum*, l'effet adulticide est proportionnel aux facteurs dose et temps (Tableau 4).

Les résultats de test de fumigation montre qu'après 96h d'exposition à 4 μ l/ l d'air le taux de mortalité des adultes de *S.oryzae* atteint 53.33% alors qu'à la plus faible dose 2 μ l/ l d'air le taux de mortalité n'atteint que 25% et ce même après 96h d'exposition.

La mortalité totale chez la population traitée n'est enregistré qu'à la dose maximal (8 μ l/ l d'air) après 72h d'exposition.

Pour évaluer la réelle efficacité de cette huile, nous avons déterminé la dose létale engendrant 50% de mortalité (DL₅₀) chez *S.oryzae*, et cette dose est obtenue à partir du tracé d'une droite de régression des probits en fonction des logarithmes des doses (figure 38). Ainsi, l'évolution du probit en fonction de la dose en échelle logarithmique, suit généralement une loi linéaire.

Les DL₅₀ ainsi déduites sont de 7.58 μ l/ml d'air pour *A.sativum* et 3.38 μ l/ml d'air pour *E.globulus*.

En effet, les résultats obtenus dans notre étude révèlent que l'huile essentielle d'*A.sativum* est bioactive à l'égard du charançon du riz dans les traitements par fumigation en affectant directement le taux de viabilité de ce dernier mais préférentiellement à de fortes doses et longues durées de traitements.

Les résultats auxquels nous sommes arrivés dans les traitements par fumigation avec cette huile concordent avec ceux de Ho et *al.*, (1996) qui expliquent dans leurs travaux que la toxicité d'*A.sativum* est en fonction de la dose mais aussi de la durée d'exposition, en effet il ont testé l'He cette huile sur *tribolium castaneum* et *S.zeamais* en utilisant le bio-essai d'imprégnation de papier filtres à différentes doses, et ce dernier a révélé que les adultes de *T.castaneum* était plus sensible à l'huile d'ail que ceux de *S.zeamais*.

D'autre part, Arannilewa et *al.*, (2006) rapportent un taux de mortalité de 85%, 14 jours après application de 1,5 g de *A. sativum* pour 25 g de maïs.

Adedire et Ajayi (1996) expliquent que cette huile serait insecticide due à la forte odeur émanant de *A. sativum* qui perturbe la respiration de *S.zeamais* par suffocation.

Les travaux de Suleiman (2013) expliquent cette efficacité par le fort arôme que dégage *A. sativum* et de *Z. officinale* qui jouerait un rôle anti-appétant pour *S. zeamais*, l'empêchant de s'alimenter.

Karahaçan (2015) rapporte que Les principaux groupes composant l'HE d'ail sont par ordre d'importance : les trisulfides , di-2-propenyl(45%) , le bisulfure , di2-propenyl (16%), le trisulfide, 2di-2-méthilique (10.88%) et le disulide de diallyl (7.15%).

Tableau 5. Taux moyen de mortalité (%) (moyennes \pm écart-type) des adultes de *S.oryzae* traité par les huiles essentielles des espèces d'*E.globulus* et d'*A.sativum* dans le temps en fonction de la dose.

temps doses	24h	48h	72h	96h
<i>Allium sativum</i>				
Témoin	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
2 μ l	0 \pm 0	15 \pm 5	25 \pm 5	25 \pm 5
4 μ l	6.66 \pm 4.44	20 \pm 6.66	36.66 \pm 11.11	53.33 \pm 8.88
6 μ l	30 \pm 0	46.61 \pm 15.55	80 \pm 6.66	96.66 \pm 4.44
8 μ l	63.33 \pm 4.44	93.33 \pm 4.44	100 \pm 0	100 \pm 0
<i>Eucalyptus globulus</i>				
Témoin	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
2 μ l	45 \pm 15	65 \pm 5	65 \pm 5	65 \pm 5
4 μ l	95 \pm 5	95 \pm 5	95 \pm 5	95 \pm 5
6 μ l	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0
8 μ l	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0

Les résultats obtenus montrent donc l'efficacité par fumigation de l'HE d'*E.globulus* comparativement à l'HE d'*A.sativum* avec une DL₅₀ de 7.58 μ l/ l d'air après 24h d'exposition. L'huile essentielle d'*A.sativum* s'est révélée moins active que l'HE d'*E.globulus* avec une DL₅₀ de 7,58 μ l/ l d'air après 24h d'exposition.

Nos résultats concordent avec ceux de Hassani et al. (2017) qui en exposant les adultes de *S.oryzae* à quatre différentes doses d'HE de *Thymus vulgaris* ont constaté l'effet insecticide de l'HE sus-citée avec un taux de mortalité de 100% après 48h de traitement à la dose 10 μ l/ l d'air.

Tableau 6. Taux moyens de mortalités (%) (moyennes \pm écart-type) observées chez les adultes de *S.oryzae* traité avec les HE d'*E.globulus* et *A.sativum* selon l'huile et la dose utilisée.

		Moyennes \pm écarttype moyen	
Huiles doses		<i>E.globules</i>	<i>A.sativum</i>
	Témoin		0 \pm 00
2 μ l		60 \pm 10.69 (b)	16.25 \pm 5.976 (d)
4 μ l		95 \pm 00 (a)	35 \pm 8.452 (c)
6 μ l		100 \pm 00 (a)	65 \pm 12.536 (b)
8 μ l		100 \pm 00 (a)	88.75 \pm 13.363 (a)

Le test de Newman et Keuls, classe les doses en 3 groupes homogènes.

II.2. traitement par répulsion

Les résultats obtenus révèlent que l'huile d'*A.sativum* repousse les adultes de *S.oryzae* en au fur et à mesure que la dose augmente (tableau 2).

L'effet de cette huile par répulsion est induit à partir de la plus faible dose (2 μ l) qui engendre un taux de répulsion de 33.33% \pm 8.88, et ce dernier atteint 86.66% \pm 8.88 à la dose 8 μ l/ l d'air, Le classement de l'He selon leurs propriétés répulsives conformément à la classification de MC Donald (1970) indique que l'HE d'*A.sativum* est classé comme répulsive avec un taux moyen de 59.99%,

En effet nos résultat concordent avec ceux d'Auger et *al.*, (2002) qui notent la possibilité de l'utilisation des composés alléochimiques des *Allium* en tant qu'insecticides. Les composés alléochimiques du genre *Allium* présente des propriétés répulsives et des effets anti-appétent vis-à-vis des insectes. Ils ont été évalués et testés sur les insectes des denrées stockées. Les composés comme les Thiosulfates sont testés sur *Callosobruchus maculatus*, *Sitophilus oryzae* et *Sitophilus granarius* et autres lépidoptères.

L'huile d'ail, étant efficace à la fois contre *T.castaneum* et *S.zeamais*, est potentiellement un puissant protecteur des céréales et autres produit stockées .Outre son action insecticide, le jus de l'ail haché et l'extrait d'acétate d'éthyle de l'ail se sont révélés très répulsifs pour ces 2 espèces de coléoptères. Rapportent ho et ma 1995. L'extrait d'éther de pétrole de l'ail a repoussée *Calosobruchus chinensis* (L.) (Jacobson, 1990 in ho et ma 1995) tandis que l'huile d'ail était hautement répulsif pour les adultes de *Blattel/a germanica* (L.)

Les résultats obtenus avec l'HE d'*E.globulus* révèlent que celle-ci repousse les adultes de *S.oryzae* au fur et à mesure que la dose augmente (tableau 2).

L'effet de cette huile par répulsion est induit à partir de la plus faible dose (2 µl) qui engendre un taux de répulsion de $20\% \pm 0$, et ce dernier atteint $66.66\% \pm 8.88$ à la dose 8 µl/ l d'air, Le classement de l'He selon leurs propriétés répulsives conformément à la classification de MC Donald (1970) indique que l'HE d'*E.globulus* est classé comme moyennement répulsive avec un taux moyen de 41.66%.

Cet effet répulsif pourrait être attribué aux constituants majoritaires de l'HE, en l'occurrence les monoterpènes comme l' α pinene, le β pinene, le Camphène, le limonene, le P. cymène et le terpinolène qui ont été souvent caractérisés par leur activité biocide et répulsive contre de nombreux insectes ravageurs des denrées stockées (keita et al, 2000).

Conclusion

Conclusion

Au terme de notre étude, les structures sécrétrices d'huile essentielle sont des poches pour *E.globulus* et des cellules sécrétrices pour *A.sativum*.

L'HE d'*E.globulus* est incolore, fraîche et piquante alors que celle d'*A.sativum* est jaune foncé, forte est désagréable.

L'activité anti-oxydante estimée par la méthode du DPPH des deux huiles essentielles en comparaison avec l'acide ascorbique a révélé les valeurs de 0.0069 µl/mg pour *E.globulus*, 0.0097 µl/mg Pour *A.sativum* et 0.062 µl/mg pour l'acide ascorbique.

Les effets des huiles essentielles appréciées par deux tests au laboratoire ont révélé que les huiles essentielles extraites à partir des plantes sus-citées ont été plus efficaces par fumigation que par répulsion, avec des taux de mortalité de 100% pour les deux huiles mais à des doses et temps d'exposition différents. Des taux de répulsion respectifs de 41.66% et 59.99% ont été enregistrés pour *E.globulus* et *A.sativum*.

Ces résultats sont encourageants et montrent clairement l'effet bioinsecticide remarquable par fumigation.

Les composées majoritaires d'*Eucalyptus globulus* sont l'Eucalyptol ou 1.8-cinéole à 79.77%, d-limonène à 6.88 %, γ-terpinene à 5.83%, dont l'activité insecticide a déjà été démontrée. Il en est de même pour *Allium sativum* dont les constituants majoritaires sont les trisulfides , di-2-propenyl(45%) , le bisulfure , di2-propenyl (16%), le trisulfure, 2di-2-méthilique (10.88%) et le disulfide de diallyl (7.15%).

Ce travail basé sur l'utilisation des plantes aromatiques comme insecticides ouvre de grandes perspectives dans le domaine des connaissances fondamentales d'une part et des domaines d'application d'autre part, pour cela nous proposons des recherches sur :

- L'évaluation des effets d'autres types d'extraits de ces plantes aromatiques locales sur les insectes nuisibles des grains.
- L'élargissement de nos huiles essentielles sur d'autres nuisibles des denrées stockées (*Rhyzoperta dominica*, *Callosobrochus maculatus*, *Sitophilus granarius*, *Sitophilus zeamais* ... etc.).

Conclusion

- L'étude d'autres activités des huiles essentielles : antifongique, antivirale, antiparasitaire, anti-oxydante, anti-inflammatoires ...etc.
- D'un point de vue pratique, il est essentiel de tester ces extraits de plantes et leurs substances pures en plein champ afin d'évaluer leur efficacité dans le milieu naturel en interaction avec les facteurs biotiques et abiotiques et envisager leur exploitation en tant que biopesticides, tout en essayant d'identifier leurs principes actifs et tenter de les extraire pour les appliquer dans le traitement des stocks.
- Mener une enquête dans les silos et les ports secs.

Références bibliographiques

Référence bibliographiques

ABBOTT, W. (1925). A method of computing the effectiveness of insecticide. *J.Econ. Entomol.* 18,265-267.

Abd El-Salam M.E. (2010). Fumigant toxicity of seven essential oils against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) and the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Egypt. Acad. J. biolog. Sci.*, 2 (1): 1- 6 (2010).

Adedire C.O, Ajayi T.S. (1996). Assessment of the insecticidal properties of some plant extracts as grain protectants against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Nigerian J. Entomol.* 13:93 -101.

Aidani H., (2015). Effet des attaques de Capucin des grains (*Rhizopertha dominica*) sur les céréales stockées. « Estimation sur la perte pondérale et le pouvoir germinatif Cas de blé dur dans la région de Tlemcen ».mémoire de master en agronomie. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen ,104p.

Aïssata Camara, (2009) - Lutte contre *Sitophilus oryzae* l. (coleoptera: curculionidae) et *Tribolium castaneum herbst* (Coleoptera: Tenebrionidae) dans les stocks de riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en basse-guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales. These doctorat. Université du Québec à Montréal p43-45.

Amari Nadia (2014). Etude du choix de ponte de la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* en présence de différentes variétés d'haricot et de pois chiche, et influence de quelques huiles essentielles (Cèdre, Ciste et Eucalyptus) sur activité biologique de l'insecte. Magister, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, République Algérienne Démocratique et Populaire, pp23,23,25.

Amorati, R., Foti, M.C., Valgimigli, L. (2013). Antioxidant activity of essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 61 (46), 10835–10847.

Référence bibliographiques

Arannilewa S.T., Ekrakene T., Akinneye J.O. (2006). Laboratory evaluation of four medicinal plants as protectants against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Motsch.). *Africa J. Biotechnol.*, 5:2032-2036.

Bakkali F. (2007) - Biological effects of essential oils – A review, *Food. Chem., Toxicol* Islands. A review. *Journal of Ethnopharmacology* 46, 73-93.

Balachowsky A. S. (1962) - Entomologie appliquée à l'agriculture. Ed. Masson et cie, paris, Tome I, pp .378-392.

Bare, C. O. (1942), Some natural enemies of stored tobacco-insects, with biological notes, *J. econ. Ent.* 35 : 185-189.

Bekon K. et Fleurat Lessard F. (1989) - Evolution des pertes en matière sèche des grains dues à un ravageur secondaire - *Tribolium castaneum* (Herbest), (Coléoptère ;Tenebrionidae), lors de la conservation des céréales, céréales en région chaudes, AUPELF-UREF, Ed.John Libbey Eurotext, Paris, pp. 97-104.

Beloued A. (1988) - Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires, 1998. P 26 et 124.

Benazzeddine S. (2010) - Activité insecticide de cinq huiles essentielles vis-à-vis de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera ; Curculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptera ; Tenebrionidae).mémoire ingénieur, E.N.S.A. Alger ,107p.

Benayad N. (2013) Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse THESE de doctorat Chimie Organique Université Mohammed V – Agdal pp47, 48.

Référence bibliographiques

Bousbia N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels de co-produits alimentaires. Thèse de doctorat Université d'Avignon ; Institut National d'Agronomie (El Harrach ,Algérie), 128p.

Bruneton J. (1993) — Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris, Lavoisier, p580,623.

Bruneton J., (1999) — Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 3ième édition. Ed. Tec et Doc., pp. 484 - 535.

Bruneton J., (1999) — Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales & Paris, Lavoisier, 585p.

Cronquist A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press. New York. 1262 P.

Croteau R. (1987). biosynthesis and catabolism of *monoterpenoids*. *Chem. Rev* 87 : 929-980.

Cruz JF., Troude F., Griffon D., Hebert JP. (1988). Conservation des grains en région chaudes ; 2ème édition ; « Technique rurale en Afrique ». Ed. Paris, France. • DUPIN H. , 1989. Les aliments. Ed. Maloine, France ; pp 109.).

Delobel A., et Tran M. (1993). Les Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes, IRD Editions, p : 275-280 et 345-346.

Deyson G. (1954). Eléments d'anatomie des plantes vasculaires Ed. SEDES. Pp : 5-13.

Diop Y.M., Marchioni E., Ba. D. et Hasselmann C. (1997). radiation disinfection of cowpea seeds contaminated by *Callosobruchus maculatus*. *Journal of food processing and preservation*. 21 (1): 69 – 81.

Djeddi S., Yannakopoulou E., Papadopoulos K., Skaltsa H. (2015). Activités anti-radicalaires de l'huile essentielle et des extraits bruts de *Thymus numidicus* Poiret., Algérie. *Afrique SCIENCE 11(2) (2015) 58 – 65.*

Référence bibliographiques

Dongret K., Rananavar H. D. et Dessas R. P. (1997). Influence of gamma radiation on oviposition and egg viability of *Callosobruchus maculatus* (F.) and grain loss in mung bean storage. J. Nuclear. Agro. Biol. 26 (3): 161 – 165.

Ducom P. (1978). Traitement par fumigation. In: les insectes et les acariens des céréales stockées. Normes et technique des céréales et des fourrages. AFNOR-ITCF., 138-164. • Eurostat : agreste. agriculture.gouv.fr/IMG/PDF/Gaf13p121-126.

Dufournet, R. (1965). Contribution à la connaissance et à l'amélioration de la riziculture malgache - Améliorations culturelles et rendements des rizières. IRAM.

El haib A. (2011). valorisation de terpenes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. These doctorat, université de Toulouse France, p9, 12.

El idrissi M., Elhourri M., Amechrouq A., Boughdad A. (2014). Étude de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Dysphania ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) sur *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) [Study of the insecticidal activity of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) on *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae)]. J. Mater. Environ. Sci. 5 (4) (2014) 989-994.

Enan, E. (2002). Insecticidal activity of essential oils: Octopaminergic sites of action. Comparative Biochemistry and Physiology, Toxicology and Pharmacology. Part C130. Vol (3): 325-337.

FAO. (2004). Année internationale du riz 2004 le riz, c'est la vie.

FAO. (2012). Pertes et gaspillages alimentaires dans le monde – ampleur, causes et prévention. Rome.

Fargo W. S., Cuperus G. W., Bonjour E. L., Bucholder W. E., Clary B. L. & Payton M. E. (1994): Influence of probe trap type and attractant on the capture of four stored grain *Coleoptera*. J. Stored Prod. Res. 58pp.

Référence bibliographiques

Fleurat-Lessard F. (1982)- les insectes et les acariens in Multon J.L.,1982- conservatuib et stockage des grains et graines et produits dérivés. Ed. Technique et Documentation Lavoisier, Paris, Vol. 1, pp. 394-414.

Fleurrat – Leussard. (1978) : Autres méthodes de lutte contre les insectes et acariens des denrées stockées. Coed. AFNOR. I.T.C.F. Paris pp : 67 – 81.

Flinn, P. W. (1998). Temperature Effects on Efficacy of *Choetospila elegans* (Hymenoptera: Pteromalidae) to Suppress *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in Stored Wheat. *Journal of Economic Entomology*, 91(1), 320–323.

Garcia M., Donald O.J. Ardanaz C.E., Tonn G.E.& Sosa M.E. (2005). Toxic and repellent effects of *Baccharis salcifolia* essential oil on *Tribolium castaneum*. *Pest Management Science* Vol.61:612-618.

Goetz P., Ghedira K., Le Jeune R. (2008). *Eucalyptus globulus* Labill. *Phytothérapie* (2008) 6: 197–200.

Grenier A.M., Wajnberg E., Charles H., et Nardon P. (2000). Variabilité de facteurs biologiques et comportementaux dans les populations des trois espèces de *Sitophilus* (Coleoptera : Curculionidae) inféodées aux céréales et produits dérivés, et leur importance dans la caractérisation des espèces. *Annales de la Société entomologique de France* (n.s.)36: 223-238.

Grosjean N. (2013). Le grand livre de l'aromathérapie Se soigner au quotidien avec les huiles essentielles. Ed. eyrolles, 75240 Paris Cedex 05, p27,57.

Hassani A., Sehari N., Sehari M., Bouchenafa N., Labdelli F., Kouadria M. (2017). Etude des propriétés insecticides et bactéricides de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. dans la lutte contre les ravageurs des semences et denrées stockées. *Revue Écologie-Environnement* (13) : 2017.

Hill D.S. (1990). “Pest of stored products and their control”. London, Brit. Library, 274p.

Référence bibliographiques

Hill D.S. (2002). “Pests of stored foodstuffs and their control”. Kluwer Academic Publishers, 196-234p.

Ho, S.H et Ma, Y. (1995). Repellency of some plant extracts to the stored products beetles, *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. Document présenté au symposium sur la gestion des parasites pour les aliments stockés et les aliments pour animaux, Bogor. 5-7 septembre 1995.

Ho S.H., Koh L., Ma Y., Huang Y. et Sim K.Y. (1996). The oil of garlic, *Allium sativum* L. (Amaryllidaceae), as a potential grain protectant against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. *Postharvest Biol. Technol.*, 9, 41-48.

Hoffman A. (1950) — Faune de France-52-Coléoptères Curculionides (première partie). Librairie de la Faculté des Sciences 7.Rue des Ursulines Paris 1950.

Homburger, F., Boger, E. (1968) - The carcinogenicity of essential oils, flavors and spices: A review. *Cancer Res.* 28, 2372-2374.

Isman M. B., (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop protection.* 19: pp. 603-608.

Iserin P., Masson M., Restellini J-P. (2001). “Encyclopedie des plantes medicinales” (2nd Edition). VUEF Larousse 2001. p59.

Jacobson, M. (1990). Glossary of plants-derived insects deterrents. CRC Press, Inc. – FL.

Jiri S., Marketa R., Olga K., Petr S., Jaromir H., Vojtech A., Libuse T., Ladislav H., Miroslava B., Josef Z., Ivo P. and Rene K. (2010). “Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages” *Journal of Molecules* 2010, 15, 8618-8640.

Référence bibliographiques

Karahaçan T., (2015) - Activité insecticide des extraits de quelques plantes cultivées et spontanées sur les insectes du blé en poste récolte. These doctorat, E.N.S.A. Alger, p22, 31, 81.

Kéïta, S.M. Vincent, C., Schmit, J.P., Ramasway, S. & Belanger, A. (2000). Effect of various essentials oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research. Vol. 36 : 335-364.

Kellouche A. et Soltani N. (2004) - Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elles sur *Collosobruchus maculatus* (F.), International Journal of Tropical Insect Science vol.24, N°1, pp. 184-191.

Kellouche A. (1987) - Relations parasitaires entre *Iariophagus distinguendus* foerster et *Chaetospila elegans* westwood (hymenoptera : pteromalidae) et les ravageurs des denrées stockées : *Sitophilus oryzae* linneaus et *Rhyzopertha dominica* fabricius (coleoptera : curculionidae et bostrychidae). These doctorat, université de Toulouse France, 36-59p.

Kurkin V. A. (2003) - Phenylpropanoids from medicinal plants: distribution, classification, structural analysis, and biological activity, Chem. Nat. Compd.,vol 39:123.

Lahlou M. (2004) - Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils, Phytother.Res. N°18, pp. 435-448.

Lee, B., Choi, W., Lee, S., Park, B. (2001). Toxicité des fumigènes composé des huiles essentielles vers le charançon du riz, *Sitophilus oryzae* (L).Crop Prot. 20 :317-320.

Lee S., Peterson C.& Jand Coast J.R. (2003). Fumigation toxicity of monoterpenoides to several stored product insects. Journal of stored products research, Vol.39 (1) : 77, 85.

Leo M.L. Nollet, Hamir S. R. (2017)- Green Pesticides Handbook : Essential Oils for Pest Control .Ed Taylor & Francis Group. P6, 432.

Lepesme P. (1944) — Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. Ed. P. Le chevalier, Paris, pp. 61 - 67.

Référence bibliographiques

Lizhi Gao, Eugene M. McCarthy, Eric W. Ganko et John F. McDonald (2006), “Evolutionary history of *Oryza sativa* LTR retrotransposons: a preliminary survey of the rice genome sequences”, *BMC Genomics*, 2004, n° 5, p. 18.

Lucchesi M. L. (2005). Thèse sur : Extraction sans solvant assistée par Microondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles, université de la Réunion, France.

Mangena T., Muyima N.Y.O. (1999) .Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Lett Appl Microbiol*, 28 :291-296.

Mcdonald, L. L., Guy, R. H. and Speirs, R. D. (1970). Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. Marketing Research Report Number882 (Washington: Agricultural Research, Service, US Department of Agriculture pp. 8.

Mollard E., Walter A. (2008), *Agricultures singulières*, IRD Éditions, 2008 (fiche 7 : le riz flottant, p. 53).

Naganuma M., Hirose S., Nakayama, Y., Nakajima, K., Someya T. (1985) -A study of the phototoxicity of lemon oil. *Arch. Dermatol. Res.* 278, 31-36.

Padrini F. et Lucheroni M.T. (1996) - le grande livre des huiles essentielles .Ed de Vecchi. Page 115.

Padua L.S., Bunyapraphatsara N., R.H.M.J. Lemmens. (1999) - Plant Ressources of South-East Asia No.12.

Papachristos, D.P.et Stamopoulos, D.C. (2002). Reppelent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera : Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*. Vol.38 : 117-128.

Référence bibliographiques

Pavida D.L, Lampman G.M et Kriz G.S. (1976). Introduction to organic laboratory techniques. W.B. Saunders Co. Philadelphia, USA. 567-573.

Pons-Guiraud, A. (2008). *Intolleranza ai cosmetici. Attualizzazione.* , 5(1), 1–11.

Procopio S, O., Ribeiro, J I J., & Barbosa, J D S. (2003). Bioatividade de diversos pos de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Cienc. Agrotec. 27, 1231-1236.

Rai M. K., Acharya D. AND Wadegaonkar P. (2003) - Plant derived antimycotics: Potential of *Asteraceous* plants, in: Plant- derived antimycotics: Current Trends and Future prospects. Haworth press, N-York, London, Oxford, pp: 165-185.

Raut J S., Karuppayil S M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. Industrial Crops and Products 62 (2014) 250–264.

Regnault. Roger C. Hamraoui A., Holeman M., Theron E.& Pinel R. (1993). Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthocelides Obtectus*. Journal of Chemistry and Ecology. Vol.19 : 1233-1244.

Rivnay E. (1962) - Field crop pests in the near east, ED.W. W. WEISBACH Den Haag, 242-245p.

Robert H., Waterman K.M., Peter G. (1993) . Volatile Oil Crops, Their Biology Biochemistry and Production. Longman Scientific & Technical, U.K. 185 p.

Roeder T. (1999). Octopamine in invertebrates. Progres in Neurbiology., Vol 59: 533-561.

Sabraoui A., EL Bouhssini M., Lhaloui S., Boulamtat R. & Bouchelta A. (2016). Effet insecticide des huiles essentielles sur la mineuse de pois chiche, *Liriomyza cicerina* R.. *Revue Marocaine de Protection des Plantes*, 2016, N°9:39-46.

Sanon A., Garba M., Auger J. et Huignard J. (2002) : Analysis of insecticidal activity of

Référence bibliographiques

methyl-isocyanate on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera :Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Rond.) (Hymenoptera : Pteromalidae). J. Stor. Prod. Res. 38:129 - 138 p.

Sarla, N. et Mallikarjuna Swamy, B.P. (2005) - «*Oryza glaberrima*: A source for the improvement of *Oryza saliva*». CurrSci, 89: 955-63.

Sasaki T. et Moore G. (1997) – “*Oryza* : from molecule to plant”. Springer Science+Business Media Dordrecht 1997. P18;34.

Selles C. (2012) - Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5M. These doctorat, Aboubekr Belkaid. Tlemcen, p48, 66.

Shaaya E., Kostjukovski M., Eilberg J. & Sukprakarn C. (1997). Plants oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 33 (1) : 7-15.

Singh S. R. & Jackai L. E. N. (1985): Insects pests of cowpea in Africa: their life cycle, economic importance and potential for control. In cowpea Research, Production and Utilization (Edited by Singh S. R. et Rachie K. O.). pp: 217-231.

Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T. y Arsenakis, M. (1996). Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. J. Agric. Food Chem. 44: 1202-1205.

Smith, C.K.; Moore, C.A.; Elahi, E.N.; Smart, Â.T.; Hotchkiss, S.A. (2000). Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. Toxicol. Appl. Pharmacol. 168,189-199.

Référence bibliographiques

Suleiman, M., Majeed, Q. and Aiki, I. P. (2013). Efficacy of Four Plant Powders against *Sitophilus zeamais* Motschulsky [Coleoptera: Curculionidae] On Sorghum Grains. *International Journal of Applied Research and Technology*. 2(6): 130 – 138.

Taleb K. (2015) - Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). These doctorat, U.M.M.T.O. Tizi Ouzou, 16p,140p.

Tapondjou, L.A., Adler, C., Bouda, H.& Fontem, D.A. (2002). Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambroceoides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. *Journal of Stored and Products Research*.Vol 38: 395-402.

Tayoub G., Schwob I., Masotti V., Rabier J., Ruzzier M., Viano J. (2006) – Contribution de la microscopie électronique à balayage et photonique à la connaissance de l’anatomie et de la morphologie de *Styrax officinalis* L. *C. R. Biologies.*, 329(9): 712-718.

Tunç; Ş. Şahinkaya (1998). Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. , *Entomologie expérimentale*. Appl. 86 :183-187.

Vassart S. (2012) –Aromathérapie .Ed. I.P.I, Besancon .92p.

Yahyaoui N. (2005) - Extraction, analyse et évaluation de l’effet insecticide des huiles essentielles de *Mentha Spicata* (L.) sur *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera, Bostrychidae) et *Tribolium confusum* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae).Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach.

Zambonelli A., D’Aurelio A.Z., Severi A., Benvenuti E., Maggi L., Bianchi A. (2004). Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *Thymus vulgaris* L. *J. Essent. Oil Res.* 16(1) ,69-74.

Sites web:

<https://www.newsjardintv.com/l-ail-cultive-un-fort-en-gueule/>.

Annexe

Tableau 1. Analyse de la variance au seuil 5% pour les taux de mortalité des adultes de *S.oryzae* traité avec les HE d'*E.globulus* et *A.sativum* par fumigation aux différentes doses, et différentes durées d'exposition.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	132120	79	1672,405				
VAR.FACTEUR 1 (huile)	17999,99	1	17999,99	184,615	0		
VAR.FACTEUR 2 (dose)	91382,5	4	22845,63	234,314	0		
VAR.FACTEUR 3 (temps)	3630	3	1210	12,41	0,00001		
VAR.INTER F1*2	9462,508	4	2365,627	24,263	0		
VAR.INTER F1*3	2510,008	3	836,669	8,581	0,00019		
VAR.INTER F2*3	1457,5	12	121,458	1,246	0,28758		
VAR.INTER F1*2*3	1777,492	12	148,124	1,519	0,1573		
VAR.RESIDUELLE 1	3900	40	97,5			9,874	17,63%

Tableau 2. Doses d'huile essentielle d'*A.sativum* transformées en logarithmes décimaux (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).

Mortalité (%)	Mortalité probits	Log doses
0	0	0
0	0	0.30
3.3	3.12	0.60
30	4.48	0.77
63.3	5.33	0.90

Tableau 3. Doses d'huile essentielle d'*E.globulus* transformées en logarithmes décimaux (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).

Mortalité (%)	Mortalité probits	Log doses
0	0	0
20	4.16	0.30
66.6	5.41	0.60
100	7.33	0.77
100	7.33	0.90

Résumé

Notre étude portant sur l'extraction des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Allium sativum* a permis de visualiser les poches sécrétrices et les cellules génératrices d'huile essentielle des deux plantes provenant de la région de Kabylie en Algérie. Il s'agit d'*Allium sativum* et *Eucalyptus globulus*.

L'activité anti-oxydant estimée par la méthode du DPPH a montré des IC₅₀ respectives de 142.86 µl/mg pour *E.globulus* ; 103.01 µl/mg pour *A.sativum* et 15.98 µl/mg pour l'acide ascorbique.

Les essais biocides de ces huiles essentielles sur les adultes d'un ravageur des denrées stockées *Sitophilus oryzae* étaient concluants aussi bien par répulsion que par fumigation. Les DL₅₀ calculées sont de 7.58µl/ml d'air pour *A.sativum* et 3.38µl/ml d'air pour *E.globulus*.

Mots clés : *Eucalyptus globulus*, *Allium sativum*, activité antioxydante, fumigation, répulsion.

Summary

Our study on the extraction of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Allium sativum* has made it possible to visualize the secretory pockets and the essential oil-generating cells of the two above-mentioned plants.

The antioxidant activity estimated by the DPPH showed respective IC_{50s} of 142.86 µl/mg for *E.globulus*; 103.01 µl/mg for *A.sativum* and 15.98 µl/mg for ascorbic acid.

The biocidal tests of these essential oils on a pest of the foodstuffs produced *Sitophilus oryzae* were conclusive as well by repellency as by fumigation. The calculated LD₅₀ are 7.58µl/ml of air for *A.sativum* and 3.38µl/ml of air for *E.globulus*.

Key words: *Eucalyptus globulus*, *Allium sativum*, antioxidant activity, fumigation, repellency.