

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de L'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique**

**Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**

**Département des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**



**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Biodiversité et physiologie végétale**

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques

### ***Thème***

**Extraction de trois huiles essentielles du genre *Eucalyptus* :  
Estimation de leur effet sur deux pathogènes de l'homme et sur  
un ravageur des denrées stockées (*Tribolium castaneum*)**

Présenté par:

**Mr MEDDAR Rayane**

**&**

**Mr NOUGAR Faouzi**

**Devant le jury composé de :**

**Mr LHADJ MOHAND A.**

**MAA UMMTO**

**Président**

**Mme TALEB TOUDERT K.**

**MCA UMMTO**

**Promotrice**

**Mme HEDJAL- CHEBHEB M.**

**PROFESSEUR**

**Examinatrice**

Année universitaire : 2023/2024.

# Remerciement

Nos vifs remerciements vont :

À notre promotrice, Madame TALEB-TOUDERT K, pour son encadrement exceptionnel, son aide précieuse, son dévouement inlassable et ses orientations judicieuses tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons à exprimer notre gratitude aux membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en évaluant et en consacrant leur temps à examiner notre travail.

A Monsieur LHADJ MOHAND d'avoir accepté de présider le jury, et Madame HEDJAL-CHEBHEB d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions également Madame ALI AHMED pour son aide précieuse.

Nous adressons un remerciement tout particulier à nos parents pour leur soutien indéfectible et leur encouragement constant.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de ce travail, nous exprimons notre profonde gratitude.

# DEDICACES

*Je dédie ce travail*

*À mes parents, sans lesquels cette réalisation n'aurait été possible, et dont aucun remerciement n'est à la hauteur pour exprimer leur dévouement et leurs encouragements depuis mon premier jour à l'école.*

*À toute ma famille, pour leur présence constante, leur compréhension et leur affection indéfectible.*

*À mon binôme Faouzi, pour sa collaboration, son soutien et les moments partagés tout au long de cette aventure académique.*

*À mes enseignants, pour leur guidance, leur patience et leur dévouement à transmettre leurs connaissances.*

*À tous mes amis, pour leur camaraderie, leur encouragement et les souvenirs précieux que nous avons créés ensemble.*

*À toutes celles et ceux qui ont cru en moi.*

*Rayane*

# DEDICACES

*Je dédie ce travail*

*À ma famille, qui m'a soutenue inconditionnellement tout au long de mon parcours d'études. Vos encouragements, votre amour et vos sacrifices ont été les piliers sur lesquels j'ai construit mon succès académique.*

*À mon binôme Rayane, qui a été comme un frère. Ensemble, nous avons partagé cette aventure académique avec une bonne humeur qui a rendu chaque journée d'étude agréable.*

*À mes amis, qui ont toujours été présents à mes côtés dans les moments difficiles et joyeux. Votre encouragement m'a énormément aidé à surmonter de nombreux défis.*

*À mes enseignants, grâce à vous, nous avons acquis des connaissances précieuses et des compétences qui nous guideront tout au long de notre vie. Votre influence positive restera gravée dans nos cœurs et nous vous en serons éternellement reconnaissants.*

*Enfin, à toutes les personnes qui ont cru en moi.*

*Faouzi*

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 1

## Partie I : Etude bibliographique

### Chapitre I : Les huiles essentielles.

I. Définition .....	3
II. Répartition.....	3
III. localisation.....	4
IV. Propriétés physiques.....	6
V. fonction physiologique des huiles essentielles.....	6
VI. Emploi.....	6
VII. Composition chimique.....	7
VII-1 les terpènes .....	7
VII-1.1.les monoterpènes.....	7
VII-1.2.les sesquiterpènes.....	8
VII-2. Les composés aromatiques .....	9
VII-3. Les composés d'origines diverses.....	9
VIII. méthode d'extraction des huiles essentielles.....	9
VIII-1. Les méthodes conventionnelles.....	9
VIII- 1.1. L'hydrodistillation.....	10
VIII-1.2. La distillation à la vapeur d'eau.....	10
VIII-1.3. Expression à froid.....	11
VIII-1.4. La distillation sèche.....	12
VIII-2. Les méthodes non conventionnelles.....	12
VIII-2.1. Extraction par fluide supercritique.....	12
VIII-2.2. Enfleurage.....	13
VIII-2.3. Extraction assistée par micro-onde.....	13
VIII-2.4. Extraction par solvant organique.....	14
IX. les facteurs de variabilités des huiles essentielles.....	14
IX-1 facteurs interne.....	14

IX-2 facteurs externes.....	15
IX-2.1. Facteurs environnementaux.....	15
IX-2.2. Les pratiques culturelles.....	16
IX-2.3. Le processus d'obtention.....	16
X. activités biologiques des huiles essentielles.....	16
X-1 activité antibactérienne.....	16
X-2 activité anti-inflammatoire.....	16
X-3 activité anti-oxydante.....	17
X-4 activité antifongique.....	17
X-5 activité antivirale.....	17
X-6 activité insecticide.....	17
XI. Toxicité des huiles essentielles.....	18
XII. Conservation.....	18
XIII. contrôle à effectuer sur une huile essentielle.....	19
XIV. les huiles essentielles en pharmacognosie et en lutte biologique.....	19
XIV-1. Application des huiles essentielles en pharmacognosie.....	19
XIV-2. application des huiles essentielles en lutte biologique.....	20

## Chapitre II : Monographie des plantes étudiées

I. Généralités sur la famille des Myrtacées.....	22
II. Généralité sur le genre <i>Eucalyptus</i> .....	22
III. Position systématique.....	23
IV. Monographie des espèces étudiées.....	23
IV-1. <i>Eucalyptus globulus</i> .....	23
IV-1.1. Description.....	23
IV-1.2. Répartition.....	24
IV-1.3. Huiles essentielles.....	24
IV-2. <i>Eucalyptus polybractea</i> .....	25
IV-2.1. Description .....	25
IV-2.2. Répartition .....	26
IV-2.3. Huiles essentielles .....	26
IV-3. <i>Eucalyptus maidenii</i> .....	26

IV-3.1. Description.....	26
IV-3.2. Huile essentielle.....	27

### Chapitre III : généralités sur *Tribolium castaneum*

I. Description.....	28
II. Position systématique.....	28
III. Cycle de vie .....	29
IV. Dégâts provoqués par <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst, 1797).....	29
V. Moyen de lutte.....	30
V-1. La fumigation chimique.....	30
V-2. Utilisation de produits insecticides chimique.....	30
V-3. Lutte biologique par des substances d'origine botanique.....	30

## Partie II : Etudes expérimentales

### Chapitre I : Matérielles et méthodes

I. Matériel biologique utilisé.....	31
II. Matériel de laboratoire.....	31
III. Etude des structures sécrétrices d'huiles essentielles des plantes étudiées.....	31
III-1. Technique de la double coloration (Deyson, 1954).....	32
IV. Extraction des huiles essentielles.....	32
V. Etude des activités biologiques des huiles essentielles extraites.....	33
V-1. Etude de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque.....	33
V-1.1. Coloration de Gram.....	34
V-1.2. Préparation des suspensions bactériennes.....	34
V-1.3. Etude de la sensibilité des souches aux HEs.....	35
V-1.3.1. Protocole.....	35
IV. Etude de l'activité bioinsecticide des huiles essentielles.....	36
IV-1. L'évaluation de l'activité bioinsecticide des huiles essentielles.....	37
IV-1.1. Teste de répulsivité sur les adultes de <i>T.castaneum</i> .....	37

<b>IV-1.2. Teste de fumigation sur les adultes de <i>T.castaneum</i></b> .....	<b>38</b>
<b>V. Analyse statistique</b> .....	<b>40</b>
<b>V-1. Test de Kruskal-Wallis</b> .....	<b>40</b>

## **Chapitre II : Résultats et discussion**

<b>I. Etude histoanatomique</b> .....	<b>41</b>
<b>II. Coloration de Gram</b> .....	<b>43</b>
<b>III. Evaluation de l'activité anti bactérienne par la méthode de diffusion sur disque</b> ....	<b>43</b>
<b>IV. Evaluation de l'activité bioinsecticide des huiles essentielles</b> .....	<b>49</b>
<b>IV-1. Test de répulsivité sur les adultes de <i>T.castaneum</i></b> .....	<b>49</b>
<b>IV-1. Test de fumigation sur les adultes de <i>T.castaneum</i></b> .....	<b>50</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>56</b>
Références bibliographique	
Annexes	

## Liste des abréviations

- : Négatif.

% : Pourcentage (partie pour cent).

+ : Positif.

**ATCC** : American Type Culture Collection (Collection de cultures microbiennes.)

**BHIB** : Brain Heart Infusion Broth (Milieu de culture pour bactéries).

**BHT** : Butylhydroxytoluène (Antioxydant).

**C°** : Degré Celsius.

**CBM** : Concentration Bactéricide Minimale (Plus faible concentration d'un agent antimicrobien capable de tuer une bactérie).

**cm** : centimètre (Unité de longueur).

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice (En microbiologie, concentration la plus basse d'un agent antimicrobien qui empêche la croissance d'un micro-organisme).

**E.coli** : Escherichia coli.

**ECBU** : Examen Cyto-bactériologique des Urines.

**g** : Gramme.

**G** : Grossissement .

**HD** : Hydrodistillation (Technique d'extraction).

**HE** : Huile Essentielle.

**INRAT** : Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie.

**LC50** : Concentration Létale pour 50% des individus (En toxicologie, mesure de la toxicité d'une substance).

**m** : mètre (Unité de longueur).

**mg/L** : Milligramme par litre (Unité de concentration, équivalent à un millième de gramme par litre).

**mg**: Mille gramme.

**MH** : Mueller-Hinton (Milieu de culture pour bactéries).

**MH** : Gélose de Muller Hinton.

**min** : Minute (Unité de temps).

**ml** : Millilitre (Unité de volume).

**nm** : Nanomètre (Unité de longueur).

**nm** : Nanomètre.

**PR** : Pourcentage.

**S.aureus** : Staphylococcus aureus .

**SARM** : Staphylococcus Aureus Résistant à la Méthicilline (Bactérie résistante à certains antibiotiques).

**T°**: Température.

**UFC/ml** : Unité Formant Colonie par millilitre (Mesure de la concentration bactérienne)

**UMMTO** : Université Mouloud MAMMERRI de Tizi-Ouzou

**v/v** : Pourcentage en volume sur volume (Concentration en volume pour chaque 100 volumes de solution totale).

**µl** : Microlitre (Unité de volume, équivalent à un millionième de litre).

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Quelques exemples d'appareil sécréteur (Guignard, 1996).....	5
<b>Figure 02</b> : Structures de quelques terpènes (Dhifi & <i>al.</i> , 2016).....	8
<b>Figure 03</b> : Structure de composés aromatiques rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 2009).....	9
<b>Figure 04</b> : Représentation schématique de l'hydrodistillation (Labadie, 2015).....	10
<b>Figure 05</b> : Représentation schématique de la distillation à la vapeur d'eau (Goudjil,2016)...	11
<b>Figure 06</b> : Schéma d'un dispositif d'extraction d'huile par pression à froid (Saleem & Ahmad, 2018).....	11
<b>Figure 07</b> : Illustration d'extraction D'huile essentielle par le processus de distillation sèche (Kapetanovic, & <i>al.</i> , 1984 in Duval, 2012).....	12
<b>Figure 08</b> : Schéma montrant montage d'extraction par les fluides supercritiques (Goudjil, 2016).....	13
<b>Figure 09</b> : Extraction sans solvant assisté par micro-ondes (Ferhat, 2010).....	14
<b>Figure 10</b> : Feuilles et fleurs d' <i>Eucalyptus globulus</i> (Bey–Ould Si Said et Boulekbache Makhlof, 2014).....	24
<b>Figure 11</b> : <i>Eucalyptus polybractea</i> (Erau, 2019).....	25
<b>Figure 12</b> : <i>Eucalyptus maidenii</i> (Hedjal, 2014).....	26
<b>Figure 13</b> : Vues multiples de <i>Tribolium castaneum</i> (GX40): Phase dorsale (A), latérale (B) et ventrale (C) (Originale, 2024).....	28
<b>Figure 14</b> : Larve de <i>Tribolium castaneum</i> (GX40) (Originale, 2024).....	29
<b>Figure 15</b> : Nymphe de <i>Tribolium castaneum</i> (GX40) (Originale, 2024).....	29
<b>Figure 16</b> : Représentation schématique de la distillation à la vapeur d'eau (Goudjil, 2016)...	33
<b>Figure 17</b> : Colonies de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (à gauche) et <i>Staphylococcus aureus</i> (à droite) (Originale, 2024).....	34
<b>Figure 18</b> : Elevage de masse de <i>T. castaneum</i> (Originale,2024).....	37
<b>Figure 19</b> : Dispositif expérimental du test de répulsivité (Originale, 2024).....	38
<b>Figure 20</b> : Flacon ECBU utilisé pour le test de fumigation sur les adultes de <i>T.castaneum</i> (Originale, 2024).....	39
<b>Figure 21</b> : Dispositif expérimental du test de fumigation (Originale, 2024).....	40
<b>Figure 22</b> : Coupe transversale de la feuille d' <i>Eucalyptus globulus</i> observée au microscope optique (GX 400) (Originale, 2024).....	41

<b>Figure 23</b> : Coupe transversale de la feuille d' <i>Eucalyptus Maidenii</i> observée au microscope optique (GX400) (Originale, 2024).....	<b>42</b>
<b>Figure 24</b> : Coupe transversale de la feuille d' <i>Eucalyptus polybractea</i> observée au microscope optique (GX100) (Originale, 2024).....	<b>42</b>
<b>Figure 25</b> : Colonies de <i>staphylococcus aureus</i> (A gauche) et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (A droite) après coloration de Gram observées au microscopique optique (G X400).....	<b>43</b>
<b>Figure 26</b> : Zones d'inhibition en fonction des différentes doses d'HE d' <i>Eucalyptus maidenii</i> avec contrôle positif et négatif .....	<b>47</b>
<b>Figure 27</b> : Zones d'inhibition en fonction des différentes doses d'HE d' <i>Eucalyptus maidenii</i> avec contrôle positif et négatif .....	<b>47</b>
<b>Figure 28</b> : Zones d'inhibition en fonction des différentes doses d'HE d' <i>Eucalyptus maidenii</i> avec contrôle positif et négatif .....	<b>47</b>
<b>Figure 29</b> : Effet de l'HE d' <i>Eucalyptus Maidenii</i> sur la croissance de <i>staphylococcus aureus</i> et <i>pseudomonas aeruginosa</i> .....	<b>48</b>
<b>Figure 30</b> : Effet des concentrations croissantes de l'HE d' <i>Eucalyptus Globulus</i> sur la croissance de deux souches bactérienne : <i>staphylococcus aureus</i> et <i>pseudomonas aeruginosa</i> .....	<b>48</b>
<b>Figure 31</b> : Effet de l'HE d' <i>Eucalyptus Polybractea</i> sur la croissance de deux souches bactérienne <i>staphylococcus aureus</i> et <i>pseudomonas aeruginosa</i> .....	<b>49</b>
<b>Figure 32</b> : Taux de Répulsivité de trois huiles essentielles vis-à-vis de <i>Tribolium castaneum</i> après 30 minutes d'exposition .....	<b>49</b>
<b>Figure 33</b> :Taux de mortalité d'adultes de <i>Tribolium castaneum</i> exposé à trois Huiles Essentielles après 24 Heures à 37°C.....	<b>52</b>
<b>Figure 34</b> : Taux de mortalité d'adultes de <i>Tribolium castaneum</i> exposé à trois Huiles Essentielles après 48 Heures à 37°C.....	<b>52</b>
<b>Figure 35</b> : Taux de mortalité d'adultes de <i>Tribolium castaneum</i> exposé à trois huiles essentielles après 72 heures à 37°C.....	<b>53</b>
<b>Figure 36</b> : Taux de mortalité d'adultes de <i>Tribolium castaneum</i> exposé à trois huiles essentielles après 24 heure à 4°C.....	<b>54</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Répartition des huiles essentielles dans les Plantes (Garneau, 2005, in Haddadi & Rabhi, 2022).....	<b>4</b>
<b>Tableau 02</b> : Diamètre des zones d'inhibition (Ponce & <i>al.</i> ,2003).....	<b>36</b>
<b>Tableau 03</b> : Pourcentage de répulsion (Ponce & <i>al.</i> ,2003).....	<b>38</b>

# Introduction

---

### Introduction

Depuis des siècles, les extraits de végétaux ont été utilisés pour diverses applications, allant de la parfumerie et de l'aromatization des aliments à la conservation des denrées alimentaires et aux applications médicinales (Hammer & *al.*, 1999). Parmi ces produits végétaux, les huiles essentielles occupent actuellement une place particulière (Sharifi-Rad & *al.*, 2017). En effet, ces dernières années, l'intérêt pour les huiles essentielles a considérablement augmenté en raison de leurs diverses propriétés biologiques intéressantes (Angane & *al.*, 2022). Parmi ces plantes médicinales, le genre *Eucalyptus*, appartenant à la famille des Myrtacées, se distingue par ses diverses propriétés biologiques grâce à ses nombreux composés bioactifs tels que le 1,8-cinéole (Zonfrillo & *al.*, 2022).

Parallèlement, les problèmes liés aux infestations d'insectes et aux infections bactériennes représentent des défis majeurs dans les domaines de l'agriculture et de la santé (Ngamo & Hance, 2007) (Aouf & *al.*, 2022). Des bactéries comme *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* posent des risques sérieux en raison de leur résistance croissante aux antibiotiques conventionnels. L'apparition de multi-résistances contre les principales classes d'antibiotiques a conduit à une crise sanitaire majeure (Chouhan & *al.*, 2017).

D'autre part, Les insectes ravageurs de denrées, généralement des Coléoptères tels que *Tribolium castaneum*, peuvent causer des pertes significatives dans les stocks de céréales, compromettant ainsi la sécurité alimentaire (Ngamo & Hance, 2007).

Face à ces défis, la recherche de solutions alternatives naturelles est cruciale. Les huiles essentielles d'*Eucalyptus*, offrent une solution potentielle grâce à leurs propriétés insecticides et antibactériennes. Elles agissent comme des bio-pesticides et possèdent des composés capables d'inhiber la croissance bactérienne (Bachir & Benali, 2012) (Slimane & *al.*, 2014).

Notre étude se concentre sur l'évaluation de l'efficacité des huiles essentielles de trois espèces d'*Eucalyptus* (*maidenii*, *Globulus* et *Polybractea*) contre l'insecte ravageur de denrées stockées : *Tribolium castaneum*, ainsi que les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. L'objectif est de déterminer leur potentiel en tant qu'agents antibactériens et insecticides, contribuant ainsi à la recherche de solutions durables et naturelles pour la gestion des infestations d'insectes et des infections bactériennes.

Notre travail est structuré en trois parties principales :

La première partie se concentre sur une revue bibliographique des huiles essentielles et des plantes d'*Eucalyptus maidenii*, *Globulus* et *Polybractea*.

La deuxième partie détaille le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude.

La troisième partie présente les résultats obtenus, leur discussion, et se conclut par une conclusion.

## Partie I : Etude bibliographique

---

# CHAPITRE I : LES HUILES ESSENTIELLES.

---

## I. Définition

Le terme « Huile essentielle » fut employé pour la première fois au XVI<sup>ème</sup> siècle par Paracelsus von Hohenheim, pour décrire l'efficacité du composant d'un médicament comme « Quinta essential » (Guenther, 1948).

Etant un mélange complexe de composés aromatiques volatiles naturels, les HE sont secrétés par les plantes médicinales et aromatiques comme métabolites secondaires. Ces dernières jouent un rôle crucial pour protéger la plante des attaques biotiques et abiotiques auxquelles elle peut être exposée et sont à l'origine des diverses fragrances émises par les plantes (Dhifi & *al.*, 2016). (Nazzaro & *al.*, 2017).

L'Agence Française de Normalisation (AFNOR) définit les huiles essentielles comme « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par distillation à la vapeur d'eau, soit par procédés mécaniques à partir de l'épicarpe. D'agrumes, ou distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des moyens physiques » (Dhifi & *al.*, 2016).

Selon la Pharmacopée Européenne 7<sup>ème</sup> édition, les HE sont définies comme : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une huile essentielle est généralement séparée de la phase aqueuse par une méthode physique qui n'entraîne pas de modification significative de sa composition chimique ». La pharmacopée Européenne ajoute aussi que l'huile essentielle « ne doit être ni partiellement, ni totalement déterpénée ou dé-sesquiterpénée. Elle ne doit pas être rectifiée par distillation fractionnée, ce qui serait susceptible de modifier sa composition. Elle ne doit pas avoir été modifiée par suppression, ni partielle, ni totale de l'un ou de plusieurs de ses constituants » (Socasau, 2017).

## II. Répartition

Les huiles essentielles ne sont principalement présentes que chez les végétaux supérieurs, Lawrence estime qu'il y'aurait environ 17 500 espèces aromatiques. Les genres capables de synthétiser ces composés appartiennent à un nombre restreint de familles telles les Apiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae, Poaceae, Rutaceae, Zingiberaceae, etc (Bruneton, 2009).

Bien que les huiles essentielles puissent être stockées dans tous les organes végétaux (fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits et graines), la composition de ces dernières peut varier en fonction de leurs localisations au niveau de la plante (Bruneton, 2009). (**Tableau 1**).

**Tableau 1** : Répartition des huiles essentielles dans les plantes (Garneau, 2005, *in* Haddadi & Rabhi, 2022).

Partie de la plante	Plante
Feuilles	Romarin-sauge, Sapin
Tiges	Citronnelle, Lemon-grass
Ecorces	Cannelier, Orange
Racines	Angelica, Vétiver
Rhizomes	Gingembre, Acorus, Curcuma
Bulles	Oignon
Bois	Santal, Quinquina
Fleurs	Jasmin, Rose
Graines	Anis, Aneth, Muscade
Boutons floraux	Clou de girofle
Baies	Genévrier
Fruits	Citron, bleuet, persil

### III. Localisation

Les huiles essentielles sont généralement synthétisées et stockées dans des tissus spécialisés fréquemment localisés sur ou proximité de la surface de la plante (Bruneton, 2009).

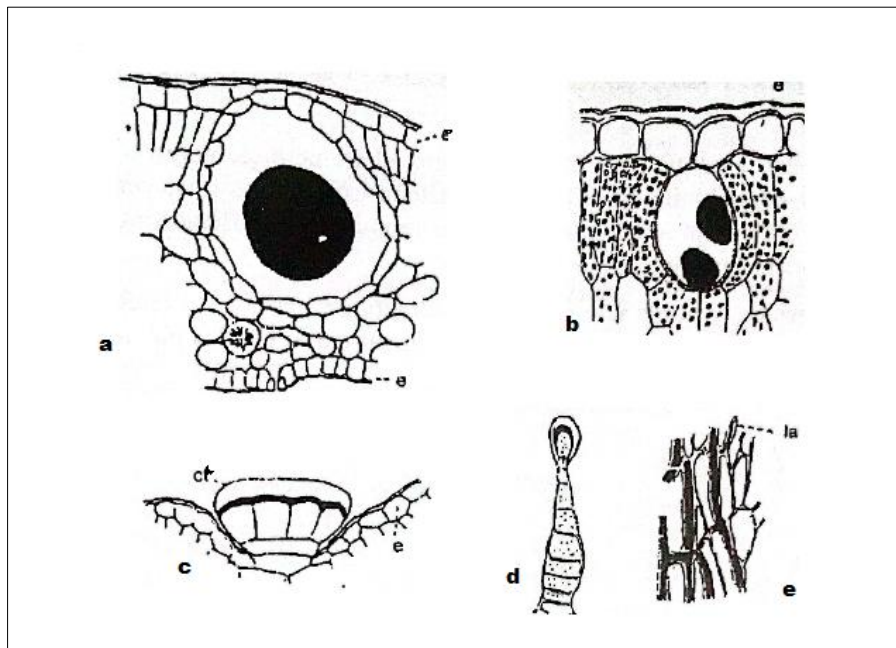
On distingue 4 structures sécrétrices (Svoboda & *al.*, 2000 *in* DESCHEPPER, 2017) (Bruneton, 2009) :

Les cellules sécrétrices isolées : Ces cellules sont présentes dans tous les tissus de la plante mais elles sont plus concentrées dans l'épiderme, principalement dans les feuilles et les organes floraux. Les huiles essentielles qui y sont synthétisées migrent pour être stockées dans des vacuoles en dehors du cytoplasme (Lauriaceae) (**Figure 1.b**).

Les poils sécréteurs : Ces formations, soit uni-ou pluricellulaires résultent de la différenciation des cellules épidermiques. Les HE synthétisées sont stockées entre la membrane et la cuticule (Lamiaceae) (**Figure 1.c et d**).

Les poches sécrétrices : De morphologie arrondie, ces structures sont formées du cloisonnement d'une cellule de deux manières différentes, donnant des poches schizogènes et schizolysigènes. (Myrtaceae ou Rutaceae) (**Figure 1.a**).

Les canaux sécréteurs : Contrairement aux schizogènes issus d'une seule cellule, les canaux sécréteurs se forment d'une file de ces dernières créant un canal recueillant les sécrétions (Apiaceae ou Asteraceae) (**Figure 1.e**).



**Figure 1** : Quelques exemples d'appareil sécréteur (Guignard, 1996).

**1.a** : Poche sécrétrice dans une feuille d'*Eucalyptus globulus* (Myrtacées) ; **1.b** : Cellule isolée située sous l'épiderme « e » de la feuille de *sassafras officinale* (Lauracées) ; **1.c** : Poil de Menthe poivrée (*Mentha piperita*), (Lamiacées) : L'essence (en noir) s'accumule sous la cuticule «ct» très épaisse ; **1.d** : Poil de Patchouli (*Pogostemon*), (Lamiacées) ; **1.e** : Laticifères « lat » dans la racine d'un Salsifis (Asteracées). (Guignard, 1996).

#### IV. Propriétés physiques

D'après Dhifi et *al* (2016), les huiles essentielles sont généralement volatiles, incolores et liquides à températures ambiantes avec une densité inférieure à celle de l'eau, à l'exception des huiles de cannelle, sassafras et de vétiver. Ajoutons le clou de girofle et l'ail.

Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes mais insolubles dans l'eau et émettent une odeur distinctive. Les HE présentent également un indice de réfraction et une activité optique très élevée.

Elles peuvent être entraînées par la vapeur d'eau, ajoute Bruneton (2009), et sont sensibles à l'oxydation, ce qui limite leur conservation (Cartier & Roux, 2007).

#### V. Fonction physiologique des huiles essentielles

La fonction spécifique des huiles essentielles reste encore méconnue (Bruneton, 2009). Dhifi et ses collaborateurs (2016) avancent qu'elles agissent comme signaux chimiques arbitrant les relations entre les plantes et leurs environnements.

Le rôle de certaines métabolites secondaires a été démontré expérimentalement tant dans les interactions entre plantes où elles exercent une influence allélopathique inhibant la germination des graines d'autres plantes, mais aussi dans les interactions entre plantes et animaux où elles jouent un rôle important dans l'attraction des pollinisateurs et dans la défense et la protection contre les prédateurs (Bruneton, 2016).

Les HE permettent également aux plantes d'avoir une meilleure adaptation et résistance vis-à-vis des stress abiotiques. (Sharifi-Rad & *al*, 2017).

#### VI. Emploie

D'après les prévisions d'Insight 2022, le marché mondial des huiles essentielles devrait croître pour atteindre une valeur de 16,0 milliards de dollars d'ici 2026, comparé aux 10.3 milliards de dollars enregistrés en 2021 (Meenu & *al.*, 2023).

Les huiles essentielles sont largement employées en parfumerie et dans les secteurs cosmétiques (Bruneton, 2009). Mais leur utilisation s'étend également au domaine de la pharmacie, où elles sont principalement exploitées pour leurs propriétés antiseptiques et antifongiques. Actuellement, elles sont utilisées dans la lutte contre les infections

nosocomiales provoquées par les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques traditionnels dans les centres de soins (Kaloustian & Hadji-Minaglou, 2012).

Dans le secteur agroalimentaire, les huiles essentielles sont employées comme conservateurs en raison de leur arôme, saveur et propriétés antibactériennes naturelles (Bajpai & *al.*, 2012).

## VII. Composition chimique

La composition chimique des huiles essentielles est très complexe et influencée par de nombreux facteurs. Généralement, elles renferment entre 20 et 60 composants présents à différentes concentrations. Mais certaines d'entre elles peuvent renfermer jusqu'à 300 substances distinctes. La majeure partie des composants d'une huile essentielle représente des terpènes volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, ainsi que plusieurs produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des composés non volatils (Chouhan & *al.*, 2017) (Couic-Marinier & Lobstein, 2013) (Bruneton, 2009).

### VII-1. Les terpènes

Les terpènes représentent le groupe de produits chimiques le plus répandu au sein d'une huile essentielle. Dérivés d'unités d'isoprène à 5 carbones (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>), ces derniers présentent une multitude. Seuls les monoterpènes en C<sub>10</sub> et les sesquiterpènes en C<sub>15</sub> peuvent être extraits par distillation. Ces composés sont classés selon leurs fonctions : alcools, esters, aldéhydes et cétones, et leur structure : linéaire, monocyclique ou tricyclique (Couic-Marinier & Lobstein, 2013) (Dhifi & *al.*, 2016) (Fokou & *al.*, 2020) (**Figure 2**).

#### VII-1.1. Les monoterpènes

C'est le type de terpènes le plus fréquent dans une huile essentielle, Ils sont issus de l'union de deux unités d'isoprène contenant ainsi 10 atomes de carbone. Les monoterpènes sont légèrement antiseptiques et bactéricides, et ils peuvent aussi avoir des propriétés analgésiques, expectorantes et stimulantes (Price & Price, 2011). Ils s'évaporent rapidement à cause de leurs faible poids moléculaire et s'oxydent facilement (Buckle, 2003) (**Figure 2**).

VII-1.2. Les sesquiterpènes

Ils sont composés de 3 unités d'isoprène avec 15 atomes de carbone. Ils sont moins volatiles que les monoterpènes en raison de leur plus grande structure. Les sesquiterpènes agissent comme antibiotiques contre les attaques microbiennes et possèdent des propriétés anti-inflammatoires (Price & Price, 2011) (Buckle, 2003). (Figure 2).

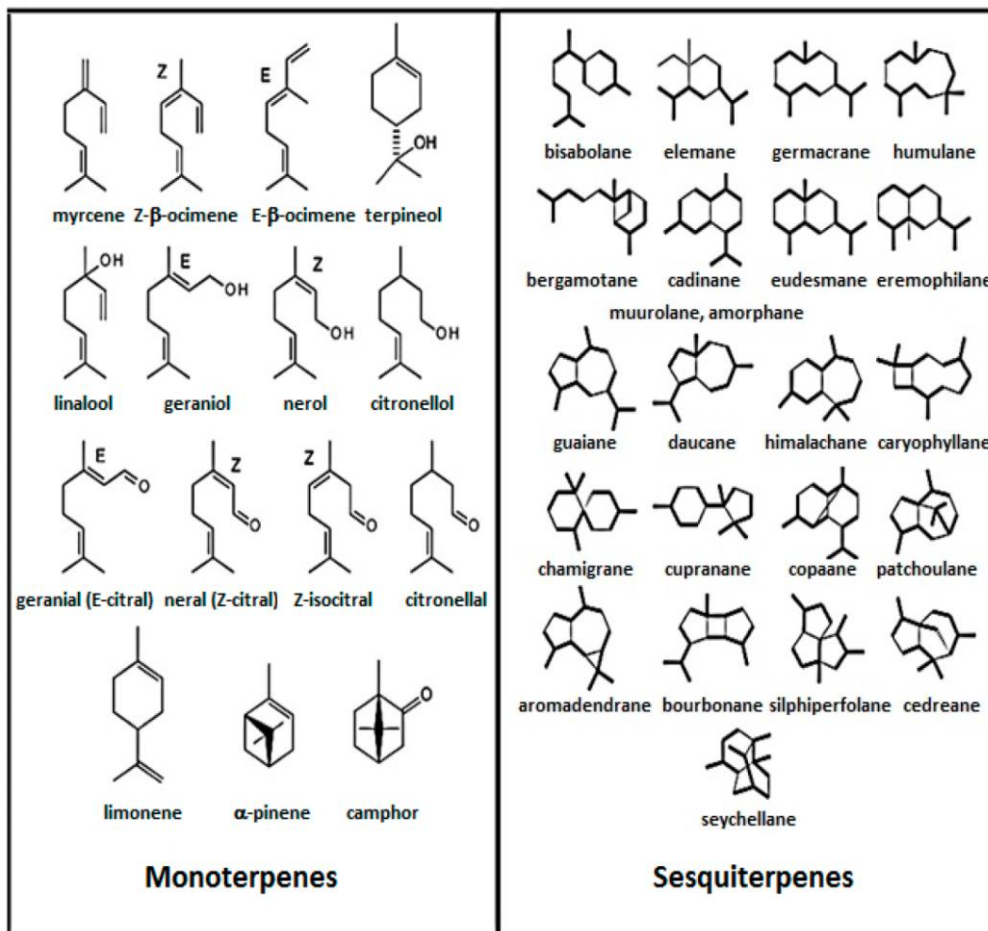
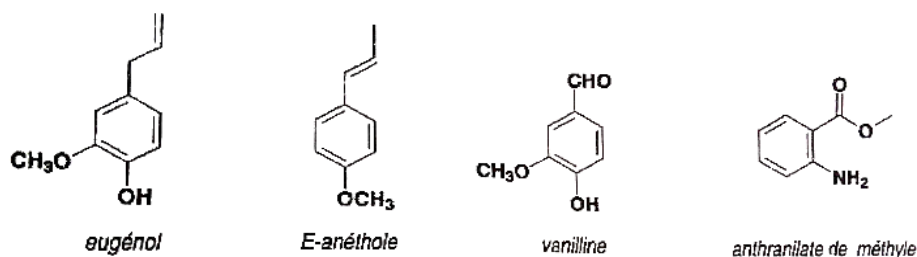


Figure 2 : Structures de quelques terpènes (Dhifi & al., 2016).

## VII-2. Les composés aromatiques

Selon Bruneton (2009) les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpènes, mais ils sont souvent présents sous forme d'allyles et de propénylphénols, parfois d'aldéhydes. Dans une huile essentielle, on retrouve également des composés en (C6-C1), comme la vanilline ou l'anthranilate de méthyle. (Figure 3).



**Figure 3:** Structure de composés aromatiques rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 2009).

## VII-3. Les composés d'origines diverses

Ces composés résultent souvent de la dégradation de molécules peu ou non volatiles (Kaloustian & Hadji-Minaglou, 2012).

## VIII. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont obtenues de diverses parties de la plante en employant une gamme variée de techniques d'extraction. La qualité de l'huile essentielle est grandement influencée par la méthode d'extraction utilisée. Une méthode inadéquate peut provoquer une altération de leur composition chimique ainsi qu'une perte de leurs propriétés naturelles (Tongnuanchan & Benjakul, 2014).

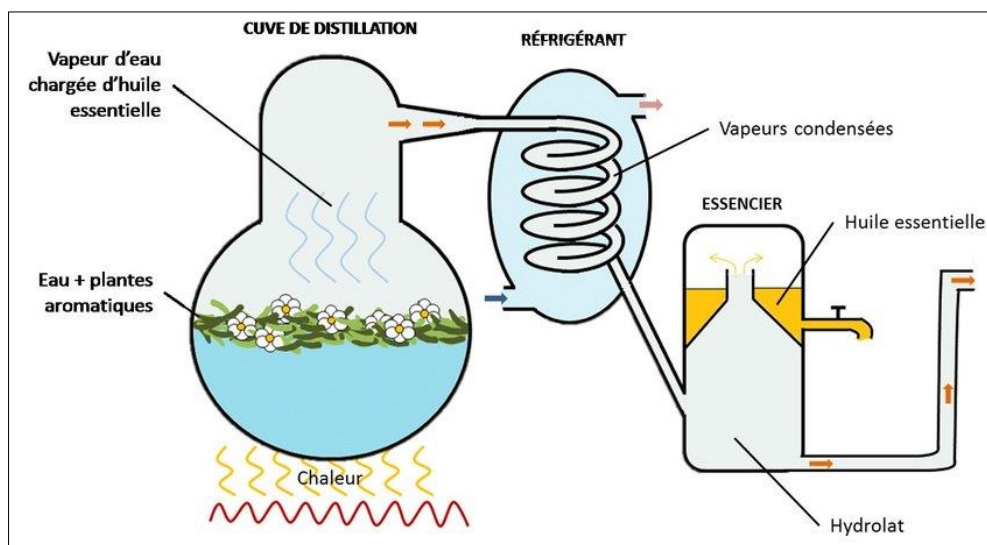
On distingue deux catégories de méthodes d'extraction :

### VIII-1. Les méthodes conventionnelles

Les méthodes conventionnelles sont représentées par quatre processus d'extraction, il s'agit :

### VIII-1.1. L'Hydrodistillation

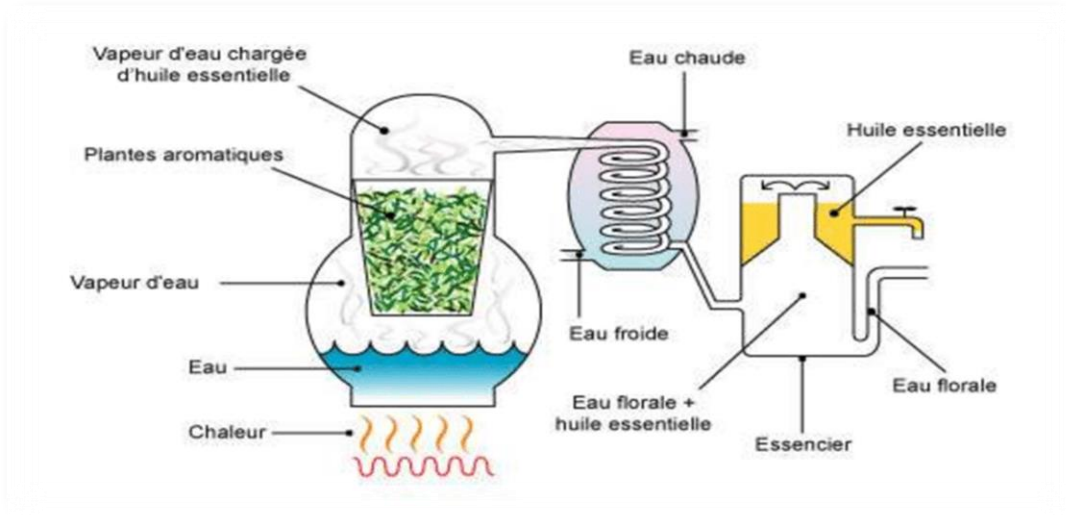
L'Hydrodistillation, découverte par Avicenne, est la méthode la plus ancienne et la plus couramment utilisée pour l'extraction des huiles essentielles. Reconnue pour sa simplicité, l'HD consiste à plonger le matériel végétal dans l'eau à l'intérieur d'un alambic, puis à le chauffer jusqu'à ébullition, pour ensuite récupérer les huiles essentielles par les processus de condensation et de décantation. Grâce à la présence d'eau, les huiles essentielles sont protégées de la surchauffe, ce qui en fait la méthode privilégiée pour leur extraction à des températures inférieures à 100 degrés Celsius (Nayik & Ansari, 2023) (**Figure 4**).



**Figure 4** : Représentation schématique de l'hydrodistillation (Labadie, 2015).

### VIII-1.2. La distillation à la vapeur d'eau

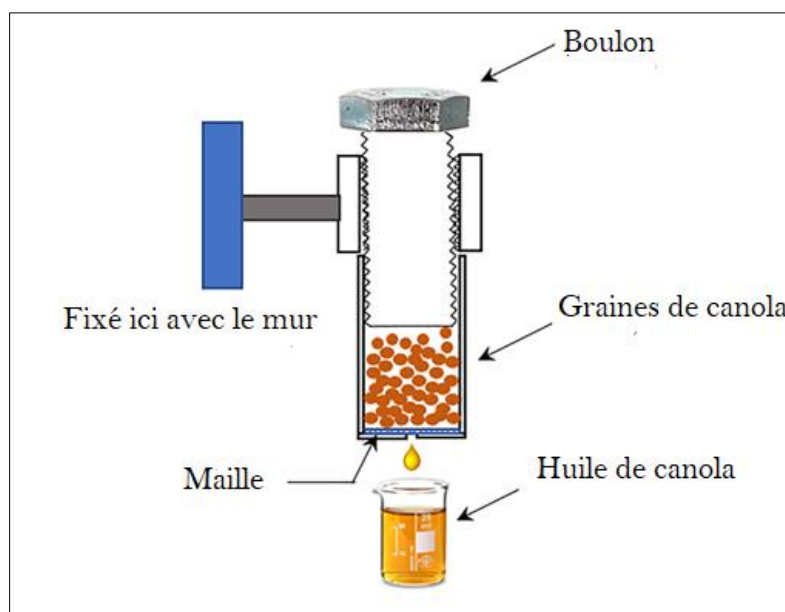
Cette méthode consiste à placer le matériel végétal sur une grille perforée au-dessus d'un bain d'eau chauffé afin de produire de la vapeur généralement à pression atmosphérique qui traverse le matériel végétal, entraînant ainsi l'évaporation des substances volatiles présentes dans la plante, qui seront ensuite condensées et récupérées dans des réceptacles. A la différence de l'Hydrodistillation, seul la vapeur entre en contact du matériel végétal dans ce cas (Pushpangadan & George, 2012) (**Figure 5**).



**Figure 5 :** Représentation schématique de la distillation à la vapeur d'eau (Goudjil, 2016).

### VIII-1.3. Expression à froid

La méthode d'expression à froid est une approche traditionnelle simple mais limitée. Elle consiste à rompre mécaniquement les sacs d'huile situés dans la partie externe du mésocarpe, libérant les huiles volatiles appelées dans ce cas « Essence » car aucune altération provoquée par des solvants ou de la vapeur d'eau n'a eut lieu. Cette dernière est extraite mécaniquement par pression à froid, produisant une émulsion aqueuse. Qui est ensuite récupérée grâce à la centrifugation, comme représenté dans la figure 6 (Baudoux, 2017) (Ferhat & *al.*, 2007).

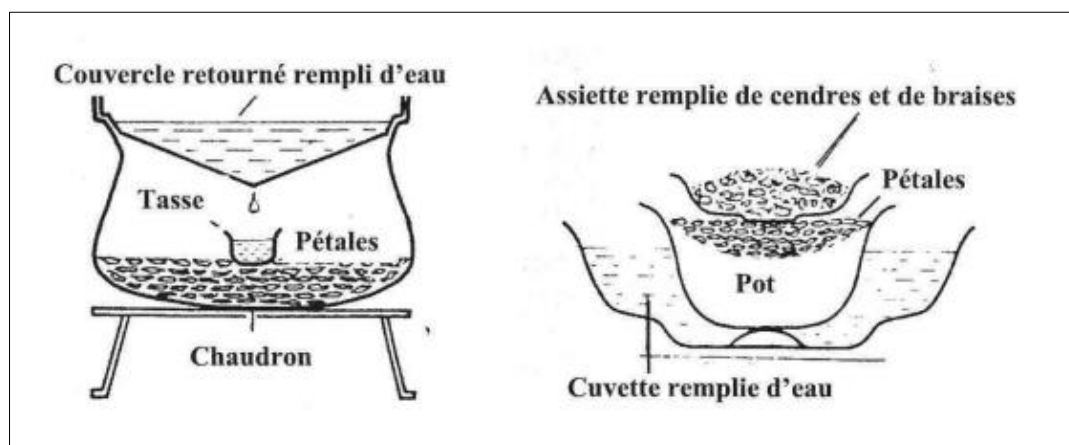


**Figure 6 :** Schéma d'un dispositif d'extraction d'huile par pression à froid (Saleem & Ahmad, 2018).

### VIII-1.4. Distillation sèche

Selon Kapetanovic et ses collaborateurs cités par Duval (2012), La distillation sèche est une méthode d'extraction reconnue par la Pharmacopée Européenne malgré la rareté de publications se rapportant à elle. C'est une technique adaptée aux plantes fragiles telles que les pétales de rose.

Lors de la distillation sèche, le matériel végétal est modérément chauffé sans ajout d'eau ou de solvant organique afin de récupérer les substances volatiles par condensation. L'avantage de cette méthode réside dans le fait que l'extraction des huiles essentielles se déroule à une température inférieure à 100°C, empêchant ainsi la dénaturation de certaines molécules thermosensibles. Malgré ses avantages en termes de qualité, la distillation sèche aboutit néanmoins à un rendement extrêmement bas (**Figure 7**).



**Figure 7** : Illustration d'extraction d'huile essentielle par le processus de distillation sèche (Kapetanovic, & al., 1984 in Duval, 2012).

### VIII-2. Les méthodes non conventionnelles

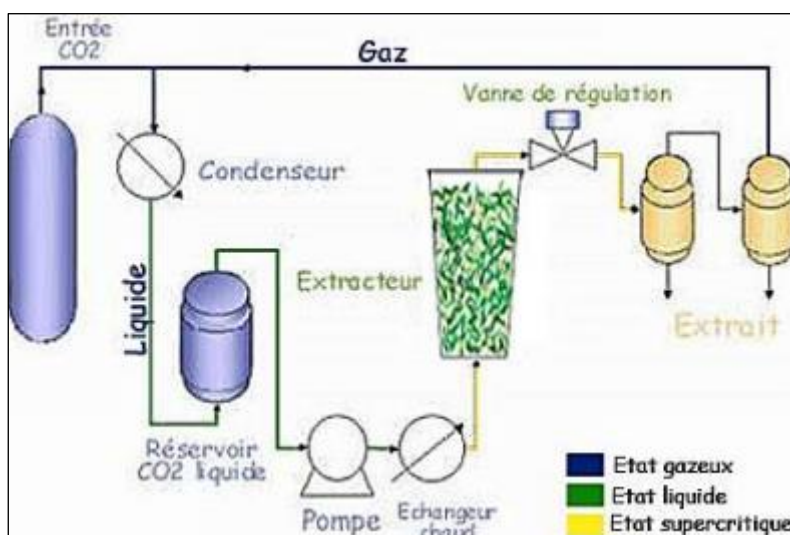
Parmi ces dernières, on peut citer :

#### VIII-2. 1. Extraction par fluide supercritique

C'est une méthode écologique qui, pour extraire les huiles essentielles, repose sur le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) sous haute pression.

La matière végétale séchée est placée dans un réservoir en acier inoxydable, où le CO<sub>2</sub> est induit. Sous haute pression, le CO<sub>2</sub> passe de l'état gazeux à l'état liquide et agit comme solvant permettant l'extraction des composés volatiles des plantes. Une fois l'extraction

achevée, la pression est relâchée, et le CO<sub>2</sub> retrouve son état gazeux, laissant derrière lui les huiles essentielles pures. Comparée à d'autres méthodes d'extraction telles que la distillation à la vapeur, l'extraction par fluide supercritique est réputée pour préserver davantage les composants volatils des plantes, ce qui se traduit par des huiles essentielles plus fraîches, plus propres et plus proches de l'arôme naturel de la plante (Pushpangadan & George, 2012) (Figure 8).



**Figure 8** : Schéma montrant le montage d'extraction par les fluides supercritiques (Goudjil, 2016).

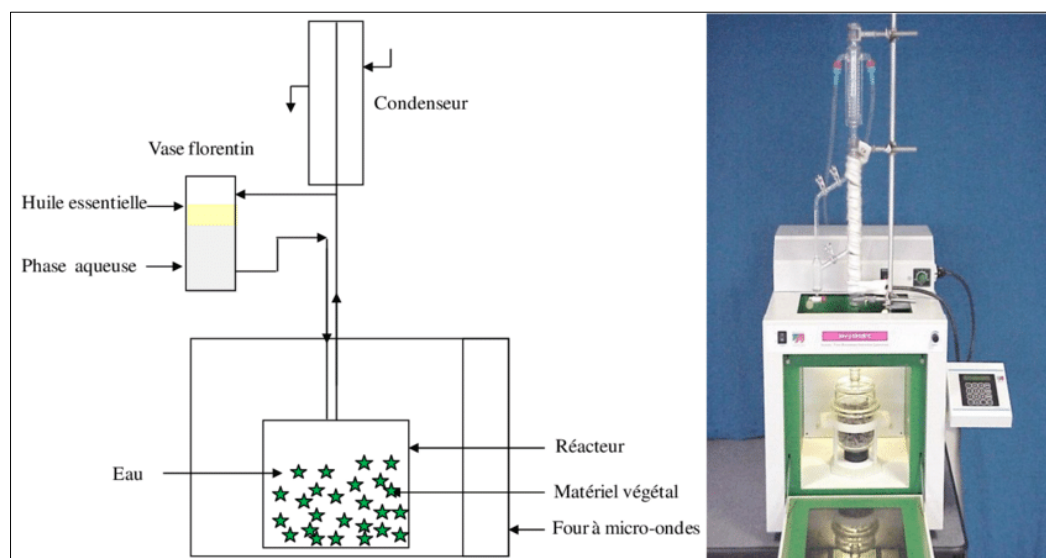
### VIII-2.2. Enfleurage

Cette ancienne méthode d'extraction repose sur la dissolution des composants d'huile essentielle dans une cire grasse. Effectuée à froid, celle-là peut prendre plus d'un mois, mais avec l'application de la chaleur, cette période peut être réduite à quelques heures seulement. La cire aromatisée résultante est dissoute dans un solvant polaire et subit une séparation avec de l'éthanol absolu. Bien que proche de l'huile essentielle, le produit obtenu est appelé « Absolve » (Fokou & *al.*, 2020).

### VIII-2.3. Extraction assistée par micro-ondes

C'est une technique largement reconnue pour son efficacité qui réduit considérablement le temps d'extraction tout en augmentant le rendement et la qualité de l'extractif. L'extraction assistée par micro-ondes constitue une technique rapide, simple, sans solvant et permet de limiter l'impact environnemental et réduit les coûts liés à l'extraction. De plus, elle se démarque par la taille considérablement réduite des équipements nécessaires (Peters, 2016).

Avec cette méthode, les plantes sont chauffées de manière ciblée par un rayonnement micro-ondes à l'intérieur d'une enceinte où la pression est progressivement réduite, le tout sans ajout d'eau, entraînant ainsi les huiles essentielles dans un mélange de vapeur d'eau issue de la plante elle-même (Brunton, 2009) (**Figure 9**).



**Figure 9** : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (Ferhat, 2010).

## VIII-2.4. Extraction par solvant organique

Cette méthode utilisée pour l'extraction des huiles essentielles instables et sensibles aux hautes températures consiste à plonger la matière végétale dans des solvants organiques tels que l'hexane, le benzène, le méthanol, l'éthanol, le propanol, l'acétone, le pentane et d'autres solvants chlorés afin de libérer les composés solubles de la plante. Après un laps de temps, le solvant et la plante sont séparés avant de récupérer les substances désirées suite à l'évaporation du solvant (Peters, 2016).

## IX. Les facteurs de variabilité des huiles essentielles

### IX-1. Facteurs internes

La composition d'une huile essentielle est liée à plusieurs facteurs inhérents à la plante elle-même. Tout d'abord, l'origine botanique joue un rôle crucial, car la constitution d'une huile essentielle dépend de l'espèce végétale qui la produit (Padrini & Lucheroni, 1996). Ainsi, il est essentiel d'identifier correctement la plante utilisée (Bruneton, 2009).

De plus, la présence de chimiotypes désignant la différence dans la composition chimique des plantes issues de la même espèce, est un phénomène courant. Ces variations chimiques, observées notamment chez les espèces sauvages, peuvent résulter de pollinisations croisées et de l'influence des conditions environnementales (Price & Price, 2011). Enfin, le cycle végétatif de la plante est un autre facteur déterminant, car la proportion des constituants de l'huile peut évoluer tout au long du développement de la plante (Bruneton, 2009).

## **IX-2. Facteurs externes**

### **IX-2.1. Facteurs environnementaux**

La formation d'huiles essentielles dans les plantes est étroitement liée aux conditions environnementales, incluant la durée du jour, l'intensité lumineuse, la température et l'apport en eau. Les espèces tropicales suivent un cycle de croissance déterminé par les saisons sèches et humides, tandis que celles des zones tempérées sont plus sensibles à la variation de la durée du jour. La menthe poivrée, considérée comme une plante à journée longue, nécessite une durée minimale d'exposition à la lumière du jour pour passer de la phase végétative à la phase générative, suivie d'une évolution de sa composition en huile essentielle de la menthone vers le menthol et l'acétate de menthyle. Des expériences ont mis en évidence que des clones de menthe poivrée cultivés à Munich, en Allemagne, contenaient significativement plus de menthol que ceux cultivés à Izmir, en Turquie, en raison de la différence de durée maximale de la journée entre les deux sites, 16 h 45 min à Munich contre 14 h 50 min à Izmir (Başer & Buchbauer, 2009).

Les facteurs édaphiques jouent également un rôle dans la production des huiles essentielles, en effet, des facteurs tels que la composition chimique du sol peuvent influencer à la fois la quantité et la qualité des huiles essentielles, ainsi que la répartition des différents chémotypes au niveau d'une zone donnée (Vaičiulytė et al., 2022).

L'altitude constitue un autre facteur influençant la synthèse des métabolites secondaires. Les huiles essentielles de Thym cultivé à basses altitudes sont plus puissantes et antiseptiques avec une teinture approfondie et la structure moléculaire de son composant principal devient plus aromatique. Ces changements sont dus aux taux de lumière disponibles, avec moins d'ultraviolets et plus d'infrarouges à basse altitude (Price & Price, 2011).

## **IX-2.2. Les pratiques culturelles**

Qu'il s'agisse de semis direct ou de transplantation, les méthodes culturelles, les moments de la récolte, les produits chimiques utilisés ainsi que la sélection des plantes exercent une grande influence sur la quantité et la qualité des huiles essentielles (Başer & Buchbauer, 2009) (Price & Price, 2011). Il est bien établi que des facteurs tels que le régime hydrique ou l'apport d'engrais peuvent altérer les propriétés de l'huile essentielle (Franchomme & Pénoël, 2001 ; *in* Deschepper, 2017).

## **IX-2.3. Le processus d'obtention**

La qualité d'une huile essentielle est fortement influencée par le processus de distillation utilisé. Par exemple, l'huile obtenue par distillation à la vapeur présentera des caractéristiques différentes de celle extraite à l'aide de solvants organiques (Rout & *al.*, 2007 ; *in* Razafimamonjison, 2017).

# **X. Activités biologiques des huiles essentielles**

## **X-1. Activité antibactérienne**

Grâce à leurs composés actifs tels que le cinnamaldéhyde, le citral, le carvacrol, l'eugénol, le thymol et d'autres encore, les HE disposent d'un pouvoir inhibitoire vis-à-vis des bactéries Gram positif et Gram négatif. Leur mécanisme d'action repose sur leur affinité pour les lipides, ce qui inhibe le développement des microorganismes en déstabilisant leurs membranes cellulaires. Entraînant des changements dans le flux d'électrons, la force motrice des protons et la diffusion facilitée. De plus, les HE agissent en inhibant les enzymes bactériennes et en dénaturant des lipides et des protéines cellulaires (Raut & Karuppaiyl, 2014).

## **X-2. Activité anti-inflammatoire**

Les composés actifs contenus dans les huiles essentielles ont montré une capacité à réduire la production de médiateurs inflammatoires. Une réduction de l'inflammation a été observée suite à l'application cutanée de l'huile essentielle de géranium sur des souris de laboratoire (Maruyama & *al.*, 2005).

### **X-3. Activité anti-oxydante**

L'activité anti-oxydante est la capacité d'une substance d'empêcher, de ralentir le processus d'autooxydation des matériaux organiques (Amorati & Valgimigli, 2018).

Les huiles essentielles composées majoritairement de monoterpènes oxygénés, comme les alcools, les aldéhydes, les cétones et les esters, leurs confèrent une propriété anti-oxydante due à leur structure phénolique. Le thymol ou le carvacrol, caractéristique des HE *d'Origanum tyttanthum* et de *Mentha longifolia* possèdent des propriétés rédox qui leur permettent de neutraliser les radicaux libres (Dhifi & *al.*, 2016).

### **X-4. Activité antifongique**

En raison de leur similitude avec leurs hôtes au niveau cellulaire et moléculaire, les champignons sont difficiles à cibler sans endommager les cellules hôtes, ce qui rend leur traitement complexe. Cependant, plusieurs huiles essentielles ont démontré des activités inhibitrices contre une gamme de champignons pathogènes, y compris *Candida* spp, *Aspergillus* spp, *Cryptococcus* spp et d'autres. Les huiles essentielles agissent contre les champignons en perturbant leur membrane cellulaire, en interférant avec leur signalisation interne, en modulant leur cycle de vie cellulaire et en perturbant l'équilibre ionique (Raut & Karuppayil, 2014).

### **X-5. Activité antivirale**

Les huiles essentielles se révèlent prometteuses dans la lutte contre les virus. Des études ont démontré leur potentiel vis-à-vis des virus enveloppés en ADN et à ARN et des virus non enveloppés. Les HE agissent en interférant avec l'attachement viral, la pénétration cellulaire et la réplication virale (Reichling & *al.*, 2009).

### **X-6. Activité insecticide**

Des études ont montré que divers composés présents dans les huiles essentielles, tels que le 1,8-cinéole, l'oc-eudesmol et l'eudesmol, ont une activité insecticide contre des ravageurs tels que les coléoptères des produits stockés, le charançon du riz et le charançon du maïs, tandis que les huiles de certaines plantes comme *Lippia ukambensis* ont un effet répulsif (Nakatsu & *al.*, 2000).

## **XI. Toxicité des huiles essentielles**

Il est nécessaire de faire une distinction entre les plantes à huiles essentielles et les huiles essentielles elles-mêmes. Les plantes à huiles essentielles sont généralement considérées comme sûres, tandis que les huiles essentielles peuvent être toxiques dans de nombreux cas (Bruneton, 2009).

La toxicité aiguë des huiles essentielles dépend de leur composition et de leur dosage. La plupart ont une faible toxicité orale, contrairement à certaines qui peuvent être très toxiques, voire mortelles à doses élevées. Les enfants y sont particulièrement vulnérables. Certains constituants, comme l'eugénol du clou de girofle ou la pulégone du pennyroyal, peuvent provoquer de graves effets neurotoxiques, y compris des crises épileptiformes nécessitant une hospitalisation. Quant à leur toxicité chronique, elle est moins documentée, surtout en aromathérapie. Leurs interactions avec les médicaments ne sont pas bien comprises non plus. De plus, l'application topique des huiles essentielles peut entraîner des irritations, des sensibilisations ou des réactions phototoxiques. Concernant la cancérogénicité, certains composés présents dans les huiles essentielles ont démontré la capacité d'induire des cancers chez les rongeurs, mais leur effet sur les humains reste à déterminer à cause des différences de métabolisme entre les espèces qui compliquent l'évaluation du risque (Bruneton, 2009).

Une étude menée par Prashar et ses collaborateurs (2004), a mis en évidence la cytotoxicité de l'huile de lavande pour les cellules cutanées humaines testées *in vitro* à une concentration de 0,25% (v/v). Une analyse de cette huile suggère que le linalol considéré comme composant principal de cette dernière est responsable de cette toxicité.

## **XII. Conservation**

La détérioration chimique est un phénomène auquel tous les matériaux organiques sont soumis. Les huiles essentielles ne font pas exception à la règle, ce processus les affecte généralement lorsqu'elles sont stockées dans des conditions inadéquates pendant de longues périodes (Tisserand & Young, 2013).

Lorsque les huiles sont exposées à la lumière, à l'air et à des températures élevées et ambiantes pendant une période prolongée, les terpènes s'oxyde en raison de leurs caractéristiques chimiques réactives. Pour éviter cela, il est nécessaire de conserver les HE dans des flacons opaques, métalliques, propres et secs à l'abri de la lumière et de la chaleur,

idéalement à une température de 4°C, bien que certaines huiles deviennent visqueuses sous l'effet du froid. Un excès d'air dans le flacon favorise l'oxydation, c'est pourquoi il est privilégié de les conserver sous un gaz inerte comme l'azote tout en évitant les emballages en plastique en raison de leur sensibilité. Des antioxydants comme le BHT peuvent y être ajoutés. Une autre méthode consiste à mélanger les huiles comme celles du laurier et de la coriandre pour ralentir le processus d'oxydation (Tisserand & Young, 2013) (Kaloustian & Hadji-Minaglou, 2012).

### **XIII. Contrôle à effectuer sur une huile essentielle**

Afin de caractériser une huile essentielle plusieurs analyses physico-chimiques doivent être réalisées, telles que la mesure de la densité, du pouvoir rotatoire, de l'indice d'acide et de l'indice d'esters, etc. Une analyse chromatographique est nécessaire, telle la chromatographie en phase gazeuse, permettant la séparation, l'identification et l'évaluation des pourcentages de ses différents composés. Il est également crucial de vérifier la présence de résidus de pesticides et d'insecticides, potentiellement présents dans la plante en raison de leur liposolubilité. De plus, depuis l'accident de Tchernobyl et la contamination de certaines cultures comme le thym, contrôler la radioactivité est recommandé (Raynaud, 2006).

### **XIV. Les huiles essentielles en pharmacognosie et en lutte biologique**

#### **XIV-1. Application des huiles essentielles en pharmacognosie**

Le mot « pharmacognosie » tire ses origines de deux mots latins, « pharmakon » qui signifie « médicament » et « gnosis », qui veut dire « connaissance » (Evans, 2009).

Ce terme a été initialement attribué à un étudiant en médecine allemand, qui l'a employé pour sa thèse de doctorat, mais récemment des recherches ont révélé une utilisation antérieure de ce dernier (Shah & Seth, 2012).

La pharmacognosie est une discipline scientifique portant sur les médicaments et les poisons d'origine naturelle tels que les plantes, les animaux et les minéraux. Elle se concentre sur les substances médicinales brutes, pouvant être des parties de plantes ou des animaux entiers. Ces substances sont souvent obtenues à l'aide de processus simples tels que le séchage ou l'extraction à l'eau.

De plus, elle examine les aliments, connus sous le nom de nutraceutiques et offrant des bénéfices pour la santé dans un contexte préventif (Shah & Seth, 2012) (Heinrich, 2012).

Les huiles essentielles jouent un rôle important dans le domaine médical en raison de leurs propriétés thérapeutiques exceptionnelles. Leurs effets contre les champignons, leurs capacités antidépressives, antibactériennes, antivirales, anticancéreuses sont dues aux composants actifs tels que les terpènes, les hydrocarbures, ainsi que les alcools, aldéhydes, esters et phénols oxygénés. Ces huiles essentielles sont efficaces pour traiter divers troubles, qu'ils soient liés à des pathogènes ou non, et de nombreuses recherches ont étudié leur potentiel pharmacologique (Nayik & Ansari, 2023).

#### **XIV-2. Application des huiles essentielles en lutte biologique**

La lutte biologique désigne toute approche écologique capable de réduire les populations de ravageurs ou leur impact destructeur sur les cultures. Elle peut prendre plusieurs formes, telle la lutte biologique « inondative » qui implique le remplacement des pesticides toxiques par des alternatives plus sûrs d'origine biologique, la lutte biologique « inoculative » qui consiste à introduire dans un environnement un prédateur dans le but de réguler les populations de ravageurs, et la lutte biologique de conservation qui permet d'assurer aux ennemis naturels endémiques les ressources nécessaires pour optimiser leur efficacité en tant que prédateurs ou parasites, ou réduire les obstacles pouvant interférer avec leurs capacités régulatrices (Stirling, 2014).

Les huiles essentielles sont largement reconnues pour leurs diverses propriétés qui en font un moyen efficace de lutte biologique. En effet, ces dernières se sont révélées insecticides, et peuvent agir à différents niveaux : elles peuvent présenter une toxicité inhalatoire sur les insectes adultes, une action larvicide, ovicide et antinutritionnelle. Les huiles essentielles affectent davantage les insectes mâles que les insectes femelles. Leur cycle de reproduction est également affecté, soit aux premiers stades ou aux stades ultimes. Les effets létaux et les effets inhibiteurs de la reproduction des HE ne sont pas forcément liés, certaines huiles telles que celle du persil (*Petroselinum sativum*) sont capables d'inhiber totalement le cycle de reproduction, mais ne présentent aucune activité toxique, contrairement au thym, au serpolet et le romarin, très efficaces dans les deux cas (Regnault-Roger & al., 2008).

Leurs diverses caractéristiques, telles leur biodégradabilité et leur sélectivité, en font une alternative environnementale permettant de limiter l'ampleur des pesticides organiques de synthèse (Regnault-Roger & *al.*, 2008).

## Chapitre II : Monographie des plantes étudiées.

---

## I. Généralités sur la famille des Myrtacées

Les Myrtacées sont une famille de plantes composées d'arbres et d'arbustes, dont la plupart sont caractérisées par la présence de glandes à huiles visibles. Les feuilles des Myrtacées sont simples, entières, généralement opposées et alternes à nervations pennées. Elle présente diverses inflorescences avec des fleurs souvent bisexuées et actinomorphes, composées pour la plupart de 4 à 5 pièces florales. Ses étamines libres sont présentes en grand nombre. L'ovaire des Myrtacées est fréquemment inférieure ou semi-inférieure. Ses fruits peuvent être de plusieurs formes, on les trouve comme capsule sèche et loculicide, fruit sec indéhiscent, baie charnue à une ou plusieurs graines et comme drupe dans certains cas assez rares (Kubitzki, 2010).

Répartie sur environ 142 genres et plus de 5500 espèces, cette famille de plantes munie de glandes sécrétrices d'huiles essentielles majoritairement de monoterpènes et de sesquiterpènes, pousse principalement au niveau de l'hémisphère sud en Australie, en Amérique latine et 3 à 4 genres en Afrique. Au nord de l'équateur, on les trouve en Afrique du Nord et tout autour du bassin méditerranéen, en Asie et en Amérique (Kubitzki, 2010).

## II. Généralités sur le genre *Eucalyptus*

Le nom du genre *Eucalyptus* provient de deux mots grecs : «Eu» signifiant « Bien » et « Calyptus » signifiant « Couvert ». Cette appellation lui fut attribuée en référence au capuchon appelé opercule, qui couvre les étamines dans le bourgeon avant que les fleurs s'ouvrent (Sabo & Knezevic, 2019).

L'*Eucalyptus*, découvert suite aux voyages de James Cook en 1770, est originaire d'Australie, de Nouvelle Zélande et de Tasmanie, mais maintenant introduit dans beaucoup d'autres régions du monde, est un genre vaste comprenant environ 600 espèces et appartient à la famille des Myrtacées. Ses arbres d'*Eucalyptus* sont parmi les arbres les plus grands au monde avec une hauteur qui peut atteindre les 100 m. (Ieri et al., 2019) (Bachir & Benali, 2012).

L'*Eucalyptus* est exploité dans divers domaines, il constitue une ressource importante de bois de haute qualité, utilisé dans la production de papiers et de combustibles. Il est également utilisé en médecine comme traitement contre la diarrhée et comme astringent en dentisterie. L'*Eucalyptus* est également apprécié pour ses huiles essentielles employées en pharmacie, en cosmétique et dans les industries alimentaires pour leurs principes actifs et

leurs nombreuses propriétés biologiques (Batish et *al.*, 2008) (Hur et *al.*, 2000) (Barbosa et *al.*, 2016).

### III. Position systématique

Selon Cronquist (1981), les trois espèces d'*Eucalyptus* utilisées sont classées comme suit:

- **Règne:** Plantae
- **Sous règne:** Tracheobionta
- **Division:** Magnoliophyta
- **Classe:** Magnoliopsida - Dicotylédones
- **Sous –classe:** Rosidae
- **Ordre:** Myrtales
- **Famille:** Myrtaceae
- **Genre:** *Eucalyptus*
- **Espèce1 :** *Eucalyptus globulus*, Labill., 1800
- **Espèce2 :** *Eucalyptus polybractea*
- **Espèce3 :** *Eucalyptus maidenii*.

### IV. Monographie des espèces étudiées

Nous explorerons dans cette partie certaines caractéristiques distinctives de trois espèces spécifiques du genre *Eucalyptus* : *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus polybractea* et *Eucalyptus maidenii* :

#### IV-1. *Eucalyptus globulus*

##### IV-1.1. Description

L'*Eucalyptus globulus*, connue également comme Gommier bleu, *Eucalyptus globuleux*, arbre à fièvre et *Eucalyptus officinal*, est un arbre appartenant à la famille des Myrtacées pouvant atteindre une hauteur impressionnante de 80 mètres et une circonférence de 2.50 mètres, avec un tronc lisse et argenté. Ses feuilles, en forme de faucille, alternées, arrondies à la base et pointues à l'extrémité, sont portées par de longs pédoncules. Les grandes feuilles d'*Eucalyptus*, composées de quatre sépales, émergent à l'aisselle des feuilles. Les parties vertes de l'arbre contiennent de petites poches qui produisent une huile aromatique à

l'odeur balsamique et camphrée, à la fois forte et agréable. Cette huile a une saveur légèrement amère, suivie d'une sensation de fraîcheur (Ali-Delille,2010) (Bruneton, 2009) (figure 10).



**Figure 10:** Feuilles et fleurs d'*Eucalyptus globulus* (Bey–Ould Si Said & Boulekbache-Makhlouf, 2014).

#### IV-1.2. Répartition

Le gommier bleu est originaire d’Australie, mais introduit et cultivé dans de nombreuses régions du monde. On le retrouve dans la région méditerranéenne, y compris les pays d’Afrique du nord et du sud d’Europe, en Amérique latine et dans plusieurs régions d’Amérique du nord et quelques pays asiatiques. (OMS, 1999) (Ali-Delille, 2010).

Cette espèce d'*eucalyptus* a été introduite en Algérie en 1856 par Ramel depuis l’Australie afin de l’utiliser pour drainer et pour assainir les régions marécageuses présentant un excès en eau, vu sa préférence pour les milieux humides. Depuis, cette espèce s'est largement répandu le long de tout le littoral algérien. (Ali-Delille, 2010).

#### IV-1.3. Huiles essentielles

L’huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est connue sous le nom d'*Aethroleum eucalypti*, et extraite par distillation à la vapeur d’eau à partir de feuilles fraîches ou de rameaux terminaux de ce dernier (OMS, 1999).

L’*Aethroleum Eucalypti* est un liquide incolore ou jaune pâle et dont la couleur peut s’assombrir s’il est stocké pendant de longues périodes. Son odeur est aromatique et camphrée, son goût également camphré et piquant est suivi d’une sensation de fraîcheur. Ce

qui caractérise cette huile est sa forte concentration en 1,8-cinéole comprise entre 54% et 95%, on y trouve également mais en plus faible quantité de l'alpha-pénine, du para-cymène, de l'aromadendrène, du cuminaldéhyde, du globulol et du pinocarvéol (OMS, 1999).

Cette huile est reconnue pour ses diverses propriétés biologiques telles que ses activités antibactériennes et antiinflammatoires, mais aussi pour sa capacité à augmenter les sécrétions des voies respiratoires (OMS, 1999).

#### IV-2. *Eucalyptus polybractea*.

##### IV-2.2 Description

Connu également sous le nom d'Eucalyptus à fleurs multiples, l'*Eucalyptus polybractea* est un arbre de forme malle à plusieurs tiges d'environ 5 à 10 m de hauteur, dont les feuilles vertes ou grisâtres présentent une forme arrondie et sessile au stade juvénile, tandis qu'au stade adulte elles deviennent plus longues, alternes et pointues. Ses fleurs blanches poussent en groupe de 6 à 7 par aisselle (Erau, 2019) (Bush & *al.*, 2022), comme représenté dans la **Figure 11**.



**Figure 11** : *Eucalyptus polybractea* (Erau, 2019).

### IV-2.3. Répartition

L'*Eucalyptus* à fleurs multiples est originaire d'Australie, on le retrouve plus précisément dans la région du West Wyalong en Nouvelle-Galles du Sud, Bendigo dans l'état de Victoria, et les Flinders Ranges aux Gammon Ranges en Australie-Méridionale (Bush & al., 2022).

### IV2-4. Huiles essentielles

L'*Eucalyptus polybractea* est reconnu pour sa production d'HE d'excellente qualité médicinale répondant aux normes internationales juste après son extraction par distillation. Cette dernière est utilisée dans la production de produits sanitaires. 75% à 90% de sa composition totale est du 1,8-cinéole. Il présente un rendement allant de 4% à 6% (Bush et al, 2022).

### IV-3. *Eucalyptus maidenii*

#### IV-3.1. Description

D'après El Aissi (2011), cité par Hedjal (2014), l'*Eucalyptus Maidenii* est un arbre d'une hauteur d'environ 45 m qui pousse dans les zones humides à des altitudes se situant entre 600 et 900 m. Au stade juvénile, ses feuilles sont ovales et opposées. Tandis qu'au stade adulte, elles sont de couleur glauque, alternes et étroitement lancéolées. Cette espèce fleurit durant la période allant de Mars à Septembre. Les inflorescences poussent en groupe de 3 à 7 liées à un pédoncule d'entre 10 à 15 cm. Ses fruits sont de forme ovale et sont fixés par court pédicelle (**Figure 12**).



**Figure 12** : *Eucalyptus maidenii* (Hedjal, 2014).

### IV-3.2 Huile essentielle

L' *Eucalyptus maidenii* présente un rendement de 3,3% en huile essentielle. Comme d'autres variétés d'Eucalyptus, ce dernier contient le 1,8-cinéole comme composant principal (Elaiissi & *al.*, 2012) (El Aissi, 2011 *in* Hedjal, 2014).

## Chapitre III : Généralités sur *Tribolium castaneum*.

---

## I. Description

*Tribolium castaneum* est un insecte cosmopolite issu de la famille des Ténébrionidés, dans l'ordre des coléoptères, d'environ 4 mm au stade adulte et de couleur brune rougeâtre uniforme. Le *Tribolium castaneum* est étroit, allongé, avec des bords parallèles et un pronotum de largeur presque égale à celle des élytres et sans bordure antérieure. Ses 3 derniers segments d'antennes sont beaucoup plus grands que les précédents. Son chaperon ne s'étend pas au-delà de l'œil, latéralement. De couleur très jaune à maturité, la larve de ce dernier est d'environ 6 mm et fait environ 8 fois sa largeur (Camara, 2009) (Kumar & *al.*, 2018) (**Figure 13**).



**Figure 13** : Vues multiples de *Tribolium castaneum* (Gx40): Phase dorsale (A), latérale (B) et ventrale (C) (Originale, 2024).

## II. Position systématique

D'après Kassemi (2015), le *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) occupe la position systématique suivante :

- **Embranchement:** Arthropodes.
- **Classe:** Insectes
- **Sous Classe:** Pterygotes
- **Ordre:** Coléoptères.
- **Sous Ordre:** Polyphaga.
- **Famille:** Tenebrionidae.
- **Genre:** *Tribolium*.
- **Espèce:** *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797).

### III. Cycle de vie :

La femelle adulte pond entre 200 et 500 œufs au cours de sa vie, ces derniers sont déposés en vrac dans des produits céréaliers stockés. À une température d'environ 27°C, considérée idéale pour leur développement, les œufs éclosent pour donner de petites, minces et cylindriques larves d'apparence raide (**Figure 14**). La larve se transforme ensuite en nymphe (**Figure 15**), un stade au cours duquel les mâles et les femelles peuvent être séparés. Au bout du 6<sup>ème</sup> jour de sa formation, l'insecte adulte incapable de voler émerge de la nymphe. Au stade adulte, les *Tribolium castaneum*, dont la durée de vie est d'environ 3 ans disposent d'une grande capacité de reproduction après seulement un mois (Camara, 2009) (Kumar & *al.*, 2018).



**Figure 14:** Larve de *Tribolium castaneum* (GX40) (Originale).



**Figure 15 :** Nymphe de *Tribolium castaneum* (GX40) (Originale).

### IV. Dégâts provoqués par *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797):

Selon Camara (2009), le *Tribolium castaneum* alterne la texture de la farine et modifie sa couleur en lui donnant une teinte brune. Il produit également une odeur âcre affectant ainsi la qualité sensorielle de la farine. Cet insecte provoque également une augmentation significative du taux d'acides gras dans l'huile extraite à partir de graines d'arachide.

**V. Moyen de lutte :**

Un bon nombre de moyens permettent de lutter contre les insectes ravageurs de denrées alimentaires stockées, y compris *Tribolium castaneum*, ces derniers sont :

**V-1. La fumigation chimique :**

Des produits tels le bromure de méthyle et la phosphine sont parmi les produits les plus efficaces pour la lutte contre les ravageurs de produits stockés par fumigation (Chidege & al., 2024).

**V-2. Utilisation de produits insecticides chimiques :**

Des insecticides chimiques, tels que les pirimiphos-méthyl et de perméthrine ou de fénitrothio, sont couramment utilisés contre les ravageurs de denrées stockées. Mais une utilisation inappropriée peut avoir de graves répercussions tant sur la santé humaine, les organismes non ciblés et même l'environnement (Chidege & al., 2024) (Dey, 2016) .

**V-3. Lutte biologique par des substances d'origine botanique :**

En raison de la préoccupation croissante des dangers de l'utilisation des insecticides, la recherche s'est intensifiée pour trouver des alternatives d'origine naturelle, nommant les huiles essentielles qui ont démontrés à plusieurs reprises leur efficacité (Chidege & al., 2024).

## Partie II : Etudes expérimentales.

---

# Chapitre I : Matériel et méthodes.

---

## I. Matériel biologique utilisé

- Des feuilles de trois espèces d'Eucalyptus, à savoir *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus polybractea* et *Eucalyptus maideni* ont été prélevées.
- Des huiles essentielles extraites à partir des feuilles des espèces sus-citées.
- Deux souches bactériennes fréquentes en pathologie humaine ont été sélectionnées : *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* ATCC Mu 50.
- Ces souches proviennent du laboratoire de microbiologie, du département de biologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

## II. Matériel de 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 55 ml de volume pour les tests de fumigation.
- Une micropipette (0.5-10 $\mu$ l) pour un pipetage de précision des huiles essentielles.
- 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 de 4.5 cm pour les tests de fumigation.
- De l'acétone pour la dilution des huiles essentielles (test de répulsivité).
- Des tubes Eppendorf pour réaliser les dilutions des huiles essentielles et prélever les insectes à traiter.
- De la gélose nutritive, milieu Mueller Hinton, Milieu liquide BHIB, milieu liquide Mueller Hinton et eau physiologique pour les souches bactériennes.

## III. Etude des structures sécrétrices d'huiles essentielles des plantes étudiées

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

### III-1. Technique de la double coloration (Deyson, 1954)

La technique consiste à 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.

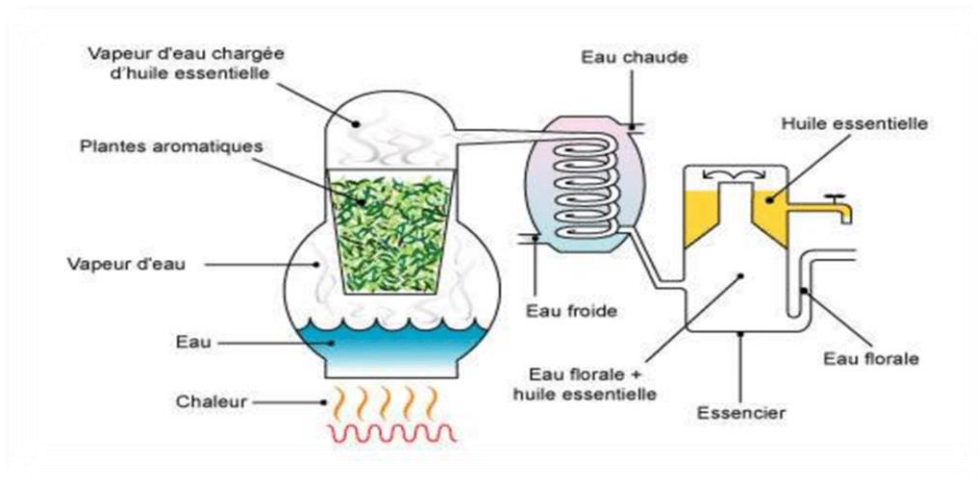
Les coupes sont rincées abondamment pendant 5 min. Elles sont ensuite soumises à l'action d'un bain d'acide acétique (1%) pendant 1 min pour neutraliser l'action de l'hypochlorite de sodium et faciliter la fixation des colorants sur les parois cellulaires.

Les coupes sont colorées au vert de méthyle pendant 2 à 5 min. 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 montées entre lame et lamelle dans une goutte d'eau distillée puis observées au microscope optique au GX100 et GX400.

## IV. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles utilisées ont été extraites à partir de 3 espèces d'*Eucalyptus*. Il s'agit : *Eucalyptus globulus* et *Eucalyptus polybractea* échantillonné dans la région d'Azefoun et *Eucalyptus maidenii* fourni par l'INRAT prélevé dans la région de Korbos en Tunisie.

L'extraction a été effectuée par entraînement à la vapeur d'eau. 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 16**. Les huiles essentielles ainsi obtenues sont stockées dans des flacons en verre ambré ou foncé au réfrigérateur (4°C), dans de petits contenants. Les flacons sont bien fermés et stockés en position verticale.



**Figure 16** : Représentation schématique de la distillation à la vapeur d'eau (Goudjil, 2016).

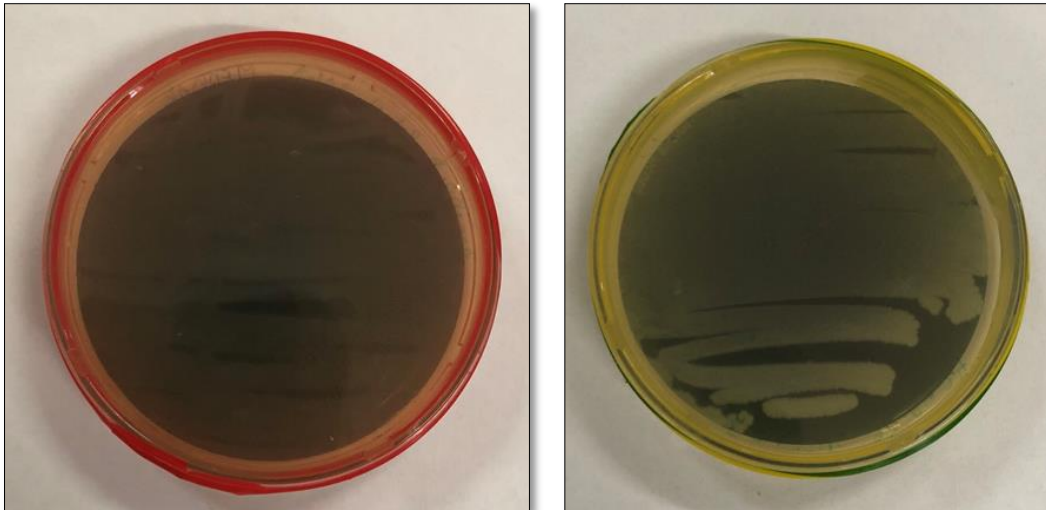
## V. Etude des activités biologiques des huiles essentielles extraites

### V-1. Etude de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque

Le but de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne de trois plantes, à savoir *E.globulus*, *E. polybractea* et *E.maideni* sur deux espèces bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) par la méthode de diffusion des disques en milieu solide pour la détermination des diamètres de la zone d'inhibition.

*S.aureus* appartient à la famille des *Staphylococcaceae*. Il s'agit d'un Cocci en grappes de raisin à Gram positif et immobile. Elle est ubiquitaire, dont le réservoir est localisé sur la peau et les muqueuses. Elle provoque des intoxications alimentaires, infections cutanées et des muqueuses, des septicémies et des pneumonies.

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie en forme d'un bâtonnet incurvé mobile à Gram négative. Elle est chimio-organotrophe aérobie stricte. Très répandue au niveau du sol et dans les eaux douces et salées. Les *pseudomonas* colonisent aussi bien la peau et les muqueuses de l'homme que celles d'autres animaux en acquérant un mode de vie commensal et exercent un pouvoir hautement pathogène.



**Figure 17:** Colonies de *Pseudomonas aeruginosa* (à gauche) et *Staphylococcus aureus* (à droite) (Original, 2024).

### V1.1. Coloration de Gram

Une coloration de Gram été réaliser pour vérifier la pureté des souches testées, en suivant le protocole ci-dessous :

On dépose une goutte d'eau distillée sur une lame de microscope. On prélève une petite quantité de culture bactérienne et on la mélange à la goutte d'eau pour créer une suspension fine. On étale cette suspension en une fine couche sur la lame pour former un frottis. Qu'on laisse sécher à l'air libre. On verse ensuite quelques gouttes de violet de gentiane sur le frottis et on attend une minute. On rince doucement avec un peu d'eau pour éliminer l'excès de colorant, sans insister. On plonge la lame pendant une minute dans du lugol, puis on rince abondamment à l'eau. On rince la lame à l'éthanol des deux côtés, puis rincez à nouveau abondamment à l'eau. On plonge la lame dans la fuchsine pendant une minute, puis on rince abondamment à l'eau. On sèche la lame à la flamme et on observe au microscope optique au grossissement X400.

### V-1.2. Préparation des suspensions bactériennes

Les tests antibactériens doivent être réalisés à partir de cultures jeunes de 18 à 24h. Des souches bactériennes sont réactivées par ensemencement de l'espèce bactérienne dans un milieu liquide (BHIB) à l'aide d'une anse à boucle. Après incubation pendant 24 heures à

37°C, Un deuxième repiquage est réalisé par des stries serrées dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive puis, incubées à 37°C pendant 24 heures (Moroh & *al.*, 2008).

Après 24 heures d'incubation à 37°C, 3 à 5 colonies bien isolées et identiques sont prélevées et déchargées dans 5 ml d'eau physiologique stérile (0.9% NaCl). Une agitation est ensuite effectuée au vortex pendant quelques secondes. La standardisation de la suspension à  $10^8$  UFC/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm. Ajuster l'inoculum, soit en ajoutant dès la culture s'il est trop faible ou eau physiologique stérile s'il est trop fort. La densité optique de la suspension doit être comprise entre [0,08 et 0.1] ( $10^8$  UFC/ml) (Fauchère & Avril, 2002). L'ensemencement doit se faire après 15min de la préparation (Bonnet & *al.*, 2017).

### **V-1.3. Etude de la sensibilité des souches aux HEs**

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des HEs, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose : appelée aromatogramme (Sharififar, 2007).

#### **V-1.3.1. Protocole**

Du milieu de culture gélosé Mueller Hinton (M.H) est coulé aseptiquement (entre deux bec benzènes) en surfusion, dans des boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîtes de 90 mm de diamètre, et laissées refroidir et solidifier sur la paillasse.

À partir d'une suspension bactérienne diluée et standardisée à  $10^6$  UFC/ml, soit au 1/10, 200µl ont été prélevé, puis étalés d'une façon uniforme à l'aide d'un étaloir confectionné avec une pipette Pasteur à la surface du milieu gélosé MH, et laisser sécher pendant 5 min.

Trois doses d'HE pure ont été testées (2,5 ; 5 et 7,5) à raison de trois répétitions par dose et par souche bactérienne.

#### **-Dépôt de disques**

Cette étape consiste à déposer à l'aide d'une pince stérile des disques stériles de papier wattman n°3 (6 mm de Ø) imbibés d'HE de chaque extrait à la surface de la géloseensemencée par la souche bactérienne testée.

Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser (migration des HEs) à température ambiante pendant 20 min puis incubées à 37°C pendant 24 h. Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antimicrobien de l'huile essentielle sur la souche étudiée (Amhis & *al.*, 2001).

L'activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces d'eucalyptus (*E.globulus* ; *E.polybractea* et *E.maideni*) a été mise en évidence par l'emploi d'un antibiotique (la gentamicine) en tant que témoin positif et de l'eau distillée stérile comme témoin négatif.

### **-Incubation**

Les boîtes ainsi préparées sont incubées à 37°C pendant 24 h. Durant cette période, les substances diffusent dans la gélose à partir des disques imbibés d'HEs selon un gradient de concentration.

### **-Lecture**

La lecture est réalisée après 24 heures d'incubation à 37°C. L'activité antibactérienne est déterminée par mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque. Elles sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle et exprimées en millimètres (le diamètre du disque de 6 mm est inclus). Plus le diamètre de cette zone est important, plus la souche est sensible (Choi & *al.*, 2006). Les résultats peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des HEs et classés selon les diamètres des zones d'inhibition, (Ponce & *al.*, 2003). (**Tableau 2**)

**Tableau 2** : Diamètre des zones d'inhibition (Ponce & *al.*,2003).

Sensibilité	Le diamètre d'inhibition « D »
Non sensible (-) ou résistante	diamètre < 8 mm
Sensible (+)	diamètre compris entre 9 à 14 mm
Très sensible (++)	diamètre compris entre 15 et 19 mm
Extrêmement sensible (+++)	diamètre > 20 mm

## **IV. Etude de l'activité bioinsecticide des huiles essentielles sur *Tribolium castaneum***

La souche de *Tribolium castaneum* provient du laboratoire d'Entomologie appliquée du département de Biologie de L'UMMTO.

L'élevage en masse des adultes se fait dans des boîtes alimentaires en plastique d'une capacité de 300g contenant 100g de semoule de blé dur (**figure 18**), ils ont ensuite été mis dans une étuve réglée à une température de 28°C et une humidité relative de 70 ± 5%.



**Figure 18 :** Élevage de masse de *T. castaneum*(Original, 2024).

#### **IV-1. Évaluation de l'activité bioinsecticide des huiles essentielles**

L'activité bioinsecticide des trois huiles essentielles extraites a été testée sur un insecte ravageur des denrées stockées.

##### **IV-1.1 Test de répulsivité sur les adultes de *Tribolium castaneum***

Ce test consiste à étudier l'effet répulsif des trois huiles essentielles sur les adultes de *T. castaneum*.

Pour le réaliser, nous avons suivi les étapes suivantes :

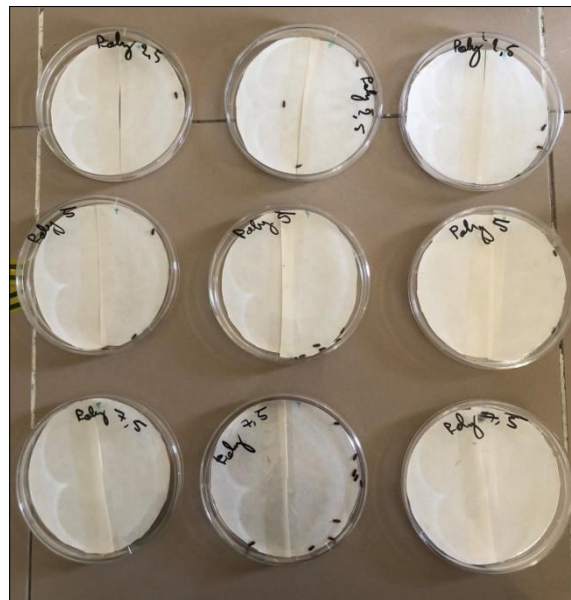
- Découpage en deux parties égales d'un disque de papier filtre de 14cm de diamètre.
- Préparation de trois doses différentes de 2,5 $\mu$ L, 5 $\mu$ L et 7,5 $\mu$ L dans 0.5 ml d'acétone pour chaque huile essentielle.
- Pour chaque test un demi-disque est traité avec une dose d'huile essentielle diluée dans l'acétone et le deuxième comme témoin où l'on ne 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 19**).
- Dix individus adultes de *T. castaneum* sont ensuite déposés au centre de la boîte.
- Au bout de 30 minutes, nous comptons le nombre de ravageurs 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 :

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

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

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



**Figure 19** : Dispositif expérimental du test de répulsivité (Original, 2024).

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 & *al.* (1970) qui sont indiqués dans le **tableau 3**.

**Tableau 3** : Pourcentage de répulsion selon le classement de Mc Donald & *al.* (1970).

**Classe Intervalle de répulsion Propriétés**

<b>Classe 0</b>	0 PR ≤ 0,1%)	Très Faiblement répulsif
<b>Classe 1</b>	0,1 % < PR ≤ 20%	Faiblement répulsif
<b>Classe 2</b>	20% < PR ≤ 40 %	Modérément répulsif
<b>Classe 3</b>	40 % < PR ≤ 60 %	Moyennement répulsif
<b>Classe 4</b>	60% < PR ≤ 80 %	Répulsif
<b>Classe 5</b>	80 % < PR ≤ 100 %	Très Répulsif

#### IV-1.2. Test de fumigation sur les adultes de *T.castaneum*

Ce test consiste à étudier l'effet des trois huiles essentielles par fumigation sur le taux de mortalité des adultes de *T.castaneum* à température ambiante (37 °C) et au froid (4 °C), en adoptant la méthode décrite par Papachristos et Stamopoulos (2002) :

Dans des flacons à ECBU de 60 ml de volume, une dose d'huile est déposée sur un cercle de papier filtre de 4,5 cm de diamètre introduit dans la face interne du couvercle (Figure 20).



**Figure 20** : Flacon ECBU utilisé pour le test de fumigation sur les adultes de *T.castaneum* (Original, 2024).

Dix individus adultes sont prélevés aléatoirement et introduits dans chacun des flacons contenant 2 g de semoule de blé dur comme substrat alimentaire, qui est ensuite fermé hermétiquement (Figure 21).

Pour l'ensemble des essais, trois répétitions ont été réalisées pour chaque dose (15, 20 et 25 $\mu$ l) et le temps d'exposition est de 24, 48 et 72 heures.

Le dénombrement des individus morts se fait chaque jour pendant trois 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 ( $M_t$ ) observée sur le témoin :

**Mc** : Mortalité corrigée.

**M** : Pourcentage de mortalité dans les populations traitées.

**Mt** : Mortalité dans la population témoin.



**Figure 21** : Dispositif expérimental du test de fumigation (Original, 2024).

## V. Analyse statistique

### 1- Test de Kruskal-Wallis

Les résultats des différents essais ont été soumis au test non paramétrique de Kruskal wallis, selon un ou plusieurs critères de classification pour l'action des trois huiles essentielles, lorsque cette analyse montre des différences significatives entre les différents traitements, en utilisant le logiciel R.

Si la probabilité :

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

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

$P \leq 0.01$  : les variables montrent une différence hautement significative.

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

## Chapitre II : Résultats et discussion.

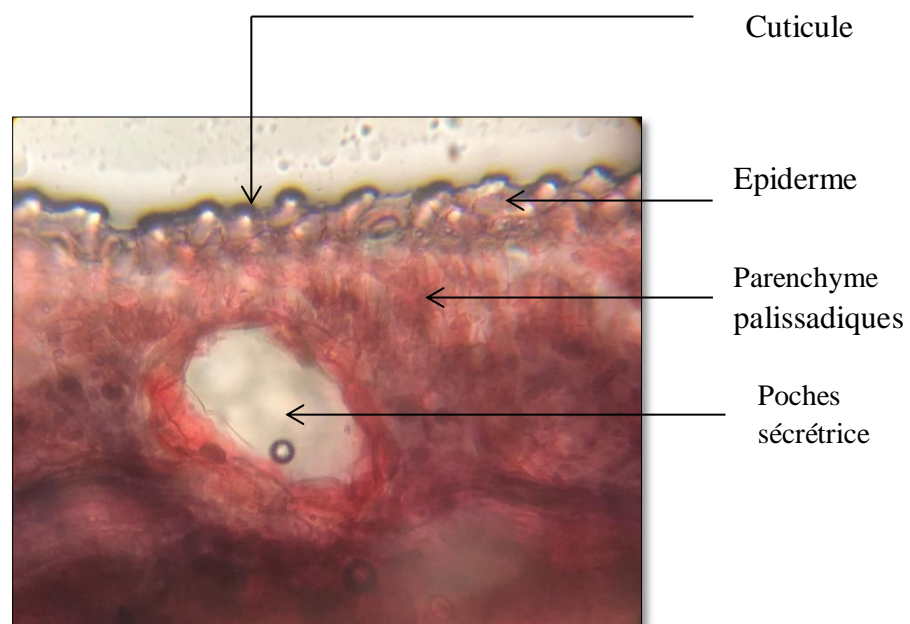
---

### I- Etude histoanatomique :

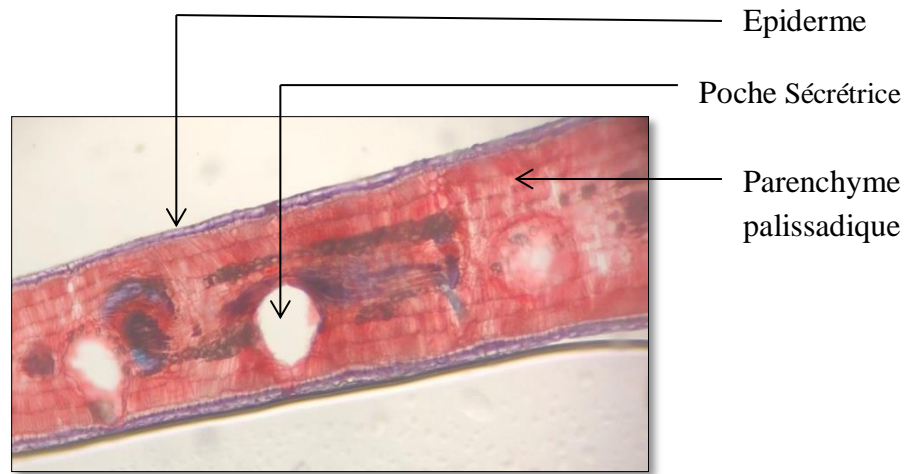
Les coupes anatomiques réalisées au niveau des feuilles des trois espèces de Myrtacées (*E. globulus*, *E.maidenii*, *E.polybractea*) montrent la présence de structures sécrétrices d'huile essentielle spécialisées. Il s'agit de poches sécrétrices schizogènes caractéristiques de la famille des Myrtacées.

Ces coupes ont montré une nette abondance de poches sécrétrices chez *Eucalyptus globulus* (**Figure 22**), et *E.maidenii* (**Figure 23**), mais à une fréquence moindre chez *E. polybractea* (**Figure 24**). En outre ces coupes anatomiques montrent la présence d'un épiderme représenté par une assise cellulaire à rôle protecteur à parois pecto-cellulosiques sur les faces latérales et internes. Notons également l'imprégnation de cette assise d'une couche de cuticule imperméable. Cette couche de substance disparaît par endroit pour laisser place à des structures régulatrices, les stomates. Vient ensuite le mésophile constitué d'un parenchyme palissadique, formé de cellules rectangulaires. Le parenchyme lacuneux à cellules arrondies juxtapose le parenchyme palissadique.

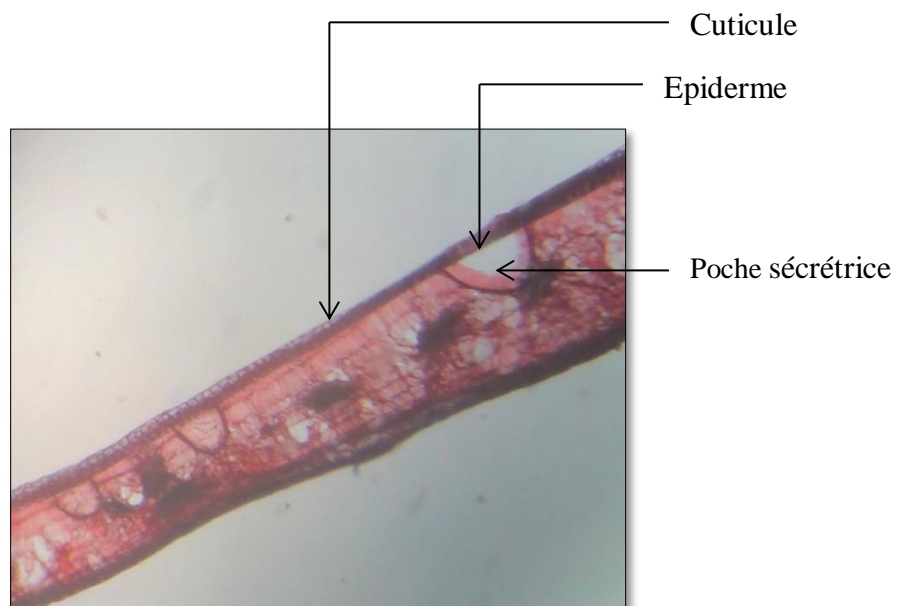
Au centre de la feuille, la nervure principale formée d'un faisceau cribro-vasculaire. Le phloème est conducteur de sève élaborée dans lequel s'observent des poches entourées de cellules sécrétrices d'huile essentielle.



**Figure 22:** Coupe transversale de la feuille d'*Eucalyptus globulus* observée au microscope optique (GX400).



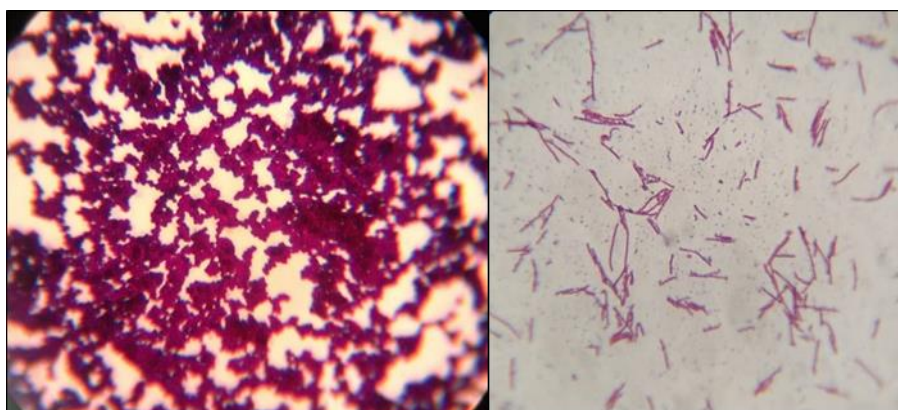
**Figure 23 :** Coupe transversale de la feuille d'*Eucalyptus Maidenii* observée au microscope optique (G X400).



**Figure 24:** Coupe transversale de la feuille d'*Eucalyptus polybractea* observée au microscope optique (G X100).

## II. Coloration de Gram

La coloration de Gram effectuée sur les échantillons de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* a révélé des différences dans les caractéristiques morphologiques et de coloration des deux bactéries. *Staphylococcus aureus*, étant une bactérie Gram-positif, est apparue violet sous le microscope, présentant une structure en amas en forme de grappe. Cette coloration est due à la présence d'une épaisse couche de peptidoglycane dans la paroi cellulaire qui retient le violet de gentiane même après le traitement avec de l'alcool. *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie Gram-négative, est apparue rose et présente une forme de bâtonnet. Cette différence de coloration s'explique par la structure de sa paroi cellulaire, qui possède une fine couche de peptidoglycane située entre deux membranes, ne permettant pas de retenir le violet de gentiane après la décoloration à l'alcool et se colorant par la fuchsine.



**Figure 25 :** Colonies de *staphylococcus aureus* (A gauche) et *Pseudomonas aeruginosa* (A droite) après coloration de Gram observées au microscopique optique (G X400).

## III. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque

Les résultats obtenus par la méthode de diffusion sur disque ont montré l'effet inhibiteur de la croissance des bactéries testées en fonction de l'huile essentielle utilisées et du volume testé. Les résultats soumis au test non paramétrique de Kruskal-Wallis ont démontré des différences très hautement significative pour le facteur souche, (ddl=1 ; Chi-squared =32,664 ; p value=1,095<sup>e</sup>-08<0,001), et pour le facteur dose (ddl = 5 ; Chi squared= 38,814 ; p value= 7,609<sup>e</sup>-08<0,001). Tandis que le facteur huile a révélé une différence non

significative. (ddl= 2 ; Chi squared= 1,6675 ; p value= 0.4344) 0.05). L'interaction entre les facteurs ont été très hautement significative : L'interaction entre les facteurs souche et huile (ddl=5 ; Chi squared= 35,293 ; p value= 1,3115<sup>e</sup>-06 < 0.001), entre le facteur souche et dose (ddl=9, Chi squared= 81,462, p value= 8,278<sup>e</sup>-14 < 0.001), entre le facteur huile et dose (ddl= 14 ; Chi squared= 41,101 ; p value= 0,0001715 < 0.001). L'interaction tripartite entre les facteurs : Souche, dose et huile a également était très hautement significative (ddl= 29 ; Chi squared= 85,341, p value= 1,865<sup>e</sup>-07 < 0,001).

L'action la plus significative a été enregistrée avec l'HE d'*E. maidenii* sur *Staphylococcus aureus* avec des zones d'inhibition croissantes comparativement au contrôle positif dont le diamètre est de 28mm (**Figure 26 a**). Il a été également constaté la sensibilité de la souche sus-citée aux deux autre HE utilisées à savoir *E.globulus* et *E.polybractea* (**Figure 27 a**) et (**Figure 28 a**). Ces résultats nous incitent à qualifier *Staphylococcus aureus* et ce conformément aux critères établis par Ponce & al. (2003) de souche très sensible à la dose 7,5µl avec des diamètres de zones d'inhibition respectifs de 18mm pour *E.polybractea* , 21mm pour *E.globulus* et 26mm pour *E.maidenii*.

Concernant *Pseudomonas aeruginosa*, nous avons noté une résistance aux HE testées et ce à différents volumes. En effet ces dernières ont montré une très faible bio activité vis-à-vis des souches suscitées avec des diamètres d'inhibition à 7.5µl de 0.66mm pour *E.maidenii*, (**Figure 26 b**) 0,33 mm pour *E.globulus* (**Figure 27 b**) et de 2,66mm pour *E.polybractea* (**Figure 28 b**) comparés aux 16mm enregistré pour le contrôle positif.

Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition de ces trois HEs d'*E. maidenii*, *E.globulus* et *E.polybractea* et sont traduites par les histogrammes des **figures 29** et **30** et **31** respectivement.

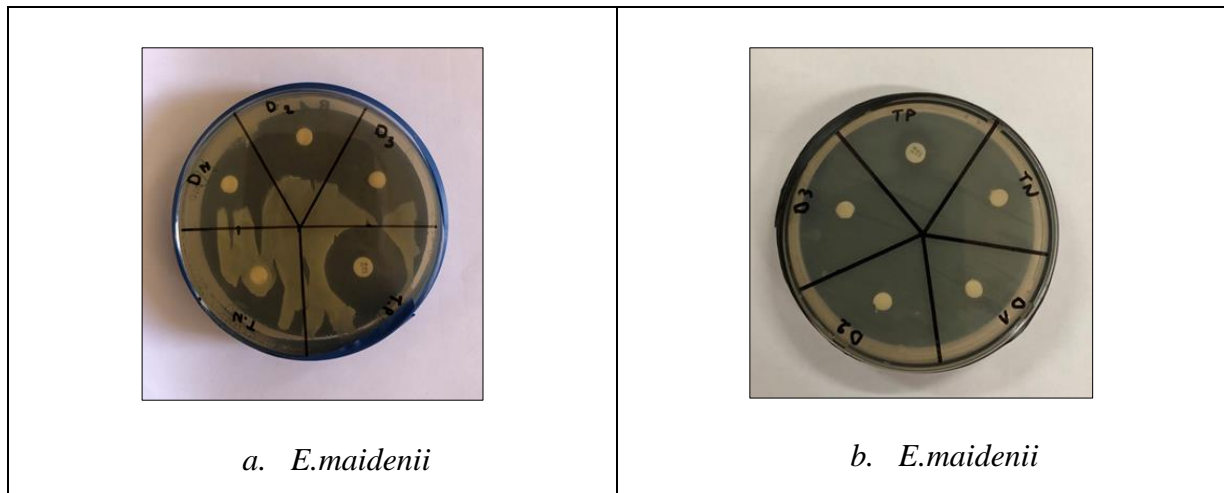
Nos résultats sont comparables à ceux rapportés par plusieurs auteurs à l'instar de Bajpai & al. (2013), qui ont menés une étude intéressante intitulée «Mode d'action antibactérien de l'huile essentielle de fruit de *Cudrania tricuspidata* , affectant la perméabilité membranaire et les caractéristiques de surface des agents pathogènes d'origine alimentaire», qui révèle que les huiles essentielles de fruit de *Cudrania tricuspidata* présentent une capacité inhibitrice envers les bactéries Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup> souvent associées à des infections d'origine alimentaire, en perturbant leurs fonctions membranaires par entraînement d'une fuite d'ions potassium ainsi qu'une diminution du pool d'ATP extracellulaire.

Tohidpour & al. (2010) ont également évalué l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* contre des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) dans leur étude intitulé «Effet antibactérien des huiles essentielles de deux plantes médicinales contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) ». Ces HE extraites par hydrodistillation et dont la composition chimique analysée par chromatographie en phase gazeuse ont montré une activité antibactérienne significative avec des valeurs de concentration minimale inhibitrice allant de 0,1 à 4% v/v contre les isolats de SARM ainsi que d'autres bactéries standard, mettant ainsi en évidence le potentiel thérapeutique des HEs d'eucalyptus contre cette bactérie.

López-Romero & al. (2015) ont exploré dans leur étude intitulée «Effets antibactériens et mode d'action de composants sélectionnés d'huiles essentielles contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*» les propriétés antimicrobiennes de certains composants d'huile essentielle sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Les composants testés sont les suivants : le carvéol, le carvone, le citronellol et le citronellal, déterminant aussi leurs concentrations minimales inhibitrices(CMI) et bactéricides minimales (CBM). Par exemple, le citronellol présente des CMI de 5 µg/ml pour *E. coli* et de 375 µg/ml pour *S. aureus*, tandis que le carvéol montre des CMI de 2000 µg/ml pour *E. coli* et de 2000 µg/ml pour *S. aureus*. En ce qui concerne les valeurs de CBM, le citronellol se distingue avec des valeurs de 15 µg/ml pour *E.coli* et de 400 µg/ml pour *S. aureus*, tandis que le carvéol affiche des valeurs de 1500 µg/ml pour *E. coli* et de 2500 µg/ml pour *S. aureus*. De plus, ces huiles essentielles modifient la surface des bactéries. Le carvéol, le carvone et le citronellol par exemple rendent les cellules d'*E.coli* plus hydrophiles, tandis que le citronellal les rend plus hydrophobes. Ces composés affectent également l'intégrité de la membrane cellulaire de ces bactéries perturbant ainsi leur développement.

Une autre étude menée par Lodhia & al.(2009), a entrepris d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites des pétales de fleurs de palmarosa (*Cymbopogon martinii*), d'onagre (*Primula rosea*), de lavande (*Lavandula angustifolia*) et de tubéreuse (*Polianthus tuberosa*) contre les bactéries gram-positives *Staphylococcus aureus* et gram-négatives *Escherichia coli*. Les différentes concentrations des huiles essentielles, allant de 10% à 100%, ont été testées en utilisant la méthode de diffusion sur disque, où des disques de papier absorbant 5 µl d'huile essentielle étaient placés sur des milieuxensemencés avec les bactéries. Les résultats ont montré une réponse dose-dépendante, avec une augmentation de la zone d'inhibition proportionnelle à l'augmentation de la concentration des huiles essentielles.

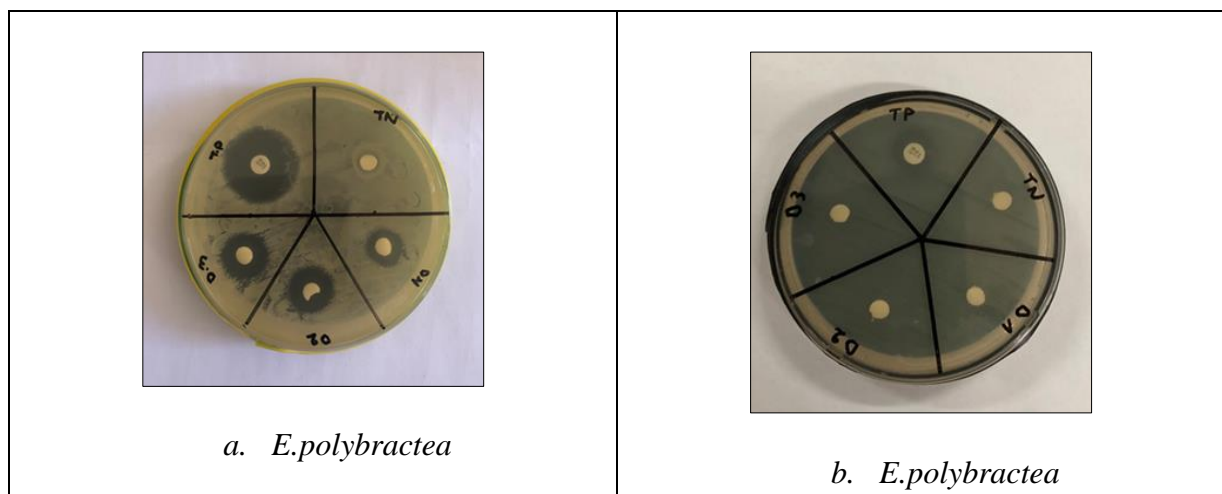
Par exemple, à une concentration de 100%, l'huile essentielle de palmarosa a montré une zone d'inhibition de 25 mm contre *S. aureus* et de 23 mm contre *E. coli*, indiquant sa puissante activité antibactérienne. Les huiles de lavande et de palmarosa se sont avérées particulièrement efficaces contre les bactéries gram-négatives, avec des zones d'inhibition atteignant respectivement 20 mm et 23 mm à la concentration maximale. En revanche, l'onagre a montré une meilleure activité à haute concentration contre les bactéries gram-positives, avec une zone d'inhibition de 18 mm contre *S. aureus* à 100%. Ces résultats suggèrent que les huiles essentielles possèdent un potentiel significatif comme agents antibactériens, justifiant des recherches supplémentaires pour explorer leur utilisation pratique.



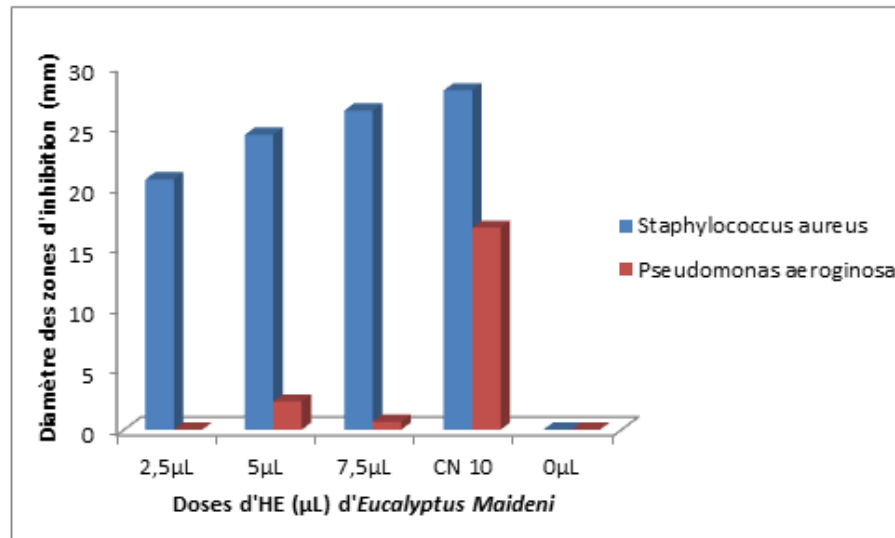
**Figure 26 :** Zones d'inhibition en fonction des différentes doses d'HE d'*Eucalyptus maidenii* avec contrôle positif et négatif.



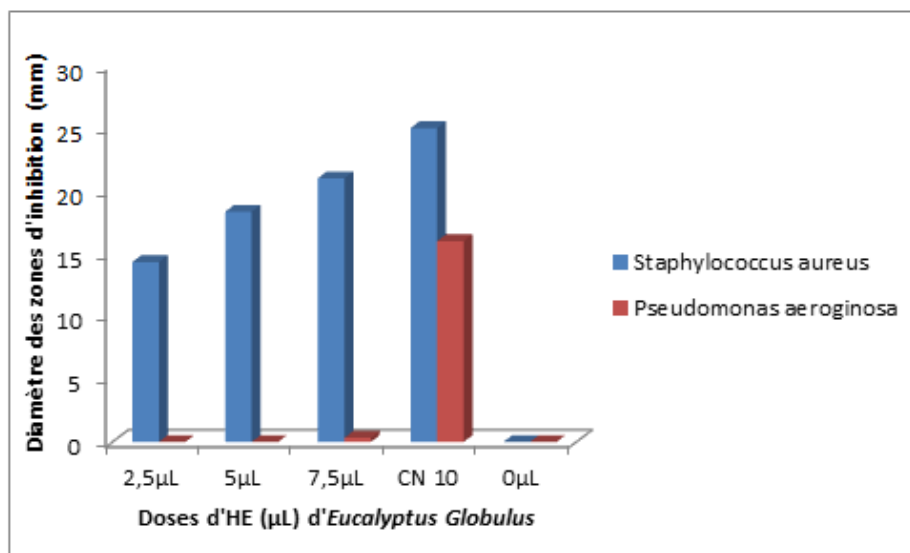
**Figure 27:** Zones d'inhibition en fonction des différentes doses d'HE d'*Eucalyptus globulus* avec contrôle positif et négatif.



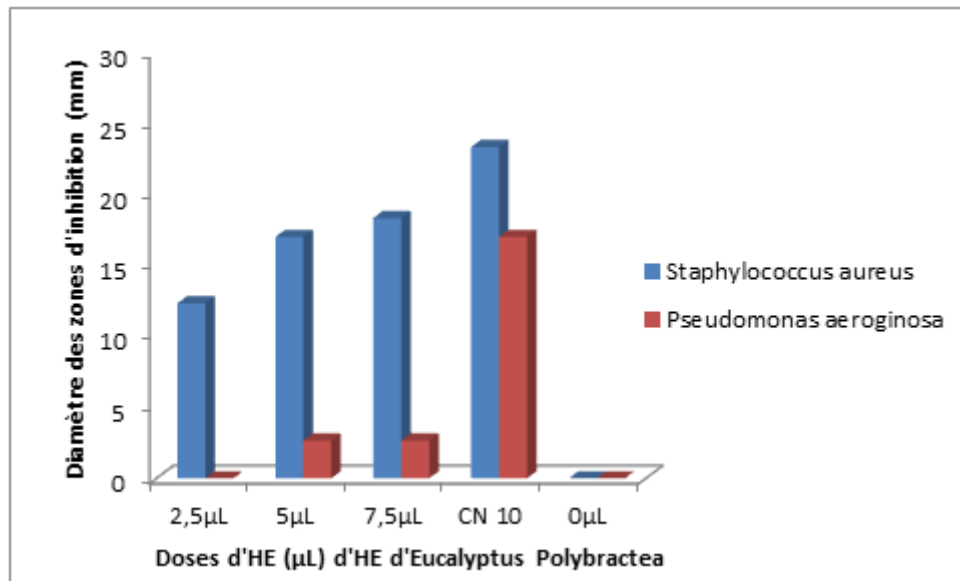
**Figure 28 :** Zones d'inhibition en fonction des différentes doses d'HE d'*Eucalyptus polybractea* avec contrôle positif et négatif.



**Figure 29:** Effet de l'HE d'*Eucalyptus maidenii* sur la croissance de *staphylococcus aureus* et *pseudomonas aeruginosa*.



**Figure 30:** Effet des concentrations croissantes de l'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la croissance de deux souches bactérienne : *staphylococcus aureus* et *pseudomonas aeruginosa*.

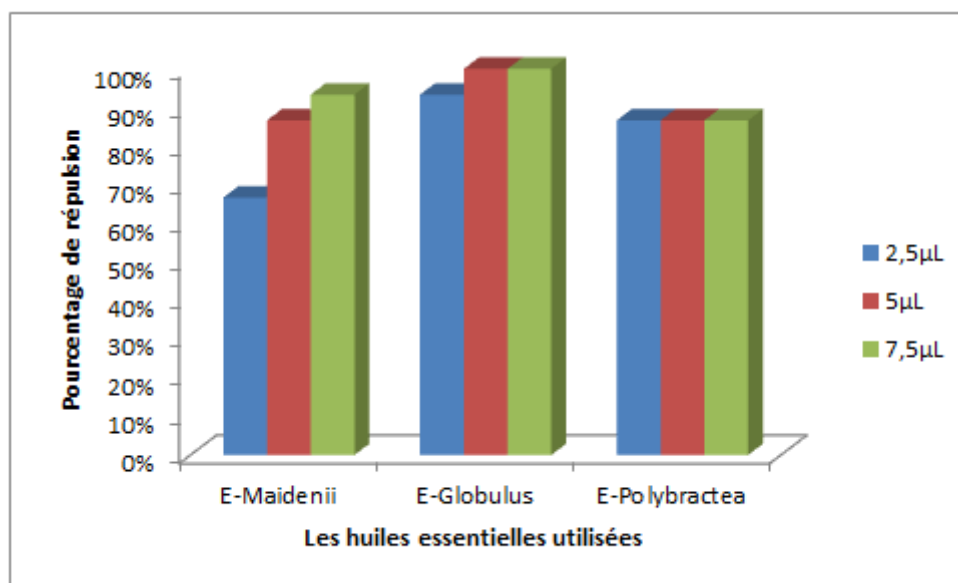


**Figure 31:** Effet de l'HE *d'Eucalyptus polybractea* sur la croissance de deux souches bactérienne *staphylococcus aureus* et *pseudomonas aeruginosa*.

#### IV. Evaluation de l'activité bioinsecticide des huiles essentielles

##### IV-1. Test de répulsivité sur les adultes de *Tribolium castaneum*

Les valeurs du pourcentage de répulsion obtenue sont représentées par les histogrammes de la **figure 32**.



**Figure 32:** Taux de Répulsivité de trois huiles essentielles vis-à-vis de *Tribolium castaneum* après 30 minutes d'exposition.

Les résultats obtenus lors des tests de répulsivité ont permis de classer les trois HE selon les critères de McDonald & al. (1970) en une classe:

*Eucalyptus maidenii* dans la classe 5 : très répulsives.

*Eucalyptus globulus* dans la classe 5 : très répulsives.

*Eucalyptus polybractea* dans la classe 5 : très répulsives.

L'analyse statistique utilisant le test de Kruskal-Wallis a montré une différence non significative pour le facteur huile (ddl= 2, Chi squared= 4,0177 ; p value= 0,1347 > 0,05), et pour le facteur dose (ddl=2, Chi squared=2,1347, p value=0,3431>0,05). L'interaction entre les facteurs huile et dose ont également révélé une différence non significative (ddl=8 ; Chi squared= 6,9126 ; p value=0,5461 > 0.05).

L'action répulsive des HE a été rapportée par de nombreux résultats de recherche. Ainsi Guèye & al. (2001) ont signalé dans une synthèse bibliographique l'action des plantes contre les ravageurs pour leurs effets répulsifs, de contact ou fumigation. Les molécules actives peuvent varier d'une famille à une autre et à l'intérieure de la même famille et la sensibilité peut varier d'un ravageur a un autre et d'un stade à un autre. L'effet répulsif et toxique de *Tephrosia vogelii* sur *Collosobruchus maculatus* alors que *Blumea aurita* (L.) ne présent aucune toxicité mais plutôt un pouvoir répulsif vis-à-vis de *C.maculatus*. Papachiristos & al. (2004) ont démontré l'existence d'une toxicité entre autre de l'HE d'*Eucalyptus globulus* sur les œufs d'*Acanthocelides obtectus* (ravageur d'haricot) avec une différence de sensibilité corrélée à l'Age. Cet effet pourrait s'expliquer par une perméabilité du chorion ou de la membrane vitelline facilitant la diffusion des vapeurs d'HE.

Une étude menée par Ukeh & al.(2012) à révéler l'effet répulsif des HE de gingembre et d'*Afranonum nelegueta* riche en monoterpène connue le R-linalool et le s-2-heptanol.

#### **IV-2.Test de fumigation sur les adultes de *Tribolium castaneum***

Les résultats obtenus pour les tests réalisés à 37°C ont montré une diminution progressive de la population de *Tribolium castaneum* pour les traitements avec *E.maidenii* et *E.polybractea*. En revanche, aucun effet n'a été observé pour le traitement avec *E.globulus*.

Une estimation du nombre d'adultes morts a été réalisée après 24, 48 et 72 heures. Les résultats obtenus pour les 3 huiles essentielles sont illustrés par les **figures 33,34 et 35**.

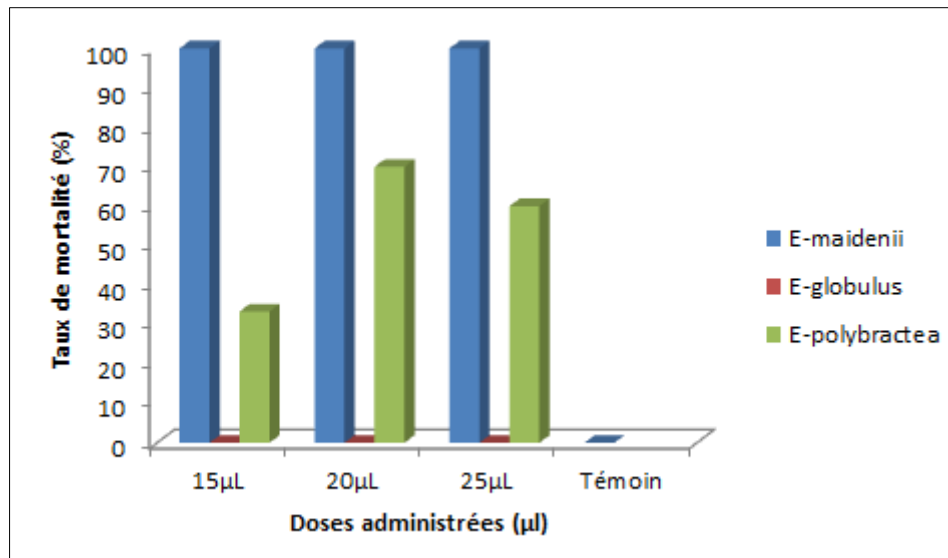
Après 24h d'exposition aux huiles essentielles, *E. maidenii* s'est montré extrêmement efficace, affichant un taux de mortalité de 100 % dès les 24 premières heures à toutes les doses testées. En revanche, *E.globulus* n'a entraîné aucune mortalité quelle que soit la dose utilisée alors que l'HE d'*E.polybractea* affecte progressivement les adultes de *T.castaneum*. Les HEs d'*Eucalyptus polybractea* présentent une augmentation progressive de la mortalité de *Tribolium castaneum* avec l'augmentation de la dose allant de 33% à la dose de 15 µL jusqu'à 60% à la dose de 25µL.

Après 48 heures d'exposition, *E.globulus* continue de ne montrer aucune mortalité à toutes les doses, indiquant la persistance de son inefficacité. *E.polybractea* montre une légère augmentation de la mortalité, atteignant 56% à 15µL, 80% à 20µL et 93% à 25µL, ce qui indique une amélioration avec le temps mais une efficacité toujours inférieure aux HEs d'*Eucalyptus Maidenii*.

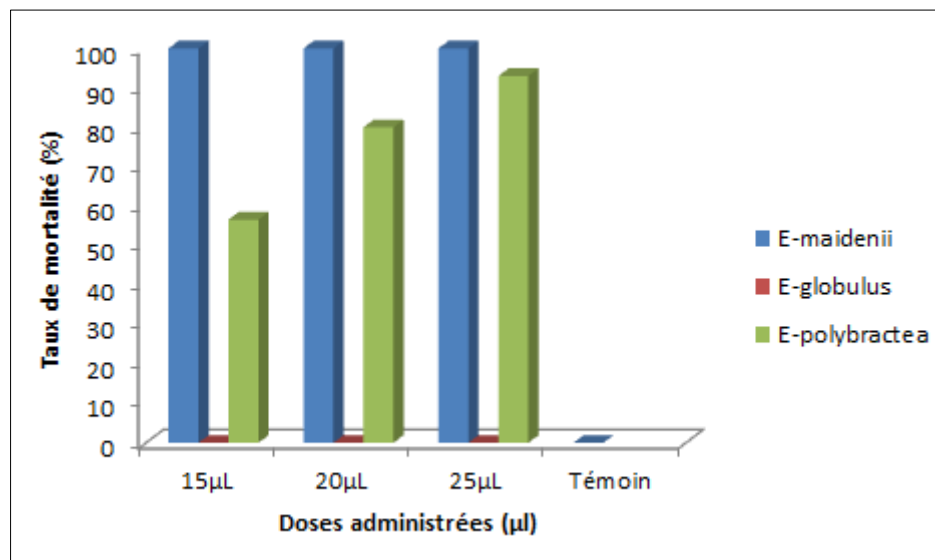
Après 72 heures. *E.globulus* ne présente toujours aucune mortalité. La mortalité des insectes exposés aux HEs d'*Eucalyptus polybractea* atteint 60% à 15µL, 80% à 20µL et une mortalité totale de 100 % à la dose de 25µL, indiquant son efficacité croissante au fil du temps.

L'analyse statistique utilisant le test de Kruskal-Wallis pour le test de toxicité par fumigation à 37°C, a révélé une différence non significative pour le facteur temps (ddl=2, Chi squared=0.23228; p value= 0.8903)0,05). Tandis que des différences très hautement significative ont été révélés pour les facteurs : Huile (ddl : 2, Chi squared=53,567 ; p value=2,334<sup>e-12</sup><0,001), dose (ddl=3 ; Chi squared=32,005 ; p value : 5 ,222<sup>e-07</sup><0,001).

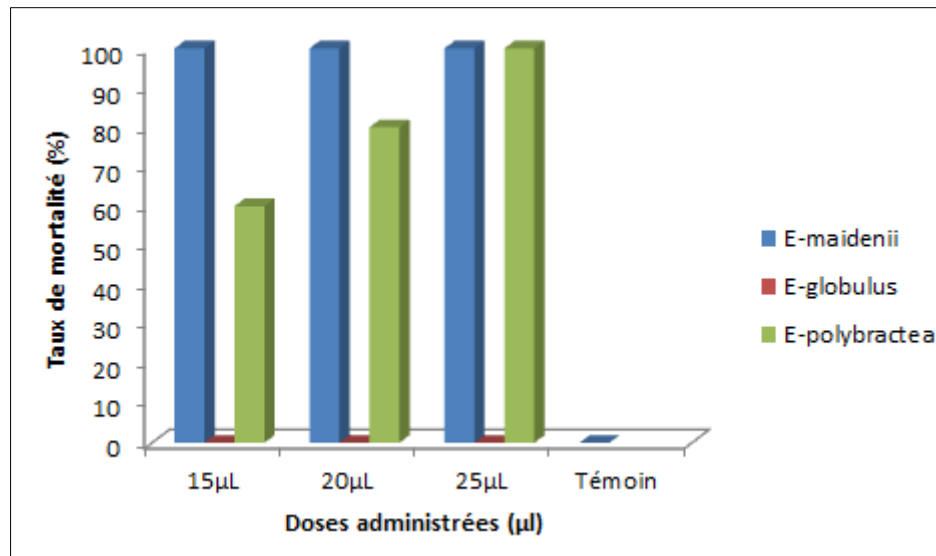
Les interactions entre les facteurs temps et huile (ddl=8 ; Chi squared=54,264; p value=6,136<sup>e-09</sup><0,001), les facteurs temps et dose (ddl=11 ; Chi squared= 32,534 ; p value=0.0006259<0,001) et les facteurs huile et dose (ddl= 11 ; Chi squared=104,57 ; p value=2,2<sup>e-16</sup><0,001) ont été également très hautement significative. L'interaction tripartite entre les facteurs temps, huile et dose ont également révélé une différence statistique très hautement significative (ddl= 35 ; Chi squared=106,15 ; p value=4,304<sup>e-09</sup><0,001).



**Figure 33 :** Taux de Mortalité d’adultes de *Tribolium castaneum* exposé à trois huiles essentielles après 24 Heures à une température de 37°C.



**Figure 34 :** Taux de Mortalité d’adultes de *Tribolium castaneum* exposé à trois huiles essentielles après 48 Heures à une température de 37°C.

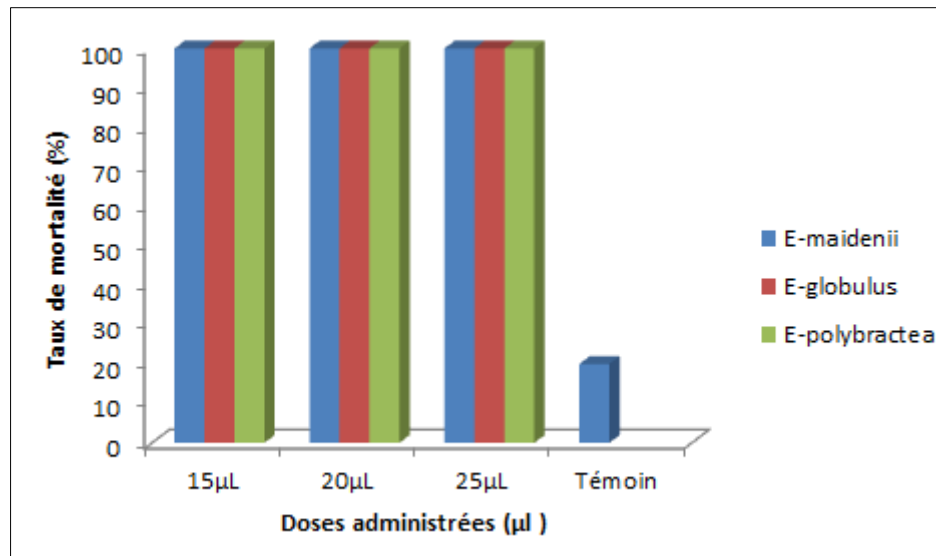


**Figure 35** : Taux de Mortalité d'adultes de *Tribolium castaneum* exposé à trois huiles essentielles après 72 Heures à une température de 37°C.

Les résultats suite à l'exposition de *Tribolium castaneum* à trois huiles essentielles (*E.maidenii*, *E.globulus*, et *E.polybractea*) à différentes doses (15µL ,20µL, 25µL) après 24 heures à une température de 4°C, montrent un taux de mortalité uniforme de 100 % pour toutes les huiles essentielles testées, quelle que soit la dose administrée (**Figure 36**).

Cette observation suggère que l'efficacité des huiles essentielles est considérablement renforcée lorsqu'elles sont utilisées en combinaison avec une basse température, indiquant que le froid joue un rôle crucial dans l'augmentation de la mortalité des insectes. Cette synergie entre les basses températures et les huiles essentielles pourrait être exploitée pour améliorer les stratégies de contrôle des populations de *Tribolium castaneum*, en utilisant le froid comme un complément efficace aux traitements utilisés pour obtenir des résultats plus rapides et plus élevés en termes de mortalité.

L'analyse statistique pour le test de toxicité par fumigation à 4°C a révélé une différence non significative pour le facteur huile (ddl= 2 ; Chi squared=0 ; p value= 1 > 0,05). Tandis que une différence très hautement significative a été enregistrée pour le facteur dose (ddl=3, Chi squared=34,364, p value=1,66<sup>e</sup>-07<0,001). L'interaction entre les facteurs huile et dose ont également révélé une différence très hautement significative a également révélé une différence très hautement significative (ddl= 11 ; Chi squared=34,364 ; p value= 0,0003153<0,001).



**Figure 36 :** Taux la mortalité d'adultes de *Tribolium castaneum* exposés à trois huiles essentielles après 24 Heures à 4°C.

Nos résultats sont comparables avec ceux rapportés par de nombreux auteurs ainsi Digilio & al. (2008), ont évalué l'activité insecticide d'huiles essentielles extraites de différentes plantes contre deux espèces de pucerons, *Aphis pisum* et *Myzus persicae*. Les huiles essentielles ont été extraites à partir des parties aériennes des plantes appartenant aux familles des Lamiaceae, Apiaceae et Verbenaceae et qui sont : *Hyssopus officinalis* (hysope), *Lavandula angustifolia* (lavande), *Majorana hortensis* (marjolaine), *Melissa officinalis* (mélisse) *Ocimum basilicum* (basilic), *Origanum vulgare* (origan), *Salvia officinalis* (sauge), *Thymus vulgaris* (thym), *Carum carvi* (carvi), *Foeniculum vulgare* (fenouil), *Pimpinella anisum* (anis), *Verbena officinalis* (verveine).

Les résultats ont montré que les huiles essentielles testées étaient efficaces contre les deux espèces de pucerons, la mortalité de ces derniers était dépendante de la dose administré, avec des taux de mortalité atteignant jusqu'à 100% à la dose maximale pour plusieurs huiles. Chez *Aphis pisum* un taux de mortalité de 90% a été observé avec une dose de 0.5 ul /l d'air avec les huiles essentielles d'anis, de basilic et de fenouil, tandis que chez *M. persicae*, des taux de mortalité de 100 % ont été observés avec les huiles de fenouil, de lavande, de mélisse, d'origan et de thym. Cependant des niveaux variables de phytotoxicité ont été observés sur les plantes hôtes, allant de l'absence de phytotoxicité à une phytotoxicité sévère.

Lors de leurs étude menée en 2012, Khani & Asghari ont examiné l'activité insecticide des huiles essentielles extraites de *Mentha longifolia* et *Achillea wilhelmsii* contre deux espèces d'insectes ravageurs des denrées stockées, *Callosobruchus maculatus* et *Tribolium castaneum*. Ces huiles ont été extraites par hydrodistillation et analysés pour déterminer leurs compositions chimiques. Les tests de toxicité par fumigation effectués ont révélé que ces huiles essentielles présentaient une forte activité insecticide, avec un taux de mortalité étroitement liée à la dose administré et au temps d'exposition. Les huiles se sont révélées plus toxiques pour le *C. maculatus* que pour le *T. castaneum*. Les principaux composés identifiés dans ces dernières tels que le piperitenone, le chrysanthenyl acétate et le 1,8-cinéole ont été associés à leur propriété insecticide.

Dans une autre étude, Abou-Taleb & al. (2016) ont testé les effets insecticides de 20 huiles essentielles extraites par hydro distillation de plantes retrouvées sur la côte nord d'Egypte sur des adultes du *Tribolium* rouge de la farine, *Tribolium castaneum*. Après des analyses pour l'identification de leurs compositions chimiques, des tests de toxicités par fumigation et par contact ont été réalisés. Les résultats obtenus ont montré que l'huile d'*O. vulgare* est la plus toxique par fumigation, suivie par *C. viminalis*, *C. sinensis*, *C. lemon*, *M. communis* et *S. terebinthifolius*. Tandis que les huiles de *T. occidentalis*, *A. seselifolium*, *P. tortuosus* et *V. agnus-castus* ont montré une toxicité plus faible. Dans le cas de la toxicité par contact, les huiles d'*A. monosperma* et *O. vulgare* se sont révélé être plus toxiques, par rapport à *C. sinensis* et *C. sempervirens*. De plus, les résultats suggèrent qu'elles interfèrent avec les processus biochimiques fondamentaux de ces insectes en inhibant l'activité de l'acétylcholinestérase et des adénosines triphosphatases (ATPases).

Dans le test par fumigation un taux de mortalité de 100% a été enregistré avec les adultes de *Tribolium castaneum* à la dose 15ul/l d'air avec l'HE d'*E.maidinii*, le même résultat a été obtenu par Liu & al. (1999) en utilisant l'HE de *C.aubrosoides* par fumigation sur *T.castaneum* avec Lc50 de 11,7mg.l-1air.

Ces résultats suggèrent que les huiles essentielles pourraient être utilisées efficacement comme agents insecticides en lutte biologique.

**Conclusion.**

---

Au terme de notre travail, nous pouvons conclure que les huiles essentielles d'*Eucalyptus maidenii*, *globulus* et *polybractea* présentent une excellente activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, avec des effets proportionnel à la dose administrée. Ces derniers révèlent également que l'huile essentielle d'*Eucalyptus maidenii* est légèrement plus efficace avec des zones d'inhibition de 26 mm, suivie par l'HE d'*Eucalyptus globulus* et *Eucalyptus polybractea* avec des zones d'inhibition respectives de 21 mm et 18 mm.

En revanche, *Pseudomonas aeruginosa* montre une résistance notable aux différentes huiles essentielles et à l'ensemble des volumes testés.

Ces résultats suggèrent que les huiles essentielles étudiées pourraient être utilisées pour traiter des infections causées par *Staphylococcus aureus*, mais seraient moins appropriées pour les infections dues à *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats du test de répulsivité à l'encontre de *T.castaneum*, ravageur de denrées stockées démontrent que les huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, *E. maidenii* et *E. polybractea* présentent une forte efficacité répulsive contre *Tribolium castaneum*, au fur et à mesure que la concentration augmente. En effet le classement par McDonald et al (1971) les regroupe dans la classe 5, très répulsives

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* se distingue par son efficacité supérieure, suivie par les huiles essentielles d'*Eucalyptus maidenii* et *E.polybractea*.

Les résultats de l'étude de toxicité par fumigation à 37C° ont révélés que l'huile essentielle d'*Eucalyptus maidenii* est la plus efficace contre *Tribolium castaneum* par fumigation, affichant un taux de mortalité de 100% dès les premières 24h, suivie par l'huile essentielle d'*Eucalyptus polybractea* qui présente une efficacité croissante avec le temps. Tandis que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* n'a pas montré d'effet toxique notable. Ces résultats soulignent l'utilité potentielle de l'huile essentielle d'*Eucalyptus maidenii* dans le contrôle des infestations de *Tribolium castaneum*.

Ces résultats indiquent que ces huiles pourraient être utilisées comme agents efficaces dans le contrôle et la gestion de *Tribolium castaneum*, offrant ainsi une alternative naturelle et potentiellement durable aux méthodes traditionnelles de lutte contre les insectes.

L'étude de toxicité par fumigation à 4°C révèle que l'efficacité des huiles essentielles a considérablement augmenté par rapport à l'étude réalisée à 37°C. Cela suggère que leur efficacité augmente si utilisées en combinaison avec des températures froides, indiquant que le froid joue un rôle crucial dans l'augmentation de la mortalité des insectes. Cette synergie entre les basses températures et les huiles essentielles pourrait être exploitée pour améliorer les stratégies de contrôle des populations de *Tribolium castaneum*, en utilisant le froid comme un complément efficace aux traitements chimiques pour obtenir des résultats plus rapides et plus élevés en termes de mortalité.

Ces résultats suggèrent que ces trois huiles essentielles pourraient être particulièrement utiles comme agent de contrôle naturel pour la gestion de *Tribolium castaneum*.

## Référence bibliographiques

---

## Références bibliographiques.

- **Abou-Taleb, H. K., Mohamed, M. I. E., Shawir, M. S., & Abdelgaleil, S. A. M. (2016).** Insecticidal properties of essential oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. *Natural Product Research*, 30(6), 710–714.
- **Ali-Delille, L. (2010).** Les plantes médicinales d'Algérie (3rd ed.). Berti Editions.
- **Amhis W., Benslimane A., Tiouit D. & Naim M. (2001).** Tests de sensibilité utiles au traitement antibiotique. *Médecine du Maghreb* n°91. 1-25.
- **Amorati, R., & Valgimigli, L. (2018).** Methods To Measure the Antioxidant Activity of Phytochemicals and Plant Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(13), 3324–3329.
- **Angane, M., Swift, S., Huang, K., Butts, C. A., & Quek, S. Y. (2022).** Essential Oils and their major components: An updated review on antimicrobial activities, mechanism of action and their potential application in the food industry. *Foods*, 11(3), 464.
- **Aouf, A., Bouaouina, S., Abdelgawad, M. A., Abourehab, M. a. S., & Farouk, A. (2022).** In Silico Study for Algerian Essential Oils as Antimicrobial Agents against Multidrug-Resistant Bacteria Isolated from Pus Samples. *Antibiotics*, 11(10), 1317.
- **Bachir, R. G., & Benali, M. (2012).** Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine/Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(9), 739–742.
- **Bajpai, V. K., Baek, K.-H., & Kang, S. C. (2012).** Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. *Food Research International*, 45(2), 722–734.
- **Bajpai, V. K., Sharma, A., & Baek, K. (2013).** Antibacterial mode of action of *Cudrania tricuspidata* fruit essential oil, affecting membrane permeability and surface characteristics of food-borne pathogens. *Food Control*, 32(2), 582-590.
- **Barbosa, L., Filomeno, C., & Teixeira, R. (2016).** Chemical Variability and Biological Activities of *Eucalyptus* spp. Essential Oils. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 21(12), 1671.

- **Baser, K.H.C., & Buchbauer, G. (Eds.). (2009).** Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications (1st ed.).
- **Batish, D.R.; Singh, H.P.; Kohli, R.K.; Kaur, S. (2008).** *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. For.Ecol. Manage. 256, 2166–2174.
- **Baudoux, D. (2017).** Chapitre 4. De l'essence à l'huile essentielle: Principes d'extraction des molécules aromatiques. Dans : , D. Baudoux, Aromathérapie: 100 huiles essentielles (pp. 24-28). Dunod.
- **Bey–Ould Si Said, Z., & Boulekbache-Makhlouf, L. E. (2014).** Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale *Eucalyptus globulus* (Mémoire de magister). Université Abderrahmane Mira de Béjaïa.
- **Bonnet R., Bru J-P., Caron F., Cattoir V. et Chardon H. (2015).** EUCAST. European society of clinical microbiology and infectious diseases. Comité de l'Antibiogramme. Société Française de Microbiologie.
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd). Eds Tec&Doc.
- **Buckle, J. (2003).** Clinical aromatherapy: Essential oils in practice (2nd ed., illustrated, reprinted). Churchill Livingstone.
- **Bush, D., Spencer, D., Doran, J., & Davis, R. (2022).** Testing New Provenances of *Eucalyptus polybractea* : A *Eucalypt* Oil Mallee Adapted to Semi-Arid Environments. Forests, 13(7), 1109.
- **CAMARA. A. (2009)** : Lutte contre *Sitophilus Oryzae* L. et *Tribolium Castaneum* herbst dans les stocks de riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en basse-guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales, thèse de doctorat université du QUÉBEC à MONTRÉAL.p173.
- **Cartie, O., & Roux, D. (2007).** Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie (3e éd., 141 pages). Wolters Klower.
- **Chidege, M. Y., Venkataramana, P. B., & Ndakidemi, P. A. (2024).** Enhancing Food Grains Storage Systems through Insect Pest Detection and Control Measures for Maize and Beans : Ensuring Food Security Post-COVID-19 Tanzania. Sustainability, 16(5), 1767.

- **Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M .& Kim J.M. (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie. Food science and technology*, 39(7): 756-761.
- **Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017).** Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. *Medicines*, 4(3), 58.
- **Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013).** Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(525), 22-25.
- **Cronquist, A. (1981).** An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York,. 1262 pages.
- **Dagnelie P., (1975).** Théorie et méthodes statistiques applications agronomiques. Edit. Presses Agronomiques de Gembloux.
- **Deschepper .R. (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Aix de Marseille.
- **Dey, D. (2016).** Impact of indiscriminate use of insecticide on environmental pollution. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PLANT PROTECTION*, 9(1), 264-267.
- **Deysson, G. (1965).** Éléments d'anatomie des plantes vasculaires. Société d'Édition d'Enseignement Supérieur.
- **Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016).** Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities : A Critical Review. *Medicines*, 3(4), 25.
- **Digilio, M. C., Mancini, E., Voto, E., & De Feo, V. (2008).** Insecticide activity of Mediterranean essential oils. *Journal of Plant Interactions*, 3(1), 17-23.
- **Duval, L. (2012).** Les huiles essentielles à l'officine (Thèse de doctorat, Université de Rouen). *Sciences pharmaceutiques*.
- **Elaissi, A., Rouis, Z., Salem, N. a. B., Mabrouk, S., Salem, Y. B., Salah, K. B. H., Aouni, M., Farhat, F., Chemli, R., Harzallah-Skhiri, F., & Khouja, M. L. (2012).** Chemical composition of 8 *eucalyptus* species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1).

- **Erau, P. (2019).** *L'eucalyptus* : botanique, composition chimique, utilisation thérapeutique et conseil à l'officine (Sciences pharmaceutiques) (Thèse de doctorat, Faculté de Pharmacie de Marseille).
- **Evans, W. C. (2009).** Trease and Evans' pharmacognosy. 16th Edition. Elsevier Health Sciences.
- **Farhat, A. (2010).** Vapo-diffusion assistée par micro-ondes : conception, optimisation et application (Thèse de doctorat, Université d'Avignon, 2010). Sciences et Techniques.
- **Fauchère J.L. & Avril J.L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Ellipses Ed.
- **Ferhat, M., Meklati, B. Y., & Chémat, F. (2007).** Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. *Flavour And Fragrance Journal*, 22(6), 494-504.
- **Fokou, J. B. H., Dongmo, P. M. J., & Boyom, F. F. (2020b).** Essential Oil's Chemical Composition and Pharmacological Properties. Dans IntechOpen eBooks.
- **Goudjil, M. B. (2016).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques (Thèse de doctorat, UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA).
- **Guenther, E. (1948).** The Essential Oils (427 pages). New York, NY, USA : D. Van Nostrand Company Inc.
- **Guèye, MT, Seck, D., Wathelet, J.-P. & Lognay, G. (2011)** Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale : Synthèse bibliographique. *Biotechnologie Agronomie Société Environnement*, 15, 183-194.
- **Guignard, J.-L. (1996).** Biochimie végétale. Masson.
- **Haddadi, K., & Rabhi, H. (2022).** Extraction des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et *d'Eucalyptus globulus* : Activité anti-oxydante et anti-bactérienne vis-à-vis de deux pathogènes de l'homme (Mémoire de master) Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
- **HAMMER, K.A., CARSON, C.F., & RILEY. T.V. (1999).**In-vitro activity of essential oils, in particular *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and tea tree oil products, against *Candida* spp *Journal of Applied Microbiology* 1999, 86, 985–990.

- **Hedjal, M. (2014).** Identification des principes actifs des huiles essentielles de quelques résineux plantes aromatiques de provenance algérienne et tunisienne : Étude de leurs activités biologiques à l'égard d'un insecte ravageur des graines stockées, *Callosobruchus maculatus* F. 1775 (Coleoptera: Bruchidae) (Thèse de doctorat). Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
- **Heinrich, M., Barnes, J., Prieto-Garcia, J., Gibbons, S., & Williamson, E. M (2012).** Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy (2nd ed.). Churchill Livingstone/Elsevier.
- **Jae-Seoun Hur, J.S.; Ahn, S.Y.; Koh, Y.J.; Lee, C. (2000).** Antimicrobial properties of cold-tolerant *Eucalyptus* species against phytopathogenic fungi and food-borne bacterial pathogens. *Plant Pathol.J.*, 16, 286–289.
- **Kaloustian, J., Hadji-Minaglou, F., & Vanelle, P. (2012).** La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie: Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Tec & Doc Lavoisier.
- **KASSEMI, N. (2015).** Activité biologique des poudres et des huiles essentielles de deux plantes aromatiques (*Pseudoevius integrifolius* Salib et *Nepera nepetella* L.) sur les ravageurs du blé et des légumes secs (Thèse de doctorat). Université Abu Bakr Belkaid de Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre.
- **Khani, A., & Asghari, J. (2012).** Insecticide Activity of Essential Oils of *Mentha longifolia*, *Pulicaria gnaphalodesand* *Achillea wilhelmsii* Against Two Stored Product Pests, the Flour Beetle, *Tribolium castaneum*, and the Cowpea Weevil, *Callosobruchus maculatus*. *Journal Of Insect Science*, 12(73), 1-10.
- **Kubitzki, K. (Ed.). (2010).** Flowering plants. eudicots: Sapindales, cucurbitales, myrtaceae (Vol. 10). Springer Science & Business Media.
- **Kumar, H., Panigrahi, M., Chhotaray, S., Bhanuprakash, V., Shandilya, R., Sonwane, A., & Bhushan, B. (2018).** Red flour beetle (*Tribolium castaneum*): From population genetics to functional genomics. *Veterinary World/Veterinary World*, 1043–1046.

- **Labadie, C. (2015).** Analyse fine et stabilisation des hydrolats de rose et de fleur d'oranger (Thèse de doctorat, Université de Montpellier, École doctorale "SP-SA" ED 306, UMR 408 - INRA "Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale", spécialité : Biochimie, Chimie et Technologie des aliments).
- **Ieri, F., Cecchi, L., Giannini, E., Clemente, C., & Romani, A. (2019).** GC-MS and HS-SPME-GC×GC-TOFMS Determination of the Volatile Composition of Essential Oils and Hydrosols (By-Products) from Four *Eucalyptus* Species Cultivated in Tuscany. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 24(2), 226.
- **Liu Z.L. & Ho S.H., (1999).** Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook.f. et Thomas against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch. and *Tribolium castaneum* (Herbst). *J. Stored Prod. Res.*, 35, 317-328.
- **Lodhia, M. H., Bhatt, K. R., & Thaker, V. S. (2009).** Antibacterial activity of essential oils from palmarosa, evening primrose, lavender and tuberose. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(2), 134.
- **Lopez-Romero, J. C., González-Ríos, H., Borges, A., & Simões, M. (2015).** Antibacterial Effects and Mode of Action of Selected Essential Oils Components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1–9.
- **Maruyama, N., Sekimoto, Y., Ishibashi, H., Inouye, S., Oshima, H., Yamaguchi, H., & Abe, S. (2005).** Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *Journal of inflammation*, 2(1), 1.
- **Mc Donald L.L., Guy R.H., & Spiers R.D. (1970).** Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. Marketing Research report. N° 882. Washington: Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, 183p.
- **Meenu, M., Padhan, B., Patel, M., Patel, R., & Xu, B. (2023).** Antibacterial activity of essential oils from different parts of plants against *Salmonella* and *Listeria* spp. *Food Chemistry*, 404, 134723.
- **Moroh, J., Bahi C., Dje K., Loukou Y & Guede-guina F, (2008).** Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides* (Baker) milne-redhead (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. *Bulletin Societe Royale des Sciences Liege*, 77: 44-61.

- **Nakatsu, T., Lupo, A. T., Chinn, J. W., & Kang, R. (2000).** Biological activity of essential oils and their constituents. *Studies in natural products chemistry* (p. 571-631).
- **Nayik, G. A., & Ansari, M. J. (Eds.). (2023).** *Essential Oils: Extraction, Characterization and Applications (Édition illustrée)*. Elsevier Science.
- **Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & De Feo, V. (2017).** Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals*, 10(4), 86.
- **Ngamo LST & Hance TH. (2007).** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura*, 25(4): 215-220.
- **Padrini, F., & Lucheroni, M. T. (1996).** *Le grand livre des huiles essentielles*. (N. Turrini, Trad.). De Vecchi.
- **Papachristos D.P. & Stamopoulos D.C., (2002).** Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.*, 38, 365-373.
- **Peters, M. (2016).** *Essential Oils: Historical Significance, Chemical Composition, and Medicinal Uses and Benefits*. (Édition illustrée). Nova Science Publishers, Incorporated.
- **Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C. et Roura S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, Food Science and Technology*, 36(7): 679–684.
- **Prashar, A., Locke, I. C., & Evans, C. S. (2004).** Cytotoxicity of lavender oil and its major components to human skin cells. *Cell Proliferation*, 37(3), 221-229.
- **Price, S., & Price, L. (2011).** *Aromatherapy for health professionals* (4th ed., revised). Elsevier Health Sciences.
- **Pushpangadan, P., & George, V. (2012).** Basil. In: Peter, K. V. (Ed.), *Handbook of Herbs and Spices*, Vol.1, p.55-72, Elsevier Science.
- **Raut, J.S. and Karuppayil, S.M. (2014).** A Status Review on the Medicinal Properties of Essential Oils. *Industrial Crops and Products*, 62, 250-264.

- **Raynaud, J. (2006).** Prescription et conseil en aromathérapie. Éditions Lavoisier (Tec et Doc).
- **Razafimamonjison, D. E. N. G. (2011).** Variabilités chimiques et activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Cinnamosma* spp. (Alternative aux antibiotiques en aquaculture de crevette) (Thèse de doctorat, Université d'Antananarivo, École Supérieure des Sciences Agronomiques, Département Industries Agricoles et Alimentaires).
- **Regnault-Roger, C., Philogène, B. J., & Vincent, C. (2008).** Biopesticides d'origine végétale (2nd ed.). Tec & Doc, Lavoisier.
- **Reichling, J., Schnitzler, P., Suschke, U., & Saller, R. (2009).** Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview. *Complementary Medicine Research*, 16(2), 79–90.
- **Saleem, M., & Ahmad, N. (2018).** Characterization of canola oil extracted by different methods using fluorescence spectroscopy. *PLOS ONE*, 13(12).
- **Sabo, V. A., & Knezevic, P. (2019).** Antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. Plant extracts and essential oils: A review. *Industrial Crops and Products*, 132, 413–429.
- **Shah, B., & Seth, A. (2012).** Textbook of Pharmacognosy and Phytochemistry-E-Book. Elsevier Health Sciences, (620 pages).
- **Sharififar F., Moshafi M. H., Mansouri S. H., Khodashenas M. & Khoshnoodi M. (2007).** In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control*, 18(7):800-805.
- **Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G. C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., Tundis, R., Sharifi-Rad, M., Loizzo, M. R., Ademiluyi, A. O., Sharifi-Rad, R., Ayatollahi, S. A., & Iriti, M. (2017).** Biological activities of essential oils: from plant chemoecology to traditional healing systems. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 22(1), 70.
- **Slimane, B., Ezzine, O., Dhahri, S., & Jamaa, M. L. (2014).** Essential oils from two *Eucalyptus* from Tunisia and their insecticidal action on *Orgyia trigotephra* (Lepidoptera, Lymantriidae). *Biological Research*, 47(1), 29.
- **Socasau, C. (2017).** Les huiles essentielles référencées à l'Agence Européenne du Médicament. Sciences pharmaceutiques. Thèse de doctorat en Pharmacie. Bordeaux, Université de Bordeaux.

- **Stirling, G. R. (2014).** Biological Control of Plant-parasitic Nematodes, 2nd Edition: Soil Ecosystem Management in Sustainable Agriculture (2nd ed). CABI.
- **Tisserand, R., & Young, R. (2013).** Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals (2e éd, révisée). Elsevier Health Sciences.
- **Tohidpour, A., Sattari, M., Omidbaigi, R., Yadegar, A., & Nazemi, J. (2010).** Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17(2), 142-145.
- **Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014).** Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*, 79(7).
- **Ukeh, D. A., Umoetok, S. B., Bowman, A. S., Mordue, A. J., Pickett, J. A., & Birkett, M. A. (2012).** Alligator pepper, *Aframomum melegueta*, and ginger, *Zingiber officinale*, reduce stored maize infestation by the maize weevil, *Sitophilus zeamais* in traditional African granaries. *Crop Protection*, 32, 99–103.
- **Vaičiulytė, V., Ložienė, K., & Taraškevičius, R. (2022).** Impact of Edaphic and Climatic Factors on *Thymus pulegioides* Essential Oil Composition and Potential Prevalence of Chemotypes. *Plants*, 11(19), 2536.
- **Organisation mondiale de la Santé (OMS). (1999).** Monographies de l'OMS sur les plantes médicinales sélectionnées (Vol. 2, édition illustrée). Organisation mondiale de la Santé.
- **Zonfrillo, M., Andreola, F., Krasnowska, E. K., Sferrazza, G., Pierimarchi, P., & Serafino, A. (2022).** Essential Oil from *Eucalyptus globulus* (Labill.) Activates Complement Receptor-Mediated Phagocytosis and Stimulates Podosome Formation in Human Monocyte-Derived Macrophages. *Molecules*, 27(11), 3488.

## Annexes.

---

## Toxicité par fumigation à température ambiante

```
One-sample Kolmogorov-Smirnov test
```

```
data: morts  
D = 0.32272, p-value = 3.395e-10
```

## Temps

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: morts by temps  
Kruskal-Wallis chi-squared = 0.23228, df = 2, p-value = 0.8903
```

## Huile

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: morts by huile  
Kruskal-Wallis chi-squared = 53.567, df = 2, p-value = 2.334e-12
```

```
$groups
```

```
      morts groups  
em 76.625      a  
ep 59.375      b  
eg 27.500      c
```

## Dose

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: morts by dose  
Kruskal-Wallis chi-squared = 32.005, df = 3, p-value = 5.222e-07
```

```
$groups
```

```
      morts groups  
dc 66.62963      a  
db 63.14815      a  
da 60.72222      a  
dt 27.50000      b
```

## Interaction temps-huile

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: morts by TempsHuile
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 54.264, df = 8, p-value = 6.136e-09
```

```
$groups
```

```
      morts groups
jaem 76.62500     a
jbem 76.62500     a
jcem 76.62500     a
jcep 63.66667     a
jbep 60.45833     a
jaep 54.00000    ab
jaeg 27.50000     b
jbeg 27.50000     b
jceg 27.50000     b
```

## Interaction temps-dose

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: morts by TempsDose
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 32.534, df = 11, p-value = 0.0006259
```

```
$groups
```

```
      morts groups
jcdc 71.16667     a
jbdc 67.05556    ab
jbdb 63.66667    ab
jcdb 63.66667    ab
jadb 62.11111    ab
jadc 61.66667    ab
jcda 61.38889    ab
jbda 61.22222    ab
jada 59.55556    ab
jadt 27.50000     b
jbdt 27.50000     b
jcdt 27.50000     b
```

## Interaction huile-dose

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: morts by HuileDose
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 104.57, df = 11, p-value < 2.2e-16
```

```
$groups
```

```
      morts groups
emda 93.00000     a
emdb 93.00000     a
emdc 93.00000     a
epdc 79.38889     b
epdb 68.94444     c
epda 61.66667     c
egda 27.50000     d
egdb 27.50000     d
egdc 27.50000     d
egdt 27.50000     d
emdt 27.50000     d
epdt 27.50000     d
```

## Interaction huile-dose-temps

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: morts by TempsHuileDose
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 106.15, df = 35, p-value = 4.304e-09
```

---

	morts	groups
jaemda	93.00000	a
jaemdb	93.00000	a
jaemdc	93.00000	a
jbemda	93.00000	a
jbemdb	93.00000	a
jbemdc	93.00000	a
jcemda	93.00000	a
jcemdb	93.00000	a
jcemdc	93.00000	a
jcepdc	93.00000	a
jbepdc	80.66667	b
jbepdb	70.50000	bc
jcepdb	70.50000	bc
jaepdb	65.83333	cd
jaepdc	64.50000	cd
jcepda	63.66667	cd
jbepda	63.16667	cd
jaepda	58.16667	d
jaegda	27.50000	e
jaegdb	27.50000	e
jaegdc	27.50000	e
jaegdt	27.50000	e
jaemdt	27.50000	e
jaepdt	27.50000	e
jbegda	27.50000	e
jbegdb	27.50000	e
jbegdc	27.50000	e
jbegdt	27.50000	e
jbemdt	27.50000	e
jbepdt	27.50000	e
jcegda	27.50000	e
jcegdb	27.50000	e
jcegdc	27.50000	e
jcegdt	27.50000	e
jcemdt	27.50000	e
jcepdt	27.50000	e

## Activité anti bactériennes.

```
One-sample Kolmogorov-Smirnov test
```

```
data: diam  
D = 0.45377, p-value < 2.2e-16
```

Souche bactérienne.

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: diam by sb  
Kruskal-Wallis chi-squared = 32.664, df = 1, p-value = 1.095e-08
```

```
$groups  
      diam groups  
sa 60.57778      a  
pa 30.42222      b
```

Huile.

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: diam by huile  
Kruskal-Wallis chi-squared = 1.6675, df = 2, p-value = 0.4344
```

Dose.

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: diam by dose  
Kruskal-Wallis chi-squared = 38.814, df = 4, p-value = 7.609e-08
```

```
$groups  
      diam groups  
dtp 69.80556      a  
dc  53.00000     ab  
db  46.44444      b  
da  38.25000     bc  
dtn 20.00000      c
```

## Souche bactérienne- huile

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: diam by SbHuile
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 35.293, df = 5, p-value = 1.315e-06
```

```
$groups
```

```
      diam groups
saem 68.73333    a
saeg 57.70000    a
saep 55.30000    a
paem 31.90000    b
paep 31.06667    b
paeg 28.30000    b
```

## Souche bactérienne- dose

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: diam by SbDose
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 81.462, df = 9, p-value = 8.278e-14
```

```
$groups
```

```
      diam groups
sadtp 82.50000    a
sadc  76.27778   ab
sadb  67.61111   bc
padtp 57.11111    c
sada  56.50000    c
padc  29.72222    d
padb  25.27778    d
pada  20.00000    d
padtn 20.00000    d
sadtn 20.00000    d
```

## Huile-dose

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: diam by HuileDose
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 41.101, df = 14, p-value = 0.0001715
```

```

$groups
      diam groups
emdtp 72.91667    a
egdtp 68.25000    a
epdtp 68.25000    a
emdc  59.16667   ab
emdb  53.91667   ab
epdc  50.33333   ab
egdc  49.50000   ab
emda  45.58333   ab
epdb  43.50000   ab
egdb  41.91667   ab
egda  35.33333   ab
epda  33.83333   ab
egdtn 20.00000    b
emdtn 20.00000    b
epdtn 20.00000    b

```

### Souche bactérienne-dose- huile

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: diam by SbDoseHuile
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 85.341, df = 29, p-value = 1.865e-07
```

```

$groups
      diam groups
saemdtp 88.00000    a
saemdc  84.33333   ab
saegdtp 82.00000   ab
saemdb  80.16667   ab
saepdtp 77.50000  abc
saepdc  72.50000  abcd
saegdc  72.00000  abcd
saemda  71.16667  abcde
saegdb  63.83333  bcdef
paepdtp 59.00000  cdef
saepdb  58.83333  cdef
paemdtp 57.83333  cdef
paegdtp 54.50000  defg
saegda  50.66667  efg
saepda  47.66667  fgh
paemdc  34.00000  ghi
paepdb  28.16667  hi
paepdc  28.16667  hi
paemdb  27.66667  hi
paegdc  27.00000  hi
paegda  20.00000  i
paegdb  20.00000  i
paegdtn 20.00000  i
paemda  20.00000  i
paemdtn 20.00000  i
paepda  20.00000  i
paepdtn 20.00000  i
saegdtn 20.00000  i
saemdtn 20.00000  i
saepdtn 20.00000  i

```

## Toxicité par fumigation à 4°C

```
Shapiro-Wilk normality test
```

```
data: tauxdemortalité  
W = 0.56563, p-value = 3.814e-09
```

### Huile

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: tauxdemortalité by huile  
Kruskal-Wallis chi-squared = 0, df = 2, p-value = 1
```

### Dose

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: tauxdemortalité by dose  
Kruskal-Wallis chi-squared = 34.364, df = 3, p-value = 1.66e-07
```

### Huile- dose

```
Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: tauxdemortalité by Huiledose  
Kruskal-Wallis chi-squared = 34.364, df = 11, p-value = 0.0003153
```

### Dose

```
§groups  
  tauxdemortalité groups  
da          23      a  
db          23      a  
dc          23      a  
dt           5      b
```

## Interaction Huile-dose

```

$groups
  tauxdemortalité groups
egda             23     a
egdb             23     a
egdc             23     a
emda             23     a
emdb             23     a
emdc             23     a
epda             23     a
epdb             23     a
epdc             23     a
egdt             5      b
emdt             5      b
epdt             5      b

```

**Test de Répulsivité**

Shapiro-Wilk normality test

```

data: prderépulsivité
W = 0.69584, p-value = 3.395e-06

```

## Huile

Kruskal-Wallis rank sum test

```

data: prderépulsivité by huile
Kruskal-Wallis chi-squared = 4.0177, df = 2, p-value = 0.1341

```

## Dose

Kruskal-Wallis rank sum test

```

data: prderépulsivité by dose
Kruskal-Wallis chi-squared = 2.1347, df = 2, p-value = 0.3439

```

## Huile- dose

Kruskal-Wallis rank sum test

```

data: prderépulsivité by Huiledose
Kruskal-Wallis chi-squared = 6.9126, df = 8, p-value = 0.5461

```

## Résumé

Trois huiles essentielles de la famille des Myrtacées appartenant au genre *Eucalyptus* ont été testées pour leurs activités antibactériennes vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* et insecticides à l'encontre d'un ravageur des denrées stockées, *Tribolium castaneum*. En effet, le test par la méthode de diffusion sur disques en boîte de Petri a montré l'efficacité des huiles sus-citées à l'encontre de *S.aureus* avec des diamètres de zones d'inhibition respectifs de 26 mm, 21 mm, et 18 mm pour *Eucalyptus maidenii*, *Eucalyptus globulus* et *Eucalyptus polybractea* alors que la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* n'a nullement été affectée par l'ensemble des huiles utilisées.

Les tests de répulsivité réalisés ont prouvé l'action très répulsive des huiles essentielles (classe V) sur *Tribolium castaneum*. La fumigation réalisée avec les trois huiles essentielles a montré une activité bioinsecticide de l'HE d'*Eucalyptus maidenii* en provoquant une mortalité totale chez les adultes de *T.castaneum* après 24 heures d'exposition. Cette action a été renforcée une fois combinée avec une basse température.

**Mots clés :** Huiles essentielles, Myrtacées, *Eucalyptus*, *Tribolium castaneum*, Activité antibactérienne, Activité insecticide.

## Abstract

Three essential oils from the Myrtaceae family, specifically from the *Eucalyptus* genus, were tested for their antibacterial activities against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, as well as their insecticidal activity against the stored product pest *Tribolium castaneum*. The disk diffusion method in Petri dishes demonstrated the effectiveness of the mentioned oils against *S. aureus*, with inhibition zone diameters of 26 mm, 21 mm, and 18 mm for *Eucalyptus maidenii*, *Eucalyptus globulus*, and *Eucalyptus polybractea*, respectively. In contrast, the growth of *Pseudomonas aeruginosa* was not affected by any of the oils used.

Repellency tests showed that the essential oils exhibited a very strong repellent action (class V) on *Tribolium castaneum*. Fumigation with the three essential oils demonstrated a bioinsecticidal activity of *Eucalyptus maidenii* essential oil, causing complete mortality of adult *T. castaneum* after 24 hours of exposure. This effect was further enhanced when combined with low temperatures.

**Key words:** Essential oils, Myrtaceae, *Eucalyptus*, *Tribolium castaneum*, Antibacterial activity, Insecticidal activity.