



**République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de
L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie Animale et Végétale**

**Thèse présentée pour l'obtention du Diplôme de Doctorat en
Sciences biologiques**

Présentée par Mme Taleb-Toudert Karima

Sujet de thèse

**Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes
aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation
de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus*
(Coleoptera : Bruchidae)**

Soutenue le 03/03/2015 devant le jury composé de:

Président: Yakoub Bougdal S.

Professeur, FSBA, UMMTO.

Directeur de thèse : Kellouche A.

Professeur, FSBA, UMMTO.

Examineur: Chakali G.

Professeur ENSA, Alger.

Examineur : Khouja M.L.

Directeur de recherches, INGREF, Tunis.

Examineur : Nabiev M.

Professeur université de Boumerdès.

Examinatrice : Sadoudi Ali Ahmed Dj.

Professeur FSBA, l'UMMTO.

Il m'est tout d'abord agréable de remercier mon directeur de thèse, monsieur le Professeur Kellouche A. qui m'a accueillie dans son laboratoire et qui a dirigé ce travail de recherche. J'ai ainsi eu la chance de bénéficier de son soutien sans faille et de ses encouragements pendant les durs moments de doute et de découragement. Il m'a donné beaucoup de son temps pour approfondir mon travail et il a su me faire transmettre son goût pour la rigueur, grâce à vous j'ai pu apprendre et appréhender un monde qui m'était inconnu jusqu'alors ; le monde des insectes. Merci pour vos précieux conseils, pour la grande compétence et l'humanisme qui vous caractérisent et que tous vos étudiants reconnaissent en vous. Vous avez tout mon respect.

Je remercie infiniment madame le professeur Yakoub-Bougdal S. qui a bien voulu assumer la présidence du jury, tout en lui témoignant mon admiration pour sa force de caractère. Elle compte parmi les personnes qui m'ont formée scientifiquement. Merci pour vos encouragements et votre soutien moral.

Mr Khouja M.L., mon directeur de stage qui m'a ouvert grandement la porte de son laboratoire avec tant d'hospitalité, d'amitié et de grandeur d'âme, et qui n'a jamais cessé de me soutenir à chaque contact par e-mail. J'espère que nous aurons l'occasion, les prochaines années, de travailler à nouveau ensemble.

Mr Nabiev M., c'est un honneur et un immense plaisir de présenter ce travail devant vous et de prendre de votre temps pour siéger dans mon jury.

Mr Chakali G. ,merci d'avoir accepté avec tant d'enthousiasme de nous faire partager vos impressions avisées lors de l'examen de ce travail.

Mme Sadoudi Ali Ahmed Dj., je suis très sensible à l'intérêt que vous avez manifesté à l'égard de ce travail et je vous remercie de votre présence.

Monsieur Amirouche S. Ingénieur de laboratoire, pour avoir été exemplaire lors de la réalisation des coupes anatomiques au MEB. Vous êtes pour moi un exemple frappant de ce que la rigueur pouvait avoir d'exigent, je ne vous remercierai jamais assez.

Madame Kellouche F. et madame Louni K. du service de la post-graduation pour leur dévouement au service des étudiants doctorants et les enseignants chercheurs. Un grand merci mesdames pour tout ce que vous faites.

Un immense merci à tout le personnel du CRD Saidal d'El Harrach, et plus particulièrement l'équipe « Huiles essentielles ». Sans vous je n'aurai jamais pu réaliser l'extraction des huiles.

Mr. Ferraguig N. dont l'enthousiasme, le positivisme à toute épreuve (avec son éternelle devise « Résistance ») est un soutien énorme dans les moments durs que j'ai pu passer. Merci d'avoir été là et de m'avoir supportée avec votre grand cœur et votre sourire éternel.

Mlle Chadli N. le doux ange, de m'avoir aidée dans le traitement des données statistiques.

Au personnel de la bibliothèque de l'UMMTO pour sa disponibilité et sa gentillesse.

Mon mari et mes filles, qui sont les piliers infailibles sur lesquels je me repose. Votre patience, votre compréhension, votre soutien indéfectible, votre gentillesse pendant les moments difficiles que j'ai connus, m'ont aidée à rester debout malgré tout. Merci mes adorés, ne m'abandonnez jamais.

Ma maman chérie pour ses prières, son amour et sa douceur.

Toute ma belle famille pour le respect qu'elle me voue et sa gentillesse.

Mes frères et sœurs pour leur soutien incessant pour me voir arriver à la fin.

A mesdemoiselles Mezani F., Naamane Dj et Sadou O les rayons de soleil qui m'ont tenue compagnie au laboratoire et pour leur bonne humeur.

Et enfin je remercie mes collègues Mlle Tadjer, Mme Benabdeslam, Mlle Mohamed Ouali D., Mme Ahmanache/Lakabi L. et Mlle Abdellaoui K. qui m'ont soutenue moralement pendant cette période parfois délicate.

Dédicaces

À la mémoire de mon père adoré

À

Celles de Moh Améziane et Karim

À

Tous mes étudiants

Liste des figures

Figure 1 : Structures chimiques de quelques constituants des huiles essentielles.....	9
Figure 2 : Structures chimiques de quelques constituants des huiles essentielles.....	10
Figure 3 : Localisation de la région d'étude.....	13
Figure 4 : Localisation du site de prélèvement.....	13
Figure 5 : Houppier de <i>E. radiata</i> (Oumaden, 2011).....	15
Figure 6 : Rameaux et feuilles de <i>E. globulus</i> (Oumaden, 2011).....	16
Figure 7 : Feuilles et bourgeons floraux de <i>M. communis</i> (Oumaden,2011).....	17
Figure 8 : <i>P. lentiscus</i> (Oumaden,2011).....	18
Figure 9: Feuilles et fleurs de <i>S. officinalis</i> (Oumaden, 2011).....	19
Figure 10: feuilles et fleurs de <i>R. officinalis</i> (Oumaden, 2011).....	20
Figure 11: <i>A. triphylla</i> (Oumaden, 2011).....	21
Figure 12: Rameaux et feuilles de <i>L. nobilis</i> (Oumaden, 2011).....	22
Figure 13: Plant de <i>O. basilicum</i> (Oumaden, 2011).....	23
Figure 14: <i>M. spicata</i> (Oumaden, 2011).....	24
Figure 15 : Distillateur conventionnel (SAIDAL 2011).....	25
Figure 16 : Appareil de Dean et Stark (SAIDAL, 2011).....	26
Figure 17 : Evolution du rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de <i>E. radiata</i>	32
Figure 18 : Evolution de rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de <i>M. communis</i>	32
Figure 19 : Evolution de rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de <i>P. lentiscus</i>	33
Figure 20 : Evolution de rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de <i>S. officinalis</i>	33
Figure 21 : Evolution de rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de <i>R. officinalis</i>	34

Figure 22 : Evolution de rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de <i>A. triphylla</i> .	34
Figure 23 : Evolution de rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de <i>L. nobilis</i> .	35
Figure 24 : Evolution de rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de <i>O. basilicum</i> .	35
Figure 25 : Evolution de rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de <i>M. spicata</i> .	36
Figure 26 : Evolution de rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de <i>E. globulus</i> .	36
Figure 27 a : Coupe transversale de la feuille de <i>R. officinalis</i> observée au microscope optique x 400 montrant des poils tecteurs (Pt), des trichomes peltés (Tp) et des trichomes capités (Tc).	46
Figure 27 b : Micrographie de la feuille de <i>R. officinalis</i> montrant des poils tecteurs (Pt), des trichomes peltés (Tp) et des trichomes capités (Tc), au MEB x 250.	46
Figure 28 a : Coupe transversale de la feuille de <i>O. basilicum</i> observée au microscope optique x 400 montrant des poils tecteurs (Pt), des trichomes capités (Tc).	47
Figure 28 b : Micrographie de la feuille de <i>O. basilicum</i> montrant des poils tecteurs (Pt), et des trichomes capités (Tc) au MEB x 250.	47
Figure 29 a : Coupe transversale de la feuille de <i>A. triphylla</i> observée au microscope optique x 400 montrant des poils tecteurs (Pt), les trichomes peltés (Tp) et des trichomes capités (Tc).	47
Figure 29 b : Micrographie de la feuille de <i>A. triphylla</i> montrant des poils tecteurs (Pt), les trichomes peltés (Tp) et des trichomes capités (Tc) au MEB x 250.	47
Figure 30 a : Coupe transversale de la feuille de <i>S. officinalis</i> observée au microscope optique x 400 montrant des poils tecteurs (Pt) les trichomes peltés (Tp) et des trichomes capités (Tc).	48
Figure 30 b : Micrographie de la feuille de <i>S. officinalis</i> montrant des poils tecteurs (Pt) et des trichomes capités (Tc) au MEB x 250.	48

Figure 31 a : Coupe transversale de la feuille de <i>M. spicata</i> observée au microscope optique x 400 montrant des poils tecteurs (Pt) et des trichomes capités (Tc).....	49
Figure 31 b : : Micrographie de la feuille de <i>M. spicata</i> montrant des poils tecteurs (Pt), et des trichomes capités (Tc) au MEB x 250.....	49
Figure 32 a : Coupe transversale de la feuille de <i>E. globulus</i> observée au microscope optique x 400 montrant des poches sécrétrices schizogènes (Gs) d’huile essentielle au niveau de parenchyme palissadique (Pp).....	49
Figure 32 b : Micrographie de la feuille de <i>E. globulus</i> montrant des poches sécrétrices (Gs) localisées au niveau de parenchyme palissadique (Pp) ainsi que des stomates sur l’épiderme de la feuille au MEB x 250.....	49
Figure 33 a : Coupe transversale de la feuille de <i>E. radiata</i> observée au microscope optique x 400 montrant des glandes sécrétrices (Gs) d’huile essentielle au niveau de parenchyme palissadique (Pp).....	50
Figure 33 b : Micrographie de la feuille de <i>E. radiata</i> montrant des glandes sécrétrices (Gs) localisées au niveau de parenchyme palissadique (Pp) au MEB x 100.....	50
Figure 34 a : Coupe transversale de la feuille de <i>M. communis</i> observée au microscope optique x 400 montrant des poils tecteurs (Pt) et des glandes sécrétrices (Gs) d’huile essentielle.....	50
Figure 34 b : Micrographie de la feuille de <i>M. communis</i> montrant des glandes sécrétrices (Gs) d’huile essentielle au MEB x 1000.....	50
Figure 35 a : Coupe transversale de la feuille de <i>L. nobilis</i> observée au microscope optique x 400 montrant des canaux sécréteurs.....	51
Figure 35 b : Micrographie de la feuille de <i>L. nobilis</i> montrant des canaux sécréteurs au MEB x 500.....	51
Figure 36 a : Coupe transversale de <i>P. lentiscus</i> montrant les canaux sécréteurs des huiles essentielles en microscope optique x 400.....	52
Figure 36 b : Micrographie de la feuille de <i>P. lentiscus</i> montrant des canaux sécréteurs et des poils tecteurs (Pt) au MEB x 250.....	52

Figure 37 : Extracteur pilote (CRD Saïdal, 2011).....	59
Figure 38 : Huile essentielle dans une ampoule à décanter.....	60
Figure 39 : Fleurs et gousses de <i>Vigna unguiculata</i>	80
Figure 40 : Dommages occasionnés par <i>C. maculatus</i> sur les graines de <i>Vigna</i>	82
Figure 41 : Œufs éclos de <i>C. maculatus</i>	84
Figure 42 : Larves de <i>C. maculatus</i>	85
Figure 43 : Femelle pondreuse de <i>C. maculatus</i>	85
Figure 44 : Mâle de <i>C. maculatus</i>	85
Figure 45 : Tests par contact.....	87
Figure 46 : Test de répulsivité.....	88
Figure 47 : Test par fumigation.....	89
Figure 48 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation par l'huile essentielle de <i>E. globulus</i>).....	103
Figure 49 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation par l'huile essentielle de <i>M. communis</i>).....	103
Figure 50 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation par l'huile essentielle de <i>L. nobilis</i>).....	104
Figure 51 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation par l'huile essentielle de <i>P. lentiscus</i>).....	104
Figure 52 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation par l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i>).....	104
Figure 53 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation par l'huile essentielle de <i>E. radiata</i>).....	104
Figure 54 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation par l'huile essentielle de <i>M. spicata</i>).....	106
Figure 55 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation par l'huile essentielle de <i>O. basilicum</i>).....	106
Figure 56 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation par l'huile essentielle de <i>R.officinalis</i>).....	107
Figure 57 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation par l'huile essentielle de <i>A. triphylla</i>).....	107

Liste des tableaux

Tableau 1 : Espèces végétales provenant de Kabylie (Algérie) utilisées pour l'extraction des huiles essentielles.....	14
Tableau 2 : Taux d'humidité et des rendements en huiles essentielles.....	30
Tableau 3 : Valeurs des indices d'acide et d'ester déterminées.....	39
Tableau 4 : Caractéristiques organoleptiques des huiles extraites par hydrodistillation.....	41
Tableau 5 : Concentrations (%) en composés organiques volatiles de six huiles essentielles analysées provenant de Kabylie (Algérie).....	62
Tableau 6 : Composition chimique de 6 huiles essentielles provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS.....	64
Tableau 6 : Composition chimique de 6 huiles essentielles provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS (suite).....	65
Tableau 6 : Composition chimique de 6 huiles essentielles provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS (suite).....	66
Tableau 6 : Composition chimique de 6 huiles essentielles provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS (suite).....	67
Tableau 6 : Composition chimique de 6 huiles essentielles provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS (suite).....	68
Tableau 7 : Concentrations (%) en composés organiques volatiles de quatre huiles essentielles (Lamiaceae) analysées provenant de Kabylie (Algérie).....	70
Tableau 8 : Composition chimique des 4 huiles essentielles (Lamiaceae) provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS.....	71
Tableau 8 : Composition chimique des 4 huiles essentielles (Lamiaceae) provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS (suite).....	72
Tableau 9: Longévité moyenne (h) des adultes de <i>C. maculatus</i> traités avec les différentes huiles essentielles (moyenne $\pm$ écart –type) à différentes doses (les moyennes suivies d'une lettre différente diffèrent de façon très hautement significative, selon le test de Newman et Keuls, au seuil $P=0,5\%$).....	91
Tableau 10 : Fécondité moyenne de 10 femelles de <i>C. maculatus</i> sur les graines de <i>V. unguiculata</i> traitées avec les différentes huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différente sont différentes de manière très hautement significative, conformément au test de Newman et Keuls, au seuil $P=5\%$).....	92
Tableau 11: Taux d'éclosion (%) des œufs de <i>C. maculatus</i> pondus sur les graines de <i>V. unguiculata</i> traitées avec les huiles testées(les moyennes suivies d'une lettre différente sont différentes de manière très hautement significative, conformément au test de Newman et Keuls au seuil $P= 5\%$).....	94
Tableau 12 : Taux de viabilité (%) des œufs éclos de <i>C. maculatus</i> , dans les traitements avec les différentes huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différente sont différentes de	

manière très hautement significative, conformément au test de Newman et Keuls, au seuil P=5%).	95
Tableau 13: Faculté germinative des graines de <i>V. unguiculata</i> (%) traitées avec les différentes huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différente sont différentes de manière très hautement significative, conformément au test de Newman et Keuls, au seuil P=5%).	96
Tableau 14: Taux de mortalité (%) des adultes de <i>C. maculatus</i> (test d'inhalation) avec les six huiles essentielles.	97
Tableau 15: Taux moyen de répulsivité (%) (Mc Donald <i>et al.</i> , 1970) des différentes huiles essentielles provenant de la région de Kabylie(Algérie), vis-à-vis des adultes de <i>C. maculatus</i> (les moyennes suivies d'une lettre différente sont différentes de manière très hautement significative, conformément au test de Newman et Keuls au seuil P=5%).	98
Tableau 16 : longévité moyenne (h) des adultes de <i>C. maculatus</i> traités avec les différentes huiles essentielles (moyennes $\pm$ écart type) à différentes doses (les moyennes suivies d'une lettre différente de façon très hautement significative, selon le test de Newman et Keuls, au seuil P = 0.5%).	99
Tableau 17 : Fécondité moyenne de 10 femelles de <i>C. maculatus</i> sur les graines de <i>V unguiculata</i> traitées avec les différentes huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différente de façon très hautement significative, selon le test de Newman et Keuls, au seuil P = 0.5%).	100
Tableau 18 : Nombre d'œufs viables de <i>C. maculatus</i> dans les traitements avec les p=5%).différente huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différente sont différente de manière très hautement significative, conformément au test de Newman et keuls au seuil p=5%).	101
Tableau 19 : Nombre d'œufs viables éclos de <i>C. maculatus</i> dans les traitements avec les différente huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différente sont différente de manière très hautement significative, conformément au test de Newman et keuls au seuil p=5%).	102
Tableau 20 : Nombre de graines germées de <i>V. unguiculata</i> traitées avec les différentes huiles testées(les moyennes suivies d'une lettre différente sont différente de manière très hautement significative conformément au test de Newman et keuls, au seuil p=5%).	105
Tableau 21 : Taux moyen de répulsivité (%) des huiles essentielles extraites des quatre labiées, vis-à-vis des adultes de <i>C. maculatus</i> (les moyennes suivies d'une lettre différentes de manière hautement significative conformément au test de Newan et de Keuls au seuil P = 5 %).	108
Tableau 22: Taux de mortalité (%) des adultes de <i>C. maculatus</i> (test d'inhalation) avec les quatre huiles essentielles.	109

Table des matières

Remerciements	i
Dédicaces	iii
Liste des figures	iv
Liste des tableaux	viii
Introduction générale	1
Partie1 : Extraction par hydrodistillation et caractérisation physicochimique des huiles essentielles	
Introduction	7
Revue bibliographique	
1. Huiles essentielles	8
2. Critères déterminants la qualité des huiles essentielles.....	11
3. Localisation et rôles des huiles essentielles chez les végétaux	11
4. Production des huiles essentielles	12
5. Caractérisation des huiles essentielles.....	12
Matériel et méthodes	
1. Matériel végétal	13
1.1 Localisation de la zone d'étude	13
1.2. Présentation botanique des plantes étudiées.....	14
1.2.1. Eucalyptus radié	14
1.2.2. Gommier bleu.....	15
1.2.3. Myrte	16
1.2.4. Arbre au mastic	17
1.2 .5. Sauge	18
1.2.6. Romarin.....	19
1.2.7. Verveine citronnelle	20
1.2.8. Laurier sauce	21
1.2.9. Basilic.....	22
1.2.10. Menthe verte.....	23
2. Méthodes	24
2.1. Extraction des huiles essentielles et caractérisations physico-chimique et organoleptique	24
Table des matières	
2.1.1. Technique d'hydrodistillation	25
2.1.2. Calcul du taux d'humidité des différents échantillons considérés	26

2.1.3. Calcul du rendement.....	27
2.1.4. Etude de la cinétique de rendement.....	27
2.2. Caractérisation physicochimique des huiles essentielles.....	27
2.2.1. Indice d'Acide (IA	28
2.2.1.1. Mode opératoire	28
2.2.1.2. Calcul de l'indice d'Acide.....	28
2.2.2. Indice d'ester	28
2.2.2.1. Mode opératoire	29
2.2.2.2. Calcul de l'indice d'ester.....	29
2.3. Caractéristiques organoleptiques.....	29
Résultats et discussion	
1. Extraction des huiles essentielles par la technique d'hydrodistillation.....	30
1.1. Calcul du taux d'humidité des différents échantillons considérés	30
1.2. Détermination du rendement	30
1.3. Suivi de la cinétique de rendement en huile essentielle des dix espèces végétales étudiées.....	31
2. Caractéristiques physicochimiques des huiles essentielles extraites.....	39
3. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles extraites.....	40
Conclusion.....	42
Partie 2 : Etude des structures sécrétrices des huiles essentielles	
Introduction	43
Matériel et méthodes	
1. Réalisation des coupes pour l'étude des structures sécrétrices d'huiles essentielles en microscopie optique	44
2. Réalisation des coupes pour l'étude des structures sécrétrices d'huiles essentielles en microscopie électronique à balayage.....	44
Résultats et discussion	
1. Lamiaceae.....	45
1.1. <i>R. officinalis</i>	46
Table des matières	
1.2. <i>O. basilicum</i>	47
1.3. <i>A. triphylla</i>	47
1.4. <i>S. officinalis</i>	48

1.5. <i>M. spicata</i>	48
2. Les Myrtaceae	49
2.1. <i>E. globulus</i>	49
2.2. <i>E. radiata</i>	50
2.3. <i>M. communis</i>	50
3. Lauraceae (cas de <i>L. nobilis</i>	51
4. Anacardiaceae (Cas de <i>P. lentiscus</i>	51
Conclusion	54

Partie 3 : Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau et analyse par CG/MS

Revue bibliographique

1. Introduction	56
2. Chromatographe en phase gazeuse.....	56
2.1. Injecteur.....	56
2.2. Colonne	57
2.3. Détecteur	57
2.3.1. Mode de détection	57

Matériel et méthodes

1. Matériel	59
2. Méthodes	59
2.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	59
2.2. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles	61

Résultats et discussion

1. Composition chimique des huiles essentielles extraites à partir de <i>E. globulus</i> , <i>E. radiata</i> , <i>M. communis</i> , <i>S. officinalis</i> , <i>P. lentiscus</i> et <i>L. nobilis</i>	62
2. Compositions chimiques des huiles extraites à partir de quatre Lamiaceae provenant de Kabylie	69
Conclusion	74

Table des matières

Partie 4 : Effets bioinsecticides des huiles essentielles sur *C. maculatus*

Introduction	75
---------------------------	----

Revue bibliographique

1. Mécanismes d'action des huiles essentielles.....	76
1.1. Effets sur les estérases.....	77

1.2. Effet sur l'activité électrique neuronale	77
1.3. Activation des systèmes de détoxification	77
1.4. Modification des cibles moléculaires	78
1.4.1. Canal sodium.....	78
1.4.2. Acétylcholinestérase.....	78
1.4.3. Récepteurs de l'acide gamma-amino-butérique (GABA _R).....	79
1.4.4. Action sur les récepteurs octopaminergiques	79

Matériel et méthodes

1. Matériel	80
1.1. Présentation de la plante hôte	80
1.1.1. Taxonomie, description et écologie	80
1.2. Présentation de l'insecte ravageur	82
1.2.1. Biologie et cycle de développement.....	83
1.2.2. Développement de <i>C. maculatus</i>	84
1.2.2.1. OEuf	84
1.2.2.2. Larve.....	84
1.2.2.3. Nymphé	85
1.2.2.4. Adulte	85
1.3. Huiles essentielles	86
2. Méthodes	86
2.1. Tests de toxicité.....	86
2.1.1. Test par contact	86
2.1.2. Tests par fumigation.....	88
2.1.3. Tests de répulsivité.....	88
3. Analyse statistique	89
3.1. Test ANOVA.....	89
3.2. Calcul des DL50.....	89

Table des matières

Résultats et discussion

1. Toxicité des huiles essentielles testées	91
1.1. Tests par contact.....	91
1.1.1. Effet sur la longévité des adultes.....	91
1.1.1.1. Effet sur la longévité des adultes des huiles essentielles de <i>E. globulus</i> , <i>E. radiata</i> , <i>M. communis</i> , <i>P. lentiscus</i> , <i>L. nobilis</i> et <i>S. officinalis</i>	91

1.1.1.2. Effet sur la longévité des adultes des huiles essentielles de <i>O. basilicum</i> , <i>M. spicata</i> , <i>A. triphylla</i> et <i>R. officinalis</i>	92
1.1.2. Effet des huiles essentielles sur la fécondité des femelles de <i>C. maculatus</i>	93
1.1.2.1. Effet des huiles essentielles sur la fécondité des femelles de <i>C. maculatus</i> de <i>E.</i> <i>globulus</i> , <i>E. radiata</i> , <i>M. communis</i> <i>P. lentiscus</i> , <i>L. nobilis</i> et <i>S.officinalis</i>	93
1.1.2.2. Effet des huiles essentielles sur la fécondité des femelles de <i>C. maculatus</i> de <i>O.</i> <i>basilicum</i> , <i>M. spicata</i> , <i>A. triphylla</i> et <i>R. officinalis</i>	94
1.1.3. Effets des huiles essentielles sur la viabilité embryonnaire de <i>C. maculatus</i>	95
1.1.3.1. Effets des huiles essentielles de <i>E. globulus</i> , <i>E. radiata</i> , <i>M. communis</i> <i>P. lentiscus</i> , <i>L.</i> <i>nobilis</i> et <i>S. officinalis</i>	95
1.1.3.2. Effets des huiles essentielles de <i>O. basilicum</i> , <i>M. spicata</i> , <i>A. triphylla</i> et <i>R.</i> <i>officinalis</i>	96
1.1.4. Effet des huiles essentielles sur la viabilité post-embryonnaire de <i>C. maculatus</i>	97
1.1.4.1. Effet des huiles essentielles de <i>E. globulus</i> , <i>E. radiata</i> , <i>M. communis</i> <i>P. lentiscus</i> , <i>L.</i> <i>nobilis</i> et <i>S. officinalis</i>	97
1.1.4.2. Effet des huiles essentielles de <i>O. basilicum</i> , <i>M. spicata</i> , <i>A. triphylla</i> et <i>R.</i> <i>officinalis</i>	98
1.1.5. Effet des traitements avec les huiles essentielles sur la germination des graines de <i>V.</i> <i>unguiculata</i>	99
1.1.5.1. Effet des traitements avec les huiles essentielles de <i>E. globulus</i> , <i>E. radiata</i> , <i>M.</i> <i>communis</i> <i>P. lentiscus</i> , <i>L. nobilis</i> et <i>S. officinalis</i>	99
1.1.5.2. Effet des traitements avec les huiles essentielle de <i>O. basilicum</i> , <i>M. spicata</i> , <i>A.</i> <i>triphylla</i> et <i>R. officinalis</i>	100
1. 2. Tests de fumigation	101
1.2.1. Tests de fumigation avec les huiles essentielles de <i>E. globulus</i> , <i>E. radiata</i> , <i>M.communis</i> <i>P. lentiscus</i> , <i>L. nobilis</i> et <i>S. officinalis</i>	101
Table des matières	
1.2.2. Tests de fumigation avec les huiles essentielles de <i>O. basilicum</i> , <i>M. spicata</i> , <i>A.</i> <i>triphylla</i> et <i>R. officinalis</i>	105
1.3. Tests de répulsivité	107
1.3.1. Tests de répulsivité avec les huiles essentielles de <i>E. globulus</i> , <i>E. radiata</i> , <i>M. communis</i> <i>P. lentiscus</i> , <i>L. nobilis</i> et <i>S. officinalis</i>	107
1.3.2. Test de répulsivité avec huiles essentielles <i>O. basilicum</i> , <i>M. spicata</i> , <i>A. triphylla</i> et <i>R.</i> <i>officinalis</i>	108

Discussion	109
Conclusion	115
Conclusion générale et perspectives	116
Références bibliographiques	120
Annexes	135
Annexe 1 : Influence de la durée d'extraction par hydrodistillation sur les rendements en huiles essentielles à partir des feuilles des dix plantes étudiées.....	135
Tableau 1 : Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de <i>E. radiata</i>	135
Tableau 2 : Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de <i>M. communis</i>	135
Tableau 3 : Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de <i>P. lentiscus</i>	136
Tableau 4 : Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de <i>S. officinalis</i>	136
Tableau 5: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de <i>R. officinalis</i>	137
Tableau 6: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de <i>A. triphylla</i>	137
Tableau 7: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de <i>L. nobilis</i>	138
Tableau 8: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de <i>O. basilicum</i>	138
Tableau 9: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	139
Tableau 10: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de <i>E. globulus</i>	139
Table des matières	
Annexe 2 : Technique de la double coloration d'après Deyson 1954	140
Annexe 3 : Chromatogrammes obtenus par CG /MS pour les différentes huiles extraites par entraînement à la vapeur	141
Figure 1 : Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de <i>P. lentiscus</i> de la région de Kabylie	141

Figure 2 : Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> de la région de Kabylie	142
Figure 3: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de <i>E. globulus</i> de la région de Kabylie	143
Figure 4: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de <i>M. communis</i> de la région de Kabylie.....	144
Figure 5: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de <i>E. radiata</i> de la région de Kabylie.	145
Figure 6: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de <i>A. triphylla</i> de la région de Kabylie.....	146
Figure 7: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de <i>M. spicata</i> de la région de Kabylie	147
Figure 8: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de <i>O. basilicum</i> de la région de Kabylie	148
Figure 9: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> de la région de Kabylie	149
Figure 10: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de <i>L. nobilis</i> de la région de Kabylie	150
Annexe 4 : Résultats de l'analyse statistique.....	151
Tableau 1 : Résultats de l'analyse de la variance de l'action des 6 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie), sur la longévité des adultes de <i>C. maculatus</i>	151
Tableau 2 : Résultats de l'analyse de la variance de l'action des 4 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie), sur la longévité des adultes de <i>C. maculatus</i>	151
Tableau 3 : Résultats de l'analyse de la variance du nombre d'oeufs pondus selon les 6 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).....	151
Tableau 4 : Résultats de l'analyse de la variance du nombre d'oeufs pondus selon les 4 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).....	152
Tableau 5 : Résultats de l'analyse de la variance sur la viabilité embryonnaire de <i>C. maculatus</i> dans les traitements avec les 6 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).....	152
Tableau 6 : Résultats de l'analyse de la variance sur la viabilité embryonnaire de <i>C. maculatus</i> dans les traitements avec les 4 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie	152

Tableau 7 : Résultats de l'analyse de la variance sur la viabilité post-embryonnaire de <i>C. maculatus</i> selon les traitements avec des 6 huiles essentielles des différentes huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie)	153
Tableau 8 : Résultats de l'analyse de la variance sur la viabilité post-embryonnaire de <i>C. maculatus</i> selon les traitements avec des 4 huiles essentielles des différentes huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).....	153
Tableau 9 : Résultats de l'analyse de la variance pour la germination des graines soumises à l'action des 6 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).....	153
Tableau 10 : Résultats de l'analyse de la variance pour la germination des graines soumises à l'action des 4 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).....	154
Tableau 11 : Résultats de l'analyse de la variance de la répulsivité des 6 huiles essentielles, provenant de la région de Kabylie (Algérie), vis-à-vis des adultes de <i>C. maculatus</i>	154
Tableau 12 : Résultats de l'analyse de la variance de la répulsivité des 4 huiles essentielles, provenant de la région de Kabylie (Algérie), vis-à-vis des adultes de <i>C. maculatus</i>	154
Tableau 13 : Résultats de l'analyse de la variance de la toxicité des 6 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie), vis-à-vis des adultes de <i>C. maculatus</i> , dans les tests de fumigation	155
Tableau 14: Doses d'huile essentielle de <i>M. communis</i> transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).....	155
Tableau 15 : Doses d'huile essentielle de <i>E. globulus</i> transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).....	156
Tableau 16 : Doses d'huile essentielle de <i>E. radiata</i> transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).....	156
Tableau 17 : Doses d'huile essentielle de <i>L. nobilis</i> transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).....	156
Tableau 18 : Doses d'huile essentielle de <i>P. lentiscus</i> transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).....	157
Tableau 19 : Doses d'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).....	157
Table des matières	
Tableau 20 : Résultats de l'analyse de la variance de la toxicité des 4 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie), vis-à-vis des adultes de <i>C. maculatus</i> , dans les tests de fumigation	158
Tableau 21 : Doses d'huile essentielle de <i>O. basilicum</i> transformées en logarithme népérien	

(Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).....	158
Tableau 22 : Doses d'huile essentielle de <i>M. spicata</i> transformées en logarithme népérien	
(Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).....	159
Tableau 23 : Doses d'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> transformées en logarithme népérien	
(Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).....	159
Tableau 24 : Doses d'huile essentielle de <i>A. triphylla</i> transformées en logarithme népérien	
(Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).....	159
Tableau 25: Log des doses en probits selon les pourcentages de mortalité corrigée	160

Introduction générale

Surmonter les carences alimentaires dont souffrent des millions d'êtres humains en couvrant pour l'avenir immédiat les besoins en protéines de l'humanité, constitue une tâche capitale et urgente pour l'agriculture mondiale (Labeyrie, 1981).

La FAO estimait en 1970 que 25% de la population des pays pauvres, soit 434 millions de personnes, avaient une ration de protéines inférieure au minimum (Anderson et al., 1971).

Dans ces conditions, la lutte contre la carence protéique doit passer par l'optimisation des ressources végétales. Or, ce sont les Fabales qui sont les plus prometteuses pour produire l'immense complément de protéines végétales dont le monde a besoin (Lawton et al., 1972).

Parmi ces Fabales, le niébé ou *Vigna unguiculata* L. Walp. (1853) constitue l'une des principales sources de protéines dans de nombreux pays d'Afrique et d'Asie. En Kabylie (Algérie), cette Fabaceae est appréciée par la population locale et constitue une denrée de choix lors de nombreuses fêtes religieuses, et fait partie intégrante des mets traditionnels. La production du haricot dolique dans la wilaya de Tizi-ouzou, pour la campagne 2012/2013, pour une superficie réalisée et récoltée estimée à 30 ha (les régions groupées d'Azazga et Tizirt) est évaluée à 350 quintaux et le rendement calculé est de 11,5 quintaux /ha. Malheureusement, cette plante subit des pertes importantes lors du stockage des graines et les insectes constituent l'une des causes majeures des dommages occasionnés (Scotti, 1978). L'infestation initiale a lieu au champ avant la récolte, et à partir de là, les insectes se propagent dans les entrepôts où la population croît rapidement (Huignard, 1985). La plupart des insectes ravageurs des denrées stockées appartiennent à l'ordre des coléoptères (Booth et al., 1990).

Ces insectes sont subdivisés en ravageurs primaires (*Callosobruchus sp*, *Sitophilus sp* et *Rhyzopertha sp*) qui attaquent les graines saines et les ravageurs secondaires (*Oryzaephilus sp*, *Cryptolestes sp* et *Tribolium sp*) qui s'installent sur les graines déjà entamées (De Groot, 2004).

V. unguiculata est envahie par *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera : Bruchidae) qui est considérée comme le ravageur majeur de cette espèce végétale.

Ce redoutable prédateur s'y développe préférentiellement, il peut produire seize générations en un an lorsque les conditions sont très favorables (Ketoh et al., 2006). Ce Bruchidae est caractérisé par un polyvoltisme considéré comme une adaptation biologique

systématique lorsque les conditions de développement réunies sont favorables (Nyamador et *al.*, 2010).

Ngamo et Hance (2007) ont rapporté que les insectes ravageurs des denrées, majoritairement des coléoptères peuvent causer la perte totale d'un stock. Caswell (1961) a estimé qu'au Nigeria, les pertes en poids sec dues à *C. maculatus* excèdent les 2900 tonnes par année. Singh et *al.* (1978) estiment que la totalité des graines de niébé est infestée par *C. maculatus* après une période de 3 à 5 mois de stockage. Au Sénégal, les dommages en terme de graines peuvent atteindre les 99 %, après 6 mois de stockage (Seck et *al.*, 1991). Les pertes occasionnées par *C. maculatus* avoisinent les 800 à 900 g/kg selon Ouederaogo et *al.* (1996). En plus des pertes en poids, l'infestation par *C. maculatus* affecte la qualité des graines, en réduisant leur capacité germinative.

Des galeries et une odeur déplaisante y sont également engendrées, ce qui affecte sensiblement leur valeur marchande. L'importance de ces dommages a amené les paysans à recourir à plusieurs méthodes de préservation de leurs stocks. Parmi les moyens utilisés, la lutte chimique qui reste à court et à moyen terme, efficace pour assurer une protection effective des stocks (Nyamador, 2010). La fumigation est la mieux adaptée pour traiter à la fois les formes externes (adultes et œufs) et les formes qui se développent à l'intérieur de la graine (Larves et nymphes) (Zettler et Arthur, 2000). Ces fumigants synthétiques agissent à l'état de gaz mais sont commercialisés sous forme de pastilles comme la phosphine (phosphore d'hydrogène) et le bromure de méthyle (Singh et *al.*, 1990).

Une autre classe d'insecticides, agissant par contact, sont des produits de synthèse qui pénètrent dans les tissus de l'insecte. Le plus recommandé dans la plupart des pays africains est la deltaméthrine. Cependant, dans les milieux ruraux de certains pays africains, les paysans continuent à avoir recours à des produits prohibés depuis plusieurs années comme le DDT et le Lindane qui sont des composés organochlorés (Nyamador, 2010).

Les insecticides conventionnels sont très dangereux pour l'environnement et la santé des êtres vivants. C'est ainsi que le bromure de méthyle a été interdit aux Etats unis , à cause de ses effets potentiels sur la couche d'ozone. En effet, King et *al.* (2000) ont rapporté que l'utilisation de ce dangereux composé a été restreinte par l'UNEP (United Nations Environmental Program) en 1995, et son interdiction a été programmée pour l'année 2005.

Ils sont génotoxiques. Ils peuvent générer des tumeurs cancéreuses malignes, des malformations congénitales et engendrer la stérilité chez les animaux.

Les résidus peuvent avoir aussi des effets néfastes sur la fertilité du sol en éliminant la faune utile endogée (Tunç et *al.*, 2000).

Ils pourraient être également à l'origine de l'élimination des ennemis naturels des prédateurs des denrées stockées pouvant conduire non seulement au phénomène de réapparition du ravageur mais aussi à sa pullulation (Nyamador, 2010). Depuis, des résistances des insectes à la phosphine et à bien d'autres classes d'insecticides ont été révélées par Bell et Wilson (1995). Trois types de mécanismes de résistance sont définis chez les insectes. Ils se traduisent par les modifications comportementales, physiologiques et biochimiques (Haubruge et Amichot, 1998). Ainsi, plus de 700 espèces d'insectes ont développé une résistance contre la majorité des insecticides de synthèse (Georghiou et Lagunes-Tejeda, 1991). Ceci a eu pour conséquence directe, la perte de tout un panel d'insecticides et rend difficile l'élaboration de nouvelles molécules.

Des efforts ont été fournis pour développer de nouveaux composés pour les substituer à ceux couramment utilisés. L'exploitation de matières premières renouvelables d'origine végétale pour la fabrication de bioinsecticides correspond à la nécessité de répondre aux réalités environnementales actuelles telles que la lutte contre l'effet de serre, la réduction de la pollution, un faible effet toxicologique et la biodégradabilité du produit (Hernandez-Ochoa, 2005). Les recherches se sont concentrées sur les produits naturels bioactifs extraits à partir de nombreuses plantes.

Parmi les molécules à forte valeur ajoutée, mais présentes en faibles quantités et dotées d'une activité biologique et olfactive, citons les huiles essentielles (Jouault, 2012). La teneur des plantes en huiles essentielles est généralement faible, de l'ordre de 1 % avec quelques exceptions comme le bouton floral "clou de girofle" du giroflier où le taux atteint 15 % (Guignard, 2000). Les huiles essentielles se définissent comme le produit de la distillation d'une plante ou d'une partie de la plante.

Ce sont des substances de consistance huileuse, mais sans corps gras, plus ou moins fluides, voire résinoïdes, très odorantes, volatiles et souvent colorées (Bardeau, 1978).

La composition chimique des huiles essentielles est complexe. Plus d'une centaine de composés appartenant à plusieurs familles chimiques peuvent s'y retrouver. Il s'agit des

terpènes, alcools, phénols, phénolméthyl-ethers, oxydes, aldéhydes, esters, cétones, lactones, coumarines et composés soufrés (Jouhault, 2012).

Les monoterpènes restent les composés majoritaires des huiles essentielles et suscitent un intérêt particulier aux firmes industrielles pour leur potentiel bioactif en plus de leur toxicité vis-à-vis des insectes (Shaaya et *al.*, 1997).

C'est ainsi que de nombreux auteurs ont mené des recherches dans le but de mettre en évidence l'effet bioinsecticide de certaines plantes sur de nombreux insectes déprédateurs des denrées stockées. Ces substances ont montré des incidences destructrices et inhibitrices de la croissance (effet par contact et fumigation) et des effets répulsifs sur de nombreuses espèces de bio agresseurs. Dans le but de contrôler les populations de diverses espèces d'insectes, différentes formulations ont été mises au point. Ainsi Keita et *al.* (2000), en utilisant la poudre de *O. gratissimum* mélangée à l'huile essentielle et du kaolin ont protégé le niébé contre les attaques de *C. maculatus*, six mois après traitement.

Raja et *al.* (2001), en testant par fumigation les huiles essentielles de *Mentha arvensis*, *Mentha piperita*, *Mentha spicata* et *Cymbopogon nardus*, ont montré des effets ovicide et adulticide sur *C. maculatus*.

Tapondjou et *al.* (2002) ont montré l'efficacité de l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* L. et d'*Eucalyptus saligna*, par contact sur les adultes de *C. maculatus*.

Kellouche et Soltani (2004), en appliquant la poudre de clou de girofle à la dose 1%, ont constaté que les adultes de *C. maculatus* vivent moins de 24 h et la ponte est inhibée. Kellouche et *al.* (2010) ont mis en évidence une activité biologique importante par fumigation des huiles essentielles de *M. piperata* et *S. officinalis* qui ont induit un effet adulticide total sur *C. maculatus*, après 24 h d'exposition. Ayvaz (2010), en testant l'huile essentielle d'origan par fumigation, a enregistré une activité hautement significative contre *P. interpunctella* et *E. kuehniella*, avec 100 % de mortalité après 24 h d'exposition, en utilisant les doses 9 et 25 µl/l air. Pannuti et *al.* (2012) ont testé une dizaine de poudres végétales, les tests ont révélé l'efficacité de *Chenopodium ambrosioides* L. et de *Piper nigrum* L., en réduisant l'oviposition et l'émergence des adultes de *C. maculatus*. Hashemi et Safavi (2012) ont montré que l'huile essentielle de *Artemisia haussknechtii* (Boiss) a une potentialité de contrôle contre trois espèces de bioagresseurs, *C. maculatus*, *Sitophilus oryzae* et *Tribolium castaneum*.

L'ensemble des auteurs sus- cités confirment l'efficacité des produits naturels et les pratiques traditionnelles sont bien meilleures que les insecticides chimiques. En effet, dans de nombreux pays africains et asiatiques, des plantes locales sont largement utilisées pour protéger leurs stocks vivriers, comme alternative aux insecticides de synthèse. Ainsi en Kabylie, il n'est pas étrange de glisser un piment rouge séché, quelques feuilles de laurier sauce ou d'origan dans des sacs contenant des graines de légumineuses, de céréales ou de semoule, pour dissuader les insectes phytophages de s'installer et les agents phytopathogènes de pulluler.

Les substances bioactives testées répondent aux propriétés exigées d'un biopesticide. Elles ont une faible toxicité pour les animaux à sang chaud, sont volatiles et toxiques vis-à-vis des déprédateurs des denrées stockées (Regnault-Roger et Hamraoui, 1993) ; elles sont biodégradables et non persistantes dans la nature (Don Pedro, 1996). Certaines huiles essentielles ont une action neurotoxique (Enan, 2005) ou inhibitrice du système enzymatique des insectes (Ketoh et *al.*, 2008).

L'Algérie, à l'instar de nombreux pays du monde, recèle un patrimoine floristique important qu'il est utile d'explorer et de valoriser en utilisant les substances bioactives issues du métabolisme secondaire des plantes, dans différents domaines comme la mise au point de nouvelles formulations de biopesticides.

Actuellement, une des démarches les plus simples à mettre en œuvre pour identifier des végétaux, pouvant être des sources potentielles d'insecticides phytochimiques , est la réalisation d'une étude ethnobotanique sur les pratiques traditionnelles d'utilisation des plantes.

Le présent travail a pour but l'extraction et la caractérisation des huiles essentielles provenant des feuilles de 10 espèces de plantes aromatiques originaires de Kabylie (Algérie).

Ces plantes sont *Pistacia lentiscus*, *Eucalyptus radiata*, *Eucalyptus globulus*, *Laurus nobilis*, *Myrtus communis*, *Salvia officinalis*, *Ocimum basilicum*, *Mentha spicata*, *Aloysia triphylla* et *Rosmarinus officinalis*.

Dans la première partie, les essais ont porté sur la détermination des rendements en huiles essentielles des feuilles des plantes échantillonnées et ce par la technique d'hydrodistillation.

Dans la deuxième partie, nous nous sommes intéressés à la localisation des différents sites de sécrétion des huiles essentielles à l'aide de coupes histologiques observées au microscope optique et de micrographies au microscope électronique à balayage.

La troisième partie a porté sur l'extraction des huiles essentielles utilisées, par la technique d'entraînement à la vapeur d'eau et à leur caractérisation organoleptique et physicochimique et biochimique par la technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

Dans la quatrième partie, nous avons étudié l'efficacité des huiles essentielles caractérisées dans un essai de contrôle de la population de *C. maculatus* à l'aide des tests de contact, de fumigation et de répulsivité.

Partie 1 : "Extraction et caractérisation physicochimique des huiles essentielles"

Introduction

L'immensité du territoire algérien (2.381.741 Km²) et la spécificité du climat de chaque région favorisent la diversité des ressources végétales.

Dans la région de Kabylie, de nombreuses plantes aromatiques à vertus thérapeutiques s'y développent spontanément, comme *E. globulus*, *E. radiata*, *M. communis*, *P. lentiscus* et *L. nobilis*, d'autres sont cultivées par la population citons *O. basilicum*, *M. spicata*, *R. officinalis*, *A. triphylla* et *S. officinalis*.

L'activité de ces plantes est en relation avec leur richesse en composés issus de leur métabolisme secondaire comme les flavonoïdes, les tanins et surtout les huiles essentielles (Guignard, 1995).

En Afrique du nord, ces plantes connaissent de nombreuses utilisations aussi bien dans le domaine thérapeutique qu'en lutte préventive contre les ennemis des denrées stockées dans les locaux de stockage vivrier.

Beloued (2001) et Ait Youcef (2006) ont rapporté qu'en Kabylie les feuilles des Myrtacées sont utilisées comme toniques, fébrifuges ou astringent et dans les cas d'oxyurose alors que celles de *L. nobilis* sont vantées comme stimulantes et carminatives.

Jusqu'à récemment, les feuilles de *R. officinalis* sont utilisées comme vermifuges et activatrices du système circulatoire.

En Tunisie, les feuilles de *O. basilicum* sont vivement conseillées pour traiter les dermatoses. Quant aux feuilles de *P. lentiscus*, elles sont utilisées pour préserver les figues au séchage des attaques des vers ou chenilles d'*Ectomyelois* chez les Beni Snassen au Maroc (Bellakhdar, 1997).

Les feuilles de *M. spicata*, hormis leur utilisation pour parfumer le thé, sont appréciées pour leur capacité à soigner les gingivites et les odontalgies en Tunisie. Figueiredo et al. (2004) ont rapporté que les feuilles de *A. triphylla* sont utilisées au Brésil en infusion par la population locale pour leurs activités fébrifuge, diurétique et antispasmodique ainsi que pour leurs propriétés analgésique et sédatrice.

Revue bibliographique

1. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges de nombreux composés qui sont des molécules peu complexes comme les terpènes, les phénols, les méthyl-éthers, les oxydes, les esters, les cétones.... (Isman, 2002).

Elles sont produites par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Csesk et Kaufman, 1999).

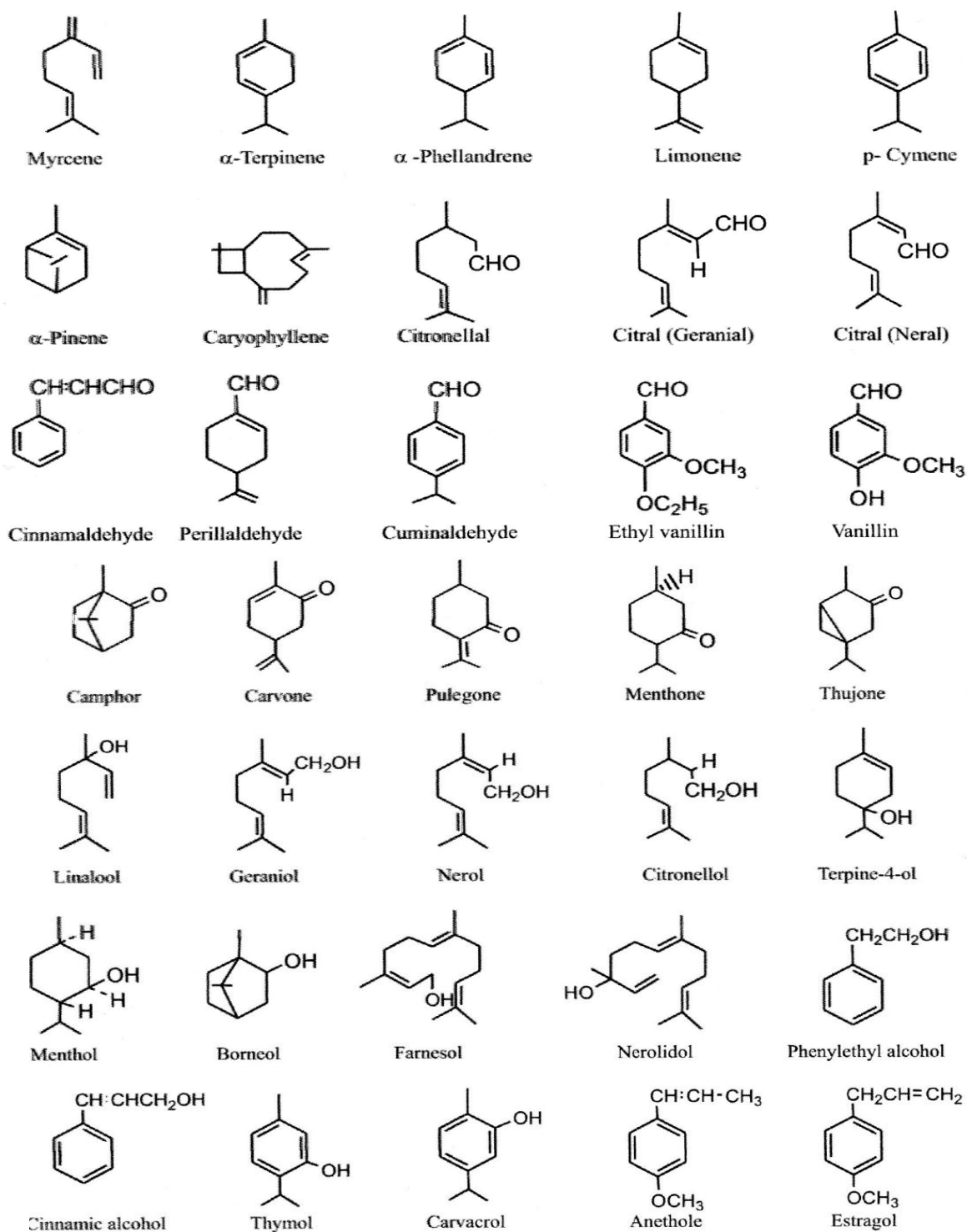
L'extraction de ces huiles peut s'effectuer par expression à froid, ce qui préserve l'intégrité de l'essence mais ne peut s'appliquer qu'aux plantes appartenant à la famille des Rutacées (Masango, 2005).

L'extraction par distillation se fait en exploitant la volatilité des composés aromatiques pour les séparer. Il existe deux formes de distillation : l'hydrodistillation où l'eau et le végétal sont chauffés ensemble dans un ballon et l'hydrodistillation par entraînement à la vapeur d'eau, où la vapeur est d'abord produite dans un ballon puis acheminée dans un second ballon, dans lequel elle va remonter en passant à travers le matériel végétal et en entraînant les composants aromatiques (El Haib, 2011).

D'autres méthodes d'extraction ont également été mises au point comme l'hydrodiffusion pulsée et l'extraction aux fluides comme le CO₂ supercritique (Tuley Da Silva, 1995).

Les huiles essentielles sont composées de molécules volatiles odorantes, majoritairement issues de la famille des terpénoïdes (figures 1 et 2). Elles s'accumulent dans des glandes et tissus spécialisés des végétaux tels que les cellules épidermiques des pétales chez les Rosaceae et les Oleaceae, les glandes épidermiques des Lamiaceae, les poches sécrétrices des Rutaceae ou canaux sécréteurs des Apiaceae (anciennement Umbellifereae) (Gilly, 1997).

Actuellement, près de 3000 huiles essentielles sont décrites, parmi lesquelles environ 300 présentent une importance commerciale dans le cadre d'applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, agronomiques ou dans le domaine de la parfumerie (Bakkali et al., 2008 ; Tajkarimi et al., 2010).

Figure 1 : Structures chimiques de quelques constituants des huiles essentielles (Koul et *al.*, 2008).

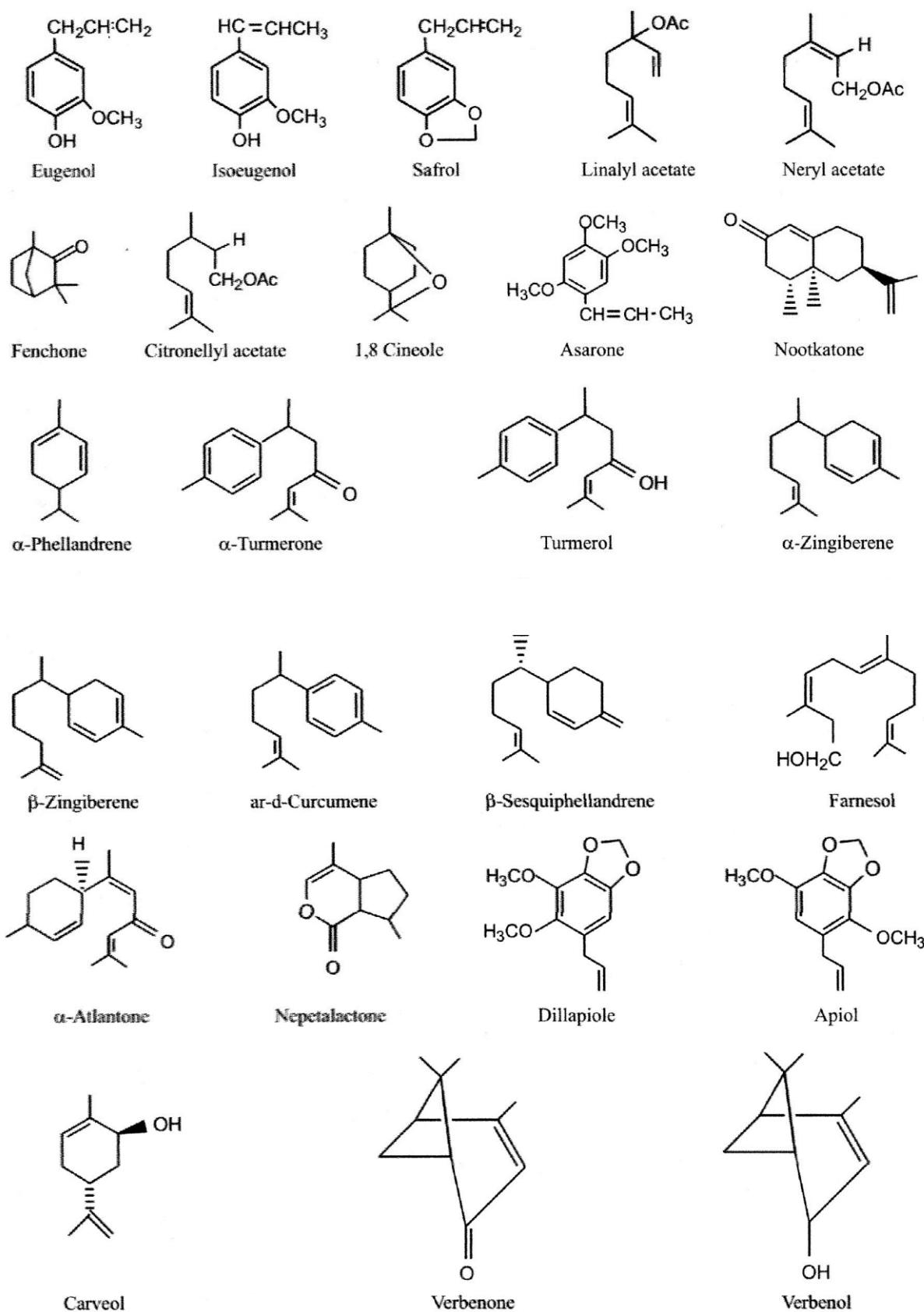


Figure 2 : Structures chimiques de quelques constituants des huiles essentielles (Koul et *al.*, 2008).

2. Critères déterminants la qualité des huiles essentielles

Jouault (2012) a rapporté que les critères définissant la qualité des huiles dépendent de plusieurs facteurs pouvant être résumés comme suit :

- a) la sélection de la plante qui est tributaire du genre et de l'espèce botanique ;
- b) Le chémotype (chimiotype) représentant les différents panels de molécules chimiques que des plantes de la même espèce peuvent produire si elles sont placées dans des conditions de cultures différentes. Le chémotype dépend de l'ensoleillement, de la température, de l'humidité, de la nature du sol, de la pression atmosphérique, de la photopériode.... ;
- c) la partie de la plante considérée pour l'extraction est déterminante pour la qualité de l'huile. En effet, les différentes parties d'une plante ne possèdent pas un équipement enzymatique uniforme, ce qui entraîne une différence de composition dans les constituants produits. Il est donc impératif de préciser la partie considérée lors de l'extraction de l'HE ;
- d) la période de récolte : la récolte doit se faire au moment où les principes actifs les plus intéressants produits par la plante sont à leur concentration maximale ;
- e) la conservation des huiles essentielles : elle doit se faire dans des flacons en verre opaque hermétique, dans un endroit frais, à l'abri de la lumière et de la chaleur pour éviter leur oxydation et la polymérisation de leurs composants.

3. Localisation et rôles des huiles essentielles chez les végétaux

La teneur des plantes en huiles essentielles est généralement faible, de l'ordre de 1 % (Guignard, 1995).

Les huiles essentielles sont largement répandues chez les végétaux supérieurs. Elles peuvent être stockées dans tous les organes, les sommités fleuries, les feuilles, les rhizomes, les fruits, les écorces et les graines.

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et à assurer leur défense. En effet, étant fixées au sol elles n'ont que les composés chimiques issus du métabolisme secondaire, stockés à l'endroit où ils seront le plus utiles comme arme de défense contre les parasites et les prédateurs. Les plantes possédant ces composés toxiques, qualifiés de phagodétendants ou d'inappétants, sont moins consommées (Houël, 2011).

De façon générale, les terpénoides jouent un rôle fondamental dans les interactions entre les organismes vivants, permettant par exemple à une plante d'attirer les pollinisateurs, ou les prédateurs ou les parasitoïdes des herbivores venant l'attaquer (Gerhenzon et Dudarova, 2007 ; Unsicker et Kunert, 2009). C'est en particulier ce dernier rôle qui donne toute son importance à une stratégie bioinspirée de recherche de composés antifongiques, antibactériens ou bioinsecticides parmi les métabolites secondaires, et en particulier les huiles essentielles (De Figueiredo et *al.*, 2008).

4. Production des huiles essentielles

A l'échelle mondiale, la production des huiles essentielles est d'environ 30 tonnes par an. Les principaux pays producteurs sont les Etats-Unis, la Chine, le Maroc, la Bulgarie, l'Inde, la France, l'Egypte et l'Espagne. L'Algérie se hisse à la 10^{ème} place avec 8000 dollars de capitaux générés par l'exportation d'huile essentielle, à la fin des années 70 (Tchoumboung et *al.* 2009). Djeddi (2012) affirme que les huiles essentielles exportées par l'Algérie provenaient soit des cultures familiales ou des plantes spontanées, tels que la menthe, le jasmin, le rosier, le géranium, la lavande, le romarin, l'origan, le thym, la sauge...Actuellement, la production d'huiles essentielles est limitée à quelques producteurs privés artisanaux qui ne subvient pas au marché national.

5. Caractérisation des huiles essentielles

De nombreux facteurs peuvent modifier les essences provenant du végétal. Les huiles essentielles sont des composés très altérables car ils renferment des composés oxydables sous l'action de l'air et de la lumière. Ils s'altèrent en se résinifiant, ce qui entraîne une modification de leur parfum, leur saveur et leurs constantes physiques et chimiques en les rendant impropres à l'utilisation. La normalisation des huiles essentielles concerne :

- Les propriétés organoleptiques : odeur, couleur, aspect, saveur ;
- Les caractéristiques chimiques : indice d'acide et d'ester ;
- Le profil chromatographique et la quantification relative des différents constituants.

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

1.1. Localisation de la zone d'étude

Les matières végétales utilisées pour l'extraction des huiles essentielles sont des feuilles. Celles des Eucalyptus, du Myrte, du Pistachier, du Laurier et de la Sauge ont été récoltées en juin 2011. Celles du basilic, de la Menthe, du romarin et de verveine citronnelle ont été prélevées en juillet 2008 dans la willaya de Tizi Ouzou (au village Oumaden) au Nord d'Algérie (figures 3 et 4).



Figure 3 : Localisation de la région d'étude



Figure 4 : Localisation du site de prélèvement.

Oumaden est un village de la commune de Beni Zmenzer (Kabylie) situé à 11 Km au sud de Tizi Ouzou, à une altitude de 510 m et à 36° 38' 49'' 18'' N et 4° 02' 55' 73'' E.

Le matériel végétal utilisé est représenté par les feuilles. Les espèces ainsi que leurs origines sont regroupées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Espèces végétales provenant de Kabylie (Algérie) et utilisées pour l'extraction des huiles essentielles.

Nom latin	Auteur	Nom commun	Famille	Parties prélevées
<i>Myrtus communis</i>	Linné (1753)	Myrte	Myrtaceae	Feuilles
<i>Eucalyptus globulus</i>	La Billardière (1800)	Gommier bleu		
<i>Eucalyptus radiata</i>	Sieber (1828)	Eucalyptus radié		
<i>Laurus nobilis</i>	Linné (1753)	Laurier sauce	Lauraceae	
<i>Pistacia lentiscus</i>	Linné (1753)	L’arbre au mastic	Anacardiaceae	
<i>Aloysia triphylla</i>	(L’Herit.) Britton	Verveine citronnelle	Lamiaceae	
<i>Mentha spicata</i>	Crantz	Menthe verte		
<i>Ocimum basilicum</i>	Linné (1753)	Basilic		
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Linné (1753)	Romarin		
<i>Salvia officinalis</i>	Linné (1753)	Sauge		

1.2. Présentation botanique des plantes étudiées

1.2.1. Eucalyptus radié

L'eucalyptus radié est décrit par Chabert (2013) comme étant un arbre d'une trentaine à une cinquantaine de mètres de haut. Son écorce est blanchâtre et fibreuse. Elle se détache en longs rubans. Les petites branches sont vertes.

- Les feuilles sont concolores, étroites et lancéolées, terminées en pointe et mesurent 7 à 15 cm de long sur 1 à 2 cm de large. Elles sont persistantes simples et alternes ;
- Les fleurs sont regroupées par 11 à 20 et sont de couleur jaune crème (Ombelle) ;
- Les fruits sont des capsules de déhiscence poricide, globuleux, hémisphériques ou piriformes, de 4-6 mm de diamètre (Figure 5).



Figure 5 : Houppier de *E. radiata* (Oumaden, 2011).

Position systématique de l'eucalyptus radié (Cronquist, 1981).

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Rosidae

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Eucalyptus*

Espèces : *Eucalyptus radiata* Sieber ex D.G 1828.

1.2. 2. Gommier bleu

E. globulus est un arbre pouvant atteindre 30 m de haut et plus de 1,5 m de diamètre (Deyson, 1978). Les feuilles jeunes sont opposées, ovales, luisantes et pendantes sur les jeunes rameaux (Boullard, 2001).

Les feuilles adultes sont alternes, falciformes, épaisses et coriaces, lancéolées et aigues, de couleur vert foncé (Bruneton, 1987). Les boutons floraux sont blancs.

Ils s'épanouissent au printemps et possèdent un calice, en forme de pyramide quadrangulaire, coiffé par un couvercle formé par la corolle qui se soulève à la floraison, laissant apparaître plusieurs étamines qui se détachent à maturité (Wichtl et Anton, 2003).

Les fleurs sont blanches solitaires ou groupées par 2 où 3 (Brosse, 2005). Elles possèdent 4 sépales rugueux et cireux, soudés en une urne (Bruneton, 2002).

Les fleurs sont bisexuées et régulières. Le fruit est une capsule loculicide et anguleuse renfermant plusieurs graines (Brosse, 2005). Les graines sont exalbuminées à ovules anatropes (figure 6).



Figure 6 : Rameaux et feuilles de *E. globulus* (Oumaden, 2011).

Position systématique du gommier bleu selon Cronquist (1981)

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Rosidae

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Eucalyptus*

Espèces : *Eucalyptus globulus* Labill., 1800

1.2.3. Myrte

Le myrte commun est un arbre ou arbuste aromatique très ramifié aux rameaux grêles et touffus de 5 mètres de haut à écorce rousse. Les feuilles sont persistantes, petiolées

ovales, lancéolées de 3 cm de long sur 1 cm de large. Elles ont une couleur verte et brillante (Bartels, 1997).

Les fleurs sont blanches solitaires, pédonculées disposées à l'aisselle des feuilles (Boullard, 2001).

Le fruit est une baie peu charnue, noirâtre et couronnée par le calice. Il renferme de nombreuses graines exalbuminées (Chadefaud et Emberger, 1960) (Figure 7).



Figure 7 : Feuilles et bourgeons floraux de *M. communis* (Oumaden, 2011).

Position systématique du myrte selon Cronquist (1981)

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Myrtus*

Espèces : *Myrtus communis* L. 1753.

1.2.4. Arbre au mastic

P. lentiscus L. est un arbrisseau d'environ 3 mètres à 6 mètres de haut (Hietz De Lempis, 1970). L'écorce est grisâtre et les branches jaunes rougeâtres (Negre, 1962). Les feuilles sont persistantes, coriaces, composées, alternes et paripennées, de 2 à 4 cm de long sur 5 à 10 mm de large. Elles sont de couleur vert foncé luisant pouvant virer au rouge en hiver (Brosse,

2005). Cette plante est dioïque, les fleurs sont apétales groupées en épis courts, serrés et latéraux (Quezel et Santa, 1963). Les fleurs mâles ont un calice formé de 5 lobes d'où émergent 3 à 5 étamines courtes.

Les fleurs femelles ont un calice à 3 ou 4 sépales (Quezel et Santa, 1963). Le fruit est une drupe charnue, globuleuse de 4 mm de large, rouge puis noire à maturité (Brossard et Cuisance, 1984) (figure 8).



Figure 8 : *P. lentiscus* (Oumaden, 2011).

Position systématique de l'arbre au mastic selon Cronquist (1981)

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Sapindales

Famille : Anacardiaceae

Genre : *Pistacia*

Espèces : *Pistacia lentiscus* L., 1753

1.2.5. Sauge

La sauge est un sous arbrisseau buissonnant formant une touffe pouvant atteindre 80 cm de haut (Teuscher et *al.*, 2005).

Les feuilles sont opposées, pétiolées à la base, de 3 à 10 cm de long sur 3 cm de large. Elles sont de couleur vert grisâtre d'aspect velouté, les bords du limbe sont légèrement crénelés (Teuscher et *al.*, 2005). Les fleurs, de couleur bleu violacé, sont groupées par 3 à 5

en petites grappes verticillées. La corolle tubuleuse munie à sa base d'un anneau de poils estég bilabée, la lèvre supérieure est presque droite. Les fruits sont des tétrakènes sphériques, de couleur brun foncé à noir (Bartels, 1997) (figure 9)



Figure 9: Feuilles et fleurs de *S. officinalis* (Oumaden, 2011).

Position systématique de la sauge selon Cronquist (1981)

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Salvia*

Espèces : *Salvia officinalis* L., 1753

1.2.6. Romarin

C'est un arbrisseau touffu de 1 à 2 m de haut, toujours vert. Il est très rameux et couvert d'une écorce écailleuse portant des tiges ligneuses feuillées, généralement érigées et pouvant atteindre jusqu'à 2 m de haut.

Les racines sont pivotantes (Moyse et Paris ,1971), les feuilles sont opposées, persistantes, aromatiques et sub-sessiles. Elles sont linéaires, mesurant 2 à 3 cm de longueur sur 1 à 2 mm de largeur. Les feuilles sont de couleur bleu pâle ou lilas clair, maculées de taches violettes.

Elles sont disposées en grappes à l'aisselle des feuilles. Le calice est en cloche, la lèvre supérieure est ovale et les lobes de la lèvre inférieure sont lancéolés. L'androcée est formé de deux étamines. Les fruits sont des tetrakènes bruns et luisants (Moyse et Paris, 1971) (figure 10).



Figure 10: feuilles et fleurs de *R. officinalis* (Oumaden, 2011).

Position systématique du romarin selon Cronquist (1981)

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèces : *Rosmarinus officinalis* L., 1753

1.2.7. Verveine citronnelle

C'est un arbuste vivace ramifié pouvant atteindre 1 à 5 m de hauteur (Teuscher et *al.* 2005). Les tiges sont orthotropes, droites, cannelées, anguleuses et ramifiées. Les feuilles sont caduques, allongées (7 à 10 cm), courtement pétiolées et verticillées par 3 ou 4 sur la tige. Le limbe est entier et légèrement denté. Elles sont de couleur vert pâle.

Les fleurs sont groupées en inflorescences rameuses, longues en épis lâches et de couleur blanche. La corolle est étoilée et a 5 lobes courts. Les pétales sont soudés à la base. Les étamines sont au nombre de 4. Le fruit est une drupe de petite taille (Teuscher et *al.*, 2005) (figure 11).



Figure 11: *A. triphylla* (Oumaden, 2011).

Position systématique de la verveine citronnelle selon Cronquist (1981)

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Verbenaceae

Genre : *Aloysia*

Espèce : *Aloysia triphylla* (L'her .) Britton.

1.2.8. Laurier sauce

Le laurier sauce (*L. nobilis*) est un arbre pouvant atteindre 15 m de haut. Son écorce est lisse et noire et son feuillage est persistant (Parmentier, 1972 ; Teuscher et *al.*, 2005).

Les feuilles sont alternes, allongées, lancéolées ayant 10 cm de long sur 3 à 5 cm de large. Elles sont courtement pétiolées. Le limbe est coriace, glabre et entier. Les feuilles sont d'un vert foncé et luisant, à leur partie supérieure, et pâles à leur partie inférieure. Les inflorescences sont des ombelles axillaires blanc jaunâtres (Parmentier, 1972).

Les fleurs vert blanchâtres sont groupées à l'aisselle des feuilles en petits bouquets, en forme de courtes panicules enfermées dans un involucre formé de bractées caduques à 4 dents (Teuscher et *al.*, 2005). Elles sont dioïques, odorantes groupées en petites ombelles axillaires pédonculées et involucrees. Le périanthe pétaloïde caduc a quatre divisions obovales égales. L'androcée est formé de douze étamines réparties sur deux verticilles, à anthères s'ouvrant de la base au sommet par des valvules. Le gynécée est constitué d'un seul

ovaire libre et entouré par deux ou quatre staminodes tripartis. Le style est court, épais et à stigmate subcapité.

Les fruits sont des drupes globuleuses, d'un noir profond à maturité et de 2 cm de long. La pulpe est verte grasse, parfumée et renfermant une graine (Beloued, 2001 et Teuscher et *al.*, 2005) (figure 12).



Figure 12: Rameaux et feuilles de *L. nobilis* (Oumaden, 2011)

Position systématique du laurier sauce selon Cronquist (1981)

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Magnolüdae

Ordre : Laurales

Famille : lauraaceae

Genre : *Laurus*

Espèce : *Laurus nobilis* L., 1753

1.2.9. Basilic

Le basilic est une plante ligneuse et annuelle. Ces tiges sont simples, quadrangulaires, glabres ou couvertes de poils blancs très courts (Pousset, 2004) et les feuilles

sont opposées, décussées, pétiolées et ovales. Elles ont 7 cm de long sur 3 cm de large et sont colorées en vert foncé (Anton et Lobstein, 2005).

Les fleurs sont hermaphrodites et zygomorphes. Elles sont groupées par 6 et disposées en verticilles. La corolle est bilabiée. La lèvre supérieure est formée de 4 pétales dorsaux blancs. La lèvre inférieure est formée d'un seul pétale ventral très développé, concave et aplati. Les étamines sont au nombre de 4, l'ovaire est supère à 2 loges renfermant chacune 2 ovules. Le fruit est un tetrakène renfermant une seule graine de couleur noire (figure 13).



Figure 13: Plant de *O. basilicum* (Oumaden, 2011).

Position systématique du Basilic selon Cronquist (1981)

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Ocimum*

Espèce : *Ocimum basilicum* L. , 1753

1.2.10. Menthe verte

La menthe verte (*M. spicata* L.) est une plante aromatique vivace stolonifère. Les feuilles sont d'un vert foncé, les plus jeunes sont d'un vert clair brillant. Elles sont sessiles, ovales, lancéolées à dents de scie et acuminées et glabres.

Les inflorescences sont des épis allongés, de couleur blanche ou pourpre. Les étamines sont plus longues que la corolle et écartées entre elles. La menthe verte est très commune en Afrique du nord (Paris et Moyse, 1965) (figure 14).



Figure 14: *M. spicata* (Oumaden, 2011)

Position systématique de la menthe verte selon Cronquist (1981)

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Mentha*

Espèce : *Mentha spicata* L., 1753

2. Méthodes

Dans ce premier chapitre, nous traiterons successivement du rendement et de la cinétique de rendement des différentes espèces de plantes considérées.

2.1. Extraction des huiles essentielles et caractérisation physico-chimique et organoleptique

Notre travail a été réalisé au CRD (Centre de Recherche et de Développement) de Saïdal d'El Harrach. Cette phase a pour but d'extraire les huiles essentielles et a été effectuée par hydrodistillation. Les feuilles des différentes espèces végétales ont été séchées pendant une semaine, à l'abri de la lumière et à la température ambiante du laboratoire, aux mois de juin 2011 et juillet 2008.

2.1.1. Technique d'hydrodistillation

Les feuilles des espèces végétales utilisées sont découpées en petits morceaux pour faciliter leur introduction dans un ballon en verre de 2 l, rempli d'eau jusqu'aux 2/3 de sa capacité. L'eau est ensuite chauffée dans le chauffe ballon jusqu'à ébullition, ce qui entraîne la formation d'une vapeur qui va entraîner les constituants volatiles (Figure 15). Ces vapeurs s'élèvent et passent dans le réfrigérant qui est constamment refroidi à une température comprise entre 15°C et 18°C.

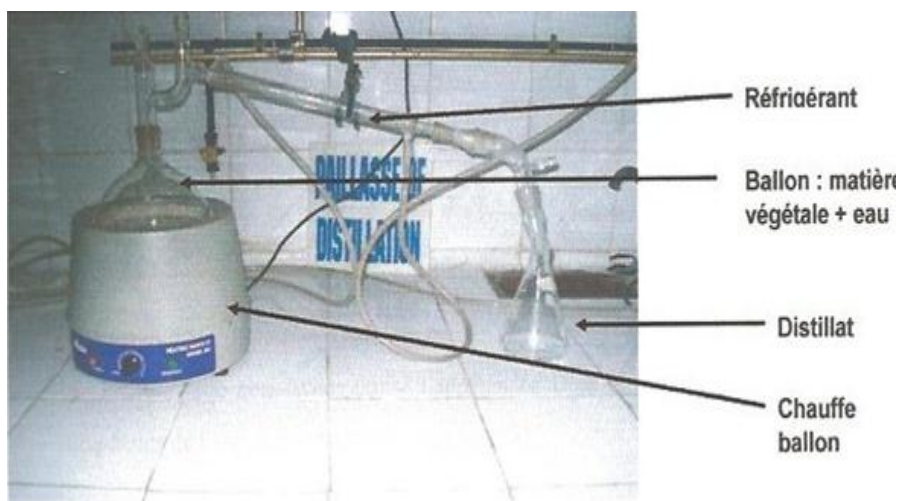


Figure 15 : Distillateur conventionnel (SAIDAL 2011).

Une température basse, favorise la formation de cristaux dans le réfrigérant, ce qui pourrait freiner l'éclatement des gouttelettes d'eau. Lorsque la température est trop élevée, le phénomène de condensation ne se réalise pas.

Au contact des parois du réfrigérant, les vapeurs chaudes se condensent et s'écoulent au goutte à goutte dans un récipient où elles forment le distillat. Ce dernier est un mélange de deux phases non miscibles (huiles essentielle + eau) qui seront séparées par extraction liquide-liquide (décantation), au moyen d'un solvant organique (de l'éther diéthylique dans notre cas). L'huile essentielle primaire récupérée est mélangée à l'éther diéthylique (phase organique). Pour éliminer toute trace d'eau, la phase organique est séchée sur une surface de sulfate de sodium anhydre. Après évaporation de l'éther, l'huile finale obtenue est conservée dans des flacons en verre opaque à une température de 4°C.

2.1.2. Détermination du taux d'humidité du matériel végétal

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans le végétal frais. L'appareil de DEAN et STARK a été utilisé à cette fin (Figure16).

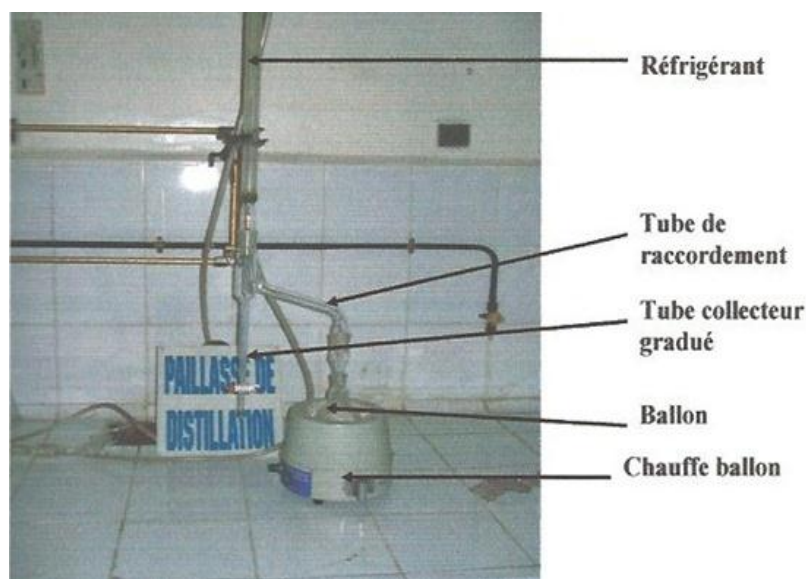


Figure 16 : appareil de Dean et Stark (SAIDAL, 2008)

Il est formé d'un ballon en verre de 500 ml relié par un tube de raccordement à un tube cylindrique gradué. Le tube cylindrique est surmonté d'un réfrigérant. Le ballon est placé sur le chauffe ballon.

Le principe est de quantifier l'eau contenue dans le végétal en le mettant en contact d'un solvant (le toluène), le tout est porté à ébullition.

Dans le ballon, un poids P de matière végétale est mélangé à un volume (100 ml) de toluène. Sous l'effet du chauffage le solvant ainsi que l'eau dans le végétal s'évaporent. Une fois dans le réfrigérant, les vapeurs se condensent en gouttelettes qui s'accumulent dans le tube gradué (eau à la base, le solvant en haut). L'opération dure jusqu'au moment où le niveau d'eau dans le tube gradué devient stable et le solvant limpide.

A la fin de l'opération, l'intensité de chauffage est augmentée afin de récupérer toutes les gouttelettes d'eau déposées sur les parois du réfrigérant.

Après refroidissement le volume d'eau est lu sur le tube gradué et le taux d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$H = \frac{V}{M} \times 0,998 \times 100$$

H= taux d'humidité.

V= le volume d'eau.

M =masse de matériel végétal.

où 0,998=densité de l'eau

2.1.3. Calcul du rendement

Le rendement est la quantité maximale d'huile essentielle que fournit une masse donnée de végétal pendant une période donnée.

Le rendement est calculé par la formule :

$$R (\%) = (mHE / m MVS) \times 100$$

R (%) : Rendement en huile essentielle.

mHE : masse d'huile essentielle.

mMVS : masse de matière végétale sèche.

mMVS : $M_{mvf} (1 - TH)$

TH : Taux d'humidité.

mMVF: masse de matériel végétal frais.

2.1.4. Etude de la cinétique de rendement

La cinétique est le suivi de l'évolution de la quantité d'huile essentielle extraite par hydrodistillation d'une masse de végétale en fonction du temps. Nous avons procédé à l'étude des cinétiques de rendement pour différents poids des feuilles des espèces végétales considérées.

Le distillat obtenu est récupéré dans des Erlen à différents pointages de temps et subit ensuite un traitement liquide-liquide pour séparer les deux composantes (huile + eau).

Après décantation, le contenu de chaque Erlen est versé dans un tube à essai préalablement pesé pour déterminer le poids des tubes vides (PTv) et après évaporation totale du solvant, les tubes sont de nouveau pesés pour déterminer le poids des tubes pleins (PTp). En nous servant de ces données, nous déduisons le poids de l'huile essentielle.

Notons au passage que deux essais ont été effectués pour chacune des essences considérées et ce sont les moyennes des essais qui ont été prises en compte pour tracer les courbes des cinétiques traduisant les rendements en huiles essentielles des différentes espèces végétales en fonction du temps.

2.2. Caractérisation physicochimique des huiles essentielles.

Les caractéristiques organoleptiques (apparence, couleur, odeur, goût) étaient autrefois les seules indications permettant d'évaluer la qualité d'une huile essentielle, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur commerciale sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques.

Ces normes ont été déterminées par plusieurs organisations connus à l'échelle mondiale comme :

ISO : International standard organisation.

AFNOR : Association française de normalisation.

AOAC: Association of official agricultural chemist.

Dans notre cas, nous avons déterminé les indices (acide, ester) suivant la norme AFNOR.

2.2.1. Indice d'Acide (IA).

L'indice d'acide d'une huile essentielle est défini comme étant le nombre de milligrammes de potassium (KOH) nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme d'huile essentielle (NFISO 1242, 575-103 ; AFNOR, 2000).

2.2.1.1. Mode opératoire

2 g d'huile essentielle sont introduits dans un ballon contenant 5 ml d'éthanol neutralisé et 5 gouttes d'indicateur coloré (phénolphtaléine).

Nous titrons ensuite le liquide avec la solution d'hydroxyde de potassium (0,1N) contenu dans une burette.

Nous poursuivons l'addition jusqu'à obtention du virage persistant de la solution (rose) pendant 30 secondes. Nous notons ensuite le volume de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé.

2.2.1.2. Calcul de l'indice d'acide

L'indice d'acide est calculé par la formule :

$$IA = V \times C \times (56.11 / M)$$

IA : Indice d'acide.

V : Volume de KOH utilisé (ml).

C : Concentration exacte, en moles par litre de la solution de KOH.

M : Masse de la prise d'essai.

2.2.2. Indice d'ester

L'indice d'ester est le nombre de milligrammes de potassium (KOH) nécessaires pour effectuer la saponification totale des esters sels contenus dans un gramme d'huile essentielle.

La réaction de saponification s'écrit : $R-COO-R' + KOH \longrightarrow R-COO^- K^+ + R'-OH$

2.2.2.1. Mode opératoire

Un échantillon de 2 g d'huile essentielle est introduit dans un ballon, puis à l'aide d'une burette nous ajoutons 25 ml d'une solution d'hydroxyde de potassium (0,5 N), ainsi que quelques billes en verre.

Nous adaptons le réfrigérant à refluer au ballon sur le bain d'eau bouillante et maintenons le ballon sur le bain d'eau pendant la durée précisée dans la norme d'huile essentielle.

Nous laissons ensuite refroidir le ballon et démontons le tube. Nous ajoutons 20 ml d'eau puis 5 gouttes de solution de phénolphthaléine au bain.

Nous titrons l'excès d'hydroxyde de potassium avec la solution d'acide chlorhydrique (HCl 0,5 N).

2.2.2.2. Calcul de l'indice d'ester

L'indice d'ester est calculé par la formule :

$$IE = 28.05 \times (V - V_0) / M.$$

IE : Indice d'ester

V : Volume en ml de HCl utilisé dans cette détermination

V_0 : Volume en ml de HCl utilisé dans cette détermination de l'essai à blanc.

M : la masse de la prise d'essai.

Nous avons effectué un essai à blanc, dans les mêmes conditions opératoires et en utilisant les mêmes réactifs, en ajoutant 5 ml d'éthanol (0,5 N) neutralisé pour l'essai à blanc.

2.3. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques (apparence, couleur, odeur, goût) étaient autrefois les seules indications permettant d'évaluer la qualité d'une huile essentielle, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur commerciale sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques.

Résultats et discussion

1. Extraction des huiles essentielles par la technique d'hydrodistillation

1.1. Calcul du taux d'humidité des différents échantillons considérés

Les taux d'humidité des différents échantillons ont été déterminés pour exprimer les valeurs des rendements par rapport à la matière sèche. Les taux d'humidité ainsi que les rendements obtenus pour les différentes espèces de plantes étudiées sont rassemblés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Taux d'humidité et des rendements en huiles essentielles.

Familles	Espèces	Masse utilisée (g)	Taux d'humidité (%)	Rendement (%)
Lamiaceae	<i>O. basilicum</i>	100,200	62	1,10
	<i>A. triphylla</i>	55,214	55,09	0,85
	<i>S. officinalis</i>	15	5,32	0,2
	<i>R. officinalis</i>	15	54,923	0,2
	<i>M. spicata</i>	100	27	0,79
Myrtaceae	<i>E. radiata</i>	100,120	62	1,19
	<i>E. globulus</i>	100,60	55	0,48
	<i>M. communis</i>	15	75	0,53
Lauraceae	<i>L. nobilis</i>	10,147	57,04	1,10
Anacardiaceae	<i>P. lentiscus</i>	103	0,11	0,02

1.2. Détermination du rendement

Nos résultats sont conformes dans l'ensemble aux données de la littérature. Les feuilles de *M. spicata* ont révélé un rendement de 0,79 %, ce résultat corrobore ceux obtenus par Benyoucef et al. (2004) à partir de la distillation des feuilles de deux échantillons de menthe verte. L'un provenant de Blida (Nord Algérien) avec un rendement maximal de 1%, et l'autre prélevé dans la région d'Ouargla (Sud Algérien) avec 0,74% après 90 mn d'extraction, et ceux de Boukhebt et al. (2011), à partir des feuilles de menthe verte provenant de Amoucha dans la wilaya de Setif (Nord est d'Algérie), avec des rendements variant entre 0,1% et 1,8 % ; quant à Znini et al. (2011), l'étude de l'huile essentielle extraite à partir des feuilles de *M. spicata*, provenant de la région d'Errachidia dans le Sud du Maroc, leur a permis d'obtenir un rendement de 0,53 %. Ces mêmes auteurs ont obtenu des rendements variant entre 0,1 et 0,35 % dans le cas de la distillation des feuilles de laurier alors que nous avons obtenu un rendement supérieur, il est de 0,53 %.

Les feuilles de *O. basilicum* se sont révélées riches en huile essentielle avec un rendement appréciable de 1,10 % bien plus important que celui rapporté par Belong et al. (2013) qui est de 0,11 %, à partir des feuilles de *O. basilicum* provenant d'un champ expérimental situé à Douala au Cameroun, en juin 2009. Alors que Tchoumboungang et al. (2009) ont extrait des taux respectifs de 0,59 % et 0,60 % pour *O. canum* et *O. gratissimum* du Cameroun. Pour *E. globulus* et *E. radiata* les taux respectifs de 0,48 % et 1,19 % ont été obtenus ; Ces résultats sont étayés par l'étude d'*E. saligna* du Cameroun, dont le rendement en huile essentielle a été estimé à 0,85 %, par Tedonkeng (2004). Les feuilles de *A. triphylla* ont montré un rendement de 0,85 % valeur bien inférieure à celle trouvée par Agah et Najafian, (2012), à partir des feuilles de *A. triphylla* distillées à Shiraz en Iran et qui est de 1,03 %. La valeur trouvée pour les feuilles de *P. lentiscus*, est d'ordre de grandeur différents de celui obtenu pour les feuilles de *P. lentiscus* de la forêt de Bainem par Benyoucef et al. (2005). En effet, 0,02 % d'huile essentielle ont été révélés dans notre cas et 0,11 % dans le cas des feuilles de *P. lentiscus* de la forêt de Bainem (Alger).

Les espèces végétales présentent une activité importante en été qui s'exprime par un rendement important en métabolites secondaires comme les huiles essentielles. Ceci serait dû à la photopériode maximale propice à la synthèse des huiles essentielles mais aussi une longue période de sécheresse qui favoriserait la biosynthèse de nombreux autres métabolites secondaires (Boukhebti, 2011).

1.3. Suivi de la cinétique de rendement en huile essentielle des dix espèces végétales étudiées

Les résultats du suivi de la cinétique d'extraction des huiles essentielles, par la méthode hydrodistillation conventionnelle, des dix essences végétales considérées, nous ont permis de tracer les courbes des cinétiques ; celles-ci traduisant les rendements en huiles essentielles des différentes espèces végétales en fonction du temps (Tableaux 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) (Annexe 1) et les figures (17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26).

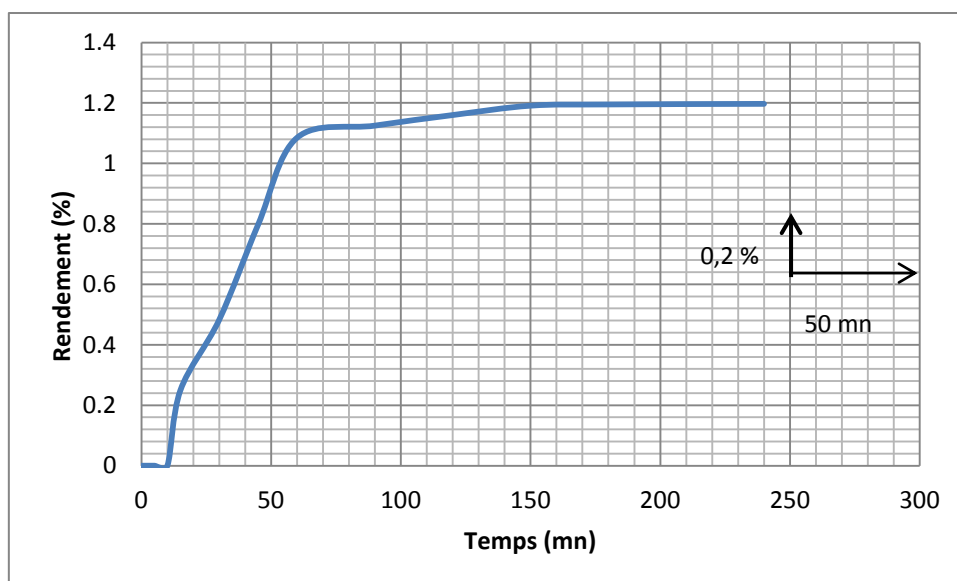


Figure 17 : Rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles d' *E. radiata*.

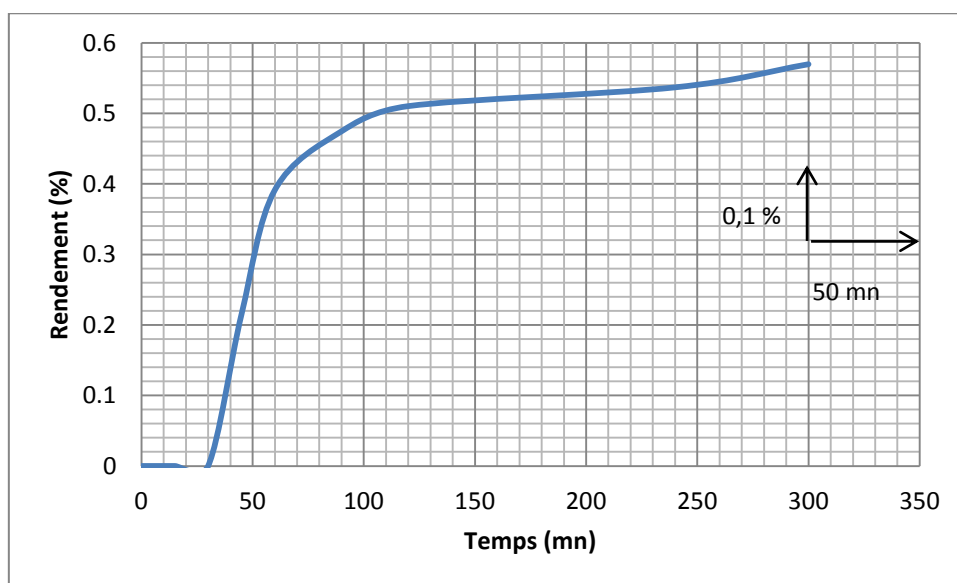


Figure 18 : Rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de *M. communis*.

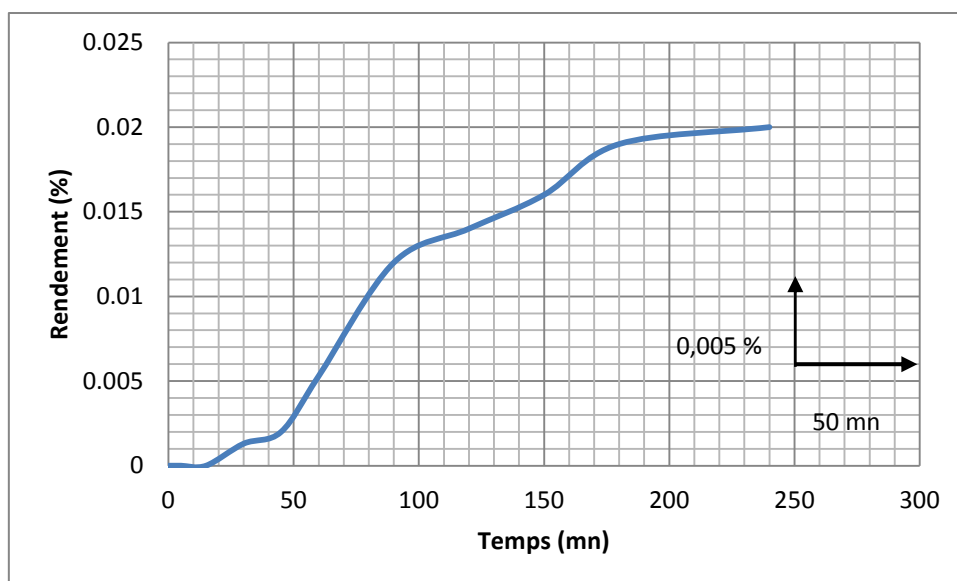


Figure 19 : Rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de *P. lentiscus*.

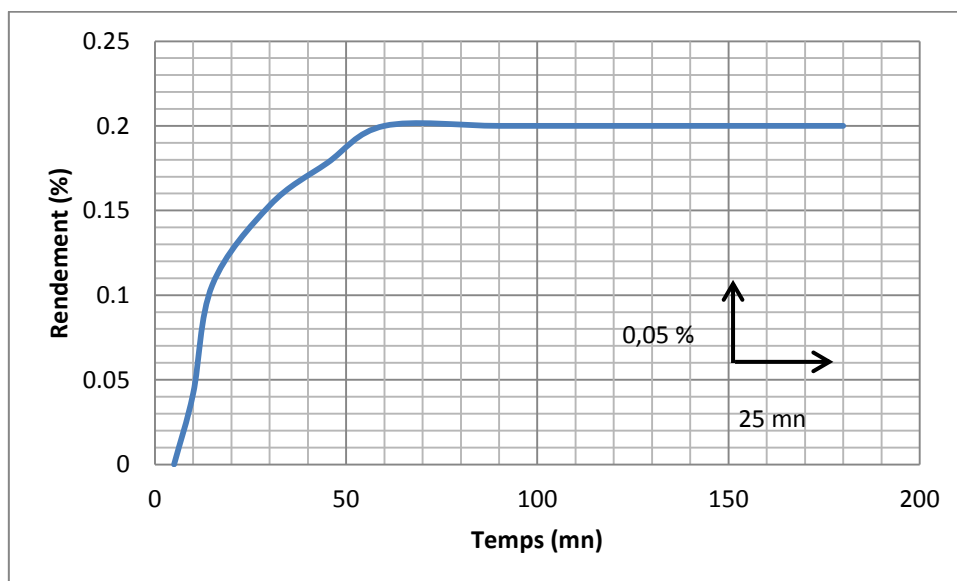


Figure 20 : Rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de *S. officinalis*.

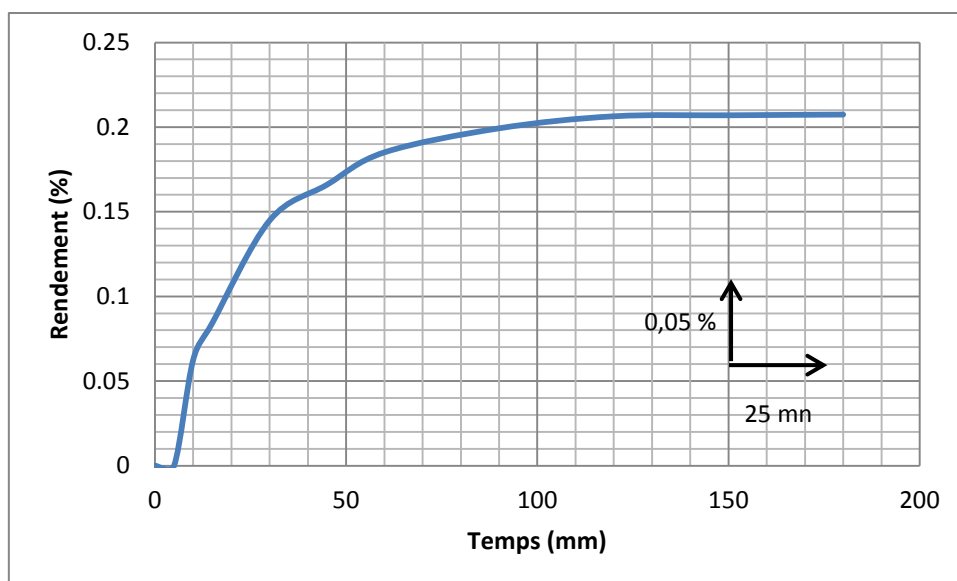


Figure 21 : Rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de *R. officinalis*.

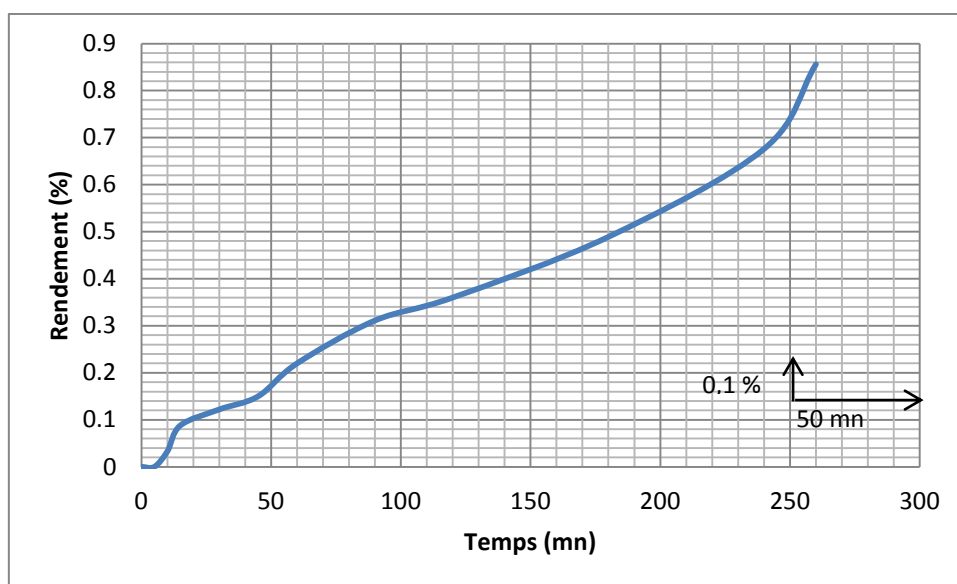


Figure 22 : Rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de *A. triphylla*.

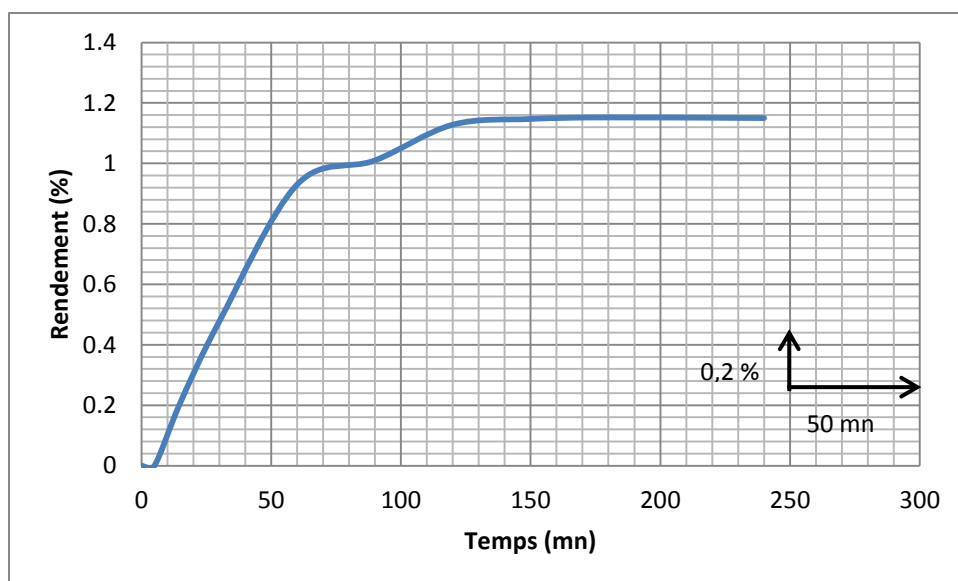


Figure 23 : Rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de *L. nobilis*

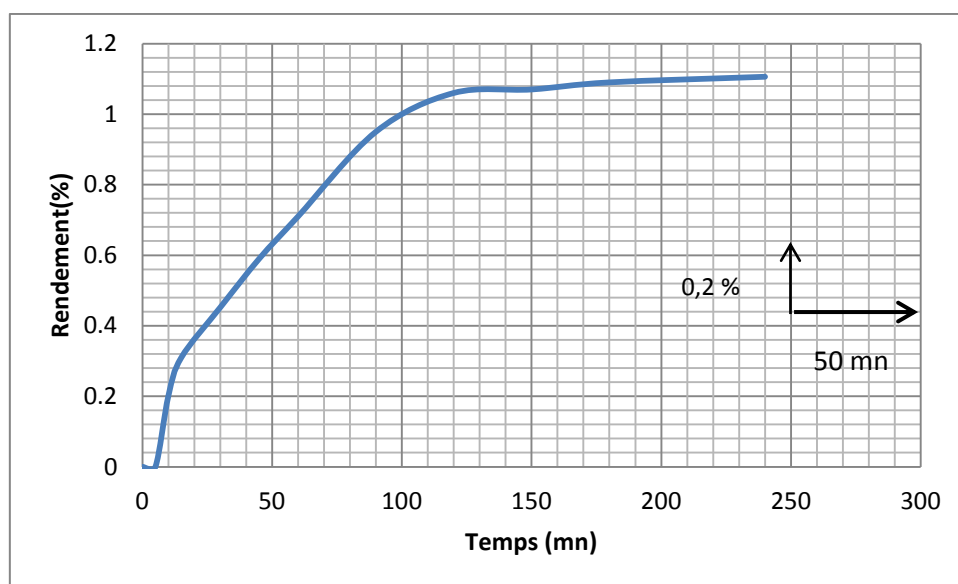


Figure 24 : Rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de *O. basilicum*.

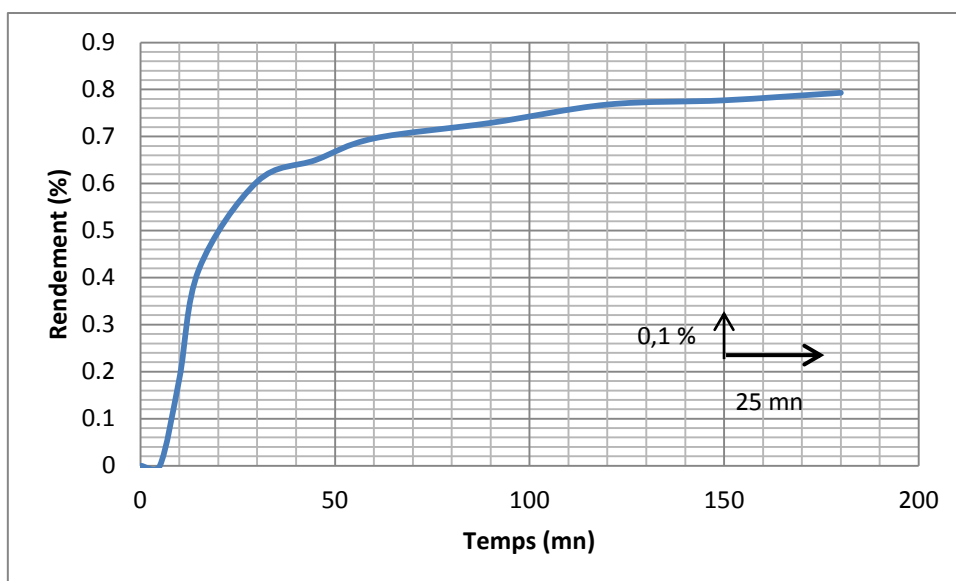


Figure 25 : Rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de *M. spicata*

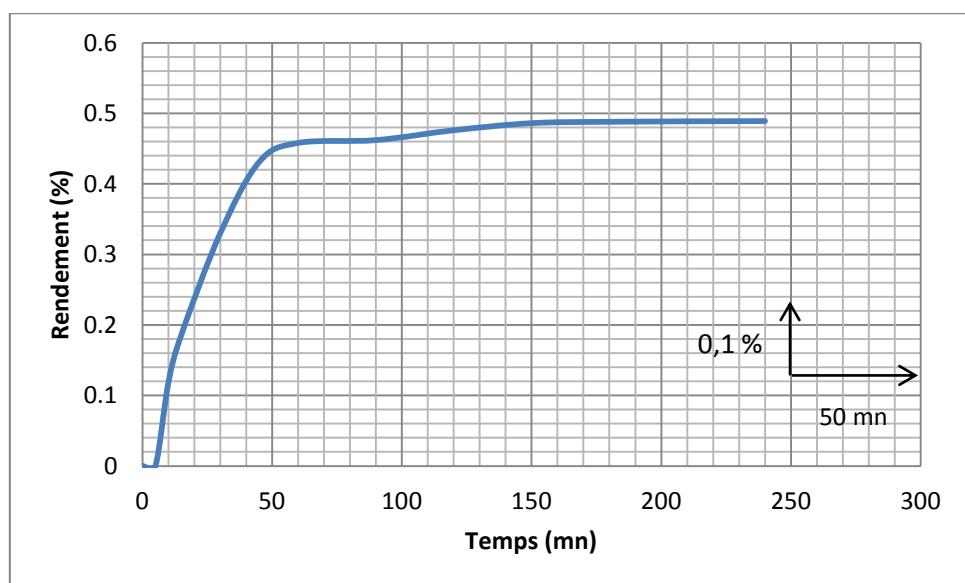


Figure 26 : Rendement en huile essentielle lors de l'hydrodistillation des feuilles de *E. globulus*.

Les courbes de rendement en huiles essentielles obtenues présentent une croissance progressive, durant la première partie, pendant laquelle se réalise le chauffage de la matière végétale, nous avons observé une augmentation de la température dans l'hydrodistillateur, étape durant laquelle aucune extraction d'huile essentielle ne se produit. Cette température est initialement voisine de la température ambiante puis elle augmente au fur et à mesure pour atteindre 100° C, correspondant à la température d'ébullition de l'eau. La première étape correspond à l'extraction des premières quantités d'huile essentielle, situées à la surface des feuilles. En effet, nous observons une augmentation régulière du rendement entre 15 et 60 mn, ce qui correspond à 70% de la totalité d'huile stockée dans les tissus des échantillons des différentes espèces traitées ; ainsi les rendements obtenus sont 1,10 % et 0,20 %, respectivement pour *O. basilicum* et *R. officinalis*.

De 60 à 180 mn, nous enregistrons un ralentissement de l'extraction du rendement qui reste stationnaire avec un peu moins de 1%. De ce fait, la courbe s'infléchit et marque un palier. Enfin, au cours de la troisième étape, la courbe tend vers un second palier, qui correspond, pour une matière donnée, au rendement maximum pouvant être atteint, dans les conditions expérimentales considérées. Elle correspond à un palier qui marque la fin du processus d'extraction. Bousbia et al. (2009) a effectué une extraction d'huile essentielle à partir des feuilles de *R. officinalis* et a obtenu un profil de rendement similaire au notre. Le profil de la technique d'extraction classique hydrodistillation présente également trois étapes conduisant à la fin du processus d'extraction après un laps de temps de 180 mn.

Ce résultat est en accord avec les observations de l'étude histologique qui a montré que les sites sécréteurs sont exogènes chez les espèces de Lamiaceae, ce qui explique la durée d'extraction relativement courte pour *O. basilicum* (1,10%), *A. triphylla* (0,85%), *S. officinalis* (0,2%) et *R. officinalis* (0,2%).

L'examen de l'allure des courbes de rendement en huile essentielle des espèces étudiées, en l'occurrence *L. nobilis*, *P. lentiscus*, *M. communis*, *E. globulus*, et *E. radiata* montrent qu'elles peuvent être également subdivisées en 3 grandes phases. La première s'étend de 15 à 60 mn, la deuxième de 60 à 180 mn et la troisième de 180 à 240 mn, qui correspond à la fin de l'extraction des huiles essentielles. Cette durée d'extraction est conforme à celle rapportée par différents auteurs pouvant s'étendre de 3 à 5 h (Ramanoelina, 1992).

Durant la première phase d'extraction, un faible accroissement du rendement est noté puis celui-ci se stabilise pendant la deuxième partie et enfin un accroissement plus important est enregistré ; ce dernier atteint des maxima variant en fonction de l'espèce traitée, entre 1,10 % pour *L. nobilis* 1,19 % pour *E. radiata*, 0,48 % pour *E. globulus* 0,02 % pour *P. lentiscus* et enfin 0,53 % pour *M. communis*. Ceci peut être expliqué par une élévation brutale et soudaine de la température in situ des structures cellulaires, situation qui induit d'une part, une augmentation de la pression interne de ces cellules et qui a généré, d'autre part, leur destruction tout en les vidant de leur contenu.

La durée d'extraction est théoriquement le temps nécessaire à la récupération de la totalité de l'huile contenue dans la matière végétale. Or, en pratique, il est difficile de récupérer toute l'huile. Ce temps correspond alors au moment où nous n'observons plus d'huile dans le distillat, il détermine la fin du processus. C'est ainsi que Bousbia (2011) affirme que l'examen, en microscopie électronique à balayage, du matériel végétal de *R. officinalis*, soumis à une hydrodistillation, semble être très similaire à une matière végétale fraîche non traitée. En effet, cet auteur a observé une destruction partielle des poils sécréteurs et une partie d'entre eux demeure encore remplie d'huile essentielle, il a en outre relevé un rendement de 0,35 % dans le cas des feuilles de *R. officinalis*.

Ces trois phases peuvent être expliquées par les structures anatomiques spécifiques localisées et étudiées au niveau des feuilles dans la partie II de notre travail de recherche.

La première phase d'accroissement correspond à la phase de latence et la deuxième phase correspond à l'implication des sites exogènes (poils sécréteurs). Dans le premier cas sont rangées les espèces appartenant à la famille des Lamiaceae comme *A. triphylla*, *R. officinalis*, *S. officinalis*, *O. basilicum* et *M. spicata*.

Dans la troisième phase, ce sont les sites sécréteurs situés en profondeur dans le mésophylle (sites endogènes) qui sont impliqués. Dans ce cas, ce sont les espèces de la famille des Myrtaceae, comme *E. globulus*, *E. radiata* et *M. communis* et l'espèce appartenant à la famille des Anacardiaceae en l'occurrence *P. lentiscus*, qui sont concernées. Ajoutons à cela, le temps de latence plus allongé enregistré dans le cas de ces plantes, car la localisation profonde des glandes sécrétrices d'huile essentielle nécessite un laps de temps plus important (15 mn) pour être atteintes et vidées de leur contenu. Notons au passage que l'huile essentielle de *P. lentiscus* n'a pu être complètement récupérée malgré une durée d'extraction de 280 mn.

2. Caractéristiques physicochimiques des huiles essentielles extraites

Pour la caractérisation physico-chimique des huiles extraites par hydrodistillation nous avons procédé au calcul des indices d'acide et d'ester.

Les valeurs des indices d'acide les plus faibles (inférieur à 2) ont été obtenues avec les huiles essentielles de *S. officinalis*, *R. officinalis*, *E. radiata* et *O. basilicum*. L'indice d'acide le plus élevé est celui de *A. triphylla* et de *P. lentiscus* (tableau 13). Pour l'indice d'ester, les valeurs les plus élevées ont été obtenues avec *E. radiata* (520,327) et la plus faible valeur est celle de *S. officinalis* (5,7) (Tableau 3).

Tableau 3 : Valeurs des indices d'acide et d'ester déterminées pour les dix espèces végétales étudiées.

Indices Huiles essentielles	Indice d'acide	Indice d'ester
<i>E. globulus</i>	2,3	55
<i>P. lentiscus</i>	7,12	400,71
<i>S. officinalis</i>	0,561	5,7
<i>R. officinalis</i>	1,122	22,8
<i>A. triphylla</i>	10,098	84,15
<i>E. radiata</i>	1,683	520,32
<i>L. nobilis</i>	2,224	429,16
<i>O. basilicum</i>	1,122	387,09
<i>M. communis</i>	3,366	426,36
<i>M. spicata</i>	3,366	420,75

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que certains indices sont anormalement élevés, mais si nous nous référons aux résultats des analyses chromatographiques réalisées, elles révèlent une forte teneur en composés oxygénés en général et acides en particulier. Ceci est observé chez les huiles essentielles de *A. triphylla* et de *P. lentiscus*, avec des valeurs respectives d'indices d'acides de 10 et 7,12.

Les faibles valeurs d'indice d'acide calculées pour l'ensemble des autres huiles essentielles étudiées nous laissent penser qu'elles ne contiennent pas beaucoup d'acides libres

et ne sont donc pas altérées, lors de leur extraction par hydrodistillation et leur conservation . Les huiles essentielles extraites par Fellah et *al.* (2006), à partir des parties aériennes de *S. officinalis*, collectées dans deux régions de Tunisie géographiquement différentes (Marsa en banlieue nord de Tunis, à 500 m du littoral et Djebel Ouest, au centre nord de Tunisie à plus de 800 m d'altitude) ont montré des indices d'acide (IA) compris entre 0,49 et 1,41 et des indices d'ester (IE) compris entre 7,57 et 8,22. Ces résultats sont proches de ceux obtenus pour la sauge poussant en Kabylie. De même, Hilan et *al.* (2006) ont déterminé des indices d'acide inférieurs à 1 pour des huiles essentielles extraites à partir d'un ensemble de Lamiaceae, comme *M. longifolia*, *R. officinalis* et *S. officinalis* échantillonnées dans deux régions du Liban (région de Sour, le long de la côte libanaise et en région montagneuse, à 850 m d'altitude).

L'acidité d'une huile essentielle est un critère d'estimation de sa qualité. Un indice d'acide faible indique que les huiles essentielles sont stables et ne provoquent pas d'oxydation car l'huile, en s'oxydant, se dégrade rapidement et provoque une augmentation de l'indice d'acidité (De Cliff et Harerimana, 2013).

Les valeurs des indices d'ester indiquent que l'ensemble des huiles contiennent d'importantes quantités d'acide libres, et il est admis que plus l'indice d'ester est élevé mieux est la qualité de l'huile (Hilan et *al.*, 2006).

3. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles extraites

La majorité des huiles essentielles analysées sont liquides, de couleur jaunâtre et dont l'odeur et la saveur sont très variables (Tableau 4).

Les huiles essentielles issues de la méthode d'hydrodistillation possèdent des notes olfactives proches des arômes originels des plantes fraîches utilisées avec des odeurs d'herbes aromatiques. L'odeur dégagée est agréable malgré une légère altération, mais toujours avec un caractère herbal rappelant les plantes fraîches.

Une étude analogue menée par Hilan et *al.* (2006) a indiqué que l'huile essentielle de *R. officinalis* du Liban est un liquide limpide, jaune pâle à odeur très marquée, ces caractéristiques sont proches de l'huile de *R. officinalis* de Kabylie. L'huile essentielle de *S. officinalis* originaire du littoral libanais, est un liquide limpide, jaune pâle et fortement cinéolique et celle de montagne est liquide limpide, jaune foncé et fortement cinéolique alors que notre substance naturelle est liquide, incolore, camphrée et piquante. Les différences

enregistrées peuvent être attribuées à l'origine géographique ou même au stade du cycle végétatif au moment de la récolte (De Figueiredo et *al.*, 2008).

Tableau 4 : Caractéristiques organoleptiques des huiles extraites par hydrodistillation

Huile essentielle	Aspect	Couleur	Odeur	Saveur
<i>E. globulus</i>	Liquide	Jaune pâle	Forte et aromatique odeur prononcée de camphre	Rafrichissante
<i>P. lentiscus</i>	Liquide visqueux	Jaune	Herbacée épicée	Indéterminée
<i>S. officinalis</i>	Liquide	Incolore	Camphrée	Piquante
<i>R. officinalis</i>	Liquide	Jaune	Épicée	Fortement épicée
<i>A. triphylla</i>	Liquide épais	Jaune foncé	Citronnée	Agréable
<i>E. radiata</i>	Liquide mobile	Jaune très pâle	Douce, fraîche citronnée	Rafrichissante sucrée
<i>L. nobilis</i>	Liquide	Incolore	Agréable subtile	Forte
<i>O. basilicum</i>	Liquide	Caramel	Douce anisée	Poivrée, fortement épicée
<i>M. communis</i>	Liquide	Jaune orangé	Mentholée	Huileuse
<i>M. spicata</i>	Liquide	Jaune clair	Très fine particulièrement agréable	Rafrichissante

Conclusion

Dans le cas d'une extraction par hydrodistillation, le rendement augmente jusqu'à une durée déterminée expérimentalement, suite à quoi il y a apparition d'un point d'inflexion puis un plateau qui indique la fin de l'extraction. Ce plateau renseigne sur la localisation de l'huile essentielle dans l'organe considéré. Ainsi les plantes dont l'huile essentielle est située dans des glandes exogènes auront un temps d'extraction relativement court, comme dans le cas des espèces de Lamiaceae ; tandis que les plantes dont les glandes à huile sont endogènes, le

temps d'extraction sera plus long, comme dans les cas de *L. nobilis*, *P. lentiscus*, *M. communis* et les deux espèces d'eucalyptus étudiées.

Partie 2 : "Etude des structures sécrétrices des huiles essentielles"

Introduction

Les huiles essentielles sont largement répandues chez les végétaux supérieurs. La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface du végétal (Bruneton, 1987). Il existe quatre structures sécrétrices que nous rappelons encore une fois :

- Les cellules sécrétrices isolées chez les Lauraceae et les Zingiberaceae ;
- Les poils glandulaires épidermiques chez les espèces appartenant aux familles botaniques des Lamiaceae, Geraniaceae et Verbenaceae ;
- Les poches sphériques schizogènes. Les glandes de type poche se rencontrent chez les Asteraceae, les Hypericaceae, les Rosaceae, les Rutaceae, les Myrtaceae... L'excrétion de l'huile essentielle dans la cavité des poches ou canaux est réalisée par exocytose chez les Myrtaceae ou par lyse des cellules bordant la cavité, chez les Rutaceae ;
- Les canaux glandulaires lysisigènes présents chez les Pinophytes, les Apiaceae ...

Deyson (1978) et Bruneton (2002) affirment que la présence et la localisation des structures sécrétrices d'huiles essentielles sont des éléments importants de détermination permettant d'affilier un échantillon à une famille déterminée. Le fait que les huiles soient produites dans des cellules spécialisées permet à la fois, de réduire le risque d'autotoxicité pour la plante, et de stocker des quantités importantes de métabolites secondaires (Houël, 2011).

Matériel et méthodes

Des coupes anatomiques, des feuilles des 10 plantes étudiées dans la partie 1, ont été réalisées et observées au microscope optique afin de corréler les allures des courbes des cinétiques de rendement, obtenues pour chacune des plantes, avec les dépôts endogènes ou exogènes. Parallèlement à cette étude d'autres coupes ont été réalisées et observées au microscope électronique à balayage.

1. Réalisation de coupes anatomiques pour l'étude des structures sécrétrices d'huiles essentielles au microscopie optique.

Pour réaliser des coupes anatomiques fines, nous avons utilisé des feuilles fraîches de chacune des espèces de plantes considérées.

Des coupes anatomiques ont été réalisées à partir des feuilles incluses dans de la moelle de sureau, afin de visualiser les différentes structures cellulaires constituant les feuilles. Les coupes obtenues ont été soumises à la technique de la double coloration au Rouge congo- Vert de méthyl, selon le protocole emprunté à Deyson (1954) (Annexe 2).

2. Réalisation des coupes anatomiques pour l'étude des structures sécrétrices d'huiles essentielles au microscopie électronique à balayage.

Des échantillons de feuilles des dix plantes considérées ont été examinés au laboratoire de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou, à l'aide d'un microscope électronique à balayage de marque Philips ESEM X L30 à filaments de tungstène.

Les échantillons de feuilles fraîches ont été coupés au scalpel (0,5 cm). Ils ont ensuite été fixés sur un dispositif métallique. L'observation des échantillons s'est faite sous mode environnemental avec une accélération de voltage de 20 kv et en manœuvrant à une distance de l'ordre de 15 mm.

Résultats et discussion

Les observations des coupes réalisées au microscope photonique et à balayage, nous ont permis de visualiser les différents tissus foliaires et de localiser avec précision les différentes structures sécrétrices caractéristiques des feuilles des espèces végétales étudiées.

Rappelons que l'huile essentielle d'une plante est issue du métabolisme secondaire et se retrouve dans différents types de structures histologiques (Combrinck et *al.*, 2007).

Les résultats de la recherche expérimentale sur les feuilles de l'ensemble des échantillons considérés ont montré la présence de nombreux trichomes non glandulaires appelés communément poils tecteurs à extrémité effilée, sur les nervures et les extrémités des feuilles des espèces de Lamiaceae. Certains poils tecteurs ont une forme unicellulaire, simple et de forme cubique, d'autres sont pluricellulaires et ramifiés (Werker et *al.*, 1985; Bottega et Corsi, 2000). Cette étude nous a également permis de détecter des structures sécrétrices à caractère endogène, comme les canaux sécréteurs chez *Laurus*, les glandes chez les deux espèces d'*Eucalyptus* et *Myrtus communis* alors que *P. lentiscus* est caractérisé par des cellules sécrétrices à caractère isolé, représentées par des canaux sécréteurs lysigènes.

1. Lamiaceae

Chez les Lamiaceae aromatiques, ce sont des glandes épidermiques qui sont à l'origine de la sécrétion des huiles essentielles. Chez cette famille, coexistent deux types de poils glandulaires sécréteurs : les glandes capitées et les glandes peltées (Perrin et colson, 1986). Ces trichomes sécréteurs sont typiquement composés de quelques cellules épidermiques basales qui, par division, donnent une à plusieurs cellules, ayant des pieds de taille variable, surmontées d'une à plusieurs cellules de tête sécrétrices (Werker, 1993). Les poils sécréteurs se distinguent entre eux par la présence ou l'absence d'un pied. Ce dernier pouvant être uni ou pluricellulaire court ou long portant une tête renfermant une ou des cellules sécrétrices (Deyson, 1978). La séquestration des huiles essentielles dans l'espace sous cuticulaire s'explique par le fait que certains terpènes sont phytotoxiques et qu'il est indispensable de les accumuler dans des structures externes très spécialisées (Wagner, 1991).

Sans activité sécrétrice à proprement parler, ces trichomes tecteurs ramifiés, formés de plusieurs bras (*R. officinalis* et *A. triphylla*) ou pas (*O. basilicum*, *M. spicata* et *S. officinalis*) participent à l'équilibre hydrique de la plante car ils ralentissent l'évaporation et protègent les structures synthétisant les essences des poils sécréteurs.

Ces observations sont communes aux feuilles des espèces des Lamiaceae, considérées dans notre cas. Nous avons également remarqué que les feuilles de menthe verte, de basilic,

de sauge, de romarin et de verveine citronnée, sont pourvues de poils sécréteurs sur les épidermes supérieurs et inférieurs.

1.1. *R. officinalis*

Les micrographies des feuilles de romarin prises au MEB montrent que de l'épiderme émergent des poils tecteurs pluricellulaires et ramifiés ainsi que des poils sécréteurs uni, bi et pluricellulaires (Figure 27 b). Leur rôle est d'assurer la protection de la plante en diminuant l'évapotranspiration (Figure 27 a). Ces derniers, nommés aussi poils glandulaires, sont retrouvés sur la surface adaxiale et abaxiale de la feuille de romarin. Ils sont plus nombreux que les trichomes peltés. Les poils glandulaires sont constitués d'une seule cellule basale ancrée dans l'épiderme de la feuille, d'un pied porteur court unicellulaire ou bicellulaire et d'une large cellule sécrétrice constituée d'une ou de huit cellules sécrétrices, disposées en rosaces. Les cellules sécrètent l'huile biosynthétisée sous la cuticule protectrice. La récupération de son contenu en huile essentielle ne se fera que par rupture de la cuticule (Deyson, 1978 ; Wagner *et al.*, 2004).

Les trichomes peltés sont des poils glandulaires unicellulaires et à pied long. Ils prédominent les surfaces abaxiales et se localisent sur les dépressions épidermiques. Ils sont composés d'une cellule basale épidermique, de deux à trois cellules constituant le pied qui porte à son extrémité, une cellule sécrétrice. Les modes de sécrétion et d'excrétion des huiles essentielles sont identiques à ceux rapportés précédemment pour les trichomes capités .Ces observations corroborent celles de Bousbia (2011) qui a analysé les structures sécrétrices de *Rosmarinus officinalis* après extraction des huiles essentielles à partir des feuilles par les techniques d'hydrodistillation et micro-ondes. Cet auteur a observé les mêmes structures histologiques sécrétrices que celles que nous avons décrites ci-dessus.

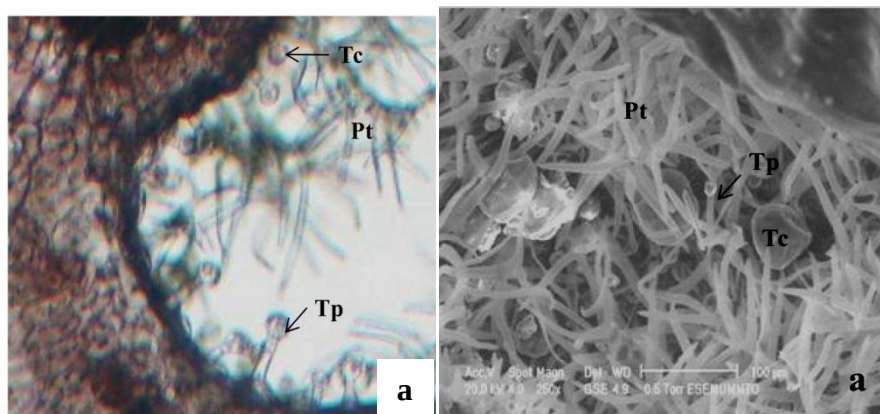


Figure 27 a : Coupe transversale de la feuille de *R. officinalis* observée au microscope optique x 400 montrant des poils tecteurs (Pt), des trichomes peltés (Tp) et des trichomes capités (Tc).

Figure 27 b : Micrographie de la feuille de *R. officinalis* montrant des poils tecteurs (Pt), des trichomes peltés (Tp) et des trichomes capités (Tc), au MEB x 250.

La surface foliaire adaxiale de *O.basilicum* est parsemée de poils sécréteurs capités, constitués chacun par une tête unicellulaire portée par une cellule unique (Figure 28 a). La coupe transversale présente un limbe comportant des poils tecteurs (Figures 28 b)

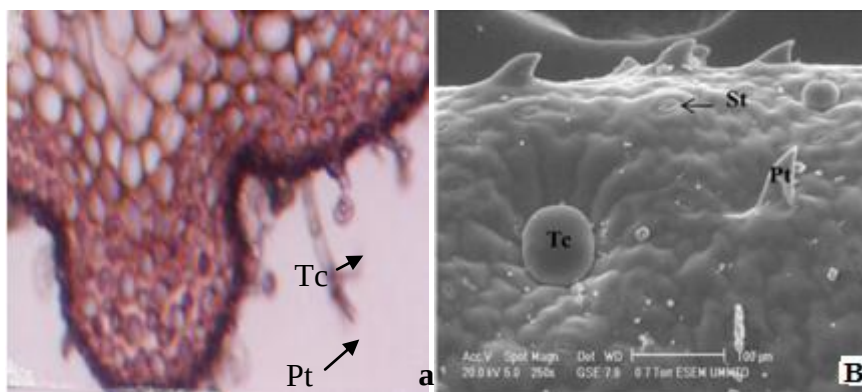


Figure 28 a : Coupe transversale de la feuille de *O. basilicum* observée au microscope optique x 400 montrant des poils tecteurs (Pt), des trichomes capités (Tc).

Figure 28 b : Micrographie de la feuille de *O. basilicum* montrant des poils tecteurs (Pt), et des trichomes capités (Tc) au MEB x 250.

1.3.A. *triphylla*

Chez *A.triphylla*, la répartition des structures glandulaires sur la surface foliaire montre l'existence de trichomes glandulaires peltés et de trichomes glandulaires capités (Figure 29a), certains sont fortement ramifiés et portent souvent des glandes à l'extrémité de ces ramifications (Figure 29b).

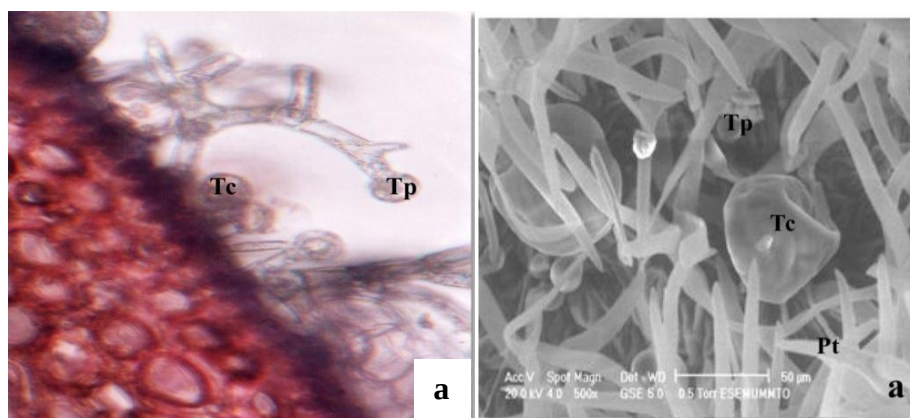


Figure 29 a : Coupe transversale de la feuille de *A. triphylla* observée au microscope optique x 400 montrant des poils tecteurs (Pt), des trichomes peltés (Tp) et des trichomes capités (Tc).

Figure 29 b : Micrographie de la feuille de *A. triphylla* montrant des poils tecteurs (Pt), des trichomes peltés (Tp) et des trichomes capités (Tc) au MEB x 250.

3.1.4. *Salv officinalis* FI

3.1.4. *S. officinalis*

1.4. *S. officinalis*

De l'épiderme des feuilles de sauge émergent des poils tecteurs unicellulaires et parfois bicellulaires et des poils sécréteurs dont certains sont à pieds longs et d'autres à pieds courts (Figures 30a et 30b).

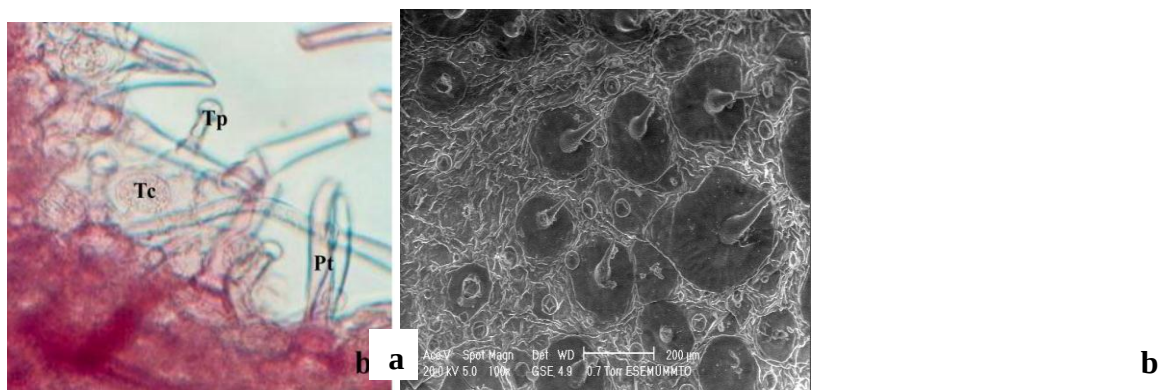


Figure 30 a : Coupe transversale de la feuille de *S. officinalis* observée au microscope optique x 400 montrant des poils tecteurs (Pt), des trichomes peltés (Tp) et des trichomes capités (Tc).

Figure 30 b : Micrographie de la feuille de *S. officinalis* montrant des poils tecteurs (Pt) et des trichomes capités (Tc) au MEB x 250.

1.5. *M. spicata*

L'appareil sécréteur des huiles essentielles des feuilles de *M. spicata* est externe, comme dans le cas de la majorité des Lamiaceae. Il est localisé sur l'épiderme de la feuille. Il s'agit de trichomes glandulaires capités spécialisés qui accumulent les huiles essentielles dans des compartiments de stockage intracellulaire et les rejettent à l'extérieur de la surface du végétal au niveau de la cavité subcuticulaire des cellules sécrétrices (Figure 31a).

Des trichomes tecteurs sont également visualisés, ce sont des filaments bi et parfois tricellulaires (Figure 31b)

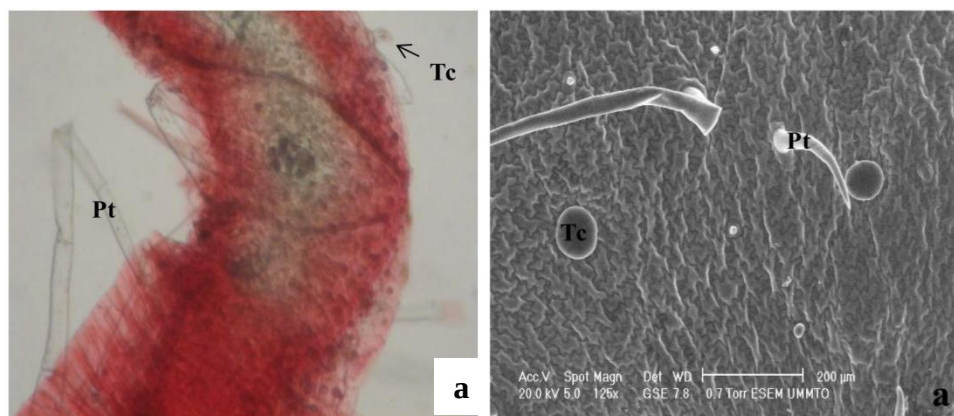


Figure 31 a : Coupe transversale de la feuille de *M.spicata* observée au microscope optique x 400 montrant des poils tecteurs (Pt) et des trichomes capités (Tc).

Figure 31 b : Micrographie de la feuille de *M.spicata* montrant des poils tecteurs (Pt), et des trichomes capités (Tc) au MEB x 250.

2.Myrtaceae

2.1. *E. globulus*

La feuille de *E. globulus* présente des structures sécrétrices endogènes sous forme de cavités, de diamètre moyen localisées au niveau du parenchyme palissadique (facilement détectables au microscopie photonique). Ce sont des poches sécrétrices sphériques schizogènes qui sont nombreuses et actives (Figure 32a et 32b).

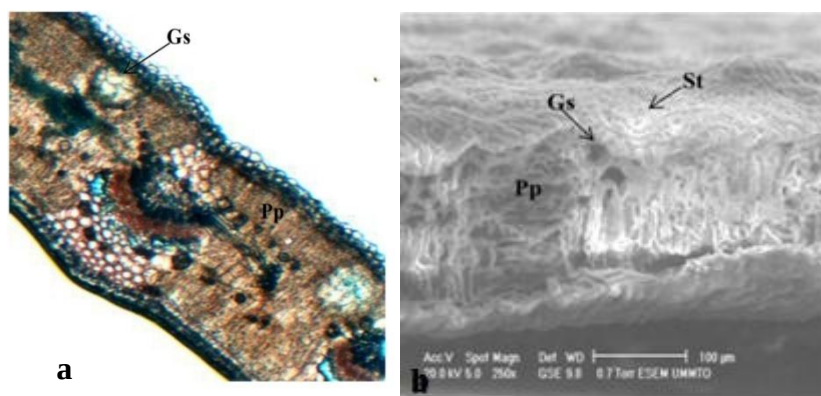


Figure 32 a : Coupe transversale de la feuille de *E. globulus* observée au microscope optique x 400 montrant des poches sécrétrices schizogènes (Gs) d'huile essentielle au niveau du parenchyme palissadique (Pp).

Figure 32 b : Micrographie de la feuille de *E. globulus* montrant des poches sécrétrices (Gs) localisées au niveau du parenchyme palissadique (Pp) ainsi que des stomates sur l'épiderme de la feuille au MEB x 250.

2.2. *E. radiata*

Les unités sécrétrices de la feuille de *E. radiata* sont des poches sphériques schizogènes dont la lumière centrale est agrandie par la multiplication des cellules bordantes. Elles sont endogènes localisées à proximité de la surface de la plante (Figures 33a et 33b).

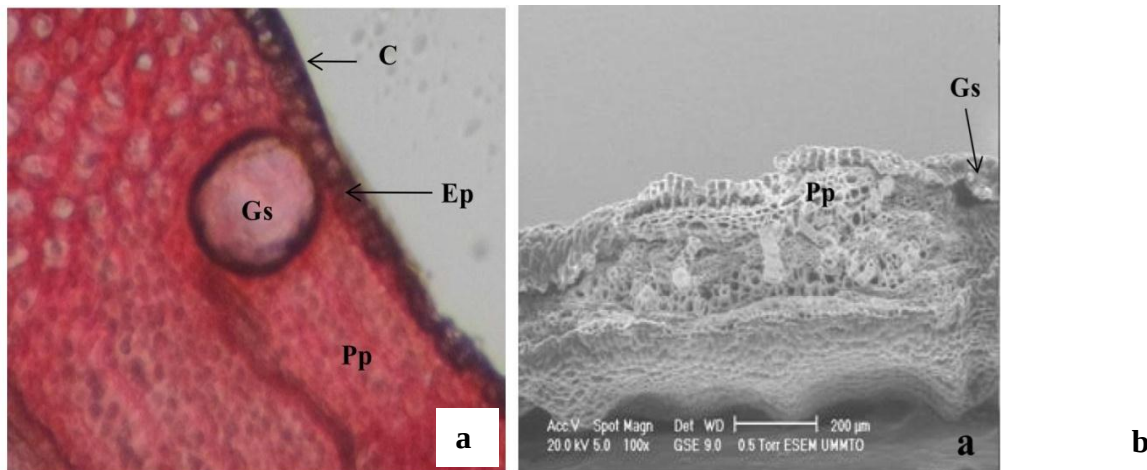


Figure 33 a : Coupe transversale de la feuille de *E. radiata* observée au microscope optique x 400 montrant des glandes sécrétrices (Gs) d'huile essentielle au niveau du parenchyme palissadique (Pp)

Figure 33 b : Micrographie de la feuille de *E. radiata* montrant des glandes sécrétrices (Gs) localisées au niveau du parenchyme palissadique (Pp) au MEB x 100.

2.3. *M. communis*

Les poches sécrétrices sous-épidermiques auraient pour origine une cellule épidermique qui donne naissance à quatre cellules filles qui se séparent et génèrent la poche sécrétrice d'huile essentielle (Fig. 34a et 34b).

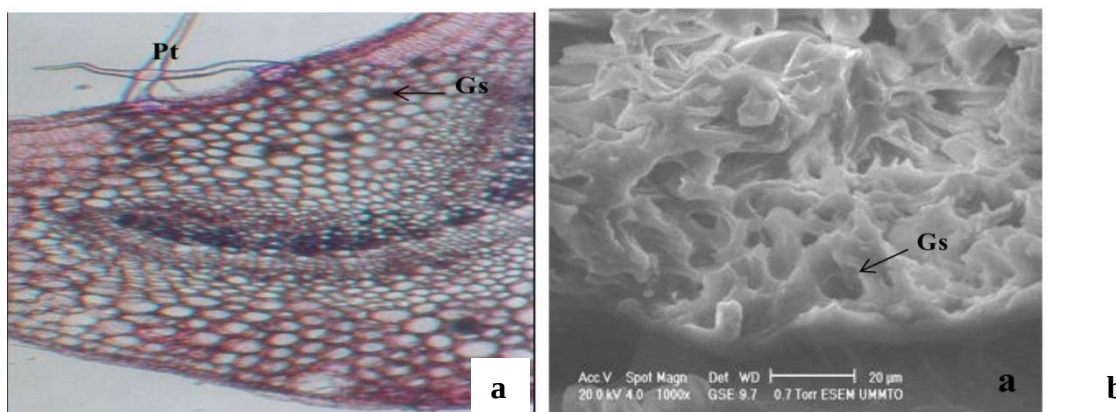


Figure 34 a : Coupe transversale de la feuille de *M. communis* observée au microscope optique x 400 montrant des poils tecteurs (Pt) et des glandes sécrétrices (Gs) d'huile essentielle.

Figure 34 b : Micrographie de la feuille de *M. communis* montrant des glandes sécrétrices (Gs) d'huile essentielle au MEB x 1000.

3. Lauraceae (Cas de *L. nobilis*)

Chez *L. nobilis*, des canaux sécréteurs sont visualisés sous le parenchyme palissadique de la feuille. Ils se présentent sous forme de cellules isolées comme dans le cas de toutes les Lauraceae. Ils sont très nombreux, de forme arrondie et entourés par une assise de cellules sécrétrices. Les stomates ne sont présents que sur la face abaxiale des feuilles. Elles sont donc hypostomatiques. L'épiderme supérieur est formé de grosses cellules recouvertes d'une cuticule épaisse, caractérisé par une absence complète de poils.

Le parenchyme qui fait suite est formé de cellules ovalaires, allongées se retrouvant même jusque dans le parenchyme lacuneux ; ces cellules ont comme caractère particulier la présence de glandes unicellulaires, volumineuses, remplies d'huile essentielle (Figures 35a et 35b).

L'épiderme inférieur n'a rien de particulier, il est comme le précédent, dépourvu de poils et entouré d'une cuticule épaisse et assez résistante.

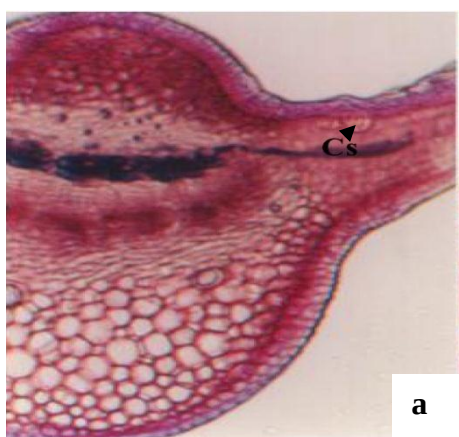


Figure 35 a : Coupe transversale de la feuille de *L. nobilis* observée au microscope optique x 400 montrant des canaux sécréteurs.

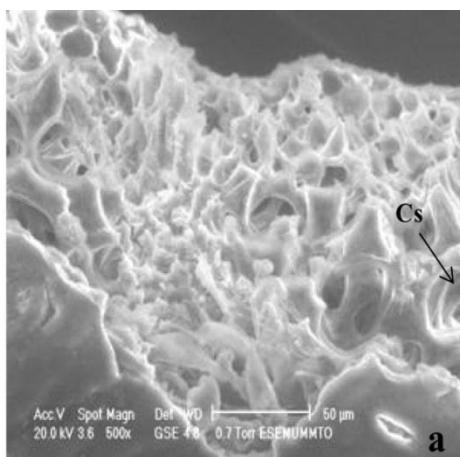


Figure 35 b : Micrographie de la feuille de *L. nobilis* montrant des canaux sécréteurs au MEB x 500.

4. Anacardiaceae (Casde *P. lentiscus*)

Le canal sécréteur glandulaire lysigène de *P. lentiscus* apparait comme une poche de diamètre moyen. Ce canal glandulaire est de forme sphérique et bordé par une rangée de cellules sécrétrices disposées de manière régulière. Sur l'épiderme prennent naissance des poils tecteurs (Figure 36 a et 36 b).

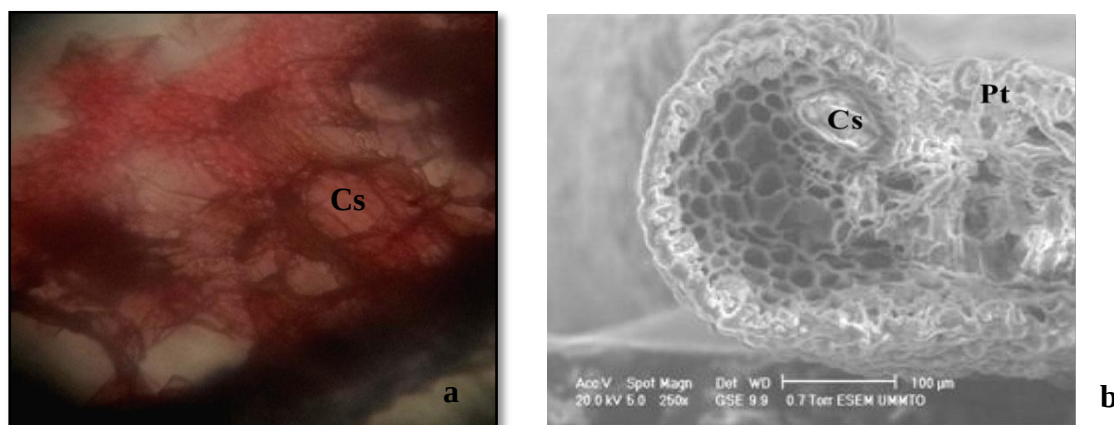


Figure 36 a: Coupe transversale de *P. lentiscus* montrant les canaux sécréteurs des huiles essentielles en microscope optique x 400.

Figure 36 b: Micrographie de la feuille de *P. lentiscus* montrant des canaux sécréteurs et des poils tecteurs (Pt) au MEB x 250.

Les observations effectuées aux microscopes optique et à balayage ont montré la richesse des feuilles des différentes espèces, appartenant à la famille des Lamiacées, en poils sécréteurs capités et peltés et par conséquent recèlent des quantités considérables d'huiles essentielles, ce qui confirme les rendements obtenus dans la première partie de notre travail.

Les deux espèces d'*Eucalyptus* présentent de nombreuses poches sécrétrices schizogènes et endogènes. L'espèce *L. nobilis* est également très riche en canaux sécréteurs alors que *P. lentiscus* et *M. communis* se sont distinguées par la rareté des structures endogènes, localisées dans le parenchyme chlorophyllien lacuneux, ce qui s'est vérifié par de faibles rendements en huiles essentielles. *P. lentiscus* est caractérisé par des canaux glandulaires lysigènes.

Sur l'épiderme supérieur apparaissent très peu de stomates, comparé à l'épiderme inférieur qui montre un nombre plus important.

L'orifice du stomate est une fente (ostiole) localisée entre deux cellules épidermiques. Les stomates doivent être ouverts par la plante pour absorber le CO₂, pour l'assimilation chlorophyllienne et évaporer l'eau, pour appeler la montée de la sève brute des racines vers les feuilles. En cas de sécheresse, l'ouverture des stomates est limitée pour éviter les pertes d'eau excessives (Gregory et *al.*, 1950). De cette étude, nous pouvons dire que selon les espèces, différentes structures plus ou moins complexes sont responsables de la biosynthèse, du stockage et de l'émission des huiles essentielles. Les canaux sécréteurs et les glandes sécrétrices ont été observés, respectivement chez *L. nobilis*, *P. lentiscus* et *M. communis*.

Chez les espèces de Lamiaceae, nous avons observé deux types de glandes sécrétrices représentés par des trichomes peltés et des trichomes capités, conformément à ce qui a été rapporté par Perrin et Colson (1986), en étudiant l'appareil sécréteur des lavandes et lavandins de France. Nous avons remarqué que ces structures sont surtout localisées sur les faces inférieures des feuilles des espèces végétales étudiées. Ces trichomes sécréteurs sont formés de quelques cellules épidermiques basales, d'un pied surmonté d'une à plusieurs cellules de tête, sécrétrices. Ce cas est illustré par les poils sécréteurs de *R. officinalis* et *S. officinalis*.

L'huile essentielle est stockée sous la cuticule de ces cellules de tête. Des poils tecteurs parfois ramifiés (*S. officinalis*) ou non (*M. spicata*) protégeraient les structures sécrétrices et participeraient à l'équilibre hydrique de la plante en ralentissant l'évaporation d'eau pour mieux résister à la sécheresse.

Conclusion

Les structures sécrétrices des huiles essentielles sont des trichomes capités ou peltés mêlés à des poils tecteurs protecteurs des organes sécréteurs sur l'épiderme des feuilles des Lamiaceae. Des canaux et des poches sécrétrices sont localisées dans le parenchyme palissadiques des feuilles de *P.lentiscus*, de *M. communis* des deux espèces d'eucalyptus et de *L. nobilis*.

Partie 3 : "Extraction des huiles essentielles par
entraînement à la vapeur d'eau et
analyse par CG/MS"

Introduction

Dans une étude préliminaire, dans la partie I, il est question de l'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation et de l'influence du temps sur la cinétique de rendement. Dans cette partie, nous procéderons dans un premier temps à l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau des huiles essentielles, à partir des différentes espèces de plantes considérées, par un extracteur pilote, au niveau de CRD Saïdal d'el Mohamadia d'El Harrach. Dans un deuxième temps, nous effectuerons l'analyse quantitative et qualitative des huiles essentielles extraites par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS).

Revue bibliographique

1. Introduction

Pour l'identification d'un composé déjà connu et dont les caractéristiques spectrales sont décrites, le couplage de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) associée à la spectrométrie de masse (SM) constitue l'équipement de base des laboratoires de contrôle ou même de recherche (Bouchonnet et *al.*, 1999).

La technique d'analyse est généralement désignée sous le terme abrégé de « GC /MS » pour « *Gas chromatography I Mass Spectrometry* ». La GC/MS est aujourd'hui à son apogée et trouve des applications dans des domaines aussi variés que l'industrie alimentaire, la médecine, la pharmacologie ou l'environnement (Rouessac et Rouessac, 1992).

La chromatographie en phase gazeuse est une technique physicochimique abondamment utilisée depuis de nombreuses années, ce qui n'est pas le cas de la spectrométrie de masse dont les aspects techniques sont moins connus, c'est pourquoi nous avons jugé judicieux de décrire et d'expliquer les principes de ces deux techniques et ce en nous basant sur la bibliographie que nous avons consultée (Longerviale,1981 ; Tranchant, 1995 ; Pradeau et Cohen, 1992).

2. Chromatographie en phase gazeuse

Le rôle du chromatographe est de séparer les constituants d'un mélange. La chromatographie en phase gazeuse est réservée à l'analyse de composés relativement volatile et thermiquement stables. Le chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur. Il existe différents types de détecteurs mais le spectromètre de masse tend aujourd'hui à supplanter tous les autres car il est le seul à fournir des informations structurales sur les composés séparés par chromatographie (Bouchonnet et *al.* ;, 1999)

2.1. Injecteur

L'injecteur est une zone chauffée où l'échantillon est introduit en solution au moyen d'une microsiringue puis vaporisé et mélangé au gaz vecteur. Le gaz vecteur, classiquement de l'hélium, constitue la phase dite mobile. Son rôle consiste à véhiculer les analyses depuis l'injecteur jusqu'au détecteur via la colonne analytique puis il l'amène dans le flux gazeux en tête de colonne.

Il existe des familles d'injecteurs, le premier regroupe les injecteurs dits à fuite. Le mode d'injection le plus répandu est l'injection en split ou injection avec division de flux, il est utilisé pour l'analyse de solutions concentrées. Très simple à mettre en œuvre, l'injection

en mode split présente néanmoins un inconvénient : des problèmes de discrimination sont fréquemment rencontrés lorsque la solution à analyser contient des composés dont les volatilités sont très homogènes (les plus légers auront tendance à s'échapper par la fuite alors que les produits lourds, mal vaporisés, resteront majoritairement dans l'injecteur).

La seconde famille regroupe les injections sans fuite. L'injection splitless, ou sans division de flux, est utilisée pour introduire des analyses en solution diluée.

Dans un premier temps, le solvant joue le rôle de phase stationnaire vis-à-vis des différents constituants. Cette technique est plus performante que le splitless en terme, de répétabilité et de sensibilité.

2.2. Colonne

Elle se présente sous forme d'un tube en silice, enroulée sur lui-même et de longueur allant de 1 à plus de 60 m. Elle est placée dans une enceinte à température régulée. Entraînés par un gaz vecteur inerte, les analytes étudiés sont séparés en fonction de leur capacité d'interaction avec la phase stationnaire.

2.3. Détecteur

Il s'agit du module qui va permettre de détecter voir d'identifier les composés en sortie de colonne.

2.3.2. Mode de détection par la spectrométrie de masse

Lorsqu'un composé moléculaire est soumis à l'analyse par spectrométrie de masse, un processus à plusieurs étapes est initié. Les étapes ainsi distinguées sont résumées par Pradeau et Cohen (1992) comme suit :

- Ionisation : des molécules présentes dans l'échantillon passent à l'état gazeux par effet du vide et sont ionisées par un des procédés existants. Il en résulte un mélange d'ions issus de la fragmentation des molécules de départ ;
- Accélération : sitôt formés, les ions sont dirigés vers le dispositif de séparation par l'effet d'un champ électrique qui accroît leur énergie cinétique ;
- Séparation : les ions sont alors triés suivant leur rapport leur masse/charge ;
- Détection : Après séparation, les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées ;

- Traitement du signal : le signal de sortie de l'appareil conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leur rapport masse/échange.

Pour identifier un composé moléculaire par spectrométrie de masse, deux approches sont possibles :

- Soit en faisant appel à une spectrothèque où est répertorié un grand nombre de spectres, parmi lesquels on retrouvera celui du composé étudié, s'il existe dans la collection ;
- Soit en essayant de reconstituer la structure de départ.

Cette seconde possibilité est un exercice d'une grande complexité, les fragmentations étant assez souvent difficilement prévisibles. Il faut alors disposer de plusieurs spectres enregistrés dans des conditions différentes.

Les échantillons à chromatographie sont dissous dans un solvant vaporisable n'ayant aucune affinité pour les matériaux qui constituent la colonne.

Ils sont transformés en vapeur dans une chambre d'injection préalablement chauffée à température élevée où ils sont volatilisés.

De la, un gaz, inerte dit gaz vecteur « N_2H_2 », « He », qui est la phase mobile, les fait migrer à travers une colonne (phase stationnaire) à l'intérieur de laquelle s'opère une préparation entre les différents constituants.

A la sortie, se trouve un détecteur où le passage de chaque soluté (les substances ou solutés sont entraînés à des vitesses variables et sont donc séparés) est traduit par un signal électrique. Ce courant est mesuré en continu sur un enregistreur en fonction de temps, ce qui permet d'obtenir le chromatogramme où chaque constituant correspond à une augmentation du courant symbolisé par un pic. Les solutés peuvent être identifiés par spectroscopie (infrarouge ultraviolet ou spectrographie de masse) (Longervialle, 1981).

Matériel et méthodes

1. Matériel

Notre extraction est de type entraînement à la vapeur d'eau pour les extractions globales, faites par un extracteur pilote de type alambic. Cet appareil est formé des parties suivantes :

- D'un alambic d'une capacité de 100 l ;
- D'un condensateur ;
- D'un décanteur (essencier) ;
- D'un système de colobage ;
- D'un vase ou corbeille.

2. Méthodes

2.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

La chaudière est conçue pour recevoir la corbeille dans laquelle l'échantillon végétal à distiller (de 20 à 25 kg) est déposé. Il faut en premier lieu supprimer les résidus des huiles essentielles dans l'extracteur pilote en effectuant 3 lavages : deux lavages à blanc, d'une durée de deux heures chacun avec de l'eau et un troisième lavage d'une même durée avec la plante à extraire. Il faut ensuite peser 25 kg de matière végétale à traiter et la placer dans le panier perforé.

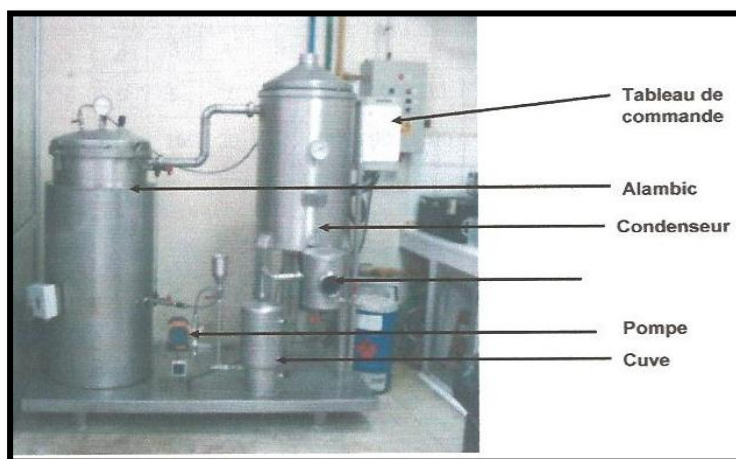


Figure 37 : Extracteur pilote (CRD Saïdal, 2008)

Il faut ensuite remplir l'extracteur d'eau et surveiller le niveau d'eau, puis procéder à la mise en marche de l'équipement selon le mode d'utilisation.

Au départ, le réfrigérant est rempli d'eau, la température de l'appareil est réglée à 100°C pour favoriser au maximum l'évaporation de l'eau du végétal (l'eau s'évapore, puis traverse les différents tissus du végétal en entraînant les molécules d'huile essentielle).

Les vapeurs quittent la chaudière vers le réfrigérant, à travers un tube métallique inoxydable, lequel est raccordé au serpentín du réfrigérant rempli d'eau et dont la température avoisine les 12 – 13 °C, de ce fait, les vapeurs condensées dans le serpentín sont récupérées dans l'essencier.

Après la mise en marche de cet appareil, il faut :

- Fixer le débit d'eau et suivre l'évolution de la température sur l'extracteur et le tableau de commande.
- Régler la vitesse de la surface de séparation eau/huile dans l'essencier.
- Arrêter le système à la fin de l'opération.
- Récupérer l'huile essentielle de l'essencier et effectuer une seconde décantation dans une ampoule à décanter, durant une période permettant ainsi la différenciation des deux phases sans rajout de solvant.

Les prélèvements des feuilles ont été effectués séparément, les feuilles de *E. globulus*, *E. radiata*, *M. communis*, *S. officinalis*, *P. lentiscus*, *L. nobilis*, en juin 2011 et celles de *O. basilicum*, *A. triphylla*, *M. spicata* et *R. officinalis* (Lamiaceae), en juillet 2008. Le choix de ces plantes a été motivé par le fait que ce sont des espèces végétales qui ne sont sujettes à aucune contraintes, qu'elle soit écologique ou physiologique. Certaines poussent spontanément dans la région d'étude et d'autres sont largement cultivées par la population locale. Ajoutons à cela, la richesse de leurs organes en huiles essentielles (donc rentables économiquement), rapportée par la bibliographie.

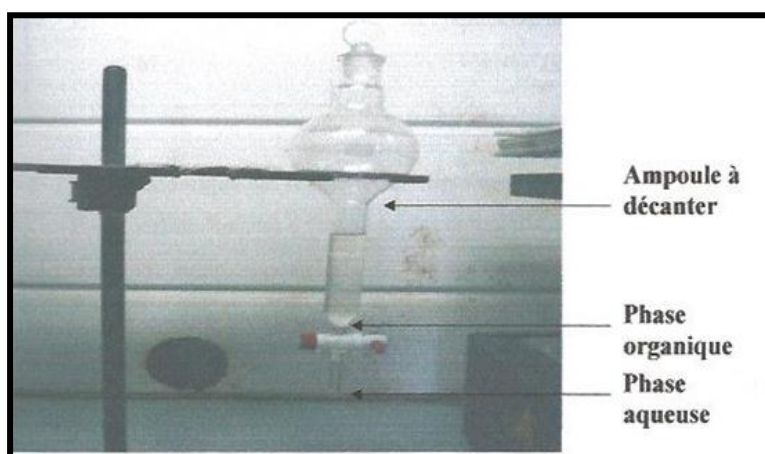


Figure 38 : Huile essentielle dans une ampoule à décanter.

Les huiles obtenues sont conservées dans des flacons en verre opaque, à l'abri de la lumière et à une température de 4°C.

2.2. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles

Pour l'identification des composés volatiles des huiles extraites, nous avons utilisé la technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse à l'INRAP (Institut national de Recherche et d'Analyses physicochimiques, Technopole Sidi Thabet, en Tunisie).

L'appareil du GC/MS est un agilent et le système d'injection est le split splitless. La longueur de la colonne est de 30 m, son diamètre est de 0,25 mm et la colonne est d'une épaisseur de 0,25 μm .

La température initiale de 40°C est maintenue pendant une minute. La température augmente à raison de 2 °C/mn, jusqu'à atteindre 240°C. Cette dernière est maintenue pendant 20 mn. La température régnant dans l'injecteur et l'interface est de 250° C, celle de la source est de 230°C.

Le chromatogramme des ions totaux est enregistré en utilisant une source d'impact électronique et l'énergie cinétique des ions est de 70 eV. Les standards ont été identifiés par les masses spectrales pour l'US National Institut des Standards.

Les résultats des analyses des huiles essentielles sont présentés sous forme de chromatogrammes et d'un rapport de Database / Nist (Institut National de Standard et de Technologie).

Le chromatogramme de chaque huile essentielle comporte plusieurs pics. Chaque pic est représenté par un temps de rétention qui représente la nature du composé de l'huile essentielle et par un pourcentage de l'aire du pic, qui constitue le pourcentage du composé de l'huile par rapport aux autres composés.

Quant aux rapports de Database NIST, c'est un tableau qui regroupe les caractéristiques de chaque pic du chromatogramme (huile essentielle), selon la méthode C / msd chem / 1Method / HP16 HE. SAM-0,1M.

Après identification des différents constituants des huiles essentielles, nous avons classé les composés terpéniques selon le nombre d'unités en C_{10} qu'ils comportent, par rapport au nombre total des composés de chaque huile essentielle (monoterpènes : $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$; sesquiterpènes : $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$ et les diterpènes : $\text{C}_{20}\text{H}_{32}$) (Guignard, 2004).

Résultats et discussion

Dans cette partie nous traiterons séparément les résultats obtenus pour les échantillons de feuilles prélevées en juin 2011 et ceux obtenus pour les échantillons collectés en juillet 2008. Les résultats des analyses des huiles essentielles sont configurés sous forme de chromatogrammes. Chacun comportant plusieurs pics, 21 pour *E. radiata* (Annexe 3, Figure 1), 23 pour *E. globulus* (Annexe 3, Figure 2), 25 pour *M. communis*, (Annexe 3, Figure 3), 26 pour *S. officinalis* (Annexe 3, Figure 4), 29 pour *O. Basilicum* (Annexe 3, Figure 5), 30 pour *R. officinalis*, *L. nobilis* et *M. spicata* (Annexe 3, Figures 6, 7 et 8), 31 pour *A. triphylla* (Annexe 3, Figure 9) et 52 pour *P. lentiscus* (Annexe 3, Figure 10).

1. Composition chimique des huiles essentielles extraites à partir de *E. globulus*, *E. radiata*, *M. communis*, *S. officinalis*, *P. lentiscus* et *L. nobilis*

Les six huiles essentielles extraites sont formées d'hydrocarbures représentés par des terpènes, des sesquiterpènes et des diterpènes ainsi que de composés oxygénés tels que les alcools, les esters, les éthers, les aldéhydes, les cétones, les phénols et les éthersphénoliques.

Les monoterpènes correspondent aux principaux constituants des six substances naturelles analysées, plus particulièrement chez *S. officinalis*, et les sesquiterpènes viennent en deuxième position (tableau 5). Parmi les composés oxygénés, les alcools sont les plus représentés.

Tableau 5 : Concentrations (%) en composés organiques volatiles de six huiles essentielles analysées, provenant de Kabylie (Algérie).

Espèces végétales Composés		<i>E. globulus</i>	<i>E. radiata</i>	<i>M. communis</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>P. lentiscus</i>
Terpènes	Monoterpènes	40	45,23	48,14	66,66	28,57	43,33
	Sesquiterpènes	27,5	23,8	11,11	19,04	32,14	16,66
	Cétones	2,27	-	-	-	-	1,58
	Diterpènes	2,5	2,38	-	-	-	-
Composés Oxygénés	Alcools	10	9,52	11,11	4,76	-	8,33
	Esters	-	-	3,70	-	-	1,66
	Ethers	2,5	2,38	3,70	-	-	1,66
	Aldéhydes	2,5	4,75	-	-	-	-
	Phénols	2,5	-	-	4,75	3,57	1,66
	Ethers phénoliques	-	-	3,70	-	-	-

L' α pinène et le β pinène sont les composés monoterpéniques les plus communs des huiles extraites. Les concentrations en α pinène varient de 2 à 19 % et celles du β pinène de 0,21 à 3,71 % environ pour les six espèces végétales étudiées (Tableau 3).

L'eucalyptol est le constituant principal chez *E. globulus*, *E. radiata*, *M. communis* et *L. nobilis* ; ce composé est absent chez *S. officinalis* et *P. lentiscus*. Le globulol (sesquiterpène) est présent avec une proportion de 8,65% chez *E. globulus*, alors qu'il est de 6,13% chez *E. radiata* alors qu'il est absent chez *M. communis* et *L. nobilis*.

L'huile essentielle de *S. officinalis* est la plus riche en sabinène avec 7,88%, ce constituant est absent dans les autres huiles essentielles. Les huiles essentielles des deux espèces d'eucalyptus ont plus de 70 composés en commun et 8 composés différents comme l' α terpène, le camphène et le citral. L' α terpène n'existe que dans l'huile essentielle de *E. globulus*. L'huile essentielle de *M. communis* est constituée de dix composés spécifiques qu'on ne retrouve pas dans les autres huiles essentielles (cas du Linalylbutyrate, pulégone, estragol et thymol).

L'huile essentielle de *L. nobilis* s'est révélée riche en terpinolène, avec 13,75 % alors que ce composé existe en très faible proportion (0,24%) chez *E. globulus* et *E. radiata*.

Certains constituants ne sont présents que chez une seule espèce végétale, 17 chez *S. officinalis* (eugénol par exemple) et 38 chez *P. lentiscus* (D-limonène, camphor...)(Tableau 6).

Tableau 6: Composition chimique de 6 huiles essentielles provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS

Constituants	<i>E. globulus</i>	<i>E. radiata</i>	<i>M. communis</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>P. lentiscus</i>
α -pinène	7,69	2,98	18,96	2,05	4,14	2,22
Camphène	0,08	-	-	4,14	0,33	0,24
β -pinène	0,39	0,86	0,49	2,67	3,71	0,21
β -myrcène	0,36	1,03	-	2,16	1,42	-
α -terpène	0,18	-	-	-	-	-
Eucalyptol	47,05	66,34	26,2	-	28,6	-
1,4-cycloexadienne	1	0,98	-	-	-	-
P. cymène	3,48	3,44	1,33	-	-	14,85
Terpinolène	0,24	0,24	-	-	13,75	-
Isopentyl-isovalérate	0,17	3,64	-	-	-	-
Thujone	0,15	0,15	-	-	-	0,19
α -campholenal	0,15	0,15	-	-	-	-
α -gurjunène	0,17	0,11	-	-	-	0,17
β -citral	-	0,85	-	-	-	-
3cyclohexene-1-citral	-	0,23	-	-	-	-
α -pinène oxyde	-	-	0,18	-	-	-
Linalylbutyrate	-	-	0,26	-	-	-
Myrtenol	0,17	0,17	1,08	-	-	-
Isobutanoate	-	-	0,15	-	-	-
Géraniol	0,15	1,04	0,18	-	-	-
Caryophyllène oxyde	-	-	0,26	0,67	0,44	-
Eugenolmethyl	-	-	1,57	-	-	-
1H-Cycloprop [e] azulène	-	-	-	-	0,65	-
Naphtalène	-	-	-	0,34	0,37	0,82
Borneol	-	-	-	1,4	-	-
Naphtalène cis	-	-	-	0,46	-	-
D-Fenchyl-Alcool	0,23	0,23	-	-	-	-

Tableau 6: Composition chimique de 6 huiles essentielles provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS (suite)

Constituants	<i>E. globulus</i>	<i>E. radiata</i>	<i>M. communis</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>P. lentiscus</i>
Aromadendrène	1,38	1,34	-	0,2	-	1,88
4- Carbomethanol	0,41	-	-	-	-	-
Alloaromadendrène	0,42	3,01	-	-	-	-
Viridiflorène	0,18	-	-	-	-	0,22
α -Terpinène	3,58	0,21	-	-	-	-
α -Terpineol	1,93	14,42	4,84	-	-	-
Carbone	0,27	0,21	-	-	-	-
Cyclohexanol, 2-méthyl-5-isopropenyl	0,72	0,72	-	-	-	-
2,3-Dihydro-1,8-cineol,	0,32	0,25	-	-	-	-
Palustrol	0,13	0,13	-	-	-	0,15
Epiglobulol	1,65	1,6	-	-	-	0,12
ledol	0,38	0,3	-	-	-	0,86
Globulol	8,65	6,13	-	0,64	-	0,75
γ -gurjunène	1,45	1,45	-	-	0,2	1,99
Eromophilen	0,41	0,38	-	-	-	0,13
Spatulenol	0,63	0,25	-	-	-	13,09
γ -eudesmol	0,21	0,18	-	-	-	-
Thymol	1,49	0,98	-	-	-	-
α -Eudesmol	0,58	0,6	-	-	-	-
β - Eudesmol	0,62	0,64	-	-	0,21	-
Biosol	1,83	1,83	-	-	-	-
5-Epi-Neointermedeol	0,16	0,13	-	-	-	-
β -phellandrène	1,63	163	-	0,2	-	5,61
Pcymol	1,55	1,55	-	-	-	-
Linalol	0,55	0,53	2,5	-	-	-
Terpineol	2,35	2,32	-	-	-	-
Azulène	-	-	-	30,6	-	-
Thuyène	-	-	-	0,63	-	0,28
Sabinène	-	-	-	7,88	-	-

Tableau 6: Composition chimique de 6 huiles essentielles provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS (suite).

Constituants	<i>E. globulus</i>	<i>E. radiata</i>	<i>M. communis</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>P. lentiscus</i>
1-phellandrène	-	-	-	0,13	-	-
γ -terpinène	-	-	-	0,43	0,92	1,65
cis- ocimène	-	-	-	0,51	-	-
P cymol	-	-	-	1,67	-	-
Cycloexene 1 methyl-4	-	-	-	0,27	-	-
Lepidozene	-	-	-	-	0,58	-
Cis-geranylacétate	-	-	-	-	0,21	-
β -bergamotène	-	-	-	-	0,27	-
β -Cadinene	-	-	-	-	0,37	-
Cis geraniol	-	-	-	-	0,18	-
Caryophyllèneoxide	-	-	-	-	0,44	-
Methyleugenolether	-	-	-	-	4,38	-
Spathulenol	-	-	-	-	2,59	-
Cynnamylacetate	-	-	-	-	0,28	-
Eugenol	-	-	-	-	2,59	-
Isospathulenol	-	-	-	-	0,49	-
Elemicine	-	-	-	-	0,51	-
Benzylisopentylether	-	-	-	-	-	0,05
α - phellandrène	-	-	-	-	-	1,82
β - myrcène	-	-	-	-	-	1,91
4- carène	-	-	-	-	-	0,85
D limonène	-	-	-	-	-	2,47
α terpinolène	-	-	-	-	-	0,82
2,Nonanone	-	-	-	-	-	0,11
Isopentylhexanoate	-	-	-	-	-	0,14
α -cubebène	-	-	-	-	-	0,27

Tableau 6: Composition chimique de 6 huiles essentielles provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS (suite).

Constituants	<i>E. globulus</i>	<i>E. radiata</i>	<i>M. communis</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>P. lentiscus</i>
Camphor	-	-	-	-	-	0,08
β -Linalool	-	-	-	-	-	0,57
L Bornylacetate	-	-	-	-	-	0,99
Crypton	-	-	-	-	-	2,8
Bormylène	-	-	-	-	-	0,28
2 carène	-	-	-	-	-	1,52
Phellandral	-	-	-	-	-	2,39
δ Cadinène	-	-	-	-	-	1,45
Cuminal	-	-	-	-	-	2,37
Croneton	-	-	-	-	-	0,37
A-phellandrèneepoxide	-	-	-	-	-	0,13
Calamène	-	-	-	-	-	0,17
P-Cyménol	-	-	-	-	-	0,29
1,5-Menthadien-7-ol	-	-	-	-	-	0,15
Fonénol	-	-	-	-	-	0,16
Isoaromadendrène	-	-	-	-	-	0,69
γ cadinène	-	-	-	-	-	0,42
cuminol	-	-	-	-	-	0,66
α cadinol	-	-	-	-	-	0,45
Allospathulenol	-	-	-	-	-	1,03
β -Selinol	-	-	-	-	-	0,12
Carvacrol	-	-	-	-	-	2,73
Dehydroaromadendrène	-	-	-	-	-	0,17
Lepidozenal	-	-	-	-	-	0,35
Phytol	-	-	-	-	-	0,22
Manool	-	-	-	-	-	1,43
Butyric acide	-	-	-	-	0,68	-
L 4 terpineol	-	-	-	-	1,45	-
Isovaleraldehyde	-	-	-	-	8,82	-
Pentane	-	-	-	-	2,14	-

Tableau 6: Composition chimique de 6 huiles essentielles provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS (suite).

Constituants	<i>E. globulus</i>	<i>E. radiata</i>	<i>M. communis</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>P. lentiscus</i>
Phenol	-	-	-	-	1,73	-
Pulegone	-	-	0,22	-	-	-
α -caryophyllène	-	-	0,34	2,83	-	1,08
Estragol	-	-	0,42	-	-	-
Thujol	-	-	0,27	-	-	-
1,3cyclohexadienne	-	-	0,52	-	0,5	-
Acetate	-	-	0,36	-	-	-
Geraniolacetate	0,29	0,2	3,48	-	-	-
3-cyclohexane-1-ol	-	-	0,41	0,49	-	3,41
Mertynal	-	-	0,18	-	-	-
Caryophyllène	-	-	0,91	-	-	2,66
Citral	-	1,11	-	-	-	-
Methylcinnamate	-	0,32	-	-	-	-
Isobutylisobutanoate	-	-	0,38	-	-	-
3- carène	-	-	0,14	-	0,57	-
Butoxycarboxim	-	-	0,34	-	-	-
Limonène	-	-	11,12	-	1,61	-

L'huile essentielle de *P. lentiscus*, provenant de Kabylie, s'est montrée particulièrement riche en composés monoterpéniques avec une proportion de 43,33%, suivis des sesquiterpènes avec 16,16%. Notre résultat diffère de celui obtenu par Benyoucef et *al.* (2005) qui ont analysé par GC/MS des huiles essentielles de *P. lentiscus* provenant de deux localités algériennes différentes (forêt de Baïnen à Alger et El Kala à 780 km à l'est d'Alger) ; ces auteurs ont observé une prédominance des composés sesquiterpéniques par rapport à quelques monoterpènes. Ce résultat confirme une fois de plus que l'origine géographique et l'environnement dans lequel une plante croît influent considérablement sur la composition chimique de l'huile essentielle (Marotti et *al.*, 1994).

La composition chimique de l'huile essentielle de *L. nobilis* est proche de celles analysées par Mediouni-Ben jamâa et *al.* (2012) ; en effet, ces chercheurs ont rapporté que qualitativement les huiles essentielles de *L. nobilis* provenant de 3 pays nord africains, l'Algérie, le Maroc et la Tunisie, ont des compositions chimiques proches et que les composés majoritaires communs sont le 1,8-cinéole, le linalool et l'isovaleraldehyde. Ils précisent

également que certains composés n'ont été détectés que chez l'une ou l'autre des trois huiles considérées.

C'est ainsi que le 2-carène (5,62%), les 4 terpinéols (1,52%) et le 1-bornyl acétate (0,52%) caractérisent l'huile marocaine uniquement, alors que le pentane (2,14%), le phénol (1,73%) et le terpinène (0,92%) ont été retrouvés dans l'huile algérienne. L'huile tunisienne est caractérisée par la présence du camphor (2,66%), du terpinène 1-ol (1,7%), du 2-norbornanone (1,20%) et de l'eremophilène (0,67%). Ces auteurs ont conclu que l'effet localité (pays) a eu un effet sur la composition chimique de ces huiles essentielles.

Les six huiles essentielles analysées sont constituées majoritairement de monoterpènes comme l' α pinène, le β pinène, le camphène, le limonène, le P. cymène et le terpinolène ; ces composés ont été souvent caractérisés par leur activité biocide et répulsive contre de nombreux insectes ravageurs des denrées stockées (Keita et al., 2000 ; Ketoh et al., 2002 ; Papachristos et Stamoupolos, 2002 ; Kellouche et Soltani 2004 et Kellouche et al., 2010).

2. Composition chimique des huiles extraites à partir de *O. basilicum*, *M. spicata*, *A. triphylla* et *R. officinalis*.

La composition chimique des huiles essentielles et les teneurs en leurs différents constituants révélés par GC/SM sont groupés dans les tableaux 21 et 22.

Les constituants communs à ces huiles sont le α pinène, le β pinène, le camphène et l'eucalyptol. Elles sont formées de plusieurs composés majoritaires.

A. triphylla s'est montré particulièrement riche en l' α citral (24,88%) en citral (17,99%) et en D -limonène (13,35%).

L'huile essentielle de *M. spicata* est très riche en 1- carvone (47,92%), en limonène (21,02%) et eucalyptol (5,63%).

L'huile essentielle d'*O. basilicum* présente un taux important d'estragol (76,81%), de l'eucalyptol (4,84%) et α cédrène (4,46). Quant à l'huile essentielle de *R. officinalis* c'est l'eucalyptol (composé oxygéné) qui est le plus représentatif, avec 41,70 % ainsi que le camphor avec 10,32 % (tableau 7).

Les quatre huiles essentielles extraites sont formées majoritairement d'hydrocarbures monoterpéniques et de composés oxygénés, tels que les alcools et les cétones.

Tableau 7 : Concentrations (%) en composés organiques volatiles de quatre huiles essentielles (Lamiaceae) analysées provenant de Kabylie (Algérie).

Espèces végétales Composés		<i>A. triphylla</i>	<i>M. spicata</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>R. officinalis</i>
Terpènes	Monoterpènes	37,93	62,96	41,66	52,17
	Sesquiterpènes	17,24	11,11	16 66	8,69
	Cétones	3,44	7,40	-	-
	Diterpènes	-	3,70	-	-
Composés Oxygénés	Alcools	13,79	7,40	8,33	11,11
	Esters	3,44	-	4,16	13,04
	Ethers	-	-	-	-
	Aldéhydes	6,89	-	-	-
	Phénols	-	3,7	4,16	-
	Ethers phénoliques	3,44	3,70	-	-

Les huiles essentielles ont été extraites par entraînement à la vapeur d'eau et analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS). Les composés chimiques et leurs teneurs révélés sont groupés dans le tableau 8.

Tableau 8: Composition chimique des 4 huiles essentielles (Lamiaceae) provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS.

Constituants	<i>A. triphylla</i>	<i>M. spicata</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>R. officinalis</i>
α -pinène	1,16	1,44	0,37	8,71
Camphène	0,19	0,21	0,21	4,52
β -pinène	2,61	1,62	0,52	7,61
thuyène	0,11	-	-	-
Sabinène	0,85	-	-	-
γ -terpinène	0,15	-	-	-
D limonène	13,35	-	-	-
O cymène	2,08	-	-	-
Lymonèneoxide	0,38	-	-	-
Citronellol	0,33	-	-	-
Acide nerique	0,34			
α -gurjunène	4,49	-	-	-
Alloaromadendrène	1,42	-	-	-
γ -gurjunène	0,5	-	-	-
Cis Citral	17,99	-	-	-
α -terpineol	3,25	-	-	-
3- carbomenthenone	0,33	-	-	-
α -citral	24,88	-	-	-
Cis geraniol	0,33	-	-	-
Caryophyllène	1,33	1,2	-	-
Spatulenol	0,3	-	-	-
Linalooloxide	0,19	-	-	-
α -terpinolène	5,95	-	-	-
Spathulenol	0,3	0,32	0,13	-
Geraniol	1,03	-	-	-
β - phellandrène	-	0,86	0,26	0,26
β - myrcène	-	1,84	-	1,84
D limonène	-	21,02	0,37	-
Eucalyptol	2,91	5,63	4,84	41,7
P cymène	-	0,15	-	-
β - bourbonène	-	2	-	-
L-Borylacetate	-	0,31	-	-

Tableau 8 : Composition chimique de 4 huiles essentielles (Lamiaceae) provenant de Kabylie (Algérie) et analysées par GC/MS (suite).

Constituants	<i>A. triphylla</i>	<i>M. spicata</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>R. officinalis</i>
Octadiène	-	-	0,32	-
P, ocimène	-	-	1,42	-
Fenchon	-	-	0,26	-
Fenchylacetate	-	-	0,43	-
D-camphor	-	-	0,67	10,32
Linalool	-	-	-	1,29
Bornylacetate	-	-	0,32	1,77
α - Bergamotène	-	-	0,61	-
α - cédrène	-	-	4,46	-
DLmenthol	-	-	0,46	-
β -cedrène	-	-	1,25	-
α - bulnesene	-	-	0,17	-
α - amorphène	-	-	0,94	-
Eugenol	-	-	1,04	-
Transthujène	-	-	-	0,62
α - phellandrène	-	-	-	0,14
4 Carène	-	-	-	0,48
α - terpinène	-	-	-	0,11
Terpineol	-	-	-	0,18
α - cubène	-	-	-	0,37
β - Linalool	-	-	-	0,98
Bergamol	-	-	-	0,31
L-4-terpineol	-	-	-	1,61
β - cadinène	-	-	-	0,61
Caryophyllèneoxide	-	-	-	0,35
α - Fenchene	-	-	-	0,08
Pulegone	0,23	0,23	-	-
Aromadendrène	-	0,49	-	-
P. mentha 3,4-diène	-	0,33	-	-
D germacrène	-	0,21	-	-
néodyhydrocarveol	-	4,05	-	-
transhydrocarvone	-	3,09	-	0,46

L'essence des feuilles de *A. triphylla*, échantillonnées en Kabylie, est riche en cistral (α cistral, 24,88% et cis cistral, 17,99%).

L'huile de cette même plante, extraite des feuilles analysées par Meshkalsadat et *al.* (2010) en Iran, a révélé une richesse en eucalyptol (1,8 cineol) avec 23,66 %, en α curcumène (14.83), en géraniol (13,74) et en limonène (13.46).

Notre huile est un chémotype cistral alors que celui d'Iran est un chémotype eucalyptol. Dans le même ordre d'idée, une étude menée par Agah et Najafian (2012), sur l'extraction de l'huile essentielle de *A. triphylla* par hydrodistillation, à partir de plants élevés sous serre à Shiraz en Iran, avait comme composant essentiel du géraniol (34.2%) et du néral (23.5%). C'est donc un chémotype à géraniol. Ces mêmes auteurs ont montré que le mode de séchage des parties aériennes affecte significativement la quantité d'huile extraite.

L'huile extraite de la menthe verte (*M. spicata*) est riche en carvone (47.92%) et en D limonène (21,02%). Sa composition est globalement proche de celle rapportée par Boukhebtiet *al.* (2011) dans la région de Sétif, avec 59,40% de carvone et 6,12% de limonène et celles rapportées par Benyoucef et *al.* (2004) qui en analysant les huiles essentielles de deux échantillons de *M. spicata* l'un provenant de Ouargla (à 710 km au sud- est d'Alger) et l'autre de Larbaâ dans la wilaya de Blida (à 50km au sud- ouest d'Alger) ont révélé que la carvone est le composant majoritaire avec des proportions respectives de 80% et 56% . Ces huiles originaires d'Algérie sont des chémotypes à carvone et limonène différents de ceux analysés par Znini et *al.* (2011), à partir des feuilles fraîches de *M. spicata* prélevées à Tazouka dans la localité d'Errachidia au sud du Maroc, avec des proportions respectives en carvone et transcarvéol de 29 et 14 %, mais ce chémotype ne contient pas de limonène.

L'huile essentielle de *O. basilicum* s'est montrée particulièrement riche en un composé oxygéné, l'estragol avec un taux de 76 %, c'est donc un chémotype à estragol. De nombreuses études ont été faites à travers le monde sur *O. basilicum* ; ainsi Regnault - Roger et *al.* (1993) ont rapporté que l'analyse d'huile essentielle de *O. basilicum* en France est un chémotype à linalol (50%). Il en est de même pour Özcan et Chalchat (2002) qui ont identifié un chémotype à méthyleugénol (78,02%), dans la province de Ovacik Gölü en Turquie.

Quant à Lopez *et al.* (2008), qui ont étudié des huiles essentielles extraites à partir de graines de *O. basilicum*, de 4 lots provenant de différentes régions d'Espagne, ont détecté 3 chémotypes dont deux à estragol, un à méthyl eugénol et un à linalol.

La dernière huile que nous avons étudiée est celle de *R. officinalis* qui s'est montrée riche en eucalyptol (41,70%) et en D camphor (10,32%). Notre résultat est en accord avec celui de Boutekdjiret (1998) qui a révélé la richesse de *R. officinalis* des Bibans (Algérie) en eucalyptol (1,8 cinéol) ; mais ce résultat ne corrobore pas celui de Bekkara *et al.* (2007) qui ont caractérisé l'huile essentielle de *R. officinalis* de Tlemcen, comme un chémotype à camphène (13,8%) et α pinène (12,6%).

Conclusion

A partir des résultats que nous avons obtenus et confrontés à ceux d'autres chercheurs à travers le monde, nous pouvons dire que l'ensemble des huiles analysées se distinguent par l'abondance de leurs différents constituants chimiques et parfois même par leur nature bien qu'elles appartiennent toutes à la même famille botanique (Lamiaceae). La période d'extraction, les méthodes de séchage et d'analyse, l'origine géographique, l'environnement dans lequel évolue une plante et l'organe étudié influencent considérablement la composition chimique de l'huile essentielle.

Partie 4 : "Effets bioinsecticides des huiles essentielles sur *C. maculatus* "

Introduction

Pour parer au problème d'éradication des ravageurs des denrées stockées, de nombreux moyens sont proposés. Mais face à la demande croissante de promotion d'un développement durable et de la protection de l'environnement, des méthodes alternatives sont préconisées. Dans le cas des pays en voie de développement, il est urgent de mettre l'accent sur l'exploitation des pratiques locales à travers un recensement des composantes de la biodiversité (Kossou *et al.*, 2001). Une sélection selon des critères basés sur l'ethnobotanique a plus de chance d'aboutir à la découverte d'un principe actif d'intérêt qu'un criblage de plantes effectué au hasard (Lewis et Elvin-Lewis, 1995). Une des stratégies actuelles, de plus en plus utilisée pour la découverte de nombreux composés se base sur l'écologie chimique. Il s'agit d'exploiter la capacité des plantes ou des micro-organismes à produire des molécules biologiquement actives du fait de la pression de l'environnement (Houël, 2012). Les huiles essentielles en font partie, elles sont constituées de nombreuses classes de composés à mécanismes d'action multiples et par conséquent ont des modes d'action variés (contact, Fumigation, attraction, et répulsivité). Les extraits de plantes sollicitent simultanément plusieurs mécanismes physiologiques, ce qui peut retarder l'apparition de populations résistantes d'insectes. Ainsi, des populations du puceron vert du pêcher, *Myzus persicae* (Sulz.), traitées avec des extraits purifiés de neem, ont développé 9 fois leur niveau initial de résistance en 40 générations, alors que des populations traitées avec des mélanges bruts n'avaient pas développé de résistance (Feng et Isman, 1995).

Chiasson et Beloin (2007) rapportent que les biopesticides à base d'huiles essentielles présentent plusieurs caractéristiques d'intérêt : Ils ont une efficacité à large spectre, mais avec une spécificité pour certaines classes d'arthropodes ou ordres d'insectes et comme ils sont très peu rémanents, ils peuvent être appliqués jusqu'au moment de la récolte. Cette faible rémanence permet également aux travailleurs de retourner au champ ou dans une serre dans un court délai après le traitement. En plus, les formulations de biopesticides à base d'huile essentielle sont stables à la température ambiante et peuvent être entreposées pendant plusieurs années.

Revue bibliographique

1. Mécanismes d'action des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont les pesticides verts du futur, ce sont des mélanges complexes de nombreux composés organiques naturels prédominés par les terpènes.

Ils agissent par fumigation, contact, ou répulsion et présentent différents modes d'action.

Ils agissent sur les insectes par effet « Knock down » chez les adultes, ou en entraînant un effet antiapétissant, en inhibant la ponte ou alors par effet ovicide et larvicide. Globalement, les mécanismes d'action de ces biopesticides, nouveaux genres, sont calqués sur ceux connus depuis longtemps chez les pesticides de synthèse.

La diversité des mécanismes d'action impliqués dans les activités des huiles essentielles permettrait en particulier de limiter le taux de développement des résistances. Les huiles essentielles semblent en effet ne pas avoir de cibles cellulaires spécifiques, du fait de la diversité de leurs constituants (Houël, 2011). Elles peuvent par exemple avoir une action antimicrobienne par lyse de la cellule entière du fait de l'endommagement de la membrane, altérer la perméabilité de la membrane cellulaire et de ce fait mettre en cause les capacités de régulation osmotique de la cellule ou d'exclusion des composés toxiques, et empêcher la respiration cellulaire des mitochondries, comme mis en évidence dans le cas de l' α - pinène sur des levures (Carson et *al.*, 2002). D'autres mécanismes, comme des perturbations des voies de biosynthèse ou des systèmes enzymatiques, peuvent également être impliqués (Tajkarimi et *al.*, 2010). Ces actions sont dues aux constituants lipophiles des huiles essentielles, pouvant donc traverser facilement les membranes cellulaires et en bouleverser la structure et le fonctionnement (Bakkali et *al.*, 2008).

Les mécanismes d'action des propriétés pesticides des huiles essentielles sont encore méconnus et malgré les études relativement nombreuses réalisées à ce sujet (Isman, 2000). Leurs actions peuvent se faire sur l'activité électrique neuronale, sur les estérases, les synapses inhibitrices et les récepteurs octopaminergiques. De plus, certains facteurs tels que la stéréochimie des molécules impliquées, leur lipophilie, les groupements fonctionnels qui les caractérisent ou leur degré de solubilité en milieu aqueux influencent l'activité biologique.

L'ensemble des études menées pour élucider ces mécanismes d'action font état de plusieurs dispositifs mis en place par les insectes, comme ceux indiqués ci-dessous :

1.1. Effet sur les estérases

Les monoterpènes contenus dans les huiles essentielles sont des neurotoxiques qui agissent sur différentes cibles en fonction de leur nature chimique (Huignard et *al.*, 2008). Le citral, le pulégone, le linalol, le bornyl acétate et le cineol sont des inhibiteurs réversibles compétitifs occupant le site actif hydrophobique de l'acétylcholinestérase (Ryan et Byrne, 1988). Savelev et *al.* (2004) suggèrent un effet synergétique de l'ensemble des composés constituant les huiles essentielles extraites de 3 espèces appartenant au genre *Salvia*. En effet, ces auteurs ont montré un effet inhibiteur des huiles essentielles, sur l'acétylcholinestérase et la butylcholinestérase, plus important que celui induit par leurs composés terpéniques considérés isolément.

Nyamador (2009) a mis en évidence des enzymes de détoxification et du stress oxydatif chez 2 espèces de bruches et a révélé l'existence d'une activité enzymatique et spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) soluble, plus faible chez *C. maculatus* que chez *C. subinnotatus*, alors que l'activité enzymatique et spécifique de l'AChE membranaire est deux fois plus élevée chez *C. maculatus* que chez *C. subinnotatus*.

1.2. Effet sur l'activité électrique neuronale

Price et Berry (2006) ont montré que l'effet biopesticide de l'eugénol se traduit par une inhibition quasi complète de l'activité électrique neuronale alors que le citral et le géraniol provoquent sur les neurones une action biphasique en fonction de la dose utilisée. Ces 2 monoterpènes provoquent une activité électrique spontanée puis une diminution à forte dose.

1.3. Activation des systèmes de détoxification

Les principales réactions enzymatiques impliquées dans l'action de détoxification sont :

- **Réaction d'hydrolyse et d'oxydation ou réactions de fonctionnalisation** : Elles incluent l'activation et ou la conversion des molécules exogènes en un composé plus polaire.

L'introduction de groupes fonctionnels augmente la solubilité dans l'eau et permet soit leur stockage loin des tissus sensibles, soit leur excrétion (Haubruge et Amichot, 1998).

- **Réactions de conjugaison** : elles permettent la combinaison des groupements fonctionnels introduits ou de ceux préexistants avec des métabolites endogènes fortement hydrophiles.

Ainsi Nyamador (2009) a révélé que des individus de 2 ravageurs majeurs, *C. subinnotatus* et *C. maculatus* F., traités avec l'huile essentielle de *Cymbopogon giganteus* chiov (fumigation), ont vu les activités enzymatiques de la glutathion S- transférase augmenter significativement. Ces enzymes sont localisées dans le cytoplasme des cellules des corps gras et des muscles alaires (Franciosca et Bergé, 1995).

1.4. Modification des cibles moléculaires

Les sites d'actions des biopesticides sont localisés dans le système nerveux central. Les cibles préférentielles des biopesticides les plus importantes sont le canal sodium « voltage dépendant » (CsVd), l'acétylcholinestérase (AChE) et le récepteur gamma-aminobutyrique (GABA_r) (Nyamador, 2009).

1.4.1. Canal sodium « voltage dépendant »

Les biopesticides provoquent chez l'insecte un effet « Knock down ». Ce canal sodium est une protéine localisée sur la membrane plasmique des neurones. Les substances neurotoxiques se fixent sur les sites d'action, empêchant ainsi la fermeture du canal et en perturbant la transmission synaptique.

Ainsi, Price et Berry (2006) ont rapporté que l'eugénol provoque une inhibition complète de l'activité électrique neuronale. Ketoh et al. (2006) ont montré que l'huile essentielle de *O. basilicum* induit une inhibition totale de l'activité électrique neuronale.

1.4.2. Acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase est une enzyme clé du système nerveux central des insectes et a été la cible de nombreuses études pour le développement des potentialités insecticides (Fournier et Mutero, 1994).

Cette enzyme est indispensable au bon fonctionnement des synapses cholinergiques. L'influx nerveux arrivant dans la terminaison présynaptique permet la libération d'acétylcholine qui se fixe sur la membrane post-synaptique. Cette fixation permet l'ouverture des canaux sodium (Na⁺) et potassium (K⁺) et entraîne la dépolarisation à l'origine de l'influx nerveux sur la membrane post-synaptique. Le rôle de l'acétylcholinestérase est d'hydrolyser l'acétylcholine, ce qui permet la fermeture des canaux associés au récepteur du

neurotransmetteur. Si l'action de cette enzyme est bloquée la membrane post synaptique se trouve continuellement excitée.

1.4.3. Récepteurs de l'acide gamma-amino butyrique (GABAr)

Les biopesticides se fixent sur les récepteurs de l'acide gamma-amino butyrique et inhibent le fonctionnement du canal chlore qui lui est associé. L'ouverture de ce canal induit une hyperpolarisation de la membrane de la cellule nerveuse (neurone) et son inactivation.

Lorsqu'elle se prolonge, cette inactivation perturbe l'ensemble du fonctionnement du système nerveux (Priestley et *al.*, 2003).

L'effet sur les synapses inhibitrices a été montré par l'étude de l'action du thymol. En effet, l'activité régulatrice des neurones est perturbée par le thymol qui se fixe sur les récepteurs du neurotransmetteur acide δ -aminobutyrique (GABAr) associés aux canaux chlorés situés sur la membrane des neurones post-synaptiques (Priestley et *al.*, 2003).

1.4.4. Action sur les récepteurs octopaminergiques

L'octopamine est une neurohormone et un neuromédiateur chez les invertébrés (Roeder, 1999).

Enan (2005) a montré que les monoterpènes tels que le tymol, le carvacrol et le α terpinéol, reconnus par les récepteurs de la tyramine (un précurseur de l'octopamine), influencent la production de l'AMPC et du calcium au niveau cellulaire ou intracellulaire.

De même que Huignard et *al.* (2008) affirment que l'eugénol agirait en se fixant sur les récepteurs de l'octopamine et son activité effective s'exercerait par l'intermédiaire du système octopaminergique.

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Présentation de la plante hôte

Les graines de *V. unguiculata*, utilisées comme substrat de ponte pour la bruche du niébé, proviennent d'une ferme privée de Tirmidine dans la région de Tizi-Ouzou. Les graines sont conservées au réfrigérateur pendant une vingtaine de jours pour prévenir toute contamination préalable.

1.1.1. Taxonomie, description et écologie

Le niébé est une plante annuelle, herbacée et autogame. Elle est très répandue dans les régions chaudes, surtout en Afrique et en Asie. Le port peut être rampant, érigé ou volubile (Tengo, 2011).



Figure 39 : Fleurs et gousses de *V. unguiculata*.

Systématique du Haricot dolique selon Cronquist (1981)

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe: Rosidae

Genre : *Vigna*

Espèce : *Vigna unguiculata* (L.) Walp., 1843.

La tige est toujours glabre et à section circulaire. Les feuilles trifoliées ont une pilosité faible ou nulle avec des pédoncules pouvant atteindre 15 cm de longueur. En dehors des deux premières feuilles qui sont simples et opposées, les autres feuilles sont alternes.

Les inflorescences en grappe sont axillaires et portent deux ou quatre fleurs de couleur blanche, bleu pâle, rose, jaunâtre ou violet. La fécondation croisée existe mais elle est faible (0,2% à 2%). Elle intervient dans les 24 h qui suivent l'épanouissement de la fleur. Les gousses indéhiscentes contiennent 8 à 20 graines ovoïdes, réniformes, lisses ou ridées (Pasquet, 1998).

Le système racinaire est composé d'une racine principale pivotante et des racines secondaires portant des nodosités fixatrices d'azote.

Le cycle varie de 65 – 70 jours (pour les plus précoces) à 140 - 160 jours pour les variétés de courte saison. Les températures optimales de culture se situent entre 25 °C et 28 °C (Craufurd et *al.* 1997).

Le niébé est une plante adaptée aux zones à faible pluviométrie. Il pousse bien dans les zones tropicales sèches (pluviométrie 300 à 600 mm). Ses besoins en eau sont de l'ordre de 200 mm/ tonne de matière sèche / ha. Du point de vue édaphique, le niébé n'est pas exigeant. Il croît préférentiellement sur les sols sablo-limoneux bien drainés (Diop et *al.*,2013).

Les principaux pays producteurs sont le Nigeria (avec 900000 T par an), le Niger, le Sénégal, l'Ouganda et le Burkina Faso (Tchoumboungang, 1997).

Le niébé communément appelé « Viande pour pauvre » ou « Viande verte » est un aliment riche en protéines (Alzouma, 1995). Il est deux à trois fois plus riche que la plupart des céréales à l'exception des acides aminés soufrés qui sont peu abondants (méthionine et cystéine) (Smart, 1964).

L'intérêt grandissant accordé à cette légumineuse résulte de ses nombreuses potentialités.

Sur le plan agronomique, le niébé est considéré comme une plante améliorante grâce aux Rhizobium, (bactéries symbiotiques contenues dans les nodosités de ses racines, capables de fixer l'azote atmosphérique). Une culture pure de niébé peut produire 240 kg/ha d'azote, ce qui lui permet de satisfaire ses propres besoins et même de laisser dans le sol un résidu de 60 à 70 kg/ha (Rachie, 1985). Le niébé pourrait aussi donner de bons rendements sans aucun apport d'engrais et si les autres contraintes de la production sont maîtrisées (Sanon, 1997).

Après la récolte des gousses, les fanes de niébé sont récupérées, séchées puis conservées. Elles sont utilisées comme fourrage pour le bétail. Les feuilles récoltées à différents stades servent de fourrage pour l'alimentation des animaux (Yoka et *al.*, 2012) .

1.2. Présentation de l'insecte ravageur

La population de *C. maculatus* utilisée dans nos essais provient d'un élevage de masse entretenu sous des conditions de laboratoire : une température de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ et $75 \pm 10\%$ d'humidité relative (R H).

Les attaques de nombreux insectes, aussi bien dans les cultures que dans les greniers, au moment de la conservation des récoltes, constituent une entrave sérieuse à la production de cette légumineuse. Les pertes les plus spectaculaires sont causées durant le stockage par les coléoptères Bruchidae comme *C. maculatus* Fab. (Ouedraogo et Huignard, 1981).

C. maculatus est particulièrement adapté aux conditions de stockage grâce à l'apparition d'un morphe non voilier, caractérisé par Utida (1954) lors de son étude sur le dimorphisme d'une population de *Callosobruchus maculatus* F. en conditions de laboratoire et Ouedraogo (1991) en étudiant le polymorphisme imaginal chez *C. maculatus* et l'importance des facteurs climatiques sur l'évolution des populations de ce bruchidae.

Les adultes de ce morphe se maintiennent dans les stocks pendant toute la période de conservation des récoltes. Plusieurs générations peuvent ainsi se succéder dans les systèmes de stockage, ce qui fait de *C. maculatus*, l'espèce de bruche la plus destructrice des graines de niébé. Des récoltes entières peuvent ainsi être détruites après trois à quatre mois de stockage (Caswell, 1961 ; Prevett, 1971 ; Alzouma, 1981).

L'adulte de *C. maculatus* est un insecte de petite taille mesurant 2,8 à 3,5 mm de longueur. Le corps, de forme oblongue, est généralement rougeâtre et recouvert de soies blanches à blanc-jaunâtres. Une partie de l'abdomen dépasse légèrement les élytres notamment au moment de l'émergence de l'adulte des graines. Une coloration différente des élytres, et du pygidium permet de distinguer le mâle de la femelle. Les antennes sont de couleur brune.



Figure 40: Dommages occasionnés par *C. maculatus* sur les graines *Vigna unguiculata*.

Position systématique :

La bruche du niébé est classée selon Southgate (1979) comme suit :

Règne : Animalia

Embranchement : Arthropoda

Sous embranchement : Hexapoda

Classe : Insecta

Sous classe : Pterygota

Ordre : Coleoptera

Super famille : Chrysomeloideae

Famille : Bruchidae

Sous famille : Bruchinae

Genre : *Callosobruchus*

Espèce : *Callosobruchus maculatus* F. (1775).

En Afrique tropicale, 16 espèces de bruches sont rencontrées sur les graines de légumineuses alimentaires cultivées (Decelle, 1987). Ces espèces sont représentées par 7 genres (*Callosobruchus*, *Bruchidius*, *Acanthoscelides*, *Carjedon*, *Zabrotes*, *Pachymerus* et *Spermophagus*) répartis dans 3 sous familles (Taylor, 1981).

Seules les sous familles des Bruchinae, des Amblycerinae et des Pachymerinae comprennent les espèces nuisibles aux plantes cultivées, notamment les légumineuses (Hoffman *et al.*, 1962).

Les espèces nuisibles appartiennent à la sous famille des Bruchinae et aux genres *Bruchus* L., *Bruchidius* Schild., *Acanthoscelides* Schild et *Callosobruchus* Pic.

1.2.1. Biologie et cycle de développement

Les adultes colonisent les cultures de niébé pendant la période de la fructification. Les œufs sont déposés sur les gousses mures ou jaunissantes (Ouedraogo et Huignard, 1981). Après la récolte, le développement des larves se poursuit dans les graines au cours du stockage. Le temps de développement est variable avec les conditions sévissant dans les stocks. Il comporte 4 stades larvaires et un stade nymphal (Ouedraogo, 1978). L'apparition de l'une ou l'autre forme est liée aux conditions climatiques prévalant lors du développement post-embryonnaire (Ouedraogo, 1991).

La forme non voilière est particulièrement reproductrice et adaptée à la vie des stocks. Plusieurs générations d'adultes peuvent s'y succéder. Les individus de la forme voilière, en

quiescence reproductrice et aptes au vol, auraient tendance à quitter les systèmes de stockage. Ils seraient à l'origine de l'infestation des cultures (Ouedraogo, 1991).

1.2.2. Développement de *C. maculatus*

Le cycle de développement de *C. maculatus* passe par 4 stades énumérés et développés ci-dessous.

1.2.2.1. Œuf

Dans les stocks, après copulation la femelle de *C. maculatus* dépose ses œufs ovoïdes directement sur le péricarpe des graines (Balachowsky, 1962 ; Delobel et Tran, 1993). Dans les champs de culture ils sont déposés sur les gousses vertes ou mûres de *V. unguiculata* (Alzouma, 1981). Dans ce cas la femelle fixe préférentiellement ses œufs le long des sutures des gousses (Biemont et *al.*, 1982).

Ils sont fixés par la femelle à la surface des graines et des gousses par une substance gélatineuse qui s'étale autour de l'œuf.

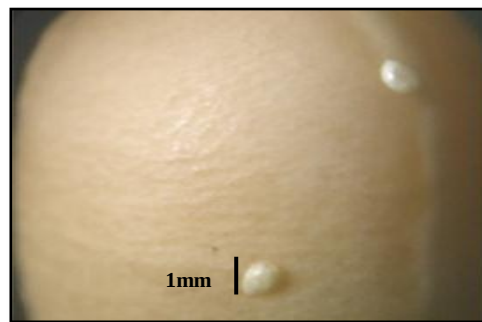


Figure 41: Œufs éclos de *C. maculatus*.

1.2.2.2. Larve

L'éclosion des œufs survient 5 à 7 jours après la ponte dans les conditions les plus favorables. Après éclosion, la larve qui n'a pas encore de pattes motrices, fore la paroi externe de l'enveloppe de la gousse ou du tégument de la graine et rentre à l'intérieur (Lepesme, 1944). La larve néonée de type chrysomélien doit creuser à travers la cloison de la gousse ou de la graine pour chercher sa nourriture. Elle est pourvue, à cet effet, d'une plaque de chitine sclérotinisée en H. Beaucoup de larves néonates creusent à travers l'enveloppe de la gousse et entrent dans la première graine disponible.

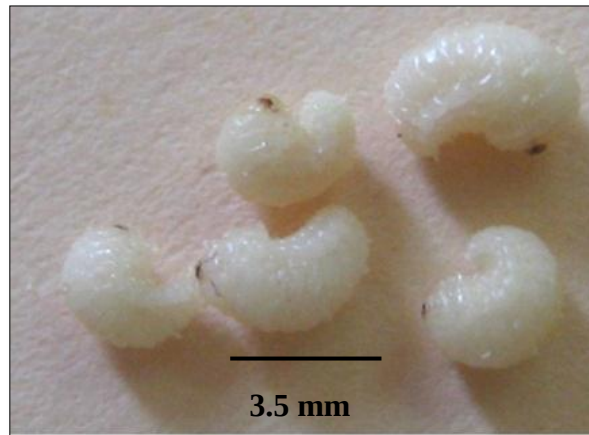


Figure 42: Larves de *C. maculatus*.

1.2.2.3. Nymphes

C. maculatus se nymphose à l'intérieur d'une seule graine après avoir construit une fenêtre au niveau du tégument (Southgate, 1979). La durée de la nymphose varie entre 7 à 28 jours. La durée moyenne de développement est de 30 jours, mais elle varie en fonction des caractéristiques de la graine hôte et des conditions de température et d'humidité relative (Kossou et Aho, 1993).

1.2.2.4. Adulte

Au terme de la nymphose, l'adulte émerge de la graine pour commencer un nouveau cycle après s'être libéré par la voie préparée par la larve.

La durée de développement œuf–adulte est fonction des conditions atmosphériques. Dans les conditions optimales (30-35°C ; 70-90% HR), le développement complet varie de 22 à 25 jours .



Figure 43 : Femelle pondreuse de *C. maculatus*.

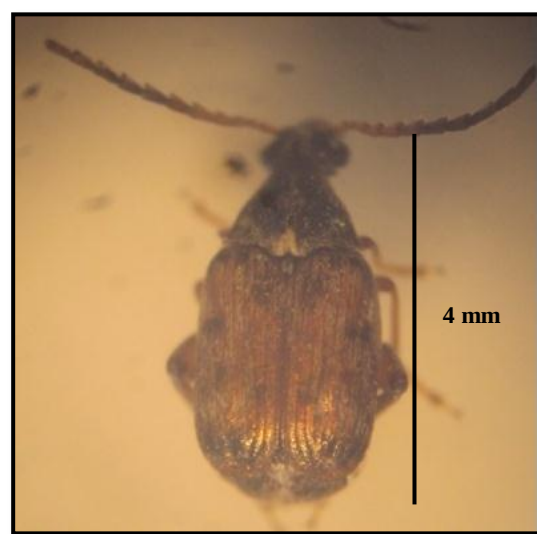


Figure 44: Mâle de *C. maculatus*.

Le genre *Callosobruchus* renferme un grand nombre d'espèces signalées sur les Fabaceae cultivées, particulièrement les Phaseoleae. *C. maculatus* est l'une des espèces qui exerce une pression continue sur les légumineuses à cause des stades juvéniles qui causent les ravages sur stock en consommant, avant le stade pupe, une partie importante des réserves nutritives contenues dans les cotylédons de la graine de niébé. L'activité de consommation des réserves des graines par les larves provoque de la chaleur, de l'humidité qui entraînent la croissance des champignons conduisant à des pertes conséquentes (Djossou, 2006).

1.3. Huiles essentielles

Les huiles essentielles testées sont celles extraites et caractérisées dans la partie 3 de notre travail. Comme nous l'avons déjà signalé au préalable, nos essais porteront sur dix huiles essentielles provenant de Kabylie et réparties en deux lots et ce en fonction de l'année de prélèvement des feuilles. Dans le premier lot figurent six huiles essentielles extraites des feuilles de : *E. radiata*, *E. globulus*, *P. lentiscus*, *M. communis*, *S. officinalis* et *L. nobilis*. Le deuxième lot est constitué de quatre huiles essentielles extraites à partir de : *A. triphylla*, *O. basilicum*, *M. spicata* et *R. officinalis*. L'ensemble de ces huiles ont été testées par différents procédés sur *C. maculatus*.

2. Méthodes

Les bioessais entrepris dans cette partie concernent des tests de toxicité classiques utilisés par de nombreux chercheurs pour réévaluer la bioactivité de nombreuses substances à l'égard des principaux ravageurs des denrées stockées.

2.1. Tests de toxicité

Les tests de toxicité effective des huiles essentielles utilisées sont des traitements par contact, par fumigation et des tests de répulsivité effectués selon le protocole établi par MC Donald (1970).

2.1.1. Test par contact

Dix couples de bruches adultes (âgées de 0 à 24 h) ont été introduits dans des boîtes de Pétri en verre (14cm de Ø et de 2 cm de hauteur) contenant 50 g de graines de *V. unguiculata* préalablement traitées avec chacune des 6 huiles essentielles, à différentes doses (4, 8, 12 et 16 µl / 50 g).

L'évaluation de l'activité bioinsecticide de ces substances naturelles est réalisée en effectuant quatre répétitions pour chaque dose ainsi que pour les lots témoins (sans traitement).

La toxicité des huiles essentielles, dans les tests par contact, est évaluée sur différents paramètres biologiques de la bruche, à savoir la longévité, le nombre d'œufs pondus sur les graines, le taux d'éclosion et le taux de viabilité de ces œufs.

Les individus morts sont retirés quotidiennement des boîtes et ce jusqu'à la mort de tous les individus testés.

Le dénombrement des œufs pondus (œufs éclos et non éclos) sur les graines est effectué à partir du quinzième jour du début du test, sous une loupe binoculaire (G x 40).

Les œufs éclos viables sont reconnus, soit par la présence de la larve visible à travers le chorion, ou bien par leur aspect blanc opaque du à l'accumulation d'une poudre blanche résultant de l'activité de la larve néonate qui creuse sa galerie dans la graine (Kellouche et *al.*, 2004). Le dénombrement des descendants de la première génération a été effectué du 25^{ème} au 45^{ème} jour du début du traitement. Ainsi les individus adultes sont retirés des boîtes au fur et à mesure qu'ils émergent des graines traitées.

L'effet des différents traitements sur les graines de *V. unguiculata* est évalué par un test de germination. En effet, l'évaluation de l'impact des huiles essentielles a été effectuée sur des lots de 50 graines traitées et des lots de 50 graines non traitées. Elles sont ensuite mises à germer dans des boîtes de Pétri, en les recouvrant avec du coton imbibé d'eau. Après 4 jours, les graines germées dans les lots témoins et les lots traités sont dénombrées.



Figure 45: Test par contact (Originale, 2011).

2.1.2. Test de répulsivité

Des disques de papier filtre de 11 cm de diamètre ont été découpés en deux parties égales. L'un des demi- disques est traité avec une dose d'huile essentielle diluée dans 1ml d'acétone (solvant), l'autre partie est pulvérisée avec de l'acétone seulement.

La boîte ainsi préparée est laissée à l'air libre pendant 15 mn pour évaporation complète du solvant. Les 2 demi disques de papier filtre sont ensuite réunis à l'aide d'un ruban adhésif et déposés sur le fond des boîtes de Pétri. 10 couples de *C. maculatus*, âgés de moins de 24 h, sont déposés au centre des boîtes ainsi préparées.

Au bout d'une heure, un dénombrement des bruches présente sur chacune des deux parties est effectué. Le pourcentage de répulsivité, induit par les huiles essentielles sur les bruches adultes, est calculé selon la formule de Mc Donald et *al.* (1970) :

$$PR (\%) = [(Nac - Nhe)] / [(Nac + Nhe)] \times 100.$$

Nac : nombre d'individus présents dans la partie traitée avec l'acétone uniquement.

Nhe : nombre d'individus présents dans la partie traitée avec l'huile essentielle diluée dans l'acétone.

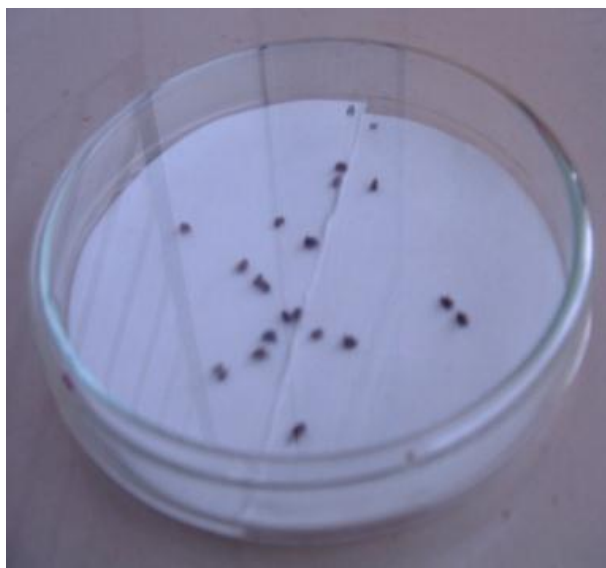


Figure 46: Test de répulsivité (originale, 2011)

2.1.3. Tests par fumigation

Ces tests consistent à étudier l'effet des huiles essentielles par fumigation sur la durée de vie des adultes de *C. maculatus*.

Dans des bocaux en verre d'un litre de volume, une dose d'huile essentielle est déposée sur un morceau de papier filtre Whatman N°2, de 2 cm de diamètre et suspendu à l'aide d'un fil à la face interne du couvercle. Les doses considérées pour l'ensemble des 6 huiles sont : 4, 8, 12 et 16 μ l/l d'air. Parallèlement, un témoin est réalisé (papier filtre sans huile essentielle). Dix couples de *C. maculatus* âgés de 0 à 24 h sont introduits dans chaque bocal qui est ensuite rapidement fermé hermétiquement. Un dénombrement des individus morts est ensuite effectué après des temps d'exposition variables : 24, 48, 72 et 96 h.



Figure 47 : Test par fumigation (originale, 2011)

3. Analyse statistique

3.1. Test ANOVA

Les résultats des différents essais ont été soumis au test de l'analyse de la variance (ANOVA) selon plusieurs critères de classification, suivi par le test de Newman et Keuls à 5%, en utilisant le logiciel Statbox version 5, lorsqu'il existe une différence significative entre les différents traitements.

3.2. Calcul des DL_{50}

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

$$\text{MC \%} = (\text{M} - \text{Mt} / 100 - \text{Mt}) \times 100.$$

MC % : Mortalité corrigée.

M : Pourcentage de morts dans la population traitée.

Mt : Pourcentage de morts dans la population témoin.

Résultats et discussion

1. Toxicité des huiles essentielles testées

Les résultats obtenus mettent en évidence une variation significative de la bioactivité des huiles essentielles testées par contact, par fumigation et par répulsivité à l'égard de *C. maculatus*.

1.1. Tests par contact

1.1.1. Effets sur la longévité des adultes

1.1.1.1. Effet sur la longévité des adultes des huiles essentielles de *E. globulus*, *E. radiata*, *M. communis*, *P. lentiscus*, *L. nobilis* et *S. officinalis*

Les effets biocides les plus importants ont été enregistrés dans les traitements avec les huiles essentielles de *E. globulus*, *E. radiata*, *L. nobilis* et *S. officinalis*. En effet, la durée de vie des adultes de *C. maculatus* est comprise entre 1 h et 21 h, pour les différentes huiles testées à la dose 16 μ l ; les bruches des lots témoins vivent environ 7 jours ($170,25 \pm 1,25$ h)(Tableau 9).

L'analyse de la variance à deux critères de classification révèle une différence hautement significative pour l'huile ($F=639,8033$; $P=0,000$; $DDL=5$), pour la dose ($F=114,4564$; $P=0,000$; $DDL=4$) et pour l'interaction des deux facteurs dose-huile ($F=114,4564$; $P=0,000$; $DDL=20$) (Annexe 4 : Tableau1).

Tableau 9: Longévité moyenne (h) des adultes de *C. maculatus* traités avec les différentes huiles essentielles (moyenne $\pm$ écart-type) à différentes doses (les moyennes suivies d'une lettre différente diffèrent de façon très hautement significative, selon le test de Newman et Keuls, au seuil $P = 5\%$).

Doses (μ l)	<i>E. globulus</i>	<i>E. radiata</i>	<i>M. communis</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>P. lentiscus</i>
0	170,25 $\pm$ 1,25 (a)	170,25 $\pm$ 1,25 (a)	170,25 $\pm$ 1,25 (a)	170,25 $\pm$ 1,25 (a)	170,25 $\pm$ 1,25 (a)	170,25 $\pm$ 1,25 (a)
4	23,5 $\pm$ 17,97 (g)	14,75 $\pm$ 3,20 (g)	126,25 $\pm$ 7,5 (b)	15,75 $\pm$ 0,95 (g)	15,25 $\pm$ 2,36 (g)	128,75 $\pm$ 10,30 (b)
8	4,5 $\pm$ 0,57 (h)	6 $\pm$ 0,81 (h)	62,5 $\pm$ 2,88 (d)	3,75 $\pm$ 0,95 (h)	5,25 $\pm$ 1,25 (h)	96,25 $\pm$ 5,56 (c)
12	2 $\pm$ 0,81 (h)	1,5 $\pm$ 0,57 (h)	31,25 $\pm$ 2,5 (f)	1,5 $\pm$ 0,57 (h)	2,25 $\pm$ 0,5 (h)	44,5 $\pm$ 3,69 (e)
16	1 $\pm$ 0 (h)	1 $\pm$ 0 (h)	15,5 $\pm$ 1 (g)	1 $\pm$ 0 (h)	1 $\pm$ 0 (h)	21 $\pm$ 1,15 (g)

1.1.1.2. Effet sur la longévité des adultes des huiles essentielles de *O. basilicum*, *M. spicata*, *A. triphylla* et *R. officinalis*

Les individus mis en contact avec les différentes huiles essentielles ont été affectés de manière significative ce qui s'est traduit par la diminution de la durée de leur vie en comparaison des individus non traités (Tableau 10).

L'analyse de la variance à deux critères de classification révèle une différence hautement significative pour l'huile ($F = 19,216$; $P = 0,000$; DDL = 3), pour la dose ($F = 205,709$; $P = 0,000$; DDL = 4) et pour l'interaction des deux facteurs dose- huile ($F = 2,689$; $P = 0,00585$; DDL = 12) (Annexe 4 : Tableau 2).

Tableau 10 : longévité moyenne (h) des adultes de *C. maculatus* traités avec les différentes huiles essentielles (moyennes $\pm$ écart type) à différentes doses (les moyennes suivies d'une lettre différente diffèrent de façon très hautement significative, selon le test de Newman et Keuls, au seuil $P = 5\%$).

Doses (μ l)	<i>R. officinalis</i>	<i>A. triphylla</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>M. spicata</i>
0	210 $\pm$ 36 (a)	210 $\pm$ 36 (a)	210 $\pm$ 36 (a)	210 $\pm$ 36 (a)
4	132 $\pm$ 30,98 (b)	60 $\pm$ 30,98 (cde)	54 $\pm$ 22,97 (cde)	72 $\pm$ 19,59 (cd)
8	96 $\pm$ 19,59 (c)	54 $\pm$ 22,97 (de)	5 $\pm$ 0,81 (f)	48 $\pm$ 19,59 (cdef)
12	72 $\pm$ 19,59 (c)	24 $\pm$ 19,59 (def)	0 $\pm$ 0,00 (f)	4,25 $\pm$ 0,5 (f)
16	18 $\pm$ 12 (ef)	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)

Les effets les plus importants ont été enregistrés dans les traitements avec les huiles essentielles de *O. basilicum*, *M. spicata* et *A. triphylla*.

A la dose 8 μ l de *O. basilicum*, les insectes vivent en moyenne 5 h, au delà de cette dose (12 et 16 μ l), tous les individus adultes meurent en moins d'une heure.

Pour l'huile essentielle de *M. spicata*, les individus survivent 4 h environ, puis sont anéantis à la dose 16 μ l.

A la dose 16 μ l, aucun individu ne survit dans les traitements avec l'huile essentielle de *A. triphylla*.

Les huiles testées ont montré des effets variables sur la mortalité des adultes de *C. maculatus* et se répartissent dans deux groupes parmi les trois décrits par Ketoh (1998), en effet le premier groupe est constitué des huiles essentielles de *A. triphylla*, *O. basilicum* et *M. spicata*, qui induisent l'élimination de plus de 70 % de la population de *C. maculatus* (efficaces), et le deuxième représenté par l'essence de *R. officinalis* qui n'induit pas l'élimination totale de la population de *C. maculatus*.

La durée de vie moyenne des adultes de *C. maculatus* révélée dans les lots témoins, non traités, avoisine les 210 ± 36 h, ce temps moyen diminue dès l'application des huiles essentielles à la dose la plus faible considérée (4 μ l). Elle atteint les valeurs moyennes de $60 \pm 30,98$ h pour *A. triphylla* et $54 \pm 22,99$ heures pour *O. basilicum*.

Ces temps de survie diminuent au fur et à mesure que les doses appliquées augmentent jusqu'à atteindre, à la dose (8 μ l), les valeurs moyennes de $5 \pm 0,81$ h pour *O. basilicum* et un effet adulticide total pour *A. triphylla*, *M. spicata*, à la dose 16 μ l.

1.1.2. Effet des huiles essentielles sur la fécondité des femelles de *C. maculatus*

1.1.2.1. Effet des huiles essentielles de *E. globulus*, *E. radiata*, *M. communis*, *P. lentiscus*, *L. nobilis* et *S. officinalis*

Les huiles essentielles de *L. nobilis* et *S. officinalis* inhibent complètement les pontes de *C. maculatus*, à la plus faible dose (4 μ l/l), celle de *P. lentiscus* est la moins toxique. A la dose 12 μ l/l, toutes les huiles essentielles testées empêchent les femelles de *C. maculatus* de pondre (Tableau 11). (Tableau 11).

Dans les lots non traités le nombre moyen d'œufs pondus par dix femelles est de 740 ± 43 . La réduction de l'oviposition est inversement proportionnelle à l'augmentation de la dose d'huile utilisée.

L'analyse de la variance à deux critères de classification a montré une différence hautement significative pour l'huile ($F=170,9246$; $P=0,000$; $DDL=5$), la dose ($F=3537,223$; $P=0,000$; $DDL=4$) et pour leur interaction ($F=77,2441$; $P=0,000$; $DDL=20$) (Annexe 4 : Tableau 3).

Tableau 11 : Fécondité moyenne de 10 femelles de *C. maculatus* sur les graines de *V. unguiculata* traitées avec les différentes huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différente sont différentes de manière très hautement significative, conformément au test de Newman et Keuls, au seuil $P=5\%$).

Doses (μ l)	<i>E. globulus</i>	<i>E. radiata</i>	<i>M. communis</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>P. lentiscus</i>
0	740 $\pm$ 43,20 (a)	740 $\pm$ 43,20 (a)	740 $\pm$ 43,20 (a)	740 $\pm$ 43,20 (a)	740 $\pm$ 43,20 (a)	740 $\pm$ 43,20 (a)
4	1,5 $\pm$ 0,57 (f)	1,5 $\pm$ 0,57 (f)	362,5 $\pm$ 9,57 (c)	0 $\pm$ 0 (g)	0 $\pm$ 0 (f)	572 $\pm$ 66,75 (b)
8	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)	125,75 $\pm$ 57,84 (e)	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)	323,75 $\pm$ 27,5 (d)
12	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)
16	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)	0 $\pm$ 0 (f)

1.1.2.2. Effet des huiles essentielles de *O. basilicum*, *M. spicata*, *A. triphylla* et *R. officinalis*

Les huiles essentielles de *R. officinalis* et *M. spicata* ont réduit de manière très significative le nombre d'œufs pondus par les femelles de *C. maculatus* dès leur application à la dose la plus faible considérée (4 μ l). En effet le nombre d'œufs pondus par les femelles dans les lots témoins est de 958 $\pm$ 44,51 œufs alors qu'à la dose (4 μ l) cette valeur se réduit à 544 $\pm$ 29,90s(*O. basilicum*) et 337,5 $\pm$ 47,48 œufs(*M. spicata*)(Tableau 12) .

L'analyse de la variance à deux critères de classification a montré une différence très hautement significative pour l'huile ($F = 101,998$; $P = 0,000$; DDL = 3), la dose ($F = 1487,31$; $P = 0,000$; DDL = 4) et pour l'interaction ($F = 36,07$; $P = 0,000$; DDL = 12)(Annexe 4 : Tableau 4).

Tableau 12 : Fécondité moyenne de 10 femelles de *C. maculatus* sur les graines de *V. unguiculata* traitées avec les différentes huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différente varient de façon très hautement significative, selon le test de Newman et Keuls, au seuil $P = 5\%$).

Doses (μ l)	<i>R. officinalis</i>	<i>A. triphylla</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>M. spicata</i>
0	958 $\pm$ 44,151 (a)	958 $\pm$ 44,151 (a)	958 $\pm$ 44,151 (a)	958 $\pm$ 44,151 (a)
4	544 $\pm$ 29,90 (d)	710,25 $\pm$ 23,7 (c)	771 $\pm$ 53,88 (b)	337,5 $\pm$ 47,87 (e)
8	351 $\pm$ 11,60 (e)	698,5 $\pm$ 23,72 (c)	521 $\pm$ 105,32 (d)	106 $\pm$ 19,51 (f)
12	0,75 $\pm$ 0 (g)	44 $\pm$ 23,67 (g)	126,25 $\pm$ 60,31 (f)	35,5 $\pm$ 8,69 (g)
16	0 $\pm$ 0 (g)	0,25 $\pm$ 0 (g)	0 $\pm$ 0 (g)	0 $\pm$ 0 (g)

Les huiles essentielles de *R. officinalis*, *O. basilicum* et *M. spicata* inhibent complètement l'oviposition des femelles de *C. maculatus*, à la dose 16 μ l / (50 g).

Le nombre d'œufs pondus par les femelles de *C. maculatus* est faible par rapport au nombre enregistré sur les graines de *V. unguiculata* dans les lots témoins non traités, où le nombre moyen d'œufs pondus est de 958 $\pm$ 44,151 œufs en une semaine.

Quelque soit l'huile testée, la ponte diminue de manière significative avec la dose appliquée. Cependant, les réductions les plus importantes sont celles observées avec les huiles essentielles de *R. officinalis* (544,75 œufs) et *M. spicata* (337,5 œufs), à la dose 4 μ l.

A la dose 12 μ l, le nombre d'œufs pondus régresse pour passer de 698,5 à 44 pour *A. triphylla*. Ce résultat corrobore celui obtenu par Kellouche et al. (2004) qui ont trouvé que 10 femelles de *C. maculatus* peuvent déposer, en fonction du cultivar de niébé testé, en moyenne 668,2 $\pm$ 155,8 à 745,5 $\pm$ 97,7 œufs.

A la plus forte dose d'huile considérée, l'oviposition est presque totalement inhibée pour l'ensemble des huiles considérées.

1.1.3. Effets des huiles essentielles sur la viabilité embryonnaire de *C. maculatus*

1.1.3.1. Effets des huiles essentielles de *E. globulus*, *E. radiata*, *M. communis*, *P. lentiscus*, *L. nobilis* et *S. officinalis*

L'analyse de la variance à deux critères de classification a révélé une différence très hautement significative pour l'huile ($F=1038,21$; $P=0,000$; $DDL=5$), la dose ($F=39,11$; $P=0,000$; $DDL=4$) et pour leur interaction ($F=19,94$; $P=0,000$; $DDL=20$) (Annexe 4 : Tableau 5).

Les résultats obtenus révèlent une réduction significative du nombre d'œufs éclos, dans les lots traités. Les effets les plus importants ont été enregistrés avec les huiles essentielles de *E.globulus* et *E.radiata* qui ont inhibé l'éclosion des quelques œufs pondus sur les graines traitées à la dose 4µl, en comparaison avec les lots témoins dont 93.5% des œufs ont éclos (Tableau 13).

Tableau 13: Nombre d' œufs éclos de *C. maculatus* pondus sur les graines de *V. unguiculata* traitées avec les huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différente sont différentes de manière très hautement significative, conformément au test de Newman et Keuls au seuil $P = 5\%$).

Doses (µl)	<i>E. globulus</i>	<i>E. radiata</i>	<i>M. communis</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>P. lentiscus</i>
0	656,2±89,25 (a)	656,2±89,25 (a)	656,2±89,25 (a)	656,2±89,25 (a)	656,2±89,25 (a)	656,2±89,25 (a)
4	0±0 (e)	0±0 (e)	317,25± 15,17 (c)	0± 0 (e)	0± 0 (b)	485,57 ± 53,94 (b)
8	0 ± 0 (e)	0± 0 (e)	50,69 ± 47,85 (e)	0± 0 (e)	0± 0 (e)	218,5± 26,67 (d)
12	0± 0 (e)	0± 0 (e)	0± 0 (e)	0± 0 (e)	0± 0 (e)	0± 0 (e)
16	0± 0 (e)	0± 0 (e)	0± 0 (e)	0± 0 (e)	0± 0 (e)	0± 0 (e)

1.1.3.2. Effets des huiles essentielles de *O. basilicum*, *M.spicata*, *A. triphylla* et *R. officinalis*

L'analyse de la variance à deux critères de classification a révélé une différence très hautement significative pour l'huile ($F = 122,28$; $P = 0,000$; DDL = 3), la dose ($F = 2129,95$; $P = 0,000$; DDL = 4) et pour l'interaction ($F = 50,93$; $P = 0,000$; DDL = 12) (Annexe 4 : Tableau 6).

Les résultats obtenus révèlent une réduction significative du nombre d'œufs éclos, dans les lots soumis à l'action des huiles essentielles. Les effets les plus importants ont été enregistrés avec l'ensemble des huiles testées, et ce dès la dose 4 µl, comparativement aux lots témoins où près de 95% des œufs ont éclos (tableau 14).

Tableau 14 : Nombre d'œufs viables chez *C. maculatus*, dans les traitements avec les différentes huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différente diffèrent de manière très hautement significative, conformément au test de Newman et keuls au seuil $p = 5\%$).

Doses (μ l)	<i>R. officinalis</i>	<i>A. triphylla</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>M. spicata</i>
0	843,75 $\pm$ 35,14 (a)	843,75 $\pm$ 35,14 (a)	843,75 $\pm$ 35,14 (a)	843,75 $\pm$ 35,14 (a)
4	586,25 $\pm$ 31,44 (b)	588 $\pm$ 57,13 (b)	142 $\pm$ 33,26 (e)	269,25 $\pm$ 32,60 (d)
8	246,5 $\pm$ 19,01 (d)	375 $\pm$ 70 (c)	60,25 $\pm$ 21,82 (d)	72,5 $\pm$ 25,33 (fg)
12	35 $\pm$ 20,55 (fg)	9,75 $\pm$ 2,21 (g)	0 $\pm$ 0 (g)	37 $\pm$ 6,83 (fg)
16	0 $\pm$ 0 (g)	0 $\pm$ 0 (g)	0 $\pm$ 0 (g)	0 $\pm$ 0 (g)

Le nombre d'œufs éclos diminue en fonction de la dose et de la nature de l'huile essentielle testée. L'huile essentielle ayant montré l'effet le plus significatif est celle d'*O. basilicum*, avec aucun œuf éclos aux doses 12 et 16 μ l.

Une nette réduction a été observée aux doses 4 et 8 μ l, comparativement aux lots témoins avec des taux moyens variant de 7,19 %, 32,32. Les huiles essentielles testées ont montré un effet ovicide important.

1.1.4. Effet des huiles essentielles sur la viabilité post-embryonnaire de *C. maculatus*

1.1.4.1. Effet des huiles essentielles de *E. globulus*, *E. radiata*, *M. communis* *P. lentiscus*, *L. nobilis* et *S. officinalis*

L'analyse de la variance à deux critères de classification a révélé une différence très hautement significative pour les facteurs dose ($F = 862,90$; $P = 0,000$; DDL=4), huile ($F = 11,19$; $P = 0,000$; DDL=5) et pour leur interaction ($F = 7,72$; $P = 0,000$; DDL=20) (Annexe 4 : Tableau7).

Le taux de viabilité des œufs pondus par *C. maculatus* est supérieur à 94% dans les lots témoins, ce taux diminue au fur et à mesure que la dose d'huile augmente dans les lots traités.

Tableau 15 : Nombre d'œufs viables éclos de *C. maculatus*, dans les traitements avec les différentes huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différente sont différentes de manière très hautement significative, conformément au test de Newman et Keuls, au seuil $P = 5\%$).

Doses (µl)	<i>E. globulus</i>	<i>E. radiata</i>	<i>M. communis</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>P. lentiscus</i>
0	621,91±91,48 (a)	621,91±91,48 (a)	621,91±91,48 (a)	621,91±91,48 (a)	621,91±91,48 (a)	621,91±91,48 (a)
4	0± 0 (d)	0± 0 (d)	217,80 ± 18,76 (c)	0± 0 (d)	0± 0 (d)	321,90±96,87 (b)
8	0± 0 (d)	0± 0 (d)	17,62 ± 16,88 (e)	0± 0 (d)	0± 0 (d)	65,72±13,81 (c)
12	0± 0 (d)	0± 0 (d)	0± 0 (d)	0± 0 (d)	0± 0 (d)	0± 0 (d)
16	0± 0 (d)	0± 0 (d)	0± 0 (d)	0± 0 (d)	0± 0 (d)	0± 0 (d)

Aucune descendance n'est observée dans les lots traités avec les huiles essentielles de *E.globulus*, *E.radiata*, *L.nobilis*, *S.officinalis*, à la dose 4µl. Le même résultat a été obtenu à la dose 8 µl avec les huiles essentielles de *M.communis* et *P.lentiscus*.

1.1.4.2. Effet des huiles essentielles de *O. basilicum*, *M.spicata*, *A. triphylla* et *R. officinalis*

L'analyse de la variance à deux critères de classification a révélé une différence très hautement significative pour les facteurs dose ($F = 16,466$; $P = 0,000$; $DF=3$), huile ($F=1143,65$; $P = 0,000$; $DDL = 4$) et pour l'interaction des deux facteurs dose-huile ($F= 8,159$; $P = 0,000$; $DDL = 12$) (Annexe 4 : Tableau 8).

Les huiles essentielles les plus actives sur ce paramètre biologique sont celles de *O. basilicum* et de *M. spicata*, avec en moyenne moins de 10 œufs viables à la dose 8 µl.

Nous avons également constaté qu'aucun œuf n'est viable à la dose 16 µl pour l'ensemble des huiles considérées.

Tableau 16 : Nombre d'œufs viables éclos de *C. maculatus* dans les traitements avec les différentes huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différentielle de manière très hautement significative, conformément au test de Newman-Keuls au seuil $p=5\%$).

Doses (µl)	<i>R. officinalis</i>	<i>A. triphylla</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>M. spicata</i>
0	826±46,66 (a)	826±46,66 (a)	826±46,66 (a)	826±46,66 (a)
4	510±27,08 (b)	472±60,75 (b)	342±113,90 (b)	447±87,60 (b)
8	218,5±24,20 (d)	238±32,75 (d)	6,75±2,06 (e)	5,5±3,31 (e)
12	4±1,15 (e)	2,25±1,89 (e)	0±0 (e)	0±0 (e)
16	0±0 (e)	0±0 (e)	0±0 (e)	0±0 (e)

1.1.5. Effet des traitements avec les huiles essentielles sur la germination des graines de *V. unguiculata*

1.1.5.1. Effet des traitements avec les huiles essentielles de *E. globulus*, *E. radiata*, *M. communis*, *P. lentiscus*, *L. nobilis* et *S. officinalis*

L'analyse de la variance à deux critères de classification a révélé une différence très hautement significative pour l'huile ($F=448,9638$; $P=0,000$, DDL=5), la dose ($F=60,4836$; $P=0,000$; DDL=4) et pour leur interaction ($F=62,6258$; $P=0,000$; DDL=20) (Annexe 4 : Tableau 9).

L'analyse de la variance à 2 critères de classification n'a montré aucun effet significatif des traitements avec les huiles essentielles d'*E. globulus*, *E. radiata*, *L. nobilis* et *S. officinalis*, sur la germination des graines de niébé.

Dans les traitements avec les huiles essentielles de *M. communis* (4 µl/50g) et de *P. lentiscus* (toutes les doses), la faculté germinative des graines de *V. unguiculata* est réduite de façon très hautement significative (moins de 34%), comparativement aux graines du lot témoin (91,25%) (Tableau 17).

Tableau 17:Faculté germinative des graines de *V.unguiculata* (%) traitées avec les différentes huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différente différent de manière très hautement significative, conformément au test de Newman et Keuls, au seuil $P=5\%$).

Doses (µl)	<i>E. globulus</i>	<i>E. radiata</i>	<i>M.communis</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>P. lentiscus</i>
0	91,25 ± 8,53 (a)	91,25 ± 8,53 (a)	91,25 ± 8,53 (a)	91,25 ± 8,53 (a)	91,25 ± 8,53 (a)	91,25 ± 8,53 (a)
4	95 ± 4,08 (a)	95 ± 4,08 (a)	31,25 ± 6,29 (b)	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	31,25 ± 6,29 (b)
8	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	31,25 ± 6,29 (b)
12	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	33,75 ± 4,78 (b)
16	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	33,75 ± 4,78 (b)

1.1.5.2. Effet des traitements avec les huiles essentielles de *O. basilicum*, *M.spicata*, *A. triphylla* et *R. officinalis*.

L'analyse de la variance à deux critères de classification a révélé une différence hautement significative pour les facteurs dose ($F = 2,201$; $P = 0,09583$; DDL = 3), huile ($F = 17249,65$; $P = 0,000$; DDL = 4) et pour l'interaction des deux facteurs dose-huile ($F = 2,416$; $P = 0,012$; DDL = 12) (Annexe 4 : Tableau 10).

A la dose 16 µl, les huiles essentielles de *O. basilicum* et *M. spicata* n'ont pas affecté la germination des graines traitées (50 graines).

Avec l'huile essentielle de *A. triphylla*, le nombre de graines germées diminue légèrement dans l'ensemble des lots traités.

Pour l'huile essentielle de *O. basilicum*, le nombre de graines germées diminue aux doses 4 et 8 µl puis augmente aux doses 12 et 16 µl (germination de toutes les graines)

Dans les traitements avec les huiles essentielles de *O.basilicum* et *M.spicata*, il y a apparition du phénomène d'allélopathie positive avec une stimulation du nombre de graines germées, aux doses 12 µl (*O.basilicum*) et 16 µl (*M.spicata*).

Tableau 18 : Nombre de graines germées de *V. unguiculata* traitées avec les différentes huiles testées (les moyennes suivies d'une lettre différente différent de manière très hautement significative conformément au test de Newman et Keuls, au seuil $p=5\%$).

Doses (μ l)	<i>R. officinalis</i>	<i>A. triphylla</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>M. spicata</i>
0	49,5 $\pm$ 0,57 (ab)	49,5 $\pm$ 0,57 (ab)	49,5 $\pm$ 0,57 (ab)	49,5 $\pm$ 0,57 (ab)
4	45,75 $\pm$ 1,70 (abcd)	48 $\pm$ 0,81 (abcd)	45 $\pm$ 0,81 (abcd)	44,5 $\pm$ 3,87 (bcd)
8	44 $\pm$ 1,63 (cd)	45 $\pm$ 0,81 (abcd)	44,5 $\pm$ 3,31 (bcd)	45 $\pm$ 3,16 (abcd)
12	43,25 $\pm$ 3,94 (d)	46,5 $\pm$ 3,69 (abcd)	50 $\pm$ 0 (a)	48,25 $\pm$ 2,36 (abc)
16	48,75 $\pm$ 0,5 (abc)	47,75 $\pm$ 1,25 (abcd)	50 $\pm$ 0 (a)	50 $\pm$ 0 (a)

1.2. Tests de fumigation

1.2.1. Tests de fumigation avec les huiles essentielles de *E. globulus*, *E. radiata*, *M. communis*, *P. lentiscus*, *L. nobilis* et *S. officinalis*

Les résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification ont montré un effet très hautement significatif pour le facteur huile (DDL=5 ; $F=96,521$; $P=0,000$), le facteur dose (DDL=4 ; $F=7019,738$; $P=0,000$) et le facteur temps (DDL=3 ; $F=242,534$; $P=0,000$). Il en est de même pour l'interaction des trois facteurs huile x dose x temps (DDL=60 ; $F=7,367$; $P=0,000$) (Annexe 4 : tableau 13).

Les huiles essentielles d'*E. globulus* et de *S. officinalis* se sont montrées les plus toxiques après 24h d'exposition à la dose 8 μ l/l d'air, la mortalité des adultes de *C. maculatus* atteint 71% et 75%, respectivement (Tableau 19).

Tableau 19: Taux de mortalité (%) des adultes de *C. maculatus* (test de fumigation) avec les six huiles essentielles.

Espèces végétales	Doses (µl)	Temps d'exposition(h)			
		24	48	72	96
<i>E. globulus</i>	0	0	0	0	0
	4	20	92	100	-
	8	71	100	-	-
	12	90	100	-	-
	16	100	-	-	-
<i>E. radiata</i>	0	0	0	0	0
	4	42	71	100	-
	8	68	100	-	-
	12	85	100	-	-
	16	100	-	-	-
<i>M. communis</i>	0	0	0	0	0
	4	20	74	100	-
	8	60	100	-	-
	12	71	100	-	-
	16	100	-	-	-
<i>L. nobilis</i>	0	0	0	0	0
	4	25	100	-	-
	8	90	100	-	-
	12	100	-	-	-
	16	100	-	-	-
<i>S. officinalis</i>	0	0	0	0	0
	4	25	90	100	-
	8	75	100	-	-
	12	87	100	-	-
	16	100	-	-	-
<i>P. lentiscus</i>	0	0	0	0	0
	4	20	45	60	70
	8	60	90	97	100
	12	77	94	98	100
	16	90	100	-	-

L'huile essentielle d'*E. globulus* a induit 100% de mortalité chez les adultes de *C. maculatus*, après 96 heures d'exposition à la dose 4µl/l air (Tableau 12).

L'ensemble des huiles essentielles testées, hormis celle de *P. lentiscus*, ont provoqué 100% de mortalité, après 24h d'exposition à la plus forte dose (16µl/ l air). Pour obtenir le même résultat avec l'huile essentielle de *P. lentiscus*, il faut exposer les bruches adultes à la même dose pendant 48h. Dans les lots témoins, la mortalité est nulle même après 96h.

Détermination des DL_{50} pour les huiles essentielles de *E. globulus*, *E. radiata*, *M. communis*, *P. lentiscus*, *L. nobilis* et *S. officinalis* testées par fumigation après 24h d'exposition

Les graphes matérialisant les résultats obtenus consignés dans les tableaux (14,15,16,17,18 et 19) (Annexe 4) ont permis de déterminer les valeurs des DL_{50} des différentes huiles essentielles. Elles sont de : 5,62 $\mu\text{l/l}$ d'air pour *L. nobilis*, 6,04 $\mu\text{l/l}$ d'air pour *E. globulus*, 6,38 $\mu\text{l/l}$ d'air pour *E. radiata*, 6,41 $\mu\text{l/l}$ d'air pour *S. officinalis*, 7,68 $\mu\text{l/l}$ d'air pour *M. communis*, 8,78 $\mu\text{l/l}$ d'air pour *P. lentiscus*. Ces résultats montrent que les huiles essentielles sont actives sur *C. maculatus* par fumigation, bien que celles qui s'est montrée plus efficace est celle de *L. nobilis* avec la plus faible DL_{50} de l'ordre de 5,62 $\mu\text{l/l}$ d'air. Les coefficients de corrélation obtenus sont compris entre 0,95 et 0,98 ce qui indique une forte corrélation entre la mortalité et la dose d'huile utilisée. L'ensemble des résultats est indiqué sur les graphes des figures ci-dessous :

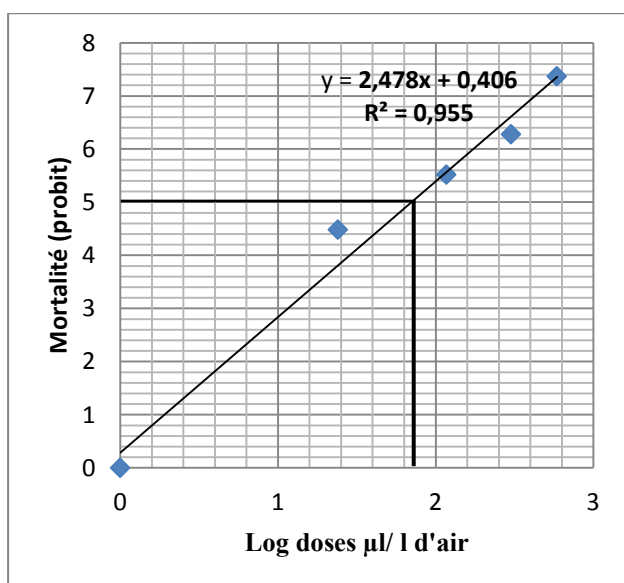


Figure 48 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation avec l'huile essentielle de *E. radiata*).

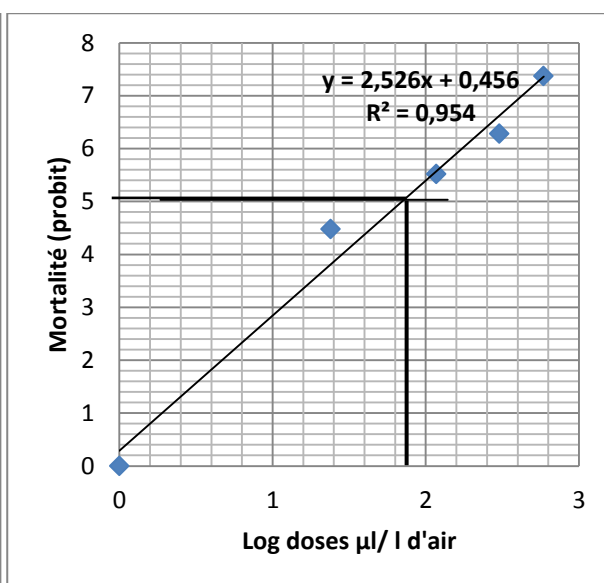


Figure 49 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation avec l'huile essentielle de *E. globulus*).

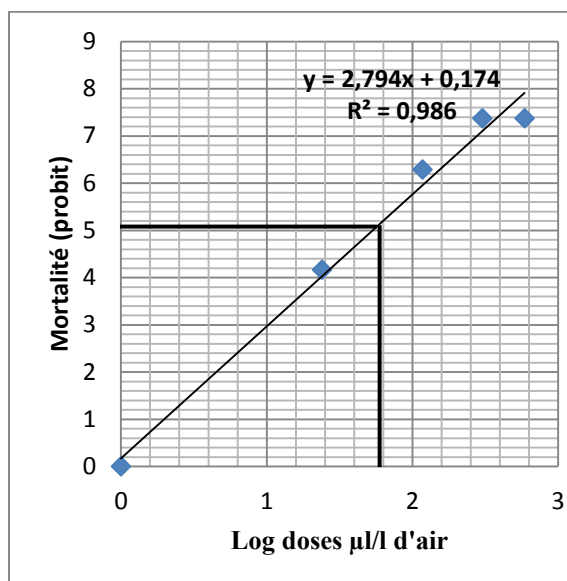


Figure 50 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation avec l'huile essentielle de *L. nobilis*).

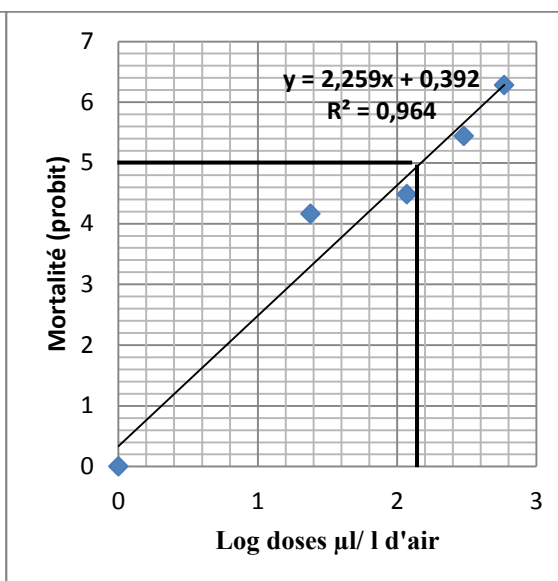


Figure 51 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation avec l'huile essentielle de *M. communis*).

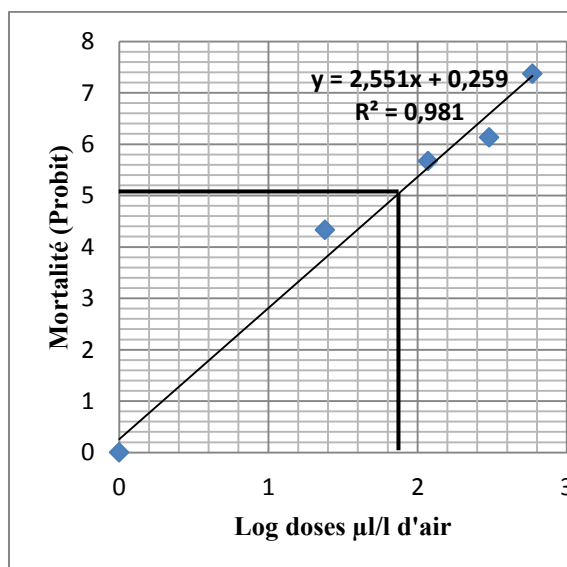


Figure 52 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation avec l'huile essentielle de *S. officinalis*).

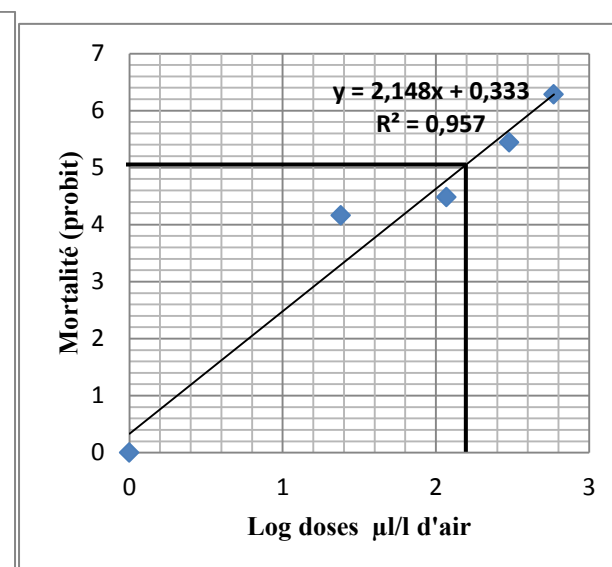


Figure 53 : Droite de régression de la mortalité en probits (traitement par fumigation avec l'huile essentielle de *P. lentiscus*).

1.2.2. Tests de fumigation avec les huiles essentielles de *O. basilicum*, *M. spicata*, *A. triphylla* et *R. officinalis*

Les résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification ont montré un effet très hautement significatif pour le facteur huile (DDL=3 ; F=102,457 ; P=0,000) ; le facteur temps (DDL=4 ; F=7727,496 ; P=0,000) et le facteur dose (DDL=3 ; F=252,924 ; P=0,000). Il en est de même pour l'interaction des trois facteurs huile x dose x temps (DDL=36 ; F=7,693 ; P=0,000) (Annexe 4 : tableau 14).

Le panel des 4 huiles essentielles testées a provoqué 100 % de mortalité après 24 h d'exposition à la dose la plus forte (16 µl).

Dans les lots témoins, aucun individu n'est mort, même après 96 h d'exposition. L'huile essentielle *M. spicata* induit un taux de mortalité de 70% à la dose 8 µl/l air

La dose 12 µl/l air, a réduit la population de *C. maculatus* de 90 % pour l'ensemble des huiles testées (Tableau 20).

Tableau 20: Taux de mortalité (%) des adultes de *C. maculatus* (test de fumigation) avec les quatre huiles essentielles.

Espèces	Doses (µl)	Temps d'exposition (h)			
		24	48	72	96
<i>R. officinalis</i>	0	0	0	0	0
	4	25	50	25	0
	8	35	55	90	100
	12	70	30	10	100
	16	90	10	100	0
<i>O. basilicum</i>	0	0	0	0	0
	4	30	45	25	100
	8	40	30	100	0
	12	90	10	100	0
	16	100	0	0	0
<i>M. spicata</i>	0	0	0	0	0
	4	20	60	100	0
	8	70	20	100	0
	12	90	10	100	0
	16	100	0	0	0
<i>A. triphylla</i>	0	0	0	0	0
	4	35	50	90	0
	8	45	100	0	0
	12	65	100	0	0
	16	100	0	0	0

Détermination des DL_{50} pour les huiles essentielles *O. basilicum*, *M. spicata*, *A. triphylla* et *R. officinalis* testées par fumigation

Les graphes des figures matérialisant les résultats obtenus consignés dans les tableaux (21,22,23 et 24) (Annexe 4) ont permis de déterminer les valeurs de DL_{50} des différentes huiles essentielles de : 6,48 μ l /l air pour *M. spicata*, 6,70 μ l/l air pour *A. triphylla*, 6,75 μ l/l air pour *O. basilicum*, 8,46 μ l/l air pour *R. officinalis*. Ces résultats montrent que les huiles essentielles sont actives sur *C. maculatus* par fumigation, bien que celle qui s'est montrée plus efficace est celle de *M. spicata* qui nous a permis d'enregistrer la DL_{50} la plus faible de l'ordre de 6,48 μ l /l d'air.

Les coefficients de corrélation obtenus sont compris entre 0,93 et 0,99 ce qui indique une forte corrélation entre la mortalité et la dose d'huile utilisée. L'ensemble des résultats est indiqué sur les graphes des figures ci-dessous:

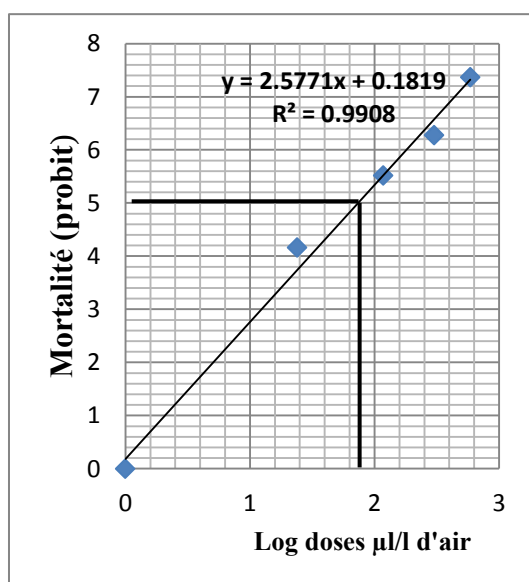


Figure 54: Droite de régression de la mortalité dans les traitements par fumigation avec l'huile essentielle de *M. spicata*.

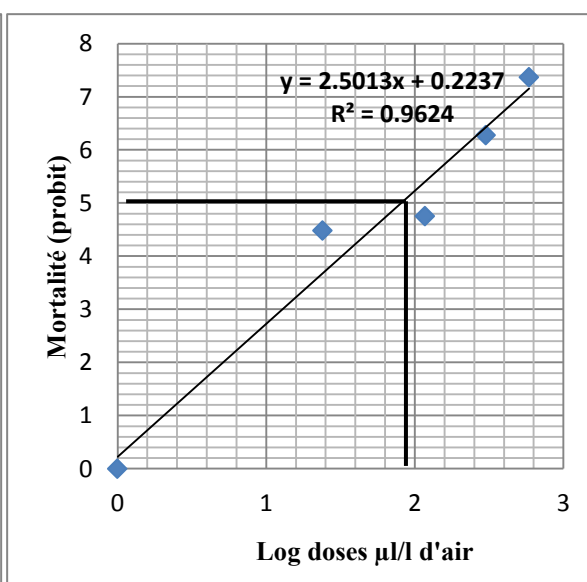


Figure 55 : Droite de régression de la mortalité dans les traitements par fumigation avec l'huile essentielle de *O. basilicum*.

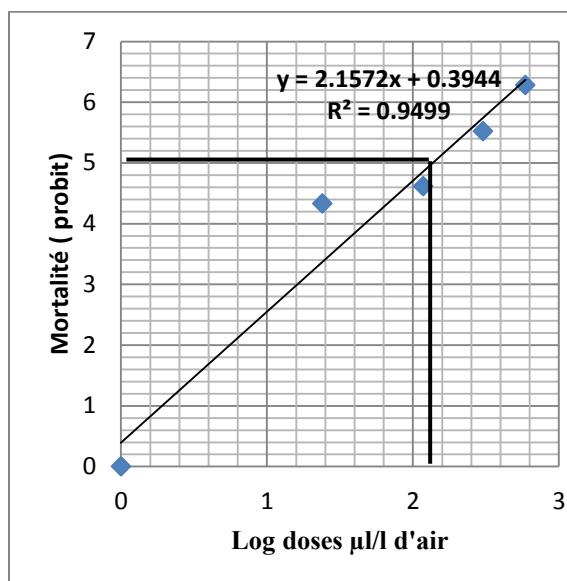


Figure 56: Droite de régression de la mortalité dans les traitements par fumigation avec l'huile essentielle de *R.officinalis*.

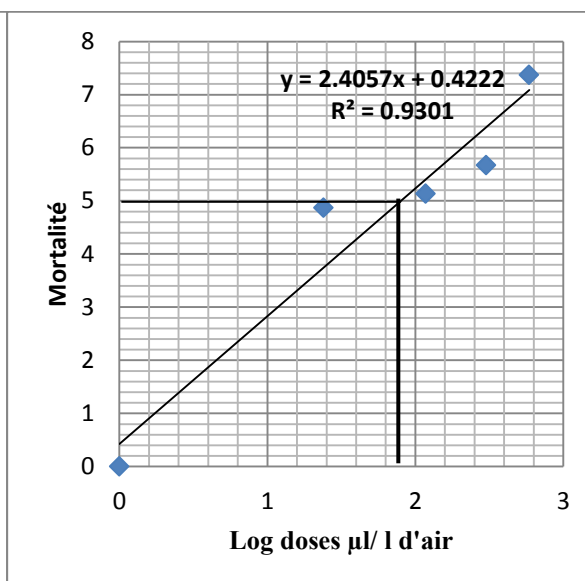


Figure 57: Droite de régression de la mortalité dans les traitements par fumigation avec l'huile essentielle de *A. triphylla*.

1.3. Test de répulsivité

1.3.1. Test de répulsivité avec *E. globulus*, *E. radiata*, *M. communis*, *P. lentiscus*, *L. nobilis* et *S. officinalis*

Les résultats de l'analyse de la variance pour les tests de répulsivité montrent qu'il n'y a aucune différence significative pour le facteur huile (DDL=5 ; F=0,836 ; P= 0,53005), le facteur dose (DDL=3 ; F=0,868 ; P= 0,04176) et l'interaction des deux facteurs dose x huile (DDL=15 ; F=1,328 ; P= 0,20857) (Annexe 4 : Tableau 11).

L'ensemble des huiles essentielles ont montré une activité importante vis-à-vis des adultes de *C. maculatus*. En effet, elles ont toutes eu un effet répulsif ou très répulsif.

E. globulus, *E. radiata* et *S. officinalis* se sont révélées comme les plus répulsives avec un taux de 100% à la dose 12 μl . Ce taux est obtenu avec l'ensemble des huiles et ce à la plus forte dose testée (16 μl) (Tableau 21).

Tableau 21: Taux moyen de répulsivité (%) (Mc Donald *et al.*, 1970) des différentes huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie), vis-à-vis des adultes de *C. maculatus* (les moyennes suivies d'une lettre différente sont différentes de manière très hautement significative, conformément au test de Newman et Keuls au seuil $P=5\%$).

Doses (μ l)*	<i>E.globulus</i>	<i>E.radiata</i>	<i>M.communis</i>	<i>L.nobilis</i>	<i>S.officinalis</i>	<i>P.lentiscus</i>
4	53,75 $\pm$ 4.78 (ef)	53,75 $\pm$ 4.78 (ef)	56,25 $\pm$ 4,78 (ef)	50 $\pm$ 4,08 (f)	50 $\pm$ 4,08 (f)	55 $\pm$ 7,07 (ef)
8	67,5 $\pm$ 2.88 (cd)	67,5 $\pm$ 2.88 (cd)	70,25 $\pm$ 2,5 (be)	62,5 $\pm$ 15 (cde)	78,74 $\pm$ 8,16 (bcd)	61,25 $\pm$ 2.5 (de)
12	100 $\pm$ 0 (a)	100 $\pm$ 0 (a)	72,5 $\pm$ 8,66 (bc)	78,75 $\pm$ 6,29 (b)	100 $\pm$ 0 (a)	71,25 $\pm$ 4,78 (bcd)
16	100 $\pm$ 0 (a)	100 $\pm$ 0 (a)	100 $\pm$ 0 (a)	100 $\pm$ 0 (a)	100 $\pm$ 0 (a)	100 $\pm$ 0 (a)
Taux (%) moyen de répulsivité	81,31	81,31	74,75	72,75	82,18	71,87
Classe de répulsivité	V (très répulsive)	V (très répulsive)	IV (répulsive)	IV (répulsive)	V (très répulsive)	IV (répulsive)

1.3.2. Test de répulsivité avec *O. basilicum*, *M. spicata*, *A. triphylla* et *R. officinalis*

Les résultats de l'analyse de la variance pour les tests de répulsivité montrent qu'il y a une différence significative pour le facteur huile (DDL=3 ; $F=47,767$; $P=0,000$), le facteur dose (DDL=3 ; $F=265,814$; $P=0,000$) et l'interaction des deux facteurs dose x huile (DDL=9 ; $F=19,596$; $P=0,000$) (Annexe 4 : Tableau 11).

Les huiles essentielles extraites des quatre espèces de Lamiaceae ont montré une activité répulsive sur les adultes de *C. maculatus* ; dès la dose 4 μ l, nous observons un effet moyennement répulsif, mais cet effet croît avec l'augmentation de la dose, jusqu'à atteindre les taux respectifs de 77,81 % pour *R. officinalis*, 75% pour *A. triphylla*, 79,68 % pour *O. basilicum* et 68,75% pour *M. spicata* (Annexe 4 : Tableau 12).

Tableau 22 : taux moyen de répulsivité (%) des huiles essentielles extraites des quatre Lamiaceae, vis-à-vis des adultes de *C. maculatus* (les moyennes suivies d'une lettre différente varient de manière hautement significative, conformément au test de Newman et de Keuls au seuil $P = 5\%$).

Doses (μ l)	<i>R. officinalis</i>	<i>A. triphylla</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>M. spicata</i>
4	51,25 (d)	51,25 (d)	51,25 (d)	51,25 (d)
8	60 (a)	58,75 (c)	67,5 (a)	60 (c)
12	100 (a)	65 (c)	100 (a)	63,75 (c)
16	100 (a)	75 (b)	100 (a)	100 (a)
Taux moyen de répulsivité	77,81	62,5	79,68	68,75
Classe de répulsivité selon MC Donald et al. (1970)	IV Répulsive	IV Répulsive	IV Répulsive	IV Répulsive

Discussion

La présente étude a révélé que l'efficacité des huiles essentielles testées est fonction de leurs principaux constituants majoritaires, quelque soit le facteur biologique de *C. maculatus* considéré.

Les huiles essentielles analysées sont constituées majoritairement de monoterpènes comme l' α pinène, le β pinène, le camphène, le limonène, le P. cymène et le terpinolène pour les unes et l' α pinène, le β pinène, le camphor et l'eucalyptol pour les autres.

Ces composés ont été souvent caractérisés par leur activité biocide et répulsive contre de nombreux insectes ravageurs des denrées stockées (Keita *et al.*, 2000 ; Ketoh *et al.*, 2002; Kellouche *et al.*, 2004 ; Papachristos et Stamoupolos, 2002 et Kellouche *et al.*, 2010).

Par ailleurs, les résultats obtenus dans notre étude révèlent que l'ensemble des huiles testées sont bioactives à l'égard de la bruche du niébé dans les traitements par contact en affectant l'ensemble des paramètres biologiques de la bruche du niébé (longévité des adultes, la fécondité, les taux de viabilité embryonnaire et post-embryonnaire).

Les résultats auxquels nous sommes arrivés dans les traitements par contact corroborent ceux de Hedjalet *et al.* (2013) qui ont mis en évidence un effet biocide des huiles essentielles de six conifères, provenant d'Algérie et de Tunisie, aussi bien sur la longévité des adultes et le nombre d'œufs pondus que sur le taux de viabilité de ces œufs, chez *C. maculatus*.

La réduction de l'émergence des adultes, enregistrée dans nos tests, pourrait s'expliquer en partie par la faible éclosion des œufs pondus. Il est probable que les vapeurs des huiles essentielles diffusent à travers le chorion ou le siphon respiratoire des œufs et affectent les processus physiologiques et biochimiques associés au développement embryonnaire (Raja *et al.*, 2001).

De même, Regnault-Roger et Hamraoui (1995) ont observé l'effet du binalool, du thymol et du carvacrol sur la fécondité de la bruche du haricot (*Acanthoscelidesobtectus*).

Parmi les huiles essentielles testées, celle de *P. lentiscus* a affecté négativement le pouvoir germinatif des graines de *V. unguiculata* (33 %). D'autre part, avec l'huile essentielle de *O. basilicum*, le nombre de graines germées diminue aux doses 4 et 8 µl puis augmente aux doses 12 et 16 µl (germination totale de toutes les graines) Avec l'huile essentielle de *A. triphylla*, le nombre de graines germées diminue légèrement dans l'ensemble des lots traités.

Ces observations pourraient s'expliquer par le fait que de nombreuses espèces végétales synthétisent et relâchent dans l'environnement des molécules qui affecteraient la germination et la croissance des plantes se développant à leur contact comme les huiles essentielles, c'est l'allélopathie (Macias *et al.*, 1999). Dans notre étude, l'huile essentielle aurait pu affecter les mécanismes fondamentaux des graines de niébé comme la perméabilité membranaire, la respiration et la germination par les alcools monoterpéniques ou les phénols qu'elle contient. Les effets de ces composés peuvent être additifs ou synergiques (Blum, 1999).

Rice (1984) admet que le terme allélopathie est généralement accepté pour couvrir à la fois des effets de stimulation et d'inhibition d'une plante sur une autre.

Par ailleurs, les substances naturelles que nous avons testées ont eu un effet toxique par fumigation sur les adultes de *C. maculatus*. En effet, elles ont toutes causé la mort des bruches, après une exposition de 96 h à la dose 16 µl. Un effet "Knock down" a été observé avec les huiles essentielles de *E. globulus*, *E. radiata* et *L. nobilis*, *O. basilicum*, *M. spicata* et *A. triphylla* ce qui démontre l'efficacité de ces substances naturelles par fumigation, qui serait la conséquence de leur richesse en composés monoterpéniques. Cet effet choc s'est traduit par une immobilité instantanée des bruches adultes dès leur contact avec les vapeurs de ces huiles dans les bocal hermétiques à la dose 16 µl / l d'air après 24h d'exposition. Nyamador (2001) a évoqué l'augmentation de l'acétylcholinestérase chez des individus de *C. subinnotatus*, en situation de « knock down » ou de mort, et qui serait liée à la libération de l'acétylcholine, neuromédiateur, induit par l'activité de

l'huile essentielle de *Cymbopogongiganteus*. Cette importante libération d'acetylcholineneuromediateur serait, selon Badiou (2008), à l'origine d'une activité productrice d'AchE dans le système cholinérgique de l'abeille afin de rétablir AchE /Ach.

La bioactivité de l'ensemble des huiles testées à l'égard des bruches adultes a été mise en évidence dans les tests par contact mais ont eu également des effets appréciables par fumigation et répulsivité.

Enan (2002) explique que l'effet des huiles essentielles est du aux composés terpéniques qui agiraient comme des neurotoxines.

Les mortalités enregistrées confirment les résultats d'autres chercheurs comme Keïta (2000) qui a traité des adultes de *C. maculatus* avec l'huile essentielle de *O. basilicum* ; une mortalité de 96 % à été obtenue à la dose 90 µl après 48 h, contre 4 % enregistrés dans les lots témoins. En plus, très peu d'œufs ont été déposés par les femelles soumises à l'action de l'essence d'*O. basilicum*.

De même, Obeng-Ofori et al. (1997) ont démontré l'effet insecticide du 1,8 cinéol par application topique sur *Sitophilusgranarius*, *Sitophiluszeamais*, *Triboliumcastaneum* et *P. truncatus* ; la dose 7 µl a induit 100 % de mortalité au bout de 48 h sur les quatre espèces de ravageurs. Ce même composé a causé une inhibition totale du développement des œufs, des larves et des pupes de *S. granarius* et *S. zeamais*, ainsi que celle de l'oviposition. Son action s'est également traduite en causant une forte répulsivité vis-avis de *S. granarius* et *S. zeamais*, mais une action modérément répulsive, vis-à-vis de *T. castaneum* et *P. truncatus*, a été obtenue.

Nos résultats concordent avec ceux de Regnault-Roger et Hamraoui (1995) qui ont observé un effet toxique des monoterpènes par fumigation sur la bruche du haricot, *A. obtectus* (Say). Il en est de même pour Tapondjouetal. (2002) qui ont montré qu'un matériel végétal broyé et l'huile essentielle de *Chenopodiumambrosioides* ont réduit de 80 à 100 % les densités des populations de *C. chinensis*, de *Acanthoscelidesobtectus*, de *Sitophilusgranarius* et de *Prostephanustruncatus* de certaines denrées stockées (Mais, blé, petit pois, haricot blanc et haricot mungo), 24 heures après application d'une dose de 0,2 µl/cm². Les huiles essentielles agiraient également en se fixant sur les recepteurs d'octopamine qui sont des cibles idéales pour les biopesticides. Elles peuvent également réduire l'appétit des insectes par altération des proteines disponibles (ce qui induirait l'inhibition de leur croissance) ou agir par action directe(Harborne, 1993).

Les propriétés répulsives des huiles essentielles sont souvent associées à la présence de monoterpénoides et de sesquiterpènes bien que les effets toxiques dépendent de l'espèce d'insecte, de la plante et du temps d'exposition à l'huile essentielle (Kim *et al.*, 2002).

Notre résultat est analogue à ceux de Shaaya *et al.* (1991) qui ont testé les huiles essentielles extraites à partir de certaines Labiées comme l'origan, le basilic, la marjolaine, le thym, la sauge, le romarin et la lavande ; ces substances ont causé 100% de mortalité chez *Rhyzopertadominica* (F.) (Coleoptera :Bostrychidae), *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera :Silvanidae), *Tribolium castaneum* (Hbst.) (Coleoptera : Tenebrionidae) et *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera : Curculionidae), à des doses variant de 10 à 15 µl/ l d'air.

A la dose 16 µl, l'ensemble des huiles testées ont montré une activité répulsive de 100 % à l'égard des adultes de *C. maculatus*.

Bien que les mécanismes d'action des huiles sur les ravageurs ne soient pas complètement compris, il a été suggéré que l'octopamine, un biogénique structuellement proche de la noradrénaline des vertébrés, agit comme un neurotransmetteur chez les invertébrés. L'octopamine a un effet régulateur sur les battements du cœur, la motricité, la ventilation, le vol et le métabolisme des invertébrés (Roeder, 1999).

Les huiles essentielles agiraient en se fixant sur les récepteurs de l'octopamine qui constituent de bonnes cibles pour les biopesticides. Enan (2002) a montré que l'application de l'eugénol, de l' α terpinéol et de l'alcool cinnamique bloquent les sites récepteurs de l'octopamine, chez *Stomoxys calcitrans* (Diptera : Muscidae). Dans le même ordre d'idée Garcia *et al.* (2005) suggèrent que ce sont les groupements hydroxyle, contenus dans l' α terpinéol, le pulégol et le gérmacrol, qui sont responsables de l'activité biocide de ces composées vis-à-vis de *T. castaneum*. Ces groupements hydroxyle possèdent une spécificité électrostatique qui leur permet de générer des interactions récepteurs-substance répulsive et l'induction de la bioactivité des huiles essentielles; celle-ci se traduit le plus souvent par une action sur la physiologie des insectes, en induisant des effets antiappétants ou déterrents, affectant ainsi la croissance, la fécondité et le développement des insectes. Les huiles essentielles de *E. globulus*, *E. radiata*, *L. nobilis* et *S. officinalis*, *O. basilicum* et *M. spicata* se sont révélées comme les substances les plus toxiques à l'égard de *C. maculatus*, et ce dans les trois tests réalisés (Contact, fumigation et répulsivité).

Lee *et al.* (2003) ont testé l'action d'une vingtaine de terpénoïdes d'origine naturelle sur *S. oryzae*, *T. castaneum* et *O. surinamensis*, et ont montré que le cinéol, le l- fenchone et le

pulégone, à la concentration de 50 µg/ml air, ont causé 100% de mortalité sur toutes les espèces testées et ont conclu que les cétones sont plus toxiques que tous les autres monoterpènes. Shaaya *et al.* (1997) ont testé les huiles essentielles de certaines espèces de Lamiaceae comme la menthe poivrée, le basilic et le romarin et une huile essentielle qu'ils ont appelée ZP51 (Labiataesp.). Cette dernière s'est avérée la plus efficace sur l'ensemble des insectes ravageurs considérés, entraînant la mort de 90 % des adultes de *S. oryzae*, *R. dominica*, *O. surinamensis* et *T. castaneum*, à une concentration de 1,4 µl, pendant 24 h et ce par contact.

Pannuti *et al.* (2012) ont testé les poudres de *C. ambrosioides* L. et *P. nigrum* et ont constaté une réduction de l'oviposition et de l'émergence chez *C. maculatus*.

L'effet bioinsecticide des huiles essentielles sur les adultes de *C. maculatus* pourrait s'expliquer par l'action des composés monoterpéniques qui bloque les sites actifs de fixation de l'acétylcholinestérase, par inhibition de la synthèse de la tyramine précurseur de l'octopamine, un neuromédiateur chez les insectes (Enan, 2002).

Ketoh *et al.* (2006) ont montré que l'huile essentielle de *O. basilicum* a un effet inhibiteur sur les canaux sodiques. Des changements peuvent alternativement se produire au cours de l'embryogenèse et faciliter la diffusion des huiles essentielles dans les œufs, affectant ainsi les processus vitaux et physiologiques de l'embryogenèse.

Les huiles essentielles que nous avons utilisées dans nos essais ont causé un effet très visible sur l'oviposition, elles ont inhibé la ponte à la dose 16 µl.

La réduction de la ponte observée résulterait de la mort précoce de certaines femelles ou de l'inhibition de l'accouplement chez les adultes. De nombreux auteurs ont rapporté des effets similaires ; c'est ainsi que Ghoneim *et al.* (2012), par exemple, ont montré que des extraits d'une Zygophyllaceae, poussant spontanément dans le désert égyptien, pourraient constituer un biopesticide prometteur pour le contrôle des populations de *Schistocerca gregaria*. En effet, l'inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase a été observée avec des doses prononcées dans les corps gras (déterminées par calorimétrie) des jeunes nymphes, quelles que soient la nature de l'extrait ou la dose utilisées. La même observation a été notée chez les jeunes femelles soumises aux mêmes extraits. Ces faits observés supposent l'existence de certains composés toxiques ayant induit l'accumulation de l'acétylcholine au niveau des synapses, il s'ensuit alors une paralysie, une ataxie et même la mort de l'insecte.

L'inhibition de la ponte des femelles de *C. maculatus* serait liée également à une perturbation de l'oviposition due aux vapeurs des huiles essentielles. En effet, Nyamador (2009), en observant l'appareil reproducteur de certaines femelles de *Callosobruchussubinnotatus* traitées avec des doses inférieures ou égales à 20 μ l, avec l'huile essentielle de *Cymbopogongiganteus*, a détecté des ovocytes matures en rétention dans les oviductes et la bourse copulatrice. Il suggère alors que les huiles essentielles provoqueraient la rétention des œufs par incapacité physique d'oviposition chez les femelles de cette bruche. Les interventions des huiles essentielles sur les pars intercerebralis perturbent fortement l'activité ovarienne et induisent une accumulation du neurosécrétat. Ce blocage provoquerait chez la femelle de bruches la non contraction des sphincters susceptibles de pousser les œufs de la bourse copulatrice vers l'orifice génital pour leur émission. Par ailleurs, selon Cassier et al. (1997), la non sécrétion des neurohormones par les *Corporaallata*, stimulatrices de la ponte, empêcherait les contractions spontanées des oviductes latéraux et l'activation du dernier ganglion abdominal, réglant par voie humorale l'émission finale des œufs.

Seri Kouassi et al. (2004) a expliqué l'inhibition de l'oviposition, par les huiles essentielles chez *C. maculatus*, par la présence d'ovocytes mûrs dans les oviductes et dans la bourse copulatrice qui inhiberait le contrôle du système gonadotrope sur la libération de l'hormone de la ponte. La rétention d'œufs induirait donc une inhibition de l'activité ovarienne.

Les vapeurs d'huiles essentielles agiraient sur le système nerveux des insectes en entraînant le déclenchement rapide d'un mécanisme de feed back négatif. L'effet ovicide mis en évidence serait probablement la conséquence de la pénétration de la fraction volatile d'huile essentielle dans les œufs, à travers le chorion bloquant ainsi l'embryogenèse. Ainsi Don Pedro (1989) avance l'hypothèse selon laquelle l'activité des huiles essentielles serait due à la toxicité directe de leurs composés qui inhiberaient l'activité métabolique des œufs, par pénétration à travers le tube respiratoire.

Le nombre d'œufs viables a diminué avec les huiles essentielles appliquées et des résultats probants ont été obtenus avec l'huile essentielle de *O. basilicum*, à la dose 12 μ l, avec un nombre d'œufs éclos nul ; il en est de même pour les émergences d'adultes qui ont vu leur nombre décroître considérablement avec *M. spicata*, et ce à la dose 8 μ l. Ces résultats corroborent ceux de Ketoh et al. (2002) qui affirment que les œufs de *C. maculatus* sont plus sensibles aux substances insecticides que les adultes. Ainsi l'exposition des œufs de *C. maculatus* aux huiles essentielles

de *C. nardus* et *O. basilicum*, à faibles doses, ont généré des taux de mortalité importants, ce même traitement a limité la survie des larves dans les graines.

Conclusion

L'utilisation des huiles essentielles des plantes appartenant aux familles des Lamiaceae, Myrtaceae, Anacardiaceae et Lauraceae, s'est avérée fort intéressante au vu des résultats prometteurs obtenus dans la régulation des populations de *C. maculatus*, principal ravageur de *V. unguiculata*. La toxicité des huiles essentielles s'est illustrée en induisant des effets adulticide par effet « Knock down » et ovicide (à cause de la perméabilité du chorion ou de la membrane vitelline qui facilite la diffusion des vapeurs). Les différents tests réalisés sur l'action des huiles essentielles par contact, fumigation et répulsivité, ont donné des résultats différents selon la cible visée (adultes ou œufs). La fumigation est le moyen le plus efficace pour obtenir de forts taux de mortalité sur les différents stades de développement des insectes ravageurs des graines stockées.

Conclusion générale et perspectives

La difficulté à contrôler les populations des insectes ravageurs des grains stockés est renforcée par les limites et les conséquences liées à l'utilisation de pesticides de synthèse.

Notre étude rentre dans le cadre de la recherche de solutions alternatives qui permettent de réduire les pertes occasionnées par ces insectes nuisibles, comme la bruche du niébé, insecte clétophage utilisé comme modèle biologique associé au haricot dolique, par l'utilisation des huiles essentielles pour limiter les inconvénients liés aux pesticides

La collection des plantes utilisées a été réalisée selon les données bibliographiques (Beloued, 2001 et Ait youcef 2006) et notre propre investigation auprès de la population locale (Kabyle). Dans cette collection figurent dix espèces végétales représentatives de quatre familles. Il s'agit de : *O. basilicum*, *A. triphylla*, *M. spicata*, *R. officinalis* et *S. officinalis* pour les Lamiaceae, *E. globulus*, *E. radiata* et *M. communis* (Myrtaceae), *P. lentiscus* pour les Anacardiaceae et *L. nobilis* pour les Lauraceae. Dans un premier temps, une partie des feuilles de ces différentes essences ont été séchées puis soumises à une hydrodistillation, pour le suivi de l'évolution des rendements en huiles essentielles en fonction du temps. Les feuilles restantes ont été soumises à une distillation par entraînement à la vapeur d'eau, dans un extracteur pilote au CRD Saïdal d'El Harrach. La technique d'hydrodistillation a permis de déterminer que la durée du traitement pour l'obtention du meilleur rendement est compris entre 60 et 90 mn. Le rendement le plus important a été obtenu avec les feuilles de *L. nobilis* (1,30 %), *E. radiata* (1,25 %) et *O. basilicum* avec 1,13 % puis suivent *A. triphylla* (0,86 %), *E. globulus* avec 0,81 %, *S. officinalis* (0,2 %) et *R. officinalis* avec 0,18 %, puis viennent *P. lentiscus* (0,021%) et *M. communis* (0,016%).

Une étude histologique des coupes anatomiques, au niveau des feuilles, a été effectuée parallèlement. Les observations, au microscope optique et au microscope électronique à balayage, nous ont apporté certains éléments de réponse pouvant expliquer l'allure des courbes obtenues et ce par la localisation des structures sécrétrices caractéristiques de chaque espèce végétale. Des poils glandulaires exogènes capités et peltés ont été localisés à la surface des cellules épidermiques des espèces de la famille des Lamiaceae, comme *R. officinalis* ou *S. officinalis*. Des structures sécrétrices endogènes d'huiles essentielles ont été observées dans le mésophyle des feuilles de *L. nobilis* (canaux sécréteurs) et des glandes sécrétrices chez *M. communis* et *P. lentiscus*.

Dans un troisième temps, nous avons analysé les huiles essentielles extraites par entraînement à la vapeur d'eau par la technique CG/MS. Cette dernière a permis

l'identification de la quasi-totalité des constituants de ces huiles qui sont principalement hydrocarbonés.

L' α pinène et le β pinène sont les constituants communs aux 10 huiles essentielles analysées bien que *M. communis* ait montré un taux nettement supérieur en α pinène (18,96%), suivi de *E. globulus* avec 7,69% et *R. officinalis* avec 7,61%.

L'huile essentielle de *M. spicata* est riche en carvone (47,92%) et en limonène (21,02 %). L'estragol reste le composé majoritaire de l'huile essentielle de *O. basilicum* avec 76,81 %. *A. triphylla* présente un taux de 24,88 % en α citral et *R. officinalis* contient 41,7% d'eucalyptol. La fraction oxygénée est minoritaire dans les différentes huiles fractionnées.

La quatrième et dernière partie de cette étude est consacrée à l'évaluation des propriétés insecticides des dix huiles essentielles extraites et caractérisées dans la troisième partie. Ces huiles ont montré des résultats assez probants en révélant leur efficacité dans le contrôle de certains stades de développement de *C. maculatus*. Le traitement par contact des bruches a montré que ce sont les huiles essentielles de *E. globulus*, *E. radiata*, *L. nobilis* et *S. officinalis* qui ont eu l'effet adulticide le plus important, avec une durée moyenne de vie des bruches comprise entre 1 heure et 21 heures. Les individus témoins non soumis à l'action des huiles, vivent en moyenne $170,25 \pm 1,25$ h. A la dose 8 μ l d'huile essentielle de *O. basilicum*, les adultes survivent 5 heures. Au delà de cette dose, tous les individus meurent.

Les huiles essentielles de *L. nobilis* et *S. officinalis* inhibent complètement la ponte de *C. maculatus*, à la dose 4 μ l, l'éclosion des œufs a été également affectée par les traitements avec les huiles essentielles. En effet, *E. radiata* et *E. globulus* ont induit l'inhibition de l'éclosion des œufs à la dose 4 μ l, alors que dans les lots témoins, 93,5% ont éclos. Ces huiles essentielles ont donc agi comme des déterrents en inhibant ou en limitant l'oviposition.

La germination des graines de *V. unguiculata* a été affectée par les huiles essentielles de *M. communis* et *P. lentiscus*, avec moins de 34% de germination en comparaison à 91,25 % de graines germées dans les boîtes témoins. Nous concluons donc à une allélopathie négative exercée par ces xénobiotiques sur la germination des graines de *V. unguiculata*.

Les huiles essentielles les plus répulsives, selon le classement établi par Mc. Donald et al. (1970), sont *O. basilicum* avec 76,68 % et *E. globulus* et *E. radiata* avec 81,31%.

Les bioessais par fumigation ont montré des effets significatifs. Les traitements ont entraîné une action effective par « knock down » sur l'ensemble des adultes testés puis un effet adulticide après 96 h d'action, alors que dans les lots témoins aucune mortalité n'a été enregistrée. La DL₅₀ la plus faible obtenue est celle avec l'huile essentielle de *L. nobilis* avec une valeur de 5,34 µl / l d'air après 24 h de traitement et celle de *M. spicata* avec 6,48 µl / l d'air.

Les résultats de nos bioessais ont permis de sélectionner l'huile essentielle de *E. radiata* comme meilleur fumigant, les huiles essentielles de *E. globulus* et *E. radiata* comme les plus répulsives et les plus inhibitrices. Les huiles essentielles de *L. nobilis* et *S. officinalis* sont les meilleurs adulticides par contact, en réduisant significativement la durée de vie des adultes et en inhibant la ponte chez les femelles de *C. maculatus*.

Les tests nous ont ainsi permis de mettre en évidence l'activité adulticide, ovicide et déterrente des huiles essentielles testées à l'égard de *C. maculatus*.

A la lumière de l'ensemble des résultats intéressants obtenus, il est permis d'espérer au moins une réduction de l'usage des pesticides, en particulier dans les entrepôts de stockage des grains avec l'alternative que représente les substances naturelles dont nous venons de démontrer la polyvalence de leur activité biologique.

La diversité des activités des substances allélochimiques, comme les huiles essentielles peut être mise à profit dans le contrôle des bioagresseurs, en particulier dans les milieux confinés comme les entrepôts de stockage des récoltes céréalières et légumières.

- Il serait intéressant de fractionner les huiles essentielles ayant donné les meilleurs résultats par leurs actions sur les œufs de *C. maculatus*, de les tester séparément puis de réaliser des mélanges à différentes concentrations afin de vérifier l'hypothèse de synergie d'action des différents constituants.
- Tester différents mélanges d'huiles essentielles à l'égard des principaux ravageurs .
- Sensibiliser les populations locales aux problèmes environnementaux et actualiser les pratiques empiriques de conservation des denrées stockées afin de valoriser les ressources végétales locales par la production de pesticides dits "verts".
- Elargir à d'autres modèles de ravageurs des grains de céréales comme *S. oryzae*, *S. granarius* et *R. dominica* afin d'effectuer des tests comparatifs qui permettent d'évaluer le champ d'action et la spécificité du xénobiotique.

- Tester d'autres molécules allélochimiques comme les polyphénols afin de renforcer les défenses naturelles des plantes en opposant aux ravageurs une résistance naturelle de leurs graines et de leurs gousses, en synthétisant des phytoanticipines ou des phytoaléxines.
- Tester l'activité de ces substances naturelles bioactives sur les stades cachés, les larves et les nymphes des principaux ravageurs des grains, pour évaluer leur toxicité comme fumigants.
- Une étude de la toxicité de ces huiles essentielles vis-à-vis des vertébrés est indispensable avant de mettre en place tout programme de vulgarisation de ces biopesticides même s'ils sont biodégradables.

Une partie réalisée dans le cadre de cette thèse, nous a conduits à la rédaction et à la publication d'un article. Ce dernier est annexé ci-après .

Références bibliographiques

- Afnor, 2004.** Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic, Tome 2. Vol 1. Monographie relative aux huiles essentielles. 323 p.
- Agah M., Najafian S., 2012.** Essential oil content and composition of *Lippia citriodora* as affected by drying method in full flowering stages. International Research Journal of Applied and Basic Sciences. Vol 3 N°2: 371-377.
- Ait Youcef M., 2006.** Plantes médicinales de Kabylie. Préface du docteur Jean- Philippe Brette. Ibis press, Paris. 349 p.
- Alzouma I., 1981.** Observations on the ecology of *Bruchidius atrolineatus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in Niger. In The ecology of bruchids attacking legumes (Pulses). Labeyrie V (ed). Junk the Hague. 205-213.
- Alzouma I., 1995.** Connaissance et contrôle des coléoptères Bruchidae ravageurs des légumineuses alimentaires au Sahel. Sahel IPM. Pp: 1, 2-16.
- Anderson R.A., Pfeifer V.F., Bookwalter G.N. & Griffin E.L.J.R., 1971.** Instant, CSM Food Blends for worldwide feeding Cereal Science Today. Vol 16 N°1: 5-11.
- Anton R. et Lobstein A., 2005.** Plantes aromatiques. Epices, Aromates, Condiments et huiles essentielles. Tec. Et DOC. Paris. 522 p.
- Ayvaz A. Sagdic O. Karaborklu S.& Ozturk I., 2010.** Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored- product insects. Journal of Insect Science. Vol. 10 N°21: 1-13.
- Badiou A., Meled M. & Belzunces L.P., 2008.** Honeybee *Apis mellifera* acetylcholinestérase. A biomarker to detect deltamethrin exposure. Ecotoxicology and Environmental Safety, in press., Vol.69 : 246-253.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D.& Idaomar M., 2008.** Biological effects oils. A review Science Direct. Food and Chemical Toxicology. Vol 46: 446-475.
- Balachowsky A.S., 1962.** Entomologie appliquée à l'agriculture, les coléoptères, Ed. Masson et Cie, Paris. Tome I : 484-489.
- Bardeau F., 1978.** La médecine par les fleurs. Ed. Robert Laffont 440P. 47-61
- Bardeau F., 2009.** Les huiles essentielles, Propriétés et utilisations de l'aromathérapie. Ed .Lanore.Collection Santé Pratique 318p.
- Bartels A., 1997.** Guide des plantes du bassin méditerranéen. Ed. Eugen. Ulmer. 324 p.
- Bekkara Attik F., Bousmala L., Taleb-Bendiab S.A., Boti J.B. & Casanova J., 2007** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie et Santé. Vol. 7 (1) : 6-11.

- Bell C.H. et Wilson S.M., 1995.** Phosphine tolerance and resistance in *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera : Dermestidae). Journal of Stored Products Research, Vol.31 : 199-205.
- Bellakhadar J., 1997.** La pharmacopée Marocaine traditionnelle. Ed. Le fennec, Casablanca. 477 p.
- Beloued A. 2001.** Plantes médicinales d'Algérie. Office de publication universitaires, 2^{ème} édition. 277 p.
- Belong P., Akono Ntonga P., Bakwo Fils E.M., Foko Dadjé G.A. & Lebel Tamesse J., 2013.** Chemical composition and residue activities of *Ocimum canum* Sims and *Ocimum basilicum* L. essential oils on adult female *Anopheles funestus* SS. Journal of animal and Plant Sciences Vol.19(1):2854-2863.
- Benyoucef E.H, Yahiaoui N, Nacer bey N., Khelfaoui A. & Belhadj M., 2004.** Essential oil of *Mentha spicata* L. from Algeria. Rivista Italiana EPPOS. Vol 30 :31-35
- Benyoucef E.H., Charchari, S., Nacer-Bey N., Yahiaoui N. & Chakou S., 2005.** The essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. Journal of Essential Oil Research Vol. 17: 642-644.
- Biémont J.C., Chauvin G. & Germain J.F., 1982.** L'œuf de *Bruchidius atrolineatus* (Pic) et son système de fixation. Canadian Journal of Zoology. Vol. 60: 2610-2615.
- Blum U., Shafer, S.R. & Lehman, M.E., 1999.** Evidence for inhibitory allelopathic interactions involving phenolic acids in field soils: Concepts VS. An experimental model. Critical Reviews in Plant Sciences. Vol. 18: 673-693.
- Booth R.G., Cox M.L, Madge R.B., 1990.** Guides to insects of importance to man, 3. Coleoptera – CAB, International : Wallington (UK). 695P.
- Bottega S. et Corsi G., 2000 :** Structure, section and possible functions of *Calyx glandula* hairs of *Rosmarinus officinalis* L. Botanical Journal Linnean Society. Vol.132 : 325-335.
- Bouchonnet S., Hoppilliard Y. & Kargar- Grizel T., 1999.** Les différents types de spectromètres de masse utilisés pour l'analyse des composés organiques et bio organiques. Masson. Pp : 11-25.
- Boukhebti H., Chaker A.N., Belhadj H., Sahli F., Ramdhani M., Laouer H. & Harzallah H., 2011.** Chemical composition and antibacterial activity of menthe pulegium L. *Mentha spicata* L Essential oils. Der. Pharmacia Letter. Vol.3 (4) : 268- 275.
- Boullard B., 2001.** Plantes médicinales du monde. Réalités et Croyances. Estem éditions 636P.

- Bousbia N., Vian .M.A. Ferhat M.A., Petitcolas E., Mekhati B.Y.& Chemat F., 2009.** Comparaison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. Food chemistry. Vol. 114 (1) : 355 – 362.
- Bousbia N., 2011.** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels de co-produits alimentaires.Thèse de doctorat Université d'Avignon ;Institut National d'Agronomie (El Harrach ,Algérie), 128p.
- Boutekdjiret C., Bentahar F., Belabbes R.& Bessière J.M., 1998.** The essential oils from *Rosmarinus officinalis* L. in Algeria, Journal of Essential Oils Research. Vol. 10 : 680-682.
- Brossard R. et Cuisance P., 1984.** Arbres et arbustes d'ornement. Ed. Tec et DOC. Lavoisier. PP : 413-414.
- Brosse J., 2005.** Larousse des arbres, dictionnaire des arbres et des arbustes. Ed. Larousse 171 p.
- Bruneton J., 1987.** Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Paris, Technique et documents. Ed. Lavoisier. Pp : 228-584.
- Bruneton J., 2002.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} édition. Pp : 526.
- Campbell A. et Sinha R.N., 1978.** Bioenergetics of graminivorous beetles, *Cryptolestes ferrugineus* and *Ryzopertha dominica* (Coleoptera : curcujidae and Bostrychidae). Canadian Journal of Zoology, Vol.56 : 624-663.
- Carson C.F., Mee B.J.& Ryley T.V., 2002.** Mecanism of action of *Malaleuca alternifolia* (Tea tree) oil on *Staphylococcus aureus*. Determined by time- kill, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy . Antimicrobial Agents Chemoter. Vol.46 : 1914-1920.
- Cassier P., Lafont R., Deschaps M., Porchet M. & Souyez D., 1997.** La reproduction des invertébrés. Stratégies, modalités et régulation. Intérêt fondamental et appliqué. Edition Masson, Paris. Pp: 193-268.
- Caswell G.H., 1961.** The infestation of Cowpeas in the Western region of Nigeria. Tropical Science 3. P : 154-158.
- Chabert G., 2013.**Myrtacées et aromathérapie.Thèse de doctorat en pharmacie.pharmaceutical sciences .Université joseph Fournier.Grenoble.107p.
- Chadefaud M.et Emberger L., 1960.** Les végétaux vasculaires. Traité de botanique (systèmeématique). Tome II. Editeurs Masson et Cie, Paris. 1539 P.
- Chiasson H.et Beloin N., 2007.** Les huiles essentielles, Des biospecides “nouveau genre”. Bulletin de la Société d'Entomologie du Quebec Antennae, Vol. 14, N° 1.Pp 1-6.

- Combrinck S., Du plooy G.W., Mc Crindle R.T& Botha B.M, 2007.** Morphology and Histochemistry of the glandular trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae) Annals of botany, Vol. 99 (6) : 1111 – 1119.
- Craufurd P.Q., Ellis R.H., Summerfield R.J. & Menin L., 1997.** Photoperiod, temperature, growth and development of cowpea. *Vigna unguiculata* in Advances in cowpea Research, B.B. Singh et al. ed., Ibaden, Nigeria IITA-jl RCAS:75-86.
- Cronquist A., 1981.** An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press. New York. 1262 P.
- Csesk. J. et Kaufman P.B., 1999.** How and why these compounds are synthesized by plants. Natural products from plants. CRC Press, Boca Raton FL. Pp: 37-90.
- Dagnelie, P., 1975.** Théories et méthodes statistiques. Vol 2. Les presses agronomiques de Gembloux, Belgique, 451 p.
- De Cliff S. et Harerimana P.C., 2013.** Extraction de l'huile essentielle complète des fleurs de *Cananga odorata* de la plaine de l'Imbo : vers la vulgarisation d'une nouvelle filière de plantes industrielles au Burundi. Revue de l'université de Burundi, Série Sciences Exactes V : 28 : 1-17.
- De Figueiredo A.C., Barrosso J.G., Pedro L.G. & Scheffer J.C., 2008.** Factors affecting secondary metabolites production in plants : volatile components and essential oils .Flavour Fragrance Journal Vol.23 : 213-226 .
- De Groot I., 2004.** Protection des céréales et des légumineuses stockées, deuxième édition. Digrafi Wageningen, Pays-Bas. 73P.
- Decelle J., 1987.** Les coléoptères nuisibles aux légumineuses alimentaires cultivées dans les régions afrotropicales. Colloque sur les légumineuses alimentaires. Université de Niamey, 1985, AUPELF. Pp : 188-200.
- Delobel A. et Tran M., 1993.** Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. ORSTOM /CTA. Faune Tropicale ORSTOM édition. Pp : 298-333.
- Deyson G., 1954.** Eléments d'anatomie des plantes vasculaires Ed. SEDES. Pp : 5-13.
- Deyson G., 1978.** Cours de botanique générale. 4^{ème} série. Tome II. Organisation et classification des plantes vasculaires, deuxième partie. Pp : 380-381.
- Diop I., Kane A., Krasova-Wade T., Sanon K.B., Houganda P., Neyra M. & Noba K. 2013.** Impacts des conditions pédoclimatiques et du mode cultural sur la réponse du niébé (*Vigna unguiculata* L. Walp.) à l'inoculation endomycorhizienne avec *Rhizophagus irregularis*. Journal of Applied Biosciences, Vol.69 :5465-5474 .

- Djeddi S., 2012.** Les huiles essentielles « des mystérieux métabolites secondaires ». Presses Académiques Francophones. 265 p.
- Djossou J., 2006.** Etude des possibilités d'utilisations des formulations à base de fruits secs de *Xylopi aethiopica*. Dunal (Annonaceae) pour la protection des stocks de niébé contre *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera : Bruchidae), Faculté des sciences agronomiques de Gembloux Belgique, 70 p.
- Don Pedro K.N., 1996.** Investigation of single and joint fumigant insecticidal action of Citruspeel oil Components, Pesticide Science, Vol.46 : 79-84.
- El haib A., 2011.** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformation catalytique. Thèse de doctorat en chimie organique et catalyse. Université de Toulouse III- Paul Sabatier. 195 p.
- Enan, E., 2002.** Insecticidal activity of essential oils: Octopaminergic sites of action. Comparative Biochemistry and Physiology, Toxicology and Pharmacology. Part C130. Vol (3): 325-337.
- Enan E., 2005.** Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American Cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. Arch. Insect Biochemistry Physiology. Vol. 59 (3): 161-171.
- Fellah S., Romdane M.& Abderraba M., 2006.** Extraction et étude des huiles végétales de *Salvia officinalis* L. Cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. Journal de la Société Algérienne de Chimie. Vol.16 (2) : 193-202
- Feng R. et Isman M.B., 1995.** Selection for resistance to azadirachtin in the green peach aphid *Myzus persicae* Experimenta. Vol. (51) : 831-833.
- Figueiredo R.O., Stefanini M.B.,Ming L.C.,Maio Marques M.O.&Facanali R., 2004.** Essential oil composition of *Aloysia triphylla* (L'Herit.) britton leaves cultivated in botucatu,Sao Paulo, Brazil.Acta Horticultura 629:131-134.
- Fournier D.et Mutero A.,1994.** Modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides.Comp.Biochem.Physiology Vol. 108:19-31.
- Franciosa H. et Bergé J.B. 1995 .** Glutathione S-transférase in housefly (*Musca domestica*): location of GST-1 and GST2 families. Insect biochemistry,Molecular and Biology Vol. 25:311-317.
- Garcia M., Donald O.J. Ardanaz C.E., Tonn G.E.& Sosa M.E., 2005.** Toxic and repellent effects of *Baccharis salcifolia* essential oil on *Tribolium castaneum*.Pest Management Science Vol.61:612-618.

- Georghiou G.P. et Lagunes-Tejeda A., 1991.** The occurrence of resistance to pesticides in arthropods. Food agriculture agriculture organism Union Nations Rome. AGPP/MISC/91-1, 318 P.
- Gershezon J. et Dudarova N., 2007.** The function of terpen natural products in the natural world. Natural chemistry and Biology. Vol.3 (7) : 407-414.
- Ghoneim K.E., Hamadah K.C. & El Hela A.A., 2012.** Acetylcholinesterase activity in the desert locust *Schistocerca gregaria* (Acrididae) (Forsk) as a response to the action of the wild herb *Fagonia bruguieri* D.C (Zygophyllaceae) extracts. Journal Entomology Research Society. Vol. 14 (2) : 87-97.
- Gilly G., 1997.** Les plantes à parfum et huiles essentielles à grasse. Ed : L'Harmattan. P 97-104.
- Gregory F. G, Milthorpe F.L, Pearse H.L. & Spencer H.J., 1950.** Experimental studies of the factors Controlling transpiration. II. The Relation between transpiration rate and leaf water Content. Journal of Experiment Botany 1, 15-28.
- Guignard J.L., 1995.** Abrégé de botanique. Ed. Masson, 285 p.
- Guignard J.L., 2000.** Biochimie végétale, 2^{ème} édition de l'Abrégé. Ed. Masson, Paris. 274P
- Guignard J.L. et Dupont F., 2004.** Botanique : Systématique moléculaire. 13^{ème} édition Masson 271p.
- Harborne JB., 1993.** Introduction to ecological Biochemistry. 4th ed. Academic Press. 318 p.
- Hashemi S.M. et Safavi S.A., 2012.** Control of three stored – product beetles with *Artemisia haussknechtii* (Boiss) (Asteraceae), Essential Oil. Ecologica Balcanica, Vol.4 : 85-92.
- Haubruge E. et Amichot M., 1998.** Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. Vol.2 (3) : 161-174.
- Hedjal Chehhab, M., Toudert-Taleb, K., Khouja, M.L., Benabdesselam, R., Mellouk, M. & Kellouche, A., 2013.** Essential oils compositions of six conifers and their biological activity against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* Fabricius, 1775 (Coleoptera: Bruchidae) and *Vigna unguiculata* seeds. African Entomology. Vol.21 (2) : 243-254.
- Hernandez Ochoa L.R., 2005.** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combiné « Solvant (Actif) d'origine végétale ». Thèse de doctorat en sciences des agroagresseurs. Institut National Polytechnique de Toulouse. 224P.
- Hietz De Lempis A. 1970.** La végétation de la terre. Initiation aux études de géographie. Ed. Paris, Masson, 133p.

- Hilan C., Sfeir R., Jawish D. & Aitour S., 2006.** Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiceae. *Lebanaise Science Journal*. Vol.7 (2) : 13-22.
- Hoffmann, A., Labeyrie V. & Balachowsky A.S., 1962.** Les Bruchidae. In entomologie appliqué à l'agriculture A.S. Balachowsky Ed. Masson public. Vol.1 : 434-494.
- Houël E., 2011.** Etude des substances bioactives issues de la flore amazonienne. Analyse de préparations phytothérapeutiques à base de *Quassia amara* L. (Simaroubaceae) et *Psidium acutangulum* D.C. (Myrtaceae) utilisées en Guyane Française pour une indication antipaludique. Identification et analyse métabolique d'huiles essentielles à activité antifongique. Thèse de doctorat en chimie des substances. Université des Antilles et de la Guyane. 220P.
- Huignard J., 1985.** Importance des pertes dues aux insectes ravageurs des graines : Problèmes posés par la conservation des légumineuses alimentaires, source de protéines végétales. *Cath. Nutr. Diét.*, xx, 3, 193-200.
- Huignard J., Leroi B., Alzouma I. & Germain J.F., 1985.** Oviposition and development of *Bruchidius atrolineatus* Pic and *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) in *Vigna unguiculata* L. Walp. Cultures in Niger. *International Journal of Tropical Insect Science*. Vol.6: 691-699.
- Huignard J., Dugravot S., Ketoh G.K., Thibout E. & Glitho I.G., 2008.** Utilisation de composés secondaires des végétaux pour la protection des graines d'une légumineuse, le niébé. Conséquences sur les insectes ravageurs et parasitoïdes. In biopesticides d'origine végétale (Ed. by C. Renault- Roger BJR. Phylogène, C. Vincent). 2^{ème} édition. Tec et Doc. Lavoisier, Paris. Pp : 187-206.
- Isman M.B., 2000.** Plant essential oils for pest and disease management, *Crop Protection*. Vol.19: 603-608.
- Isman M.B., 2002.** Problems et perspectives des commercialisations des insecticides d'origine végétale. Pp 300-311.
- Jouault S., 2012.** La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de doctorat d'état en pharmacie. Université de Lorraine. Faculté de pharmacie. France. 137 p.
- Karabörklü S. Ayvaz A. Yilmaz S. & Akbulut M., 2011.** Chemical composition and fumigant toxicity of some essential oils against *Ephestia kuehniella*. *Journal of Economic Entomology*. Vol.104 : 1212-1219.

- Kéïta, S.M. Vincent, C., Schmit, J.P., Ramasway, S. & Belanger, A., 2000.** Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research. Vol. 36 : 335-364.
- Kellouche A. et Soltani N., 2004.** Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elle sur *Callosobruchus maculatus* (F.) International Journal of Tropical Insect Science. Vol.24 (1) : 184-191.
- Kellouche, A., Ait Aider, F., Labdaoui, K., Moula, D., Hamadi, N., Ouramdane, A., Frerot B. & Mellouk, M., 2010.** Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidea). International Journal of Integrative Biology. Vol.10 : 86-89.
- Ketoh G.K., Glitho I.A, Koumaglo K.H. & Nuto Y., 1998.** Effets de quelques huiles essentielles sur les œufs et les larves de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera : Bruchidae). Revue CAMES Sciences et Medecine, Vol . 00 : 16-20.
- Ketoh G.K., Glitho A.I.& Huignard J., 2002.** Susceptibility of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) to three essential oils. J. Eco. Entomol. Vol. 95 : 174-182.
- Ketoh G.K., Koumaglo H.K., Glitho I.A. & Huignard J., 2006.** Comparative effects of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil and piperitone on *Callosobruchus maculatus* development. Fitotherapy. Vol.77 : 506-510.
- Kim, S.I., Roh, J.Y.& Kim, D.H., 2002.** Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. Journal of Stored Products Research. Vol.39 : 293-303.
- King D.B., Butler J.H., Montzka S.A., Yvon-Lewis S.A. & Elkins W.2000.** Implications of methyl bromide supersaturations in the temperate North Atlantic Ocean. Journal of Geophysical recherche , vol.105 (15): 763-769.
- Koul O., Suresh W. & Daliwal G.S.2008.**Essential oils as green pesticides :Potential and constraints.Biopesticide International Vol.4(1):63-84.
- Kossou D.K. et Aho N., 1993.** Stockage et conservation des grains alimentaires tropicaux.Principes et pratiques .Flamboyant ed. Cotonou,125p.
- Kossou K.D.,Gbehounou G.,Ahanchede A.,Ahohuendo B.,Yacouba B. & Van Huis A., 2001.**Endogenous cowpea production and protection practices in Benin.Insect Sciences and Application 21(2):30-40.

- Labeyrie V., 1981.** Vaincre la carence protéique par le développement des légumineuses alimentaires et la protection de leurs récoltes contre les bruches. Food and nutrition Bulletin Vol.3 (1), 61P.
- Lawton B.R., Henderson G.A. & Derlatka E.I., 1972.** The effect of extruder Variables on the gelatinization of Corn starch. Canadian Journal of Chemistry, Engineering. Vol.50 : 168-172.
- Lee S., Peterson C.& Jand Coast J.R., 2003.** Fumigation toxicity of monoterpenoides to several stored product insects. Journal of stored products research, Vol.39 (1) : 77, 85.
- Lepesme P., 1944.** Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. Encyclopédie entomologique Ed. Paul Le chevalier, Paris. 334 p.
- Lewis W.H., et Elvin-Lewis M.P., 1995.** Medicinal plants as sources of new therapeutics. Annal of Missouri Botanical Garden. Vol. 82: 16-24.
- Longevialle P., 1981.** Principe de la spectrométrie de masse des substances organiques. Masson.
- Lopez M.D., Jordan M.J.& Pascual Villalobos M.J., 2008.** Toxic compounds in essential oils of coriander caraway and basil active against stored rice pests. Journal of Products research 44: 273-278.
- Macias, F.A., Galindo, J.C.C., Molinillo, J.M.G.& Cuttler, H.G. 1999.** In Recent advances in allelopathy: A Science for the future Servicio de Publicaciones de la Universitade de Càdiz, Cadiz, Spain. 515 p.
- Marotti, M., Picaglia, R. & Giovanelli, E. 1994.** Effects of variety and ontogenic stages on the essential oil composition and biological activity of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Journal of Essential Oil Research. Vol. 6 : 57-62.
- Masango P., 2005.** Cleaner production of essential oils by steam distillation. Journal of cleaner production. Vol.13 (8) : 833-839.
- Mc Donald L.L., Guy RH & Speirs R.D., 1970.** Preliminary evaluation of new candidate materials as oxicans, repellents and attractants against stored product insects, marketing research report n° 882. Agriculture Research services, US Department of agriculture, Washington. 183P.
- Mediouni- Ben Jemâa, J., Tersim, N., Taleb-Toudert K.& Khouja M.L. 2012.** Insecticidal activities oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and Comparative chemical composition. Journal of Stored Products Research. Vol.48 : 97-104.

- Meshkatsadat M.H., Papzan A.H. & Abdollahi A., 2010.** Determination of bioactive volatile organic components of *Lippia citriodora* using ultrasonic assisted with headspace solid Phase microextraction coupled with GC-MS. *Dijest Journal of Nanomaterials and Biostructures* . Vol.6 (1) : 319- 323.
- Moyse H. et Paris R.R., 1971.** Matière médicale. Tome III. Ed. Masson, Paris. 509 p.
- Negre R., 1962.** Petite flore des régions arides du Maroc occidental Paris. C.N.R.S. 979P.
- Ngamo L.S.T et Hance T., 2007.** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura* Vol. 25 (4) : 215-220.
- Nyamador S.W., 2001.** Capacités reproductrices de la souche Togolaise de *Callosobruchus maculatus* F.(Coleoptera :Bruchidae) .*Journal Research University. Lomé(Togo)* Vol. 5 :361-366.
- Nyamador S.W., 2009.** Influence des traitements à base d’huiles essentielles sur les capacités de reproduction de *Callosobruchus subinnotatus* Pic. Et de *Callosobruchus maculatus* F.(Coleoptera :Bruchidae) : Mécanisme d’action de l’huile essentielle de *Cymbopogon giganteus* chiov. Thèse de doctorat en sciences de la vie. Biologie de développement .Entomologie appliquée. Université de Lomé –Togo, 177p.
- Nyamador, W.S., Ketoh, G.K., Amévoin, K., Nuto, Y.& Koumaglo, H.K., 2010.** Variation in the susceptibility of two *Callosobruchus* species to essential oils. *Journal of Stored Products Research*. Vol.46 : 48-51.
- Obeng-Ofori D., Reichmuth C.H., Bekele J. & Hassanali A., 1997.** Biological activity of 1,8 cineol, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles. *Journal Applied of Entomology*. Vol. 121 : 237-243.
- Ouedraogo P.A., 1978.** Etude de quelques aspects de la biologie de la reproduction de *Callosobruchus maculatus* et influence des facteurs externes stimulants (Plante hôte et copulation) sur l’activité reproductrice femelle. Thèse de Doctorat 3^{ème} cycle, Univ. de Toulouse. 101 p.
- Ouedraogo P.A. et Huignard J., 1981.** Polymorphism and ecological reaction in *Callosobruchus maculatus* in upper Volta. *Series Entomological*. Vol. 19:175-184.
- Ouedraogo P.A., 1991.** Le déterminisme du polymorphisme imaginal chez *Callosobruchus maculatus* (FAB.) coléoptère Bruchidae. Importance des facteurs climatiques sur l’évolution des populations de ce bruchidae dans un système expérimental de stockage de graines de *Vigna unguiculata* (walp.). Présenté à la faculté des sciences et techniques de l’université nationale de Cote d’Ivoire. Docteur d’état Es Sciences. 215 p.

- Ouedraogo, A.P., Sou, S., Sanon, A., Monge, J.P., Huignard, J., Tran, M.D. & Credland, P.F., 1996.** Influence of temperature and humidity on population of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basilis* (Hymenoptera: Pteromalidae) in two zones of Burkina Faso. Bulletin of Entomological Research. Vol. 86 : 695 – 702.
- Özcan M. et Chalchat J.C., 2002.** Essential oils of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. CZECH Journal of Food and Science. Vol. 20 N°6: 223-228.
- Pannuti L.E.R., Marchi L.S. & Baldin E.L.L., 2012.** Use of vegetable powders as alternative to control of *Callosobruchus maculatus*. Boletim de Sanidad Vegetal Plagas. Vol. 38: 33-40.
- Papachristos, D.P. et Stamopoulos, D.C. 2002.** Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera : Bruchidae). Journal of Stored Products Research. Vol.38 : 117-128.
- Paris R. et Moyse H., 1965.** Précis de matière médicale. Ed. Masson et Curie. Tome 1, 416 p.
- Parmentier J.L., 1972.** Dictionnaire de botanique. I.Z. Ed. Gargie batellerie. Paris. 133 p.
- Pasquet R.S., 1998.** Morphological study of cultivated cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Importance of ovule number and definition of cv gr Melanophthalmus. Agronomie, EDP Sciences. Vol.18(1):61-70.
- Perrin A. et Colson M. (1986).** L'appareil sécréteur des lavandes et des lavandins. Parfums, cosmétiques, arômes : 61-63.
- Pousset J.L., 2004.** Plantes médicinales d'Afrique. Comment les reconnaître et les utiliser ? Secum/Ed. Sud, Paris, ACCT, 287 p.
- Pradeau D. et Cohen Y., 1992.** L'analyse pratique du médicament. Editions Tec et Doc 1072p.
- Prevett P.F., 1971.** The larvae of some Nigerian Bruchidae (Coleoptera). Trans R. Ent. Soc., Vol.123 : 247-312.
- Price D.N. et Berry M.S., 2006.** Comparison of effects of octopamin and insecticidal oils on activity in the nerve cord, Foregut and dorsal unpaired median neurons of cockroaches. Journal of insect physiology. Vol.52 : 309-319.
- Priestley C.M., Williamson, E.M., Wafford K.A & Sattelle D.B., 2003.** Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA receptors and a homo-oligomeric GABA(A) receptors and homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. British Journal of Pharmacology. Vol.140 : 1363-1372.

- Quezel P. et Santa S., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. du centre national de la recherche scientifique, 15, quai Anatole France. Paris 7^{ème} édition, 80 6p.
- Rachie K.O., 1985.** Introduction of cowpeas. In : Singh S.R. & Rachie K.O.(eds). Cowpea research production and utilization. London : 21-28.
- Raja, N., Albert, S., Ignacimuthu, S.& Dorn, S. 2001.** Effect of volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. Journal of Stored Products Research. Vol 37:127-132.
- Ramanoelina P.A.R., Bianchini J.P., Adriantsiferana M.,Viano J.& Gaydou E.M. 1992.** Chemical composition of niaouli essential oil from Madagascar.Journal of essential oil research.Vol.4(6):657-658.
- Regnault. Roger C. Hamraoui A., Holeman M., Theron E.& Pinel R., 1993.** Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthocelides Obtectus*. Journal of Chemistry and Ecology. Vol.19 : 1233-1244.
- Regnault-Roger, C. et Hamraoui, A., 1995.** Fumigant toxic activity and reproduction inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Stored Products Research. Vol 1: 291-299.
- Rice, E.L., 1984.** Allelopathy .2^{ème} edition, academic Press, New York. 422 p.
- Roeder T., 1999.** Octopamine in invertebrates. Progres in Neurbiology., Vol 59: 533-561.
- Roeder T., 2005.** Tyramine and octopamine Ruling behavior and metabolism. Annual Revue of Entomology. Vol.50 : 447-477.
- Rouessac F.et Rouessac A., 1992.** Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales medèrnes. Ed. Masson, Paris, France 295 p.
- Ryan M.F.et Byrne O., 1988.** Plant insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. Journal of chemistry and Ecology. Vol. 14: 1965-1975.
- Sanon A., 1997.** Contribution à l'étude du contrôle biologique des populations des bruchidae ravageurs de graines de niébé, *Vigna unguiculata* au cours de leur stockage au Burkina Faso. Thèse de doctorat 162 p. Université de Ouagadougou.
- Savelev S.U., Okello E.J.& Perry E.K., 2004.** Butyryl -and acetyl- cholinesterase inhibitory activities in essential oils of salvia species and their constituents. Phytotherapy Research, Vol.18 : 315-324.
- Scotti G., 1978.** Les insectes et les acariens des céréales stockées. Coed. AFNOR. ITCF AFNOR, Paris. 238P.

- Seck D., Sidibe D., Handrue E.& Gaspar C., 1991.** Protection of stores of cowpea (*Vigna inguiculata* (L.)) at farm level: the use of different formulations of neem (*Azadirachta indica* A.Juss) from Senegal. Med. Fac. Ladbrowwet. Univ. Gent, 56 Pp : 1217-1224.
- Seri-Kouassi B.P., Kanko C., Nondenot Aboua L.R., Bekon K.H., Glitho A.I., Koukoua G.& N'Guessan Y.T., 2004.** Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* F. du niébé. Comptes Rendus de Chimie. Vol. 10 (11) : 1043-1046.
- Shaaya, E., Ravid, U., Paster, N., Juven, B., Zisman, U. & Pissarev, V. 1991.** Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-product insects. Journal of Chemical Ecology Vol.17: 499-704.
- Shaaya E., Kostjukovski M., Eilerg J.& Sukprakarn C., 1997.** Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored product insects. Journal of Stored Products Research. Vol 33 : 7-17.
- Singh S. R., Luse R. A., Leuschner K. & Nangju D., 1978.** Groundnut oil treatment for the control of *Callosobruchus maculatus* (F.) during cowpea storage. Journal of Stored Products Research, Vol.14 : 77-80.
- Singh S.R., Jackal L.E.N., Dos Santos J.H.R. & Adalla C.B., 1990.** Insect Pest of cowpea, S.R.(ed.) Insect Pest of Food Legumes, John Wiley and Son (Ltd.), Chichester. 460P.
- Smart J., 1964.** Pulses in human nutrition. A wiley interscience Publication. Tropical pulses Longmans London. Pp : 96-104.
- Southgate B.J., 1979.** Biomorphology of the Bruchidae Annual Revu of Entomology, Vol.24 : 449-473.
- Tajkarimi M.M, Ibrahim S.A.& Cliver D.O., 2010.** Antimicrobiol herb and spice compounds in food. Food control. Vol 21: 1199-1218.
- Tapondjou, L.A., Adler, C., Bouda, H.& Fontem, D.A., 2002.** Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambroceoides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. Journal of Stored and Products Research.Vol 38: 395-402.
- Taylor T.A., 1981.** Distribution, Ecology and importance of bruchids attacking grain legumes. Ed. By V. Labeyrie, Junk, the hague. Pp: 199-203.
- Tchoumboungang F.,1997.** Contribution à la détermination des teneurs ,des caractéristiques chimiques et des activités antifongiques des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques et condimentaires et médicinales du Cameroun.Thèse de doctorat 3^{ème} cycle en Biochimie .Faculté des sciences ,Université de Yaoundé (Cameroun), 270p.

- Tchoumboungang F., Jazet Dongmo P.M., Sameza M.L., Nkouaya Mbanjo E.G., Tiako Fosto G.B., Amvam Zollo P.H. & Menut C., 2009.** Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au cameroun. *Biotechnologie , Agronomie Societé et Environment .* Vol. 13 (1) : 77-84.
- Tedonkeng P.E., Amvam Zollo P.H., Tendonkeng F. Kana J.R., Fongang D. & Tapondjou L.A., 2004.** Chemical composition and acaricide effect of the essential oils from the leaves of *Chromolaena odorata* L. king and Robins. And *Eucalyptus saligna* Smith., on ticks (*Rhipicephalus lunulatus* Neumann) of the West African Dwarf goat in west Cameroon. *Livestock Research for Rural Development.* Vol. 16 N°9: 1-10.
- Tengo N.S. 2011.** Technique de conservation des légumineuses et sécurisation de la production des paysans :cas du niébé dans le département du Diamare. Institut Supérieur de Sahel, Université de Maroua, 142p.
- Teuscher E. et Lohstein A. & Anton R., 2005.** Plantes aromatiques condiments et leurs huiles essentielles. Ed. Tec et Doc. 522 p.
- Tranchant J., 1995.** Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. 4^{ème} édition p 700 .
- Tuley de Silva K., 1995.** United Nations industrial development organization, Vienna 232 p.
- Tunç, I., Berger, B.M., Erler, F. & Dagli, F., 2000.** Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored- product insects. *Journal of Stored Products Research.* Vol. 36:161-168.
- Unsicker S.B.G. et Kunert G. 2009.** Protective perfumers: the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores. *Current Opinion in Plant Biology* Vol. 12(4):479-485.
- Utida S., 1954.** Phase dimorphism observed in the laboratory population of the cowpea weevil, *Callosobruchus quadrimaculatus*. *Japanese Journal Applied of Zoology.* Vol. 18: 161-168.
- Wagner G.J, 1991.** Secreting Glandular trichomes. More than just hairs. *Plant physiology* 96 (3) : 675-679.
- Werker E., Ravid U. & Putievsky E., 1985.** Structure of glandular hairs and identification of the main components of their secreted material in some species of the Labiatae. *Israelian Journal of Botany* Vol. 34 : 31-45.
- Werker E., 1993.** Function of essential oil – secreting glandular hairs in aromatic plans of Lamiaceae – a review “*Flavour and Fragrance journal,* Vol. 8 (5) : 249-255.

Wagner G.J, Wang E. & Sheferd R.W., 2004. New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome. *Anal. bot.* Vol. 93 : 3-11.

Wichtl M. et Anton R., 2003. Plantes thérapeutiques. Tradition, pratique officinale. Science et Thérapeutique Tec et DOC. 201 p.

Yoka J., Loumeto J.J., Djego J.G., Akouango P. & Epron D., 2014. Evolution des teneurs en éléments minéraux des feuilles des niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) cultivé dans la zone de Bondji en République du Congo. *Journal of Applied Biosciences*. Vol. 79 : 6799-6807.

Zettler J.L. et Arthur F.H., 2000. Chemical control of stored product insects with fumigants and residual treatments. *Crop Protection*, Vol. 19: 577-582.

Znini M., Bouklah M., Majidi L., Kharchouf S., Aouiniti A., Bouyenzar A., Hammouti B., Costa j. & Al-Deyab S.S., 2011. Chemical composition and inhibitory effect of *Mentha spicata* essential oil on the corrosion of steel in molar hydrochloric acid. *International Journal of Electrochemical Science*. Vol. 6: 691-704.

Annexes

Influence de la durée d'extraction par hydrodistillation sur les rendements en huiles essentielles à partir des feuilles des dix plantes étudiées.

Tableau 1 : Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de *E. radiata*.

Temps (mn)	Masse d'huile essentielle (g)	Masse cumulée (g)	Rendement (%)
0	0	0	0
5	0	0	0
10	0	0	0
15	0,0748	0,0748	0,249
30	0,1091	0,1839	0,483
45	0,1196	0,3035	0,798
60	0,01089	0,4124	1,085
90	0,0122	0,4246	1,085
120	0,00162	0,4408	1,160
150	0,0121	0,4429	1,191
180	0,0013	0,4542	1,195
240	0,001	0,4552	1,197

Tableau 2 : Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de *M. communis*.

Temps (mn)	Masse d'huile essentielle (g)	Masse cumulée (g)	Rendement (%)
0	0	0	0
5	0	0	0
15	0	0	0
30	0	0	0
45	0,1716	0,1716	0,2150
60	0,1408	0,3124	0,3193
90	0,0664	0,3788	0,4745
120	0,0285	0,4073	0,5102
150	0,0132	0,4205	0,5268
180	0,008	0,4285	0,5268
240	0,001	0,4547	0,5368

Tableau 3 : Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de *P. lentiscus*.

Temps (mn)	Masse d'huile essentielle (g)	Masse cumulée (g)	Rendement (%)
0	0	0	0
5	0	0	0
15	0	0	0
30	0,0012	0,0012	0,0013
45	0,0007	0,0019	0,002
60	0,0025	0,048	0,053
90	0,0029	0,0113	0,012
120	0,0065	0,01132	0,014
150	0,0019	0,0151	0,016
180	0,0019	0,0171	0,019
240	0,0010	0,0181	0,020

Tableau 4 : Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de *S. officinalis*.

Temps (mn)	Masse d'huile essentielle (g)	Masse cumulée (g)	Rendement (%)
0	0	0	0
5	0	0	0
10	0,0401	0,0401	0,042
15	0,0614	0,101	0,106
30	0,0442	0,145	0,153
45	0,0233	0,169	0,178
60	0,0202	0,189	0,2
90	0,0026	0,191	0,2
120	0,0006	0,192	0,2
150	0,0023	0,194	0,2
180	0,0008	0,195	0,2
240	0,0018	0,196	0,2

Tableau 5: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de *R. officinalis*.

Temps (mn)	Masse d'huile essentielle (g)	Masse cumulée (g)	Rendement (%)
0	0	0	0
5	0	0	0
10	0,0034	0.0318	0.0626
15	0,0110	0.0428	0.0843
30	0,0208	0.0736	0.1449
45	0,0107	0.0843	0.1660
60	0,0097	0.0940	0.1851
90	0,0072	0.1012	0.1993
120	0,0036	0.1048	0.2064
150	0,0030	0.1051	0.2070
180	0.0020	0.1053	0.2074

Tableau 6: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de *A. triphylla*.

Temps (mn)	Masse d'huile essentielle (g)	Masse cumulée (g)	Rendement(%)
0	0	0	0
5	0	0	0
10	0,015	0,015	0,033
15	0,007	0,022	0,048
30	0,022	0,044	0,022
45	0,019	0,063	0,140
60	0,015	0,078	0,170
90	0,062	0,140	0,311
120	0,008	0,148	0,329
180	0,0728	0,220	0,489
240	0,084	0,304	0,676
260	0,080	0,384	0,856

Tableau 7: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de *L. nobilis*

Temps (mn)	Masse d'huile essentielle (g)	Masse cumulée (g)	Rendement (%)
0	0	0	0
5	0	0	0
15	0,09	0,09	0,209
30	0,120	0,205	0,477
60	0,140	0,345	1,803
90	0,120	0,465	1,010
120	0,020	0,485	1,128
150	0,008	0,493	1,147
180	0,002	0,495	1,152
240	0,002	0,497	1,15

Tableau 8: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de *O. basilicum*.

Temps (mn)	Masse d'huile essentielle (g)	Masse cumulée (g)	Rendement (%)
0	0	0	0
5	0	0	0
10	0,0789	0,0789	0,201
15	0,0419	0,1208	0,310
30	0,0512	0,172	0,452
45	0,0531	0,2251	0,590
60	0,0842	0,3093	0,810
90	0,090	0,3993	1,050
120	0,0052	0,4045	1,06
150	0,0048	0,4093	1,07
180	0,0068	0,4161	1,09
240	0,0042	0,4203	1,106

Tableau 9: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de *Mentha spicata*.

Temps (mn)	Masse d'huile essentielle (g)	Masse cumulée (g)	Rendement (%)
0	0	0	0
5	0	0	0
10	0,0463	0,0463	0,185
15	0,0581	0,1044	0,417
30	0,0516	0,156	0,624
45	0,0044	0,1604	0,641
60	0,0113	0,1717	0,686
90	0,0156	0,1873	0,749
120	0,0049	0,1922	0,768
150	0,0022	0,1944	0,777
180	0,0039	0,1983	0,793

Tableau 10: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle de *E. globulus*.

Temps (mn)	Masse d'huile essentielle (g)	Masse cumulée (g)	Rendement (%)
0	0	0	0
5	0	0	0
10	0,0535	0,0535	0,118
15	0,0304	0,0839	0,186
30	0,0649	0,1488	0,330
45	0,0454	0,1942	0,431
60	0,0121	0,2063	0,458
90	0,0017	0,208	0,462
120	0,0062	0,2142	0,476
150	0,0048	0,2187	0,486
180	0,001	0,2197	0,488
240	0,0005	0,2202	0,489

Technique de la double coloration d'après Deyson 1954

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

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

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

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

- Coloration des coupes

Les coupes sont colorées au vert de méthyl pendant 5 à 10 mn. Elles sont ensuite rincées puis soumises à la coloration au rouge congo pendant 5 à 10 mn. Les coupes les plus minces sont sélectionnées et observées au microscope optique au G : 40*10

Chromatogrammes obtenus par CG /MS des différentes huiles extraites par entraînement à la vapeur

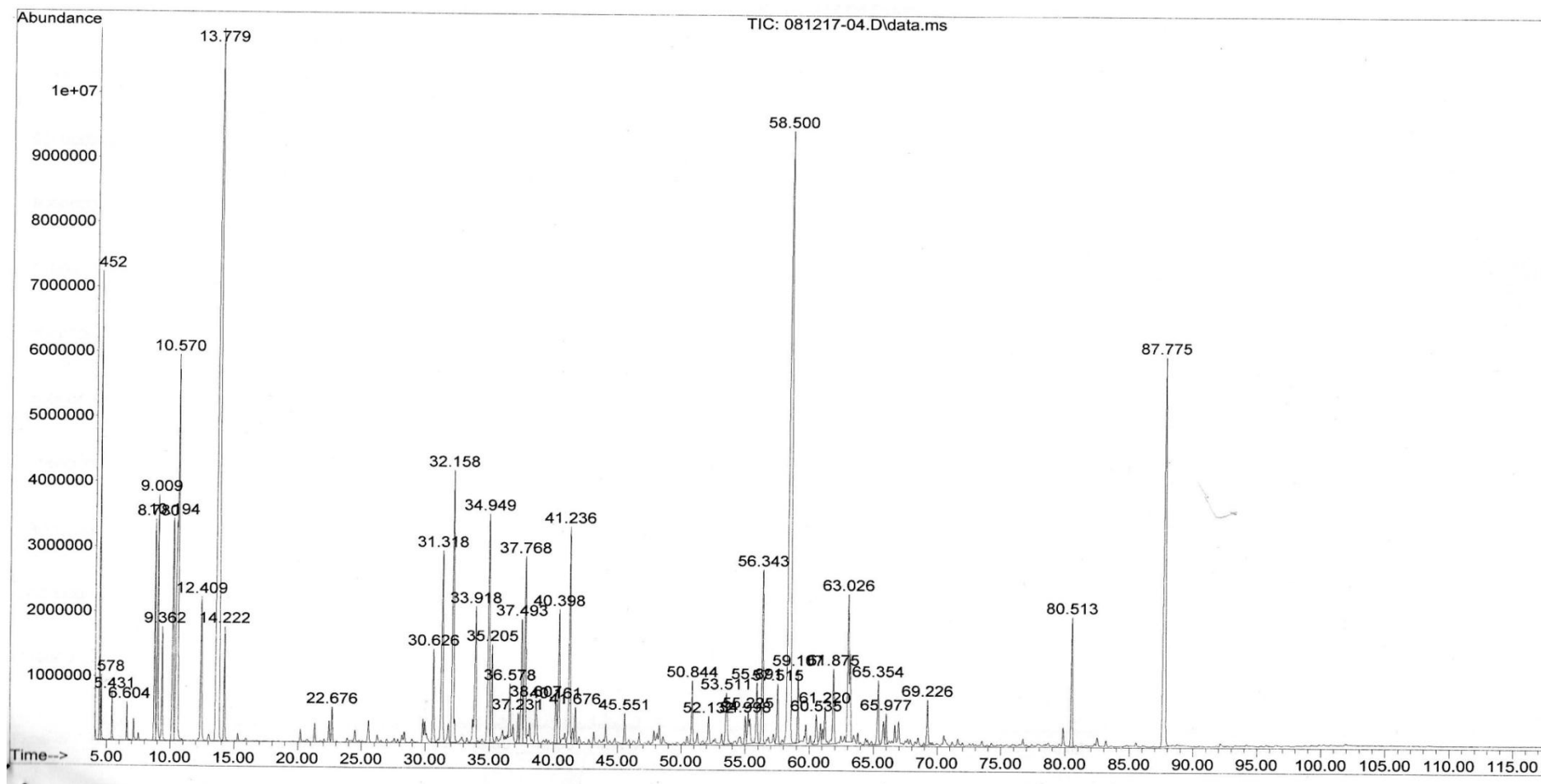


Figure 1 : Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de *P. lentiscus* de la région de Kabylie.

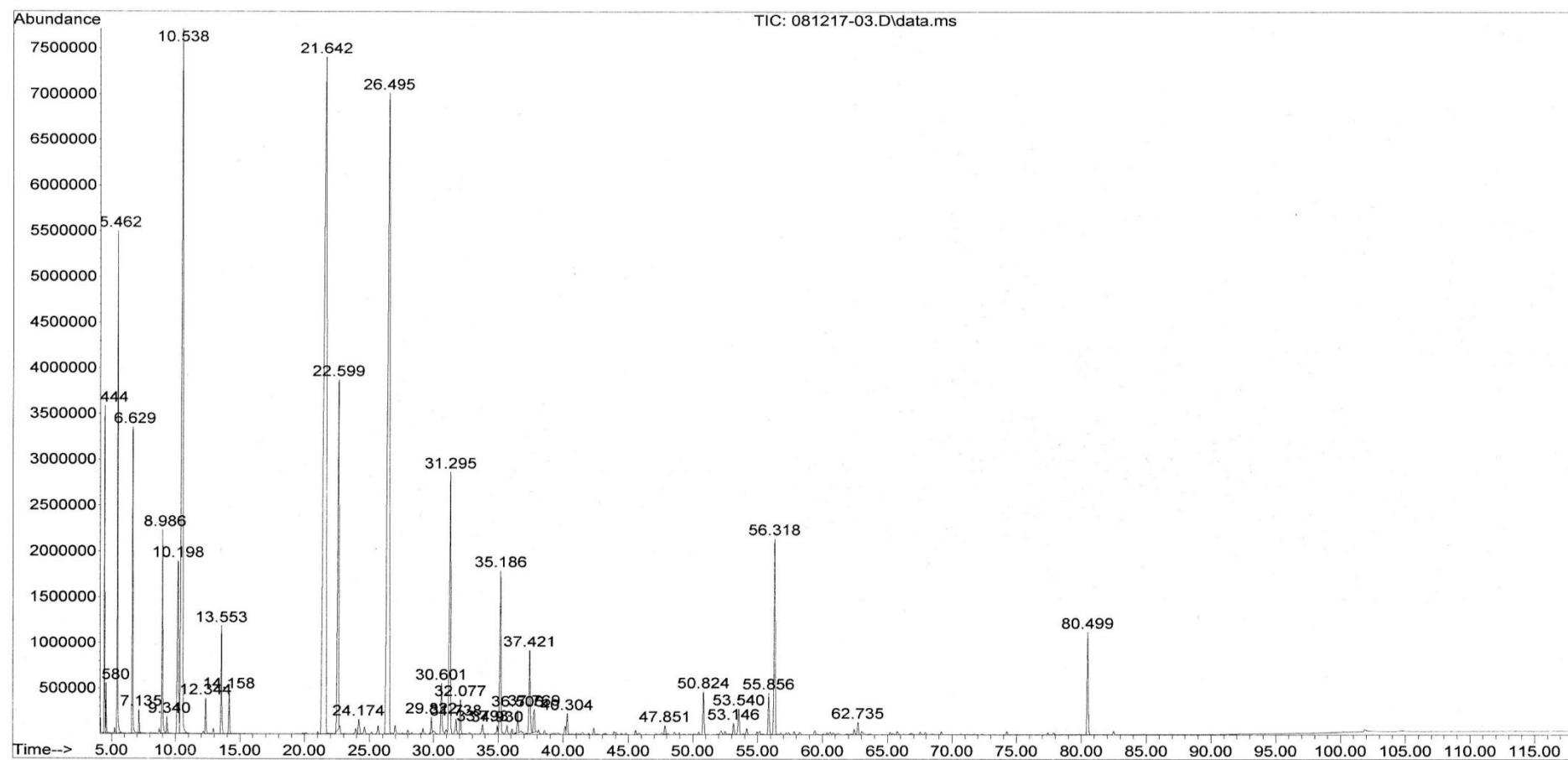


Figure 2 : Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de *S. officinalis* de la région de Kabylie

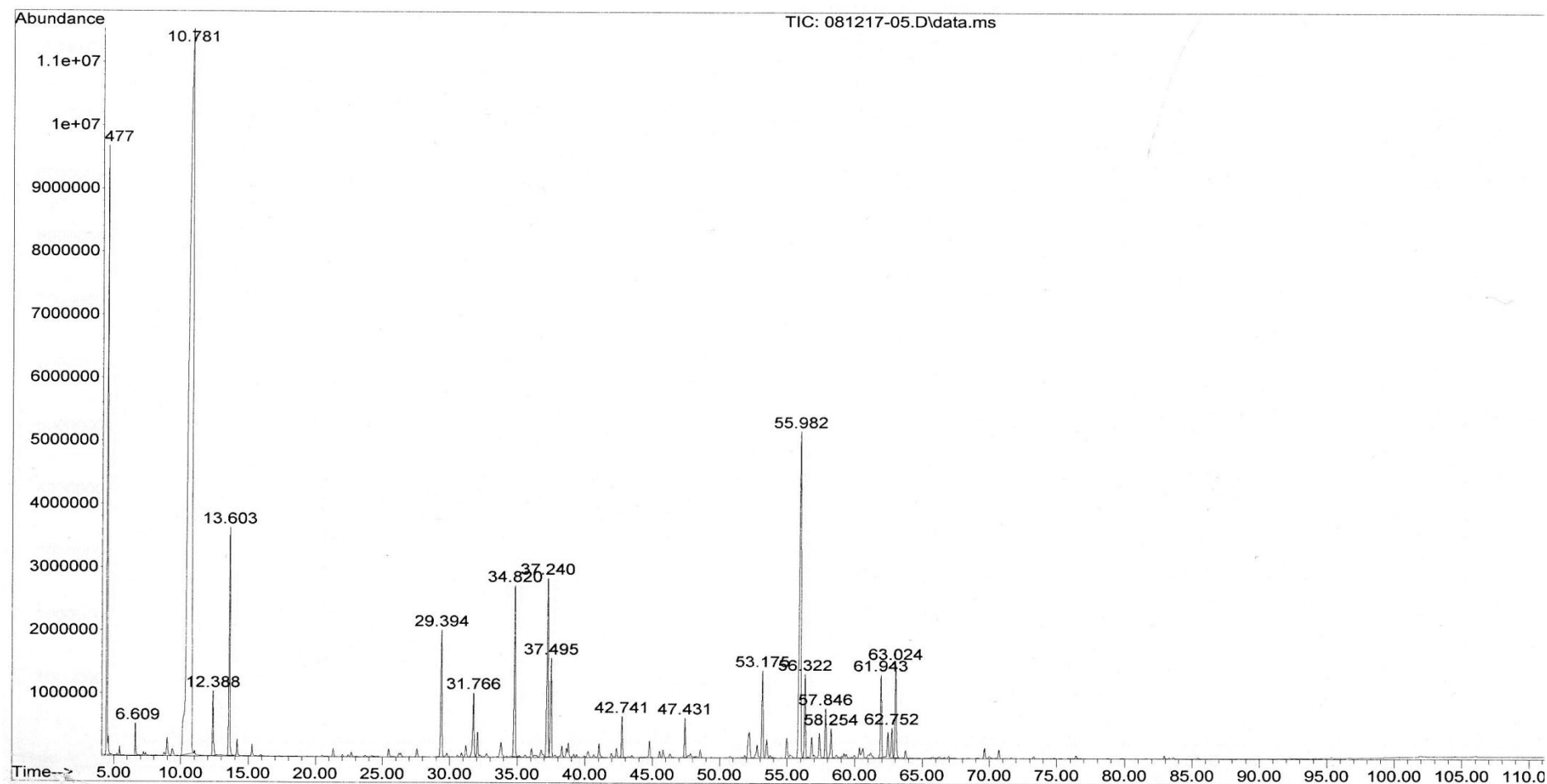


Figure 3: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de *E. globulus* de la région de Kabylie.

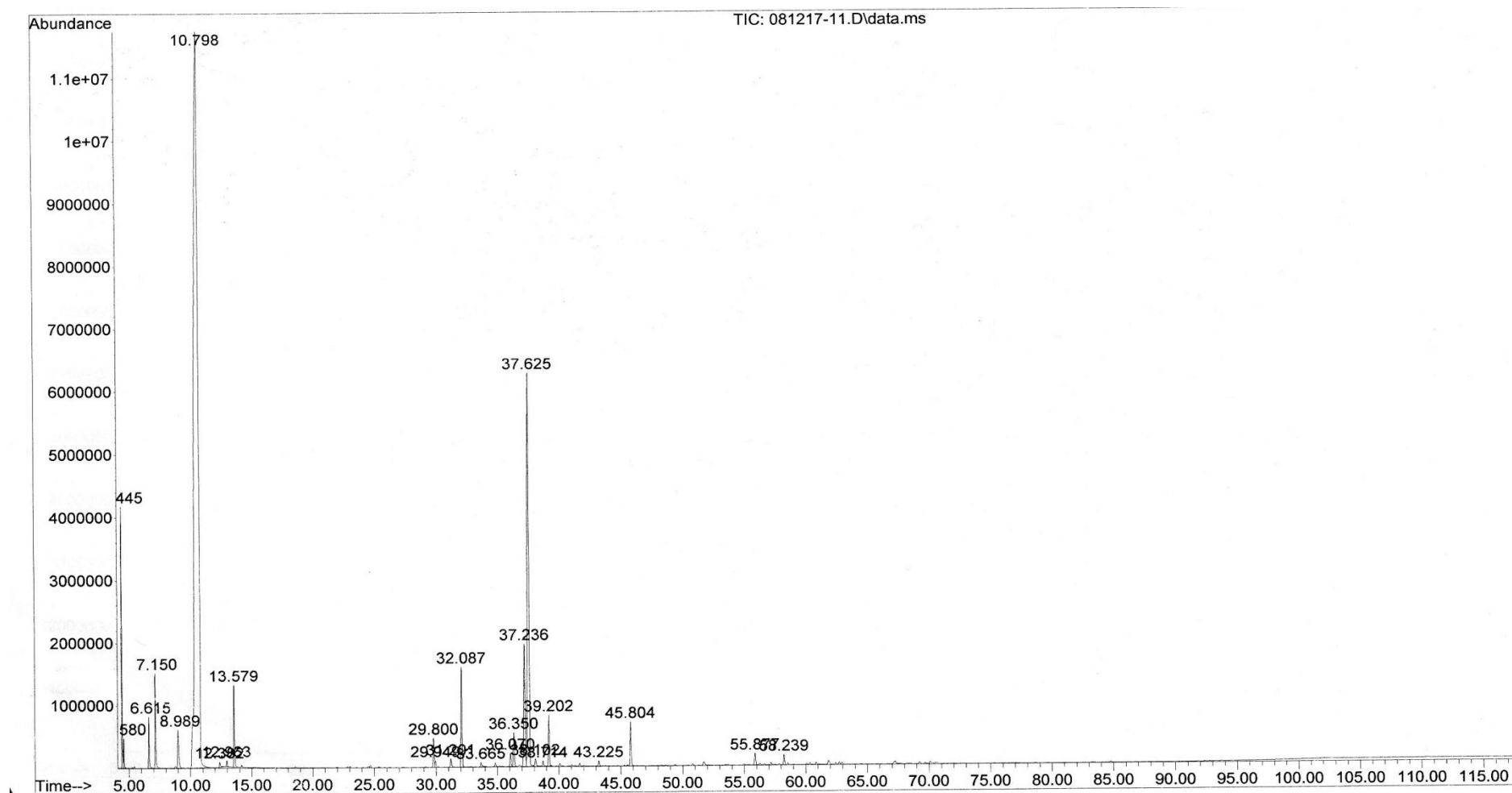


Figure 5: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de *E. radiata* de la région de Kabylie.

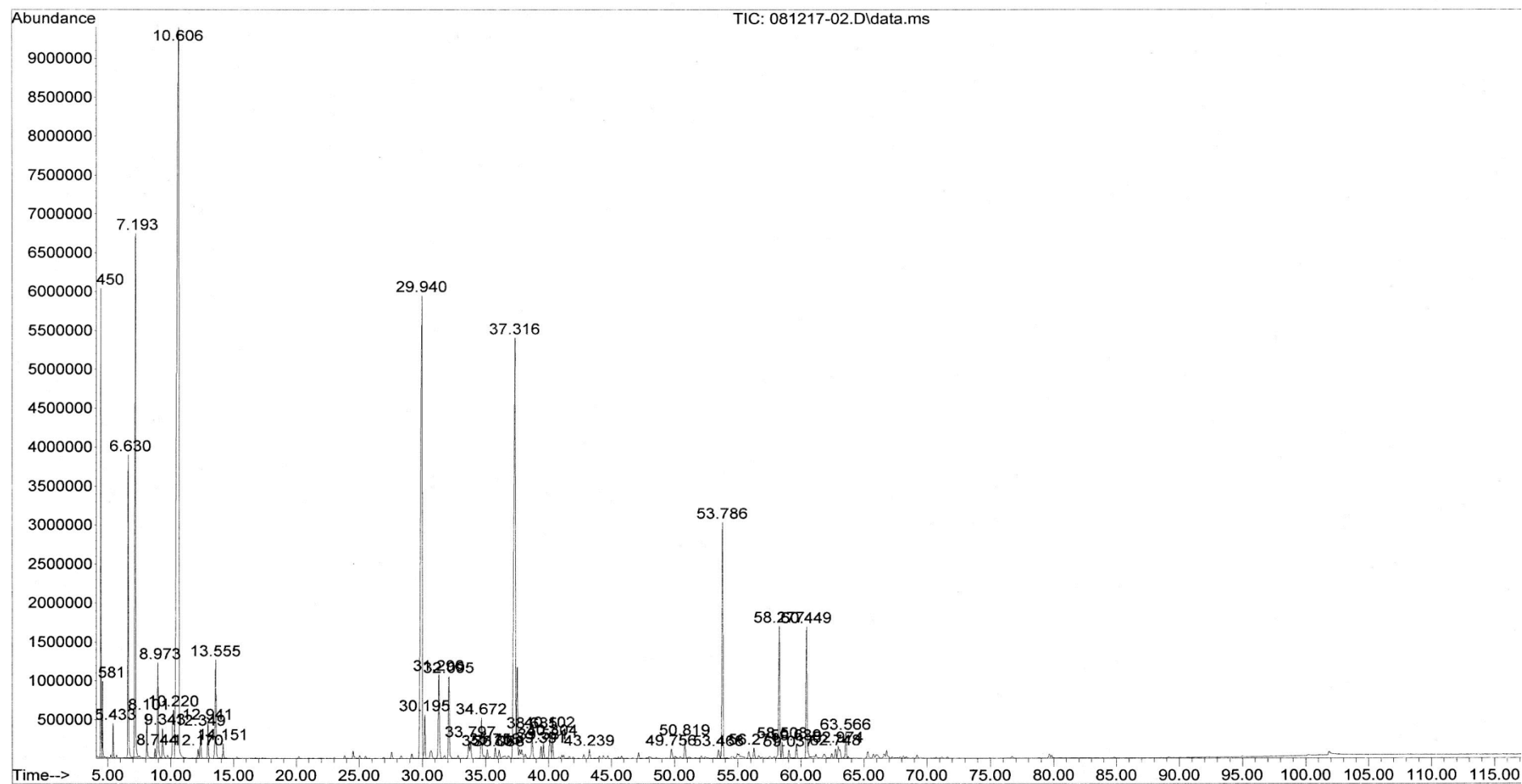


Figure 6: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de *A. triphylla* de la région de Kabylie.

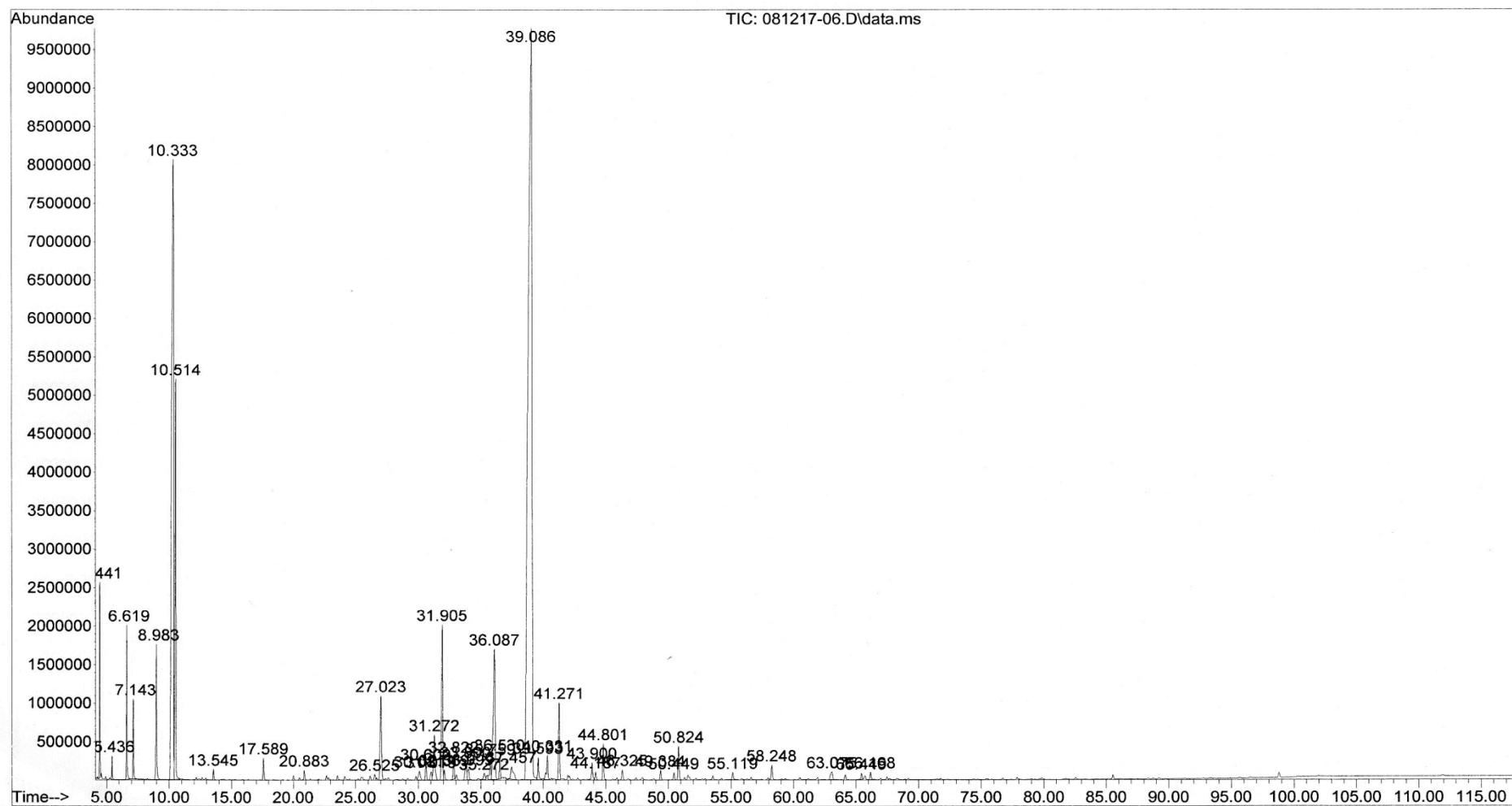


Figure 7: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de *M. spicata* de la région de Kabylie

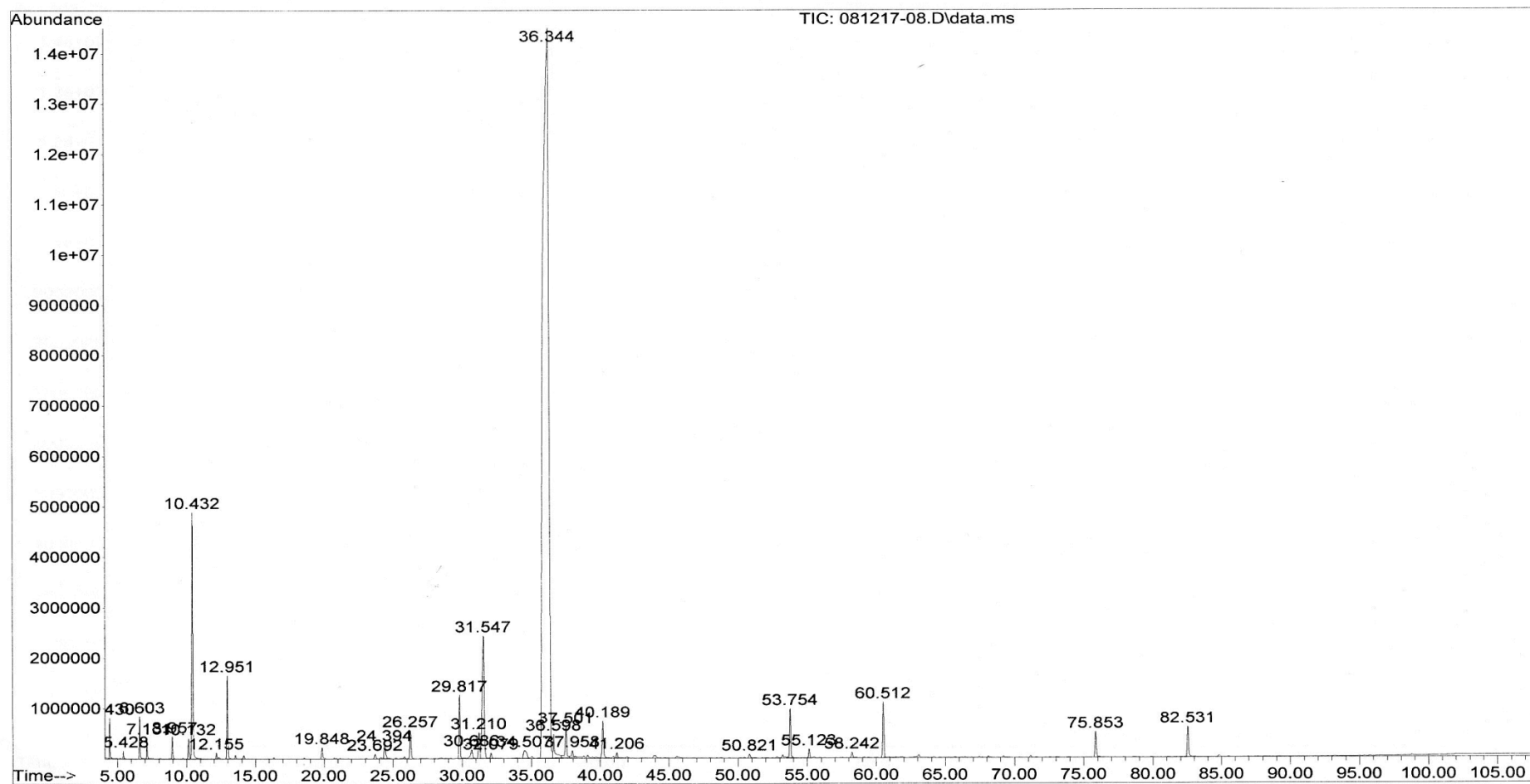


Figure 8: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de *O. basilicum* de la région de Kabylie.

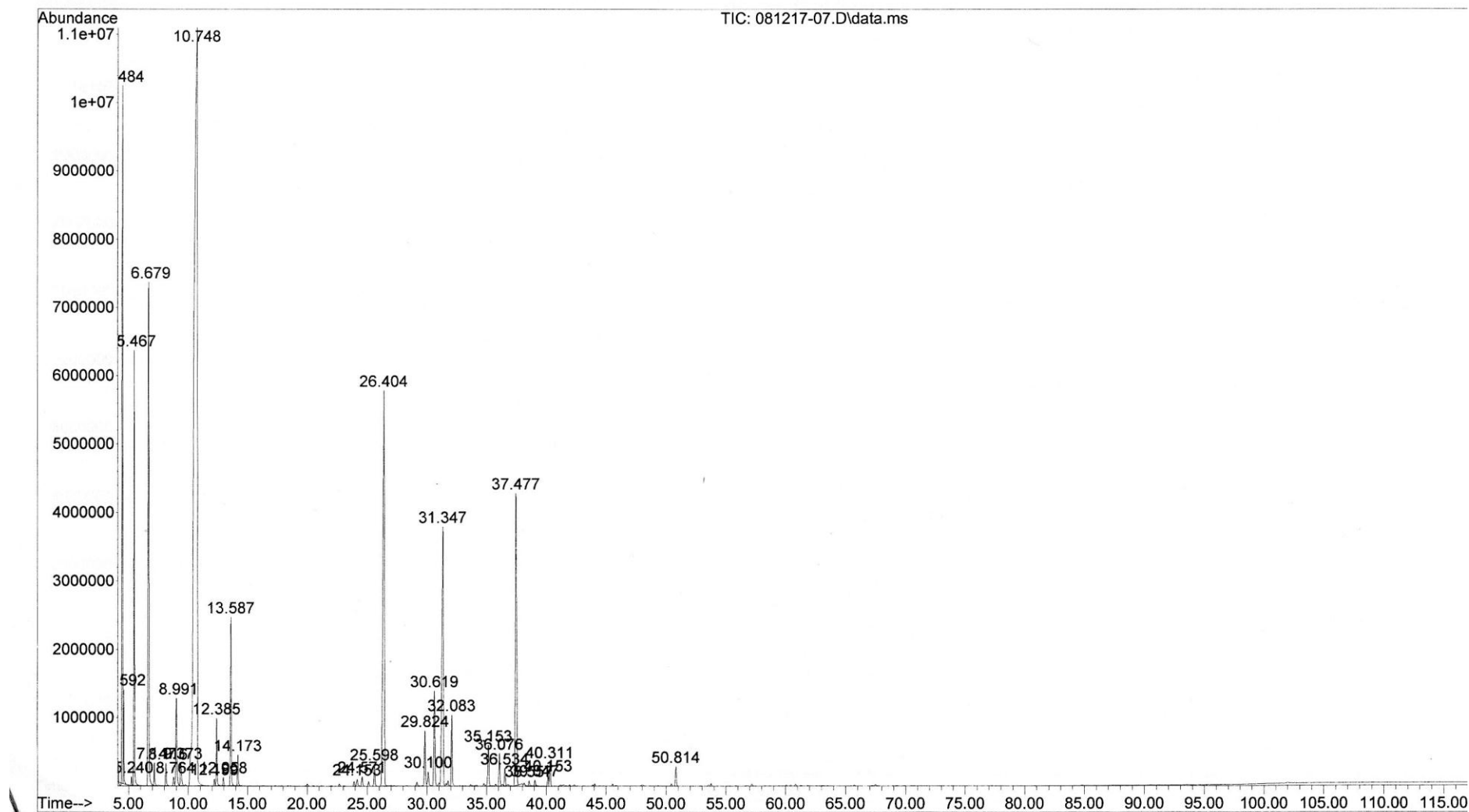


Figure 9: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de *R. officinalis* de la région de Kabylie.

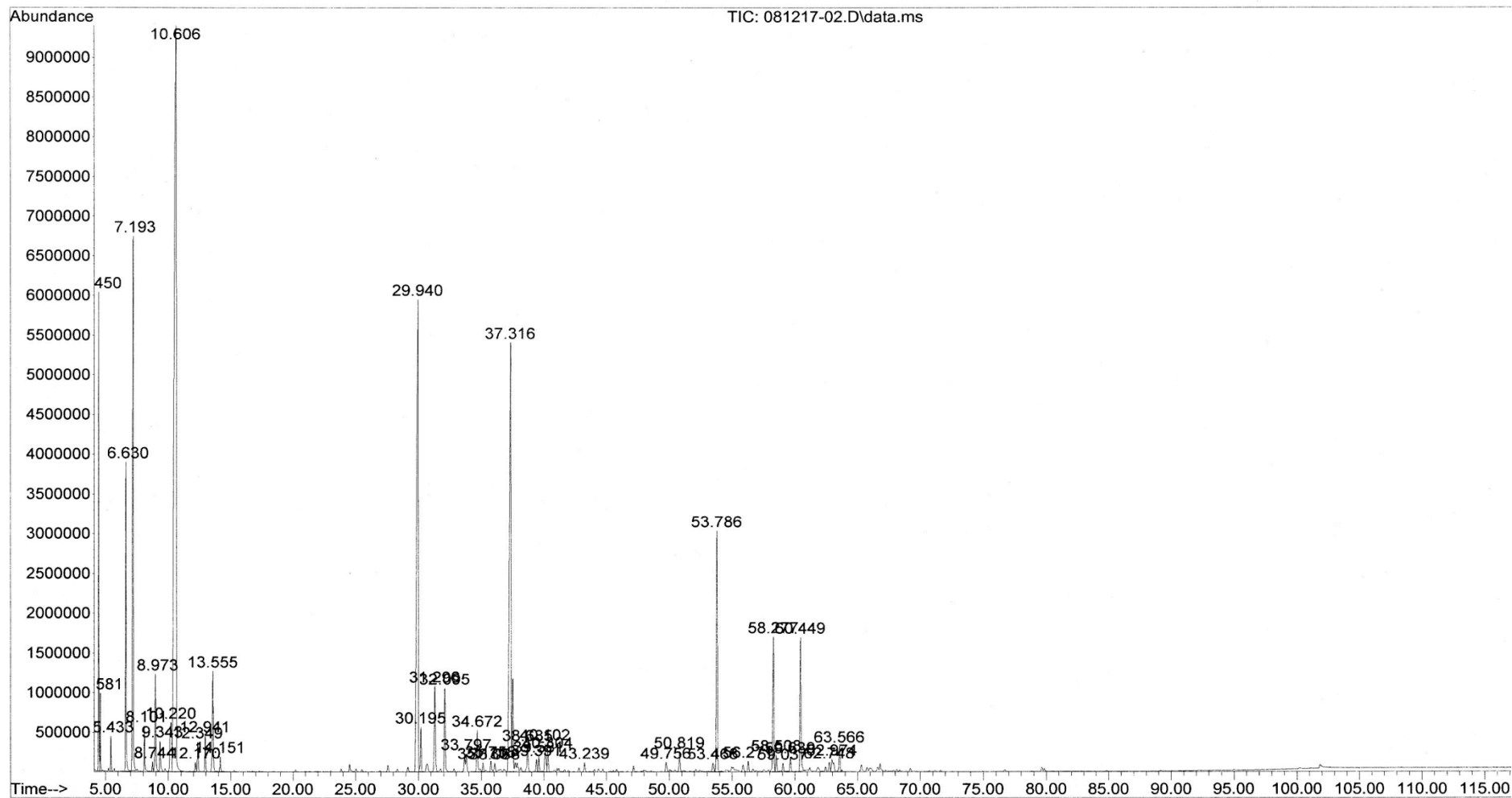


Figure 10: Chromatogramme (CG/MS) de l'huile essentielle de *L. nobilis* de la région de Kabylie.

Résultats de l'analyse statistique

Tableau 1 : Résultats de l'analyse de la variance de l'action des 6 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie), sur la longévité des adultes de *C. maculatus*.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	538235,3	119	4522,985				
Var.facteur 1(huile)	61670,06	5	12334,01	639,805	0		
Var.facteur 2 (dose)	430701	4	107675,3	5585,459	0		
Var.inter f1*2	44129,19	20	2206,459	114,456	0		
Var.residuelle 1	1735	90	19,278			4,391	8,00%

Tableau 2 : Résultats de l'analyse de la variance de l'action des 4 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie), sur la longévité des adultes de *C. maculatus*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	497387	79	6296,038				
Var.facteur 1 (huile)	29541,59	3	9847,198	19,261	0		
Var.facteur 2(dose)	420671	4	105167,8	205,709	0		
Var.inter f1*2	16499,59	12	1374,966	2,689	0,00585		
Var.residuelle 1	30674,75	60	511,246			22,611	30,57%

Tableau 3 : Résultats de l'analyse de la variance du nombre d'œufs pondus selon les traitements avec les 6 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	11009260	119	92514,77				
Var.facteur 1 (huile)	9362007	5	234502	3537,223	0		
Var.facteur 2 (dose)	565485	4	113097	170,9246	0		
Var.inter f1*2	1022214	20	51110,7	77,2441	0		
Var.residuelle 1	59551	90	661			25,7231	13,31 %

Tableau 4 : Résultats de l'analyse de la variance du nombre d'œufs pondus selon les 4 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	11422430	79	144587,7				
Var.facteur 1(huile)	517658	3	172552,7	101,938	0		
Var.facteur 2 (dose)	10070410	4	2517603	1487,315	0		
Var.inter f1*2	732799	12	61066,58	36,076	0		
Var.residuelle 1	101563	60	1692,717			41,143	10,19%

Tableau 5 : Résultats de l'analyse de la variance sur la viabilité embryonnaire de *C. maculatus* dans les traitements avec les 6 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	8697516	119	73088,37				
Var.facteur 1 (huile)	351655	5	70331	39,117	0		
Var.facteur 2 (dose)	7466723	4	1866681	1038,211	0		
Var.inter f1*2	717320	20	35866	19,948	0		
Var.residuelle 1	161818	90	1797,978			42,403	25,39%

Tableau 6 : Résultats de l'analyse de la variance sur la viabilité embryonnaire de *C. maculatus* dans les traitements avec les 4 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	8705615	79	110197,7				
Var.facteur 1(huile)	334140	3	111380	122,284	0		
Var.facteur 2 (dose)	7760131	4	1940033	2129,954	0		
Var.inter f1*2	556694,5	12	46391,21	50,933	0		
Var.residuelle 1	54650	60	910,833			30,18	10,41%

Tableau 7 : Résultats de l'analyse de la variance sur la viabilité post-embryonnaire de *C. maculatus* selon les traitements avec des 6 huiles essentielles des différentes huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	7558365	119	63515,67				
Var.facteur 1	112782,5	5	22556,5	11,197	0		
Var.facteur 2	6953129	4	1738282	862,907	0		
Var.inter f1*2	311152,5	20	15557,63	7,723	0		
Var.residuelle 1	181300,5	90	2014,45			44,883	30,92%

Tableau 8 : Résultats de l'analyse de la variance sur la viabilité post-embryonnaire de *C. maculatus* selon les traitements avec des 4 huiles essentielles des différentes huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	8479414	79	107334,4				
Var.facteur 1	87591	3	29197	16,466	0		
Var.facteur 2	8111823	4	2027956	1143,659	0		
Var.inter f1*2	173607,5	12	14467,29	8,159	0		
Var.residuelle 1	106393	60	1773,217			42,11	15,17%

Tableau 9 : Résultats de l'analyse de la variance pour la germination des graines soumises à l'action des 6 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	85988,36	119	722,5912				
Var.facteur 1(huile)	5432,773	4	1358,193	60,4836	0		
Var.facteur 2 (dose)	50408,66	5	10081,73	448,9638	0		
Var.inter f1*2	28125,93	20	1406,296	62,6258	0		
Var.residuelle 1	2021	90	22,4556			4,7387	5,62%

Tableau 10 : Résultats de l'analyse de la variance pour la germination des graines soumises à l'action des 4 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	671,388	79	8,499				
Var.facteur 1(huile)	26,938	3	8,979	2,201	0,09583		
Var.facteur 2 (dose)	281,45	4	70,363	17,249	0		
Var.inter f1*2	118,25	12	9,854	2,416	0,01258		
Var.residuelle 1	244,75	60	4,079			2,02	4,28%

Tableau 11 : Résultats de l'analyse de la variance de la répulsivité des 6 huiles essentielles, provenant de la région de Kabylie (Algérie), vis-à-vis des adultes de *C. maculatus*.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	215331	95	2266,642				
Var.facteur 1(huile)	8598,203	5	1719,641	0,836	0,53005		
Var.facteur 2 (dose)	17694,55	3	5898,182	2,868	0,04176		
Var.inter f1*2	40957,02	15	2730,468	1,328	0,20857		
Var.residuelle 1	148081,3	72	2056,684			45,351	5,60%

Tableau 12 : Résultats de l'analyse de la variance de la répulsivité des 4 huiles essentielles, provenant de la région de Kabylie (Algérie), vis-à-vis des adultes de *C. maculatus*.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	1043,75	63	16,567				
Var.facteur 1 (huile)	128,375	3	42,792	47,767	0		
Var.facteur 2 (dose)	714,375	3	238,125	265,814	0		
Var.inter f1*2	158	9	17,556	19,597	0		
Var.residuelle 1	43	48	0,896			0,946	6,56%

Tableau 13 : Résultats de l'analyse de la variance de la toxicité des 6 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie), vis-à-vis des adultes de *C. maculatus*, dans les tests de fumigation.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	22680,46	479	47,35				
Var.facteur 1(huile)	350,893	5	70,179	96,521	0		
Var.facteur 2(dos)	20415,74	4	5103,935	7019,738	0		
Var.facteur 3(temps)	529,027	3	176,343	242,534	0		
Var.inter f1*2	237,139	20	11,857	16,308	0		
Var.inter f1*3	329,688	15	21,979	30,229	0		
Var.inter f2*3	234,816	12	19,568	26,913	0		
Var.inter f1*2*3	321,406	60	5,357	7,367	0		
Var.residuelle 1	261,75	360	0,727			0,853	7,57%

Tableau 14: Doses d'huile essentielle de *M. communis* transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).

Mortalité (%)	Mortalité (Probits)	Log doses
0	0	0
20	4,16	1,38
60	5,25	2,07
72	5,55	2,48
100	7,33	2,77

Tableau 15 : Doses d'huile essentielle de *E. globulus* transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).

Mortalité (%)	Mortalité Probits	Log doses
0	0	0
25	4,33	1,38
72	5,55	2,37
92	6,34	2,48
100	7,33	2, 37

Tableau 16 : Doses d'huile essentielle de *E. radiata* transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).

Mortalité (%)	Mortalité Probits	Log doses
0	0	0
45	4,87	1,38
75	5,67	2,07
85	6,04	2,48
100	7,33	2,77

Tableau 17 : Doses d'huile essentielle de *L. nobilis* transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).

Mortalité (%)	Mortalité Probits	Log doses
0	0	0
20	4,16	1,38
90	6,28	2,07
100	7,33	2,48
100	7,33	2,77

Tableau 18 : Doses d'huile essentielle de *P. lentiscus* transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).

Mortalité (%)	Mortalité Probits	Log doses
0	0	0
20	4,16	1,38
30	4,48	2,07
67	5,44	2,48
90	6,28	2,77

Tableau 19 : Doses d'huile essentielle de *S. officinalis* transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).

Mortalité (%)	Mortalité Probits	Log doses
0	0	0
25	4,33	1,38
75	5,67	2,07
87	6,13	2,48
100	7,33	2,77

Tableau 20 : Résultats de l'analyse de la variance de la toxicité des 4 huiles essentielles provenant de la région de Kabylie (Algérie), vis-à-vis des adultes de *C. maculatus*, dans les tests de fumigation.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.totale	23184,91	119	48,403				
Var.facteur 1(huile)	347,572	3	69,514	102,457	0		
Var.facteur 2(dose)	20971,57	4	5242,892	7727,496	0		
Var.facteur 3(temps)	514,805	3	171,602	252,924	0		
Var.inter f1*2	237,209	12	11,86	17,481	0		
Var.inter f1*3	325,686	9	21,712	32,002	0		
Var.inter f2*3	230,664	12	19,222	22,331	0		
Var.inter f1*2*3	313,158	36	5,219	7,693	0		
Var.residuelle 1	244,25	40	0,678			0,824	7,34%

Tableau 21 : Doses d'huile essentielle de *O. basilicum* transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).

Mortalité (%)	Mortalité Probits	Log doses
0	0	0
30	4,48	1,38
40	4,75	2,07
90	6,28	2,48
100	7,33	2,77

Tableau 22 : Doses d'huile essentielle de *M. spicata* transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).

Mortalité (%)	Mortalité Probits	Log doses
0	0	0
20	4,16	1,38
70	5,52	2,07
90	6,28	2,48
100	7,33	2,77

Tableau 23 : Doses d'huile essentielle de *R. officinalis* transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).

Mortalité (%)	Mortalité Probits	Log doses
0	0	0
20	4,16	1 ,38
25	4,33	2,07
70	5,52	2,48
90	6,28	2,77

Tableau 24 : Doses d'huile essentielle de *A. triphylla* transformées en logarithme népérien (Log) et les probits correspondants (Test de fumigation après 24 h de traitement).

Mortalité (%)	Mortalité Probits	Log doses
0	0	0
45	4,87	1,38
55	5,13	2,07

75	5,67	2,48
100	7,33	2,77

Tableau 25: Log des doses en probits selon les pourcentages de mortalité corrigée.

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
99	0,00	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90
	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,75	7,75	7,88	8,09