

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE 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



# Thèse de Doctorat

Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Interaction Plantes Animaux dans les Ecosystèmes Naturels et Cultivés

Présentée par : LAOUDI Tinhinane

## Sujet

Etude de la sensibilité à différentes huiles essentielles  
du Silvain, *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera :  
Silvanidae), insecte ravageur des denrées stockées

*Devant le jury composé de :*

Mme. Medjdoub-Bensaad Ferroudja	Professeur	UMMTO	<b>Présidente</b>
Mme. Khelfane-Goucem Karima	MCA	UMMTO	<b>Rapporteur</b>
M. Kellouche Abdellah	Professeur	UMMTO	<b>Invité</b>
Mme. Taleb-Toudert Karima	MCA	UMMTO	<b>Examinatrice</b>
Mme. Sahir-Halouane Fatma	Professeur	Univ. Boumerdes	<b>Examinatrice</b>
Mme. Khaldoun Oularbi Hassina	MCA	USDB1	<b>Examinatrice</b>
Mme. Acheuk Fatma	Professeur	Univ. Boumerdes	<b>Examinatrice</b>

## *Remerciements*

**A**u terme de ce travail de recherche, je remercie Dieu le tout puissant miséricordieux de m'avoir donné le courage et la patience qui m'ont permis de mener cette investigation à terme.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à mon Directeur de thèse Pr. Kellouche Abdellah, professeur à l'UMMTO, pour m'avoir accordé l'immense honneur d'encadrer et de diriger ce travail de recherche, pour sa rigueur scientifique et sa patience qui m'ont été d'un grand apport, pour ses orientations, ses efforts colossaux et le temps qu'il a consacré à la finalisation de ce travail même après son départ en retraite. Ses conseils et suggestions m'ont beaucoup servi. Qu'il trouve ici mon profond respect et ma gratitude.

J'adresse mes sincères remerciements et ma profonde gratitude et reconnaissance à Mme. Khelfane-Goucem Karima, MCA à l'UMMTO, ma co-directrice puis ma directrice de thèse après le départ en retraite du Pr. Kellouche, avec qui j'ai bénéficié d'un bon encadrement et accompagnement tout au long de ce parcours, pour sa disponibilité, ses orientations qui m'ont été d'un grand apport, ses remarques fructueuses, son aide précieuse et paisible, sa présence dans les moments les plus difficiles m'a rassuré et encouragé ; qu'elle trouve ici mes sincères impressions de gratitude et d'admiration.

Ma reconnaissance va également à Mme. Lakabi-Ahmanache Lynda, MCA à l'UMMTO, pour son aimable contribution dans la partie toxicité sur le modèle animal, une tâche qui était vraiment difficile pour moi et d'avoir mis à ma disposition tout son matériel de laboratoire, ses conseils précieux et sa contribution dans l'interprétation et la correction de cette partie, qu'elle trouve ici toute ma reconnaissance et ma gratitude.

J'exprime toute ma gratitude à Mme. Medjdoub-Bensaad Ferroudja, professeur à l'UMMTO, pour sa courtoisie, ses orientations, ses encouragements et conseils tout au long de ce travail et pour avoir mis à ma disposition le matériel de son laboratoire, je la remercie aussi d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance, qu'elle trouve ici ma profonde reconnaissance et ma gratitude.

Ma reconnaissance est aussi destinée à M. Rafik Menad, MCA à l'université Houari Boumediene, Faculté de médecine d'Alger, qui m'a aidé dans l'interprétation des coupes

histologiques, un domaine que je ne maîtrise pas et avec qui j'ai appris beaucoup de choses dans le domaine de l'histologie.

Mes remerciements les plus chaleureux vont également à Mme. Taleb-Toudert Karima, MCA à l'UMMTO pour sa gentillesse, son soutien moral et ses encouragements, je la remercie également d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail malgré ses multiples obligations. Je suis vraiment honorée par votre participation à ce jury.

Je remercie vivement Mme. Sahir-Halouane Fatma et Mme. Acheuk Fatma, professeurs à l'Université M'hamed Bougara de Boumerdès, Mme. Khaldoun Oularbi Hassina, MCA à l'université Saad Dahleb, Blida 1, d'avoir accepté d'évaluer ce travail, qu'elles trouvent ici ma gratitude et mon profond respect et remerciement.

Je n'oublierai pas d'adresser mes remerciements les plus sincères à Mme. Hamani-Aoudjit Siham de l'Université Akli Mohand Oulhadj de Bouira, qui m'a aidé dans la partie extraction des huiles essentielles et pour son soutien permanent.

Que Mlle. Ali-Ahmed Samira, M. Kerfi Madjid et M. Graiche Farid enseignants à l'UMMTO qui m'ont aidée dans l'exploitation statistique des données malgré leurs nombreuses préoccupations, trouvent ici mes sincères remerciements et ma profonde gratitude.

J'exprime aussi mes remerciements les plus vifs à M. Abdellali, professeur en médecine et chef de service d'anatomie-pathologie de l'Hôpital Nefissa Hamoud (ex-Parnet), Alger et sa collègue Mme. Khelifa Kenza, responsable du laboratoire d'anatomie-pathologie, pour son aide dans la réalisation des coupes histologiques et pour sa disponibilité en pleine pandémie de Corona virus.

Je n'oublierais pas non plus d'exprimer ma profonde reconnaissance à M. Kheddache Arezki, MCB à l'UMMTO et Mme. Mehali Naima, doctorante à l'UMMTO pour leur aide et leurs conseils précieux dans la partie expérimentation animale. Je ne peux être ingrate à l'égard de M. Boukhemza Mohamed et Mme. Kasdi Meriem qui m'ont facilité l'accès au laboratoire de parasitologie afin d'achever une partie de cette thèse.

Je tiens également à exprimer ma profonde reconnaissance à tout le personnel du jardin d'essai du Hamma, pour leur aide précieuse dans l'identification des plantes.

Je n'oublierai non plus d'exprimer mon profond respect et gratitude au personnel du CRAPC de Bou-Ismaïl, pour leur aide précieuse dans la réalisation de l'analyse chromatographique des huiles essentielles, spécialement M. Chebrouk Farid et Mme. Saher Liza, qu'ils trouvent ici l'expression de ma haute gratitude.

A ma sœur Melila et son mari M. Hachrouf Abdellah, qui m'ont aidé dans mes déplacements pour la recherche de substrats infestés, les déplacements des souris et la cueillette des plantes. Qu'ils trouvent ici ma profonde gratitude et ma reconnaissance.

Je ne saurais clore cette liste sans exprimer mes remerciements chaleureux à l'équipe du laboratoire PSEMRVC de l'UMMTO, amis et collègues, pour leur sympathie, encouragements et soutien, particulièrement Mme. Lounaci Zohra, Mme. Blibek Fahima et Mme. Kouraba Fariza, sans oublier mes amies Fetta, Fatima, Sabrina, Fatma, Lynda et Lynda, Dyhia, Assia, Radia, Yamina, Hassina et Ghania.

Pour finir, je tiens à exprimer ma reconnaissance envers tous ceux qui, de près ou de loin, ont manifesté de l'intérêt pour mes travaux et qui ont contribué au bon déroulement de cette thèse.

## *Dédicaces*

Je dédie cette thèse de doctorat à mes très chers parents Monsieur Laoudi Mâamar et Madame Laoudi Ghenima qui ont consenti d'énormes sacrifices pour mon éducation et ma réussite scolaire.

## SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale..... 01

### **Première partie : Revue bibliographique**

#### **Chapitre I. Présentation de l'insecte ravageur**

1. Introduction .....	06
2. Caractères généraux des Silvanidae.....	06
3. Présentation du silvain dentelé .....	07
3.1. Position systématique.....	08
3.2. Origine et distribution géographique.....	08
3.3. Développement .....	09
3.4. Biologie de l'insecte.....	12
3.5. Dégâts occasionnés .....	13
3.6. Ennemis naturels .....	14
4. Moyens de lutte .....	15

#### **Chapitre II. Généralités sur les huiles essentielles**

1. Introduction.....	18
2. Définition et localisation .....	18
3. Rôle et propriétés des huiles essentielles .....	19
4. Composition des huiles essentielles .....	20
4.1. Terpènes .....	20
4.2. Composés aromatiques .....	22
4.3. Composés d'origines diverses .....	23
4.4. Notion de chémotype .....	23
5. Procédés d'extraction des huiles essentielles .....	23
5.1. Hydrodistillation .....	24
5.2. Entraînement à la vapeur d'eau .....	24
5.3. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes ESSAM .....	25
5.4. Extraction par ultrasons .....	25
6. Techniques d'identification des constituants des huiles essentielles.....	26
7. Action des huiles essentielles .....	27
8. Synergie des huiles essentielles .....	27

#### **Chapitre III. Généralités sur la toxicologie**

1. Introduction .....	29
2. Définition .....	29
3. Formes de toxicité .....	30

3.1. Toxicité aiguë .....	30
3.2. Toxicité subaiguë .....	30
3.3. Toxicité chronique .....	31
4. Différentes voies d'exposition au toxique .....	32
4.1. Voie orale .....	32
4.2. Voie respiratoire .....	32
4.3. Voie cutanée .....	32
4.4. Autres voies .....	33
5. Effets toxiques des huiles essentielles .....	33
5.1. Neurotoxique .....	33
5.2. Toxicité digestive .....	33
5.3. Toxicité rénale .....	34
5.4. Toxicité pulmonaire .....	34
5.5. Effet cancérigène .....	34
5.6. Toxicité cutanée.....	35
6. Interactions toxicologiques .....	35
7. Voies d'élimination des toxiques .....	36

## **Deuxième partie : Expérimentation**

### **Chapitre IV. Biologie du silvain dentelé *Oryzaephilus surinamensis***

1. Introduction .....	38
2. Matériel et méthodes.....	38
2.1. Matériel biologique.....	38
2.1.1. Insecte ravageur.....	38
2.1.2. Substrats trophiques .....	38
2.1.3. Elevage de masse .....	39
2.2. Méthodes .....	39
2.2.1. Identification de l'espèce par la technique de Montage des genitalia.....	39
2.2.2. Etude morphométrique .....	40
2.2.3. Biologie du silvain dentelé .....	43
2.3. Analyse des données .....	44
3. Résultats .....	45
3.1. Etude des genitalia .....	45
3.2. Etude morphométrique .....	46
3.3. Biologie d' <i>O. surinamensis</i> .....	47
3.3.1. Cycle de développement .....	47
3.3.2. Taux d'éclosion des œufs .....	48
3.3.3. Taux d'émergence des adultes .....	50
3.3.4. Sex-ratio .....	50
3.3.5. Longévité des adultes .....	51
3.3.6. Fécondité des femelles .....	51

4. Discussion .....	52
4.1. Etude morphométrique .....	52
4.2. Biologie d' <i>O. surinamensis</i> .....	53

### **Chapitre V. Activité biologique des huiles essentielles**

1. Introduction .....	58
2. Matériel et méthodes .....	58
2.1. Elevage de masse de l'insecte ravageur .....	58
2.2. Matériel végétal .....	58
2.2.1. Description botanique des plantes .....	59
2.2.2. Extraction des huiles essentielles .....	66
2.2.3. Analyse chromatographique des huiles essentielles.....	67
2.3. Test de toxicité par fumigation .....	68
2.4. Calcul des CL <sub>50</sub> , CL <sub>90</sub> et TL <sub>50</sub> .....	69
2.5. Test de répulsion .....	69
2.6. Analyse des données .....	70
3. Résultats .....	71
3.1. Résultats de l'analyse chromatographique des huiles essentielles .....	71
3.1.1. Huile essentielle de cyprès vert et faux poivrier .....	71
3.1.2. Huiles essentielles des Lamiacées .....	73
3.2. Activité insecticide des huiles essentielles par fumigation .....	75
3.2.1. Estimation des CL <sub>50</sub> et CL <sub>90</sub> dans les tests par fumigation .....	78
3.2.2. Estimation des TL <sub>50</sub> dans les tests par fumigation .....	80
3.3. Activité répulsive des huiles essentielles .....	81
4. Discussion .....	83
4.1. Composition chimique des huiles essentielles .....	83
4.2. Activité biologique des huiles essentielles à l'égard d' <i>O. surinamensis</i> .....	86
4.2.1. Par fumigation .....	86
4.2.2. Par répulsion .....	89

### **Chapitre VI. Effet de l'huile essentielle de *L. latifolia* sur les souris**

1. Introduction .....	92
2. Matériel et méthodes .....	92
2.1. Matériel biologique.....	92
2.2. Huile essentielle .....	93
2.3. Méthodes .....	93
2.3.1. Répartition des groupes .....	93
2.3.2. Protocole expérimental .....	94
2.3.3. Tests neurocomportementaux .....	95
2.3.4. Etude histologique .....	97
2.4. Analyse statistique .....	102
3. Résultats .....	102

3.1. Tests neurocomportementaux .....	102
3.1.1. Test de labyrinthe en croix surélevée .....	102
3.1.2. Epreuve de la nage forcée .....	102
3.2. Evolution du poids corporel .....	103
3.3. Etude macroscopique et microscopique des organes .....	106
3.3.1. Etude macroscopique .....	106
3.3.2. Etude microscopique .....	106
4. Discussion .....	113
4.1. Tests neurocomportementaux .....	113
4.2. Croissance corporelle des souris .....	115
4.3. Effet sur l'histologie des organes .....	117
4.3.1. Effet sur les testicules .....	117
4.3.2. Effet sur le parenchyme rénal .....	119
4.3.3. Effet sur le parenchyme pulmonaire .....	120
Conclusion générale .....	122
Références bibliographiques.....	126
Publication	

Annexes

Résumé

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b>	Toxicité aiguë de quelques huiles essentielles et des composés majeurs testés au laboratoire, par voie orale, sur des rats (Anderson et <i>al.</i> , 1996; Bruneton, 2008; Regnault-Roger et <i>al.</i> , 2012 ; Isman et Machial, 2016). PC : poids corporel.....	31
<b>Tableau 2.</b>	Longueur et largeur moyenne (mm±SEM, n=30) des œufs d' <i>O. surinamensis</i> , sur la semoule.....	46
<b>Tableau 3.</b>	Longueur moyenne du corps et largeur moyenne des capsules céphaliques de différents stades larvaires (mm±SEM) d' <i>O. surinamensis</i> , sur la semoule.....	47
<b>Tableau 4.</b>	Longueur moyenne (mm±SEM) des nymphes, des adultes, mâles et femelles d' <i>O. surinamensis</i> , sur la semoule.....	47
<b>Tableau 5.</b>	Durée moyenne (en jours±SEM, n=33) des différents stades de développement du silvain dentelé sur la semoule, l'avoine et le riz.....	49
<b>Tableau 6.</b>	Sex-ratio d' <i>O. surinamensis</i> dans la semoule, l'avoine et le riz (n=100).....	50
<b>Tableau 7.</b>	Longévité (en jours±SEM, n=22) des adultes d' <i>O. surinamensis</i> nourris de semoule, d'avoine ou de riz.....	51
<b>Tableau 8.</b>	Fécondité moyenne par femelle d' <i>O. surinamensis</i> (Moyenne±SEM, n=4×20) calculée chaque trois jours en présence de semoule, d'avoine et de riz.....	51
<b>Tableau 9.</b>	Huiles essentielles utilisées pour les testes de toxicité.....	59
<b>Tableau 10.</b>	Pourcentage de répulsion selon le classement de Mc Donald et <i>al.</i> (1970)....	70
<b>Tableau 11.</b>	Composition chimique des huiles essentielles de <i>S. molle</i> et <i>C. sempervirens</i> analysées par CG/MS (TR : Temps de Rétention; RI : Indice de Rétention) .....	71
<b>Tableau 12.</b>	Composition chimique des huiles essentielles de <i>M. piperita</i> , <i>L. latifolia</i> et <i>O. basilicum</i> analysées par CG/MS (TR : Temps de Rétention; RI : Indice de Rétention).....	73
<b>Tableau 13.</b>	Résultats du test de Kruskal-Wallis concernant l'effet des doses et temps d'exposition, par fumigation, sur la mortalité des adultes d' <i>O.</i>	

	<i>surinamensis</i> .....	77
<b>Tableau 14.</b>	Résultats de l'analyse statistique de Kruskal-Wallis pour l'effet du traitement par fumigation sur les adultes d' <i>O. surinamensis</i> .....	77
<b>Tableau 15.</b>	CL <sub>50</sub> et CL <sub>90</sub> des six traitements testés par fumigation à l'égard des adultes d' <i>O. surinamensis</i> après 24h d'exposition.....	81
<b>Tableau 16.</b>	Valeurs de la TL <sub>50</sub> des différents traitements par fumigation à l'égard des adultes d' <i>O. surinamensis</i> .....	81
<b>Tableau 17.</b>	Résultats du test de Kruskal-Wallis pour l'effet dose des traitements sur la répulsion des adultes d' <i>O. surinamensis</i> .....	82
<b>Tableau 18.</b>	Résultats de l'analyse statistique de Kruskal-Wallis pour l'effet traitement par répulsion sur les adultes d' <i>O. surinamensis</i> .....	83
<b>Tableau 19.</b>	Protocole expérimental du traitement par l'huile essentielle (HE) de lavande aspic appliquée sur les souris (HM : Huile de maïs).....	96

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Distinction entre le silvain dentelé et le cucujide des grains, à gauche, <i>O. surinamensis</i> , à droite, <i>O. mercator</i> (G 40×2) (Originale, 2023).....	7
<b>Figure 2.</b> <i>Oryzaephilus surinamensis</i> var. <i>bicornis</i> (3.1×0.85 mm) (Gros, 2014).....	8
<b>Figure 3.</b> Œuf d' <i>O. surinamensis</i> (G 40×2) (Hammoutene et Ben Ourab, 2022) .....	9
<b>Figure 4.</b> Larve d' <i>O. surinamensis</i> , vue dorsale (G 40×2) (Hammoutene et Ben Ourab, 2022) .....	10
<b>Figure 5.</b> Nymphe d' <i>O. surinamensis</i> , vue ventrale (G 40×2) (Originale, 2023).....	10
<b>Figure 6.</b> Adulte d'un mâle d' <i>O. surinamensis</i> , à gauche vue ventrale, à droite vue dorsale (G 40×2) (Originale, 2023) .....	11
<b>Figure 7.</b> Caractères distinctifs entre le silvain dentelé et le cucujide des grains, appareil génital mâle (Halstead, 1993).....	12
<b>Figure 8.</b> Semoule saine (à gauche), semoule infestée par le silvain dentelé (à droite) (Originale, 2023).....	14
<b>Figure 9.</b> Femelle de <i>Cephalonomia tarsalis</i> paralysant une larve de silvain (Maughan, 2012).....	14
<b>Figure 10.</b> Structure d'une unité isoprène.....	20
<b>Figure 11.</b> Structure de quelques monoterpènes .....	21
<b>Figure 12.</b> Structure de quelques sesquiterpènes .....	21
<b>Figure 13.</b> Structure de quelques composés aromatiques .....	23
<b>Figure 14.</b> Dispositif de l'hydrodistillation (Originale, 2023).....	24
<b>Figure 15.</b> Schéma du principe de la technique d'entraînement à la vapeur (à gauche) et de l'hydrodiffusion (à droite) (Lucchesi, 2005).....	25
<b>Figure 16.</b> Schéma montrant le transfert de chaleur sous chauffage classique et sous chauffage par micro-ondes (Farhat, 2010).....	26
<b>Figure 17.</b> Cheminement et élimination des toxiques dans l'organisme (Silbernagl et Despopoulos, 2001) .....	37
<b>Figure 18.</b> Bocaux des élevages de masse du silvain dentelé (Originale, 2023).....	39

<b>Figure 19.</b> Technique de montage des genitalia du silvain dentelé (Originale, 2023).....	41
<b>Figure 20.</b> Œuf d' <i>O. surinamensis</i> (G 10×10) (Originale, 2023).....	42
<b>Figure 21.</b> Jeune larve d' <i>O. surinamensis</i> (G 10×10) (Originale, 2023).....	42
<b>Figure 22.</b> Adulte d' <i>O. surinamensis</i> (G 40) (Originale, 2023) .....	42
<b>Figure 23.</b> Flacons utilisés pour l'étude du cycle de vie et la fécondité des femelles (Originale, 2023) .....	44
<b>Figure 24.</b> Dispositif expérimental pour l'étude du cycle de développement du silvain dentelé (Originale, 2023) .....	45
<b>Figure 25.</b> Genitalia mâles d' <i>O. surinamensis</i> , A), le 8 <sup>ème</sup> et le 9 <sup>ème</sup> sternites abdominaux, B), paramères (G 40×10) (Originale, 2023).....	46
<b>Figure 26.</b> Taux d'éclosion des œufs (%) (n=100 œufs) d' <i>O. surinamensis</i> sur la semoule, l'avoine et le riz.....	49
<b>Figure 27.</b> Taux d'émergence (%) des adultes d' <i>O. surinamensis</i> sur la semoule, l'avoine et le riz .....	50
<b>Figure 28.</b> Arbre du faux poivrier à gauche, rameaux et fruits à droite (Originale, 2023)..	60
<b>Figure 29.</b> Cyprès vert à gauche, rameau et cônes à droite (Originale, 2023).....	62
<b>Figure 30.</b> <i>Mentha piperita</i> (Hammoutene et Ben Ourab, 2022).....	63
<b>Figure 31.</b> <i>Lavandula latifolia</i> (Kunkele et Lobmeyer, 2007) .....	65
<b>Figure 32.</b> <i>Ocimum basilicum basilicum</i> (Anonyme, 2023).....	66
<b>Figure 33.</b> Dispositif d'extraction des huiles essentielles de type Clevenger (Originale, 2023) .....	66
<b>Figure 34.</b> Appareil d'analyse CG/MS (CRAPC, 2023).....	68
<b>Figure 35.</b> Dispositif expérimental du test par inhalation (Originale, 2023) .....	69
<b>Figure 36.</b> Taux de mortalité moyen (%) (Moyenne±SEM) des adultes d' <i>O. surinamensis</i> traités par fumigation avec différentes huiles essentielles à différentes doses et durées d'exposition .....	76
<b>Figure 37.</b> Boxplot mortalité-huile essentielle pour l'effet des quatre traitements, sur les adultes d' <i>O. surinamensis</i> , par fumigation .....	78

<b>Figure 38.</b> Droites de régression de la mortalité des adultes d' <i>O. surinamensis</i> traités par fumigation avec différentes huiles essentielles à différentes doses en fonction de la durée d'exposition.....	79
<b>Figure 39.</b> Taux moyen de répulsion (%) (Moyenne±SEM; n=5×20 individus) pour chaque substrat testée ( <i>S. molle</i> , <i>C. sempervirens</i> , <i>M. piperita</i> , <i>L. latifolia</i> , <i>O. basilicum</i> et ( <i>M. piperita</i> + <i>O. basilicum</i> )) à l'égard des adultes d' <i>O. surinamensis</i> .....	82
<b>Figure 40.</b> Boxplot taux de répulsion-traitement de <i>M. piperita</i> , <i>L. latifolia</i> , <i>O. basilicum</i> et la mixture <i>M. piperita</i> + <i>O. basilicum</i> , sur les adultes d' <i>O. surinamensis</i> .....	83
<b>Figure 41.</b> Cage de Makrolon contenant un groupe de quatre souris (Originale, 2023)....	93
<b>Figure 42.</b> Mode d'application de l'huile essentielle de la lavande par injection intrapéritonéale (A), et par inhalation (B) sur des souris blanches (Originale, 2023).....	94
<b>Figure 43.</b> Dispositif expérimental de l'épreuve du labyrinthe en croix surélevée (Originale, 2023).....	96
<b>Figure 44.</b> Dispositif expérimental de l'épreuve de la nage forcée (Originale, 2023).....	97
<b>Figure 45.</b> Prélèvement du sang des souris (Originale, 2023).....	98
<b>Figure 46.</b> Dissection et prélèvement des organes d'une souris (Originale, 2023).....	98
<b>Figure 47.</b> Déshydratation dans des bains d'alcool à degrés croissants (Originale, 2023)..	99
<b>Figure 48.</b> Imprégnation dans la paraffine (Originale, 2023).....	99
<b>Figure 49.</b> A) Inclusion et formation des blocs de paraffine contenant les organes. B) blocs Originale, 2023.....	100
<b>Figure 50.</b> Dispositif permettant la réalisation des coupes histologiques. De droite à gauche : la plaque refroidissante, le microtome et le bain-marie (Originale, 2023) .....	101
<b>Figure 51.</b> Coloration topographique de Trichrome de Masson. Passage successif dans : A) Hématoxyline, B) Fuchsine ponceau, C) Eau acétifiée, D) Orange G, E) Eau acétifiée, F) Vert lumière, G) Eau acétifiée (Originale, 2023).....	101
<b>Figure 52.</b> Temps de séjour des souris (en seconde) (Moyenne±SEM ; n=4), traitées par l'huile essentielle de lavande aspic par voie orale (50µL/21j), intrapéritonéale (50µL/7j) et inhalation (50µL/7j), dans les bras ouverts durant l'épreuve du labyrinthe en croix surélevée .....	103

- Figure 53.** Temps d'immobilité (en seconde) des souris (Moyenne±SEM ; n=4) traitées par l'huile essentielle de lavande aspic par voie orale (50µL/21j), intrapéritonéale (50µL/7j) et inhalation (50µL/7j) durant le test de la nage forcée .....103
- Figure 54.** Poids corporel moyen (g) (Moyenne±SEM; n=4) des souris traitées avec l'huile essentielle de lavande aspic. (A, B et C), traitement par voie orale en fonction du temps (7, 14 et 21j), (D et E) traitement par voie intrapéritonéale en fonction de la dose (50 et 70µL), (F) traitement par inhalation. En mauve, comparaison entre les animaux témoins et traités, en vert, comparaison entre le poids initial et final..... 105
- Figure 55.** Coupes histologiques des testicules des souris traitées par l'huile essentielle de lavande aspic. **A).** Témoin, **B).** Traitement par voie orale durant 7j, **C).** Traitement par voie orale durant 21j, **D et E).** Traitement par voie intrapéritonéale 50µL et 70µL, respectivement. **F).** Traitement par inhalation. **TS.** Tube séminifère, **TI.** Tissus interstitiel, **Lu.** Lumière, **Sg.** Spermatogonie, **Sc.** Spermatozoïde, **SA.** Spermatozoïde allongé, **CS.** Cellule de Sertoli, **Spz.** Spermatozoïde, **CL.** Cellule de Leydig (G×400) (Originale, 2023).....108
- Figure 56.** Coupes histologiques des reins des souris traitées avec l'huile essentielle de lavande aspic, par voie orale, intrapéritonéale (IP) et inhalation. **A).** Témoin, **B, C et D).** Traitement par voie orale durant 7, 14 et 21j, respectivement. **E et F).** Traitement par voie IP (50µL et 70µL, respectivement), **G).** Traitement par inhalation. **CGI.** Chambre glomérulaire, **Gl.** Glomérule, **TCP.** Tube Contourné Proximal, **TCD.** Tube Contourné Distal (G×400) (Originale, 2023) .....110
- Figure 57.** Coupes histologiques du tissu pulmonaire des souris traitées avec l'huile essentielle lavande aspic, par voie orale, intrapéritonéale (IP) et inhalation. **A).** Témoin Inhalation, **B).** Traitement Oral 14j, **C).** Traitement Oral 21 j, **D).** Traitement IP 50 µL, **E).** Traitement IP 70µL, **F et G).** Traitement par Inhalation, (A, B, C, D, E et F) (G×100), G), (G×400), **BR.** Bronchiole Respiratoire, **BT.** Bronchiole Terminale, **Al.** Alvéole, **Ep.** Epithélium (Originale, 2023) .....112

# *Introduction générale*

Les céréales constituent l'aliment de base de la plupart des pays en développement, du fait qu'elles apportent une valeur calorifique importante par rapport aux autres produits agricoles (Kumar et Kalita, 2017) ; elles constituent la principale source de protéines dans de nombreux pays (Guèye et *al.*, 2011).

D'après l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture FAO (2023), la production mondiale des céréales est estimée à 2 811 millions de tonnes pour l'année 2021-2022 ; la Chine détenant la première place avec 130 Mt est suivie de l'Inde, des Etats-Unis et de la Fédération de Russie. Le blé est la céréale la plus cultivée avec une production de 778 Mt, il est suivi du riz avec 524.4 Mt et de l'orge avec 145.01 Mt.

Dans les pays en développement, les rendements sont loin de satisfaire les besoins des populations (Guèye et *al.*, 2011), une bonne gestion de ces denrées pourrait contribuer à atteindre l'autosuffisance et la sécurité alimentaire (Waongo et *al.*, 2013).

En Algérie, les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire, de par l'importance des superficies occupées et de son rôle dans la sécurité alimentaire du pays. En effet, elles fournissent plus de 60% de l'apport calorifique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire (Djermoun, 2009; Righi-Assia et *al.*, 2019).

D'après le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural MADR (2022), le blé dur occupe une place privilégiée avec une production nationale de 148 062 quintaux pour la campagne 2020-2021. Le blé tendre se positionne en 2<sup>ème</sup> place avec 15 876 qx, l'orge vient en 3<sup>ème</sup> position avec 5 193 qx, puis l'avoine avec une faible production.

Malgré les innombrables initiatives prises de part et d'autre pour accroître la production et la disponibilité des produits céréaliers, elles restent insuffisantes ; la demande croissante en céréales et les conditions climatiques qui affectent la production, rendent l'Algérie dépendante du marché international (Nour, 2017).

De plus, des pertes post-récolte non négligeables sont enregistrées chaque année notamment dans les lieux de stockage des denrées alimentaires (Guèye et *al.*, 2011). Abass et *al.* (2014) rapportent que 15 à 25 % des récoltes sont perdues durant le stockage. Ces pertes pénalisent fortement la valeur marchande des productions et des produits stockés, créant des déficits qui sont comblés par des importations coûteuses des denrées alimentaires (Guèye et *al.*, 2011). Ces pertes sont dues à plusieurs facteurs dont les ennemis des denrées entreposées qui se classent en trois groupes principaux : les moisissures, les insectes et les rongeurs (De Groot, 2004).

D'après Cissokho et *al.* (2015), les pertes les plus importantes sont causées par les coléoptères et les lépidoptères. Plus de 600 espèces de coléoptères, 70 espèces de papillons de nuit et environ 355 espèces d'acariens sont répertoriées comme ravageurs des denrées entreposées en induisant des pertes qualitatives et quantitatives aux grains (Rajendran, 2002 ; Chang et *al.*, 2017) pouvant anéantir tout le stock (Ngamo et Hance, 2007). Dans les pays en développement, l'action des insectes est aggravée par les conditions climatiques favorables à leur développement et à l'application des techniques de stockage inappropriées, réduisant ainsi la qualité du grain et le rendant impropre à la consommation (Waongo et *al.*, 2013). De plus, l'activité métabolique des insectes favorise le développement des micro-organismes qui produisent des toxines allergisantes pour l'homme, c'est le cas du champignon du genre *Aspergillus* qui sécrète les aflatoxines (Lamboni et Hell, 2009; Jakubas-Zawalska et *al.*, 2016).

D'après Mason (1996), les grains de qualité marchande doivent être exempts d'insectes afin de se conformer aux normes phytosanitaires rigoureuses des principaux pays commerçants de céréales. En effet, la présence d'infestation par les insectes ou de résidus dans la majorité des magasins de céréales et des produits exportés est intolérable (Storm et *al.*, 2016).

Les insectes qui s'attaquent aux céréales dans les stocks sont classés en ravageurs primaires qui perforent le grain comme le charançon du riz *Sitophilus oryzae*, le charançon du grain *S. granarius* (Coleoptera : Curculionidae), l'alucite des céréales *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera : Tineidae), et en ravageurs secondaires qui se nourrissent des débris et des grains endommagés, complétant l'action des ravageurs primaires, comme le tribolium brun de la farine *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae), le tribolium rouge de la farine *T. confusum*, la pyrale indienne de la farine *Plodia interpunctella* (Lepidoptera : Pyralidae) et le silvain dentelé *Oryzaephilus surinamensis* Linnæus, 1758 (Coleoptera : Silvanidae).

D'après Delobel et Tran (1993), *O. surinamensis* est considéré comme étant l'un des ravageurs secondaires les plus importants dans les stocks à l'échelle mondiale. C'est un insecte cosmopolite, psychophage et synanthrope (Huchet, 2016). Il attaque les denrées alimentaires au stade larvaire et au stade adulte (Steffan, 1978). Cet insecte n'a pas la capacité d'endommager directement les grains sains, néanmoins, les larves sont très voraces et les adultes sont souvent prédateurs des larves d'autres ravageurs (Hachet, 2016). Sa petite taille et sa forme aplatie lui facilitent l'introduction dans les fissures des emballages

(Trematerra et *al.*, 2016). Très polyphage, il peut infester une très grande variété de denrées d'origine végétale, notamment le blé, l'avoine, l'orge, les graines de tournesol, les farines et produits dérivés, les fruits séchés, les arachides, le chocolat, la levure, le tabac et les viandes séchées (Klass et Raffensperger, 2012; Trematerra et *al.*, 2016; Tripathi, 2018; Nika et *al.*, 2020; Awadalla et *al.*, 2021). Ses puissantes pièces buccales masticatrices lui permettent de perforer les emballages de nourriture hermétiquement fermés, attiré par l'odeur des aliments (Klass et Raffensperger, 2012; Mallah et *al.*, 2016 ; Sahito et *al.*, 2017) provoquant ainsi des dégâts non négligeables (Mallamaire, 1967). Ils souillent les denrées et les rendent impropres à la consommation (Hachet, 2016). Le cycle de vie de cet insecte est marqué par une fécondité élevée, une courte période de développement et une importante capacité de migration. Il peut facilement se cacher dans divers endroits, échappant ainsi à l'effet des insecticides, d'où l'acquisition de résistance à plusieurs d'entre eux, ce qui rend sa lutte extrêmement difficile (Klys et Przystupinska, 2015).

Plusieurs moyens de lutte sont utilisés, mais le plus courant est la lutte chimique avec les organophosphorés, les pyréthriinoïdes, le phosphore d'aluminium et le bromure de méthyle (Delobel et Tran, 1993; Rajendran et Sriranjini, 2008). Malgré les avantages de cette méthode, efficacité, coût relativement faible, facilité d'utilisation, longue durée de protection (Cissokho et *al.*, 2015), elle présente plusieurs inconvénients dont la sélection de souches résistantes, la pollution de l'environnement (Venkidusamy et *al.*, 2018) et un fort potentiel cancérigène et mutagène (Ngamo et *al.*, 2016).

Ces inconvénients ont incité les chercheurs à envisager d'autres méthodes alternatives, notamment l'utilisation des plantes aromatiques, disponibles, riches en huiles essentielles, dotées de pouvoirs insecticides (Boukraa et *al.*, 2020) et connues pour être biodégradables et faiblement toxiques pour les mammifères (Rajendran et Sriranjini, 2008 ; Filomeno et *al.*, 2020).

Les plantes aromatiques ont montré leur toxicité au laboratoire contre de nombreux insectes ravageurs des denrées stockées, sous forme de poudres végétales (Kellouche et Soltani, 2004 ; Abraz, 2015), d'extraits aqueux (Kassimi et *al.*, 2017) et d'huiles essentielles (Khelfane-Goucem et *al.*, 2016; Lamara Mahamed, 2020; Aissaoui et *al.*, 2021; Badji et *al.*, 2021; Taleb-Toudert et Kellouche, 2021; Sriti et *al.*, 2023). Ces substances ont été testées par répulsion (Garcia et *al.*, 2019; Kheloul et *al.*, 2019; Boukraa et *al.*, 2022; Laoudi et *al.*, 2023), par contact (Filomeno et *al.*, 2020), pour leur actions ovicide (Muturi et *al.*, 2018; Kheloul,

2021), larvicide (Bouchikhi Tani et *al.*, 2018; Bouabida et Dris, 2020; Nkouandou et *al.*, 2020) et dissuasive de la ponte (Isman et Machial, 2006).

Les huiles essentielles ont également une longue tradition d'utilisation dans la protection des produits stockés comme pesticides en agriculture biologique notamment sous forme de fumigants dans des conteneurs fermés (Koul et *al.*, 2008). En raison de leur volatilité et leurs pertes par évaporation, elles ne peuvent être appliquées sur les champs (Isman, 2016). Elles sont caractérisées par une faible rémanence par rapport aux insecticides de synthèse et l'absence de résidus dans les denrées traitées (Cissokho et *al.*, 2015). De plus, le développement de résistance aux pesticides à base d'huiles essentielles est plus lent par rapport aux pesticides chimiques en raison des mélanges complexes de leurs constituants (Koul et *al.*, 2008).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui s'intéresse d'abord à étudier la biologie de l'un des ravageurs des produits stockés, le silvain dentelé *O. surinamensis*, sur trois substrats alimentaires (la semoule, les farines d'avoine et de riz), puis à évaluer la toxicité de six huiles traitement (le faux poivrier *Schinus molle*, le cyprès vert *Cupressus sempervirens*, la menthe poivrée *Mentha piperita*, la lavande aspic *Lavandula latifolia*, le basilic tropical *Ocimum basilicum* var. *basilicum* et la mixture de *M. piperita* et d'*O. basilicum*) sur les adultes de cet insecte par fumigation et par répulsion. Enfin, l'une de ces huiles essentielles à savoir *L. latifolia* a été testée sur un modèle animal, la souris blanche, afin d'évaluer son effet sur le comportement et l'histologie de quelques organes.

Pour ce faire, nous avons organisé notre travail en six chapitres, dans les trois premiers nous présentons une revue bibliographique sur l'insecte ravageur, des généralités sur les huiles essentielles et sur leur toxicité, respectivement. Le quatrième chapitre porte sur l'identification de l'insecte, la mensuration des individus de différents stades de vie et l'influence de trois substrats trophiques sur quelques paramètres biologiques de ce ravageur. Cette partie nous permettra de récolter des informations sur la préférence alimentaire de l'insecte afin de mieux maîtriser sa biologie.

Le cinquième chapitre s'intéresse à l'évaluation de la toxicité de cinq huiles essentielles et la combinaison de deux d'entre elles, par fumigation et par répulsion, à l'égard des adultes d'*O. surinamensis*.

Le dernier chapitre porte sur les essais de toxicité de l'huile essentielle de la lavande aspic sur un modèle animal de laboratoire, la souris blanche *Mus musculus*, par voie orale (en variant le temps d'exposition), intrapéritonéale (en variant la dose) et par inhalation. Les aspects abordés sont l'étude neurocomportementale de ce traitement complétée par une étude histologique de trois organes.

Enfin, nous clôturons cette présente étude par une conclusion générale et des perspectives de recherche pour les travaux futurs.

*Première partie*  
*Revue bibliographique*

*Chapitre I*  
*Présentation de l'insecte*  
*ravageur*

## 1. Introduction

Les coléoptères associés aux denrées stockées comprennent 399 espèces appartenant à 38 familles (Lepesme, 1944) dont un nombre très restreint est à l'origine des pertes les plus importantes constatées dans les silos (Huchet, 2016).

Ces insectes sont répartis en trois catégories : les ravageurs primaires, se développent à l'intérieur du grain et se nourrissent de l'endosperme, ce sont les espèces les plus fréquentes et les plus nuisibles, c'est le cas de quelques espèces cléthrophages hyper-spécialisées comme *Sitophilus* sp. Les ravageurs secondaires vivent des débris et des grains déjà entamés par les ravageurs primaires, ils se développent à l'extérieur du grain. Les espèces tertiaires, mycétophages, consomment les moisissures présentes sur les grains endommagés (Huchet, 2016).

Delobel et Tran (1993) affirment qu'*O. surinamensis* est l'un des deux insectes les plus nuisibles aux produits céréaliers à côté du tribolium rouge de la farine (*Tribolium castaneum*) (Coleoptera: Tenebrionidae).

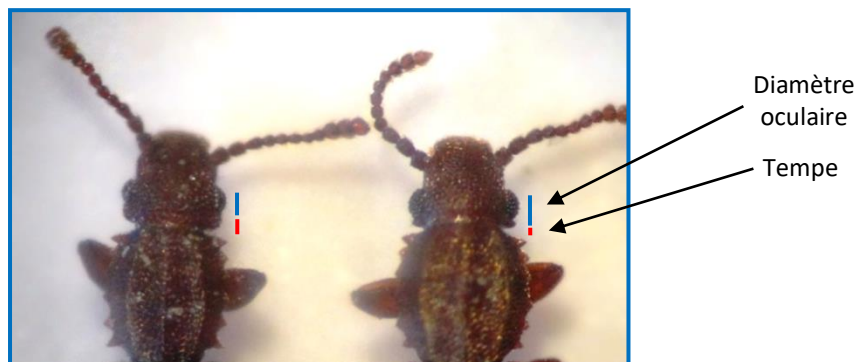
Dans les pays développés, la présence d'insectes ou de leurs débris dans les denrées alimentaires est intolérable, elle diminue la valeur marchande des produits commercialisés (Trematerra et al., 2011).

## 2. Caractères généraux des Silvanidae

Les Silvanidae, famille de coléoptères appelée dans le passé Cucujidae, comptent un peu plus de 200 espèces détriticoles et corticoles dont la plupart fréquentent les produits stockés humides et peuvent être considérées comme des indicateurs d'un stockage imparfait. Les zones tropicales humides abritent une grande diversité d'espèces dont quelques-unes seulement ont pu s'établir sous des climats plus frais (Delobel et Tran, 1993). Les Silvanidae sont généralement de petite taille (1.2 à 15mm), bruns, aplatis, pubescents et densément ponctués, leur formule tarsale est de 5-5-5. Les antennes sont courtes, en massues ou très allongées. Ils ont généralement des rainures ou des sillons sur la tête ou le pronotum dont les bords latéraux sont dentés à faiblement dentés chez de nombreux genres. La famille est divisée en deux sous-familles, les Brontinae et les Silvaninae (Halstead, 1993).

Douze (12) espèces du genre *Oryzaephilus* sont associées aux produits stockés, les deux les plus importantes sont *O. surinamensis* et *O. mercator* (Fauvel) (Delobel et Tran, 1993).

Pendant longtemps, une certaine confusion a prévalu dans la taxonomie d'*Oryzaephilus* où *O. mercator* a été considérée comme une variété d'*O. surinamensis* et non une espèce distincte (Komson, 1967). Toutefois, ces deux espèces sont morphologiquement très proches mais se distinguent par la dimension des yeux et la conformation de la région post-oculaire (tempe) (Figure 1).



**Figure 1.** Distinction entre le silvain dentelé et le cucujide des grains, à gauche, *O. surinamensis*, à droite, *O. mercator* (G 40×2) (Originale, 2023)

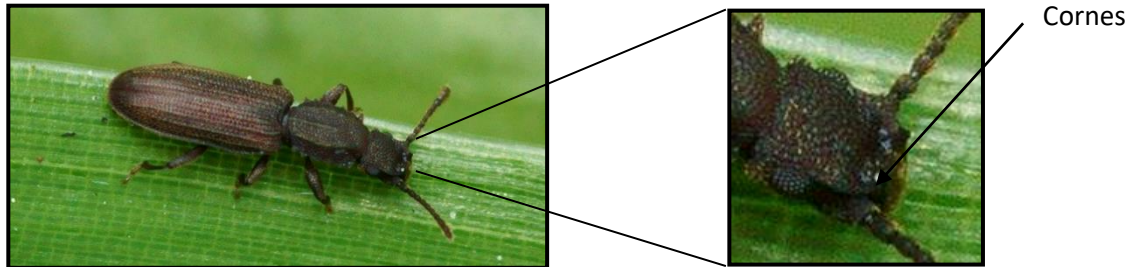
### 3. Présentation du silvain dentelé

*Oryzaephilus surinamensis* est une espèce cosmopolite, psychophage et synanthrope (Huchet, 2016), elle a été découverte pour la première fois à Surinam (Guyane néerlandaise) par Linné en 1758, d'où son nom « surinamensis » (Komson, 1967). D'après Delobel et Tran (1993), c'est un ravageur secondaire à importance économique mondiale qui se développe surtout sur les céréales. Dans les milieux mal adaptés (oléagineux), la larve devient prédatrice d'autres insectes ou saprophyte. La forme aplatie d'*O. surinamensis* lui permet de pénétrer dans les emballages de nourriture hermétiquement fermés, attirés par l'odeur des aliments (Klass et Raffensperger, 2012 ; Sahito, 2017), grâce à ses puissantes pièces buccales masticatrices (Mallah et al., 2016). L'infestation des produits emmagasinés se produit essentiellement au grenier et dans les locaux domestiques, mais parfois elle est capturée dans la nature, sous l'écorce des arbres ou dans les glands de *Quercus* sp. (Delobel et Tran, 1993 ; Halstead 1993).

D'après Halstead (1993), trois souches d'*O. surinamensis* ont été décrites :

- **Petite souche (Small strain) :** 1.7 à 2.9 mm de longueur (moyenne 2.2 mm), c'est une souche de l'Extrême-Orient ;
- **Souche normale (Normal strain) :** 2.1 à 3.2 mm de longueur (moyenne 2.7 mm). Ashman et Higgs (1968) l'ont classé dans la catégorie « souche normale », alors qu'Aitken (1966) l'a classée dans la catégorie « souche grande »;

- ❁ **Souche cornue (Horned strain) :** souche à cornes, représentée par la var. *bicornis* (Erichson), 2.2 à 3.3 mm de longueur, caractérisée par la présence d'un repli en forme de croissant du côté du clypeus (Figure 2 et 7C).



**Figure 2.** *Oryzaephilus surinamensis* var. *bicornis* (3.1×0.85 mm) (Gros, 2014)

### 3.1. Position systématique

Selon Delobel et Tran (1993), le silvain dentelé occupe la position systématique suivante :

Règne :	Animalia
Embranchement :	Arthropoda
Classe :	Insecta
Ordre :	Coleoptera
Famille :	Silvanidae
Genre :	<i>Oryzaephilus</i>
Espèce :	<i>O. surinamensis</i> Linné, 1758 (Ganglbauer, 1899)

**Nom commun:** silvain, cucujide dentelé (sawtoothed grain beetle).

### 3.2. Origine et distribution géographique

La plus ancienne découverte d'*O. surinamensis* est un spécimen carbonisé provenant du site Néolithique de Mandalo (4340 à 4450 avant J.C.) en Macédoine (Grèce) (Valamoti et Buckland, 1995). Cet insecte a été trouvé également dans la nourriture déposée dans la tombe de Toutankhamon en Egypte datant de 1345 avant J.C. (Delobel et Tran, 1993). Plus récemment, il a été trouvé sur le site de l'époque byzantine d'En Gedi (Palestine) associé à des dattes (*Phoenix dactylifera*) (Melamed et Kislev, 2005).

Les populations du silvain dentelé sont répandues et se multiplient rapidement sous les tropiques et sont continuellement introduites par le commerce vers les pays tempérés (Howe, 1956 ; Halstead, 1993). C'est l'un des ravageurs les plus importants des dattes à la fois en

conditionnement, sur le terrain et en lieux de stockage. Son aire de distribution comprend l'Algérie, la Tunisie, l'Égypte, le Soudan, le Niger, les Emirats Arabes Unis, l'Arabie Saoudite, la Jordanie, l'Irak, l'Iran et le Pakistan (Komson, 1967 ; Al Deeb, 2012 ; Sahito, 2017 ; Kousar et *al.* 2021). Sa présence a été également signalée en Italie, en France, en Hollande, au Royaume-Uni, en Australie et aux États Unis d'Amérique (Komson, 1967; Huchet, 2016).

### 3.3. Développement

*Oryzaephilus surinamensis* passe par 4 stades de développement qui sont :

#### 3.3.1. Œuf

L'œuf mesure 0.81 mm de longueur et 0.26 mm de largeur (Komson, 1967). Il est transparent à blanchâtre, brillant, de forme ovale allongée avec une coquille lisse ; fraîchement pondus, il est recouvert d'une substance visqueuse. Les œufs sont pondus isolement ou en petit amas et s'aplatissent avant l'éclosion (Figure 3) (Halstead, 1993).



**Figure 3.** Œuf d'*O. surinamensis* (G 40×2) (Hammoutene et Ben Ouarab, 2022)

#### 3.3.2. Larve

La larve est vermiforme, dynamique, pourvue de pattes et d'antennes à deux articles, le second portant un organe papilliforme (vestige d'un troisième article). Il y a trois à cinq stades larvaires (généralement quatre). A maturité, la larve (mesurant 2.5 à 3 mm) est blanche à jaune pâle, subcylindrique, légèrement élargie en arrière montrant deux taches brunes à la face dorsale de chaque segment. Les ocelles ne sont pas groupés en taches distinctes. Les segments thoraciques (2 à 7) sont à plaque dorsale portant 4 longues soies au bord postérieur. Le dernier tergite abdominal porte deux tubercules. La larve du dernier stade tisse un cocon de soie pour se nymphoser (Figure 4) (Delobel et Tran, 1993).



**Figure 4.** Larve d'*O. surinamensis*, vue dorsale (G 40×2) (Hammoutene et Ben Ourab, 2022)

### Nymphe

La nymphe mesure en moyenne 2.33 mm de longueur et 0.68 mm de largeur (Figure 5) (Komson, 1967), elle est resserrée, de couleur blanche au début puis se pigmente et se kératinise en prenant la forme de l'adulte ; au bout de quelques jours, le nouvel adulte de couleur marron clair émerge (Kousar et *al.*, 2021).



**Figure 5.** Nymphe d'*O. surinamensis*, vue ventrale (G 40×2) (Originale, 2023)

### 3.3.3. Adulte

L'adulte est de couleur brun foncé luisant, à pilosité dorée (des mutants de couleur noire existent) ; le corps est aplati, de forme élancée et pourvu de longues soies fourchues (Figure 6) (Delobel et Tran, 1993).

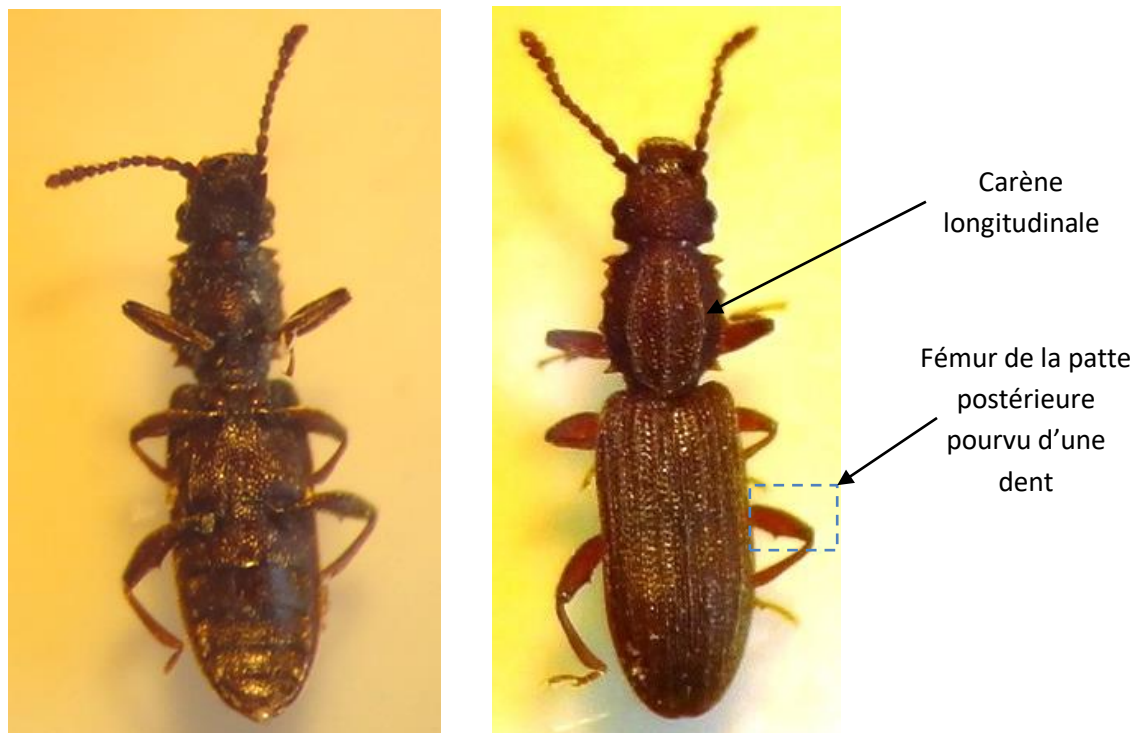
La tête, de forme triangulaire, est large et porte deux petits yeux. *Oryzaephilus surinamensis* se distingue d'*O. mercator* par la dimension des tempes, généralement égale à la

moitié de la longueur de l'œil, et par le diamètre oculaire, inférieur à celui d'*O. mercator* et par sa petite taille (Figure 1 ; Figure 7A, B, H et I). Les antennes, filiformes et terminées en une massue très peu différenciée, sont utilisées pour certaines activités comportementales (Halstead, 1993).

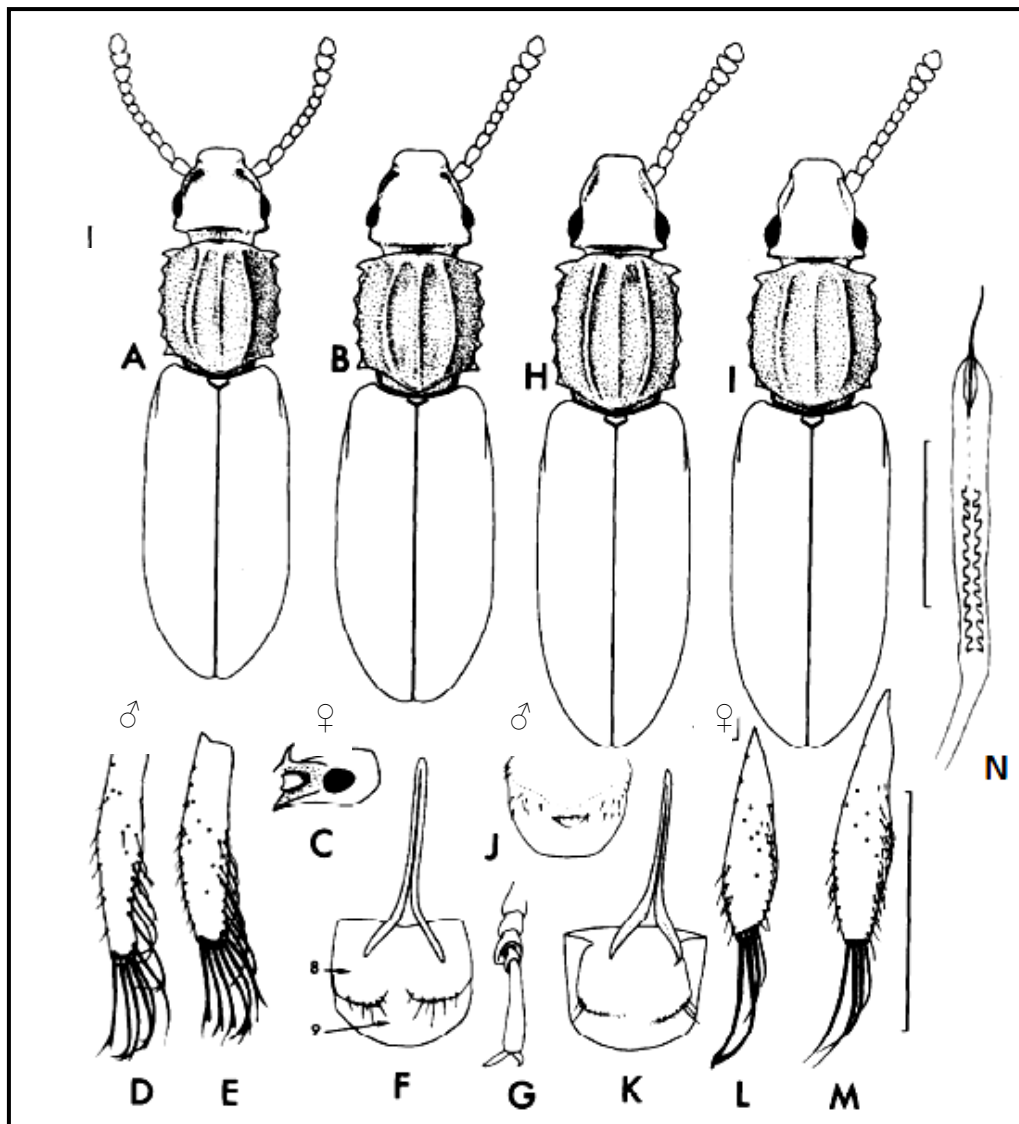
L'organe génital mâle est muni d'un sac interne denté, portant à son extrémité un canal d'éjaculation (Figure 7N et Annexe 1), des paramères à bords presque parallèles pourvus de longues soies fourchues le long de la marge externe et de l'apex (Figure 7D et E) et de deux sternites dont le 8<sup>ème</sup> est généralement pourvu de 4 soies sur chaque plaque (Figure 7F) (Halstead, 1993).

Le pronotum porte latéralement 6 dents de chaque côté, d'où leur nom « dentelé » (Huchet, 2016), qui est divisé, par 3 fines carènes longitudinales, en quatre zones de même largeur, les deux zones médianes approfondies, les externes descendant jusqu'au bord latéral (Figure 6). Le tarse est divisé en 4 segments, petits et étroits, liés au 5<sup>ème</sup> qui est long (Figure 7G) (Halstead, 1980).

Il existe un dimorphisme sexuel, le mâle se distingue par la présence d'une dent sur le côté antérieur du fémur des pattes postérieures (Figure 6) (Kousar et al., 2021), il mesure en moyenne 2.64 mm et pèse 0.43 mg, la femelle mesure 2.75 mm et pèse 0.52 mg (Komson, 1967). L'adulte est très actif mais vole rarement (Multon, 1982; Delobel et Tran, 1993).



**Figure 6.** Adulte d'un mâle d'*O. surinamensis*, à gauche vue ventrale, à droite vue dorsale (G 40×2) (Originale, 2023)



**Figure 7.** Caractères distinctifs entre le silvain dentelé et le cucujide des grains, appareil génital mâle

*O. surinamensis* (A-F et N): A et B, mâle et femelle, vues dorsales, C, tête de var. *bicornis*, vue latérale, D, paramère, forme normale, E, paramère du variant, F, 8<sup>ème</sup> et 9<sup>ème</sup> sternites abdominaux, G, tarse, N, sac interne. *O. mercator* (H-M): H et I, mâle et femelle, vues dorsales, élargissement de l'apex des élytres; J, lobe médian, K, 8<sup>ème</sup> et 9<sup>ème</sup> sternites abdominaux, L, paramère, forme normale et M, paramère du variant. Echelle: A-C et H-I=2 mm, D-F et J-N=0.2 mm (Halstead, 1993).

### 3.4. Biologie de l'insecte

Durant sa vie, la femelle d'*O. surinamensis* peut pondre jusqu'à 375 œufs, avec une moyenne journalière de 6 à 10 œufs pendant plusieurs mois (Howe, 1956). La fertilité des œufs peut atteindre 95% et à forte densité, la fécondité des femelles est réduite de moitié (Howe, 1956 ; Delobel et Tran, 1993).

La ponte diffère selon le substrat et est proportionnelle au taux d'humidité, ainsi sur l'avoine, à une température de 30°C et pour un taux d'HR de 20; 50 et 80%, le nombre d'œufs

pondus est de 32; 257 et 422 œufs, respectivement (Curtis et Clark, 1974). La pré-oviposition est de 3 à 8 j, souvent 5 j, entre 30 et 33°C (Howe, 1956 ; Komson, 1967). L'oviposition dure 2 à 5 mois (Komson, 1967).

La température optimale pour le développement d'*O. surinamensis* est de 30°C à 35°C à 70 à 90% d'HR (caractéristique des espèces des climats chauds) pour une durée de développement de 20 j (Delobel et Tran, 1993). Pour Halstead (1993), la température maximale à laquelle l'insecte peut se développer est de 37.5°C.

La longévité des adultes est généralement de six à dix mois (Klass et Raffensperger, 2012). Selon Delobel et Tran (1993), certains individus peuvent vivre jusqu'à trois ans.

### 3.5. Dégâts occasionnés

*Oryzaephilus surinamensis* se montre très polyphage, s'attaque à toutes les céréales, sons, farines, produits dérivés, fruits séchés, tapioca, arachides, noix, copra, sucre, bonbons, levure, etc. (Trematerra et al., 2016; Tripathi, 2018; Nurul et Noor, 2019). Il provoque des dégâts non négligeables, creusant des trous sur certaines céréales (Tripathi, 2018) et laissant des souillures, liées à ses activités, rendant ainsi les denrées infestées inconsommables (Figure 8) (Huchet, 2016). D'après Trematerra et Sciarretta (2004), l'infestation par l'insecte diminue la qualité des aliments et affecte fortement leur valeur marchande. La larve réduit sévèrement les acides aminés essentiels, les lipides polaires et non polaires, les phospholipides, la méthionine, les galactolipides, la lysine et l'isoleucine.

En effet, le type d'aliment et la valeur nutritionnelle agissent sur la préférence alimentaire, par conséquent, sur les denrées ciblées par l'insecte (Astuti et al., 2018). Les adultes détectent les composés volatils libérés par les substrats grâce aux récepteurs situés sur leurs antennes et sont guidés vers leur hôte (Awadalla et al., 2021).

De plus, par ses sécrétions et ses excréments, les denrées infestées par le silvain dentelé provoquent des réactions allergiques chez l'homme ce qui amène à un véritable problème potentiel de santé publique (Jakubas-Zawalska, 2016).

*Oryzaephilus surinamensis* cause fréquemment des nuisances et des dégâts considérables, surtout à la fin de l'été. Les dégâts les plus apparents s'illustrent par la présence des cadavres d'adultes et des exuvies larvaires (Figure 8) (Howe, 1956).

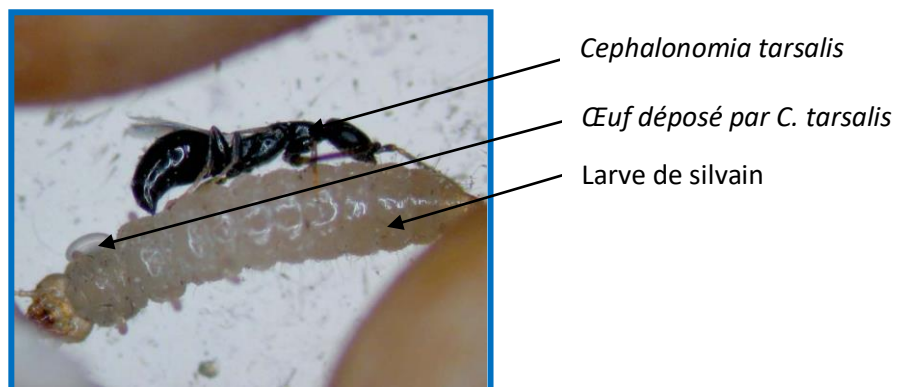


**Figure 8.** Semoule saine (à gauche), semoule infestée par le silvain dentelé (à droite)  
(Originale, 2023)

### 3.6. Ennemis naturels

*Cephalonomia tarsalis* (Hymenoptera: Bethyridae) est l'ectoparasitoïde larvaire principal d'*O. surinamensis* et occasionnellement d'*O. mercator*. C'est une petite guêpe solitaire ptérygote, de 1.6 à 2 mm de long, de couleur noire dont les tibias et les tarsi sont jaunâtres. *Cephalonomia tarsalis* localise son hôte grâce à des substances « kairomones » émises par son hôte au niveau de la cuticule de l'adulte et dans ses fèces et par les larves qui en laissent des traces sur les grains. Le parasitoïde paralyse la larve hôte par son aiguillon avant de pondre un à deux œufs sur ses segments thoraciques (Figure 9). Les larves émergées dévorent leur hôte avant de se nymphoser (Maughan, 2012 ; Eliopoulos, 2019).

D'autres espèces d'insectes parasitent occasionnellement *O. surinamensis*, c'est le cas de *Holepyris sylvanidis* (Hymenoptera : Bethyridae) et de *Xylocoris cursitans* (Hemiptera : Anthocoridae) (Maughan, 2012).



**Figure 9.** Femelle de *Cephalonomia tarsalis* paralysant une larve de silvain (Maughan, 2012)

#### 4. Moyens de lutte

Les méthodes préconisées dans la lutte contre les insectes ravageurs des denrées stockées sont soit préventives, utilisées avant l'installation des ravageurs, ou curatives, appliquées une fois les stocks sont infestés.

La lutte préventive consiste en la prise de mesures d'hygiène des locaux de stockage, l'entretien des installations de manutention et des machines de récolte, la désinsectisation de l'entrepôt et de la sacherie vides, suivie d'un séchage des grains (Scotti, 1978 cité par Kellouche, 2005). La conservation des graines dans des emballages résistants ; des sacs en plastique simple ou en double sont efficaces contre les larves et les adultes de certaines espèces (Waongo et *al.*, 2019).

Lorsque les mesures de prévention n'aboutissent pas et que les stocks sont infestés, les mesures curatives deviennent alors obligatoires. Parmi ces méthodes, la lutte physique qui consiste, entre autre, à exposer les insectes à une température de 55°C durant une heure afin de détruire à la fois les œufs, les larves et les adultes (Shahein, 1991). De même, un courant d'air frais provoque des perturbations physiologiques, un abaissement du métabolisme et une déshydratation des cellules suivie d'une mort imminente des insectes (Lee et *al.*, 2003). Selon Benkhellat (2002), certains insectes ne se développent pas et ne se nourrissent pas aux températures inférieures à 10°C, ils finissent alors par périr.

Le rayonnement IR tue les adultes d'*O. surinamensis* et ceux de *T. confusum*, au bout de quatre secondes, sans altérer la valeur organoleptique des denrées alimentaires traitées (Athanassiou et *al.*, 2017). D'après Gwinner et *al.* (1996), la radiosensibilité des ravageurs varie selon les espèces, les stades les plus sensibles sont les œufs et les larves. Ce moyen semble être efficace mais exige un personnel qualifié et des structures de stockage adaptées pour éviter d'exposer les opérateurs et les consommateurs au danger (Kellouche, 2005). D'autres méthodes physiques sont utilisées dans les silos de stockage comme l'atmosphère confinée de gaz : le CO<sub>2</sub>, l'azote et l'ozone (Abdelfattah, 2021; Hashem et *al.*, 2021).

La lutte chimique est le moyen le plus couramment utilisé par l'application d'insecticides classés en deux groupes : ceux à action immédiate, représentés par les composés organiques de synthèse comme les pyréthrinoïdes organochlorés et les fumigants comme le bromure de méthyle et phosphore d'hydrogène (Park et *al.*, 2003). L'autre groupe concerne ceux qui persistent sur les denrées et agissent au cours d'une période plus ou moins

prolongée, ce sont les insecticides de contact organochlorés et les carbamates comme le ® Lindin (Jayakumar et al., 2017).

Bien qu'ils soient très efficaces, les pesticides de synthèse peuvent poser de sérieux problèmes pour la santé des utilisateurs et des consommateurs, ils induisent la sélection de souches résistantes à certaines molécules, la perturbation du contrôle biologique et celui de l'écosystème (Amiri et al., 2016). De ce fait, la recherche d'alternatives à faible répercussion écologique est nécessaire en faisant appel à des méthodes biologiques diverses (Guèye et al., 2011).

La lutte biologique est un moyen qui inclut l'utilisation des ennemis naturels des ravageurs tels que les prédateurs et les parasitoïdes ou agents pathogènes ainsi que les produits naturels d'origine minérale ou végétale (Seck, 1991).

L'hyménoptère *C. tarsalis* est un auxiliaire utilisé dans la lutte biologique contre *O. surinamensis*, c'est son parasitoïde larvaire de prédilection. Sa reproduction en conditions contrôlées a été bien réussie (Maughan, 2012). En absence de son hôte, *C. tarsalis* parasite d'autres insectes des stocks, comme le cucujide roux *Cryptoles ferrugineus* (Coleoptera : Lemophleidae) ou le charançon du riz *S. oryzae* (Maughan, 2012 ; Eliopoulos, 2019). De même, la punaise polyphage *Xylocoris flavipes* (Hemiptera : Lyctocoridae), prédateur spécifique du grand capucin des grains, *Prostephanus truncatus*, et les Trichogrammatidae parasites oophages de Bruchidae sont aussi efficaces dans la lutte biologique (Delobel et Tran, 1993).

De nombreux nématodes, bactéries, champignons et virus s'attaquent aux arthropodes et peuvent être aussi employés dans la lutte contre les ravageurs des produits stockés (Cock et al., 2016; Hajek et al., 2020). D'après Schnepf et al. (1998), *Bacillus thuringiensis* est une bactérie ubiquiste Gram positive qui produit des cristaux parasporaux qui sont des endotoxines à activités larvicide et adulticide des coléoptères, lépidoptères et diptères.

La lutte contre les pathogènes et les ravageurs s'appuie également sur les principes de la coévolution entre les plantes et leurs agresseurs. Des gènes de protéines résistant aux agresseurs sont isolés et clonés grâce aux techniques du génie génétique et de nombreux cultivars résistant aux bactéries, virus, champignons, nématodes et même des insectes sont obtenus et cultivés (Durand-Tardif et Pelletier, 2003; Koul et al., 2008).

Les plantes produisent des substances, appelées métabolites secondaires, qui ont un rôle important dans la défense contre les déprédateurs. Certains de ces composés sont des

régulateurs de la croissance des insectes ayant des propriétés pesticides, répulsives et anti-appétantes contre les insectes (Seck, 1991 ; Manzoor et *al.*, 2011). Ainsi, le baume, *Ageratum conyzoides* (Astéracées), synthétise des substances « précocènes » qui agissent sur les glandes endocrines des agresseurs inhibant la production d'hormone juvénile, ce qui provoque l'atrophie et la stérilité des adultes. De même, les graines de margousier *Azadirachta indica* (Méliacées) produisent une huile contenant de l'azadirachtine qui provoque un arrêt de la croissance et la mort des larves du ravageur (Huignard, 2013).

D'autres produits naturels d'origine végétale sont testés au laboratoire sous plusieurs formes : extraits aqueux, poudres végétales et huiles essentielles. L'utilisation de ces substances comme biopesticides présente un avantage par rapport aux produits phytosanitaires, du fait qu'elles sont caractérisées par leur faible rémanence, leur faible toxicité pour l'Homme et par leur mode d'action sur les ravageurs. Elles affectent la croissance, la mue, la fécondité et le développement de l'insecte (Miresmailli et *al.*, 2006; Lubbe et Verpoorte, 2011).

Au final, afin de limiter les dégâts causés aux denrées stockées, une lutte intégrée est nécessaire, elle consiste en la mise en place d'une stratégie de gestion saine, efficace et durable des stocks. Elle peut inclure la prise de mesures d'hygiène par l'éradication d'insectes dans les silos avant la nouvelle récolte; le contrôle permanent du stockage prolongé; la mise en œuvre des méthodes physiques de prévention, l'application de mesure curative par gazage en cas de risque du dépassement du seuil de nuisibilité économique (Fleurat-Lessard, 2018), l'utilisation des sacs en plastiques simple ou en double couche pour une conservation post récolte est aussi préconisée, le criblage variétal et l'utilisation du stockage en atmosphère confinée (Waongo et *al.*, 2019). Les plantes à effets insecticides et les substances inertes (sable, cendre, terres à diatomées, nanoparticules de silicate, *etc.*) ainsi que les entomopathogènes peuvent constituer une alternative aux pesticides de synthèse. Pour cela, beaucoup de recherches actuelles s'orientent vers les investigations de leur potentiel biocide ou de biocontrôle afin d'entreprendre une lutte raisonnée et efficace (Ciesla et Guery, 2014 ; Cissokho et *al.*, 2015; Zahran et Sayed, 2021).

*Chapitre II*  
*Généralités sur les huiles*  
*essentielles*

## 1. Introduction

Les huiles essentielles ont été utilisées depuis des siècles comme parfums, arômes, condiments ou épices, dans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique, dans l'homéopathie et l'aromathérapie ainsi que dans la lutte antiparasitaire (Isman et Machial, 2006).

Elles sont généralement obtenues par distillation à la vapeur de plantes aromatiques (Koul et *al.*, 2008) ; les huiles essentielles de nombreuses espèces sont disponibles en abondance toute l'année et leurs principaux constituants sont bien caractérisés (Isman et Machial, 2006).

La caractérisation des huiles essentielles a montré qu'elles sont composées d'un mélange complexe de substances volatiles présentes, généralement, à de très faibles concentrations dans les végétaux supérieurs aromatiques (Chemat et Lucchesi, 2005).

A l'échelle mondiale, 17500 espèces de plantes aromatiques sont recensées et sont réparties dans un nombre limité de familles, certaines sont particulièrement riches en espèces productrices d'huiles essentielles comme les Myrtaceae, les Lauraceae, les Rutaceae, les Lamiaceae, les Asteraceae, les Apiaceae, les Cupressaceae, les Poaceae, les Zingiberaceae et les Piperaceae (Bruneton, 2008).

D'après Mabou et *al.* (2021), un grand nombre de ces plantes aromatiques sont impliquées dans les mécanismes de défense contre les déprédateurs.

## 2. Définition et localisation

Les huiles essentielles sont par définition toutes huiles volatiles ayant des composants aromatiques puissants et qui donnent une odeur forte, une saveur ou un parfum distinctif à une plante (Koul et *al.*, 2008). Ce sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Cseke et *al.*, 2006 ; Mabou et *al.*, 2021).

D'après Smadja (2009), l'appellation « Huile » est due au caractère visqueux et hydrophobe, «Essentielle » est due au caractère principal typique de la fragrance.

Ces substances sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des structures anatomiques particulières (cellules, poils, poches, canaux) sous forme de gouttelettes de liquide (Bruneton, 2001). Elles peuvent être stockées

dans différents organes à des concentrations variables selon la plante, soit dans les sommités fleuries (bergamotier), les feuilles (citronnelle, eucalyptus), les fleurs (clou de girofle), les écorces (cannelier), les bois (bois de rose, santal), les racines (vétiver, angélique), les rhizomes (curcuma, gingembre), les fruits (anis, badiane) et les graines (muscade) (Bruneton, 2008). La teneur en huile essentielle de la plupart des plantes est de 1 à 2%, mais dans certains végétaux elle peut atteindre 21% (clou de girofle) (Teuscher et *al.*, 2005). Leur composition est conditionnée par l'origine géographique, le chimiotype et le procédé d'obtention, la saison et l'âge de la plante (Chang et *al.*, 2017 ; Lal et *al.*, 2021 ; Pandey et *al.*, 2021 ; Aissaoui, 2022).

### 3. Rôle et propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être utilisées directement comme agents thérapeutiques pour soigner différentes pathologies (digestives, infectieuses, *etc.*) en faisant appel à leurs propriétés antimicrobienne, anti-infectieuse, antalgique, sédative et antispasmodique (Hamid et *al.*, 2011; Attou et *al.*, 2017; Asili et *al.*, 2021; Sriti et *al.*, 2023). Elles possèdent également des propriétés cytotoxiques employées comme des antiseptiques et désinfectants pour combattre les maladies infectieuses bactérienne ou fongique (Guinoiseau, 2010; Mahendran et Rahman, 2020; Argui et *al.*, 2021; Reboredo-Rodriguez et Varela-Lopez, 2021). L'activité antioxydante des huiles essentielles est exploitée dans la lutte contre le stress oxydatif qui est impliqué dans certaines maladies dégénératives comme les cancers, les accidents vasculaires cérébraux, l'arthrose, la maladie d'alzheimer et celle de parkinson (Reboredo-Rodriguez et *al.*, 2007; Attou et *al.*, 2017 ; Paw et *al.*, 2020).

Dans les domaines phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles sont employées comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes inféodés aux produits alimentaires (Dubey et *al.*, 2011). Elles contribuent également à la fabrication de nombreux produits agroalimentaires comme les arômes (boissons, yaourts, *etc.*), la parfumerie, le cosmétique, la fabrication des adhésifs (colle, scotch, *etc.*) et dans des formulations insecticides (El Haib, 2011 ; Filomeno et *al.*, 2020 ; Paw et *al.*, 2020 ; Pandey et *al.*, 2021).

Ces substances interviennent aussi dans l'équilibre des écosystèmes et jouent un rôle écologique dans les interactions plantes-plantes et plantes-animaux par l'émission de substances impliquées dans différentes fonctions, adaptation, reproduction, défense et

communication chimique (Koul et *al.*, 2008; Cseke et *al.*, 2006 ; Martinelli, 2020 ; Mabou et *al.*, 2021).

#### 4. Composition des huiles essentielles

Selon Bruneton (2008), les constituants des huiles essentielles appartiennent exclusivement à deux groupes : les terpènes ou terpénoïdes (monoterpènes, sesquiterpènes) et les composés aromatiques dérivés phénylpropaniques.

##### 4.1. Terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels dont la molécule de base est l'isoprène de formule  $C_5H_8$  (Figure 10). Ils peuvent être subdivisés en groupes acycliques de structure linéaire à chaîne ouverte ou cyclique formant un anneau (Annexe 2 et 3).

Le nombre d'unités isopréniques engagées dans la formation d'un composé permet un classement de ces substances en : hémiterpènes ( $C_5H_8$ ), monoterpènes ( $C_{10}H_{16}$ ), sesquiterpènes ( $C_{15}H_{24}$ ), diterpènes ( $C_{20}H_{32}$ ), triterpènes ( $C_{30}H_{48}$ ), tétraterpènes ( $C_{40}H_{64}$ ), et polyterpènes  $(C_5H_8)_n$  (Mabou et *al.*, 2021).

Les monoterpènes et sesquiterpènes sont les principaux constituants de nombreuses huiles essentielles qui peuvent en contenir jusqu'à 80% ou plus (Koul et *al.*, 2008).

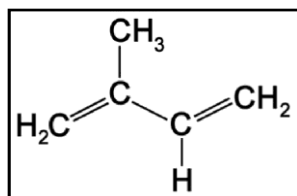


Figure 10. Structure d'une unité isoprène

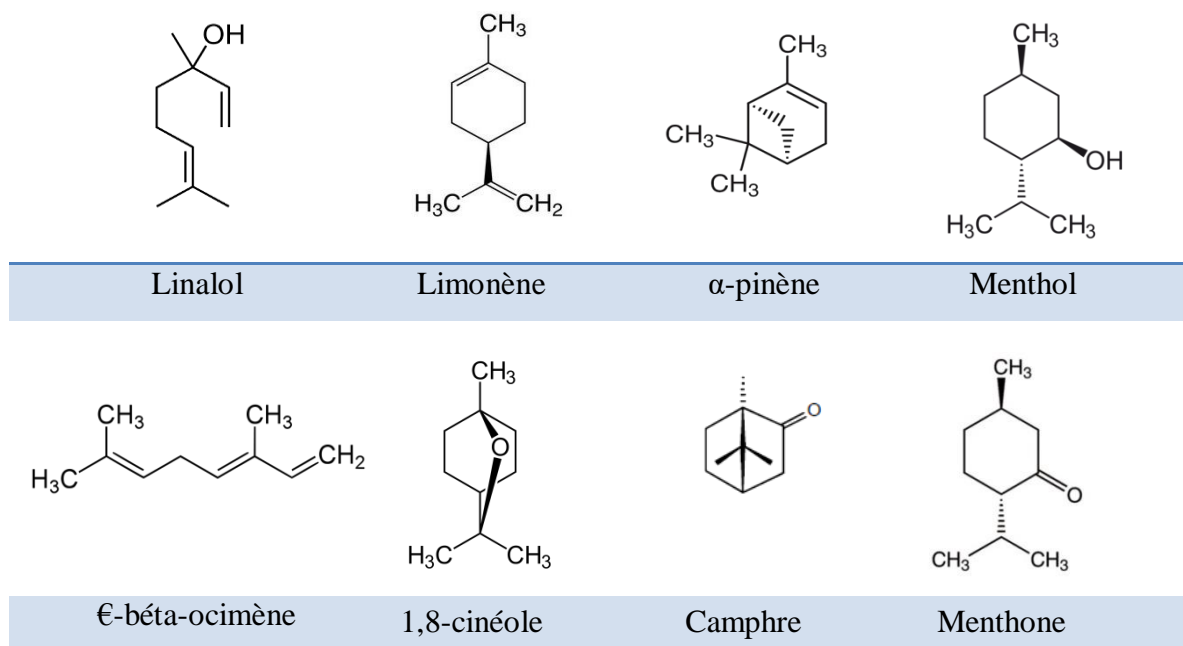
##### 4.1.1. Hémiterpènes

Les hémiterpènes ( $C_5$ ) sont les plus simples de tous les terpènes, ils sont émis par les feuilles de nombreuses plantes et contribuent à la brume naturelle (smog phyto-chimique). Ces composés peuvent contribuer dans la défense des plantes en repoussant les herbivores ou en attirant les pollinisateurs, les déprédateurs et les parasites (Cseke et *al.*, 2006).

##### 4.1.2. Monoterpènes

Les monoterpènes ( $C_{10}$ ) sont largement distribués dans les tissus sécrétoires tels que les glandes ou les chambres sébacées et les canaux résineux des plantes supérieures, insectes,

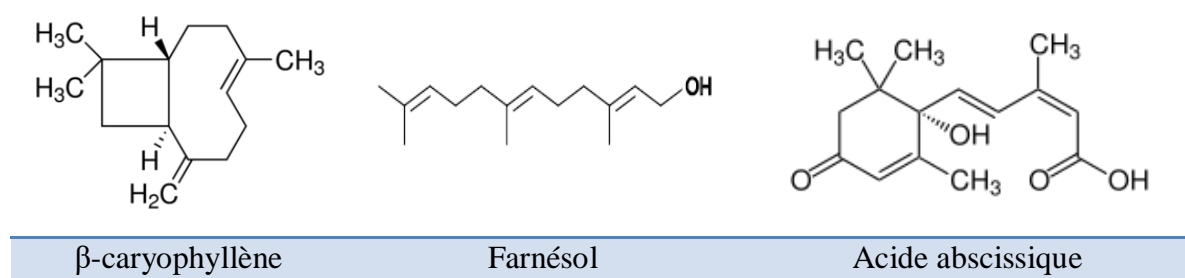
champignons et organismes marins (Mabou et *al.*, 2021). Ils peuvent être de structure acyclique (linalol), monocyclique (limonène, menthol), bicyclique ( $\alpha$ -pinène) ou tricyclique (Figure 11). Ils existent sous forme d'hydrocarbures ou de groupements oxygénés avec des fonctions aldéhyde, alcool (citronellal), cétone, ester, éther (cinéole), peroxyde et phénol (Annexe 2 et 3) (Weidenhamer et *al.*, 1993).



**Figure 11.** Structure de quelques monoterpènes

#### 4.1.3. Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes (C<sub>15</sub>) sont présents dans la nature sous deux formes : hydrocarbonée et oxygénée. Ils peuvent porter des fonctions lactones, alcools, acides, aldéhydes et cétones. Ils ont des structures linéaires, monocycliques, bicycliques, tricycliques ou même sous forme de cycle lactone. La plupart des sesquiterpènes ont des squelettes cycliques à l'exception du farnésol et certains sesquiterpénoïdes acycliques irréguliers (Figure 12) (Awouafack et *al.*, 2013).



**Figure 12.** Structure de quelques sesquiterpènes

#### 4.1.4. Diterpènes

Généralement polycycliques, les diterpènes (C<sub>20</sub>) forment un groupe très varié de composés à 20 atomes de carbone (Bruneton, 2001). Leur présence est aléatoire dans les huiles essentielles à cause de leur nombre élevé de molécules de carbones (Laguerre, 2015). En raison de leurs points d'ébullition élevés, ils sont difficilement entraînés par la vapeur d'eau lors d'une distillation, ils sont alors considérés comme des résines. C'est le cas de gibbérélines qui constituent un groupe important d'hormones végétales largement distribuées (Cseke et al., 2006).

#### 4.1.5. Autres terpènes

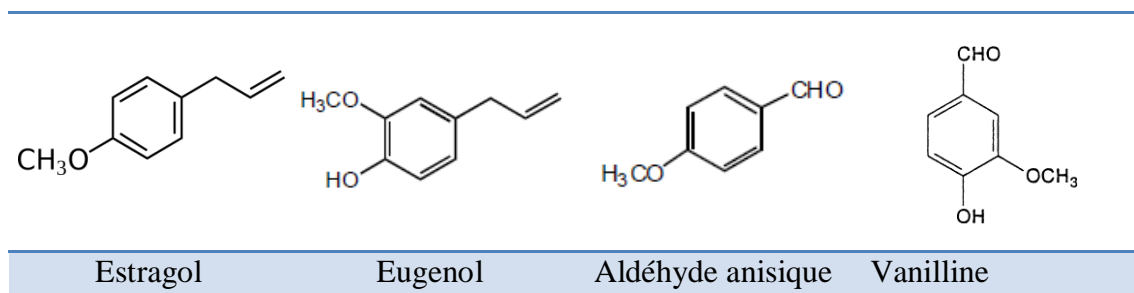
Les huiles essentielles renferment d'autres terpènes :

- ✿ Les triterpènes C<sub>30</sub>, comme le squalène qui est présent dans l'huile du foie de requin, les amandes, l'huile d'olive et les stérols qui font partie de la structure de la membrane cellulaire;
- ✿ Les tétraterpènes C<sub>40</sub>, comme les caroténoïdes qui sont des pigments photosynthétiques;
- ✿ Et les polyterpènes C<sub>n</sub>, comme le caoutchouc qui est une substance laiteuse extraite des arbres à caoutchouc *Hevea brasiliensi*.

Ces composés appartiennent au groupe des terpènes mais ils ne sont pas volatils (Mabou et al., 2021).

#### 4.2. Composés aromatiques

Les composés aromatiques sont représentés par les dérivés du phénylpropanique (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>). Ils sont moins fréquents que les terpènes et sont responsables des caractères organoleptiques des essences. Ce sont des propanylphénols et des aldéhydes caractéristiques de certaines huiles essentielles d'Apiaceae. Certaines huiles essentielles contiennent des composés comme le cinnamaldéhyde dans le basilic (estragol), les aldéhydes aromatiques et les phénols dans le clou de girofle (eugenol). Ces substances sont à l'origine des arômes caractéristiques des condiments. On trouve également les composés en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> comme l'anthranilate de méthyle, l'aldéhyde ainsi que la vanilline (Figure 13) (Bruneton, 2008).



**Figure 13.** Structure de quelques composés aromatiques

### 4.3. Composés d'origines diverses

En plus des terpènes et des composés aromatiques, les huiles essentielles renferment des composés d'origines diverses et qui résultent de la transformation de molécules non volatiles. Ils contribuent souvent aux arômes des fruits, ils peuvent être des composés azotés, soufrés ou des composés issus de la dégradation des acides gras ou de la dégradation des terpènes (Bruneton, 2008).

### 4.4. Notion de chémotype

Le chémotype appelé aussi chimiotype est une variabilité intraspécifique importante de la composition chimique d'une même espèce végétale, ce qui est relatif aux variations écotypiques et aux races chémotypiques (Bruneton, 2008 ; Koul *et al.*, 2008). En France, le thym possède six races spontanées en fonction du composé majoritaire : thymol, carvacrol, géraniol, linalol, terpinéol et thuyanol (Vercautere, 2012). Le romarin officinal possède trois chémotypes: le 1,8-cinéole au Maghreb, le camphre et la verbénone en Europe (Pavela, 2015). Alors que le basilic *O. gratissimum* possède trois en Espagne : estragol, methyl eugenol et linalol (Lopez *et al.*, 2008 cité par Taleb-Toudert *et al.*, 2021). En effet, la composition d'une huile essentielle dépend du pays d'origine, de la nature du sol, de l'altitude et des conditions climatiques (Vercautere, 2012 ; Chang *et al.*, 2017). Alors, il est nécessaire, pour certaines huiles essentielles, de bien préciser le chémotype car il peut conditionner son activité et/ou sa toxicité (Pavela, 2015).

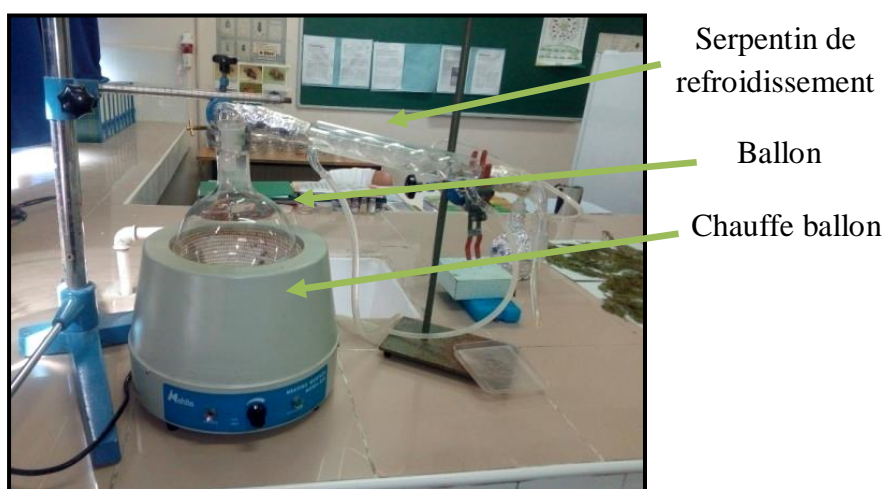
## 5. Procédés d'extraction des huiles essentielles

Avant d'utiliser ou analyser toute substance, il est nécessaire de l'extraire de sa matrice. Plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles ont été mises au point telles que l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur, l'hydro-diffusion et d'autres méthodes plus innovantes (Chemat et Lucchesi, 2005).

### 5.1. Hydrodistillation

C'est la méthode la plus simple et la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans un ballon rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant (Figure 14).

Notons que l'hydrodistillation possède des limites : un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (Lucchesi, 2005).

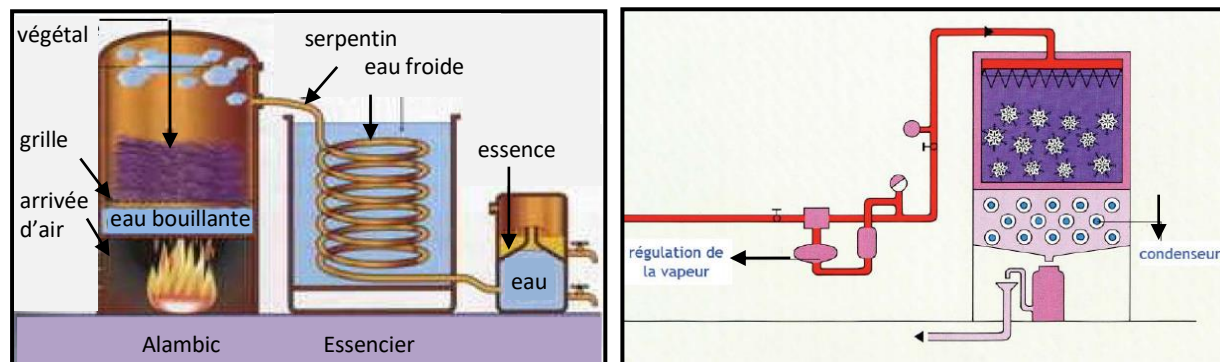


**Figure 14.** Dispositif de l'hydrodistillation (Originale, 2023)

### 5.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Dans cette technique, le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur entraîne l'éclatement des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant (Figure 15) (Lucchesi, 2005).

L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative, en minimisant les altérations hydrolytiques et quantitatives de l'huile récoltée et l'économie de temps et d'énergie (Bassereau et *al.*, 2007; Bruneton, 2008). Cette technique est proche de l'hydrodiffusion mais elle en diffère par le fait que la vapeur d'eau est injectée du bas vers le haut dans une autre enceinte contenant la masse végétale avec une pression atmosphérique (Figure 15) (Bruneton, 2008), alors que l'hydrodiffusion consiste à faire passer la vapeur d'eau du haut vers le bas, au travers de la matière végétale (Bassereau et *al.*, 2007).



**Figure 15.** Schéma du principe de la technique d'entraînement à la vapeur (à gauche) et de l'hydrodiffusion (à droite) (Lucchesi, 2005)

### 5.3. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes ESSAM

L'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique de distillation assistée par micro-ondes sans solvant et sans eau (Lucchesi et *al.*, 2004).

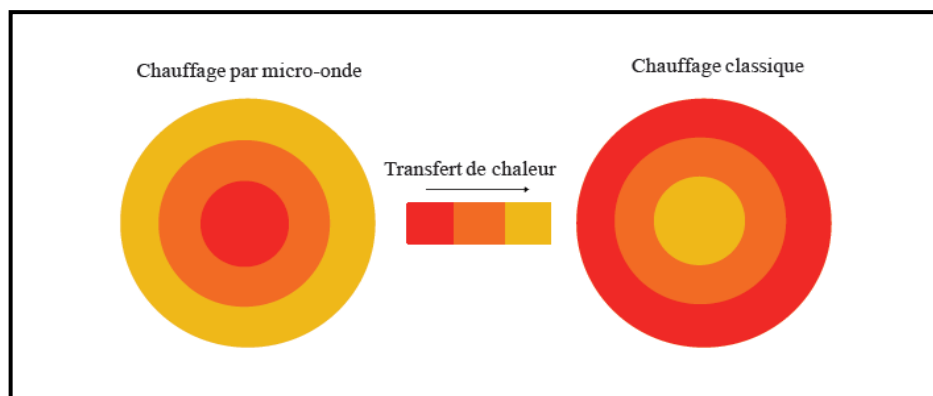
Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques qui occupent une bande de fréquences entre 300MHz et 300GHz, elles sont situées entre les radiofréquences et les infrarouges. Le transfert de chaleur par micro-ondes est complètement inversé par rapport au chauffage classique dont le transfert de chaleur se transmet de l'extérieur vers l'intérieur du récipient. Sous chauffage micro-ondes, c'est le produit traité qui est la source de chaleur, le dégagement de chaleur s'effectue alors de l'intérieur vers l'extérieur du récipient (Figure 16) (Chemat et Lucchesi, 2005; Chemat et *al.*, 2020).

L'extraction par micro-ondes se fait en plaçant le ballon qui contient le matériel végétal dans l'enceinte du four à micro-ondes alors que le reste du dispositif reste à l'extérieur du four. Selon Bousbia et *al.* (2009) et Ferhat et *al.* (2016), cette méthode est avantageuse du fait qu'elle est rapide, efficace, écologique et qu'il y a une similitude de la composition de l'huile par rapport à une hydrodistillation classique.

### 5.4. Extraction par ultrasons

L'extraction des huiles essentielles par ultrasons (20 à 100KHz) est une technique émergente, dans laquelle la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps elle est soumise à l'action des ultrasons. Elle peut être utilisée pour l'extraction des composés aromatiques ou des essences de plantes, mais elle a surtout été développée pour l'extraction de certaines molécules ayant un intérêt thérapeutique (Salisova et *al.*, 1997; Bousbia, 2011, Ferradji et *al.*, 2016).

C'est une technique reproductible, rapide, facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie (Chemat *et al.*, 2020).



**Figure 16.** Schéma montrant le transfert de chaleur sous chauffage classique et sous chauffage par micro-ondes (Farhat, 2010)

## 6. Techniques d'identification des constituants des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes de séparation et d'identification des composants d'une huile essentielle, parmi les plus courantes et les plus évoluées, la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS). Cette technique permet l'analyse de composés relativement volatils et thermiquement stables (Bouchonnet *et al.*, 1999) mettant en jeu différents processus physicochimiques (Burgot et Burgot, 2011).

Le dispositif comprend deux phases, une stationnaire, composée d'une colonne sous forme de tube enroulé sur lui-même, tapissé de silice, placée dans une enceinte à température régulée (four). L'autre phase est mobile, parcourt la colonne avec une vitesse déterminée, c'est le gaz vecteur, qui peut être soit l'hélium (He), l'hydrogène (H<sub>2</sub>) ou l'azote (N<sub>2</sub>).

L'échantillon d'huile essentielle est introduit dans l'injecteur à l'aide d'une microsiringue, il sera ensuite vaporisé et mélangé au gaz vecteur qui parcourt la colonne jusqu'au détecteur, les constituants de l'échantillon sont séparés par migration différentielle le long de la phase stationnaire puis sortent de la colonne selon le degré de leur affinité (Burgot et Burgot, 2011). Chaque molécule est détectée à sa sortie de la colonne et caractérisée par un temps de rétention qui correspond au temps écoulé entre l'injection et l'instant de son arrivée au détecteur (Bouchonnet, 2009).

L'identification des constituants est basée sur la comparaison de leurs indices de masse de rétention avec ceux des composés standards de la banque de données informatiques de l'appareil (Bouhenna *et al.*, 2020).

## 7. Action des huiles essentielles sur les insectes

Les mécanismes de toxicité des huiles essentielles peuvent être d'ordre physiologique ou physique.

### ➤ Effets physiologiques

Les huiles essentielles ont des effets anti-appétants, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité et le développement des insectes et acariens. Certains composés, particulièrement les monoterpènes, inhibent la pénétration des larves dans les grains traités, agissent sur le temps de la nymphose, retardant ou empêchant l'émergence des adultes (Chiasson et Beloin, 2007).

En effet, selon Roeder (1999), les huiles essentielles agissent sur les récepteurs de l'octopamine, un neurotransmetteur spécifique au système nerveux des invertébrés (absent chez les mammifères) qui a un effet régulateur de la motricité, la ventilation, les battements de cœur, le vol et le métabolisme. Enan (2001) relate que l'effet varie d'un terpène à l'autre et que les huiles essentielles peuvent avoir un effet agoniste ou antagoniste du neurotransmetteur. De plus, l'action rapide de certaines huiles essentielles contre certains nuisibles est révélatrice d'un mode d'action neurotoxique (Koul et *al.*, 2008), ils agissent directement au niveau des neurones, provoquant ainsi la paralysie puis la mort de l'insecte (Huignard, 2013).

### ➤ Effets physiques

D'après Chiasson et Beloin (2007), les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou, néanmoins, elles sont moins efficaces sur des insectes à carapace dure tels que les coléoptères, les hyménoptères adultes et certains acariens prédateurs. En effet, la nature lipophile des huiles essentielles peut dégrader la cuticule composée d'une couche cireuse et causer ainsi des pertes en eau. De même, les trachées et les sacs d'air des insectes sont enduits de cette couche cireuse, ce qui entraîne leur asphyxie.

## 8. Synergie des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont caractérisées par la dominance d'un seul composé ou plusieurs (2 à 5 composés). Ces constituants peuvent être toxiques pour une espèce, mais pas pour une autre (Jayakumar et *al.*, 2017). Cependant, l'activité biologique d'une huile essentielle n'est pas toujours attribuée à ses composés majoritaires; mais il existe une synergie

interne parmi les composés d'une même huile. Dans certains cas, les constituants non ou moins toxiques facilitent ou améliorent l'activité du principe actif (Miresmailli et *al.*, 2006; Martin et *al.*, 2011; Pavela, 2015 ; Isman, 2016). D'après Tak et Isman (2015), la toxicité produite par l'administration topique de l'huile essentielle de romarin peut être reproduite par le mélange obligatoire de deux de ses constituants, le 1,8-cinéole et le camphre. Bien que l'administration topique de ces constituants révèle que le 1,8-cinéole est plus toxique que le camphre, néanmoins, lorsqu'ils sont administrés en même temps, le 1,8-cinéole facilite l'entrée du camphre par le tégument de l'insecte, donc accentue son effet.

*Chapitre III*  
*Généralités sur la*  
*toxicologie*

## 1. Introduction

Les plantes aromatiques ont une longue période d'utilisation dans la conservation des récoltes, afin de chasser les insectes nuisibles des stocks, notamment chez les peuples africains soit sous forme d'extraits aqueux, de poudres, d'huiles végétales ou d'huiles essentielles (Guèye et *al.*, 2011).

D'après Teuscheur et *al.* (2005), l'usage alimentaire des huiles essentielles dans l'aromatisation ou l'assaisonnement des aliments est sans risque de toxicité (aiguë ou chronique) chez les personnes en bonne santé. Cependant, le danger peut se manifester si la dose recommandée est dépassée surtout chez les sujets dont l'état physiologique est particulier ou ayant une pathologie (Teuscheur et *al.*, 2005 ; Regnault-Roger et *al.*, 2012 ; Laguerre, 2015). Ainsi, la consommation de denrées alimentaires traitées avec les huiles essentielles, peut exposer l'homme à des risques d'intoxication.

Toutefois, des études de toxicité des huiles essentielles ou de leurs composés sont systématiquement entreprises afin d'estimer leur impact sur la santé humaine et environnementale (Manganiello-Terra et *al.*, 2020 ; Bokreta-Touati, 2022 ; Fahmy et *al.*, 2022) et d'évaluer leur sécurité en se basant sur leur classification toxicologique, allant des substances faiblement toxiques à celles ayant une toxicité potentiellement élevée (Smith et *al.*, 2005).

Par ailleurs, les essais sur l'impact des huiles essentielles *in vivo* sur des animaux de laboratoire sont cruciaux, nombre d'entre eux ont montré qu'elles présentent une faible toxicité, ce qui a permis d'autoriser leur utilisation en thérapie et dans l'industrie pharmaceutique, agroalimentaire et dans des formulations insecticides (Isman, 2016 ; Asili et *al.*, 2021).

## 2. Définition

La connaissance des poisons remonte à la plus haute antiquité ; les papyrus égyptiens font état de la toxicité de nombreuses substances naturelles d'origine animale et végétale utilisées à des fins thérapeutique ou contraceptive. Le mot « toxique » est d'origine grecque « *toxicon* » désignant les flèches empoisonnées employées dans la chasse. Des substances sont extraites de baies toxiques et servent à imprégner l'extrémité des armes, lances ou flèches (Coumoul, 2019).

### 3. Formes de toxicité

La toxicité d'une substance est classée selon la rapidité d'apparition des symptômes, leur sévérité, leur durée ou la rapidité de son absorption par l'organisme, en toxicité aiguë, subaiguë, ou chronique.

#### 3.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë est l'administration par voie orale d'une dose unique d'une substance, ou de plusieurs doses qui provoque la mort des animaux traités ou l'apparition de symptômes de toxicité dans un délai de quelques minutes à quatorze jours. D'après l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques OCDE (2001), cette approche se base sur l'analyse qualitative et quantitative de l'altération irréversible des fonctions vitales d'un animal et tient compte des modèles mathématiques.

Selon Bruneton (2008), la majorité des huiles essentielles testées sur des rats par voie orale (anis, marjolaine, girofle, camomille, citronnelle, *etc.*) ont une DL<sub>50</sub> comprise entre 2000 et 5000 mg/kg. D'autres huiles essentielles présentent une DL<sub>50</sub> comprise entre 1000 et 2000 mg/kg (basilic, estragon, hysope, origan, sarriette, *etc.*). Les plus toxiques à modérément toxiques sont celles de moutarde et de boldo dont la DL<sub>50</sub> est inférieure à 1000 mg/kg (Tableau 1).

#### 3.2. Toxicité subaiguë

La toxicité subaiguë correspond à des expositions fréquentes et répétées d'une substance sur une période de plusieurs jours ou semaines (21 à 30 jours) pour que les symptômes d'intoxication apparaissent (OCDE, 2018).

D'après l'OCDE (2018), la toxicité subaiguë par inhalation est principalement utilisée afin de calculer des concentrations réglementaires en vue d'évaluer les risques pour les travailleurs en milieu professionnel. Elle sert aussi à identifier et estimer les risques liés à l'exposition humaine dans les lieux d'habitation, dans les transports et l'environnement.

**Tableau 1.** Toxicité aiguë de quelques huiles essentielles et de quelques composés majeurs testés au laboratoire, par voie orale, sur des rats (Anderson et *al.*, 1996; Bruneton, 2008; Regnault-Roger et *al.*, 2012 ; Isman et Machial, 2016). PC : poids corporel.

Nom commun	Nom scientifique	Valeur de la DL <sub>50</sub>
<b>Lavande</b>	<i>Lavandula angustifolia</i>	2000 à 5000 mg/kg/PC
<b>Basilic</b>	<i>Ocimum basilicum</i>	1000 à 2000 mg/kg/PC
<b>Estragon</b>	<i>Artemisia dracuncululus</i>	1000 à 2000 mg/kg/PC
<b>Origan</b>	<i>Origanum vulgare</i>	1000 à 2000 mg/kg/PC
<b>Hysope</b>	<i>Hyssopus officinalis</i>	1500 mg/kg/PC
<b>Sarriette</b>	<i>Satureja hortensis</i>	1370 mg/kg/PC
<b>Pouliot</b>	<i>Mentha pulegium</i> et <i>Hedeoma pulegiodes</i>	400 mg/kg/PC
<b>Moutarde</b>	<i>Mustum ardens</i>	340 mg/kg/PC
<b>Boldo</b>	<i>Peumus boldus</i>	130 mg/kg/PC

#### Composés majeurs de certaines huiles essentielles

<b>Thym</b>	Thymol	980 mg/kg/PC
<b>Origan</b>	Carvacrol	810 mg/kg/PC
<b>Menthe pouliot</b>	Pulegone	470 mg/kg/PC
<b>Menthe poivrée</b>	Carvone	164 mg/kg/PC
<b>Absinthe</b>	Thuyone	134 mg/kg/PC

### 3.3. Toxicité chronique

Lauwerys et *al.* (2007) ont défini la toxicité chronique comme étant l'administration répétée d'une substance sur de longues périodes (plus de 90 jours). La manifestation de l'intoxication chronique dépend soit du poison qui s'accumule, soit des effets engendrés qui s'additionnent.

Hooser et *al.* (1986) rapportent que les applications cutanées d'un insecticide contenant 78.2% de *D*-limonène, aux chats, à des doses supérieures à 15 fois la concentration préconisée dans la notice d'utilisation, ont entraîné au fil du temps des symptômes sévères (hypersalivation, ataxie, hypothermie).

#### 4. Différentes voies d'exposition au toxique

Le produit nocif peut agir au point de contact (effet local) ou pénétrer dans l'organisme (effet systémique), son absorption par le corps se fait par différentes voies: par ingestion (voie digestive), par inhalation (voie respiratoire) et par la peau (voie cutanée).

##### 4.1. Voie orale

L'ingestion est généralement considérée comme une voie d'exposition importante aux produits éventuellement toxiques. En plus des effets locaux sur le tractus digestif, la réponse de l'organisme dépendra en grande partie du degré de son absorption. Une fois le toxique est absorbé par voie digestive, il atteint en premier lieu le foie qui constitue le principal organe cible d'inactivation des toxiques (Boukaloua, 2009).

##### 4.2. Voie respiratoire

Les poumons sont les organes responsables des échanges gazeux entre l'air des alvéoles et le sang des vaisseaux capillaires qui tapissent les alvéoles pulmonaires. Ils sont le siège de la respiration et permettent l'absorption et l'élimination des gaz.

La pénétration d'une substance toxique par les poumons dépend de plusieurs facteurs. Pour les gaz et les vapeurs, il s'agira de la concentration, de la dose, du type de substance, de la durée d'exposition, de la réactivité et du débit sanguin. Pour les particules (poussières, fumées, pollen, spores), il s'agira des caractéristiques physiques comme le diamètre et la forme (Boukaloua, 2009 ; Coumoul, 2019).

##### 4.3. Voie cutanée

La peau constitue une barrière imperméable qui recouvre toute la surface du corps et qui assure sa protection contre la pénétration de nombreux contaminants. En revanche, des endroits peuvent échapper à cette protection comme les pores et la base des poils, par conséquent, plusieurs toxiques peuvent y pénétrer jusqu'aux couches les plus profondes et se retrouver dans la circulation générale. Cette absorption cutanée est influencée par de nombreux facteurs : physico-chimiques (pureté, grosseur et solubilité de la molécule), individuels (hydratation de la peau, présence de lésions cutanées) et anatomiques (endroit du corps mis en contact avec le toxique) (Madison, 2003; Boukaloua, 2009; Coumoul, 2019).

#### 4.4. Autres voies

Il existe d'autres voies d'entrée, appelées voies parentérales, qui permettent une absorption plus rapide et plus complète des substances, obtenant des pics de concentration de courte durée, mais élevés, à l'origine d'une plus forte toxicité de la dose administrée. Elles s'appliquent via différents types d'injections (intraveineux, intramusculaire, sous-cutanée, intrapéritonéale et intratrachéale). Ces voies sont généralement propres à certains milieux précis comme les injections accidentelles d'un médicament et les piqûres d'aiguilles en milieu hospitalier, les piqûres d'insectes ou d'animaux venimeux (Silbergeld, 1990; Boukaloua, 2009).

### 5. Effets toxiques des huiles essentielles

La toxicité des huiles essentielles se manifeste à différents niveaux dans l'organisme provoquant un effet neurotoxique (cérébral), pulmonaire, digestif, cancérigène ou cutané (dermique).

#### 5.1. Neurotoxique

Une substance neurotoxique est une substance qui présente un effet toxique exclusivement sur le système nerveux. Elle perturbe ou paralyse des neurones soit de manière réversible ou permanente. Certaines huiles essentielles sont connues pour cet effet neurotoxique, leurs composés traversent facilement la barrière hémato-encéphalique du système nerveux provoquant une neurotoxicité. C'est le cas de l'huile essentielle de boldo (à la dose 70 mg/kg) et celle de romarin qui provoquent des convulsions. Certains composés des huiles essentielles peuvent être aussi neurotoxiques comme la thuyone (DL<sub>50</sub> de 88 mg/kg, chez les souris par voie cutanée), l'un des constituants majeurs de la sauge officinale et le pinocamphone, substance abondante dans l'huile essentielle d'hysope qui peuvent entraîner des troubles convulsifs et le menthol qui entraîne une paralysie bulbaire (Wichtl et Anton, 2003; Bruneton, 2008 ; Reichl et Ferraud, 2010).

#### 5.2. Toxicité digestive

La digestion comprend le transport et l'absorption des aliments le long du tractus gastro-intestinal par des procédés mécaniques et chimiques. L'absorption des nutriments est assurée au niveau des cellules de la muqueuse digestive qui tapissent les cellules épithéliales. Le principal risque à l'usage des huiles essentielles par voie digestive est l'irritation ou

l'inflammation de cette muqueuse digestive, c'est pourquoi il est conseillé d'éviter leur utilisation à l'état pure. Ce phénomène est dépendant de la concentration de la substance ingérée et de la fréquence d'exposition. Les huiles essentielles les plus susceptibles de provoquer une irritation sévère sont celles contenant le cinnamaldéhyde, l'eugénol, le carvacrol ou le thymol (Tisserand et Young, 2014).

### 5.3. Toxicité rénale

Les cas de toxicité rénale sont rares, toutefois, ils peuvent survenir lors d'un surdosage. D'ailleurs, une ingestion accidentelle de cinq millilitres d'huile essentielle de gaulthérie (*Gaultheria fragrantissima*) à un enfant de 22 mois a induit des lésions au niveau des tissus rénaux (Kloss et Boeckman, 1967). De même, l'ingestion d'une quantité inconnue d'huile essentielle de la menthe pouliot chez un adulte a provoqué des lésions au niveau des tubules rénaux (Vallance, 1955 cité par Poirot, 2016). Par ailleurs, les terpènes présents dans l'huile essentielle de térébenthine induisent aussi une néphrotoxicité (Jollois et *al.*, 2001).

### 5.4. Toxicité pulmonaire

La toxicité pulmonaire est due à l'action des Composés Organiques Volatils (COVs), qui sont des substances chimiques qui se trouvent sous forme gazeuse. Elles représentent tous les hydrocarbures à l'exception des oxydes de carbone, des carbonates et bicarbonates et sont principalement des terpènes, des phénylepropanoïdes/benzoides et des dérivés d'acides gras et d'acides aminés. Ils sont émis suite à l'utilisation de solvants organiques dans certaines activités et installations. En effet, ces composés contiennent des aldéhydes comme le formaldéhyde, l'acétaldéhyde et le propionaldéhyde qui sont très actifs et irritants pour la muqueuse respiratoire. Ils sont présents dans l'huile essentielle sous forme de traces vu leur caractère volatil (Poirot, 2016).

### 5.5. Effet cancérigène

D'après Anderson et *al.* (1996), les huiles essentielles peuvent être des protoxines comme le menthofurane, un composant produit par le métabolisme de la pulégone (constituant majeur de l'huile essentielle de la menthe pouliot), cette molécule est susceptible de provoquer une toxicité hépatique et pulmonaire. Regnault-Roger et *al.* (2012) rapportent que l'exposition à l'huile essentielle de la menthe pouliot *M. pulegium* provoque des déformations fœtales engendrant un avortement chez la femme enceinte. Selon Bruneton

(2008), l'estragol (basilic) est à l'origine des tumeurs de l'intestin grêle chez des souris de laboratoire. D'autres composés comme les dérivés d'allylbenzène ou de propenylbenzène tels que le safrole, la  $\beta$ -arasonne et le méthyl-eugénol peuvent être aussi cancérigènes (Guba, 2001; Pierron, 2014, cités par Adli, 2015).

### 5.6. Toxicité cutanée

Les réactions cutanées sont les plus répandues compte tenu de l'usage dermique des huiles essentielles. Ces réactions dépendent de nombreux facteurs: la substance appliquée, la quantité, la concentration, la fréquence, la durée d'exposition, la surface exposée, les facteurs environnementaux comme la lumière (ultraviolets), la température et l'humidité (Poirot, 2016).

Parmi les réactions cutanées provoquées par les huiles essentielles, la dermocausticité qui est une agression de la peau comparable à une brûlure pouvant aller jusqu'à la nécrose. Elle peut apparaître dès la 1<sup>ère</sup> utilisation de la substance et son intensité dépend de la concentration de l'huile essentielle, elle est provoquée par les huiles essentielles contenant des phénols comme le thym, l'eugénol, le carvacrol (Isman, 2016 ; Poirot, 2016). Une autre réaction cutanée est la phototoxicité, qui est provoquée par les huiles essentielles de Citrus (bergamote et d'angélique) et due à l'action des rayons ultraviolets sur des molécules comme les furocoumarines et les pyranocoumarines qui forment des liaisons avec les bases pyrimidiques de l'ADN, entraînant la libération de médiateurs inflammatoires provoquant un érythème (Bakkali et *al.*, 2008 ; Poirot, 2016). Par ailleurs, certaines huiles essentielles provoquent des allergies par contact à des très faibles doses, dues à la présence de composés comme les lactones sesquiterpéniques dans l'huile essentielle de laurier noble et l'isoeugénol dans l'huile essentielle de clou de girofle (Poirot, 2016).

### 6. Interactions toxicologiques

La toxicité d'une substance pour un organisme peut être modifiée par l'exposition préalable, simultanée, ou consécutive à une autre substance, ce qu'on appelle les interactions toxicologiques. Ces interactions peuvent être néfastes (augmentent la toxicité d'un autre produit), c'est le phénomène de toxication ou toxification. En revanche, dans d'autres cas, ces substances réduisent les effets toxiques d'un autre produit, c'est le phénomène de détoxification ou détoxification (Viala et Botta, 2007, cité par Adli, 2015).

En effet, d'après les même auteurs, les interactions toxicologiques peuvent soit s'additionner (addition) ou s'amplifier (synergie ou potentialisation) ou au contraire se combattre (antagonisme).

- ☀ **Synergie additionnelle** : la réponse est égale à la somme des réponses des substances prises individuellement, il n'y a pas d'interaction.
- ☀ **Synergie renforçatrice**: la réponse est supérieure à la somme des réponses des substances prises individuellement.
- ☀ **Synergie potentielle** : elle se produit lorsqu'une substance ayant peu ou pas de toxicité augmente la réponse d'une autre substance.
- ☀ **Antagonisme** : la réponse est inférieure à la somme des réponses des substances prises individuellement.

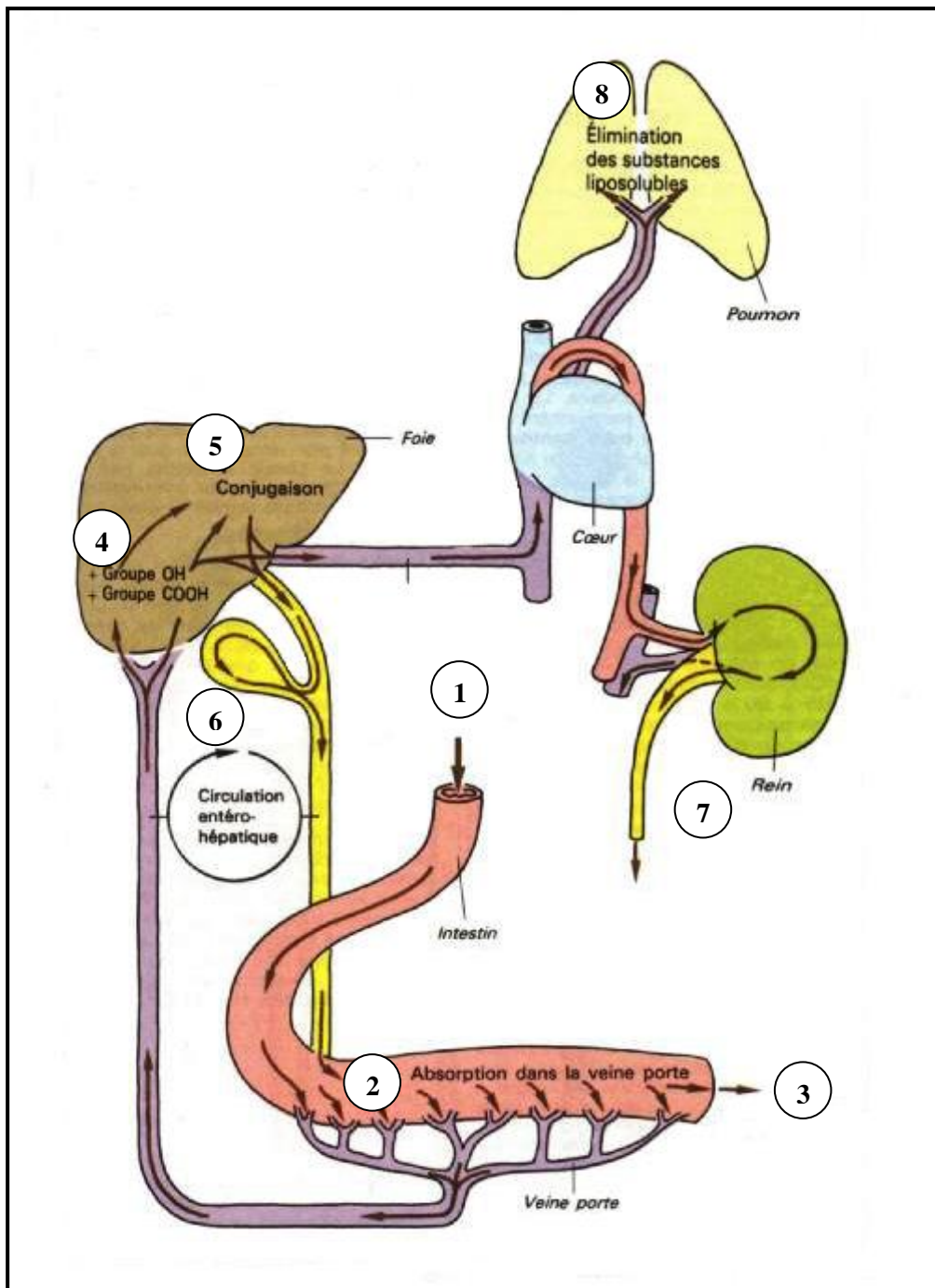
## 7. Voies d'élimination des toxiques

Il existe différentes voies d'élimination des toxines dans l'organisme, élimination digestive, cellulaire, rénale (urines), pulmonaire ou bronchiale (expiration), cutanée (larmes, sueur, phanères) et lactée (le lait). Ce processus consiste à rejeter le produit toxique à l'extérieur de l'organisme (Amiard, 2011).

D'après Silbernagl et Despopoulos (2001), le processus d'élimination des toxines débute lors de l'ingestion alimentaire (1) en empêchant leur absorption ou provoquant des vomissements (Figure 17). Les substances utiles (et celles qui n'ont pas pu être neutralisées) sont ensuite absorbées dans le tube digestif (2) tandis que les substances physiologiquement inutiles sont éliminées dans les fèces (3). Les substances absorbées dans l'intestin parviennent jusqu'au foie où il y aura une différenciation des substances rendant celles qui sont toxiques inoffensives (4) après l'action enzymatique, les produits se combinent avec d'autres substances (5) qui peuvent être sécrétées dans la bile (6) et parviennent ainsi jusqu'à l'intestin où elles sont éliminées dans les fèces (3).

Un second mécanisme de détoxication utilise le glutathion (tripeptide majoritairement présent dans le foie), qui à l'aide des enzymes spécifiques (glutathion-S-transférases), se combine avec les substances toxiques venant du tube digestif via le sang. Les produits de cette combinaison appelés xénobiotiques sont signalés comme dangereux, ce qui contribue à leur élimination, elles passent alors dans le foie ensuite dans le rein (7). Après une filtration glomérulaire (Annexe 4), ils passent dans les tubules rénaux sous forme d'acides mercapturiques qui seront éliminés avec l'urine.

Le poumon agit aussi comme un filtre pour le sang, il capte en particulier les substances liposolubles (8). Après l'inactivation des toxines, il les excrète en partie au niveau de la muqueuse bronchique, protégeant ainsi le cerveau.



**Figure 17.** Cheminement et élimination des toxiques dans l'organisme (Silbernagl et Despopoulos, 2001)

*Deuxième partie*  
*Expérimentation*

# *Chapitre IV*

*Biologie du silvain  
dentelé Oryzaephilus  
surinamensis*

## 1. Introduction

Le silvain dentelé est considéré comme l'un des insectes les plus nuisibles aux produits céréaliers de part sa voracité et les importants dégâts provoqués à toutes les céréales et leurs produits dérivés (Awadalla et *al.*, 2021). Une large gamme de produits alimentaires est également attaquée par ce ravageur surtout dans certains pays où les conditions de son développement sont réunies, comme l'Algérie, la Tunisie et l'Égypte (Kousar et *al.*, 2021).

Pour empêcher l'infestation et réussir la protection du stock, il est important de connaître la biologie et le potentiel de développement de ce ravageur dans diverses conditions (Ngamo et Hance, 2007).

A cet effet, beaucoup de travaux se sont intéressés à l'étude de la biologie du silvain dentelé dans divers substrats comme le blé, la semoule, les grains oléagineux, *etc.* (Jacob et Fleming, 1989 ; Belckel et *al.*, 2007 ; Trematerra et *al.*, 2016 ; Nurul et Noor, 2019 ; Nika et *al.*, 2020 et Awadalla et *al.*, 2021).

Cette partie a pour objectif l'étude de la biologie d'*O. surinamensis* sur quelques substrats trophiques dans des conditions contrôlées.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel biologique

#### 2.1.1. Insecte ravageur

La souche d'*O. surinamensis* provient des céréales infestées et récoltées auprès des ménages de la région de Tizi-Ouzou (Algérie), elle est entretenue au laboratoire de la Protection, Sauvegarde des Espèces Menacées et des Récoltes. Influences des Variations Climatiques (PSEMRVC), de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie, depuis 2015 dans un élevage de masse.

#### 2.1.2. Substrats trophiques

Les substrats utilisés pour l'étude des différents paramètres biologiques de l'insecte sont ceux qui sont très consommés dans notre pays, il s'agit de la semoule fine de blé dur provenant de la minoterie *Sosemie* de Blida (Algérie), le gruau d'avoine et le riz blanc

provenant du marché local. Le riz est broyé puis tamisé à l'aide d'un tamis de 0.2mm de diamètre de mailles.

Les substrats sont préalablement soumis à une température de 60°C durant une heure, pour éliminer tous les interférents (Beckel et *al.*, 2007), puis conservés au réfrigérateur dans des bocaux fermés hermétiquement afin d'éviter toute contamination par les autres insectes ravageurs.

### 2.1.3. Elevage de masse

L'élevage massif est réalisé dans des bocaux en verre remplis de semoule à  $\frac{3}{4}$  dans lesquels des adultes d'*O. surinamensis* d'âge et de sexe indéterminés sont introduits. Les bocaux sont ensuite placés dans une étuve obscure et réglée à une température de  $28\pm 1^\circ\text{C}$  et une humidité relative de  $50\pm 5\%$  (Figure 18).

Le but de cet élevage est de fournir un nombre suffisant d'individus nécessaires aux différentes expériences.



**Figure 18.** Bocaux des élevages de masse du silvain dentelé (Originale, 2023)

## 2.2. Méthodes

### 2.2.1. Identification de l'espèce par la technique de Montage des genitalia

La forte ressemblance entre *O. surinamensis* et *O. mercator* et la diversité morphologique du silvain récolté dans divers endroits nous a incités à identifier l'espèce suivant les clés de détermination de Halstead (1993). De ce fait, une observation morphologique des adultes du ravageur sous une loupe biloculaire, suivie de l'examen des genitalia mâle sous un stériomicroscope étaient indispensables, sachant que l'identification du silvain se base sur les genitalia mâles (Annexe 1).

L'observation morphologique étant faite, la technique de montage des genitalia utilisée est celle adoptée par Komson (1967) et Matile (1993), modifiée par Lounaci (2015), elle comprend les étapes suivantes (Figure 19):

#### ☀ **Dégraissage**

Les insectes sont mis dans un Becher contenant l'hydroxyde de potassium (KOH) à 10% et porté à ébullition pendant 5 à 10 min, cette étape permet l'élimination des organes non sclérotinisés comme le tube digestif et le corps gras (réserves lipidiques).

#### ☀ **Nettoyage**

Les insectes sont rincés dans deux bains successifs d'eau distillée pendant 10 min afin d'éliminer les traces de potasse.

#### ☀ **Déshydratation**

Après le nettoyage, les insectes sont transférés dans deux bains d'alcool à 70° puis à 100° pour les déshydrater, pendant 10 min.

#### ☀ **Imprégnation**

Cette étape consiste à effectuer un passage rapide (une seconde) dans un bain de toluène pour éliminer toute trace d'alcool.

#### ☀ **Prélèvement et Montage**

Les genitalia sont ensuite prélevés en arrachant le dernier segment abdominal à l'aide d'une pince fine et étalés sur une lame. Une fois les tissus adipeux et musculaires sont débarrassés, une goutte de baume de Canada est ajoutée puis le tout est recouvert par une lamelle et pressé légèrement afin de chasser toute bulle d'air ; une fois séchée, la lame préparée est ensuite rangée dans une boîte de collection. L'identification est réalisée en observant les détails de l'appareil génital (Figure 19) à l'aide d'un stériomicroscope.

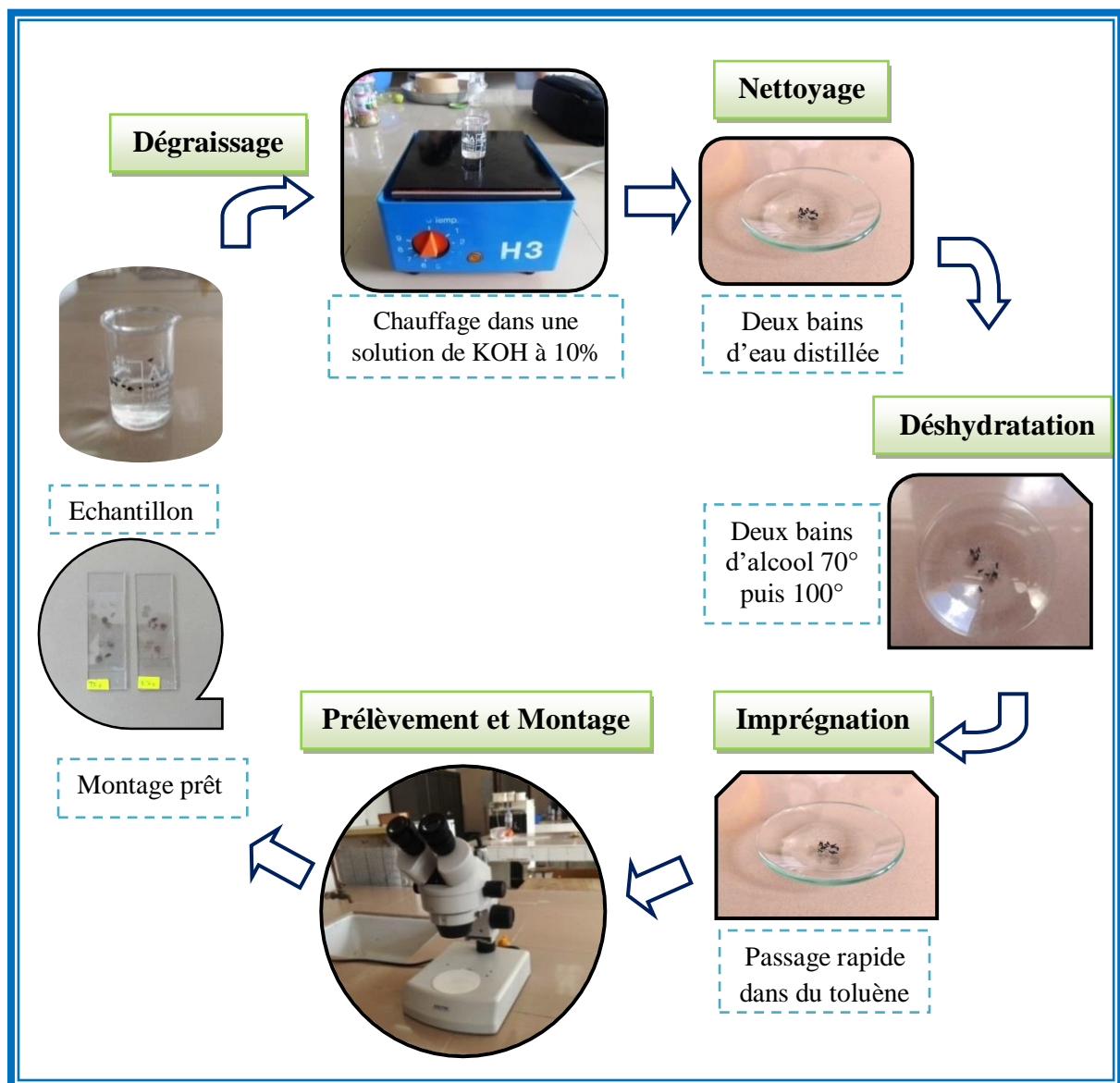
### **2.2.2. Etude morphométrique**

Les mensurations, des œufs, des différents stades larvaires ainsi que des adultes, sont réalisées à l'aide d'un stériomicroscope de type Optika étalonné et muni d'une caméra et d'un logiciel qui nous permet de délimiter les dimensions de l'insecte de la manière suivante :

Pour les œufs, la mensuration a été réalisée directement sans ajout d'aucune substance, en raison de leur fragilité. La longueur et la largeur ont été prises en considération (Figure 20).

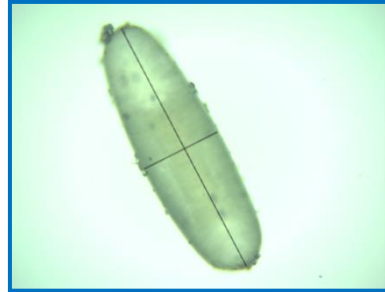
Pour les larves, les pupes et les adultes, une technique d'éclaircissement a été adoptée, elle correspond à la technique de montage des genitalia décrite précédemment.

Les larves sont placées sur leur face ventrale, la longueur du corps et la largeur de la capsule céphalique sont mesurés (Figure 21).

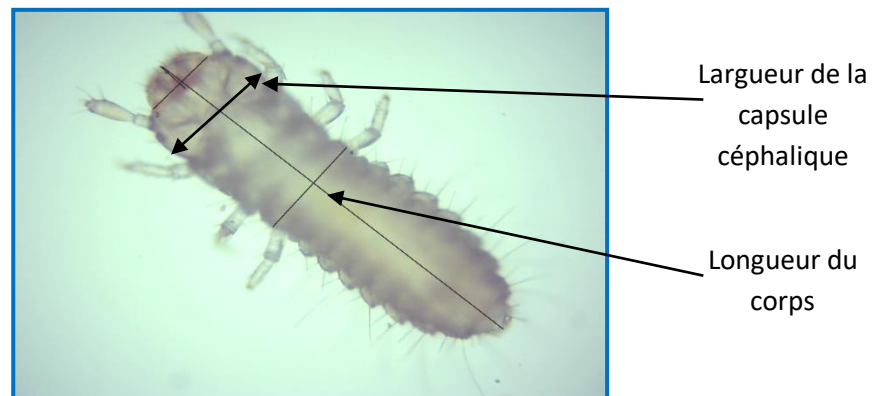


**Figure 19.** Technique de montage des genitalia du silvain dentelé (Originale, 2023)

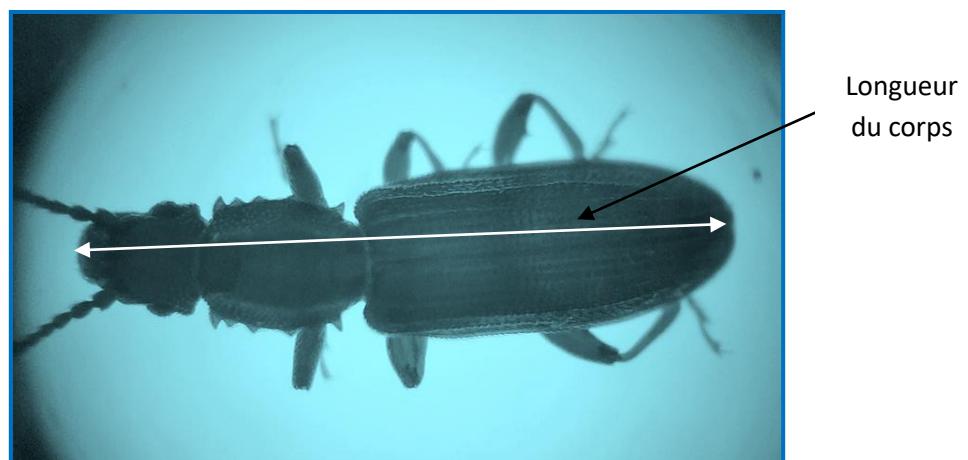
Concernant les nymphes et les adultes, seule la longueur du corps est prise en considération. La longueur du corps est mesurée de l'extrémité du labre jusqu'à celle des élytres, séparément sur les deux sexes (Figure 22).



**Figure 20.** Œuf d'*O. surinamensis* (G 10×10) (Originale, 2023)



**Figure 21.** Jeune larve d'*O. surinamensis* (G 10×10) (Originale, 2023)



**Figure 22.** Adulte d'*O. surinamensis* (G 40) (Originale, 2023)

### 2.2.3. Biologie du silvain dentelé

La polyphagie d'*O. surinamensis* nous a amenés à explorer l'adéquation de trois substrats alimentaires à son développement. Pour cela, nous avons évalué quelques paramètres biologiques de l'insecte qui sont : la durée du cycle biologique, le taux d'éclosion des œufs (taux de viabilité embryonnaire), le taux d'émergence des adultes (taux de viabilité post-embryonnaire), le sex-ratio, la longévité des adultes et la fécondité des femelles.

#### ➤ Durée du cycle de développement du silvain

Le suivi du cycle biologique d'*O. surinamensis* sur trois substrats (semoule, avoine et riz) est réalisé dans des flacons en plastique (60 mL de volume) contenant 1g de substrat (Figure 23). Vingt (20) individus adultes (dix mâles et dix femelles), âgés de 7 à 14 jours, sont introduits à l'intérieur de chaque flacon. Quatre répétitions sont effectuées afin d'obtenir un nombre suffisant d'œufs. Les œufs issus de cet élevage sont prélevés 24 heures après l'introduction des adultes. Chaque œuf est mis dans un tube à essai en verre (5 mL de volume) stérilisé, contenant 5 mg de substrat, fermé avec un bouchon, numéroté puis mis dans l'étuve (Figure 24). L'évolution de l'œuf est suivie jusqu'à l'émergence de l'adulte, sur un total de plus de 500 œufs, seulement 74 individus ont émergé sur la semoule, 36 sur l'avoine et 35 sur le riz.

#### ➤ Taux d'éclosion des œufs

Le taux d'éclosion des œufs est exprimé par le rapport entre le nombre d'œufs éclos et celui des œufs pondus  $\times 100$ .

#### ➤ Taux d'émergence des adultes

Le taux d'émergence des adultes correspond au rapport entre le nombre d'adultes émergés et le nombre d'œufs pondus  $\times 100$ .

#### ➤ Sex-ratio

A l'émergence des adultes, le sexe des insectes est déterminé dans chaque substrat. Il est exprimé par le pourcentage des femelles dans une population à l'émergence et calculé selon la formule suivante :

Sex-ratio (%) = [nombre de femelles / (nombre de femelles + nombre de mâles)] × 100.  
D'après Gueye et al. (2015), le sex-ratio serait en faveur des femelles si le rapport est supérieur à 50% et en faveur des mâles dans le cas contraire.

#### ➤ Longévité des adultes

Le suivi des individus après l'émergence est mené quotidiennement jusqu'à leur mort. Ainsi, nous avons pu évaluer la durée de vie de l'insecte sur 22 adultes par substrat soit un nombre total de 66 individus pour les trois substrats (Figure 24).

#### ➤ Fécondité des femelles

L'expérience est effectuée sur trois substrats alimentaires, semoule, gruau d'avoine et farine de riz, dans les mêmes conditions que l'élevage de masse. Une quantité de 3 g de chaque substrat est contaminée par 20 adultes d'*O. surinamensis*, dix mâles et dix femelles, âgés de 7 à 14 jours. Après trois jours, le substrat est tamisé à l'aide d'un tamis à 250 µ pour récupérer les œufs. Le dénombrement des œufs est réalisé durant un mois et le substrat est renouvelé après chaque opération. Quatre répétitions sont effectuées pour chaque substrat (Figure 23).



**Figure 23.** Flacons utilisés pour l'étude du cycle de vie et la fécondité des femelles (Originale, 2023)

### 2.3. Analyse des données

Les résultats obtenus pour les différents paramètres étudiés sont soumis à l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification, lorsque la normalité est vérifiée. Dans le cas où cette analyse révèle des différences significatives, elle est complétée par le test de Newman

et Keuls, au seuil de 5%, pour déterminer les groupes homogènes. Lorsque la normalité n'est pas vérifiée, le test de Kruskal-Wallis est utilisé, suivi d'un test post-hoc pour déterminer les groupes homogènes. Les résultats concernant le taux d'éclosion des œufs, le taux d'émergence des adultes et le sex-ratio, sont soumis au test d'indépendance unilatéral de  $\chi^2$ . Les logiciels utilisés sont le Stat Box version 6.4 et le R version 2.3.2.



**Figure 24.** Dispositif expérimental pour l'étude du cycle de développement du silvain dentelé (Originale, 2023)

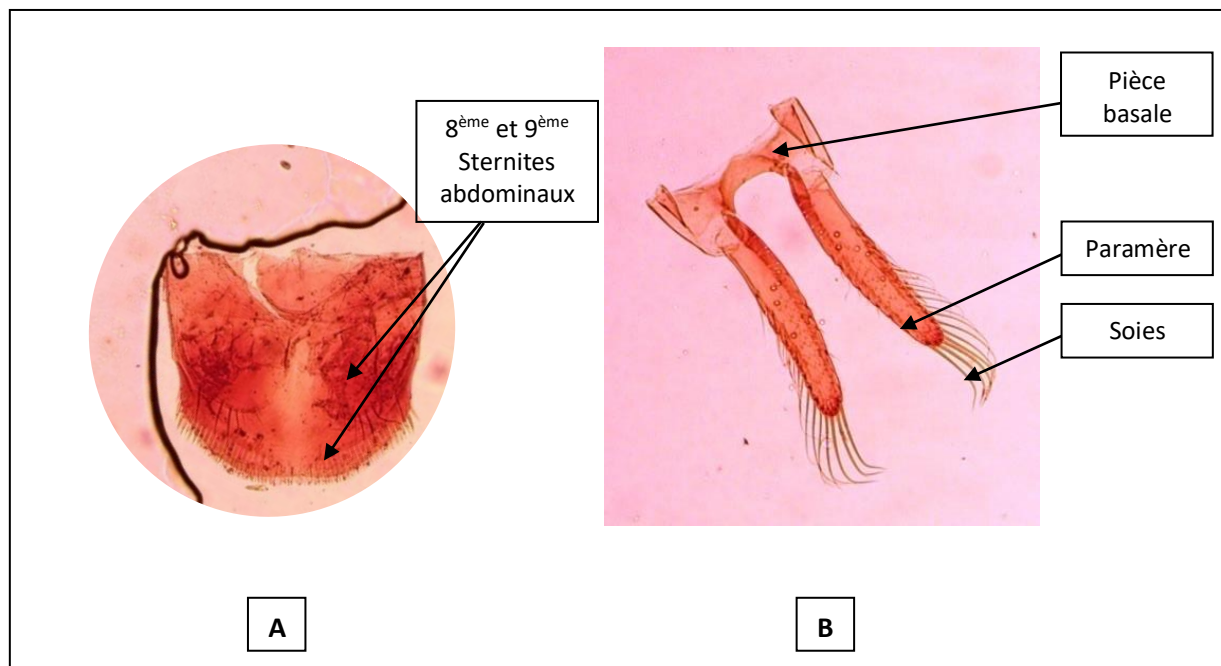
### 3. Résultats

#### 3.1. Etude des genitalia

L'observation des genitalia du silvain dentelé, sous un stériomicroscope au  $G \times 400$ , montre que l'organe génital mâle est constitué d'un sac interne, de deux ligaments, d'une pièce basale et de deux lobes latéraux (paramères) qui sont attachés ventralement au lobe médian par une membrane de connexion (Figure 25 et Annexe 1).

Les paramères (Figure 25B) ont une forme allongée légèrement recourbée vers l'extérieur, à bords presque parallèles, minces et aplatis, portant de longues soies fourchues autour de leur marge externe et de leurs extrémités distales arrondies.

L'appareil génital comprend également deux plaques superposés (Figure 24A), la première représente le 8<sup>ème</sup> sternite abdominal qui est constitué de deux lobes, chacun porte 4 soies de taille moyenne. La plaque inférieure représente le 9<sup>ème</sup> sternite abdominal qui est muni de nombreuses petites soies longeant son extrémité.



**Figure 25.** Genitalia mâles d'*O. surinamensis*, A), le 8<sup>ème</sup> et le 9<sup>ème</sup> sternites abdominaux, B), paramères (G 40×10) (Originale, 2023)

### 3.2. Etude morphométrique

L'étude morphométrique nous a permis de mesurer la taille des œufs, des différents stades larvaires et des adultes d'*O. surinamensis*. Les adultes et les larves âgées ont été observés au grossissement  $\times 40$ , les œufs et autres stades de développement au grossissement  $\times 100$  (Figures 20, 21 et 22).

Les résultats obtenus (Tableau 2) montrent que les œufs du silvain dentelé mesurent en moyenne  $0.764 \pm 0.003$  mm de long et  $0.244 \pm 0.002$  mm de large.

**Tableau 2.** Longueur et largeur moyenne (mm  $\pm$  SEM, n=30) des œufs d'*O. surinamensis*, sur la semoule.

Nombre d'œufs mesurés	Longueur (mm)	Largeur (mm)
30	$0.764 \pm 0.003$	$0.244 \pm 0.002$

La longueur des larves d'*O. surinamensis* ainsi que la largeur de leur capsule céphalique sont mentionnées dans le tableau 3 qui montre une nette évolution de la taille des larves d'*O. surinamensis*, de  $1.38 \pm 0.025$  mm de long et  $0.26 \pm 0.006$  mm de large de la capsule céphalique pour la L<sub>1</sub> à  $2.78 \pm 0.05$  mm de long et  $0.46 \pm 0.007$  mm de largeur de la capsule céphalique

pour la L<sub>4</sub>. Pour la L<sub>5</sub>, les données étaient insuffisantes pour que les individus soient comptabilisés.

**Tableau 3.** Longueur moyenne du corps et largeur moyenne des capsules céphaliques de différents stades larvaires (mm ± SEM) d'*O. surinamensis*, sur la semoule.

Stade larvaire	Nombre d'individus mesurés	Longueur du corps (mm)	Largeur de la capsule céphalique (mm)
L <sub>1</sub>	16	1.38±0.025	0.26±0.006
L <sub>2</sub>	20	1.72±0.038	0.28±0.005
L <sub>3</sub>	15	1.98±0.041	0.36±0.003
L <sub>4</sub>	13	2.78±0.05	0.46±0.007
L <sub>5</sub>	/	/	/

La longueur moyenne des nymphes, des mâles et des femelles d'*O. surinamensis* est représentée dans le tableau 4 ci-dessous.

Les nymphes mesurent 1.97±0.02 mm de long et les mensurations des adultes montrent que les mâles sont plus longs que les femelles, avec 2.93±0.028 mm de long pour les mâles et 2.79±0.018 mm pour les femelles.

**Tableau 4.** Longueur moyenne (mm ± SEM) des nymphes, des adultes, mâles et femelles d'*O. surinamensis*, sur la semoule.

Individus mesurés	Nymphes (n=17)	Adultes mâles (n=37)	Adultes femelles (n=37)
Longueur moyenne (mm)	1.97±0.02	2.93±0.028	2.79±0.018

### 3.3. Biologie d'*O. surinamensis*

#### 3.3.1. Cycle de développement

Le suivi du cycle biologique d'*O. surinamensis* sur trois substrats nous a permis de déterminer la durée de chaque stade de développement de l'œuf jusqu'à l'adulte.

La durée d'incubation de l'œuf (Tableau 5) dans les trois substrats est de 4 jours en moyenne, le test de Kruskal-Wallis ne montre pas de différence significative entre les trois substrats ( $p=0.058$ ).

Le développement larvaire dans les trois substrats alimentaires passe généralement par quatre stades et dans certains cas, cinq stades. Le test de Kruskal-Wallis montre des différences sont très hautement significatives pour la durée de développement des différents stades larvaires en fonction du substrat (Tableau 5). Sur la semoule, la durée des trois premiers stades est d'environ 4 jours, alors qu'elle varie entre 4 et 6 jours en moyenne sur l'avoine et le riz. Pour les stades L<sub>4</sub> et L<sub>5</sub>, la durée de développement est de 5 jours sur la semoule, elle est plus longue sur l'avoine et le riz et varie entre 8 et 13 jours en moyenne.

Avant sa transformation en nymphe, la larve L<sub>5</sub> s'accroche à la paroi du tube à essai, loin du substrat, puis reste immobile, arrête de se nourrir et tisse son cocon de nymphe. La nymphe est de couleur blanche au début puis se kératinise et se pigmente par la suite en prenant peu à peu la forme de l'adulte. La durée de la nympheose varie de 6.18 à 6.91 jours en moyenne sur les trois substrats avec une différence très hautement significative ( $p<0.001$ ) (Tableau 5).

Les résultats montrent également que la durée totale du cycle est plus courte dans la semoule ( $28.97\pm 0.41$  jours) comparativement à l'avoine et le riz (40 jours environ). Le test de l'analyse de la variance montre une différence très hautement significative pour la durée totale du cycle ( $p<0.001$ ), la semoule est placée dans le groupe homogène b, alors que l'avoine et le riz sont placés dans le même groupe homogène a.

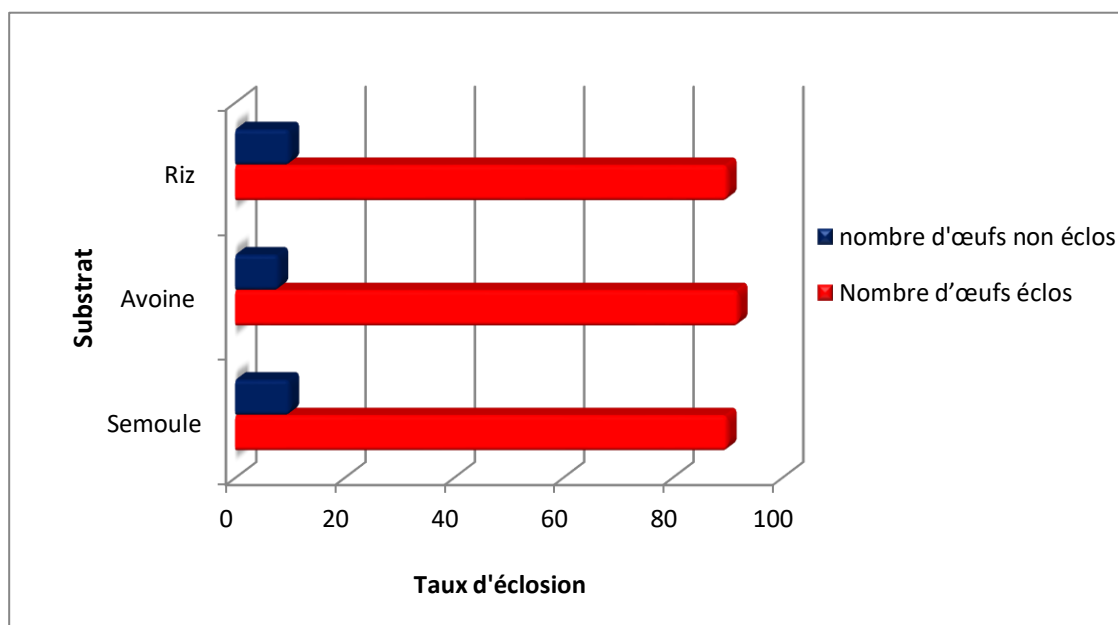
### 3.3.2. Taux d'éclosion des œufs

L'analyse des résultats (Figure 26) montre que le taux d'éclosion des œufs est élevé sur les trois substrats, il varie entre 90 et 92%. Le test d'indépendance unilatéral de  $\chi^2$  montre que le substrat n'agit pas sur ce paramètre ( $p=0.854$ ).

**Tableau 5.** Durée moyenne (en jours  $\pm$  SEM, n=33) des différents stades de développement du silvain dentelé sur la semoule, l'avoine et le riz.

Stades de développement	Substrats			p
	Semoule	Avoine	Riz	
Incubation de l'œuf	4.03 $\pm$ 0.05a	4.33 $\pm$ 0.11a	4.00 $\pm$ 0.12a	0.058ns
Larve du 1 <sup>er</sup> stade (L <sub>1</sub> )	4.12 $\pm$ 0.05b	4.67 $\pm$ 0.13a	4.82 $\pm$ 0.12 a	<0.001
Larve du 2 <sup>ème</sup> stade (L <sub>2</sub> )	4.15 $\pm$ 0.18 c	6.91 $\pm$ 0.25a	4.82 $\pm$ 0.14 b	< 0.001
Larve du 3 <sup>ème</sup> stade (L <sub>3</sub> )	4.39 $\pm$ 0.21b	6.42 $\pm$ 0.17a	6.12 $\pm$ 0.19a	< 0.001
Larve du 4 <sup>ème</sup> stade (L <sub>4</sub> )	5.30 $\pm$ 0.15c	8.39 $\pm$ 0.34b	11.12 $\pm$ 0.39a	< 0.001
Larve du 5 <sup>ème</sup> stade (L <sub>5</sub> )	5.20 $\pm$ 0.06 b	11.2 $\pm$ 0.26a	13.2 $\pm$ 0.39 a	< 0.001
Nymphose	6.18 $\pm$ 0.07b	6.76 $\pm$ 0.07a	6.91 $\pm$ 0.05 a	< 0.001
Durée totale du cycle	<b>28.97<math>\pm</math>0.41 b</b>	<b>40.88<math>\pm</math>0.95 a</b>	<b>39.79<math>\pm</math>0.7 a</b>	< 0.001

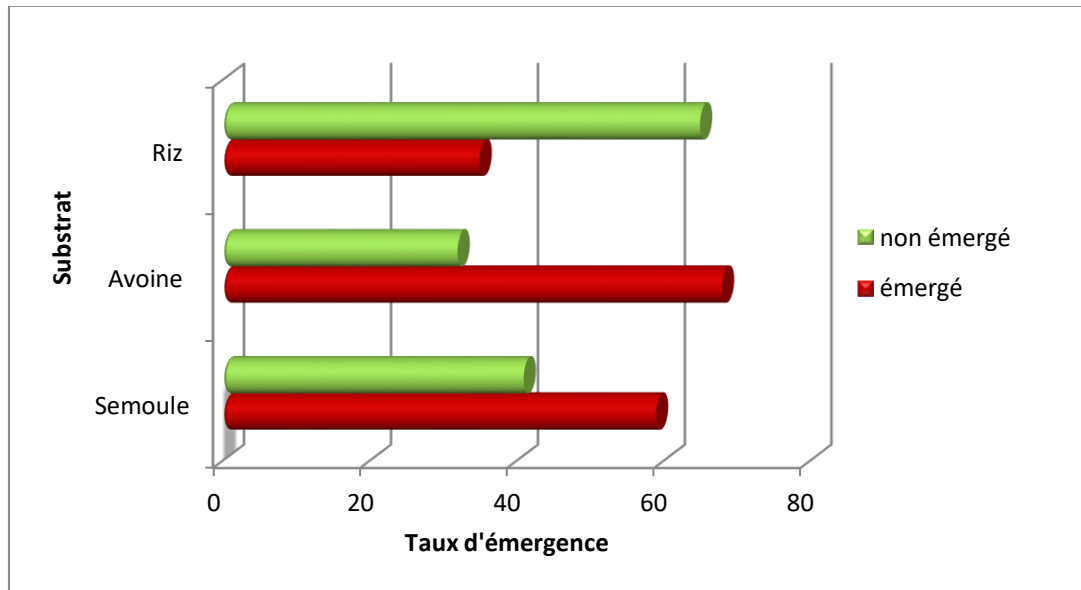
Les moyennes suivies d'une lettre différente au niveau de chaque ligne sont significativement différentes, selon le test de Kruskal-Wallis au seuil de 5%. Celles qui sont suivies d'une même lettre révèlent des différences non significatives.



**Figure 26.** Taux d'éclosion des œufs (%) (n=100 œufs) d'*O. surinamensis* sur la semoule, l'avoine et le riz

### 3.3.3. Taux d'émergence des adultes

Les résultats obtenus (Figure 26) pour le taux d'émergence des adultes varient selon le substrat alimentaire et le test d'indépendance unilatéral de  $\chi^2$ , au seuil de 5%, montre une forte dépendance entre le substrat et l'émergence des adultes ( $p < 0.001$ ). Le taux d'émergence est nettement plus important quand le développement larvaire a lieu dans la semoule et l'avoine, comparativement au riz.



**Figure 27.** Taux d'émergence (%) des adultes d'*O. surinamensis* sur la semoule, l'avoine et le riz

### 3.3.4. Sex-ratio

Le sex-ratio calculé pour chaque substrat est proche de l'équilibre (Tableau 6). Le test d'indépendance unilatéral de  $\chi^2$  ne montre aucune différence significative entre le nombre de mâles et celui des femelles dans les trois substrats ( $p = 0.2$ ).

**Tableau 6.** Sex-ratio d'*O. surinamensis* dans la semoule, l'avoine et le riz (n=100).

Substrat	Nombre de mâles	Nombre de femelles	Sex-ratio (%)	<i>p</i>
Semoule	49	51	51	
Avoine	45	55	55	0.2 ns
Riz	52	48	48	

$\chi^2_{\text{observé}} = 6.00$ ,  $\chi^2_{\text{critique}} = 9.46$ , au seuil de 5%, le degré de dépendance entre les lignes et les colonnes n'est pas significatif.

### 3.3.5. Longévité des adultes

Les résultats de l'analyse de la variance (Tableau 7) montrent que la durée de vie des adultes du silvain varie en fonction du substrat trophique dans lequel ils se développent. Elle est courte dans la semoule et le riz,  $61.86 \pm 6.02$  jours et  $58.54 \pm 7.16$  jours, respectivement et plus longue dans l'avoine ( $186.18 \pm 21.13$  jours). Le test de Newman et Keuls montre une différence très hautement significative ( $p < 0.001$ ), l'avoine étant classée dans le groupe homogène a, la semoule et le riz dans le groupe b.

**Tableau 7.** Longévité (en jours  $\pm$  SEM, n=22) des adultes d'*O. surinamensis* nourris de semoule, d'avoine ou de riz.

Substrat	Longévité moyenne (en jours)	<i>p</i>
Semoule	$61.86 \pm 6.02$ <b>b</b>	
Avoine	$186.18 \pm 21.13$ <b>a</b>	<0.001
Riz	$58.54 \pm 7.16$ <b>b</b>	

Les moyennes suivies de lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5 %, selon le test d'ANOVA à un critère de classification.

### 3.3.6. Fécondité des femelles

Le test de Newman et Keuls montre une différence très hautement significative de la fécondité des femelles suivant le substrat ( $p < 0.001$ ), classant chaque substrat dans un groupe à part (Tableau 8). La fécondité moyenne par femelle est plus élevée en présence de l'avoine ( $7.03 \pm 0.69$  œufs/femelle), alors qu'elle est faible sur les autres substrats,  $4.69 \pm 0.35$  œufs/femelle sur la semoule et  $0.44 \pm 0.12$  œufs/femelle sur le riz. Durant 30 jours, la ponte moyenne des femelles est de 46.96 œufs sur la semoule, 70.27 œufs sur l'avoine et 4.42 œufs sur le riz.

**Tableau 8.** Fécondité moyenne par femelle d'*O. surinamensis* (Moyenne  $\pm$  SEM, n=4 $\times$ 20) calculée chaque trois jours en présence de semoule, d'avoine et de riz.

Fécondité des femelles	3 jours	30 jours	<i>p</i>
Semoule	$4.69 \pm 0.35$ <b>b</b>	46.96	
Avoine	$7.03 \pm 0.69$ <b>a</b>	70.27	<0.001
Riz	$0.44 \pm 0.12$ <b>c</b>	4.42	

Les moyennes suivies de lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5 %, selon le test d'ANOVA à un critère.

#### 4. Discussion

Avant de mener notre investigation, nous avons jugé utile de faire une étude des genitalia mâles du ravageur afin de confirmer l'espèce par rapport à une autre morphologiquement proche qui est le cucujide des grains *O. mercator*.

Le prélèvement et l'examen des genitalia mâles du silvain, sous microscope photonique, nous a permis de confirmer que l'espèce sur laquelle nous avons mené notre étude est bien *O. surinamensis*. En effet, nos observations corroborent les clés de détermination de l'espèce données par Komson (1967) et Halstead (1993).

Dans cette partie nous avons entrepris une étude morphométrique qui nous a permis de caractériser les différents stades de développement de l'insecte et aussi de classer la souche parmi les trois décrites dans la littérature et nous avons également évalué quelques paramètres biologiques du silvain dentelé sur trois substrats trophiques.

##### 4.1. Etude morphométrique

Le développement d'*O. surinamensis* passe par plusieurs stades, œuf, larve, nymphe et adulte. L'étude morphométrique réalisée nous a permis de mesurer la taille de ces différents états et stades, développés sur la semoule.

Il ressort de cette étude que les œufs d'*O. surinamensis* mesurent en moyenne 0.76 mm de long et 0.24 mm de large. Ces résultats sont proches de ceux obtenus par Komson (1967) qui rapporte des valeurs légèrement différentes des nôtres, soit 0.81 mm de long sur 0.26 mm de large. Cet auteur précise que les adultes proviennent du Canada et sont nourris d'avoine.

Les larves mesurent en moyenne entre 1.38 mm pour les L<sub>1</sub> à 2.78 mm pour les L<sub>4</sub>. Ces résultats sont loin de ceux rapportés par Delobel et Tran (1993) sur *O. surinamensis* qui révèlent une taille moyenne des larves variant entre 2.5 et 3mm. Ce résultat peut être justifié par rapport au dernier stade de développement que nous n'avons pas pris en considération, il s'agit de la larve L<sub>5</sub>. Néanmoins, la taille de la larve du premier stade reste très petite par rapport à celle notée par ces auteurs.

La mensuration des nymphes révèle une longueur moyenne de 1.97 mm, cette valeur est inférieure à celle rapportée par Komson (1967) et qui est de 2.33mm. Cette variabilité de taille des différents stades de développement de l'insecte par rapport à celle rapportée par les autres

auteurs, pourrait être expliquée par l'origine de la souche étudiée, la nature du substrat sur lequel les adultes se sont développés et les conditions de leur développement, telles que la température et l'humidité relative.

Nos résultats montrent que la taille des adultes d'*O. surinamensis* est en faveur des mâles qui mesurent entre 2.54 à 3.38 mm de longueur (2.93 mm en moyenne) alors que les femelles mesurent entre 2.57 mm à 3.16 mm (2.79 mm en moyenne), faisant ressortir une taille moyenne de l'espèce de 2.86 mm. Ce résultat est en accord avec celui mentionné par Delobel et Tran (1993) qui ont noté une taille moyenne des adultes variant entre 1.7 et 3.3 mm, les mâles mesurent entre 3.6 à 3.7 mm et les femelles entre 3.5 à 3.6 mm. En revanche, selon Komson (1967) la taille de l'espèce est en faveur des femelles en enregistrant une moyenne de 2.64 mm pour les mâles et 2.75 mm pour les femelles.

D'après Delobel et Tran (1993), cette variabilité serait due probablement à l'origine de l'espèce (race). En effet, d'après Halstead (1993), *O. surinamensis* est subdivisée en trois souches, la « Petite souche » dont la taille varie entre 1.7 et 2.9 mm (moyenne de 2.2 mm), la « Souche normale » dont la taille varie entre 2.1 et 3.2 mm (moyenne 2.7 mm) et la « Souche cornue » qui mesure entre 2.2 et 3.3 mm de long. Durant nos observations, nous avons constaté une variation de la taille des adultes entre 2.54 mm et 3.38 mm de long, ce qui correspond, selon Halstead (1993) à la souche de taille normale. Ce résultat concorde avec celui rapporté par Kousar et al. (2021) pour des souches d'*O. surinamensis* de dattier de variété dadhi dont la longueur du corps varie entre 2 et 3 mm.

D'après Jacob et Fleming (1990), les souches d'*O. surinamensis* de grande taille se rencontrent dans les pays les plus froids au monde, alors que les souches de petite taille sont originaires des pays tropicaux.

#### 4.2. Biologie d'*O. surinamensis*

La biologie d'*O. surinamensis* a fait l'objet de plusieurs études montrant sa relation avec l'aliment, source d'énergie sur lequel elle se nourrit. En effet, le choix du substrat dépend de différents facteurs, tels que sa composition chimique, la flexibilité du comportement nutritionnel de l'insecte, la sélection du microclimat dans lequel il vit et sa physiologie digestive (Catlin et al., 2016 cité par Latifian et al., 2020).

L'étude de la biologie d'*O. surinamensis* nous a permis de déduire que la durée de son cycle de développement, à une température de 28°C±1 et une HR de 50%, varie de manière hautement significative suivant la nature du substrat trophique. Il est relativement court sur la

semoule,  $28.97 \pm 0.41$  jours, et plus long sur le riz et l'avoine avec  $39.79 \pm 0.7$  jours et  $40.88 \pm 0.95$  jours, respectivement.

Différents travaux ont été consacrés à l'étude du cycle biologique de cet insecte à l'instar de ceux de Beckel et al. (2007), Astuti et al. (2018) et Nika et al. (2020).

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Curtis et Clark (1974) qui ont montré que la durée du cycle biologique d'*O. surinamensis*, dans une gamme de produits stockés, à une température de 30°C et une HR de 50%, varie selon le substrat alimentaire. En effet, ces auteurs ont constaté qu'il est de 22.5 jours en moyenne dans les flocons d'avoine, 33.45 jours dans l'amande, 41.55 jours dans le raisin séché et 47.4 jours dans la prune séchée.

Delobel et Tran (1993) soulignent l'importance de la température et de l'humidité sur le cycle de vie de ce ravageur dont la durée sur du blé égrugé est d'environ 29 jours à 35°C, 21 jours à 30°C et 67 jours à 20°C, pour une HR de 70%. L'optimum de développement se situe entre 31°C et 34°C pour 90% d'HR.

Par ailleurs, pour Back et Cotton (1926), la durée du cycle de développement d'*O. surinamensis* dépend de la température, sur le maïs concassé, il est de 24.33 jours à 27.22°C et de 72 jours à 21.1°C.

Pour leur part, Jacob et Fleming (1989) ont mis l'accent sur l'influence du régime alimentaire habituel de différentes souches d'*O. surinamensis* ; ainsi, à une température de 25°C et une HR de 70%, le développement de la souche *Tangmere*, qui se nourrit habituellement de céréales, est de 31.5 jours alors que la souche *Mysore* dont le régime alimentaire est spécialement le riz, a manifesté un développement relativement long (36 jours). A des températures basses de 18.5°C à 20°C, ces auteurs ont noté que certaines souches survivent (*Thorne* et *Tangmere*) tandis que d'autres (*Mysore* et *Cropwellbutler*) meurent.

D'après Beckel et al. (2007), la variation de la durée du cycle et du développement larvaire du silvain peut être attribuée à plusieurs facteurs dont les conditions de stockage et le type de nourriture. De même, le taux d'humidité des grains influe la biologie de cet insecte (Awadalla et al., 2021). Astuti et al. (2018) ajoutent que la variété, la quantité ou la qualité de la nourriture affectent aussi la durée de développement d'*O. surinamensis*. Nurul et Noor (2019) pensent aussi que les comportements des insectes sont affectés par l'interaction de

nombreux facteurs physiques, chimiques et biotiques et que le type de nourriture influence les préférences des insectes et affectent par la suite leur cycle biologique.

Le suivi du développement larvaire montre que la majorité des larves muent quatre fois, rarement cinq fois. Ces résultats concordent avec ceux de Back et Cotton (1926) qui ont signalé le même nombre de stades larvaires. Toutefois, Kousar et *al.* (2021) ont observé, au Pakistan, quatre stades de développement d'*O. surinamensis* sur deux variétés de dattes Dadhi et Aseel.

Durant notre expérimentation, nous avons observé un comportement particulier chez les larves nourries de farine de riz qui consomment leurs exuvies, alors que ce phénomène est absent chez les larves qui se développent sur la semoule et l'avoine. A notre avis, ce comportement peut être en relation avec la nature physique des particules de la farine de riz issues d'un broyage mécanique qui est différente de celle des particules du grain de riz résultant d'une attaque par les ravageurs primaires et qui sont beaucoup plus fines ; c'est pour cela que la larve préfère probablement consommer son exuvie plutôt que les grains de riz, d'ailleurs, les résultats relatifs à la fécondité des femelles, le taux d'émergence et la longévité des adultes confirment cette hypothèse.

Par ailleurs, le taux d'émergence des adultes est faible dans le riz (35%) et plus élevé dans la semoule et l'avoine, avec respectivement 59 et 68%. Les travaux de Beckel et *al.* (2007) sur le blé concassé, à différents degrés de mouture (5, 9, 11, 20) et sur le grain entier, ont montré que le maximum d'individus d'*O. surinamensis* est obtenu dans le régime à blé le plus fin, avec 200 adultes contre 7.75 adultes dans le grain entier. Ce résultat est très logique et attendu, étant donné que cet insecte est un ravageur secondaire.

D'autre part, Weston et Rattlingourd (2000) rapportent qu'*O. surinamensis* produit plus de progéniture sur le maïs infesté par l'alucite des céréales *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera : Tineidae) durant 6 mois, comparativement aux grains entiers de maïs infestés depuis 3 mois et le maïs broyé. Ils ont attribué ces résultats à la richesse du substrat en protéines, lipides et vitamines que contient le noyau, du fait que les larves de *S. cerealella* préfèrent et dégradent l'endosperme, puisque ce sont des ravageurs primaires.

Au contraire, Astuti et *al.* (2018) mentionnent que le taux d'émergence des adultes est plus important sur les grains de riz entier, comparativement à leurs farines. Il varie entre 12.7

et 24.5 individus sur le grain de riz entier (blanc, rouge et noir) alors qu'il est faible dans leurs farines, ne dépassant pas 5.5 adultes.

Nous avons également noté une longévité plus importante chez les individus nourris d'avoine, soit  $186.18 \pm 21.13$  jours, en moyenne, comparativement aux adultes élevés sur d'autres substrats. Cependant, cette durée reste faible comparée à celle observée par Beckel et *al.* (2007) qui ont constaté que sur le blé finement concassé, les adultes d'*O. surinamensis* peuvent vivre plus longtemps, jusqu'à 450 jours.

Nous supposons que l'importance de la longévité du silvain dans l'avoine, par rapport aux autres substrats, est liée à sa valeur nutritionnelle élevée et indispensable au bon développement de l'insecte. D'après Armstrong et Howe (1963, in Beckel et *al.*, 2007), une population d'*O. surinamensis* nourrie de germe de blé, riche en vitamines et lipides, présente une longévité élevée par rapport à celle qui s'alimente d'endosperme de grain de blé concassé.

Par ailleurs, la fécondité des femelles du silvain varie également de façon très hautement significative selon la nature du substrat ; elle est plus élevée dans l'avoine,  $7.03 \pm 0.69$  œufs et faible dans la semoule et le riz,  $4.69 \pm 0.35$  et  $0.44 \pm 0.12$  œufs, respectivement.

Ces résultats nous laissent penser que le riz ne constitue pas une nourriture adéquate pour le développement du silvain dentelé, mais qu'il pourrait être juste un substrat de transition utilisé par l'insecte comme une stratégie afin de survivre. Cette hypothèse a été déjà posée par d'autres auteurs sur d'autres substrats, à l'instar de Nika et *al.* (2020) qui ont remarqué que lorsque le silvain est exposé à une multitude de substrats (semoule, blé concassé, farine de maïs, farine d'orge entière et gain d'orge concassé), il opte pour certains aliments plutôt que pour d'autres. D'ailleurs, ils ont constaté que la fécondité la plus élevée d'*O. surinamensis* est enregistrée sur le maïs concassé (4.8 œufs/femelle) et les flocons d'avoine (0.3 œufs/femelle). Selon ces mêmes auteurs, les autres substrats ne conviennent pas au développement de l'insecte, par conséquent, ils servent juste à sa dispersion.

Par ailleurs, lorsque l'insecte n'a pas une multitude de choix, à l'instar des tests réalisés par Beckel et *al.* (2007) sur des grains de blé, concassés à différents degrés, la variation du nombre d'œufs pondus est attribuée à sa granulométrie. Ainsi, le maximum d'œufs est pondus dans le blé le plus fin (352.1 œufs) contre 17.2 œufs dans le grain entier.

Par contre, sur le riz, Astuti et *al.* (2018) rapportent que les femelles pondent préférentiellement dans les grains entiers de riz (23.8 à 150.4 œufs) que dans leurs farines (1.6

à 16.8 œufs). Klys et Przystupinska (2015) expliquent que le grain entier de riz facilite la mobilité des insectes et fournit un abri parmi les grains pour pondre leurs œufs. Cet avis est soutenu par Wheeler (2009), cité par Astuti et *al.* (2018), qui souligne que l'emplacement inapproprié ou l'absence d'un support convenable pour la ponte influe sur le métabolisme des insectes ; il empêche la production d'hormones qui stimulent la maturation des ovules, ce qui entraîne le report du processus de ponte. Ce retard pourrait alors ralentir la production d'œufs et déclencher leur résorption. Ces conditions entraînent une pré-oviposition plus longue et une reproduction réduite dans les aliments farinés, confirmant ainsi nos résultats.

Delobel et Tran (1993) ajoutent d'autres facteurs qui peuvent influencer la fécondité des femelles de ce ravageur comme la densité des populations et la nature de la nourriture fournie aux adultes. Pour Trematerra et *al.* (2016), les composés volatils émis par les aliments, les indices tactiles, olfactifs et gustatifs peuvent être aussi impliqués dans le processus de ponte des femelles. Cette constatation soutient celle de Delobel et Tran (1993) qui mentionnent la présence de composés fortement attractifs pour *O. surinamensis* dans l'avoine, comme le nonanal, le (E)-2-nonéanal et le (E.E)-2, 4-nonadiéanal.

Durant cette investigation, nous avons pu constater que le développement d'*O. surinamensis* dépend de la nature du substrat sur lequel il se développe ; le cycle est plus court sur la semoule, comparativement à l'avoine et le riz. Le substrat a également un impact sur le taux d'émergence des adultes mais semble ne pas agir sur le taux d'éclosion des œufs et le sex-ratio. Sur l'avoine, la longévité des adultes et la fécondité des femelles sont nettement plus importantes, comparativement aux deux autres substrats. L'étude de différents paramètres de développement d'*O. surinamensis* nous a apporté des renseignements sur l'ampleur de la densité des populations qui est utile pour estimer les dégâts que peut causer cet insecte aux denrées alimentaires entreposées afin de mener une lutte adéquate.

*Chapitre V*  
*Activité biologique des*  
*huiles essentielles*

## 1. Introduction

Durant des siècles, les insecticides botaniques ont été utilisés dans les pratiques traditionnelles pour protéger les produits stockés ou pour repousser les ravageurs des habitations humaines, c'est le cas par exemple du pyrèthre, de la roténone et du neem et des huiles essentielles (Isman et Machial, 2006).

Ainsi, il a été démontré que les huiles essentielles et leurs constituants possèdent un potentiel de développement comme nouveaux fumigants et peuvent présenter des avantages par rapport aux fumigants conventionnels, comme leur faible toxicité pour les mammifères et leur faible impact sur l'environnement (Jayakumar et al., 2017).

Grâce aux progrès des méthodes d'analyse des huiles essentielles, il est possible actuellement d'isoler et d'identifier des composés auparavant inconnus; ce qui permet le développement de nouveaux mélanges pouvant avoir un effet additif ou synergique (Chiasson et Beloin, 2007).

C'est ce point que nous voulons aborder dans ce chapitre en testant cinq huiles essentielles et la combinaison de deux d'entre elles sur les adultes d'*O. surinamensis*, par fumigation et par répulsion.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Elevage de masse de l'insecte ravageur

La souche d'*O. surinamensis* utilisée dans les tests de toxicité provient des élevages de masse réalisés au laboratoire PSEMRVC de l'UMMTO. Les insectes sont mis dans des bocaux en verre contenant de la semoule moyenne, préalablement soumise à une température de 60°C durant une heure pour éliminer toute infestation éventuelle. Les élevages de masse sont entretenus dans une étuve réfrigérée obscure et réglée à une température de 30±1°C et une humidité relative de 50±5%. Les adultes utilisés dans les différents tests sont âgés entre 0 et 7 jours.

### 2.2. Matériel végétal

Les huiles essentielles testées sont extraites à partir de cinq plantes aromatiques disponible en Algérie et facilement cultivables, elles appartiennent à trois familles botaniques:

- ✿ Le faux poivrier, *S. molle* Linné (Anacardiacees) ;

- ✿ Le cyprès commun, *C. sempervirens* (Cupressacées) ;
- ✿ La lavande aspic, *L. latifolia*, le basilic tropical, *O. basilicum* et la menthe poivrée, *M. piperita* (Lamiacées).

Les deux huiles essentielles *S. molle* et *C. sempervirens* sont extraites à partir de plantes locales, à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger, les trois huiles essentielles (*L. latifolia*, *O. basilicum* et *M. piperita*) proviennent du laboratoire français Aroma Zone, elles ont été extraites par entraînement à la vapeur d'eau (Tableau 9).

**Tableau 9.** Huiles essentielles utilisées pour les tests de toxicité.

Nom vernaculaire	Nom scientifique	Pays d'origine	Partie extraite	Procédé d'extraction
<b>Faux poivrier</b>	<i>S. molle</i>	Algérie	Feuilles	Hydrodistillation type Clevenger
<b>Cyprès commun</b>	<i>C. sempervirens</i>	Algérie	Feuilles	Hydrodistillation type Clevenger
<b>Menthe poivrée</b>	<i>M. piperita</i>	France	Parties aériennes	Entraînement à la vapeur d'eau
<b>Lavande aspic</b>	<i>L. latifolia</i>	Espagne	Sommités fleuries	Entraînement à la vapeur d'eau
<b>Basilic tropical</b>	<i>O. basilicum</i>	Inde	Feuilles et fleurs	Entraînement à la vapeur d'eau

## 2.2.1. Description botanique des plantes

### 2.2.1.1. Faux poivrier, *S. molle*

#### ◆ Origine et description botanique

*Schinus molle*, appelé poivrier de Californie, est un arbre aromatique sauvage originaire des tropiques américains qui a été introduit et cultivé comme arbre de jardin d'ornement dans de nombreuses régions plus chaudes du monde (Olafsson et al., 1997 ; Abdel-Sattar et al., 2010). Il s'adapte à tous les climats et il est introduit dans le bassin méditerranéen (Belhamel et al., 2008).

Le faux poivrier est un arbre qui atteint 5 à 10 m de hauteur, à feuilles vertes persistantes et aromatiques, à ramure arrondie mesurant de 2 à 6 cm de longueur (Figure 28). Les fleurs sont jaunes verdâtres et disposées en panicules. Le fruit pisciforme est une baie de couleur rose mesurant environ 8 mm de diamètre ; aromatique, possède une saveur sucrée, épicée et piquante de poivre d'où son nom « faux poivrier » (Belot, 1978; Abdel-Sattar et al., 2010).

Le fruit de *S. molle* est utilisé en médecine populaire chinoise comme diurétique, tonique digestif, il soulage les douleurs de gaz et les hémorroïdes et il est appliqué sur les plaies ; il possède également des propriétés antioxydante, antibactérienne et antifongique (Belhamel et al., 2008 ; Bouhenna et al., 2020). Son huile essentielle peut être obtenue par hydrodistillation des feuilles et des fruits, avec un rendement de 1.2% et 1.8%, respectivement (Volpini-Klein et al., 2021).

#### ◆ Position systématique

Selon Cronquist (1981), la classification du faux poivrier est la suivante :

Règne :	Plantae
Sous-règne :	Viridiplantae
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Ordre :	Sapindales
Famille :	Anacardiaceae
Genre :	<i>Schinus</i>
Espèce :	<i>S. molle</i> L., 1753



**Figure 28.** Arbre du faux poivrier à gauche, rameaux et fruits à droite (Originale, 2023)

### 2.2.1.2. Cyprès commun, *C. sempervirens*,

*Cupressus sempervirens* est appelée cyprès vert, cyprès de Florence ou cyprès de Provence.

#### ◆ Origine et description botanique

Le cyprès vert *Cupressus sempervirens* est originaire de l'Est du Bassin méditerranéen (Chypre, Syrie et Iran) mais il pousse en Turquie et en Inde et il est cultivé sur tout le pourtour méditerranéen (Iserin, 2001 ; Riou-Nivert, 2001 ; Manivannan et *al.*, 2005).

*C. sempervirens* est un arbre de la famille des Cupressacées, il est caractérisé par ses feuilles persistantes, de couleur vert foncé avec des cônes mâles et femelles ronds gris brunâtre (Figure 29) (Manivannan et *al.*, 2005 ; Jahani et *al.*, 2019). Il est de forme élancé et conique, ses rameaux sont courts, anguleux (à 4 angles), de couleur vert grisâtre et insérés à angle droit et recouverts de feuilles écailleuses (Riou-Nivert, 2001). Ses branches sont ramifiées, dressées et disposées en une longue cime pyramidale. C'est un arbre résistant à la sécheresse (600 mm/an), au froid (en dessous de 15°C) et moyennement exigeant en lumière (Bartels, 1998 ; Riou-Nivert, 2001). La récolte des cônes et des branches se fait au printemps (Iserin, 2001).

Il est utilisé pour l'ornementation dans les jardins et comme brise-vent ; son bois est exploité dans la confection des meubles (Riou-Nivert, 2001 ; Manivannan et *al.*, 2005). D'après Bellakhdar (1997), sa résine est très utilisée, par voie orale, contre la toux et les affections thoraciques. Les différentes parties de la plante sont antibactériennes et anti-inflammatoires, l'huile essentielle de ses feuilles a des propriétés antimicrobiennes et insecticides (Manivannan et *al.*, 2005 ; Almadiy, 2021).

#### ◆ Position systématique

Selon Cronquist (1981), la classification du Cyprès commun est la suivante :

Règne :	Plantae
Sous-règne :	Viridiplantae
Division :	Pinophyta
Classe :	Pinopsida
Ordre :	Pinales
Famille :	Cupressaceae
Genre :	<i>Cupressus</i>
Espèce :	<i>C. sempervirens</i> L., 1735



**Figure 29.** Cyprès vert à gauche, rameau et cônes à droite (Originale, 2023)

### 2.2.1.3. Menthe poivrée, *Mentha piperita*

#### ◆ Origine et description botanique

La menthe poivrée est une plante très prisée par les Grecs et les Romains, elle était populaire en Europe occidentale au XVIII<sup>e</sup> siècle ; ses feuilles séchées ont été trouvées dans les pyramides égyptiennes datant du I<sup>er</sup> millénaire av. J.C. (Teuscher et *al.*, 2005). La menthe poivrée est cultivée en Europe, en Asie et en Amérique du Nord (Iserin, 2001). Cette plante existe à l'ouest d'Oran (Quezel et Santa, 1963) et en Kabylie (Taleb-Toudert, 2015).

*Mentha piperita* est une plante annuelle vivace, serratifoliée, subspontanée, aux tiges carrées violacées, à odeur très forte de menthol et peut atteindre jusqu'à 80 cm de haut (Figure 30) (Iserin, 2001), les feuilles sont lancéolées, de couleur vert foncé, parfois pourprées, à face inférieure terne ; les fleurs lilas sont en grappe de couleur jaune, les bractées florales sont plus longues que le calice, étalées à angle droit sur l'axe de l'inflorescence, les graines sont anguleuses. Elle est cultivée sur des terrains argileux au printemps et récoltée en été juste avant la floraison (Quezel et Santa, 1963; Iserin, 2001 ; Schauenberg et Paris, 2008). D'après Ait Youcef (2006), la menthe poivrée est un hybride souvent cultivé de la menthe aquatique

(*M. aquatica* L.) et de la menthe verte (*M. spicata* L.) qui ont des vertus médicinales semblables.

La menthe est antispasmodique, carminative, cholagogue, tonique, stimulante, excitante et aphrodisiaque à forte dose (Schauenberg et Paris, 2008). Elle est surtout efficace pour soigner les troubles de la digestion tels que les nausées et les ballonnements (Iserin, 2001). Son huile essentielle à menthol est un aromatique rafraichissant, le menthone est encore plus puissant ; à l'échelle industrielle, le menthol est extrait de la menthe du Japon, *M. japonica*, qui en contient 92% (deux litres d'essence sont obtenus à partir de 300 kg de feuilles) (Schauenberg et Paris, 2008).

#### ◆ Position systématique

D'après Cronquist (1981), la menthe poivrée est classée comme suit :

Règne :	Plantae
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiaceae
Genre :	<i>Mentha</i>
Espèce :	<i>M. piperita</i> L., 1753.



**Figure 30.** *Mentha piperita* (Hammoutene et Ben Ouarab, 2022)

#### 2.2.1.4. Lavande aspic, *Lavandula latifolia*

*Lavandula latifolia* Vill (= *Lavandula spica* DC.) est souvent appelée lavande aspic (Ait Youcef, 2006).

### ◆ Origine et description botanique

D'après Lis-Balchin (2002), trente-deux (32) espèces du genre *Lavandula* ont été décrites. Originaire du Sud-Ouest et Sud de l'Europe centrale, le genre *Lavandula* s'étend des Îles Canaries, du Sud-Ouest asiatique, de la Péninsule arabique et tropicale jusqu'à l'Inde, les Iles du Cap Vert et de Madère (Portugal), le long du bassin méditerranéen et l'Afrique du Nord. Guitton (2010) a signalé la présence de six espèces du genre *Lavandula* d'origine algérienne qui sont : *L. stoechas* ssp. *stoechas*, *L. antinea*, *L. coronopifolia*, *L. dentata*, *L. multifida* et *L. saharica*.

D'après Guitton (2010), l'aire de distribution de la lavande aspic est l'Europe (France, Italie et l'Espagne). En revanche, Ait Youcef (2006) a signalé sa présence au Maroc.

La lavande aspic est un arbuste de 50 à 100 cm de haut, ses feuilles sont grises, linéaires-lancéolées et persistantes (Figure 31). La tige d'inflorescence est nettement ramifiée et forme généralement un épi floral en forme de trident, atteignant 25 cm de haut ; la corolle est fortement symétrique bilatéralement et de couleur bleue à mauve. La floraison a lieu vers mi-juillet, plus tardivement par rapport à *L. angustifolia* (Lis-Balchin, 2002).

### ◆ Position systématique

Selon Cronquist (1981), la classification de lavande aspic est la suivante :

Règne : Plantae  
 Division : Magnoliophyta  
 Classe : Magnoliopsida  
 Ordre : Lamiales  
 Famille : Lamiaceae  
 Genre : *Lavandula*  
 Espèce : *L. latifolia* Medik., 1784

#### 2.2.1.5. Basilic tropical, *Ocimum basilicum*

*Ocimum basilicum* var. *basilicum* est appelé aussi basilic exotique.

### ◆ Origine et description botanique

Le basilic provient du mot grec *basileus* (= roi), c'est une plante originaire de l'Asie, de l'Indonésie et de l'Inde. Introduite dans toutes les régions tropicales et subtropicales, elle est facilement cultivée dans la plupart des régions tempérées chaudes, en climat méditerranéen,

dans les pays du Maghreb (en Kabylie), elle est cultivée aussi en pleine terre, principalement dans les jardins (Iserin, 2001 ; Ait Youssef, 2006 ; Künkele et Lobmeyer, 2007 ; Schauenberg et Paris, 2008).



**Figure 31.** *Lavandula latifolia* (Künkele et Lobmeyer, 2007)

Le basilic est une plante vivace annuelle, fortement aromatique à saveur épicée, formant une touffe dense, haute de 20 à 50 cm et à fleur blanche ou rosée (Figure 32) (Schauenberg et Paris, 2008). Il appartient à la famille des Lamiacées qui compte 150 espèces recensées à travers le monde (Iserin, 2001). Le fruit est ovoïde, de couleur brune et contient des graines noires, luisantes, dont la surface est finement réticulée (Ait Youssef, 2006). D'après Teuscheur et *al.* (2005), la récolte se fait lorsque les feuilles se fanent. La période de floraison s'étale de juin à septembre (Künkele et Lobmeyer, 2007).

Le basilic est cultivé dans le monde entier pour son odeur aromatique puissante et son huile essentielle (Iserin, 2001). Il est un antispasmodique gastrique, un tonique stomachique, carminatif et galactogène. Son usage culinaire comme condiment est largement répandu (Schauenberg et Paris, 2008). Cette plante était utilisée par les Romains pour combattre les flatulences, favoriser la montée de lait ainsi que comme antidote et comme diurétique (Iserin, 2001).

#### ◆ Position systématique

Selon Cronquist (1981), la classification du basilic tropical est la suivante :

Règne :        Plantae  
Division :    Magnoliophyta  
Classe :       Magnoliopsida  
Ordre :        Lamiales

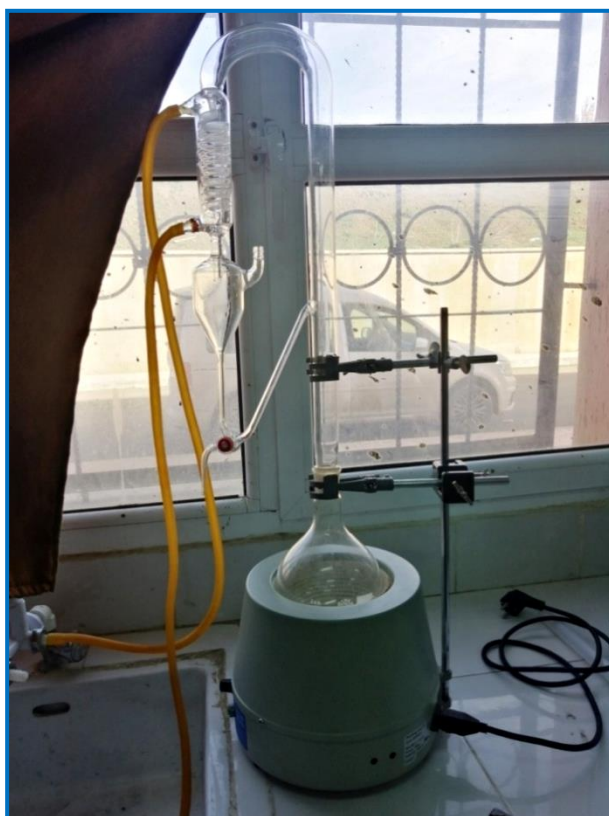
Famille : Lamiaceae  
Genre : *Ocimum*  
Espèce : *O. basilicum* L., 1753.



**Figure 32.** *Ocimum basilicum basilicum* (Anonyme, 2023)

### 2.2.2. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles de *S. molle* et de *C. sempervirens* ont été extraites par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif du type Clevenger (Figure 33), dans le laboratoire de chimie de l'université Akli Mohand Oulhadj de Bouira en 2017, selon les étapes suivantes :



**Figure 33.** Dispositif d'extraction des huiles essentielles de type Clevenger (Originale, 2023)

### 2.2.2.1. Collecte et séchage

Les deux plantes sont collectées dans la région de Bouira entre octobre et décembre 2017. Au laboratoire, elles sont lavées, séchées dans une étuve à 60°C pendant 24h, puis broyées et conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité.

### 2.2.2.2. Extraction des huiles essentielles

Une quantité de 40g de poudre végétale est versée dans un ballon d'un litre de volume rempli à  $\frac{3}{4}$  d'eau distillée et porté à ébullition durant quatre heures de temps. Le mélange de vapeurs d'eau et d'huile essentielle est refroidi dans un réfrigérant, puis condensé. Deux couches sont obtenues, une épaisse et dense, c'est l'hydrolat, l'autre moins dense et fine, c'est l'huile essentielle. Celle-ci est récupérée à l'aide d'une seringue et conservée dans un flacon opaque à une température de 4°C afin d'éviter sa dénaturation.

### 2.2.3. Analyse chromatographique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles a été déterminée au Centre de Recherche des Analyses Physicochimiques (CRAPC) de Bousmail, Tipaza (Algérie) à l'aide d'un appareil CG/MS (Figure 34).

L'appareil est muni d'un système informatisé Hewlett-Packard comprenant un chromatographe en phase gazeuse 6890 couplé à un spectromètre de masse 5973A. La colonne est de série HP-5MS (25m×0.25mm×0.25µm) programmée à une température de 45°C maintenue durant 8 min et progresse jusqu'à 250°C à raison d'une montée de 2°C/min, cette température est maintenue durant 10 min. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium avec un débit de 0.5 mL/min. Le temps de balayage et la plage de masse sont respectivement de 283 s et 50-550 m/z, la fragmentation est effectuée par un impact électronique sous un champ de 70 eV. Le volume d'huile essentielle injecté dans l'appareil est 2 µL dilué dans (5:100) de méthanol en mode split avec 1:80 de ratio.

L'identification des constituants est basée sur la comparaison de leurs temps de rétention (TR) avec ceux des échantillons authentiques ainsi que la comparaison de leurs indices de masse de rétention de leurs homologues de la série n-alkanes C<sub>8</sub>-C<sub>28</sub> (IR) avec ceux des composés standards des bases de données des bibliothèques MS NIST 20 et Wiley 07. Les

concentrations des composants sont représentées en pourcentage (%) et calculées en intégrant leurs aires de pic chromatographiques correspondantes à l'aide du logiciel ChemStation.



**Figure 34.** Appareil d'analyse CG/MS (CRAPC, 2023)

### 2.3. Test de toxicité par fumigation

La méthode adoptée est celle décrite par Papachristos et Stamopoulos (2002a) et modifiée par Kellouche et *al.* (2010).

Dans un bocal en verre de 150 mL, un disque de papier filtre (Whatman n°1) de 2 cm de diamètre est suspendu à l'aide d'un fil fixé à la face interne du couvercle. Des concentrations de 3, 6, 9, 12 et 15  $\mu\text{L/L}$  d'huile essentielle, diluées dans 0.2 mL d'acétone, correspondant aux concentrations de 20, 40, 60, 80 et 100  $\mu\text{L/L}$  d'air, sont déposées sur chaque disque. En ce qui concerne la combinaison *Mentha piperita* + *O. basilicum*, le rapport moitié dose de l'huile essentielle de menthe et moitié dose de l'huile essentielle de basilic a été considéré.

Dix couples d'adultes d'*O. surinamensis*, âgés de 0 à 7 jours, sont introduits dans le bocal contenant 1 g de semoule fine. Parallèlement, un témoin non traité avec l'huile essentielle est réalisé (papier filtre traité uniquement avec 0.2 mL d'acétone). Quatre répétitions sont réalisées pour chaque dose et pour le témoin (Figure 35). Le dénombrement des individus morts est effectué après 24, 48, 72 et 96h d'exposition pour chaque dose, chaque répétition et pour le témoin.



**Figure 35.** Dispositif expérimental du test par inhalation (Originale, 2023)

#### 2.4. Calcul des $CL_{50}$ , $CL_{90}$ et $TL_{50}$

Les concentrations létales  $CL_{50}$  et  $CL_{90}$  sont déterminées pour le test d'inhalation après 24 h d'exposition à chacune des huiles essentielles étudiées.

La mortalité corrigée (**Mc**) est calculée à partir des mortalités observées (**Mo**) en tenant compte de la mortalité naturelle du lot témoin (**Mt**) en utilisant la règle d'Abbott (1925):

$$Mc\% = [(Mo - Mt) / (100 - Mt)] \times 100.$$

Pour chaque huile essentielle, une équation de la droite de régression est réalisée, en transformant les mortalités corrigées en probits et les doses en logarithme décimal des doses.

#### 2.5. Test de répulsion

Ce test est réalisé en adoptant la méthode de Jilani et Saxena (1990). Elle consiste à mettre dans une boîte de Pétri en plastique (90 mm de diamètre et 15 mm de hauteur), un disque de papier Whatman n°1 coupé en deux parties égales ; une partie est imbibée de 0.5 mL d'acétone, l'autre partie est traitée avec les doses 3, 6, 9, 12 et 15  $\mu$ L d'huile essentielle, dont chacune est diluée dans 0.5 mL d'acétone. Une fois l'acétone évaporée, les deux parties sont reconstituées et mises au fond de la boîte de Pétri. Dix couples d'*O. surinamensis* sont ensuite introduits au centre de chaque boîte. Quatre répétitions sont réalisées pour chaque dose. Après une demi-heure de traitement, le dénombrement des individus est effectué sur chaque demi-disque.

Le pourcentage de répulsion PR est calculé selon la formule de Nerio et *al.* (2009):

$$PR(\%) = [(N_T - N_H) / (N_T + N_H)] \times 100.$$

Où :

$N_T$  : nombre d'individus présents dans la partie traitée avec l'acétone uniquement (Témoin).

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

Le pourcentage de répulsion moyen est attribué à l'une des différentes classes, de 0 à V, décrites par Mc Donald et *al.* (1970) (Tableau 10).

**Tableau 10.** Pourcentage de répulsion selon le classement de Mc Donald et *al.* (1970).

Classe	Intervalle de répulsion (%)	Propriété
<b>0</b>	$PR \leq 0.1$	Très faiblement répulsive
<b>I</b>	$0.1 < PR \leq 20$	Faiblement répulsive
<b>II</b>	$20 < PR \leq 40$	Modérément répulsive
<b>III</b>	$40 < PR \leq 60$	Moyennement répulsive
<b>IV</b>	$60 < PR \leq 80$	Répulsive
<b>V</b>	$80 < PR \leq 100$	Très répulsive

## 2.6. Analyse des données

Les résultats obtenus sont représentés par la moyenne de quatre à cinq répétitions  $\pm$  l'écart type moyen lié à la moyenne (SEM). Puisque la normalité des données n'est pas vérifiée, les résultats obtenus pour les différents paramètres étudiés sont soumis au test de Kruskal-Wallis en utilisant le logiciel R version 4.03 et JASP 0.16 (2021). Dans le cas où la différence est significative, des comparaisons binaires sont effectuées en utilisant le test de Wilcoxon, au seuil de signification de 5%.

Les déterminations des  $CL_{50}$ ,  $CL_{90}$  et  $TL_{50}$  sont effectuées à l'aide de la méthode d'analyse des probits en utilisant le logiciel SPSS version 26 (2019).

### 3. Résultats

#### 3.1. Résultats de l'analyse chromatographique des huiles essentielles

##### 3.1.1. Huiles essentielles de cyprès vert et faux poivrier

L'analyse chromatographique des huiles essentielles de *S. molle* et de *C. sempervirens* par CG/MS (Tableau 11) nous a permis d'identifier 35 composés dans l'huile essentielle de *S. molle* et 33 dans celle de *C. sempervirens*, représentant respectivement, 94.13% et 93.67% de la composition chimique totale.

En effet, près de la moitié des composants des deux huiles essentielles correspondent à des sesquiterpènes oxygénés, avec respectivement, 48.09% et 49.63%, suivis de monoterpènes hydrogénés avec 25.95% pour *S. molle* et 20.56% pour *C. sempervirens*.

Les composés majoritaires de l'huile essentielle de *S. molle* sont le  $\beta$ -eudesmol (15.19%), l'elemol (13.97%), le *D*-limonene (9.89%) et le spathulenol (9.33%) et ceux de l'huile essentielle de *C. sempervirens* sont le cedrol (44.81%), l' $\alpha$ -pinène (15.71%) et le *neoiso*-Dihydrocarveol acetate (9.7%).

**Tableau 11.** Composition chimique des huiles essentielles de *S. molle* et *C. sempervirens* analysées par CG/MS (TR : Temps de Rétention; RI : Indice de Rétention).

	TR	IR	Pourcentage (%)	
			<i>S. molle</i>	<i>C. sempervirens</i>
$\alpha$ -Pinene	7.98	930	2.91	15.71
Camphene	8.63	943	-	0.18
Sabinene	10.11	971	0.06	0.07
$\beta$ -Pinene	10.25	974	0.05	0.19
$\beta$ -Myrcene	11.24	993	0.40	0.10
$\alpha$ -Phellandrene	12.1	1007	3.57	0.15
$\delta$ -3-Carene	12.3	1010	0.21	1.28
<i>p</i> -Cymene	13.3	1025	1.14	1.13
<i>D</i> -Limonene	13.7	1031	9.89	-
$\beta$ -Phellandrene	13.9	1034	7.72	1.75
<b>Monoterpènes hydrocarbonés</b>			<b>25.95</b>	<b>20.56</b>
Terpinen-4-ol	24.09	1180	-	0.67
<i>p</i> -Cymen-8-ol	24.96	1193	-	0.47
<i>p</i> -Cymen-9-ol	25.30	1198	-	0.55
4-Methylene Isophorone	26.46	1215	-	0.26

Isobornyl acetate	31.34	1287	-	0.25
3-Thujanol acetate	32.23	1300	-	1.15
<i>Cis</i> -Pinocarvyl acetate	32.7	1307	0.36	-
( <i>Z</i> )-Patchenol	33.66	1322	-	0.30
Piperitenone	35.03	1343	0.84	-
$\alpha$ -Terpinyl acetate	35.13	1345	-	0.57
<i>neoiso</i> -Dihydrocarveol acetate	36.07	1359	-	9.70
<b>Monoterpènes oxygénés</b>			<b>1.2</b>	<b>13.92</b>
$\delta$ -Elemene	34.53	1335	0.74	-
$\alpha$ -Cubebene	35.28	1347	0.15	0.90
$\alpha$ -Ylangene	36.95	1373	0.14	0.33
$\beta$ -Bourbonene	37.59	1383	-	0.31
$\beta$ -Elemene	38.2	1392	1.45	-
$\alpha$ -Gurjunene	39.08	1406	0.41	-
$\alpha$ -Cedrene	39.36	1411	-	2.80
( <i>E</i> )-Caryophyllene	39.74	1417	0.64	0.96
$\gamma$ -Elemene	40.88	1436	2.86	-
<i>Allo</i> -Aromadendrene	42.23	1458	0.49	-
Germacrene D	43.33	1476	0.41	1.04
$\alpha$ -Amorphene	43.54	1479	0.16	-
$\beta$ -Selinene	43.83	1484	0.32	-
$\beta$ -Vetispirene	44.16	1489	0.18	0.58
$\alpha$ -Selinene	44.65	1497	2.57	-
$\alpha$ -Muuroolene	44.90	1501	1.19	0.74
$\gamma$ -Cadinene	45.65	1512	0.63	1.00
$\delta$ -Cadinene	46.45	1524	6.29	-
$\alpha$ -Cadinene	47.03	1532	0.26	-
$\beta$ -Vetivenene	48.45	1553	-	0.9
<b>Sesquiterpènes hydrocarbonés</b>			<b>18.89</b>	<b>9.56</b>
Elemol	48.00	1547	13.97	-
( <i>E</i> )-Nerolidol	48.86	1560	0.38	-
Spathulenol	50.00	1576	9.33	-
Caryophyllene oxide	50.55	1584	0.86	1.22
Cedrol	51.42	1597	-	44.81
$\beta$ -Atlantol	51.75	1603	-	1.70
$\gamma$ -Eudesmol	52.91	1629	5.08	-
<i>Epi</i> - $\alpha$ -Muurolol	53.45	1641	3.28	-
$\beta$ -Eudesmol	54.1	1656	15.19	-
14-Hydroxy-( <i>Z</i> )Caryophyllene	54.64	1668	-	1.06
Acorenone	55.81	1560	-	0.84
<b>Sesquiterpènes oxygénés</b>			<b>48.09</b>	<b>49.63</b>

<b>Nombre de composés</b>	<b>35</b>	<b>33</b>
<b>Total identifié</b>	<b>94.13</b>	<b>93.67</b>

### 3.1.2. Huiles essentielles des Lamiacées

La composition chimique des huiles essentielles analysées révèle 38 composés pour *M. piperita* et *L. latifolia* et 23 pour *O. basilicum* (Tableau 12).

Les monoterpènes oxygénés représentent la fraction majoritaire de ces lamiacées avec des taux de 81.8%, 81.44% et 95.05% pour respectivement *M. piperita*, *O. basilicum* et *L. latifolia* ; quant aux autres composés, leurs taux varient entre 11.18% et 0.2% de la composition chimique totale.

Le menthol (24.45%) et le menthone (24.21%) sont les constituants majoritaires de *M. piperita*, suivis de l'isomenthone (11.92%). L'huile essentielle de *L. latifolia* est riche en linalol (38.55%), 1,8-cinéole (25.78%) et camphre (13.6%); alors que les composés majoritaires identifiés dans l'huile essentielle d'*O. basilicum*, sont l'estragol (71.11%) et le linalol (19.44%).

**Tableau 12.** Composition chimique des huiles essentielles de *M. piperita*, *L. latifolia* et *O. basilicum* analysées par CG/MS (TR : Temps de Rétention; RI : Indice de Rétention).

Composés	TR	IR	Pourcentage (%)		
			<i>M. piperita</i>	<i>L. latifolia</i>	<i>O. basilicum</i>
4-Hydroxy-4-methyl-Pentan-2-one	4.5	839	-	0.02	-
2,5-Diethyltetrahydrofuran	6.4	898	0.06	-	-
3-Methylcyclohexanone	9.53	947	0.11	-	-
trans-meta-Menta-2,8-diene	11.94	983	0.01	-	-
Octano-3-ne	12.35	990	-	0.02	-
6-Methyl-5-heptene-2-one	12.44	991	-	-	0.16
1,8-Cinéole	15.16	1029	8.78	25.78	0.49
cis-Sabinene hydrate	18.45	1073	0.11	-	-
cis-Linalooloxide (furanoid)	18.55	1074	-	0.28	0.68
trans-Linalooloxide (furanoid)	19.39	1085	-	0.29	0.58
trans- Sabinene hydrate	20.67	1102	-	0.05	-
Linalol	21.23	1110	-	38.55	19.44
cis-p-Menth-2-en-1-ol	21.5	1114	0.02	-	-
Camphre	23.54	1141	-	13.60	-
Menthone	24.4	1153	24.21	-	0.21

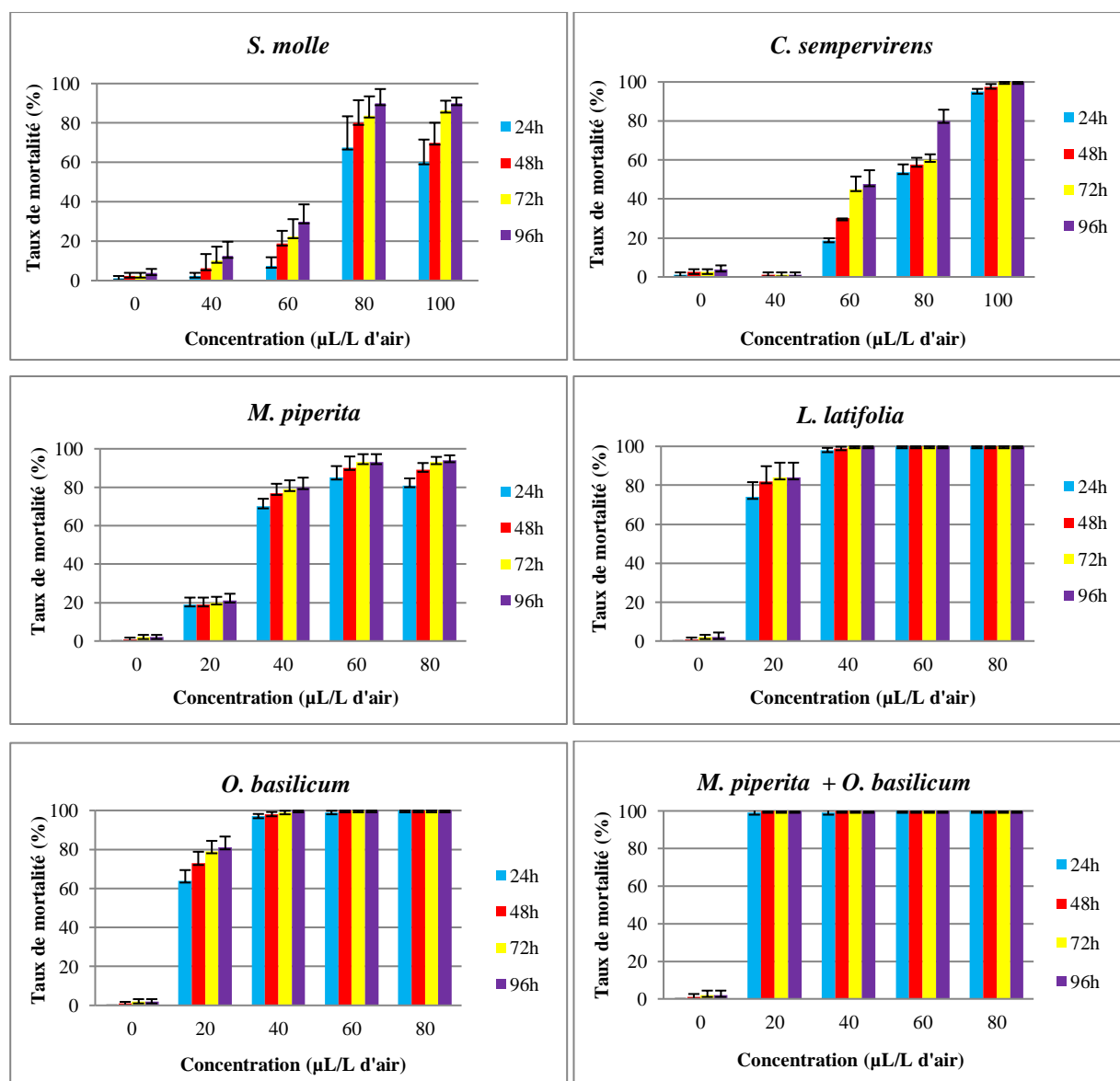
Citronellal	24.6	1155	-	0.25	-
Isopulegol	25.03	1161	-	0.07	-
Isomenthone	25.2	1164	11.92	-	-
Neoisopulegol	26.00	1174	0.55	-	-
Menthol	26.5	1181	24.45	-	-
Terpin-4-ol	26.7	1184	-	0.56	-
Hexylbutanoate	27.53	1195	-	0.07	-
Estragol	28.02	1202	-	3.29	71.11
Hexyl 2-methylbutanoate	30.46	1236	-	0.15	-
Pulegone	30.52	1237	2.55	-	-
Hexylisovalerate	30.91	1243	-	0.12	-
Anis aldehyde	31.5	1251	-	-	0.32
Piperitone	31.59	1252	0.59	-	-
Linalol acetate	31.78	1255	-	1.11	-
Geranial	32.89	1271	-	-	0.83
Neo-Menthylacetate	32.95	1272	0.53	-	-
trans-Anethol	34.12	1288	-	-	-
Isobornylacetate	34.2	1289	-	0.15	-
Menthylacetate	34.38	1292	7.68	-	-
Isomenthylacetate	34.98	1301	0.23	-	-
Hexyltiglate	36.91	1335	-	0.08	-
4-Methoxy cinnamaldehyde	51.71	1567	-	-	1.23
<b>Monoterpènes oxygénés</b>			<b>81.80</b>	<b>81.44</b>	<b>95.05</b>
Tricyclene	7.5	916	-	0.04	-
$\alpha$ -Thujene	7.98	923	0.08	0.03	-
$\alpha$ -Pinene	8.32	928	1.61	2.64	0.1
Camphene	9.15	941	0.05	0.68	-
Thuja-2.4(10)-diene	9.62	948	-	0.03	-
Sabinene	11.04	970	2.86	3.58	0.12
$\beta$ -Pinene	11.67	979	0.04	-	-
$\beta$ -Myrcene	12.57	993	0.44	0.41	-
Pseudolimonene	13.18	1002	0.09	-	-
$\alpha$ -Terpinene	14.1	1014	0.32	-	-
(Z)- $\beta$ -Ocimene	16.11	1041	0.18	-	-
(E)- $\beta$ -Ocimene	16.81	1051	0.05	-	0.18
$\gamma$ -Terpinene	17.31	1057	0.61	-	-
Terpinolene	19.7	1089	0.14	0.05	-
<b>Monoterpènes hydrocarbonés</b>			<b>6.47</b>	<b>7.46</b>	<b>0.4</b>

$\alpha$ -Ylangene	39.00	1373	0.08	0.06	0.13
$\beta$ -Bourbonene	39.52	1382	0.29	0.11	-
$\alpha$ -Duprezianene	40.23	1395	-	0.02	-
$\beta$ -Elemene	40.3	1396	0.13	-	-
( <i>E</i> )-Caryophyllene	41.78	1418	6.83	2.61	0.41
<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamotene	42.96	1435	-	0.17	0.84
Aromadendrene	43.81	1447	0.22	0.03	-
$\alpha$ -Humulene	43.88	1448	-	-	0.14
( <i>E</i> )- $\beta$ -Farnesene	44.67	1459	0.41	0.27	0.19
$\gamma$ -Muurolene	45.64	1472	2.63	0.19	0.05
Germacrene D	46.52	1485	0.40	-	0.04
<i>cis</i> - $\alpha$ -Bisabolene	47.67	1501	-	-	0.09
$\gamma$ -Cadinene	48.33	1512	0.19	0.92	-
<i>trans</i> - $\gamma$ -bisabolene	49.71	1534	-	2.69	1.90
<b>Sesquiterpènes hydrocarbonés</b>			<b>11.18</b>	<b>7.06</b>	<b>3.79</b>
Linaloolisovalerate	45.21	1466	-	0.01	-
Caryophylleneoxide	52.12	1573	0.10	0.79	0.12
Globulol	53.46	1595	0.10	-	-
<b>Sesquiterpènes oxygénés</b>			<b>0.2</b>	<b>0.8</b>	<b>0.12</b>
<b>Nombre de composés</b>			<b>38</b>	<b>38</b>	<b>23</b>
<b>Total identifié</b>			<b>99.65</b>	<b>99.77</b>	<b>99.36</b>

### 3.2. Activité insecticide des huiles essentielles par fumigation

Les substances testées par fumigation affectent de façon très significative la mortalité des adultes d'*O. surinamensis* qui est huile et dose dépendante (Figure 36).

Les huiles essentielles de *S. molle* et *C. sempervirens* se sont montrées moins efficaces par rapport aux autres huiles essentielles testées, avec un maximum de mortalité avoisinant 90% pour *S. molle*, à la plus forte dose de 100  $\mu$ L/L et après 96 h d'exposition. Concernant *C. sempervirens*, le maximum d'efficacité de 100% est atteint à la plus forte dose de 100  $\mu$ L/L, après 72 h d'exposition. Par contre, une mortalité proche de 100% a été enregistrée pour les huiles essentielles de *L. latifolia* et *O. basilicum* à 40  $\mu$ L/L, dès 24 h. Pour le mélange (*M. piperita* et *O. basilicum*), le maximum d'efficacité (100%) est obtenu dès la plus faible dose de 20  $\mu$ L/L et après 2 4h d'exposition seulement. Notons que les taux de mortalité enregistrés dans les lots témoins sont presque nuls (Figure 36).



**Figure 36.** Taux de mortalité moyen (%) (Moyenne  $\pm$  SEM) des adultes d'*O. surinamensis* traités par fumigation avec différentes huiles essentielles à différentes concentrations et durées d'exposition.

Le test de Kruskal-Wallis, pour l'effet insecticide de chaque huile essentielle sur la mortalité des adultes d'*O. surinamensis*, révèle des différences très hautement significatives pour le facteur dose ( $p < 0.001$ ) (Tableau 13 et Annexe 5) et des différences non significatives pour le facteur temps d'exposition ( $p > 0.05$ ) (Tableau 13).

Ce même test ne montre aucune différence significative pour l'effet des huiles essentielles de *S. molle* et *C. sempervirens*, sur la mortalité des insectes ( $\chi^2 = 3150.5$ ,  $p = 0.87$ ,  $df = 1$ ) (Tableau 14). Par contre, il révèle des différences significatives pour l'effet des quatre huiles essentielles des Lamiacées (*M. piperita*, *L. latifolia*, *O. basilicum*) et la mixture (*M.*

*piperita* et *O. basilicum*) sur la mortalité des adultes d'*O. surinamensis* ( $\chi^2=53.585$ ,  $p < 0.001$ ,  $df=3$ ) (Tableau 14).

**Tableau 13.** Résultats du test de Kruskal-Wallis concernant l'effet des doses et temps d'exposition, par fumigation, sur la mortalité des adultes d'*O. surinamensis*.

	Facteur	$\chi^2$	<i>p</i>	df
<i>S. molle</i>	Dose	67.43	< 0.001	4
	Temps	2.32	0.51ns	3
<i>C. sempervirens</i>	Dose	72.72	< 0.001	4
	Temps	2.15	0.54ns	3
<i>M. piperita</i>	Dose	482.22	< 0.001	4
	Temps	0.23	0.97ns	3
<i>L. latifolia</i>	Dose	88.38	< 0.001	4
	Temps	0.04	0.99 ns	3
<i>O. basilicum</i>	Dose	87.74	< 0.001	4
	Temps	0.57	0.90 ns	3
<i>M. piperita</i> + <i>O. basilicum</i>	Dose	91.23	< 0.001	4
	Temps	0.35	0.95 ns	3

$p < 0.001$ , il y a une différence très hautement significative selon le test de Kruskal-Wallis, au seuil de 5%.

ns :  $p > 0.05$ , il y a une différence non significative selon le test de Kruskal-Wallis, au seuil de 5%.

**Tableau 14.** Résultats de l'analyse statistique de Kruskal-Wallis pour l'effet du traitement par fumigation sur les adultes d'*O. surinamensis*.

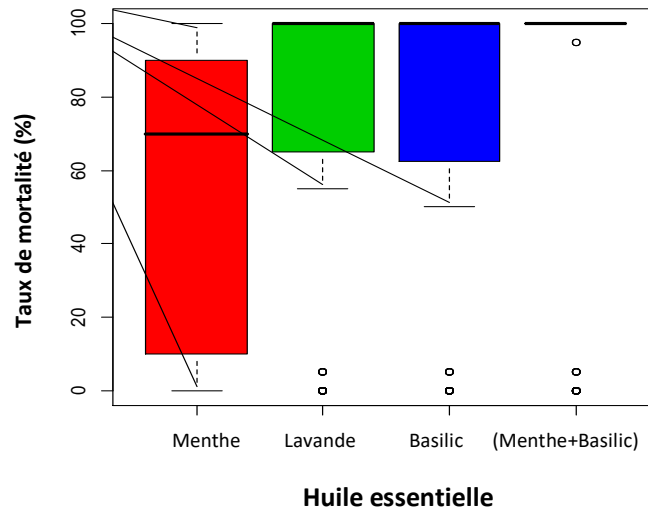
	$\chi^2$	<i>p</i>	df
<i>S. molle</i> et <i>C. sempervirens</i>	3150.5	0.87ns	1
<b>Huiles essentielles des Lamiacées</b>	53.585	< 0.001	3

$p < 0.001$ , il y a une différence très hautement significative selon le test de Kruskal-Wallis, au seuil de 5%.

ns :  $p > 0.05$ , il y a une différence non significative selon le test de Kruskal-Wallis, au seuil de 5%.

Par ailleurs, le test de comparaison des moyennes de Wilcoxon, au seuil de 5%, montre que l'ordre décroissant de toxicité des huiles essentielles (Figure 37) s'établit comme suit :

*M. piperita*+*O. basilicum* > *L. latifolia* > *O. basilicum* > *M. piperita*. En revanche, il n'y a pas de différence significative de toxicité entre l'huile essentielle de *L. latifolia* et celle d'*O. basilicum*.



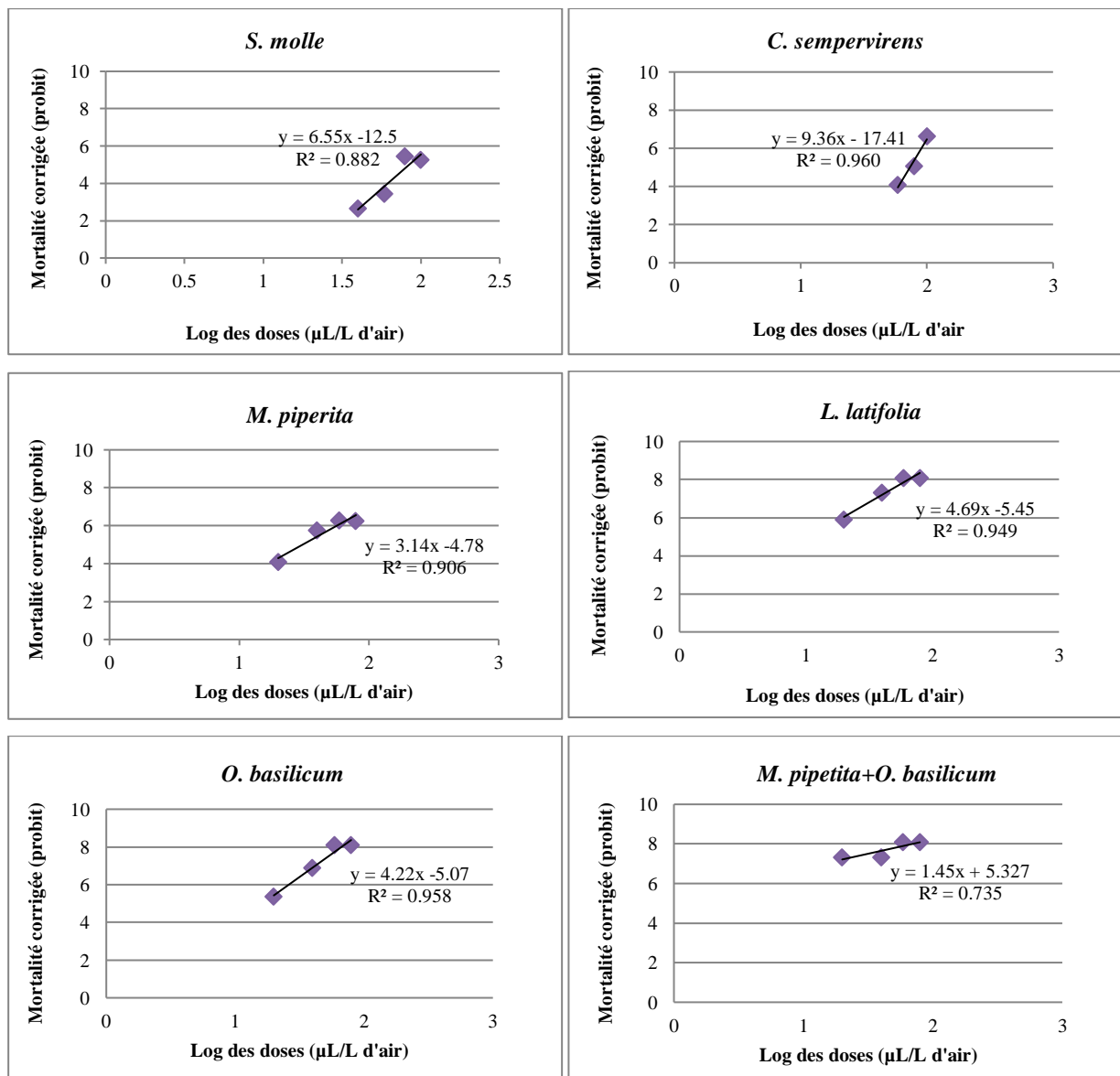
**Figure 37.** Boxplot mortalité-huile essentielle pour l'effet des quatre traitements, sur les adultes d'*O. surinamensis*, par fumigation

### 3.2.1. Estimation des $CL_{50}$ et $CL_{90}$ dans les tests par fumigation

Pour estimer les  $CL_{50}$  et  $CL_{90}$ , les courbes de régression établies ont permis d'obtenir les équations représentées pour chacune des huiles essentielles dans la figure 38 ci-dessous.

Celle-ci montre qu'il y a une forte corrélation positive entre la mortalité des adultes et le logarithme des doses pour toutes les huiles essentielles testées, avec un coefficient de corrélation  $R^2$  variant entre 0.74% pour la mixture *M. piperita* et *O. basilicum* et 0.96% pour le cyprès et le basilic.

Les résultats de l'analyse des probits montrent que les adultes d'*O. surinamensis* sont plus sensibles à la mixture (*M. piperita*+*O. basilicum*) par rapport aux autres huiles essentielles avec des  $CL_{50}$  et  $CL_{90}$  de 0.47  $\mu\text{L/L}$  et 4.04  $\mu\text{L/L}$ , respectivement. Les valeurs des  $CL_{50}$  et  $CL_{90}$  les plus élevées sont enregistrées pour l'huile essentielle de *S. molle* avec respectivement, 80.14  $\mu\text{L/L}$  et 120.35  $\mu\text{L/L}$  (Tableau 15).



**Figure 38.** Droites de régression de la mortalité des adultes d'*O. surinamensis* traités par fumigation avec différentes huiles essentielles à différentes doses en fonction de la durée d'exposition

**Tableau 15.** CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> des six traitements testés par fumigation à l'égard des adultes d'*O. surinamensis* après 24h d'exposition.

Traitement	CL <sub>50</sub> (µL/L) (95% LC)	CL <sub>90</sub> (µL/L) (95% LC)	Intercept	Slope	df	χ <sup>2</sup>
<i>S. molle</i>	80.14	120.35	-12.5	6.55	2	7.37 <sup>(b)</sup>
<i>C. sempervirens</i>	74.69 (55.90-97.13)	100.35 (83.22-309.06)	-16.03	8.77	2	14.13 <sup>(b)</sup>
<i>M. piperita</i>	32.93	83.59	-4.78	3.14	2	13.60 <sup>(a)</sup>
<i>L. latifolia</i>	14.86 (11.06-17.33)	26.99 (24.11-31.86)	-5.45	4.69	2	0.22 <sup>(b)</sup>
<i>O. basilicum</i>	16.66 (13.61-19)	31.41 (28.12-36.53)	-5.07	4.22	2	0.84 <sup>(b)</sup>
<i>M. piperita</i> + <i>O. basilicum</i>	0.47	4.04	5.33	1.45	2	1.22 <sup>(b)</sup>

<sup>(a)</sup> Lorsque le niveau de signification > 0.05, aucun facteur d'hétérogénéité n'est utilisé dans le calcul des limites de confiance (LC).

<sup>(b)</sup> Lorsque le niveau de signification < 0.05, un facteur d'hétérogénéité est utilisé dans le calcul de LC.

### 3.2.2. Estimation des TL<sub>50</sub> dans les tests par fumigation

Les résultats de l'analyse des probits des TL<sub>50</sub>, à la dose 80 µL, ont montré que les temps létaux les plus faibles des adultes d'*O. surinamensis* sont 1.8 h et 1.99 h obtenus respectivement, pour la mixture *M. piperita* et *O. basilicum* et l'huile essentielle de lavande. Le temps léthal le plus élevé est enregistré pour l'huile essentielle de la menthe poivrée (TL<sub>50</sub>>1000 h) (Tableau 16).

**Tableau 16.** Valeurs de la TL<sub>50</sub> des différents traitements par fumigation à l'égard des adultes d'*O. surinamensis*.

Traitement	TL <sub>50</sub> (h) (95% LC)	Intercept	Slope	df	χ <sup>2</sup>
<i>S. molle</i>	19.59 (9.87-27.06)	-1.96	1.51	2	9.29 <sup>(a)</sup>
<i>C. sempervirens</i>	25.65	-1.63	1.15	2	9.17 <sup>(b)</sup>
<i>M. piperita</i>	>1000	-1.05	0.11	2	0.04 <sup>(b)</sup>
<i>L. latifolia</i>	1.99 (0-10.425)	-0.16	0.61	2	0.34 <sup>(b)</sup>
<i>O. basilicum</i>	9.5 (0.36-19.47)	-0.87	0.89	2	0.05 <sup>(b)</sup>
<i>M. piperita</i> + <i>O. basilicum</i>	1.8	-	-	2	0.24 <sup>(b)</sup>

<sup>(a)</sup> Lorsque le niveau de signification > 0.05, aucun facteur d'hétérogénéité n'est utilisé dans le calcul des limites de confiance (LC).

<sup>(b)</sup> Lorsque le niveau de signification < 0.05, un facteur d'hétérogénéité est utilisé dans le calcul de LC.

### 3.3. Activité répulsive des huiles essentielles

Les résultats obtenus dans les tests par répulsion montrent que le nombre d'individus présents dans la partie non traitée (témoin) est supérieur à celui de la partie traitée et ce quelque soit l'huile essentielle utilisée. Le taux moyen de répulsion des huiles essentielles testées (Annexe 6 ; Figure 40), varie de  $77.5 \pm 4.33\%$ , enregistré pour l'huile essentielle de *C. sempervirens*, à la dose 12  $\mu\text{L}$ , à  $40 \pm 3.6\%$ , obtenu avec l'huile essentielle de *L. latifolia* à la dose 9  $\mu\text{L}$ .

Selon le classement de Mc Donald et al. (1970), les huiles essentielles de *S. molle*, *L. latifolia* et *O. basilicum* sont moyennement répulsives, avec des moyennes de répulsion variant entre  $50 \pm 4\%$  et  $57.5 \pm 2.62\%$ , alors que les huiles essentielles de *C. sempervirens*, *M. piperita* et la mixture (*M. piperita*+*O. basilicum*) sont répulsives avec des taux moyens de répulsion qui varient entre  $63.5 \pm 2.75\%$  et  $66.25 \pm 3.25\%$  (Annexe 6).

Les résultats du test statistique de Kruskal-Wallis pour l'activité répulsive des substances testées (Tableau 17) montrent une différence significative pour le facteur dose des huiles essentielles de *S. molle* ( $\chi^2=9.391$ ,  $p=0.025$ ,  $df=3$ ) et *L. Latifolia* ( $\chi^2=5.208$ ,  $p=0.011$ ,  $df=3$ ) et des différences non significatives pour les autres huiles essentielles.

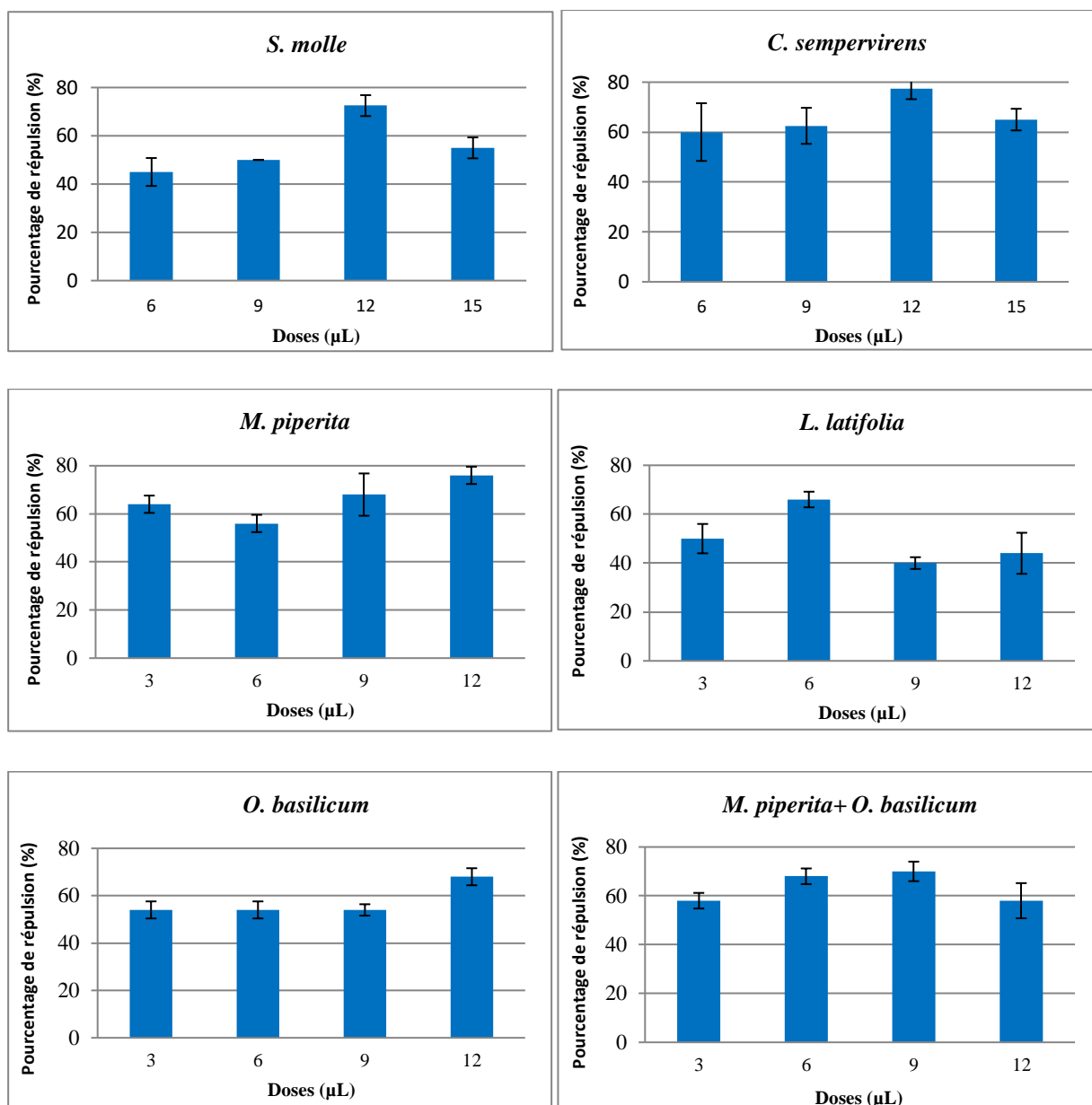
La comparaison de l'effet du traitement entre *S. molle* et *C. sempervirens* ne montre aucune différence significative ( $\chi^2=3.361$ ,  $p=0.067$ ,  $df=1$ ), pour les autres traitements (lamiacées), l'analyse révèle une différence hautement significative ( $\chi^2=12.89$ ,  $p=0.005$ ,  $df=3$ ) (Tableau 18).

**Tableau 17.** Résultats du test de Kruskal-Wallis pour l'effet dose des traitements sur la répulsion des adultes d'*O. surinamensis*.

Traitement	$\chi^2$	$p$	df
<i>S. molle</i>	9.391	0.025*	3
<i>C. sempervirens</i>	2.502	0.475ns	3
<i>M. piperita</i>	2.101	0.140ns	3
<i>L. latifolia</i>	5.208	0.011*	3
<i>O. basilicum</i>	6.163	0.104ns	3
<i>M. piperita</i> + <i>O. basilicum</i>	3.877	0.275ns	3

\* :  $p < 0.05$ , il y a une différence significative selon le test de Kruskal-Wallis, au seuil de 5%.

ns :  $p > 0.05$ , il y a une différence non significative selon le test de Kruskal-Wallis, au seuil de 5%.



**Figure 39.** Taux moyen de répulsion (%) (Moyenne±SEM; n=5×20 individus) pour chaque substrat testée (*S. molle*, *C. sempervirens*, *M. piperita*, *L. latifolia*, *O. basilicum* et (*M. piperita*+*O. basilicum*)) à l'égard des adultes d'*O. surinamensis*

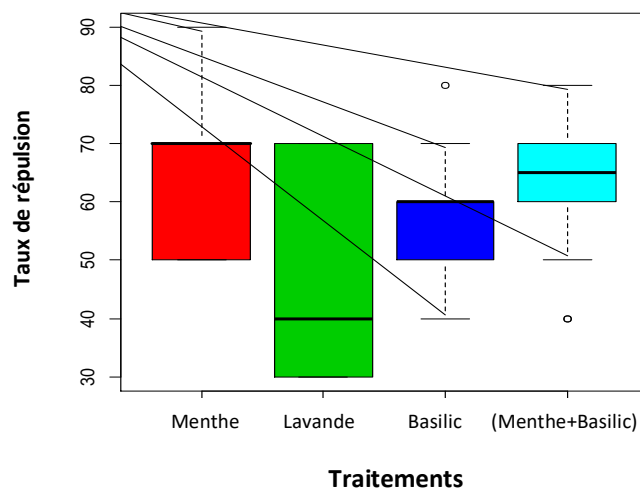
**Tableau 18.** Résultats de l'analyse statistique de Kruskal-Wallis pour l'effet traitement par répulsion sur les adultes d'*O. surinamensis*.

Traitement	$\chi^2$	<i>p</i>	df
<i>S. molle</i> et <i>C. sempervirens</i>	3.361	0.067ns	1
<b>Huiles essentielles des lamiacées</b>	12.89	0.005**	3

\*\* :  $p < 0.01$ , il y a une différence hautement significative selon le test de Kruskal-Wallis, au seuil de 5%.  
ns:  $p > 0.05$ , il y a une différence non significative selon le test de Kruskal-Wallis, au seuil de 5%.

Le test de comparaison des moyennes deux à deux de Wilcoxon, au seuil de 5%, montre que l'ordre décroissant de répulsion (Figure 40) est :

*M. piperita* > mixture *M. piperita*+*O. basilicum* > *O. basilicum* > *L. latifolia*. Cependant, ce test ne révèle pas de différence significative entre l'activité de l'huile essentielle de *M. piperita* et celle de la mixture *M. piperita* + *O. basilicum*.



**Figure 40.** Boxplot taux de répulsion-traitement de *M. piperita*, *L. latifolia*, *O. basilicum* et la mixture *M. piperita* + *O. basilicum*, sur les adultes d'*O. surinamensis*

## 4. Discussion

### 4.1. Composition chimique des huiles essentielles

Les résultats de l'analyse chromatographique révèlent que l'huile essentielle de *S. molle* (Anacardiaceae) et celle de *C. sempervirens* (Cupressaceae) sont riches en sesquiterpènes oxygénés, suivis de monoterpènes hydrocarbonés. En revanche, les huiles essentielles de la famille des Lamiaceae, *M. piperita*, *O. basilicum* et *L. latifolia*, sont quasiment constituées que de monoterpènes oxygénés.

Plusieurs travaux ont mis en évidence la richesse des huiles essentielles en composés monoterpéniques (Germinara et al., 2017; Bounoua-Fraoucene et al., 2019; Paw et al., 2020; Kheloul et al., 2021; Taleb-Toudert et Kellouche, 2021). Nos résultats sont similaires à ceux de Kheloul et al. (2021) qui ont montré que l'huile essentielle extraite à partir des fleurs de *L. latifolia* est constituée majoritairement de monoterpènes oxygénés, avec un taux de 91.81%. De même, Aissaoui et al. (2021) affirment que les huiles essentielles des Lamiaceae sont constituées majoritairement de monoterpènes oxygénés et que le taux de cette fraction est en

rapport avec la saison, d'ailleurs, l'huile essentielle des feuilles de *M. spicata* contenait 74.27% de monoterpènes oxygénés en automne et 57.9% en été.

Nos résultats (48.09% de sesquiterpènes oxygénés, 25.95% de monoterpènes hydrocarbonés et 18.89% de sesquiterpènes hydrocarbonés) sont proches de ceux obtenus par Bouhenna et al. (2020) qui ont montré que l'huile essentielle extraite à partir de feuilles de *S. molle* du nord algérien contient 57.8% de sesquiterpènes oxygénés et 31% de sesquiterpènes hydrocarbonés. En revanche, Volpini-Klein et al. (2021) ont mis en évidence la richesse de *S. molle* en monoterpènes avec des proportions variables selon l'organe de la plante, allant de 50.7% dans les feuilles à 70% dans les fruits.

Par ailleurs, nos résultats ont montré également que les huiles essentielles riches en sesquiterpènes oxygénés sont moins efficaces sur *O. surinamensis* par rapport aux huiles essentielles riches en monoterpènes oxygénés. Ceci peut être expliqué par la nature chimique et par les propriétés physiques de ces huiles essentielles. Ngamo et Hance (2007) affirment en effet que les huiles essentielles à haute teneur en monoterpènes hydrocarbonés sont très volatiles par rapport aux monoterpènes oxygénés, ce qui conduit à la réduction de leur efficacité insecticide. Les mêmes auteurs ajoutent qu'en plus de leurs propriétés insecticides, les monoterpènes retardent et inhibent la reproduction des insectes, diminuent leur longévité et ont une action anti appétante.

D'ailleurs, Regnault-Roger et Hamraoui (1995) et Guinoiseau (2010) affirment également que les caractéristiques des huiles essentielles sont en rapport avec leur composition, spécialement les dérivés terpénoïdes et phénylpropanoïdes et que les monoterpènes oxygénés (1,8-cinéole, linalol, estragol) sont plus actifs sur les insectes, que les monoterpènes hydrocarbonés ( $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinène, camphène). Par ailleurs, selon Shaaya et al. (1991) certaines huiles essentielles de la famille des Lamiacées ainsi que leurs composés majeurs, le linalol, l' $\alpha$ -terpinéol et le carvacrol, sont toxiques vis-à-vis d'*O. surinamensis*.

Les composés majeurs de l'huile essentielle du faux poivrier, récolté à Bouira, sont le  $\beta$ -eudesmol (15.19%), l'elemol (13.97%), le *D*-limonene (9.89%) et le spathulenol (9.33%). Ces résultats corroborent ceux obtenus par Bouhenna et al. (2020) dans une autre localité de la région d'Alger, avec 13.24% de  $\beta$ -eudesmol, 10.48% de cadinene, 9.82% de spathulenol et 8.06% d'elemol; par contre, ils diffèrent de ceux rapportés par Rouibi et al. (2010) dans la

région de Bouira, avec 24.2% d' $\alpha$ -phellandrene, 21.62% de limonene, 17.76% de  $\beta$ -myrcene et 4.13% d' $\alpha$ -pinene.

L'huile essentielle de *C. sempervirens* que nous avons testée est riche en cedrol (44.81%),  $\alpha$ -pinène (15.71%) et *neoiso*-Dihydrocarveol acetate (9.7%). Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par Argui et al. (2021) à partir de la partie aérienne de cette plante et qui ont révélé la présence d' $\alpha$ -pinène (42%), de  $\delta$ -3-carene (21.26%) et du limonene (5.96%).

L'huile essentielle de *M. piperita* est plus riche en menthol (24.45%) et en menthone (24.21%) suivis d'isomenthone (11.92%). Les travaux de Saeidi et Mirfakhraie (2017) ont également montré la présence de ces deux constituants majoritaires avec des proportions égales (28.9% pour le menthone et 28.5% pour le menthol). Par ailleurs, une composition similaire avec des ratios différents, soient 41.6% de menthol, 24.7% de L-menthone et 6.3% d'isomenthol est rapportée par Pang et al. (2019).

Les composés majoritaires de l'huile essentielle de *L. latifolia* sont le linalol (38.55%), le 1,8-cinéole (25.78%) et le camphre (13.6%). Avec le même procédé d'extraction et la même provenance géographique (Espagne), Kheloul et al. (2021) ont rapporté une composition similaire : le linalol (43.80%), le 1,8-cinéole (31.81%) et le (+)-camphre (11.99%). Par contre, la composition de l'huile essentielle de la même espèce mais d'origine égyptienne est plutôt riche en camphene (16.48%), linalol (16.1%) et  $\alpha$ -terpenylacetate (13.99%) (Badr et al., 2021).

Par ailleurs, l'huile essentielle du basilic tropical que nous avons testée et dont la provenance est l'Espagne, est plutôt riche en estragol (71.11%) et en linalol (19.44%). Les travaux d'Acosta et al. (2003), sur la même espèce d'origine colombienne, montrent plutôt un autre chémotype, le linalol comme composé majoritaire (54.28%), suivi du 4-alil anisol (26.5%), d'eugénol (9.54%) et enfin de 1,8-cinéole (4.21%).

Toutefois, il est connu que la composition d'une huile essentielle est conditionnée par le pays d'origine, la nature du sol, l'altitude, les conditions climatiques, les facteurs de croissance et les facteurs écologiques (Vercautere, 2012 ; Chang et al., 2017; Martinelli, 2020; Lal et al., 2021). D'ailleurs, Vercautere (2012) rapporte qu'en France, le thym possède six (6) races chémotypiques. De même, De Martino et al. (2021) affirment que la variation de la composition chimique de l'huile essentielle d'une même espèce est en rapport avec la

saison. Selon ces auteurs, le constituant majoritaire du basilic commun au printemps est le linalol (48.1%), alors qu'en automne, c'est l'eugénol (76.8%).

De leur part, Chemat et Lucchesi (2005) mettent en évidence l'influence de la méthode d'extraction, certaines laissent des résidus de solvants et engendrent la dégradation de certains constituants. Dans le même contexte, les travaux de Ferhat et *al.* (2016) montrent également que la préparation des échantillons influe de manière significative, à la fois sur le rendement et la composition de l'huile essentielle. Par ailleurs, ils constatent que le nombre de composés aromatiques extraits par hydrodistillation (HD) d'une variété de citron est de 48, alors que celui obtenu par extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM) est de 57 composés et que l'essence terpénique obtenue par ESSAM est plus riche en composés oxygénés (6.03%) par rapport à l'HD (5.51%).

## 4.2. Activité biologique des huiles essentielles à l'égard d'*O. surinamensis*

### 4.2.1. Par fumigation

Les résultats des tests de fumigation à l'égard des adultes d'*O. surinamensis* ont montré que les huiles essentielles présentent une toxicité importante et variable selon l'espèce végétale et les doses testées.

Nous avons noté une sensibilité plus élevée d'*O. surinamensis* à l'égard de *S. molle* avec un effet létal maximal de 95% enregistré à la plus forte dose de 100  $\mu$ L. Pour les faibles doses, cette huile essentielle et celle de *C. sempervirens* sont inefficaces. Ces résultats montrent que l'effet létal de cette huile essentielle est beaucoup plus faible que celui rapporté par Hamani-Aoudjit (2019) sur *Bruchus rufimanus* (Coleoptera : Chrysomelidae) et qui a enregistré un effet adulticide de 100% pour la même huile essentielle, à la dose 8  $\mu$ L/L après 96h d'exposition, d'ailleurs, une CL<sub>50</sub> de 2.82  $\mu$ L/L a été obtenue.

De même, pour l'huile essentielle de *C. sempervirens*, une dose élevée de 100  $\mu$ L et un temps d'exposition de 72 h étaient nécessaires pour tuer 100% des individus d'*O. surinamensis*. D'après Kellouche et *al.* (2010), cette huile essentielle a entraîné une mortalité de 100% chez les adultes de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera : Bruchidae) à la dose de 40  $\mu$ L dès 24 h. En revanche, Hamani-Aoudjit (2019) a observé une forte toxicité (100% de mortalité) de *C. sempervirens* à l'égard des mâles de *B. rufimanus*, dès la plus faible dose utilisée (2  $\mu$ L), après un temps d'exposition de 96 h.

Les résultats obtenus avec l'huile essentielle de la menthe poivrée montrent un maximum de mortalité (94%) à la dose la plus élevée, soit 80  $\mu\text{L}$ . Ces résultats indiquent que la toxicité de cette huile essentielle est relativement faible par rapport à celle rapportée par plusieurs chercheurs, 100% de mortalité chez les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* Say. (Coleoptera : Chrysomelidae) (Khelfane-Goucem et al., 2016) et ceux de *C. maculatus* (Kellouche et al., 2010) et 94% chez *T. castaneum*, à la dose de 10  $\mu\text{L/L}$  (Pang et al., 2019). Par ailleurs, cette huile essentielle a également éliminé 100% des mâles de *B. rufimanus*, à une dose de 4  $\mu\text{L/L}$  (Hamani-Aoudjit, 2019). En plus de sa toxicité vis-à-vis de nombreux insectes ravageurs des denrées stockées, l'huile essentielle de la menthe poivrée affecte également la croissance, la consommation et le comportement alimentaire des adultes de *C. maculatus* (Saeidi et Mirfakhraie, 2017).

Par ailleurs, Bekele et Hassanali (2001) et Ngamo et Hance (2007) constatent que la toxicité d'une huile essentielle dépend de l'espèce végétale et de l'insecte traité. D'ailleurs, l'effet toxique de notre huile essentielle de *M. piperita* est faible, par rapport à d'autres insectes des denrées stockées, avec une  $\text{CL}_{50}$  de 32.93  $\mu\text{L/L}$ . La  $\text{CL}_{50}$  de la même huile essentielle notée sur *C. maculatus* est de 25.7 $\mu\text{L/L}$  (Saeidi et Mirfakhraie, 2017), alors que celle observée sur *T. castaneum* et le psocope des céréales *Liposcelis bostrychophila* sont de 0.6  $\mu\text{L}$  et 18.1  $\mu\text{L/L}$ , respectivement (Pang et al., 2019).

Pour l'huile essentielle de lavande aspic, une dose de 40  $\mu\text{L/L}$  a été suffisante pour induire une mortalité totale du silvain dentelé. Ces résultats indiquent que la toxicité est supérieure par rapport à celle obtenue par Kheloul et al. (2020) qui notent une mortalité de 100% de cette huile essentielle et de son composé majoritaire (linalol) sur les adultes de *T. confusum*, aux fortes doses de 500  $\mu\text{L/L}$  et 250  $\mu\text{L/L}$ , respectivement.

L'huile essentielle de basilic a également montré une activité insecticide importante par fumigation vis-à-vis d'*O. surinamensis*, avec un effet létal proche de 100%, atteint à la dose 40  $\mu\text{L/L}$  et une  $\text{CL}_{50}$  de 16.22  $\mu\text{L/L}$ . Ce résultat diffère de celui rapporté par Bounoua-Fraoucene et al. (2019) qui ont obtenu une mortalité de 41% chez les adultes de *Sitophilus oryzae*, en utilisant la dose de 20  $\mu\text{L/L}$ , alors qu'à la même dose, cette huile essentielle a induit 100% de mortalité chez *R. dominica*. Plus récemment, Taleb-Toudert et al. (2021) ont déterminé la  $\text{CL}_{50}$  du basilic commun sur *R. dominica* évaluée à 15  $\mu\text{L/L}$ . En revanche, Shaaya et Kostjukovsky (1998) rapportent que sur *O. surinamensis*, les  $\text{CL}_{90}$  du 1,8-cinéole et du linalol (composés majoritaires du basilic) sont respectivement de 7.3  $\mu\text{L/L}$  et 6  $\mu\text{L/L}$ .

Le taux de mortalité le plus élevé (100%) est atteint avec la combinaison *M. piperita*+*O. basilicum* dès la faible dose de 20 µL/L et au temps d'exposition de 24 h, alors que l'huile essentielle de *M. piperita* testée individuellement semble moins toxique par rapport à d'autres traitements. Ces observations suggèrent un effet additionnel de l'une des deux huiles essentielles sur l'autre, on suppose également que certains composés de l'une des huiles essentielles renforceraient l'effet toxique de l'autre. Ce résultat corrobore celui obtenu par Novato et al. (2019), sur l'action des associations binaires de trois composés, le carvacrol, le thymol et l'eugénol, à l'égard du tique du bétail *Rhipicephalus microplus*. Ces auteurs ont attribué l'activité de ces associations à l'effet additionnel ou synergique de leurs composés.

Nous pensons, d'autre part, qu'il y a une certaine synergie entre les constituants d'une même huile essentielle et entre les constituants des huiles essentielles en combinaison binaire. Ainsi, la plus grande toxicité de la combinaison de *M. piperita* avec *O. basilicum* serait due aux interactions entre les composants majeurs de ces deux huiles essentielles. En effet, l'huile essentielle d'*O. basilicum* peut avoir soit un effet additionnel ou accentuer l'effet de l'huile essentielle de *M. piperita* qui a manifesté seule la plus faible toxicité parmi les substances testées. L'effet toxique de ces deux huiles essentielles en combinaison est plus important que l'effet exercé par chaque huile essentielle séparément, ce qui illustre bien l'effet synergique de cette combinaison. D'après Pavela (2015), parmi trente composés aromatiques testés, plus de la moitié des combinaisons ont montré un effet synergique, seul un petit nombre de mixtures a montré un effet antagoniste.

Par ailleurs, nous supposons également que l'activité insecticide de nos huiles essentielles serait due à l'action de leurs composés majeurs qui sont des monoterpènes. Cette hypothèse est soutenue par certains auteurs, notamment Pang et al. (2019) qui ont constaté que le L-menthone est aussi efficace que l'huile essentielle de *M. piperita*, sur les adultes de *T. castaneum*. Ils ont déduit alors que l'action de *M. piperita* est due essentiellement à celle de son composé majoritaire.

Dans certains cas, le composé majeur est plus efficace seul que lorsqu'il est associé à d'autres constituants de son huile essentielle, comme le linalol qui a manifesté un effet toxique plus prononcé sur les œufs de *T. confusum*, comparativement à l'huile essentielle de lavande aspic (Kheloul et al., 2020). De même, Kheloul et al. (2021) ont signalé aussi une efficacité élevée du 1,8-cinéole par rapport à son huile essentielle, de lavande ; en effet, ce

composé a induit 100% de mortalité sur les adultes de *T. confusum*, à la dose 250 µL/L, alors que son huile essentielle n'a causé que 95% de mortalité, à une dose plus élevée (500 µL/L).

Par ailleurs et selon Ngamo et Hance (2007), une même huile essentielle ne manifeste pas forcément la même toxicité sur les différents stades de développement d'un insecte, comme l'ont noté Kheloul et al. (2020) qui affirment que les œufs du *T. confusum* sont plus sensibles au linalol que les nymphes et les adultes.

Pour Lahlou (2004), l'activité biologique d'une huile essentielle est due soit à l'action des composés majeurs ou aux composés mineurs, comme ils peuvent aussi agir ensemble en synergie. D'autres auteurs pensent qu'il existe une synergie interne parmi les composés d'une même huile, et que dans certains cas, les constituants non ou moins toxiques facilitent ou améliorent l'activité du principe actif (Isman, 2016).

#### 4.2.2. Par répulsion

Nos résultats ont montré une variation du taux moyen de répulsion entre les huiles essentielles à l'égard d'*O. surinamensis*. Celles de *S. molle*, *L. latifolia* et *O. basilicum* sont moyennement répulsives, avec respectivement, 55.62%, 50% et 57.5%, alors que les huiles essentielles de *C. sempervirens*, de *M. piperita* et du mélange (*M. piperita*+*O. basilicum*) sont répulsives, avec respectivement, 66.25%, 66% et 63.5%.

L'effet répulsif obtenu pour l'huile essentielle de *S. molle* est supérieur à celui obtenu par Abdel-Sattar et al. (2010) qui a testé l'effet répulsif de l'huile essentielle des fruits de *S. molle* à l'égard des adultes de *T. castaneum*, à une concentration de 250 µL/L ; ces insectes se sont montrés alors moins sensibles (38.42%).

De même, l'huile essentielle de *L. latifolia* s'est révélée moyennement répulsive vis-à-vis du silvain dentelé. Les travaux d'Obeng-Ofori et al. (1997) ont montré un effet similaire exercé par le 1,8-cinéole, composé majoritaire de la lavande aspic, sur les adultes de *S. granarius* et *S. zeamais*. En revanche, selon les mêmes auteurs, ce même composé a manifesté un effet modérément répulsif contre *T. castaneum* et *Prostephanus truncatus* (Coleoptera : Bostrichidae).

Notre résultat relatif à l'effet de l'huile essentielle d'*O. basilicum* diffère de celui obtenu par Taleb-Toudert et al. (2021) qui ont enregistré un taux de répulsion de 63.33% à l'égard de *R. dominica*. Le même résultat a été également observé par Bounoua-Fraoucene et

*al.* (2019) sur *S. oryzae* (60.5%), alors que sur *R. dominica*, cette huile essentielle a montré un effet plutôt modérément répulsif (29.5%).

D'autre part, l'huile essentielle de *C. sempervirens* s'est montrée répulsive à l'égard d'*O. surinamensis* avec un taux moyen de 66.25%, alors que les travaux de Kellouche et *al.* (2010) ont obtenu un taux moyennement répulsif (46.8%) à l'égard des adultes de *C. maculatus*.

Pour l'huile essentielle de *M. piperita*, nos résultats concordent avec ceux rapportés par Kellouche et *al.* (2010) sur les adultes de *C. maculatus* en obtenant un taux de répulsion de 78.1% à des doses variant de 10 à 40  $\mu$ L. De même, Saeidi et Mirfakhraie (2017) ont montré un effet répulsif de cette huile essentielle (71.6%) sur *C. maculatus* à une dose plus élevée de 90 $\mu$ L/L. En revanche, cette substance naturelle a montré un effet modérément répulsif sur les adultes de *S. oryzae* (22.5%) (Bounoua-Fraoucene et *al.*, 2019).

Aussi, Pang et *al.* (2019) ont observé que l'huile essentielle de *M. piperita* et le menthol sont répulsifs à l'égard des adultes de *T. castaneum*, à la dose 78.63 L/cm<sup>2</sup>, mais faiblement répulsifs vis-à-vis de *L. bostrychophila*.

Par ailleurs, Chauhan et *al.* (2018) rapportent que l'effet répulsif est dû à la présence de composés monoterpéniques et qu'un composé peut être plus répulsif qu'un autre. Oussalah et *al.* (2007) supposent que l'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa concentration, sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires et à l'effet synergique des différents composants. Pour Lahlou (2004), l'activité biologique est due soit à l'action des composés majoritaires de l'huile essentielle ou aux composés mineurs, comme ils peuvent aussi agir ensemble en synergie.

D'après les résultats que nous avons obtenus, la plupart des huiles essentielles testées ont non seulement une activité insecticide importante par fumigation mais elles sont aussi répulsives à l'égard d'*O. surinamensis*. Papachristos et Stamopoulos (2002b) notent que la plupart des huiles essentielles toxiques présentent également le niveau de répulsion le plus élevé. D'ailleurs, les travaux de Khelfane-Goucem et *al.* (2016) ont montré que parmi les huiles essentielles testées, celles de *M. piperita* et *L. angustifolia*, sont à la fois les plus toxiques par fumigation et les plus répulsives à l'égard d'*A. obtectus*.

Le mode d'action des huiles essentielles sur les insectes a été discuté par de nombreux auteurs. Ainsi, d'après Arnason (1993), les huiles essentielles ont différents modes d'action :

activité anti-appétante, réduction de la croissance, inhibition de la mue et de la respiration et perte de fécondité. Selon Lee et al. (2003), l'effet toxique de ces substances naturelles est dû à leur richesse en monoterpènes dont la nature biocide et volatile facilite leur pénétration via le tégument des insectes, perturbant ainsi leur physiologie et leur fonctionnement.

Pour Kim et al. (2010), les monoterpènes et les sesquiterpènes provoquent une toxicité par fumigation, elles pénètrent dans le système respiratoire de l'insecte à travers les spiracles et entraînent leur étouffement. De même, Shaaya et Kostjukovsky (1998) rapportent que certains composés agissent sur la respiration des adultes et aussi sur les œufs en pénétrant à travers les micropyles, ce qui provoque la coagulation de leur protoplasme.

En effet, chaque composé a sa cible, Huignard (2013) rapporte que le linalol et l'estragol agissent sur les membranes des neurones et modifient leur activité électrique, les rendant non excitables, ce qui empêche la transmission de l'influx nerveux au niveau des synapses, l'eugénol se fixe sur les récepteurs de l'octopamine en l'empêchant d'agir, alors que le cinéole inhibe l'activité de l'AcétylCholine Estérase (AChE). Cette constatation corrobore celles d'Isman et Machial (2006) et Chang et al. (2017) qui avancent que les monoterpènes agissent au niveau des récepteurs de l'AChE des jonctions neuromusculaires, provoquant un effet neurotoxique.

Par ailleurs, les huiles essentielles touchent plusieurs cibles, elles empêchent l'hydrolyse du médiateur de l'AChE et agissent sur les récepteurs de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique en inhibant le fonctionnement des canaux chlorure, les récepteurs de l'octopamine, les récepteurs de la tyramine et les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (Tong et Coats, 2010).

Enfin, on peut conclure que les traitements avec les huiles essentielles utilisées ont révélé un effet toxique prononcé par fumigation, vis-à-vis des adultes d'*O. surinamensis*, pour la plupart, dès la faible dose testée, avec une activité insecticide plus marquée pour la combinaison de *M. piperita* et *O. basilicum*. Par ailleurs, les huiles essentielles de *S. molle*, *L. latifolia* et *O. basilicum* sont moyennement répulsives, à l'égard d'*O. surinamensis*, alors que les huiles essentielles de *C. sempervirens*, *M. piperita* et du mélange (*M. piperita*+*O. basilicum*) se sont révélées répulsives.

*Chapitre VI*  
*Effet de l'huile*  
*essentielle de L. latifolia*  
*sur les souris*

## 1. Introduction

L'utilisation des huiles essentielles comme biopesticides semble très prometteuse mais de nombreuses questions sont posées à propos de leur impact sur la santé des mammifères, y compris l'homme. C'est pour cela que des tests sur un modèle animal de laboratoire sont nécessaires avant de lancer tout produit sur le marché. D'après l'OCDE (1990), les tests comportementaux servent à évaluer les effets neurotoxiques directs des substances ou les effets résultant d'une attaque du système nerveux durant le développement fœtal. L'étude anatomique approfondie de divers organes est aussi indispensable, elle s'effectue sur tout organe qui peut être considéré comme étant un organe cible possible et qui est lié aux propriétés connues des huiles essentielles comme le rein, le foie et les poumons ; d'autres tissus peuvent également apporter des informations utiles sur les effets des huiles essentielles sur le système endocrinien tels que les gonades, les organes génitaux auxiliaires et l'hypophyse (OCDE, 2008).

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer les différents effets toxiques possibles de l'huile essentielle de la lavande aspic sur des souris blanches mâles. Différents modes d'administration sont utilisés à différentes doses et temps d'exposition, voie orale, intrapéritonéale et par inhalation afin de mettre en évidence l'impact de cette huile essentielle sur le comportement des souris et sur l'aspect histologique de quelques organes.

Nos expériences ont été conduites au niveau du laboratoire PSEMRVC du département de biologie de l'UMMTO entre fin avril et début juin 2021. Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de pathologie de l'hôpital Nefissa Hamoud (ex-Parnet), Alger.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel biologique

Le modèle animal choisi dans notre expérimentation *in vivo* est la souris *M. musculus*, de sexe mâle, de souche albinos, race Balb/C, à statut Holoxénique, provenant d'un élevage de masse de type conventionnel et fournie par l'institut Pasteur d'Algérie. Les animaux sont âgés entre 8 à 12 semaines et pèsent en moyenne 25 g au début de l'expérimentation et ne présentent aucun signe clinique de pathologies au début de l'expérimentation (Annexe 8).

Les souris sont placées dans des cages de Makrolon (40×25×15cm), tapissées d'une sciure. Elles ont accès *ad libitum* à l'eau potable disposée dans des abreuvoirs et à la

nourriture complète destinée à l'élevage cunicole, provenant de la Sarl El Alf, Tlemcen (Figure 41).

L'aliment est sous forme de granules composés de 16% de protéine brute, 2.5% de matière grasse, 12% de cellulose brute, riche en luzerne, maïs, son de blé, tourteau de soja, huile de soja, calcium, cuivre, phosphate monocalcique et autres oligo-éléments, additifs, vitamines A, E et D3. Cette nourriture est mélangée à du pain séché et émietté.

Les expériences sont réalisées au laboratoire à température ambiante (entre 22 et 30°C) et à un éclairage naturel de 13 h de clarté et 11 h d'obscurité. Avant le début des expériences, les souris sont gardées dans leurs cages, en conditions de laboratoire pendant 10 j, le temps de s'adapter aux nouvelles conditions.



**Figure 41.** Cage de Makrolon contenant un groupe de quatre souris (Originale, 2023)

## 2.2. Huile essentielle

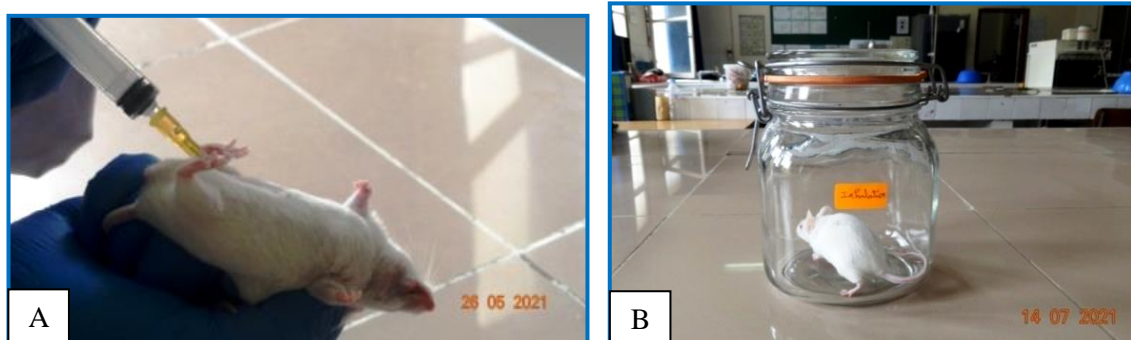
L'huile essentielle de lavande aspic utilisée dans ces tests de toxicité est une huile commerciale provenant du laboratoire Français Aroma Zone. Le choix de cette substance naturelle est justifié par les résultats significatifs que nous avons obtenus dans les tests de toxicité sur le silvain dentelé.

## 2.3. Méthodes

### 2.3.1. Répartition des groupes

Pour les différents tests, 44 animaux sont utilisés et répartis au hasard en 11 groupes de 4 souris, 6 groupes traités et 5 témoins. Trois modes de traitement sont utilisés : voie orale (50  $\mu$ L), inhalation (50  $\mu$ L) et injection intrapéritonéale (50  $\mu$ L et 70  $\mu$ L) (Figure 42). Les témoins sont réalisés avec 100  $\mu$ L de l'huile de maïs, pour chaque mode d'administration et

pour chaque temps d'exposition (Tableau 19). Cette huile végétale a été également utilisée pour diluer l'huile essentielle de lavande.



**Figure 42.** Mode d'application de l'huile essentielle de la lavande par injection intrapéritonéale (A) et par inhalation (B) sur des souris blanches (Originale, 2023)

### 2.3.2. Protocole expérimental

Notre expérimentation a été réalisée dans le respect des principes éthiques et conformément aux recommandations des directives de l'OCDE (2008).

Les traitements sont appliqués comme suit :

- Trois (3) groupes de souris sont traités quotidiennement avec 50 $\mu$ L de l'huile essentielle de lavande diluée dans 50 $\mu$ L d'huile de maïs et administrée par voie orale pendant 7, 14 et 21 j ;
- Un (1) groupe est traité tous les deux jours avec 50 $\mu$ L d'huile essentielle de lavande diluée dans 50 $\mu$ L d'huile de maïs, administrées par voie intrapéritonéale pendant 7 j (Figure 43) ;
- Un (1) groupe est traité tous les deux jours avec 70 $\mu$ L d'huile essentielle de lavande diluée dans 30 $\mu$ L de l'huile de maïs, administrée par voie intrapéritonéale pendant 7 j ;
- Un dernier groupe est traité chaque jour par inhalation avec 50 $\mu$ L d'huile essentielle de lavande diluée dans 50 $\mu$ L d'huile de maïs durant 30min et pendant 7 j.

Les traitements par voie orale sont appliqués le matin à jeun en injectant l'huile essentielle dans la nourriture des animaux ; les traitements par voie intrapéritonéale et par inhalation sont appliqués l'après midi.

Après l'administration des différentes doses de traitement, les animaux sont observés pendant les premières heures de l'expérimentation afin de noter d'éventuels troubles comportementaux, le nombre de souris mortes et toute lésion observée à l'œil nu.

Les souris sont pesées chaque deux jours avec une balance électronique (de 0.01 kg de précision) (Annexe 7), depuis le début des expériences jusqu'à leurs sacrifices afin de suivre leur évolution pondérale.

**Tableau 19.** Protocole expérimental du traitement par l'huile essentielle (HE) de lavande aspic appliquée sur les souris (HM : Huile de maïs).

Mode d'administration	Groupe	Dose	Fréquence	Durée
Oral	Témoin 1	100µL d'HM	Chaque jour	7 j
	Traité 1	50µL d'HE+50µL d'HM		
	Traité 2	50µL d'HE+50µL d'HM		
	Traité 3	50µL d'HE+50µL d'HM		
Intrapéritonéal	Témoin 2	100µL d'HM	Chaque 2 j	7 j
	Traité 4	50µL d'HE+50µL d'HM		
	Traité 5	70µL d'HE+30µL d'HM		
Inhalation	Témoin 3	100µL d'HM	Chaque jour	
	Traité 6	50µL d'HE+50µL d'HM		

### 2.3.3. Tests neurocomportementaux

A la fin de la période des traitements, les souris ont été soumises aux tests neurocomportementaux de labyrinthe en croix surélevée et de la nage forcée, le matin. Les groupes concernés par ces tests sont ceux traités par voie orale durant 21j (quatre souris), par inhalation (quatre souris) et par injection intrapéritonéale à la dose de 50µL de l'huile essentielle (trois souris, la 4<sup>ème</sup> a succombé sous l'effet du traitement) et leurs témoins correspondants.

### 2.3.1.1. Test de labyrinthe en croix surélevée

Le test de labyrinthe en croix surélevée permet d'évaluer le comportement de type anxieux chez les animaux (Miguel et *al.*, 2019). Il mesure le degré d'anxiété d'un animal selon son aversion spontanée pour le vide et exploite le conflit chez les rongeurs entre la peur des espaces ouverts et l'envie de découvrir un nouvel environnement.

Les bras fermés représentent la sécurité, alors que les bras ouverts offrent un espace explorable. Naturellement, l'animal anxieux aura tendance à préférer les espaces sombres et clos que les espaces ouverts et éclairés. L'anxiété comportementale est mesurée alors par le degré d'évitement des espaces ouverts du labyrinthe (Adli, 2015).

Le dispositif utilisé est similaire à celui de Verma et Kulkarni (1991), il est constitué de deux bras croisés, l'un ouvert (50×10 cm) et l'autre fermé (50×10×35 cm); au centre du croisement, se trouve une plaque ouverte de 10×10 cm; ce dispositif est placé à 70 cm du sol (Figure 43).

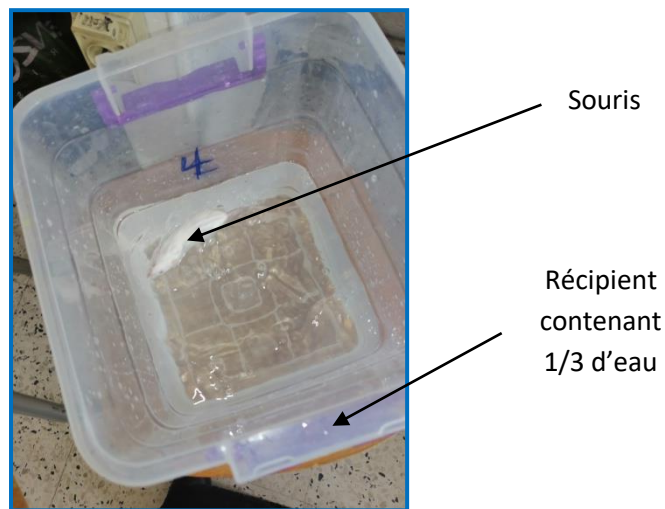
La souris est placée au centre du dispositif, la tête orientée vers l'un des bras fermés. La durée de l'expérience est de 6 min durant lesquelles les mouvements de la souris (nombre d'entrées et de sorties, de redressements, de toilettage, *etc.*) sont enregistrés par un système vidéo qui est transféré vers un ordinateur et analysé. Après chaque essai, le labyrinthe est nettoyé avec une solution d'acide acétique à 2%.



**Figure 43.** Dispositif expérimental de l'épreuve du labyrinthe en croix surélevée (Originale, 2023)

### 2.3.1.2. Epreuve de la nage forcée

Le test de l'épreuve de la nage forcée consiste à placer pendant 5 min la souris à l'intérieur d'un bac en plastique transparent (15×15×25 cm) rempli à 1/3 d'eau à 22°C (Figure 44). Ce test est initialement proposé par Porsolt et *al.* (1977) cité par Adli (2015) pour mesurer le comportement antidépressif des souris. Cette épreuve consiste à mesurer la durée pendant laquelle l'animal nage activement, flotte tout en gardant la tête hors de l'eau et le temps pendant lequel l'animal est immobile et arrête de se débattre. Ce dernier est interprété comme étant un désespoir comportemental (l'animal est dépressif).



**Figure 44.** Dispositif expérimental de l'épreuve de la nage forcée (Originale, 2023)

### 2.3.4. Etude histologique

L'étude histologique est réalisée pour détecter les anomalies éventuelles induites par les traitements effectués sur certains organes cibles (le cœur, les poumons, l'estomac, le foie, la rate, le rein et les testicules). Pour réaliser cette partie nous avons suivi le protocole expérimental modifié de Martoja et Martoja (1967) (Annexe 9):

#### a). Sacrifice des souris et récupération du sang

Les souris sont mises à jeun le matin, une heure de temps avant le sacrifice, pesées puis sacrifiées par décapitation afin de récupérer leur sang, dans des tubes à essai secs, qui sera conservé dans un réfrigérateur pour effectuer des analyses biochimiques ultérieurement (Figure 45).

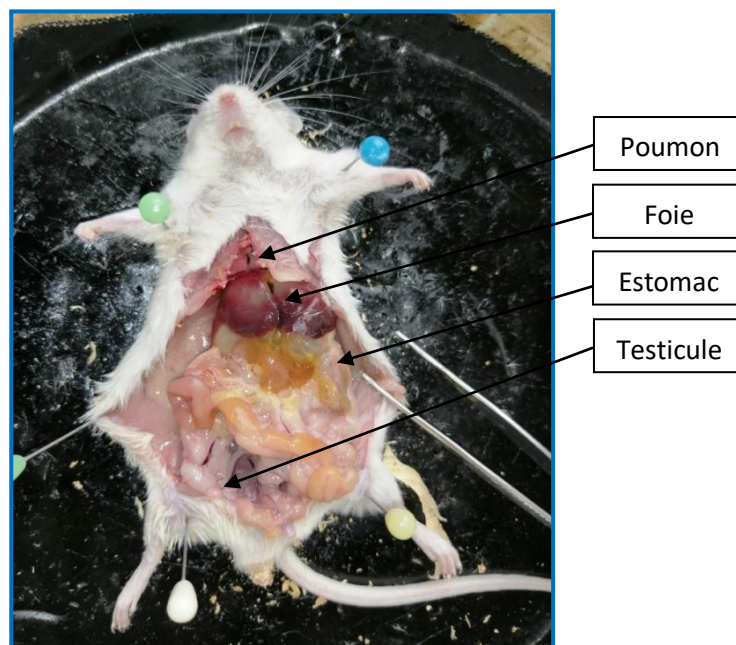
**b). Prélèvement et fixation des organes**

Après sacrifice, l'abdomen des souris est incisé, les organes sont prélevés et sont dégraissés puis nettoyés avec de l'eau du robinet afin de détecter toute anomalie anatomique, puis des fragments sont déposés immédiatement dans des cassettes d'inclusion marquées et placées dans le fixateur Bouin Hollande pour une durée de 4 jours (Figure 46, Annexes 9 et 10).

La fixation permet la conservation des tissus dans un état aussi proche que possible de l'état vivant, elle empêche la décomposition bactérienne ou enzymatique des organes et permet le durcissement des organes, ce qui facilitera l'obtention des coupes histologiques (Welsch, 2004).



**Figure 45.** Prélèvement du sang des souris (Originale, 2023)



**Figure 46.** Dissection et prélèvement des organes d'une souris (Originale, 2023)

### c). Déshydratation et éclaircissement

Après fixation, les tissus sont déshydratés par le passage successif dans une série de bains d'éthanol à des degrés croissants (70°, 90° et éthanol absolu) durant une heure de temps chacun. Les cassettes sont transférées ensuite dans deux bains de xylène pour l'éclaircissement. Cette étape permet le durcissement du prélèvement (Figure 47) (Welsch, 2004 ; Junqueira et Carneiro, 2005).



**Figure 47.** Déshydratation dans des bains d'alcool à degrés croissants (Originale, 2023)

### d). Imprégnation

L'imprégnation consiste à immerger les échantillons dans trois bains successifs de paraffine liquide, d'une heure de temps chacun. Le premier est constitué de moitié xylène (solvant dans lequel la paraffine est miscible) et moitié paraffine, le deuxième et le troisième contiennent de la paraffine pure (Figure 48). Cette étape est réalisée dans une étuve à 60°C. L'inclusion dans la paraffine permet la conservation de nombreux constituant des tissus et la confection des coupes rapidement (Welsch, 2002).

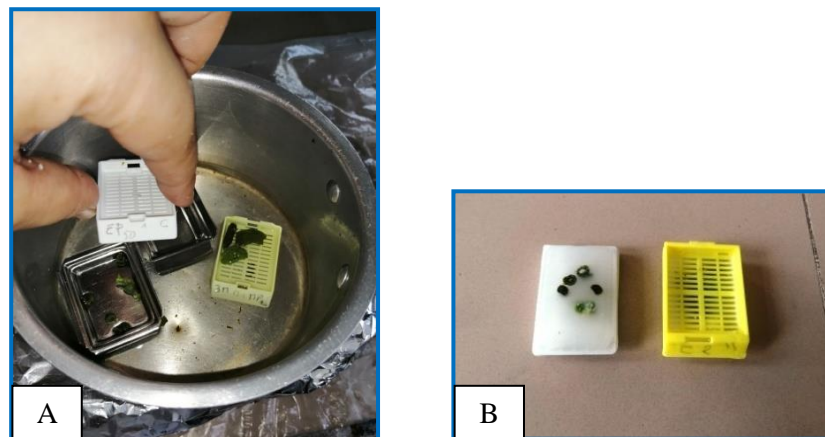


**Figure 48.** Imprégnation dans la paraffine (Originale, 2023)

**e). Inclusion**

Cette étape est réalisée dans le but de former des blocs de paraffine contenant l'échantillon afin de confectionner des coupes histologiques. Pour cela, les cassettes d'inclusion contenant les organes sont déposées dans un moule d'inclusion en inox recouvert de paraffine, en se refroidissant la paraffine durcit et le bloc se forme.

Le bloc contenant les organes est ensuite placé dans un congélateur pour faciliter son démoulage (Figure 49).



**Figure 49.** A) Inclusion et formation des blocs de paraffine contenant les organes, B) blocs (Originale, 2023)

**f). Confection des coupes et collage**

Les blocs d'organes sont placés dans une plaque réfrigérante puis coupés en fines coupes de 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur à l'aide d'un microtome de type Leica. Les coupes réalisées (sous forme de ruban) sont placées dans un bain-marie tiède puis récupérées sur des lames en verre et laissées sécher (Figure 50). Les lames sont incubées durant une nuit dans une étuve à 38°C, ensuite elles sont rangées dans une boîte porte-objet en attendant la coloration.

**g). Déparaffinage et réhydratation**

Le déparaffinage consiste à retirer la paraffine qui imprègne les coupes histologiques par le passage dans deux bains de xylène durant 10 à 15 min. Cette opération est suivie de réhydratation par le passage successif des lames dans des bains d'éthanol de degrés décroissants (absolu, 90°, 70° et 50°).



**Figure 50.** Dispositif permettant la réalisation des coupes histologiques. De droite à gauche : la plaque refroidissante, le microtome et le bain-marie (Originale, 2023)

#### h). Coloration

Après la réhydratation, les échantillons sont colorés selon la coloration topographique de Trichrome de Masson de Martoja et Martoja (1967) où le noyau est coloré en noir, le nucléole en rose, le cytoplasme en rouge brique, les muscles en rouge, les sécrétions sont selon leur nature soit rouges ou vertes, les fibres de collagène du tissu conjonctif en vert (Figure 51 ; Annexe 9).



**Figure 51.** Coloration topographique de Trichrome de Masson. Passage successif dans :  
A) Hématoxyline, B) Fuchsine ponceau, C) Eau acétifiée, D) Orange G, E)  
Eau acétifiée, F) Vert lumière, G) Eau acétifiée (Originale, 2023)

#### i). Observation des lames

Après la coloration, les lames sont montées dans un Eukitt, puis rangées dans une boîte porte-objets. Les coupes réalisées sont examinées à l'aide d'un microscope photonique de

type Optika à différents grossissements puis photographiées. Toute variation, anomalie ou modification des tissus est repérée puis interprétée.

## 2.4. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont analysés à l'aide du test bilatéral de t-Student lorsque la normalité est vérifiée, en utilisant le logiciel R version 2.3.2. Dans le cas où la normalité n'est pas vérifiée, le test bilatéral de Wilcoxon ou de Mann-Whitney est utilisé, au seuil de 5%.

Les variables mesurées et calculées sont exprimées en tant que moyennes  $\pm$  erreur standard liée à la moyenne (SEM).

## 3. Résultats

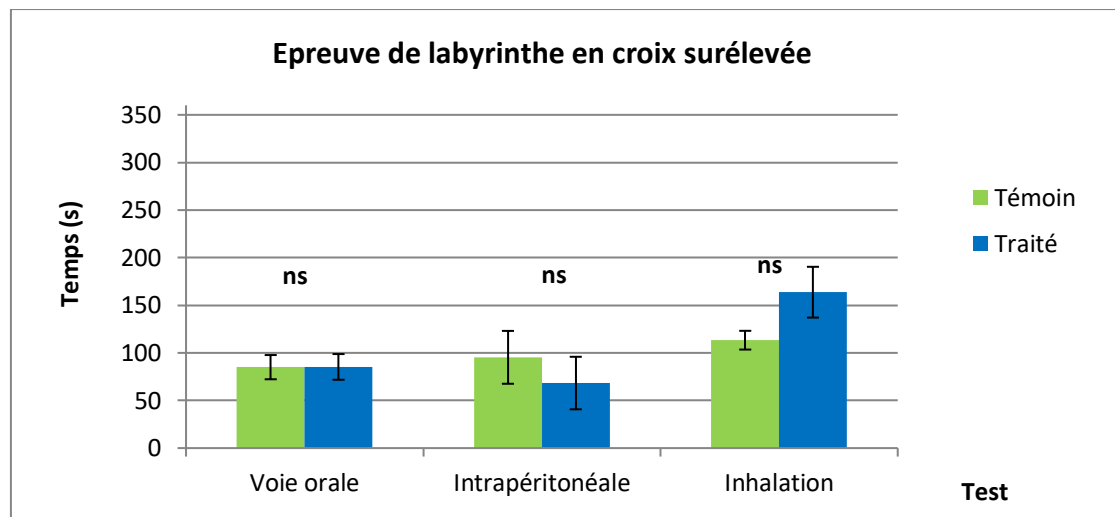
### 3.1. Tests neurocomportementaux

#### 3.1.1. Test de labyrinthe en croix surélevée

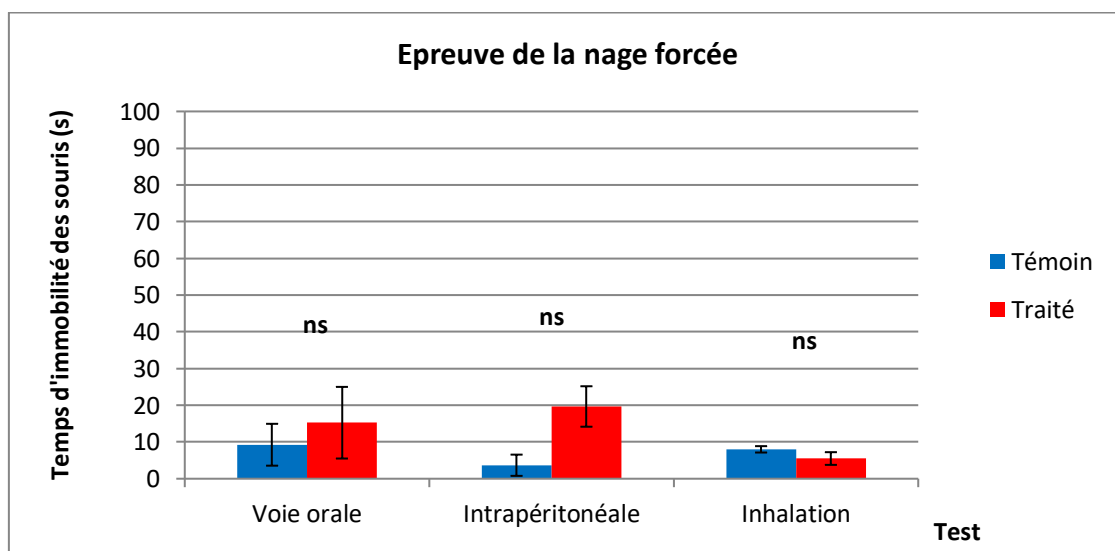
Les résultats de l'analyse statistique de Student (Figure 52) révèlent qu'il n'y a aucune différence significative pour le temps de séjour des souris dans les bras ouverts entre les groupes traités avec l'huile essentielle de lavande par voie orale et intrapéritonéale et leurs témoins respectifs (t-test=-0.011,  $p=0.99$ , df=6) et (t-test=0.631,  $p=0.562$ , df=4). D'ailleurs, le temps de séjour des souris dans les bras ouverts ne dépassait pas 100 secondes dans les deux tests. Les résultats du test de Mann Whitney montrent également qu'il n'y a aucune différence significative pour le temps de séjours des souris dans les bras ouverts du groupe traité par inhalation avec l'huile essentielle de lavande et son témoin ( $U=3$ ,  $p=0.2$ , df=6). Néanmoins, le temps de séjour des souris dans les bras ouverts (170 s) est proche de celui passé dans les bras fermés dans le groupe traité (190 s).

#### 3.1.2. Epreuve de la nage forcée

L'analyse statistique de Student (Figure 53) ne montre aucune différence significative du temps d'immobilité des souris entre les groupes traités et leurs témoins, quel que soit le mode de traitement : par voie orale ( $U=6$ ,  $p=0.657$ , df=6), par voie intrapéritonéale (t-test= -2.397,  $p=0.136$ , df=2.04) et par inhalation (t-test=1.127,  $p=0.303$ , df=6). De plus, le temps d'immobilité des souris dans les lots traités et leurs témoins n'excède pas 20 secondes et le temps maximal ( $19.66 \pm 7.77$ ) a été observé chez le groupe traité par voie intrapéritonéale. Néanmoins, ce temps est négligeable par rapport à la durée totale du test (300 s).



**Figure 52.** Temps de séjour des souris (en seconde) (Moyenne $\pm$ SEM; n=4), traitées par l'huile essentielle de lavande aspic par voie orale (50 $\mu$ L/21 j), intrapéritonéale (50 $\mu$ L/7 j) et inhalation (50 $\mu$ L/7j), dans les bras ouverts durant l'épreuve du labyrinthe en croix surélevée.



**Figure 53.** Temps d'immobilité (en seconde) des souris (Moyenne $\pm$ SEM ; n=4) traitées par l'huile essentielle de lavande aspic par voie orale (50  $\mu$ L/21j), intrapéritonéale (50  $\mu$ L/7 j) et inhalation (50  $\mu$ L/7 j) durant le test de la nage forcée

### 3.2. Evolution du poids corporel

Le poids corporel des souris mesuré individuellement chaque deux jours nous a permis de calculer les moyennes (Moyenne  $\pm$  SEM) des différents groupes. Les résultats de l'évolution du poids corporel moyen des souris sont présentés dans la figure 54.

### 3.2.1. Poids corporel des souris traitées par voie orale

Le test de Student révèle une différence très hautement significative du poids moyen des souris témoins et traitées entre le début et la fin de l'expérimentation, pour les trois groupes traités par voie orale ( $p < 0.001$ ) (Figure 54A, B et C).

D'après les résultats illustrés dans la figure 54A, la courbe représentant le poids corporel moyen des souris traitées par voie orale durant 7 j montre trois périodes durant lesquelles le poids moyen des souris augmente rapidement au début de l'expérimentation, il diminue après le 5<sup>ème</sup> jour, puis augmente à nouveau. En revanche, chez le témoin, le poids des souris augmente lentement durant les deux premiers jours puis progresse rapidement pour ralentir à la fin de l'expérimentation.

Après 14 j de traitement (Figure 54B), le poids corporel des souris augmente avec le temps dans les deux groupes témoin et traité en parallèle.

Après 21 j de traitement (Figure 54C), le poids corporel moyen des souris passe par deux périodes, durant la première période le poids moyen des souris traitées évolue lentement par rapport au témoin, au cours de la deuxième période les deux groupes témoin et traité évoluent en parallèle pour se stabiliser à la fin de l'expérimentation.

### 3.2.2. Poids corporel des souris traitées par voie intrapéritonéale

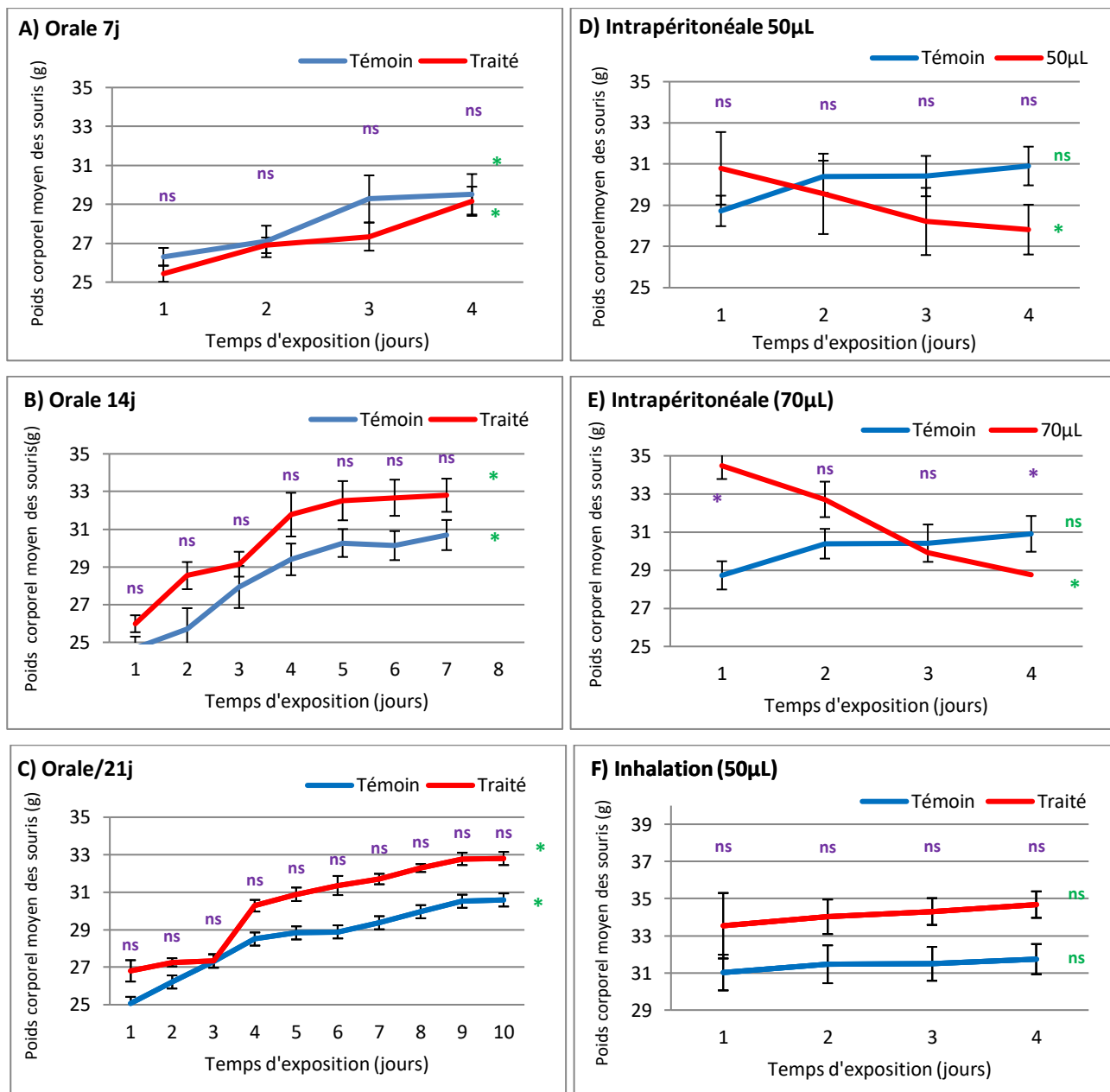
Le test de Student ne montre aucune différence significative du poids moyens des souris témoin entre le début et la fin de l'expérimentation ( $p > 0.05$ ) (Figure 54D, E). Le même test indique qu'il y a une différence très hautement significative entre le début et la fin de l'expérimentation pour les deux lots traités avec l'huile essentielle de la lavande ( $p < 0.001$ ) (Figure 54D, E).

Dans le lot témoin des groupes traités par voie intrapéritonéale, le poids corporel moyen des souris augmente lentement du début jusqu'à la fin des expériences, contrairement aux lots traités qui sont en nette diminution du poids le long de l'expérimentation. Durant la période expérimentale, nous avons constaté une mortalité d'un individu au 7<sup>ème</sup> jour du traitement avec 50 $\mu$ L d'huile essentielle de lavande et trois dans le lot traité avec 70 $\mu$ L.

### 3.2.1. Poids corporel des souris traitées par inhalation

Le test statistique de Student relatif au groupe traité par inhalation ne montre aucune différence significative du poids moyen des souris, entre le début et la fin de l'expérience ( $p > 0.05$ ) (Figure 54F). Par ailleurs, la même allure des courbes est constatée pour les deux

lots, avec une augmentation très lente mais progressive du poids moyen du début jusqu'à la fin de l'expérimentation.



**Figure 54.** Poids corporel moyen (g) (Moyenne  $\pm$  SEM; n=4) des souris traitées avec l'huile essentielle de lavande aspic. (A, B et C), traitement par voie orale en fonction du temps (7, 14 et 21j), (D et E) traitement par voie intrapéritonéale en fonction de la dose (50 et 70µL), (F) traitement par inhalation. En mauve, comparaison entre les animaux témoins et traités, en vert, comparaison entre le poids initial et final.

### 3.3. Etude macroscopique et microscopique des organes

#### 3.3.1. Etude macroscopique

L'examen des différents organes prélevés à partir des souris traitées avec l'huile essentielle à différents doses et modes d'administration, n'a montré aucune anomalie visible à l'œil nu.

#### 3.3.2. Etude microscopique

L'étude microscopique a été réalisée uniquement sur trois organes, le testicule, le rein et le poumon.

##### 3.3.2.1. Structure des testicules

###### a). Structure des testicules des souris témoins

La structure histologique des testicules des souris témoins (Figure 55A) révèle, au fort grossissement, des tubes séminifères avec une lumière et formés d'un épithélium pseudostratifié constitué de deux types cellulaires, les cellules de la lignée germinale et les cellules somatiques épithéliales de Sertoli.

En allant de la périphérie vers le centre du tube séminifère, nous distinguons :

- Des noyaux ronds, peu volumineux et à chromatine condensée, distribués sur toute la section du tube séminifère et à sa périphérie, ils représentent les spermatogonies ;
- Des noyaux plus grands sont également observés et distribués dans l'espace situé entre la périphérie et la lumière du tube séminifère, ce sont ceux des spermatocytes ;
- Des noyaux plus petits appartenant aux jeunes spermatides de forme ronde et enfin des noyaux allongés des spermatides allongés plus âgés;
- Dans la lumière du tube séminifère, nous distinguons enfin les spermatozoïdes.

Nous avons remarqué que certains tubes séminifères sont riches en spermatozoïdes alors que d'autres ont un nombre plus modéré de spermatozoïdes.

Les cellules de Sertoli sont reconnaissables par leurs noyaux à encoche, de forme irrégulière, pyramidale, conique ou triangulaire ; ce sont des cellules de taille importante reposant sur la lame basale ; elles s'étendent jusqu'à la lumière du tube séminifère et émettant des expansions cytoplasmiques apicales.

Entre les tubes séminifères, un espace interstitiel important et vascularisé est visible ; il est constitué d'un tissu conjonctif et des cellules de Leydig qui sont soit organisées en amas ou dispersées.

#### **b). Structure des testicules des souris traitées**

Les testicules des animaux des lots 1 et 2 traités par voie orale durant 7 et 14 jours, respectivement, et ceux du lot traité par inhalation (Figure 56B et F) révèlent la présence de tubes séminifères riches en spermatozoïdes par rapport au témoin, tous les types de cellules sont visibles avec un épithélium qui n'est pas altéré. Nous avons remarqué également que les tissus interstitiels sont très réduits. Après trois semaines de traitement, la majorité des coupes histologiques montrent que la plupart des tubes séminifères ont un nombre modéré de spermatozoïdes semblable au témoin (Figure 55C).

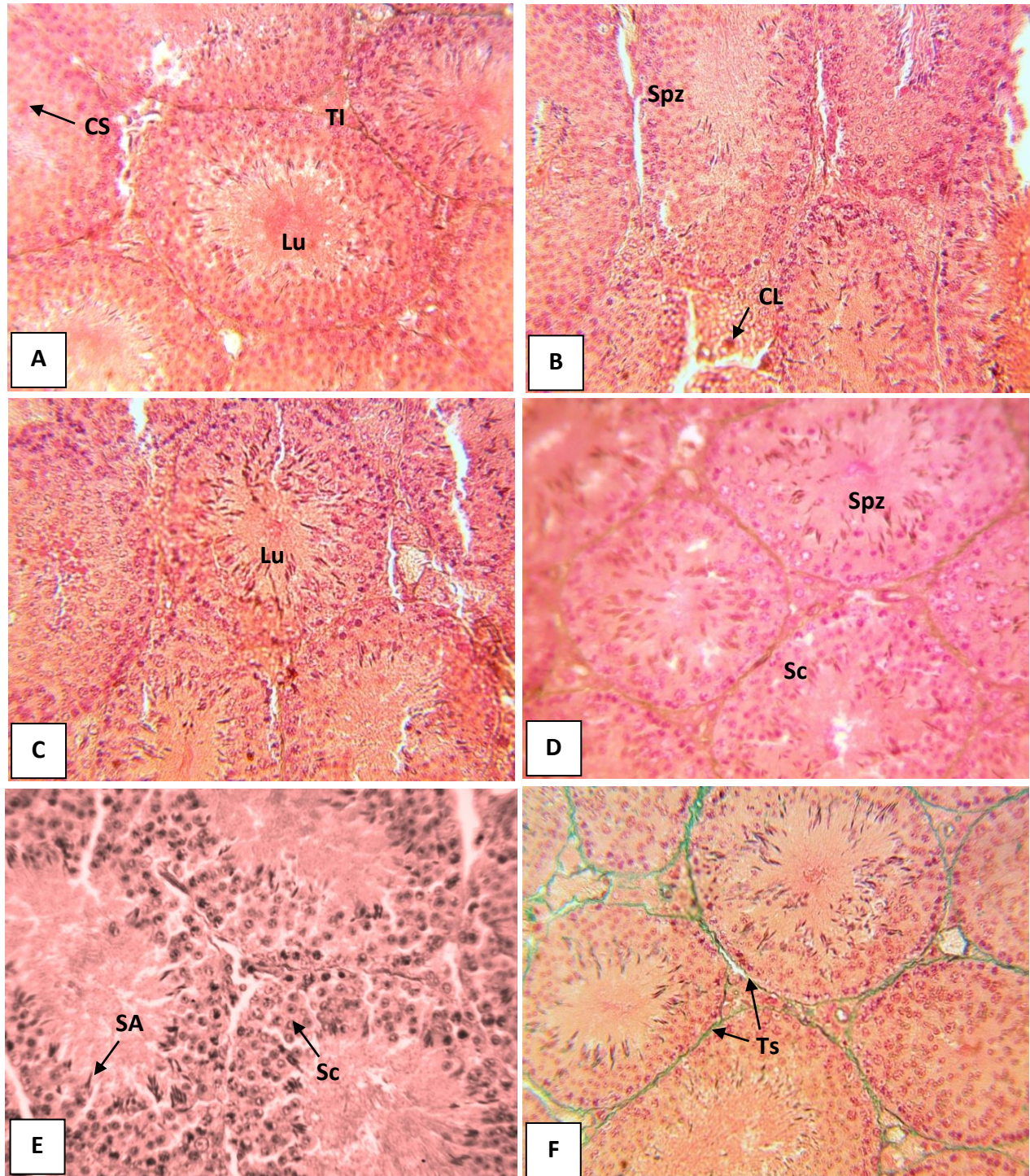
Cependant, le traitement par voie intrapéritonéale avec l'huile essentielle révèle qu'à la dose 50  $\mu$ L, la majorité des tubes séminifères présentent des spermatozoïdes dont le nombre est beaucoup moins important que tous les autres lots traités et du témoin. Les souris traitées avec la dose 70  $\mu$ L présentent une quantité encore moins importante de spermatozoïdes que celles traitées avec 50  $\mu$ L. L'épithélium séminifère n'est pas altéré mais un arrêt total de la spermatogenèse au stade spermatide allongé est observé (Figure 55D et E).

#### **3.3.2.2. Structure du parenchyme rénal**

##### **a). Structure du parenchyme rénal des souris témoins**

L'examen microscopique des coupes histologiques du rein du lot témoin révèle, au faible grossissement, une structure normale dont le parenchyme est constitué de deux zones ; une externe périphérique appelée corticale, renfermant de nombreux tubes contournés proximaux (TCP) et distaux (TCD) et les corpuscules de Malpighi, une partie centrale appelée médullaire, renfermant les tubes collecteurs jointives (Annexe 4). Au fort grossissement (Figure 56A), ces structures apparaissent comme suit :

- ✿ Les TCP sont des tubes constitués d'un épithélium cubique simple à bordure en brosse et pourvu de lumière étroite, jouant un rôle dans l'absorption ;
- ✿ Les TCD sont des tubes à épithélium cylindrique, pourvus de lumière plus importante par rapport aux TCP ;



**Figure 55.** Coupes histologiques des testicules des souris traitées par l'huile essentielle de lavande aspic (Originale, 2023)

A). Témoin, B). Traitement par voie orale durant 7j, C). Traitement par voie orale durant 21j, D et E). Traitement par voie intrapéritonéale 50µL et 70µL, respectivement. F). Traitement par inhalation.

TS. Tube séminifère, TI. Tissus interstitiel, Lu. Lumière, Sg. Spermatogonie, Sc. Spermatocyte, SA. Spermatocyte allongée, CS. Cellule de Sertoli, Spz. Spermatozoïde, CL. Cellule de Leydig (G×400)

- ✿ Les corpuscules de Malpighi sont constitués d'une structure dense plus ou moins arrondie, c'est le glomérule dont le rôle est la filtration ; il est entouré d'une enveloppe appelée capsule de Bowman, constituée d'un épithélium pavimenteux simple. Entre le glomérule et la capsule de Bowman, il y a un petit espace appelé chambre glomérulaire.

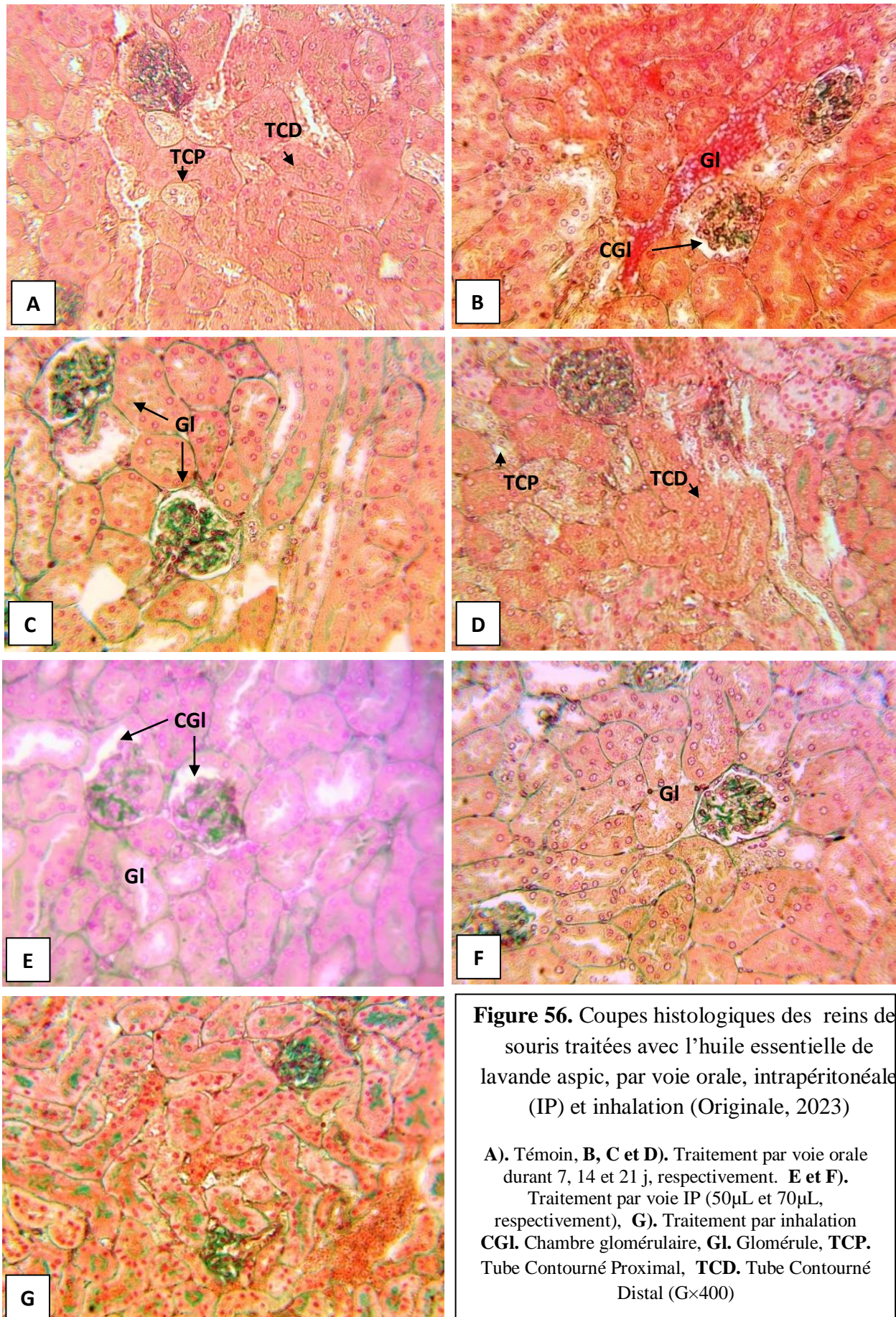
### **b). Structure du parenchyme rénal des souris traitées**

Contrairement au témoin, le lot traité par voie orale durant 7j révèle la présence des TCP en nombre important, des TCD, des glomérules très bien colorés mais avec une dilatation de la surface glomérulaire par rapport à la totalité de la capsule de Bowman (Figure 56A et B).

Le lot 3 traité par voie orale durant 21 j, montre une destruction et une régression importante du nombre de glomérules, certains sont conservés sur le plan structural, d'autres sont nettement atteints, tout comme le lot traité durant 14 j (Figure 56C et D). Les TCP sont moins développés que ceux des témoins et une lumière importante est visible dans certains tubes. La partie médullaire, où se trouvent les canaux collecteurs, est un peu plus espacée alors qu'elle est entassée chez le témoin.

Les deux lots traités par voie intrapéritonéale (Figure 56E et F) révèlent également un espace très visible au niveau de la chambre glomérulaire. A la dose 50  $\mu\text{L}$ , la partie médullaire du glomérule est atteinte, elle diffère de celle du témoin. Les TCP ont le même aspect dans les deux lots traités, mais ils sont plus larges à la dose 70  $\mu\text{L}$ , l'atteinte rénale est importante à cette dose, mais elle est moins prononcée que chez le lot traité par voie orale durant trois semaines.

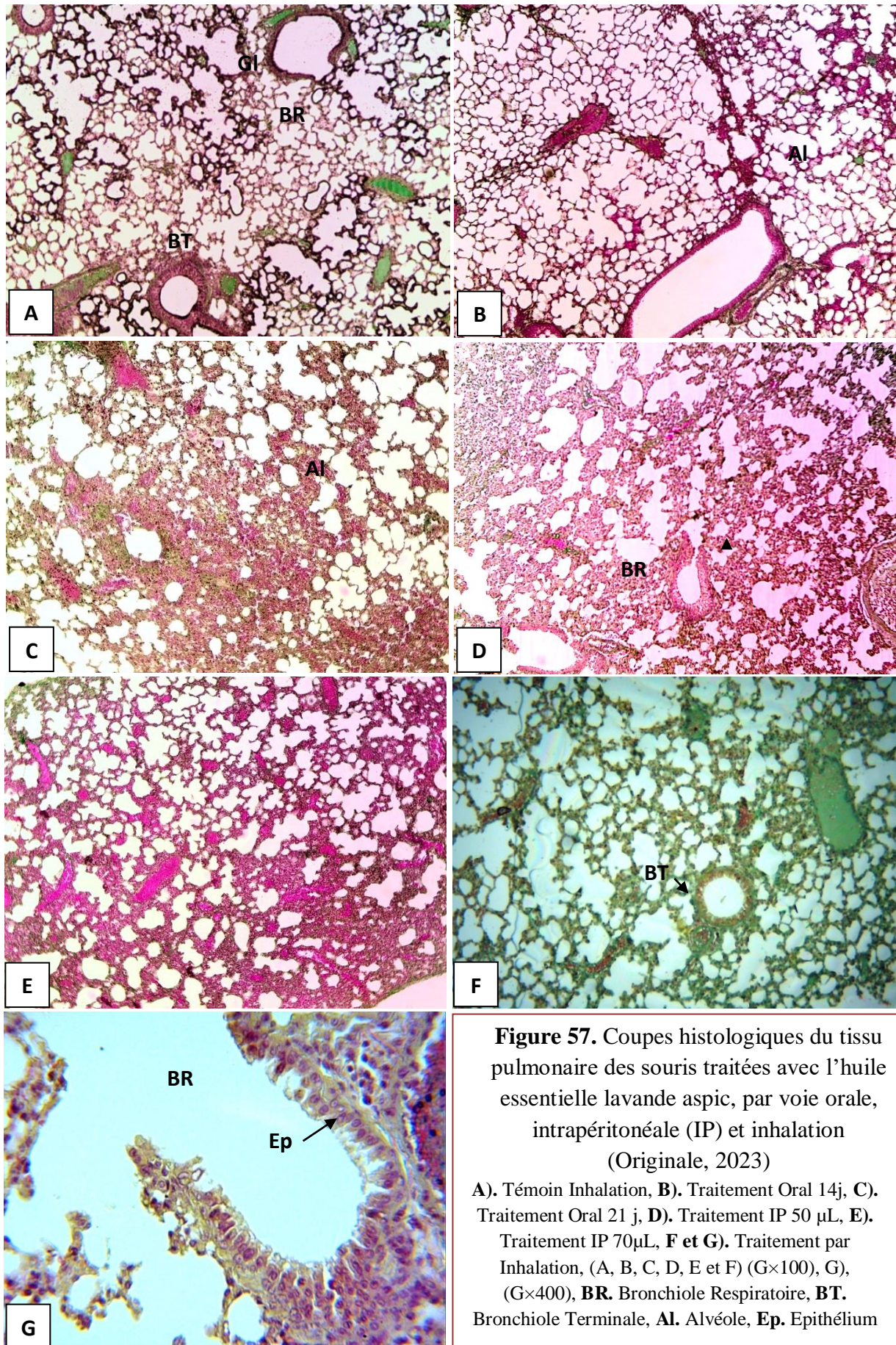
Dans le lot traité par inhalation (Figure 56G), la plupart des glomérules sont pleins, conservés et leur aspect est normal, les TCP sont remplis, il n'y a pas beaucoup de lumière, avec un parenchyme rénal qui est semblable à celui du témoin.



### 3.3.2.3. Structure du parenchyme pulmonaire

La structure histologique du parenchyme pulmonaire des souris traitées avec l'huile essentielle de lavande aspic par voie orale, à différents temps d'exposition, par voie intrapéritonéale, à différentes doses et par inhalation, ne présente aucune différence par rapport au témoin et montre un tissu conjonctif qui n'est pas très développé, il est moins dense et a un aspect homogène, aucune anomalie n'est visible aux différents grossissements utilisés (Figure 57).

Le parenchyme pulmonaire est composé de trois structures: des bronchioles terminales et des bronchioles respiratoires qui possèdent un épithélium cubique qui devient discontinu et qui s'ouvrent directement sur des alvéoles espacées.



**Figure 57.** Coupes histologiques du tissu pulmonaire des souris traitées avec l'huile essentielle lavande aspic, par voie orale, intrapéritonéale (IP) et inhalation (Originale, 2023)

A). Témoin Inhalation, B). Traitement Oral 14j, C). Traitement Oral 21 j, D). Traitement IP 50 µL, E). Traitement IP 70µL, F et G). Traitement par Inhalation, (A, B, C, D, E et F) (G×100), G), (G×400), BR. Bronchiole Respiratoire, BT. Bronchiole Terminale, Al. Alvéole, Ep. Epithélium

## 4. Discussion

L'utilisation des huiles essentielles en tant que biopesticides contre les ravageurs des denrées alimentaires entreposées mais aussi des récoltes représente une piste intéressante à explorer dans la recherche de moyens alternatifs à l'usage des pesticides chimiques dont les nuisances sont suffisamment connues. Certes, ces substances naturelles recèlent des propriétés pharmacologiques, antioxydantes et antimicrobiennes, bénéfiques pour la santé, mais elles peuvent être aussi une source de pathologies pour l'homme, suite à une exposition à des doses importantes accidentellement ou par la présence de résidus dans les denrées alimentaires traitées.

Cette partie s'intéresse à l'évaluation de l'impact de l'huile essentielle de lavande aspic par voie orale, intrapéritonéale et inhalation sur des souris blanches de sexe mâle, ses effets neurocomportementaux et sa toxicité probable sur les tissus testiculaire, rénal et pulmonaire.

### 4.1. Tests neurocomportementaux

Le test neurocomportemental de labyrinthe en croix surélevée est utilisé pour mesurer l'anxiété chez les souris, sachant que ces animaux ont une aversion naturelle pour les endroits ouverts. Dans cette expérience, nous avons pris en considération le temps de séjour des souris dans les bras ouverts. Les groupes concernés par l'épreuve sont le groupe traité par voie orale durant 21 j, celui traité par voie intrapéritonéale (50µL) et celui traité par inhalation.

Durant notre expérimentation, nous avons constaté que dans les trois modes de traitement, le temps de séjour des souris dans les bras ouverts est inférieur à celui passé dans les bras fermés aussi bien chez les lots témoins que chez les lots traités, ce qui est un indicateur de l'anxiété des souris. Nous avons également observé qu'à l'intérieur du labyrinthe, les souris manifestent différents comportements, comme le toilettage et le redressement.

Toutefois, la différence du temps de séjour dans les bras ouverts des souris traitées et témoins n'est pas significative ; ainsi l'anxiété supposée ne serait pas provoquée par les traitements mais plutôt par d'autres facteurs comme les perturbations environnementales durant l'expérimentation (puisque nos expériences se sont déroulées au laboratoire).

Les mêmes groupes ont fait l'objet du deuxième test neurocomportemental, c'est celui de la nage forcée. Les résultats obtenus montrent que le temps d'immobilité des souris traitées

ne diffère pas significativement de ceux des témoins, quelque soit le mode d'administration. D'ailleurs, cette durée reste très limitée par rapport au temps total de l'expérience et ne dépasse pas 20 secondes (6.66%), le reste du temps, les souris nagent activement et cherchent des solutions à l'état auquel elles ont été soumises. En plus, pendant le flottage, les animaux gardent la tête hors de l'eau, indiquant qu'elles ne sont pas dépressives. Ceci, confirme ainsi les résultats obtenus durant le test précédent et suggère aussi que les animaux ne souffrent pas de troubles comportementaux, par conséquent, le traitement n'a pas influencé significativement les capacités mentales des souris.

D'ailleurs, les travaux réalisés par Sanchez-Vidana et *al.* (2019) ont révélé l'effet positif de l'huile essentielle de la lavande officinale *L. angustifolia* sur l'amélioration de l'humeur des rats mâles *Sprague dawley* dépressifs et anxieux et l'action réparatrice suite aux altérations causées par un traitement chimique. De plus, le traitement avec cette huile essentielle a amélioré chez les mêmes rats la neurogenèse et la complexité dendritique des neurones immatures dans des conditions élevées de corticostérone.

En outre, de nombreuses études ont démontré que l'huile essentielle de lavande a un effet anxiolytique chez les souris après son administration par voie orale (Kasper et *al.*, 2010; Woelk et Schläfke, 2010; Uehleke et *al.*, 2012), intrapéritonéale (Umezu et *al.*, 2006) et par inhalation (Bradley et *al.*, 2007; Linck et *al.*, 2010; Diego et *al.*, 1998 ; Kritsidima et *al.*, 2010; Lehrner et *al.*, 2005). Selon Chiasson et *al.* (2013), le linalol, constituant majeur de l'huile essentielle de lavande est considéré comme la principale molécule responsable de son effet anxiolytique. Ce composé est aussi le constituant majeur de l'huile essentielle de lavande aspic que nous avons utilisée et représente 40.67% de sa composition chimique totale et pourrait aussi être à l'origine d'un effet anxiolytique dans nos conditions d'expérimentation.

D'après Slimani et *al.* (1997 ; cité par Adli, 2015), les animaux anxieux présentent des désordres comportementaux observables qui sont dus à un dysfonctionnement dans la circulation ou le traitement de l'information au niveau du système nerveux central (SNC) et sont également associés aux systèmes dopaminergique et cholinergique (Bear et *al.*, 2007). Par ailleurs, Leret et *al.* (2003) affirment qu'une augmentation de la sérotonine, neurotransmetteur du SNC, est à l'origine d'un effet anxiogène.

Par ailleurs, Bokreta-Touati (2022) pense plutôt que les troubles comportementaux chez des lapins intoxiqués par un pesticide sont dus à une neurotoxicité résultante de l'interférence

entre l'une des matières actives du pesticide (l'abamectine) et les canaux chlorures glutamate-dépendants (GABA) présents dans le SNC des mammifères.

D'après de nombreuses investigations, l'utilisation des substances naturelles, pourrait remédier aux problèmes anxiogènes et selon leur mode d'application, elles auront différents mécanismes d'action. D'ailleurs, Herz (2009), Souto-Maior et al. (2011) ainsi que Chioca et al. (2013) précisent que l'huile essentielle de la lavande provoque, par inhalation, une signalisation dans le SNC via le système olfactif, induisant ainsi des changements de comportement. La théorie d'action réflexive stipule que l'odeur d'un produit apporte l'effet relaxant en créant des sensations agréables au niveau des voies olfactives qui sont transmises au système lobaire du cerveau, responsable des émotions et des différentes sensations telles que l'anxiété, la dépression, l'appétit et la peur (Adli, 2015). Ce système olfactif est anatomiquement proche des régions cérébrales associées au traitement de l'information olfactive telles que le thalamus, l'hypothalamus, l'amygdale, l'hippocampe, le cortex orbitofrontal et insulaire. D'après Soudry et al. (2011), ces structures sont impliquées à la fois dans le traitement des émotions et des odeurs.

Ainsi, il a été montré qu'une exposition quotidienne, par inhalation à 2.5% de l'huile essentielle de *L. angustifolia*, durant 3h, constitue un remède pour les problèmes anxiolytiques et dépressifs chez les souris (Manganiello-Terra et al., 2020). Ces auteurs supposent que les propriétés thérapeutiques de l'huile essentielle de *L. angustifolia* sont dues à sa richesse en linalol et linalyl acetate.

Outre les huiles essentielles, d'autres extraits végétaux ont aussi un effet bénéfique sur le comportement des animaux, c'est le cas notamment de l'extrait aqueux de l'orge *Hordeum vulgare* qui montre un effet neuroprotecteur, lorsqu'une dose de 13mL/kg/j est administrée à des rats Wistar durant 21j, en induisant des réparations au niveau des cellules cervicales intoxiquées par le chlorure d'aluminium (Fidah et al., 2020).

#### 4.2. Croissance pondérale des souris

Le suivi de la croissance pondérale des souris durant la période expérimentale montre une augmentation significative du poids des animaux dans tous les lots témoins et traités par voie orale et une augmentation non significative dans le groupe traité par inhalation. En revanche, une nette diminution du poids corporel des souris est observée dans les lots 4 et 5, traités par voie intrapéritonéale. Chez leur témoin, nous avons noté une croissance corporelle

non significative. Nous avons enregistré une mortalité d'une souris le dernier jour de l'administration de 50  $\mu$ L de l'huile essentielle de lavande aspic et trois à la dose de 70  $\mu$ L. La mort des souris, est précédée de troubles comportementaux durant les premières heures après l'injection de la substance, suivie d'une baisse de leur activité puis d'une torpeur des animaux traités. Les principales manifestations de toxicité observées sont des troubles du système nerveux central (tremblement, agitation et baisse d'activité des animaux).

Les résultats obtenus pour le traitement par voie orale ne montrent aucune différence significative du poids corporel des souris traités et témoins et l'augmentation de leur poids corporel ne serait pas attribuée au traitement, mais plutôt à leur croissance naturelle.

En effet, la croissance pondérale est en rapport avec de nombreux facteurs génétiques, alimentaires ou environnementaux (Piles et *al.*, 2003). Abo El Ezz et *al.* (1984) relatent qu'une faible croissance des animaux est due à la diminution de la consommation alimentaire, la déshydratation, le catabolisme tissulaire et la température.

D'après Disse et *al.* (2016), la régulation du poids corporel est sous contrôle du noyau arqué de l'hypothalamus qui est responsable de la régulation de la prise alimentaire et de la satiété via deux types de neurones : les neurones à NPY (Neuropeptide Y)/AgRP (Agouti Related Peptide) de la voie de la faim et les neurones à POMC (Pro-opio mélanocortine)/CART (Cocaïne and Amphetamine-Related Transcript) de la voie de la satiété. Les neurones à NPY/AgRP, localisés dans l'hypothalamus latéral, sécrète les orexines, telles que la leptine, signal de la satiété agissant sur les tissus adipeux, alors que les neurones à POMC/CART, localisés dans le noyau paraventriculaire, sécrètent le CRF (Corticotropin Releasing Factor) comme la ghréline, hormone stimulatrice de l'appétit qui agit sur l'estomac.

En effet, pour les traitements par voie intrapéritonéale, il est probable que notre huile essentielle de *L. latifolia* ait provoqué une réponse rapide des animaux se traduisant par un choc qui aurait stimulé les neurones de la satiété. Comme il a été observé, l'injection intrapéritonéale de cette substance a entraîné la mort de certains individus et la perte d'appétit des souris qui sont restées en vie, d'où la diminution de leur poids corporel moyen, mais les animaux ont répondu différemment à ce traitement, certains étaient sensibles pendant que d'autres se sont montrés résistants. Néanmoins, le poids des souris restant en vie continue à baisser.

Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par Küçükyılmaz et al. (2017) qui ont noté qu'une incorporation de l'huile essentielle de *L. stoechas* à la nourriture des poules augmente leur poids et améliore la qualité de leur chair.

Plusieurs travaux ont suggéré également qu'un supplément en huiles essentielles d'origan, de romarin, de sauge et de lavande à la nourriture de poulets apporte un gain à leur poids corporel (Alçiçek et al., 2003; Alçiçek et al., 2004; Botsoglou et al., 2004; Bozkurt et al., 2009; Bozkurt et al., 2012). Küçükyılmaz et al. (2017) considèrent ces huiles essentielles comme des facteurs de croissance.

De même, l'administration orale de l'extrait éthanolique de *M. piperita* accroît le poids corporel des rats (Soy et al., 2016) et l'administration par gavage de l'extrait méthanolique des épinards *Basella alba* (Caryophyllales : Basellaceae) améliore le poids corporel des rats traités (Nantia et al., 2007).

Toutefois, Sanchez-Vidana et al. (2019) constatent que le traitement des souris avec l'huile essentielle de *L. angustifolia* par inhalation n'affecte pas le gain de poids corporel. Dans notre cas, puisqu'aussi bien les souris traitées par inhalation que les souris témoins, ne présentent pas une augmentation significative de leur poids moyen, nous pouvons considérer que le dispositif utilisé est mal adapté (exiguïté du bocal utilisé (1L)), d'ailleurs, nous avons remarqué une grande agitation des animaux traités et témoins lorsqu'ils sont relâchés.

Nous pouvons conclure alors que cette substance naturelle n'agit pas de la même façon, lorsqu'elle est administrée par voie orale, intrapéritonéale ou par inhalation et la perte de poids est notée uniquement chez les lots traités par voie intrapéritonéale. Cette observation peut être interprétée par la perte d'appétit provoquée par la douleur de la pique lors de l'administration du produit testé.

### **4.3. Effet sur l'histologie des organes**

#### **4.3.1. Effet sur les testicules**

L'observation des coupes histologiques des lots traités avec l'huile essentielle de lavande aspic par voie orale et par inhalation nous ont permis de déduire que l'huile essentielle n'a entraîné aucune altération au niveau de la structure des tissus testiculaires, ce qui indique une activité reproductrice normale.

En revanche, l'administration de 50µL de cette substance par voie intrapéritonéale a induit une diminution du nombre de spermatozoïdes, à la dose 70µL, le traitement a induit une diminution plus considérable du nombre de spermatozoïdes et on note uniquement la présence des spermatogonies, spermatocytes et spermatides. Nous avons également constaté un arrêt du processus de spermatogenèse au stade spermatides allongées. De ce fait, cette huile essentielle induirait un arrêt et un blocage de la spermatogénèse.

Nos résultats corroborent ceux de Tabarraei et *al.* (2019) qui ont étudié la toxicité subaiguë de l'huile essentielle de graines de carvi noir *Carum carvi*, à une dose inférieure à 4000mg/kg, et ont constaté des changements histopathologiques modérés dans les tissus pulmonaires, hépatiques, rénaux, spléniques et testiculaires.

En revanche, d'autres chercheurs ont prouvé les effets protecteurs des huiles essentielles et des extraits de plantes sur des modèles animaux (Selmi et *al.*, 2018; Lakabi et Khelfane-Goucem, 2020; Fahmy et *al.*, 2022). Ils ont constaté également que ces substances peuvent agir sur certains organes mais pas sur d'autres.

La dose appliquée a également son importance sur l'effet protecteur ou toxique des substances naturelles testées. D'ailleurs, dans notre cas, l'administration de l'huile essentielle par voie orale et par inhalation n'a montré aucun effet négatif sur la spermatogenèse et aucune altération des tissus; par contre, par voie intrapéritonéale et à la dose de 50µL, nous avons remarqué une diminution du nombre de spermatozoïdes, alors qu'à la forte dose utilisée (70µL), l'effet était plus prononcé s'est traduit par un arrêt de la spermatogenèse au stade spermatide allongée.

Les travaux de Selmi et *al.* (2018) ont montré que l'administration par voie orale de l'huile essentielle de *L. stoechas*, pendant 30j, à des souris mâles auxquelles un insecticide neurotoxique, le malathion, a été administré durant la même période, a induit des effets protecteurs et réparateurs des dommages subis par des tissus testiculaires provoqués par cet insecticide. Ces auteurs précisent que les effets potentiels de cette huile essentielle contre la reprotoxicité et le stress oxydatif sont attribués aux propriétés antioxydantes ainsi qu'à son effet opposé à certaines expressions géniques impliquées dans la stéroïdogénèse.

De même, les extraits de plantes possèdent des propriétés androgéniques, notamment ceux de graines de nigelle *Nigella sativa* (Al-Saaidi et *al.*, 2009) et ceux de graines de momordique *Momordica charantia* (Nassem et *al.*, 1998). Ces substances naturelles stimulent

la synthèse des différentes hormones responsables de la spermatogenèse chez les rats mâles (LH, FSH et testostérone).

Par ailleurs, les expériences menées par Lakabi et Khelfane-Goucem (2020) ont mis en évidence l'effet positif des huiles essentielles de *Mentha piperita*, *Salvia officinalis* et *Rosmarinus officinalis* sur le développement des gonades, la spermatogenèse et la fertilité des lapins mâles pré-pubères. Leur administration par voie orale à la dose de 200µL/kg a induit une augmentation du poids corporel, testiculaire et épидидymaire.

#### 4.3.2. Effet sur le parenchyme rénal

L'observation des coupes histologiques du parenchyme rénal des lots traités par voie orale montre une réduction du nombre de glomérules et une dilatation de la surface de la chambre glomérulaire, ce qui provoque une réduction de la surface d'échange et de filtration. Les TCP sont moins développés, les canaux collecteurs sont un peu plus espacés, ce qui indique une atteinte fonctionnelle du rein. Le même aspect du tissu rénal est observé chez les lots traités par voie intrapéritonéale, avec des signes plus prononcés.

En revanche, dans le lot traité par inhalation, la plupart des glomérules sont pleins et conservés et n'exhibent aucune altération sur le plan structural.

Nos résultats concordent avec ceux rapportés par Benouadah et *al.* (2016) qui ont noté des changements histologiques et des congestions modérées des reins de souris traitées avec des extraits d'alcaloïdes de grains de *Datura stramonium* (Solanacées) administrés par voie intrapéritonéale et dont la DL<sub>50</sub> était de 303.4 mg/kg. De plus, des analyses biochimiques du sang de ces souris ont révélé une augmentation significative des ions sodium sériques et des ions de potassium, suggérant ainsi un dysfonctionnement rénal résultant de l'incapacité du rein à réguler l'équilibre électrolytique.

Néanmoins, les travaux de Bokreta et *al.* (2021) ont révélé qu'une supplémentation de l'huile essentielle de thym commun *Thymus vulgaris* à des lapins procure un effet protecteur contre la néphrotoxicité, suite à des lésions au niveau des tissus rénaux induites par un insecticide-acaricide, le Voliam Targo. Ces auteurs ont attribué les bienfaits de cette huile essentielle à sa richesse en carvacrol doté de propriétés antioxydantes.

De sa part, Righi-Assia (2010) relate qu'un traitement composé de 20µL d'huile de *T. vulgaris*, mélangé avec 1g de poudre de Santoline *Santolina chamaecyparissus*, n'a entraîné

aucun changement ni dans la forme ni dans la structure cellulaire du parenchyme rénal des rats traités.

Les travaux de Chabane et *al.* (2021) ont également révélé qu'une administration de 12.5g/kg de l'extrait des feuilles de ronce d'orme *Rubus ulmifolius*, par voie orale, n'entraîne pas d'altération au niveau des tissus rénaux, pulmonaires, hépatiques et cardiaques des souris traitées.

Il faut noter d'autre part que certaines huiles essentielles sont néphroprotectrices, comme celle de *Juniperus communis* qui permet, à faible dose, de diminuer la toxicité induite par le tacrolimus, dans la prévention du phénomène de rejet de greffe (Butani et *al.*, 2003).

#### 4.3.3. Effet sur le parenchyme pulmonaire

L'observation des coupes histologiques du parenchyme pulmonaire des souris traitées avec 50µL de l'huile essentielle de lavande aspic durant une semaine a montré une structure homogène, normale qui a un aspect similaire à celui du lot témoin. Aucune anomalie n'a été constatée, ce qui indique qu'une exposition quotidienne à cette huile essentielle durant trente minutes, pour une période de sept jours, ne cause aucun dommage au parenchyme pulmonaire. Nous supposons que cette huile essentielle aurait plutôt un effet bénéfique comme certains travaux l'ont suggéré (Laguerre, 2015).

Notre investigation corrobore celle d'Ueno-Iio et *al.* (2014) qui ont évalué l'effet anti-inflammatoire de l'huile essentielle de lavande sur l'asthme bronchique des souris asthmatiques. Ils ont constaté que cette huile essentielle inhibe l'inflammation allergique et l'hyperplasie des cellules muqueuses des sujets traités.

De leur part, Fahmy et *al.* (2022) ont également évalué l'activité anticancéreuse de l'huile essentielle de *L. officinalis* contre six lignées de cellules cancéreuses humaines hépatiques, pulmonaires, coliques, mammaires, la carcinogenèse de la prostate et de la peau. Ces chercheurs ont déduit que cette huile essentielle a un effet anticancéreux et anti-mutagène. Elle a un effet hautement cytotoxique sur les lignées cellulaires carcinome hépato-cellulaires et carcinome pulmonaire, à la dose de 100µg/mL, avec une concentration inhibitrice (IC<sub>50</sub>) de 67.8 et 12µg/mL, respectivement. En revanche, son activité sur les autres lignées cellulaires était faible.

De même, Zhao et *al.* (2022) affirment que l'huile essentielle d'*Amomum roxb* (Zingiberales : Zingiberaceae) a un effet anti-inflammatoire et bénéfique contre les lésions pathologiques des tissus pulmonaires, chez les souris atteintes d'affection respiratoire induites par des lipopolysaccharides bactériens.

En effet, l'absorption d'une substance via le système respiratoire peut se produire de deux manières, par les poumons et la muqueuse nasale passant dans la circulation sanguine, conduisant la substance active vers le SNC et agissant directement sur la neurotransmission ; ou bien, la transmission se fait par le système olfactif, dans lequel l'administration intra-nasale contourne la barrière hémato-encéphalique et la substance atteint le SNC via les voies neuronales olfactives (Faturi et *al.*, 2010 ; Hanson et Frey, 2008).

D'après Laguerre (2015), les huiles essentielles sont utilisées pour traiter les infections respiratoires supérieures ou profondes comme la bronchite, la bronchiolite, la pneumonie, la rhinopharyngite ou la sinusite. Il précise que lors de l'inhalation de l'huile essentielle, cette dernière parvient en l'état au niveau des sinus, du carrefour naso-pharyngé et au niveau trachéo-bronchique, et rentre ainsi en contact direct avec l'agent pathogène. Néanmoins, l'auteur relate que cette voie sera contre-indiquée pour des cas d'insuffisance respiratoire, d'asthme ou d'allergies.

L'étude de l'effet de l'huile essentielle de lavande aspic sur des souris nous a permis de conclure que les animaux ne souffraient pas d'anxiété ni de dépression et que leur poids corporel est affecté uniquement après traitement par voie intrapéritonéale et cela quelque soit la dose. Sur le plan histologique, l'huile essentielle de lavande n'a induit aucune altération au niveau des tissus pulmonaires, lors du traitement par inhalation.

En revanche, les souris présentent un blocage du processus de la spermatogénèse et une atteinte fonctionnelle du rein lorsqu'ils sont traités avec 70 $\mu$ L d'huile essentielle de *L. latifolia*, par voie intrapéritonéale.

# *Conclusion générale*

Ce présent travail a été consacré à l'étude de la biologie de l'un des bioagresseurs des denrées stockées, le silvain dentelé *O. surinamensis*, et à l'effet insecticide des huiles essentielles à l'égard des adultes. L'objectif principal est la recherche de plantes aromatiques qui recèlent des propriétés insecticides pouvant être employées dans le cadre d'une stratégie de lutte alternative à l'usage des pesticides chimiques dans les entrepôts.

Les résultats de l'étude morphométrique sur les adultes et les différents stades de développement du silvain montrent que les mâles ( $2.93 \pm 0.028$  mm) sont de plus grande taille que les femelles ( $2.79 \pm 0.018$  mm) et les nymphes mesurent  $1.97 \pm 0.02$  mm de long. Les larves du 1<sup>er</sup> stade mesurent  $1.38 \pm 0.025$  mm de long et  $0.26 \pm 0.006$  mm de largeur (capsule céphalique). Les larves du 4<sup>ème</sup> stade mesurent  $2.78 \pm 0.05$  mm de long et  $0.46 \pm 0.007$  mm de large. Quant aux œufs, ils mesurent  $0.764 \pm 0.003$  mm de long et  $0.244 \pm 0.002$  mm de large. D'après ces résultats, *O. surinamensis* sur laquelle nous avons travaillé appartient à la souche normale dont la longueur moyenne est 2.7 mm.

L'étude de la biologie d'*O. surinamensis* confirme sa polyphagie, avec des préférences alimentaires dont la nature agit sur son développement. La durée totale de son cycle de vie, à une température de  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  et une HR de  $50 \pm 5\%$ , est courte sur la semoule ( $28.97 \pm 2.33$  jours), comparativement à l'avoine ( $40.88 \pm 5.39$  jours) et au riz ( $39.79 \pm 3.95$  jours). Dans les trois substrats, la durée d'incubation de l'œuf est de 4 jours en moyenne, le développement larvaire passe généralement par quatre stades, rarement cinq. La durée de développement des jeunes stades varie entre 4 et 6 jours, alors qu'elle est plus longue (entre 4 et 13 jours, selon le substrat) pour les stades âgés (L<sub>4</sub> et L<sub>5</sub>). La durée de la nymphose est significativement différente selon le substrat, elle varie entre 6.18 et 6.91 jours.

Le taux d'éclosion des œufs est important sur les trois substrats et avoisine les 90%. Le taux d'émergence des adultes est significativement différent, il est beaucoup plus important sur la semoule (59%) et l'avoine (68%) comparativement au riz (35%). Le sex-ratio est proche de l'équilibre et semble ne pas être affecté par le substrat alimentaire.

Par ailleurs, le substrat a également un impact sur la longévité des adultes et la fécondité des femelles. La longévité des adultes est nettement plus importante sur l'avoine ( $186.18 \pm 21.13$  jours), comparativement aux deux autres substrats, elle est de  $61.86 \pm 6.02$  jours sur la semoule et  $58.54 \pm 7.16$  jours sur le riz.

La fécondité des femelles varie de façon très hautement significative selon la nature des substrats utilisés; elle est plus élevée sur l'avoine (70.27 œufs/mois), relativement faible sur la semoule (46.96 œufs/mois) et très faible sur le riz (4.42 œufs/mois).

L'analyse chromatographique des cinq huiles essentielles utilisées montre que les huiles essentielles de *S. molle* et *C. sempervirens* sont composées majoritairement de sesquiterpènes oxygénés avec respectivement, 48.09% et 49.63%, suivis de monoterpènes hydrogénés, alors que les huiles essentielles des Lamiacées sont quasiment des monoterpènes oxygénés.

Les huiles essentielles testées par fumigation sur les adultes d'*O. surinamensis* affectent de façon très significative la mortalité des adultes qui est huile et dose dépendante. Une mortalité proche de 100% est enregistrée pour les huiles essentielles de *L. latifolia* et *O. basilicum* à 40 µL/L, dès 24h. Par ailleurs, la combinaison des huiles essentielles de *M. piperita* et *O. basilicum* a manifesté l'effet létal le plus élevé (100%), obtenu dès la plus faible dose de 20 µL/L et dès 24h d'exposition.

Le calcul des concentrations létales CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> ont permis de classer les substances utilisées selon leur degré de toxicité par fumigation, sur les adultes d'*O. surinamensis*. La mixture *M. piperita*+*O. basilicum* s'est avérée la plus toxique des huiles essentielles testées, d'ailleurs les CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> engendrés sont 0.47 µL/L et 4.04 µL/L, respectivement.

Les tests de répulsion ont montré que les huiles essentielles de *S. molle*, *L. latifolia* et *O. basilicum* sont moyennement répulsives avec des moyennes de répulsion variant entre 50% et 57.5%, alors que les huiles essentielles de *C. sempervirens*, *M. piperita* et la combinaison *M. piperita*+*O. basilicum* sont répulsives, les taux moyens de répulsion varient entre 63.5% et 66.25%.

L'évaluation de la toxicité de l'huile essentielle de *L. latifolia* sur les souris blanches révèle que cette substance naturelle affecte de façon significative le poids des souris traitées par voie intrapéritonéale à la dose 70 µL, elle se traduit par une chute brutale de leur poids corporel moyen. Par contre, l'huile essentielle n'affecte pas le poids des souris traitées par voie orale, d'ailleurs, le poids de ces dernières augmente significativement dans les lots traités en parallèle à leurs témoins. Dans les lots traités par inhalation, le poids corporel des souris évolue très lentement dans les lots traités et témoins, ce résultat est probablement dû à la méthode utilisée (dispositif mal adapté).

Les expériences du test de labyrinthe en croix surélevée ont révélé que les animaux ont un comportement anxieux, dans les trois modes de traitement. Cependant, la différence entre les lots traités et témoins n'est pas significative, ce qui suggère que cette anxiété ne peut être attribuée au traitement appliqué, mais plutôt à d'autres facteurs environnementaux.

D'ailleurs, le test de la nage forcée confirme que l'huile essentielle de lavande aspic n'affecte pas négativement le comportement des souris et que le temps d'immobilité des animaux, dans les trois modes de traitement ainsi que dans leurs témoins, est négligeable, ce qui indique que les souris ne souffraient pas de désespoir comportemental.

L'examen de l'anatomie des organes lors de la dissection de l'abdomen des souris, n'a montré aucune anomalie visible à l'œil nu. Par contre, une mortalité des souris est signalée au niveau des deux lots traités par voie intrapéritonéale.

L'observation microscopique des coupes histologiques du testicule des souris traitées par voie orale et par inhalation, montre que l'huile essentielle de *L. latifolia* n'a entraîné aucune altération au niveau de la structure des tissus testiculaires.

En revanche, l'administration de 50 µL cette substance par voie intrapéritonéale a induit une diminution du nombre de spermatozoïdes, l'effet est plus marqué à la dose 70µL, avec un arrêt du processus de spermatogenèse au stade spermatides allongées, ce qui peut être interprété par un blocage de la spermatogénèse.

L'examen des coupes histologiques du parenchyme rénal des lots traités par voie orale (durant 14 et 21 jours) et intrapéritonéale, a montré une réduction du nombre de glomérules et une dilatation de la surface de la chambre glomérulaire, provoquant une réduction de la surface d'échange et de filtration. Les TCP sont moins développés, les canaux collecteurs sont un peu plus espacés, ce qui indique une atteinte fonctionnelle du rein. En revanche, aucune altération sur le plan structural n'a été enregistrée dans le lot traité par inhalation.

L'observation des coupes histologiques du parenchyme pulmonaire des différents lots traités avec l'huile essentielle de lavande, à différent temps d'exposition et différent modes, a montré une structure homogène et normale et l'absence de toute altération du parenchyme pulmonaire.

L'étude de l'activité insecticide des huiles essentielles peut constituer une piste intéressante dans la recherche des moyens de lutte alternatifs contre de nombreux ravageurs des denrées entreposées et de nouvelles perspectives s'ouvrent, ainsi :

- ✿ Il serait souhaitable d'évaluer l'effet biocide de ces substances sur les différents stades de développement de ce ravageur potentiel des denrées alimentaires entreposées ;
- ✿ Il serait également intéressant de tester l'effet des composés majoritaires de ces substances isolément afin de déterminer quelles sont les molécules les plus toxiques à l'égard de cet insecte et sur d'autres ravageurs des stocks ;
- ✿ Comme il serait également judicieux de tester d'autres combinaisons d'huiles essentielles et d'évaluer leur effet synergique sur l'insecte cible ;
- ✿ L'étude de la synergie vise à réduire la concentration des composés lors de leur incorporation dans des formulations proposées, ce qui permettra de réduire le coût de préparation des biopesticides ainsi formulés ;
- ✿ Des essais pilotes, en conditions réelles et à petite échelle, doivent être également envisagés pour évaluer la viabilité du procédé.

Enfin, des études de toxicité *in vivo* sont également indispensables et doivent être réalisées avant d'envisager toute application des produits insecticides à grande échelle afin de prévenir d'éventuels risques sur la santé humaine et animale.

*Références  
bibliographiques*

1. **Abass, A.B., Ndunguru, G., Mamiro, P., Alenkhe, B., Mlingi, N., & Bekunda, M. (2014).** Post-harvest food losses in a maize-based farming system of semi-arid savannah area of Tanzania. *J. Stored Prod. Res.*, 57, 49-57.
2. **Abbott, W.S. (1925).** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18, 265-267.
3. **Abdelfattah, N.A.H., Al-Qahtani, A.R., & Qari, S.H. (2021).** SCoT-marker analysis of *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Silvanidae) and stored date kernels of *Phoenix dactylifera* (L.) fumigated with ozone and phosphine gases. *J. Asia-Pac. Entomol.*, 24, 843-849.
4. **Abdel-Sattar, E., Zaitoun, A.A., Farag, M.A., Gayed, SHE., & Harraz, F.M.H. (2010).** Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* L. leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. *Nat. Prod. Res.* 24(3), 226-235.
5. **Abo El Ezz, Z.R., Salem, M.H., Abd El-Fattah, G.A., & Yassen, A.M. (1984).** Effect of exposure to direct solar radiation on body weight, thermoregulation and reproductive efficiency in the male rabbit. Proceedings of the 1<sup>st</sup> Egyptian-British conference on animal and poultry production, Zagazig Univ., Egypt, 1, 119-135.
6. **Abraz, F. (2015).** Etude de l'activité biologique des extraits de quelques plantes aromatiques à l'égard d'un insecte ravageur des grains stockés, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Mémoire de magister en biologie, UMMTO, Algérie, 48p.
7. **Acosta, M., González, M., Araque, M., Velazco, E., Khouri, N., Rojas, L., & Usubillaga, A. (2003).** Composición química de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. var *basilicum*, *O. basilicum* L. var *purpurenscens*, *O. gratissimum* L., y *O. tenuiflorum* L., y su efecto antimicrobiano sobre bacterias multirresistentes de origen nosocomial. *Revista Facul. Farmacia*, 45(1), 19-24.
8. **Adli, D.E.H. (2015).** Effets prophylactique de l'administration d'un extrait de *Syzygium aromaticum* (clou de girofle) chez les rats Wistar en croissance intoxiqués au plomb et au manganèse. Etude biochimique, histologique et neurocomportementale. Thèse de doctorat en biologie, Univ., Ahmed Ben Bella, Oran 1, Algérie, 170p.
9. **Aissaoui, F. (2022).** Biologie et lutte contre trois pyrales des denrées stockées. Thèse de doctorat en biologie, UMMTO, Algérie, 172p.
10. **Aissaoui, F., Hedjal-Chebheb, M., Soltani, A., Haouel-Hamdi, S., Talhi, O., Chérif Ziani, B.F., & Mediouni-Benjemâa, J. (2021).** Variations of chemical composition of

- two Algerian essential oils collected for different seasons and assessment of their insecticidal toxicity against three moth pests. *J. Plant Dis. Prot.*, 128, 1167-1176.
11. **Ait Youssef, M. (2006).** Plantes médicinales de Kabylie. Ed., Ibis Press, Paris, 349p.
  12. **Al Deeb, M.A. (2012).** Lethal time at different temperatures and date variety preference of the saw-toothed grain beetle in stored dates. *Agri. Sci.*, 3(6), 789-794.
  13. **Alçiçek, A., Bozkurt, M., & Çabuk, M. (2003).** The effect of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 33, 89-94.
  14. **Alçiçek, A., Bozkurt, M., & Çabuk, M. (2004).** The effect of a mixture of herbal essential oils, an organic acid or a probiotic on broiler performance. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 34, 217-222.
  15. **Almadiy, A.A. (2021).** Insecticidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Achillea biebersteinii* essential oil and its nanoemulsion and major monoterpenes against *Tribolium castaneum*. *J. Asia-Pac. Entomol.*, 24(4), 1170-1178.
  16. **Al-Saaidi, J.A.A., Al-Khuzai, A.L.D., & Al-Zobaydi, N.F.H. (2009).** Effect of alcoholic extract of *Nigella sativa* on fertility in male rats. *Iraqi J. Veter. Sci.*, 23(2), 123-128.
  17. **Amiard, J.C. (2011).** Les risques chimiques environnementaux. Méthode d'évaluation et impacts sur les organismes. Ed., Lavoisier, Paris, 782p.
  18. **Amiri, R., Pakyari, H., & Arbab, A. (2016).** Repellency of three plants extraction against *Oryzaephilus surinamensis* and *Oryzaephilus mercator* (Coleoptera: Silvanidae). *J. Entomol. Zool. Stud.*, 4(6), 864-867.
  19. **Anderson, IB., Pharm, D., Walter, H.M., Pharm, D., Meeker, JE., Siamak, C., Khojasteh-Bakht, MS., & Blanc, P.D. (1996).** Pennyroyal toxicity: measurement of toxic metabolite levels in two cases and review of the literature. *Ann. Int. Med.*, 124, 726-34.
  20. **Anonyme (2023).** Monographie huile essentielle *Ocimum basilicum* var. *basilicum*. L'Aromathérapie par Myrtéa Formations, pp : 1-5. [www.myrtea-formations.com](http://www.myrtea-formations.com).
  21. **Argui, H., Youchret-Zalleza, OB., Suner, SC., Periz, C.D., Türker, G., Ulusoy, S., Ben-Attia, M., Büyükkaya, F., Oral, A., Coskun, Y., & Said, H. (2021).** Isolation, chemical composition, physicochemical properties, and antibacterial activity of *Cupressus sempervirens* L. essential oil. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, 24(3), 439-452.
  22. **Armstrong, M.T., & Howe, R.W. (1963).** The saw-toothed grain beetle (*Oryzaephilus surinamensis*) in home-grown grain. *J. Agri. Eng. Res.*, 8, 256-261.

23. Arnason, J.T., Mac Kinnon, S., Durst, A., Philogène, B.J.R., Hasbun, C., Sanchez, P., & Mc Laughlin, J.L. (1993). Insecticides in Tropical plants with non-neurotoxic modes of action, chapter 5. *Phytochem. Potent. Tropic. Plants*, 107-131.
24. Asili, J., Tayarani-Najaran, Z., Emami, S.A., Iranshahi, M., Sahebkar, A., & Eghbali, S. (2021). Chemical composition, cytotoxic and antibacterial activity of essential oil from aerial parts of *Salvia tebesana* Bunge. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, 24(1), 31-39.
25. Astuti, L.P., Mario, M.B., & Widjayanti, T. (2018). Preference, growth and development of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) on red, white and black rice in whole grain and flour form. *J. Entomol. Res.*, 42(4), 461-468.
26. Athanassiou, C.G., Chiou, A., Rumbos, C.I., Sotiroudas, V., Sakka, M., Nikolidaki, E.K., Panagopoulou, E.A., Kouvelas, A., Katechaki, E., & Karathanos, V.T. (2017). Effect of nitrogen in combination with elevated temperatures on insects, microbes and organoleptic characteristics of stored currants. *J. Pest Sci.*, 90, 557-567.
27. Attou, A., Davenne, D., Benmansour, A., & Lazouni, HA. (2017). Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* de l'Ouest algérien. *Phytothérapie*, 1-7.
28. Awadalla, H.S., Guedes, R.N.C., & Hashem, A.S. (2021). Feeding and egg-laying preferences of the sawtoothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis*: Beyond cereals and cereal products Hagar. *J. Stored Prod. Res.*, 93, 1-8.
29. Awouafack, MD., Tane, P., Kuete, V., & Eloff, JN. (2013). Sesquiterpènes des plantes médicinales d'Afrique. *Recher. Plant. Médict. Afr.*, 33-103.
30. Back, E.A., & Cotton, R. (1926). Biology of the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* Linné. *J. Agri. Res.*, 33(5), 435-452.
31. Badji, C.A., Dorland, J., Kheloul, L., Richomme, P., Kellouche, A., Azevedo, De Souza, R.C.N., Bezerra, A.L., & Anton, S. (2021). Behavioral and antennal responses of *Tribolium confusum* to *Varronia globosa* essential oil and its main constituent's perspective for their use as repellent. *Molecules*, 26(15), 4393.
32. Badr, M.M., Badawy, M.E.I., & Taktak, N.E.M. (2021). Characterization, antimicrobial activity, and antioxidant activity of the nanoemulsions of *Lavandula spica* essential oil and its main monoterpenes. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 65, 1-11.
33. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils-a review. *Food Chem. Toxicol.*, 46, 446-475.

34. **Bartels, A. (1998).** Guide des plantes du bassin méditerranéen, Vol.1. Ed., Eugen Ulmer, Paris, 400p.
35. **Bassereau, M., Chaintreau, A., Duperrex, S., Joulain, D., Leijs, H., Loesing, G., Owen, N., Sherlock, A., Schippa, C., Thorel, P.J., & Vey, M. (2007).** GC-MS Quantification of suspected volatile allergens in fragrances. Data treatment strategies and method performances. *J. Agri. Food Chem.*, 55(1), 25-31.
36. **Bear, M.F., Connors, B.W., & Paradiso, M.A. (2007).** Neuroscience: Exploring the Brain. 3<sup>ème</sup> Ed., Lippincott Williams & Wilkins, France, 857p.
37. **Beckel, H.D.S., Lorini, I., & Lazzari, S.M.N. (2007).** Rearing method of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) on various wheat grain granulometry. *Revista Brasileira Entomol.*, 51(4), 501-505.
38. **Bekele, J., & Hassanali, A. (2001).** Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry*, 57, 385-391.
39. **Belhamel, K., Abderrahim, A., & Ludwig, R. (2008).** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Schinus molle* L. grown in Algeria. *Int. J. Essent. Oil Ther.*, 2, 175-177.
40. **Bellakhdar, J. (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ed., Ibs Press, France, 764p.
41. **Belot, A. (1978).** Dictionnaire des arbres et arbustes de jardin. Ed., Bordas, Paris, 383p.
42. **Benkhellat, O. (2002).** Contribution à l'étude des conditions de manutention du blé et de l'écologie des arthropodes dans les écosystèmes de stockages de la région de Béjaïa, et essai de lutte contre *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) à base de poudre de plantes. Mémoire de magister en biologie, Univ., Abderrahmane Mira, Béjaïa, 120p.
43. **Benouadah, Z., Mahdeb, N., & Bouzidi, A. (2016).** Evaluation of acute and sub-acute toxicity of alkaloids from *Datura stramonium* sp. in Mice. *Int. J. Phar. Phytochem. Res.*, 8(11), 1759-1766.
44. **Bokreta, S., Khaldoun, H., Ferhat, M.A., Makhoul, C., & Daoudi Zerrouki, N. (2021).** Protective effects of *Thymus vulgaris* essential oil against Voliam Targo® induced kidney and brain toxicity in male rabbits. *Egyptian Acad. J. Bio. Sci., D. Histo. Histochem.*, 13(1), 79-95.
45. **Bokreta-Touati, S. (2022).** Etude de la toxicité de Voliam Targo® (Abamectine+ Chlorantraniliprole) chez le lapin d'une souche locale en Algérie. Thèse de doctorat en biologie, UMMTO, Algérie, 167p.

46. **Botsoglou, N.A., Christaki, E., Florou-Paneri, P., Giannenas, I., Papageorgiou, G., & Spais, A.B. (2004).** Effect of a mixture of herbal essential oils or  $\alpha$ -tocopheryl acetate on performance parameters and oxidation of body lipid in broilers. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 34, 52-61.
47. **Bouabida, H., & Dris, D. (2020).** Effect of rue (*Ruta graveolens*) essential oil on mortality, development, biochemical and biomarkers of *Culiseta longiareolata*. *S. Afr. J. Bota.*, 133, 139-143.
48. **Bouchikhi Tani, Z., Khelil, M.A., & Bendahou, M. (2018).** Evaluation des propriétés larvicides des huiles essentielles extraites de cinq plantes aromatiques d'Algérie : essai sur la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera : Tineidae). *Leban. Sci. J.*, 19(2), 187-199.
49. **Bouchikhi Tani, Z., Khelil, M.A., Bendahou, M., & Juli, P.V. (2011).** Lutte contre les trois bruches *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831), *Bruchus rufimanus* (Boheman, 1833) et *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera : Chrysomelidae : Bruchinae) par les huiles essentielles extraites d'*Origanum glandulosum* (Lamiacées). *Bull. Inst. Catal. Hist. Nat.*, 76, 177-186.
50. **Bouchonnet, S. (2009).** La spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse. Ed., Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 191p.
51. **Bouchonnet, S., Hoppilliard, Y., & Kargar-Grisel, T. (1999).** Les différents types de spectromètres de masse utilisés pour l'analyse des composés organiques et bio-organiques. *Spectra 2000 analyse*, 28(207), 11-25.
52. **Bouhenna, M.M., Bensouici, C., Khattabi, L., Chebrouk, F., & Mameri, N. (2020).** Chemical composition, antioxidant, alpha-glucosidase inhibitory, anticholinesterase and photoprotective activities of the aerial parts of *Schinus molle* L. *Curr. Bioact. Compd.*, 16, 1-17.
53. **Boukaloua, A. (2009).** Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae). Mémoire de magister en biologie, Univ., Mentouri-Constantine, Algérie, 79p.
54. **Boukraa, N., Ladjel, S., Benlamoudi, W., Goudjil, M.B., Berrekbia, M., & Eddoud, A. (2022).** Insecticidal and repellent activities of *Artemisia herba alba* Asso, *Juniperus phoenicea* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils in synergized combinations against adults of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Biocatal. & Agri. Biotechnol.*, 45, 102513.

55. Boukraa, N., Ladjel, S., Goudjil, M.B., Eddoud, A., & Sanori, K.W.M. (2020). Chemical compositions, fumigant and repellent activities, of essential oils from three indigenous medicinal plants and their mixture, against stored grain pest, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Asian J. Res. Chem.*, 13(6), 455-464.
56. Bounoua-Fraoucene, S., Kellouche, A., & Debras, J.F. (2019). Toxicity of four essential oils against two insect pests of stored grains, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Afr. Entomol.*, 27(2), 344-359.
57. Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat en chimie, Univ., d'Avignon et des Pays de Vaucluse, France et ENSA d'El Harrach, Algérie, 128p.
58. Bousbia, N., Vian, M.A., Ferhat, M.A., Petitcolas, E., Meklati, B.Y., & Chemat, F. (2009). Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave Hydrodiffusion and gravity. *Food Chem.*, 114, 355-362.
59. Bozkurt, M., Küçükyılmaz, K., Çatlı, A.U., & Çınar, M. (2009). Effect of dietary mannan oligosaccharide with or without oregano essential oil and hop extract supplementation on the performance and slaughter characteristics of male broilers. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 39(3), 223-232.
60. Bozkurt, M., Küçükyılmaz, K., Çatlı, A.U., Özyıldız, Z., Çınar, M., Çabuk, M., & Çöven, F. (2012). Influences of an essential oil mixture supplementation to corn versus wheat-based practical diets on growth, organ size, intestinal morphology and immune response of male and female broilers. *Italian J. Anim. Sci.*, 11, 290-297.
61. Bradley, B.F., Starkey, N.J., Brown, S.L., & Lea, R.W. (2007). Anxiolytic effects of *Lavandula angustifolia* odour on the Mongolian gerbil elevated plus maze. *J. Ethnopharmacol.*, 111, 517-525.
62. Bruneton, J. (2001). Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2<sup>ème</sup> Ed., Lavoisier, Tec & Doc., France, 564p.
63. Bruneton, J. (2008). Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> Ed., Lavoisier, Tec & Doc., France, 1120p.
64. Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> Ed., Lavoisier, Tec & Doc., France, 1169p.
65. Burgot, G., & Burgot, J.L. (2011). Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications: Méthodes chromatographiques, électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques. 3<sup>ème</sup> Ed., Lavoisier, Tec & Doc., Paris, 365p.

66. Butani, L., Afshinnik, A., Johnson, J., Javaheri, D., Peck, S., German, J.B., & Perez, R.V. (2003). Amelioration of tacrolimus-induced nephrotoxicity in rats using juniper oil. *Transplantation*, 76(2), 306-311.
67. Chabane, D., Saidi, F., & Rouibi, A. (2021). Etude toxicologique aiguë et subaiguë de la partie aérienne de *Rubus ulmifolius* Schott (Rosaceae) dans un modèle animal. *Rev. Agrobiol.*, 11(2), 2692-2698.
68. Chang, Y., Lee, S.H., Na, J.H., Chang, P.S., & Han, J. (2017). Protection of grain products from *Sitophilus oryzae* (L.) contamination by anti-insect pest repellent sachet Containing Allyl Mercaptan microcapsule. *J. Food Sci.*, 82(11), 2634-2642.
69. Chauhan, N., Malik, A., & Sharma, S. (2018). Repellency potential of essential oils against house fly, *Musca domestica* L. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 25(5), 4707-4714.
70. Chemat, F., & Lucchesi, M.E. (2005). Microwave-assisted extractions of essential oils and aromatic extracts. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*, 20, 77-99.
71. Chemat, F., Vian, MA., Fabiano-Tixier, AS., Nutrizio, M., Jambrak, AR., Munekata, PES., Lorenzo, JM., Barba, FJ., Binello, A., & Cravotto, G. (2020). A review of sustainable and intensified techniques for extraction of food and natural products. *Green Chem.*, 22(8), 2325-2353.
72. Chiasson, H., & Beloin, N. (2007). Les huiles essentielles, des biopesticides «Nouveau genre». *Bull. Soci. Entomol. Québec*, 14(1), 3-6.
73. Chioca, L.R., Antunes, V.D.C., Ferro, M.M., Losso, E.M., & Andreatini, R. (2013). Anosmia does not impair the anxiolytic-like effect of lavender essential oil inhalation in mice. *Life Sci.*, 92, 971-975.
74. Ciesla, Y., & Guery, B. (2014). Efficacité de la terre de diatomées mélangée aux grains pour la lutte contre le charançon du riz. Dixième conférence internationale sur les ravageurs en agriculture, Montpellier, les 22 et 23 octobre 2014.
75. Cissokho, P., Guèye, T., Sow, E., & Diarra, K. (2015). Substances inertes et plantes à effet insecticide utilisées dans la lutte contre les insectes ravageurs des céréales et légumineuses au Sénégal et en Afrique de l'Ouest. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 9(3), 1644-1653.
76. Cock, M.J.W., Murphy, S.T., Kairo, M.T.K., Thompson, E., Murphy, R.J., & Francis, A.W. (2016). Trends in the classical biological control of insect pests by insects: an update of the Biocat database. *Bio. Control*, 1-15.
77. Coumoul, X. (2019). Toxicologie, cours, sujets de synthèse. Ed., Dunod, France, 259p.

78. Cronquist, A., & Takhtadziân, A.L. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Uni. Press, New York.
79. Cseke, L.J., Kirakosyan, A., Kaufman, P.B., Warber, S.L., Duke, J.A., & Briemann, H.L. (2006). Natural products from plants. 2<sup>nd</sup> Ed., Taylor & Francis, USA, 551p.
80. Curtis, C., & Clark, J.D. (1974). Comparative biologies of *Oryzaephilus surinamensis* and *O. mercator* (Coleoptera: Cucujidae) on dried fruits and nuts. Techn. Bull. 1488, U.S. Depart. Agri. Res. Ser., Maryland, 114 p.
81. De Groot, I. (2004). Protection des céréales et des légumineuses stockées. Ed., Fondation Agromisa, Wageningen, Pays Bas, 74p.
82. De Martino, L., Amato, G., Caputo, L., Nazzaro, F., Scognamiglio, M.R., & De Feo, V. (2021). Variations in composition and bioactivity of *Ocimum basilicum* cv 'Aroma 2' essential oils. *Indus. Crops Prod.*, 172, 114068.
83. Delobel, A., & Tran, M. (1993). Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. Ed., Faune tropicale/ CTA, Pays-Bas, 424p.
84. Diego, M.A., Jones, N.A., Tiffany, Ch., Field, T., Hernandez-Reif, M., Schanberg, S., Kuhn, C., Galamaga, M., Mc Adam, V., & Galamaga, R. (1998). Aromatherapy positively affects mood, EEG patterns of alertness and math computations. *Int. J. Neurosci.*, 96(3-4), 217-224.
85. Disse, E., Seyssel, K., & Laville, M. (2016). La régulation neuro-hormonale de la prise alimentaire. *Mis. Point, Clini. Endocrinol.*, 5-18.
86. Djermoun, A. (2009). La production céréalière en Algérie: les principales caractéristiques. *Rev. Nature Technol.*, 1, 45-53.
87. Dubey, S., Jhelum, V., & Patanjali, P.K. (2011). Controlled release agrochemicals formulations. *J. Sci. Ind. Res.*, 70, 105-112.
88. Durand-Tardif, M., & Pelletier, G. (2003). Contribution of cell and molecular biology and genetics to plant protection. *C. R. Biol.*, 326, 23-35.
89. El Haib, A. (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de doctorat en chimie organique et catalyse, Univ., Toulouse III-Paul Sabatier, France, 158p.
90. Eliopoulos, P.A. (2019). Life table parameters of the parasitoid *Cephalonomia tarsalis* (Hymenoptera: Bethyridae) and its host the saw-toothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera : Silvanidae). *J. Plant Prot. Res.*, 59(4), 2019.

91. Enan, E. (2001). Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action, part C: Toxicology and Pharmacology. *Comp. Biochem. Physiol.*, 130, 325-337.
92. Fahmy, M.A., Farghaly, A.A., Hassan, E.E., Hassan, E.M., Hassan, Z.M., Mahmoud, K., & Omara, E.A. (2022). Evaluation of the anti-cancer/anti-mutagenic efficiency of *Lavandula officinalis* essential oil. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 23(4), 1215-1222.
93. FAO (2023). Situation alimentaire mondiale.  
<https://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/>
94. Farhat, A. (2010). Vapo-diffusion assistée par micro-ondes : Conception, optimisation et application. Thèse de doctorat en sciences des procédés, Univ., Avignon et des Pays de Vaucluse, France et l'ENI de Gabès, Tunisie, 136p.
95. Faturi, C.B., Leite, J.R., Alves, P.B., Canton, A.C., & Teixeira-Silva, F. (2010). Anxiolytic-like effect of sweet orange aroma in Wistar rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 34, 605-609.
96. Ferhat, M.A., Boukhatem, M.N., Hazzit, M., & Chemat, F. (2016). Rapide extraction of volatile compounds from *Citrus* fruits using a microwave dry distillation. *J. Fund. Appl. Sci.*, 8(3), 753-781.
97. Ferradji, A., Bouchareb, M., Bouhous, N.E.H., & Malek, A. (2016). Optimization of assisted ultrasound osmotic dehydration of strawberries slices in sucrose solutions using response surface methodology. *Rev. Energ. Renouv.*, 19(2), 311-319.
98. Fidah, H., Hachem, K., Adli, D.E.H., Brahmi, M., Houari, H., Kahloula, K., & Slimani, M. (2020). Benefical effect of *Hordeum vulgare* extract against aluminum chloride induced neurotoxicity in Wistar rats. *J. Appl. Nat. Sci.*, 12(3), 422-429.
99. Filomeno, C.A., Almeida Barbosa, L.C., Teixeira, R.R., Pinheiro, A.L., Farias, E.D.S., Ferreira, J.S., & Picanço, M.C. (2020). Chemical diversity of essential oils of Myrtaceae species and their insecticidal activity against *Rhyzopertha dominica*. *J. Pre-Proof*, 137, 1-25.
100. Fleurat-Lessard, F. (2018). Gestion intégrée de la protection des stocks de céréales contre les insectes sans traitement insecticide rémanent. *Phytoma-LDV.*, 716, 32-40.
101. Garcia, D., Nesci, A., Girardi, N., Passone, M.A., & Etcheverry, M. (2019). Antifeedant, horizontal transfer and repellent activities of free and microencapsulated food grade antioxidants against postharvest pest insects (*Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus, 1758) and *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797)) (Coleoptera: Silvanidae,

- Tenebrionidae) of peanuts (*Arachis hypogaea* L.) (Fabaceae). *Polish J. Entomol.*, 88(2), 101-117.
- 102. Germinara, G.S., Di-Stefano, M.G., De-Acutis, L., Pati, S., Delfine, S., De-Cristofaro, A., & Rotundo, G. (2017).** Bioactivities of *Lavandula angustifolia* essential oil against the stored grain pest *Sitophilus granarius*. *Bull. Insectology*, 70(1), 129-138.
- 103. Gros, P., (2014).** Coleoptera, Famille des Silvanidae, Silvaninae, *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus, 1758). France. <https://www.galerie-insecte.org/galerie/ref-121683.htm>
- 104. Gueye, A.C., Diome, T., Thiaw, C., & Sembene, M. (2015).** Évolution des paramètres biodémographiques des populations de *Tribolium castaneum* H. (Coleoptera, Tenebrionidae) inféodé dans le mil (*Pennisetum glaucum* Leek) et le maïs (*Zea mays* L.). *J. Appl. Biosci.*, 90, 8361-8376.
- 105. Guèye, M.T., Seck, D., Wathelet, J.P., & Lognay, G. (2011).** Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale: synthèse bibliographique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 15(1), 183-194.
- 106. Guinoiseau, E. (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat en biologie, Univ., Corse-Pasquale Paoli, France, 143p.
- 107. Guitton, Y. (2010).** Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula* : aspects évolutifs et physiologiques. Thèse de doctorat en biologie et physiologie végétale, Univ., Saint-Etienne-Jean-Monnet, France, 253p.
- 108. Gwinner, J., Harmisch, R., & Mück, O. (1996).** Manuel sur manutention et la conservation des graines après récolte. Ed., GTZ, Esehborn, Allemagne, 368p.
- 109. Hajek, A.E., Gardescu, S., & Delalibera, I.Jr. (2020).** Summary of classical biological control introductions of entomopathogens and nematodes for insect control. *Int. Org. Bio. Control*, 1-14.
- 110. Halstead, D.G.H. (1980).** A revision of the genus *Oryzaephilus* Ganglbauer, including descriptions of related genera (Coleoptera: Silvanidae). *Zool. J. Lin. Soc.*, 69(4), 271-374.
- 111. Halstead, D.G.H. (1993).** Clés d'identification des coléoptères associés aux produits stockés-II. Laemophloeidae, Passandridae et Silvanidae. *J. Stored Prod. Res.*, 29(2), 199-197.
- 112. Hamani-Aoudjit, S. (2019).** Bioécologie et biocontrôle de la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) dans la région de Bouira. Thèse de doctorat en biologie, UMMTO, Algérie, 153p.

- 113. Hamid, A.A., Aiyelaagbe, O.O., & Usman, L.A. (2011).** Essential oils: Its medicinal and pharmacological uses. *Int. J. Curr. Res.*, 3(2), 86-98.
- 114. Hammer, K.A., Carson, C.F., & Riley, T.V. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.*, 86, 985-990.
- 115. Hammoutene L., & Ben Ouarab M. (2022).** Biologie et sensibilité du silvain dentelé *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanida) à l'égard de l'association de trois huiles essentielles. Mémoire de master en biologie, UMMTO, Algérie, 76p.
- 116. Hanson, L.R., & Frey II, W.H. (2008).** Intranasal delivery bypasses the blood-brain barrier to target therapeutic agents to the central nervous system and treat neurodegenerative disease. *Neurosci, BMC.*, 9(3), 1-4.
- 117. Hashem, M.Y., Khalifa, E.A., & Ahmed, S.S. (2021).** The effect of modified atmospheres on the saw-toothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) and the quality of semi-dried dates. *J. Stored Prod. Res.*, 93, 1-7.
- 118. Herz, R.S. (2009).** Faits et fictions de l'aromathérapie: une analyse scientifique des effets olfactifs sur l'humeur, la physiologie et le comportement. *Int. J. Neurosci.*, 119(2), 263-290.
- 119. Hooser, S.B., Beasley, V.R., & Everitt, J.I. (1986).** Effects of an insecticidal dip containing D-limonene in the cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 189, 905-908.
- 120. Howe, R.W. (1956).** The biology of the two common storage species of *Oryzaephilus* (Coleoptera, Cucujidae). *Ann. Appl. Biol.*, 44(2), 341-355.
- 121. Huchet, J.B. (2016).** Le Coléoptère, la Graine et l'Archéologue : Approche archéoentomologique des principaux ravageurs des denrées stockées. Chapitre in Plantes, produits végétaux et ravageur, Actes des X<sup>e</sup> Rencontres d'Archéobotanique, Les Eyzies-de-Tayac, 24-27 septembre 2014, pp: 17-42.
- 122. Huignard, J. (2013).** Les plantes et les insectes : une lutte permanente 1. Les défenses des plantes. *Insectes*, 168(1), 3-8.
- 123. Iserin, P. (2001).** Larousse encyclopedia of medicinal plants. Identification, preparation, care. Ed., Larousse-Bordas, Hong Kong, 335p.
- 124. Isman, M.B. (2016).** Pesticides based on plant essential oils: Phytochemical and practical considerations. In Medicinal and aromatic crops: production, phytochemistry, and utilization, chapter 2, T1218. Ed., American Chem. Soc., USA, pp: 13-26.
- 125. Isman, M.B., & Machial, C.M. (2006).** Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization, Chapter 2. *Natur. Occur. Bioact. Comp.*, 3, 29-44.

126. **Jacob, T.A., & Fleming, D.A. (1989).** The difference in the developmental period and mortality of some field strains of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) at constant temperatures (Coleoptera: Silvanidae). *J. Stored Prod. Res.*, 25(2), 73-76.
127. **Jacob, T.A., & Fleming, D.A. (1990).** L'effet de l'humidité sur le développement et la survie des stades immatures de souches d'*Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera : Silvanidae) à température constante. *J. Stored Prod. Res.*, 26(3), 163-167.
128. **Jahani, M., Akaberi, M., Khayyat, M.H., & Abd Emami, S.A. (2019).** Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from *Cupressus sempervirens*. var. *sempervirens*, *C. sempervirens*. cv. *Cereiformis* and *C. sempervirens* var. *horizontalis*. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*. 22(4), 917-931.
129. **Jakubas-Zawalska, J., Asman, M., Klyś, M., & Solarz, K. (2016).** Sensitization to *Oryzaephilus surinamensis* in selected suburban population of south Poland. *Ann. Parasitol.*, 62, 150p.
130. **Jayakumar, M., Arivoli, S., Raveen, R., & Tennyson, S. (2017).** Repellent activity and fumigant toxicity of a few plant oils against the adult rice weevil *Sitophilus oryzae* Linnaeus 1763 (Coleoptera: Curculionidae). *J. Entomol. Zool. Stud.*, 5(2), 324-335.
131. **Jilani, G., & Saxena, RC. (1990).** Repellent and feeding deterrent effects of turmeric oil, sweetflag oil, neem oil, and a neem-based insecticide against lesser grain borer (Coleoptera: Bostrychidae). *J. Econ. Entomol.*, 83(2), 629-634.
132. **Jollois, R., Franchomme, P., & Pénoel, D. (2001).** L'aromathérapie exactement-Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles : fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. 1<sup>ère</sup> Ed., Springer Verlag, France, 490p.
133. **Junqueira, L.C., & Carneiro, J. (2005).** *Basic Histology: Text and Atlas*, 11/e. New York. In **Klein, R.M., & Enders, G.C. (2007).** *Anatomy, histology and cell biology*. 3<sup>rd</sup> Ed., Mc Graw-Hill, USA, 618p.
134. **Kasper, S., Gastpar, M., Müller, WE., Volz, HP., Möller, HJ., Dienel, A., & Schläfke, S. (2010).** Silexan, an orally administered *Lavandula* oil preparation, is effective in the treatment of "subsyndromal" anxiety disorder: a randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Int. Clin. Psychopharmacol.*, 25(5), 277-87.
135. **Kassimi, A., Watik, L., Mohammed, M., & Hamid, C. (2017).** Mortality of watermelon aphids by neem natural oil and a chemical synthetic product. *Int. J. Adv. Res.*, 4(1), 1-6.

136. **Kellouche, A. (2005).** Etude de la bruche du pois-chiche, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae): biologie, physiologie, reproduction et lutte. Thèse de doctorat en biologie, UMMTO, Algérie, 151p.
137. **Kellouche, A., & Soltani, N. (2004).** Biological activity of the powders of five plants and the essential oil of one of them on *Callosobruchus maculatus* (F.). *Int. J. Trop. Insect Sci.*, 24(2), 184-191.
138. **Kellouche, A., Ait-Aider, F., Labdaoui, K., Moula, D., Ouendi, K., Hamadi, N., Ouramdane, A., Frerot, B., & Mellouk, M. (2010).** Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidae). *Int. J. Integr. Biol.*, 10(2), 86-89.
139. **Kellouche, A., Soltani, N., Auger, S.K.J., Arnold, I., & Kreiter, Ph. (2004).** Biological activity of four vegetable oils on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae). *Redia*, 137, 39-47.
140. **Khelfane-Goucem, K., Lardjane, N., & Medjdoub-Bensaad, F. (2016).** Fumigant and repellent activity of Rutaceae and Lamiaceae essential oils against *Acanthoscelides obtectus* Say. *Afr. J. Agric. Res.*, 11(17), 1499-1503.
141. **Kheloul, L., Anton, S., Breard, D., & Kellouche, A. (2021).** Fumigant toxicity of some essential oils and eucalyptol on different life stages of *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Bot. Lett.*, 1-12.
142. **Kheloul, L., Anton, S., Gadenne, C., & Kellouche, A. (2020).** Fumigant toxicity of *Lavandula spica* essential oil and linalool on different life stages of *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Asia-Pac. Entomol.*, 23(2), 320-326.
143. **Kheloul, L., Kellouche, A., Bréard, D., Gay, M., Gadenne, C., & Anton, S. (2019).** Trade-off between attraction to aggregation pheromones and repellent effects of spike lavender essential oil and its main constituent linalool in the flour beetle *Tribolium confusum*. *Entomol. Exp. Appl.*, 167(9), 826-834.
144. **Kim, S.I., Yoon, J.S., Jung, J.W., Hong, K.B., Ahn, Y.J., & Kwon, H.W. (2010).** Toxicity and repellency of origanum essential oil and its components against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. *J. Asia-Pac. Entomol.*, 13(4), 369-373.
145. **Klass, C., & Raffenberger, M. (2012).** Sawtoothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus); Family: Silvanidae. Ed., Insect diagnostic laboratory, Cornell Univ., pp: 1-2. <http://idl.entomology.cornell.edu>
146. **Kloss, J.L., & Boeckman, C.R. (1967).** Methyl salicylate poisoning. Case report and discussion of treatment by peritoneal dialysis. *Ohio State Med. J.*, 63, 1064-1065.

147. Klys, M., & Przystupinska, A. (2015). The mortality of *Oryzaephilus surinamensis* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Silvanidae) induced by powdered plants. *J. Plant Protec. Res.*, 55(1), 110-116.
148. Komson, A. (1967). A comparative study of the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (L.) and of the merchant grain beetle, *Oryzaephilus mercator* (Fauv.) (Coleoptera, Cucujidae). A thesis of science, Mc Gill Univ., Montreal, Canada, 105p.
149. Koul, O., Walia, S., & Dhaliwal, G.S. (2008). Essential oils as green pesticides: Potential and constraints. *Biopestic. Int.*, 4(1), 63-84.
150. Kousar, T., Memon, Z-N., Sahito, H.A., Mangrio, W.M., Jatoi, F.A., & Shah, Z.H. (2021). Biology, morphology, and varietal distribution of saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (L.) on date palm dry and semi-dry dates at district: Khairpur, Sindh-Pakistan. *Pure Appl. Biol.*, 10(3), 539-548.
151. Kritsidima, M., Newton, T., & Asimakopoulou, K. (2010). The effects of lavender scent on dental patient anxiety levels: a cluster randomised-controlled trial. *Community Dent. Oral Epidemiol.*, 38, 83-7.
152. Kuçukyilmaz, K., Kiyma, Z., Akdağ, A., Çetinkaya, M., Atalay, H., Ateş, A., Gürsel, F.E., & Bozkurt, M. (2017). Effect of lavender (*Lavandula stoechas*) essential oil on growth performance, carcass characteristics, meat quality and antioxidant status of broilers. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 47(2), 178-186.
153. Kumar, D., & Kalita, P. (2017). Reducing postharvest losses during storage of grain crops to strengthen food security in developing countries. *Foods*, 6(8), 1-22.
154. Künkele, U., & Lobmeyer, T.R. (2007). Plantes médicinales, identification, récolte, propriétés et emplois. Ed., Parragon, Chine, 319p.
155. Laguerre, V. (2015). Huiles essentielles et 1,8-cinéole. Thèse de doctorat en pharmacie, Univ., Lorraine, France, 181p.
156. Lahlou, M. (2004). Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother. Res.*, 18, 435-448.
157. Lakabi, L., & Khelfane-Goucem, K. (2020). Effets des huiles essentielles de *Mentha piperita*, *Salvia officinalis* et *Rosmarinus officinalis* sur les poids corporel et gonadique de lapins mâles pré-pubères. *Livest. Res. Rural. Dev.*, 32(8), 2020.
158. Lal, M., Begum, T., Munda, S., & Pandey, S.K. (2021). Identification of high rhizome and essential oil yielding variety (Jor Lab ZB-103) of *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*. 24(5), 1010-1025.

- 159. Lamara Mahamed, R. (2020).** Bioécologie de la teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae) sur quelques variétés de pomme de terre et essais de lutte. Thèse de doctorat en biologie, UMMTO, Algérie, 112p.
- 160. Lamboni, Y., & Hell, K. (2009).** Propagation of mycotoxigenic fungi in maize stores by post-harvest insects. *Int. J. Trop. Insect Sci.*, 29(1), 31-39.
- 161. Laoudi, T., Khelfane-Goucem, K., Hamani-Aoudjit, S., Chebrouk, F., Amrouche, T., Saher, L., & Kellouche, A. (2023).** Chemical composition of essential oils from the leaves of *Schinus molle* and *Cupressus sempervirens* and their insecticidal activity against *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae). *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 26(2), 1-14.
- 162. Latifian, M., Jalili Moghadam, M., & Ramzi Jahromi, S. (2020).** The survival and biological characteristics of *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Silvanidae) in the feeding conditions on three date palm cultivars, *Arch. Phytopath. Plant Protec.*, 53(15-16), 698-714.
- 163. Lauwerys, R.R., Haufroid, V., Hoet, P., & Lison, D. (2007).** Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. Ed., Elsevier Masson SAS, Paris. <https://dial.uclouvain.be/pr/boreal/object/boreal:201740>.
- 164. Lee, S., Peterson, C.J., & Coats, J.R. (2003).** Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. *J. Stored Prod. Res.*, 39, 77-85.
- 165. Lehrner, J., Marwinski, G., Lehr, S., Jhren, P., & Deecke, L. (2005).** Ambient odors of orange and lavender reduce anxiety and improve mood in a dental office. *Physiol. Behav.*, 86, 92-5.
- 166. Lepesme, P. (1944).** Les Coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés, Vol. XXII d'encyclopédie entomologique, Ed., Paul Le Chevalier, Paris, 335p.
- 167. Leret, M.L., San Millán, J.A., & Antonio, M.T. (2003).** L'exposition périnatale au plomb et au cadmium affecte les comportements de type anxieux. *Toxicologie*, 186(1-2), 125-130.
- 168. Linck, V.M., Da Silva, A.L., Figueiró, M., Caramão, E.B., Moreno, P.R., & Elisabetsky, E. (2010).** Effects of inhaled linalool in anxiety, social interaction and aggressive behavior in mice. *Phytomedicine*, 17, 679-83.
- 169. Lis-Balchin, M. (2002).** Lavender, the Genus *Lavandula*. Ed., Taylor & Francis, London, 296p.

- 170. Lounaci, Z. (2015).** Biodiversité des Diptères d'intérêt agronomique médical et vétérinaire en particulier les Phlébotomes et les Culicidés dans l'Algérois, le marais de Réghaia et la vallée du moyen Sébaou de Tizi Ouzou. Thèse doctorat en agronomie, ENSA El Harrach, Algérie, 247 p.
- 171. Lubbe, A., & Verpoorte, R. (2011).** Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Ind. Crops Prod.*, 34, 785-801.
- 172. Lucchesi, M.E. (2005).** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat en chimie, Univ., La Réunion, Saint-Denis, France, 143p.
- 173. Lucchesi, M.E., Chemat, F., & Smadja, J. (2004).** An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices. *Flavour Fragr.*, 19, 134-138.
- 174. Mabou, F.D., Belinda, I., & Yossa, N. (2021).** Terpènes: structural classification and biological activities. *IOSR. J. Pharm. Biol. Sci.*, 16(3), 25-40.
- 175. Madison, KC. (2003).** Barrier function of the skin «la raison d'être» of the epidermis. *J. Invest. Dermatol. Aug.*, 121(2), 231-41.
- 176. MADR (2022).** Ministère de l'agriculture et du Développement Rural [données 2021/2022].
- 177. Mahendran, G., & Rahman, L.U. (2020).** Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on peppermint (*Mentha×piperita* L.). *Phytother. Res.*, 1-52.
- 178. Mallah, N.A., Sahito, H.A., Kousar, T., Kubar, W.A., Jatoi, F.A., & Shah, Z.H. (2016).** Susceptibility of different varieties of stored date palm fruits infested by saw tooth grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (L., 1758) under laboratory conditions. *J. Entomol. Zool. Stud.*, 4(6), 438-443.
- 179. Mallamaire, A. (1967).** Les insectes nuisibles aux semences et aux denrées entreposées au Sénégal. Compte rendu des travaux du congrès de la protection des cultures tropicales. Chambre du commerce et d'industrie de Marseille, 23-27 mars 1965, pp: 85-92
- 180. Manganiello-Terra, F.A., Correa-Netto, N.F., Masukawa, M.Y., Ruzzi, A., Linardi, A., & Santos-Junior, J.G. (2020).** Inhaled *Lavandula angustifolia* essential oil enhances extinction learning and inhibits memory updating in mice submitted to the contextual fear conditioning. *J. Ethnopharmacol.*, 260, 1-8.
- 181. Manivannan, R., Senthil Kumar, M., Jawahar, N., Sai Ganesh, E., & Jubie, S. (2005).** A comparative antimicrobial study on the essential oil of the leaves of various species of *Cupressus*. *Anc. Sci. Life.*, 24(3), 131-133.

- 182. Manzoor, F., Nasim, G., Saif, S., & Malik, SA. (2011).** Effect of ethanolic plant extracts on three storage grain pests of economic importance. *Pak. J. Bot.*, 43(6), 2941-2946.
- 183. Martin, L., Julio, F., Burillo, J., Sanzd, J., Mainara, AM., & Coloma, A.G. (2011).** Comparative chemistry and insect antifeedant action of traditional (Clevenger and Soxhlet) and supercritical extracts (CO<sub>2</sub>) of two cultivated wormwood (*Artemisia absinthium* L.) populations. *Ind. Crops Prod.*, 34, 1615-1621.
- 184. Martinelli, LMB. (2020).** Étude de la biosynthèse des terpènes et de leur régulation chez *Pelargonium × hybridum*. Thèse de doctorat en biologie et physiologie végétale, Univ., Lyon, France, 272p.
- 185. Martoja, R., & Martoja, M. (1967).** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Ed., Masson & Cie, Paris, 343p.
- 186. Mason, P.L. (1996).** Population biology of the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae), in an experimental model of a fabric treatment. *Bull. Entomol. Res.*, 86, 377-385.
- 187. Matile, L. (1993).** Les Diptères d'Europe occidentale. Introduction, techniques d'étude et morphologie (Nématocères, Brachycères, Orthograpes et Asschizes), T1. Ed., Boubée, Paris, 439 p.
- 188. Maughan, N. (2012).** *Cephalonomia tarsalis*, un nouvel hôte discret des zones urbaines ? *Insecte*, 164(1), 21-23.
- 189. Mc Donald, L.L., Guy, R.H., & Speirs, R.D. (1970).** Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents, and attractants against stored product insects. Marketing Research Report, n° 882, Washington, 183p.
- 190. Melamed, Y., & Kislev, M.E. (2005).** Remains of seeds, fruits and insects from the excavations in the village of "En Gedi". *Atiqot*, 49, 89-102.
- 191. Miguel, L.M., Okemy-Andissa, N., N'jilo, D., Mokondjimobe, E., Moukassa, D., Longo-Mbenza, B., & Abena, A.A. (2019).** Effets de l'huile des fruits de *Dacryodes edulis* sur les symptômes de l'anxiété et les performances cognitives chez la souris, après administration prolongée. *Encephale*, 45, 397-404.
- 192. Miresmailli, S., Bradbury, R., & Isman, M.B. (2006).** Toxicité comparative de l'huile essentielle de *Rosmanirus officinalis* L. et des mélanges de ses principaux constituants contre le *Tetranychus urtica* Koch (Acari: Tetranychidae) sur deux plantes hôtes différentes. *Pest Manag. Sci.*, 62(4), 366-371.

- 193. Multon, J.L. (1982).** Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés, céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Ed., Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 1155p.
- 194. Muturi, E.J., Ramirez, J.L., Zilkowski, B., Flor-Weiler, L.B., & Rooney, A.P. (2018).** Ovicidal and larvicidal effects of garlic and asafoetida essential oils against West Nile virus vectors. *J. Insect Sci.*, 18(2), 1-6.
- 195. Nantia, E.A., Moundipa, P.F., Beboy, N.S., Mousees, T.K., & Carreau, S. (2007).** Etude de l'effet androgénique de l'extrait au méthanol de *Basella alba* L. (Basellaceae) sur la fonction de reproduction du rat mâle. *J. Andrology*, 2, 129-133.
- 196. Nassem, M.Z., Patil, S.R., & Patil, S.B. (1998).** Antispermatic and androgenic activities of *Momordica charantia* (Karela) in albinos rats. *J. Ethnopharmacol.*, 61(1), 9-16.
- 197. Nerio, L.S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E.E. (2009).** Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *J. Stored Prod. Res.*, 45(3), 212-214.
- 198. Ngamo, T.S.L., & Hance, TH. (2007).** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura*, 25(4), 215-220.
- 199. Ngamo, T.S.L., Goudoum, A., Djakissam, W., & Madou, C. (2016).** Les bruches du voandzou *Vigna subterranea* (L.) et les outils de protection post récolte dans le Nord du Cameroun. *Entomol. Faun.-Faun. Entomol.*, 69, 83-89.
- 200. Nika, E.P., Kavallieratos, N.G., & Papanikolaou, N.E. (2020).** Developmental and reproductive biology of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) on seven commodities. *J. Stored Prod. Res.*, 87, 1-6.
- 201. Nkouandou, P.M., Ntonga, P.A., Djeukam, C.A., Jazet Dongmo, P.M., & Menut, C. (2020).** Evaluation des propriétés insecticides des huiles essentielles de quelques Zingiberaceae contre les larves d'*Anopheles gambiae* collectées à Ayos (sud- Cameroun). *J. Anim. Plant Sci.*, 43(3), 7469-7482.
- 202. Nour, A. (2017).** Etude de la viabilité et vigueur des semences de blé pendant le stockage. Thèse de doctorat en biologie, Univ., Badji Moukhtar Annaba, Algérie, 141p.
- 203. Novato, T.L.P., Marchesini, P., Muniz N., Prata, M.C.A., Furlong, J., Vilela, F.M.P., Daemon, E., Maturano, R., & Monteiro, C. (2019).** Evaluation of synergism and development of a formulation with thymol, carvacrol and eugenol for *Rhipicephalus microplus* control. *Exp. Parasitol.*, 207, 1-4.
- 204. Novato, T.L.P., Marchesini, P., Muniz, N., De Azevedo Prata, M.C., Furlong, J.,**

- Vilela, F.M.P., Daemon, E., Maturano, R., & Monteiro, C. (2019). Evaluation de la synergie et développement d'une formulation à base de thymol, carvacrol et eugénol pour le contrôle de *Rhipicephalus microplus*. *Parasitol. Exp.*, 207, 1-4.
205. Nurul, A.H., & Noor, MA. (2019). Food preference of *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: *Silvanidae*) to different types of plant products. *Malays. J. Halal Res.*, 2(2), 53-57.
206. Obeng-Ofori, D., Reichmuth, CH., Bekele, J., & Hassanali, A. (1997). Biological activity of 1,8-cineole, a major component of essential oil of *Ucimum kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles. *J. Appl. Entomol.*, 121, 237-243.
207. OCDE (1990). Organisation de Coopération et de Développement Economique. Section : critères scientifiques de validation d'essais *in vitro*, 28p.
208. OCDE (2001). Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. Toxicité orale aiguë - Méthode de la dose prédéterminée. Guideline 420, 15p.
209. OCDE (2008). Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. Étude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. Guideline 407, 14p.
210. OCDE (2018). Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques Toxicité (subaiguë) par inhalation : étude sur 28 jours. Guideline 412, 26p.
211. Olafsson, K., Jaroszewski, J.W., Smitt, U.W., & Nyman, U. (1997). Isolation of angiotension converting enzyme (ACE) inhibiting triterpenes from *Schinus molle*. *Planta. Med.*, 63, 352-355.
212. Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., & Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18(5), 414-420.
213. Pandey, S.K., Bhandari, S., Sarma, N., Begum, T., Munda, S., Baruah, J., Gogoi, R., Haldar, S., & Lal, M. (2021). Essential oil composition, pharmacological importance and agro technological practices of patchouli (*Pogostemon cablin* Benth), A review. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, 24(6), 1212-1226.
214. Pang, X., Feng, Y.X., Qi, X.J., Wang, Y., Almaz, B., Xi, C., & Du, S.S. (2019). Toxicity and repellent activity of essential oil from *Mentha piperita* L., leaves and its major monoterpenoids against three stored product insects, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 1-10.

- 215. Papachristos, D.P., & Stamopoulos, D.C. (2002a).** Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.*, 38, 117-128.
- 216. Papachristos, D.P., & Stamopoulos, D.C. (2002b).** Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.*, 38, 365-373.
- 217. Park, C., Lee, S.G., Choi, D.H., Park, J.D., & Ahn, Y.J. (2003).** Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *J. Stored Prod. Res.*, 39, 375-384.
- 218. Pavela, R. (2015).** Acute toxicity and synergic and antagonistic effects of the aromatic compounds of some essential oils against *Culex quiquefasciatus* Say larvae. *Parasitol. Res.*, 114, 3835-3853.
- 219. Pavela, R., & Benelli, G. (2016).** Les huiles essentielles comme biopesticides écologiques ? Défis et contraintes. *Tendances phytol.*, 21(12), 1000-1007.
- 220. Paw, M., Begum, T., Gogoi, R., Pandey, S.K., & Lal, M. (2020).** Chemical composition of *Citrus limon* L. Burmf peel essential oil from north east India. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, 23(2), 337-344.
- 221. Piles, M., Gianola, D., Varona, L., & Blasco, A. (2003).** Bayesian inference about parameters of a longitudinal trajectory when selection operates on a correlated trait. *J. Anim. Sci.*, 81, 2714-2724.
- 222. Poirot, T. (2016).** Bon usage des huiles essentielles, effets indésirables et toxicologie. Thèse de doctorat en pharmacie, Univ., Lorraine, France, 87p.
- 223. Quezel, P., & Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, T2. Ed., CNRS, France, 1170p.
- 224. Rajendran, S. (2002).** Post harvest pest losses. In: Pimentel, D. Ed., Encyclopedia of pest management. Marcel Dekker, New York, pp. 654-656.
- 225. Rajendran, S., & Sriranjini, V. (2008).** Plant products as fumigants for stored-product insect control. *J. Stored Prod. Res.*, 44(2), 126-135.
- 226. Reboredo-Rodriguez, P., & Varela-Lopez, A. (2021).** Huiles essentielles de plantes aromatiques dans la prévention et le traitement du cancer aspects cliniques et mode d'action. *Nutr. Cancer Sign.*, 61-81.
- 227. Reboredo-Rodriguez, P., Rezaie, A., Parker, R.D., & Abdollahi, M. (2007).** Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or

- the cause? *Diges. Dis. Sci.*, 5(29), 2015-2021.
- 228. Regnault-Roger, C., & Hamraoui, A. (1995).** Fumigation toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Stored Prod. Res.*, 31, 291-299.
- 229. Regnault-Roger, C., Vincent, C., & Arnason, J.T. (2012).** Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annu. Rev. Entomol.*, 57, 405-424.
- 230. Reichl, F.X., & Ferraud, R. (2010).** Guide pratique de toxicologie. 2<sup>ème</sup> Ed., De Boeck, Belgique, 343p.
- 231. Righi-Assia, F. (2010).** Etude de la relation plante-insecte chez les Bruchidées : cas de la bruche du pois chiche *Callosobruchus chinensis* L. Thèse de doctorat en biologie, Univ., Mascara, Algérie, 120p.
- 232. Righi-Assia, F., Righi, K., Boungab, K., & Mokabli, A. (2019).** Study of cereals infestation by the cyst nematodes "*Heterodera* spp." and distribution of the involved species in western Algeria. *Cah. Agric.*, 28(17), 1-10.
- 233. Riou-Nivert, Ph. (2001).** Les résineux, connaissance et reconnaissance, T1. 2<sup>ème</sup> Ed., Institut. Fores. Develop., Paris, 255p.
- 234. Roeder, T. (1999).** Octopamine in invertebrates. *Prog. Neurobiol.*, 59, 533-561.
- 235. Rouibi, A., Saidi, F. & Boutoumi, H. (2010).** Identification by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) and determination of antimicrobial effects of essential oils from peppertree (*Schinus molle* L.). *Acta. Hort.*, 853, 219-228.
- 236. Saeidi, K., & Mirfakhraie, S. (2017).** Chemical composition and insecticidal activity *Mentha piperita* L. essential oil against the cowpea seed beetle *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). *J. Entomol. Acarol. Res.*, 49, 127-134.
- 237. Sahito, A.H., Mallah, N.A., Kousar, T., Kubar, W.A., Zafar, H.S., Jatoi, A., Mangrio, F., & Muhammad, W. (2017).** Life table parameters of saw toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* L., (1758) on different varieties of stored date palm fruits infested under laboratory conditions. *J. Entomol. Zool. Stud.*, 5(1), 95-99.
- 238. Salisova, M., Toma, S., & Mason, T.J. (1997).** Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from *Salvia officinalis*. *Ultrason. Sonochem.*, 4(2), 131-134.
- 239. Sanchez-Vidana, D.I., Po Kevin, K.T., Fung Timothy, K.H., Chow Jason, K.W., Lau Way, K.W., So, P.K., Lau Benson, W.M., & Tsang Hector, W.H. (2019).**

- Lavender essential oil ameliorates depression-like behavior and increases neurogenesis and dendritic complexity in rats. *Neurosci. Lett.*, 70, 180-192.
240. **Schauenberg, P., & Paris, F. (2008).** Guide des plantes médicinales, analyse, description et utilisation de 400 plantes. Ed., Delachaux et Niestlé, Paris, 396p.
241. **Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., & Dean, D. (1998).** *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62(3), 775-806.
242. **Seck, D. (1991).** Importance économique et développement d'une approche de lutte intégrée contre les insectes ravageurs des stocks de maïs, de mil et de niébé en milieu paysan. *Sahel PV. Info.*, 32, 15-20.
243. **Seck, D. (2009).** Stockage, conservation et transformation des récoltes et zones tropicales. Notes de cours, Univ., Bambey, Sénégal, 31p.
244. **Seck, D., Sidibe, B., Handrue, E., & Gaspar, C. (1991).** Protection of stores of cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp at farm level: the use of different formulations of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) from Senegal. *Landbouwwet, Univ., Gent*, 56, 1217-1224.
245. **Selmi, S., Rtibi, K., Grami, D., Sebai, H., & Marzouki, L. (2018).** *Lavandula stoechas* essential oils protect against Malathion-induced reproductive disruptions in male mice. *Lipid. Health Dis.*, 17(253), 1-13.
246. **Shaaya, E., & Kostjukovsky, M. (1998).** Efficacy of phyto-oils as contact insecticides and fumigants for the control of stored-product insects. *Insectici. Novel Mod. Action*, 171-187.
247. **Shaaya, E., Ravid, U., Paster, N., Juven, B., Zisman, U., & Pissarev, V. (1991).** Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-product insects. *J. Chem. Ecol.*, 17(3), 499-504.
248. **Shahein, A. (1991).** Susceptibility of some stored product insects to high and two temperatures. *Zagazig J. Agri. Res.*, 18(2), 577-584.
249. **Silbergeld, E.K. (1990).** La toxicologie, encyclopédie de sécurité et de santé au travail, chapitre 33. 3<sup>ème</sup> Ed., Bureau international du travail, 152p.  
<https://www.ilocis.org/fr/documents/ilo033.htm>
250. **Silberagl, S., & Despopoulos, A. (2001).** Atlas de physiologie, 3<sup>ème</sup> Ed., Flammarion, Paris, France, 337p.

- 251. Smadja, J. (2009).** Les huiles essentielles. Colloque GP3A-Tananarive 2-3 juillet 2009. Laboratoire de chimie des substances naturelles et des sciences des aliments, Univ., La Réunion, France, 50p.
- 252. Smith, R.L., Cohen, S.M., Doull, J., Feron, V.J., Goodman, J.I., Marnett, L.J., Portoghese, P.S., Waddell, W.J., Wagner, B.M., Hall, R.L., & al. (2005).** A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils. *Food Chem. Toxicol.*, 43(3), 345-363.
- 253. Soudry, Y., Lemogne, C., Malinvaud, D., Consoli, S.M., & Bonfils, P. (2011).** Olfactory system and emotion: common substrates. *Eur. Ann. Otorhinolaryngol. Head Neck Dis.*, 128, 18-23.
- 254. Souto-Maior, F.N., Lélis de Carvalho, F., Lima de Moraes, L.C.S., Netto, S.M., Pergentino de Sousa, D., & Nóbrega de Almeida, R. (2011).** Anxiolytic-like effects of inhaled linalool oxide in experimental mouse anxiety models. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 100, 259-263
- 255. Soy, A., Sahu, R., & Rath, S. (2016).** A histomorphological study of the effect of mint on the testes of albinos rats. *J. Dent. Med. Sci.*, 15(5) 32-35.
- 256. Sriti, J., Haj Salem, M., Aidi Wannas, W., Bachrouch, O., Mejri, H., Belloumi, S., Farès, N., Jallouli, M., Haoual-Hamdi, S., Mediouni-Ben Jemâa, J., & al. (2023).** Antioxidant, antibacterial and insecticidal activities of cypress (*Cupressus sempervirens* L.) essential oil. *Int. J. Env. Heal. Res.*, 1-12.
- 257. Steffan, J.R. (1978).** Description et biologie des insectes. Les insectes et les acariens des céréales. Ed., AFNOR II TCF, Paris, 238 p.
- 258. Storm, C., Scoates, F., Nunn, A., Potin, O., & Dillon, A. (2016).** Improving efficacy of *Beauveria bassiana* against stored grain beetles with a synergistic co-formulant. *Insects*, 7(42), 1-14.
- 259. Tabarraei, H., Hassan, J., Parvizi, M.R., Golshahi, H., & Keshavarz-Tarikhi, H. (2019).** Evaluation of the acute and sub-acute toxicity of the black caraway seed essential oil in Wistar rats. *Toxicol. Rep.*, 6, 869-874.
- 260. Tak, J.H., & Isman, M.B. (2015).** Enhanced cuticular penetration as the mechanism for synergy of insecticidal constituents of rosemary essential oil in *Trichoplusia*. *Sci. Rep.*, 5(1), 1-10.
- 261. Taleb-Toudert, K., & Kellouche, A. (2021).** A sauge essential oil composition from Kabylia (Algeria) and its biological effects against cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*) (Coleoptera: Bruchidae). A proceeding of the 1<sup>st</sup> International Electronic

- Conference on Entomology 2021, online, 1-15 July 2021. *Int. J. Insects*, 68, 1-7.  
<https://iece.sciforum.net/>.
- 262. Taleb-Toudert, K., (2015).** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérie). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de doctorat en biologie, UMMTO, Algérie, 160p.
- 263. Taleb-Toudert, K., Hedjal-Chebheb, M., Derdah, Y., & Kellouche, A. (2021).** Repellent and insecticidal effects of basil essential oil (*Ocimum gratissimum*) from Kabylie (Algeria) on *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrychidae): impact of treatment on the physicochemical and rheological qualities of common wheat flour (*Triticum aestivum*). *Afr. Entomol.*, 29(2), 547-562.
- 264. Teuscher, E., Anton, R., & Lobstien, A. (2005).** Plantes aromatique : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed., Tec & Doc, Paris, 522p.
- 265. Tisserand, R., & Young, R. (2014).** Essential oil safety: a guide for health care professionals. 2<sup>ème</sup> Ed., Elsevier Health Sciences, New York, 779p.
- 266. Tong, F., & Coats, J.R. (2010).** Effects of monoterpenoid insecticides on [3H]-TBOB binding in house fly GABA receptor and 36Cl<sup>-</sup> uptake in American cockroach ventral nerve cord. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 98(3), 317-324.
- 267. Trematerra, P., & Sciarretta, A. (2004).** Spatial distribution of some beetles infesting a feed mill with spatio-temporal dynamics of *Oryzaephilus surinamensis*, *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum*. *J. Stored Prod. Res.*, 40(4), 363-377.
- 268. Trematerra, P., Kavallieratos, N.G., & Athanassiou, C.G. (2016).** Laboratory tests on the ability of *Oryzaephilus surinamensis* adults to locate different types of chocolate varying in quantity of cocoa. *Bull. Insectol.*, 69(1), 21-24.
- 269. Trematerra, P., Stejskal, V., & Hubert, J. (2011).** The monitoring of semolina contamination by insect fragments using the light filth method in an Italian mill. *Food Control*, 22(7), 1021-1026.
- 270. Tripathi, A.K. (2018).** Pests of stored grains. *Pests Their. Manag.*, 10, 311-359.  
[https://doi.org/10.1007/978-981-10-8687-8\\_10](https://doi.org/10.1007/978-981-10-8687-8_10)
- 271. Uehleke, B., Schaper, S., Dienel, A., Schlaefke, S., & Stange, R. (2012).** Phase II trial on the effects of Silexan in patients with neurasthenia, post-traumatic stress disorder or somatization disorder. *Phytomedicine*, 19, 665-671.
- 272. Ueno-Iio, T., Shibakura, M., Yokota, K., Aoe, M., Hyoda, T., Shinohata, R., Kataoka, M., & Tanimoto, M. (2014).** Lavender essential oil inhalation suppresses

- allergic airway inflammation and mucous cell hyperplasia in a murine model of asthma. *Life Sci.*, 108(2), 109-115.
- 273. Umezu, T., Nagano, K., Ito, H., Kosakai, K., Sakaniwa, M., & Morita, M. (2006).** Anticonflict effects of lavender oil and identification of its active constituents. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 85, 713-21.
- 274. Valamoti, S.M., & Buckland, P.C. (1995).** An early find of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) from final Neolithic Mandalo, Macedonia, Greece. *J. Stored Prod. Res.*, 31(4), 307-309.
- 275. Venkidusamy, M., Jagadeesan, R., Nayak, M.K., Subbarayalu, M., Subramaniam, C., & Collins, P.J. (2018).** Relative tolerance and expression of resistance to phosphine in life stages of the rusty grain beetle, *Cryptolestes ferrugineus*. *J. Pest Sci.*, 91(1), 277–286.
- 276. Vercautere, J. (2012).** Plan du cours de Pharmacognosie-Formation commune de base. Générale, Définitions, Historique, Législation, Terminologie. Ed., Univ., Montpellier I, France, 298p.
- 277. Verma, A., & Kulkarni, S.K. (1991).** Effect of a herbal psychotropic preparation, BR-16A (Mentat), on performance of mice on elevated plus-maze. *Indian. J. Exp. Biol.*, 29(12), 1120-1123.
- 278. Volpini-Klein, A.F.N., Lima-Júnior, S.E., Cardoso, C.A.L., Cabral, M.R.P., Louro, G.M., Coutinho, E.J., Dione, A.J., Djalma, P.J., & Simionatto, E. (2021).** Chemical composition of essential oils from leaves and fruits of *Schinus molle* obtained by different extraction methods (hydrodistillation, fractional hydrodistillation and steam distillation) and seasonal variations. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, 24(2), 228-242.
- 279. Waongo, A., Traore, F., Ba, M.N., Dabire-Binso, C., & Sanon, A. (2019).** Evaluation de deux composantes de lutte intégrée (résistance variétale et stockage hermétique) contre le petit capucin des grains, *Rhyzopertha dominica* Fabricius (Coleoptera: Bostrychidae) dans les stocks de sorgho [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] au Burkina Faso. *Tropicultura*, 37(4), 2295-8010.
- 280. Waongo, A., Yamkoulga, M., Dabire-Binso, C., Ba, M., & Sanon, A. (2013).** Post-harvest conservation of cereals in the southern Sudanese zone of Burkina Faso: Farmer perception and stock assessment. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 7(3), 1157-1167.
- 281. Weidenhamer, J.D., Macias, F.A., Fischer, N.H., & Williamson, G.B. (1993).** Just how insoluble are monoterpenes? *J. Chem. Eco.*, 19, 1799-1807.

- 282. Welsch, U. (2002).** Atlas d'histologie. Cytologie, histologie, anatomie microscopique. Ed., Lavoisier, Belgique, 260p.
- 283. Welsch, U. (2004).** Précis d'histologie. Cytologie, histologie, anatomie microscopique. Ed., Lavoisier, Italie, 567p.
- 284. Weston, P.A., & Rattlingourd, P.L. (2000).** Progeny production by *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) on maize previously infested by *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *J. Econ. Entomol.*, 93(2), 533-536.
- 285. Wichtl, M., & Anton, R. (2003).** Plantes thérapeutiques. Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2<sup>ème</sup> Ed., Tec & Doc, France, 689p.
- 286. Woelk, H., & Schläfke, S. (2010).** Une étude multicentrique, en double aveugle et randomisée de la préparation d'huile de lavande Silexan par rapport au Lorazépam pour le trouble anxieux généralisé. *Phytomedecine*, 17(2), 94-99.
- 287. Zahran, NF., & Sayed, RM. (2021).** Effet protecteur de la nanosilice sur les dattes irradiées contre les adultes du cucujide à dents de scie, *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera : Silvanidae). *J. Stored Prod. Res.*, 92, 101799.
- 288. Zhao, K., Li, X., Yang, J., Huang, Z., Li, C., Kun Zhang, H.H., Li, D., Zhang, L., & Zheng, X. (2022).** Effet protecteur de l'huile essentielle d'*Amomum roxb* chez des souris atteintes de lésions pulmonaires aiguës induites par des lipopolysaccharides et leur métabolomique. *J. Ethnopharmacol.*, 23, 115-119.

*Publication*



## Chemical Composition of Essential Oils from the Leaves of *Schinus molle* and *Cupressus sempervirens* and their Insecticidal Activity against *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae)

Tinhinane Laoudi, Karima Khelfane-Goucem, Siham Hamani-Aoudjit, Farid Chebrouk, Tahar Amrouche, Liza Saher & Abdellah Kellouche

To cite this article: Tinhinane Laoudi, Karima Khelfane-Goucem, Siham Hamani-Aoudjit, Farid Chebrouk, Tahar Amrouche, Liza Saher & Abdellah Kellouche (2023): Chemical Composition of Essential Oils from the Leaves of *Schinus molle* and *Cupressus sempervirens* and their Insecticidal Activity against *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae), Journal of Essential Oil Bearing Plants, DOI: [10.1080/0972060X.2023.2179425](https://doi.org/10.1080/0972060X.2023.2179425)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2023.2179425>



Published online: 03 May 2023.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Article

## Chemical Composition of Essential Oils from the Leaves of *Schinus molle* and *Cupressus sempervirens* and their Insecticidal Activity against *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae)

Tinhinane Laoudi <sup>1</sup>, Karima Khelfane-Goucem <sup>1</sup>, Siham Hamani-Aoudjit <sup>1</sup>, Farid Chebrouk <sup>2</sup>, Tahar Amrouche <sup>3</sup>, Liza Saher <sup>2</sup>, Abdellah Kellouche <sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de production et de sauvegarde des espèces menacées et des récoltes. Influence des variations climatiques. Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou 15000, Algeria

<sup>2</sup> Center of Scientific and Technical Research in Physico-Chemical (CRAPC), Tipaza, Algeria

<sup>3</sup> Food Quality and Safety Research Laboratory, Mouloud Mammeri University of Tizi-Ouzou, Algeria

\* Corresponding Author: [kellouche.faika@yahoo.com](mailto:kellouche.faika@yahoo.com) (Abdellah Kellouche)

Received 16 December 2021; Received in revised form 05 February 2023; Accepted 07 February 2023

**Abstract:** Essential Oils (EOs) from aromatic plants were reported to have an insecticidal activity against several insects and could be an alternative to synthetic insecticides. The aim of this study is to determine the chemical composition of two plants (*Schinus molle* and *Cupressus sempervirens*) grown in Algeria and to investigate their insecticidal activity against the sawtoothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis*, a secondary pest that may alter seriously the proprieties of some food products. EOs were extracted by hydrodistillation using Clevenger apparatus and analyzed by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). The analysis determined that the major components of *S. molle* EO are  $\beta$ -Eudesmol (15.19 %), Elemol (13.97 %), D-Limonene (9.89 %), Spathulenol (9.33 %) and  $\beta$ -Phellandrene (7.72 %) while those of *C. sempervirens* EO are Cedrol (44.81 %),  $\alpha$ -Pinene (15.71 %) and *neiso*-Dihydrocarveol acetate (9.7 %). The biological activity of EOs was evaluated by fumigation and repellency at different concentrations and exposure times. Fumigation toxicity bioassays showed maximum efficacy was reached at a concentration of 100  $\mu$ L/L of air for the two kinds of EOs (90-100 %). Repellency tests revealed that *S. molle* EO was moderately repellent (55.62 %), while *C. sempervirens* EO was highly repellent (66.25 %). In fact, the EO of the experimental plants can be incorporated into insecticidal formulations and might be efficient as alternative to synthetic insecticides for *O. surinamensis* control. However, other tests need to be performed on other life stages of the insect.

**Keywords:** *Cupressus sempervirens*, Essential oil, Insecticidal activity, *Oryzaephilus surinamensis*, *Schinus molle*.

### Introduction

Cereals are the most popular food crops in the world and the staple food of most developing countries, as they provide a significant calorific

value compared to other agricultural products <sup>1</sup>. According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) <sup>2</sup>, world cereal production was estimated at 2788 million

tons for the crop year 2020-21. In developing countries, yields are far from meeting the needs of the populations<sup>3</sup>, so good food management could help to achieve self-sufficiency and food security<sup>4</sup>. In Algeria, cereals and their derivatives have an important place in the food system due to the size of the areas occupied and their role in the country's food security<sup>5</sup>. A lot of initiatives have been taken to increase their production, but there are still significant post-harvest losses. These strongly affect the market value of stored products, creating deficits that are compensated by expensive imports of foodstuffs<sup>3</sup>. These losses are due to various factors, such as insects which can destroy the entire stock<sup>6</sup>. Chang *et al.*<sup>7</sup> reported that this damage includes both qualitative and quantitative grain losses. The sawtoothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Silvanidae) is one of the main insects found in cereal grains and their derivatives. It is a very polyphagous secondary pest whose larvae are very voracious. It can infest a very wide variety of foodstuffs of plant origin, particularly the following: wheat, oat, barley, sunflower seeds, flour and derived products, dried fruits and peanuts<sup>8,9</sup>.

Organophosphates, pyrethroids, aluminum phosphide and methyl bromide are the main chemicals frequently used to control pests<sup>10</sup>. However, this method has several disadvantages resistant strains selection, environmental pollution and strong carcinogenic and mutagenic activities<sup>11</sup>. These inconveniences incited researchers to consider alternative methods, such as the use of aromatic plants which are not only available, rich in EOs and have pharmacological<sup>12-14</sup>, antibacterial<sup>15-18</sup> as well as insecticidal properties<sup>19-20</sup> but are also known to be biodegradable and mildly toxic to mammals<sup>21</sup>. The toxicity of these plants has been tested as vegetable powders<sup>22</sup>, vegetable oils<sup>23</sup>, aqueous extracts<sup>24</sup> and EOs<sup>25-27</sup>.

*Schinus molle* L., *Cupressus sempervirens* L. and their compounds may have the potential for development as new fumigants. *Schinus molle*, called the California pepper tree, is an evergreen wild aromatic tree. The pisciform fruit is an aromatic pink berry with a sweet, spicy and pungent flavor of pepper, hence its name "false

pepper tree"<sup>28</sup>. As a member of the Anacardiaceae which includes around 60 genera and 500 species<sup>29</sup>, *S. molle* is native to the American tropics and is introduced and grown as an ornamental garden tree in many warmer regions of the world<sup>28</sup>. It adapts to all climates and is introduced in the Mediterranean Basin<sup>30</sup>. The whole fruit of *S. molle* is used in folk medicine as a diuretic and digestive tonic; it relieves gas pains and hemorrhoids, is applied to wounds and also has antibacterial and antifungal properties<sup>30</sup>. Also known as Brazilian pepper, kernels are used to adulterate black pepper, for which they make a good substitute<sup>30</sup>. *Schinus molle* EOs have commercial importance<sup>31</sup> and can be obtained by hydrodistillation of the leaves and fruits of the plant, with 50.7 % and 70 % concentrations of monoterpene<sup>32</sup>. The EO yield obtained from the leaves and the fruit by hydrodistillation is 1.2 % and 1.8 %, respectively<sup>32</sup>. The main EOs constituents obtained from the leaves that underwent hydrodistillation are  $\alpha$ -phellandrene (26.5 %), limonene (8.6 %),  $\beta$ -phellandrene (12.4 %), elemol (10.8 %) and  $\alpha$ -eudesmol (6.1 %)<sup>30</sup>.

Green cypress, *C. sempervirens*, is an evergreen tree of the family Cupressaceae<sup>33</sup> which counts twelve species worldwide<sup>34</sup> and resists drought, cold and has moderately light requirements<sup>35</sup>. It originates from the Eastern Mediterranean Basin (Cyprus, Syria and Iran) but is grown all around the Mediterranean<sup>34-35</sup>. According to Argui *et al.*<sup>16</sup> and Manivannan *et al.*<sup>34</sup>, the different parts of the plant are antibacterial, and anti-inflammatory and the leaves EO has antimicrobial and insecticidal properties. The EO yield obtained from the aerial parts of *C. sempervirens* plant by hydrodistillation was found to be 0.13 % on average where the major compounds reported are:  $\alpha$ -pinene (42 %),  $\delta$ -3-carene (21.26 %) and limonene (5.96 %)<sup>16</sup>.

This study aims to determine the chemical composition of EOs of Algerian aromatic cultivated plants, *S. molle* and *C. sempervirens*, by Gas Chromatography coupled with Mass Spectrometry (GC/MS). In order to search for alternative methods to control *O. surinamensis* pest, these EOs were tested for the first time against *O. surinamensis* adults to assess their biocidal activity by fumigation and repellency.

## Material and methods

### *Insect rearing*

*Oryzaephilus surinamensis* strain was isolated from infested cereals collected in 2015 from households or local markets in Tizi-Ouzou (36°45'0" N, 4°15'0" E). Adult insects of undetermined age and sex were reared in glass jars filled with semolina. The cereals were identified by a plant taxonomist teacher in the Department of Biology at Mouloud Mammeri University (Tizi-Ouzou), Dr. Taleb-Toudert Karima while insect specimens were identified by Prof. Kellouche Abdellah, entomology researcher in the same university. Substrates were first exposed to a temperature of 60 °C for one hour, to eliminate insect pests. Then, they were kept in hermetically sealed jars and stored in a refrigerator in order to avoid contamination by insect pests. The jars were maintained in a dark incubator set at 28±1°C and 50±5 % r.h. Individuals used in bioassays were 0 to 7 days old.

### *Plant material and essential oils extraction*

Fresh leaves of *S. molle* and *C. sempervirens* were harvested in September 2019 from a forest in Bouira (36°22'0" N, 3°52'60" E), Algeria. The plant samples were identified by Mrs. Kadri Samia, head of the plants protection department at El Hamma Test Garden of Algiers. The voucher specimens of *S. molle* L. (N° HBGH1689) and *C. sempervirens* L. (N° HBGH1690) were deposited in the herbarium of the same institution.

Fresh plant materials were washed with distilled water and dried at 60°C for 24 h. Then, they were crushed and stored away from light and moisture in order to avoid unfavorable changes in chemical components. A quantity of 40 g of powder was transferred into a vessel containing 3/4 of distilled water and then subjected to hydrodistillation (HD) using a Clevenger-type apparatus for four hours. The EO was collected, dried under anhydrous sodium sulfate and stored at 4°C until the analysis.

### *Chemical analysis of essential oils*

GC/MS analysis of the EOs was performed on a Hewlett-Packard computerized system comprising a 6890-gas chromatograph coupled

to a 5973 A mass spectrometer equipped with an HP-5MS column, which is 30 m long, 0.25 mm in diameter and 0.25 µm in film thickness. The carrier gas was Helium (99.99 % purity) progressing at a flow rate of 0.5 mL/min with an injection volume of 0.2 µL (split 1:20, the temperature of 250°C). For the MS conditions, the scan time and mass range were 283 s and 50-550 *m/z*, respectively. The oven temperature program was kept at 60°C for 8 min then programmed to 250°C at a rate of 2°C/min, and kept constant for 10 min.

The identification of the volatile constituents was based on a comparison of their retention indices (RI), determined with reference to a homologous series of C<sub>8</sub>-C<sub>28</sub> *n*-alkanes with those of literature<sup>36-38</sup> using the formula below:

$$RI(x) = 100 \times z + 100 \times [RT(x) - RT(z)] / [(RT(z+1) - RT(z))]$$

Where RI (x) is the retention index of the unknown compound x, z the number of carbon atoms of the *n*-alkane eluted before the unknown compound x, (z+1) the number of carbon atoms of the *n*-alkane eluted after the unknown compound x, RT (x) is the retention time of the unknown compound x, RT (z) the retention time of the *n*-alkane eluted before the unknown compound x, RT (z+1) the retention time of the *n*-alkane eluted after the unknown compound x. Identification was confirmed by comparison of their mass spectral fragmentation patterns with those stored in the MS database NIST 2020 and Wiley 07. libraries and with mass spectra literature data<sup>36</sup>. Compounds concentrations were represented as percentages (% content) and calculated by integrating their corresponding chromatographic peak areas using ChemStation software.

### *Fumigant activity*

A disc of Whatman 1 filter paper (2 cm in diameter) was suspended inside a 150 mL glass vial with a lid. Each disc was impregnated with an appropriate dose (6, 9, 12 and 15 µL) of EOs extracted from *S. molle* or *C. sempervirens*, and diluted in 0.2 mL of acetone, corresponding to 40, 60, 80 and 100 µL/L concentrations. Twenty adults were introduced into the vial containing

1 g of semolina. In the control, the filter paper was only impregnated with 0.2 mL of acetone. Four replications were performed for each concentration and for the control (Figure 1). The dead individuals were counted after the set time was over (24, 48, 72 and 96 h). Insects were considered dead when no leg or antennal movements were observed for ten minutes.

Median lethal concentration ( $LC_{50}$ ), lethal concentration 90 ( $LC_{90}$ ), lethal time ( $LT_{50}$ ) and 95 % confidence limits (95 % CL) were determined. Mortality was calculated using Abbott correction formula<sup>39</sup>.

### **Repellent activity**

This experiment was carried out using the method of Jilani and Saxena<sup>40</sup>. A Whatman 1 paper disc (9 cm in diameter), was cut into two equal parts was placed in a Petri dish (9 cm diameter; 1.5 cm height), one part was impregnated with 0.5 mL of acetone, while the other part was treated with 6, 9, 12 and 15  $\mu$ L EO concentrations diluted in 0.5 mL of acetone. After the acetone evaporated, the two parts were reconstituted and placed at the bottom of the Petri dish which twenty adults were introduced. Four replications were performed for each concentration. After 30 min of treatment, the individual insects were counted

on each half-disc. The repellency percentage (PR) was calculated using the formula of McDonald *et al.*<sup>41</sup>.

$$PR (\%) = [(NC - NT) / (NC + NT)] \times 100$$

Where *NC*: the number of individuals present in the part treated with acetone only and *NT*: the number of individuals present in the part treated with the EO diluted in acetone.

The mean repellency percentage was attributed to one of the different classes described by McDonald *et al.*<sup>41</sup> ranging from 0 to V.

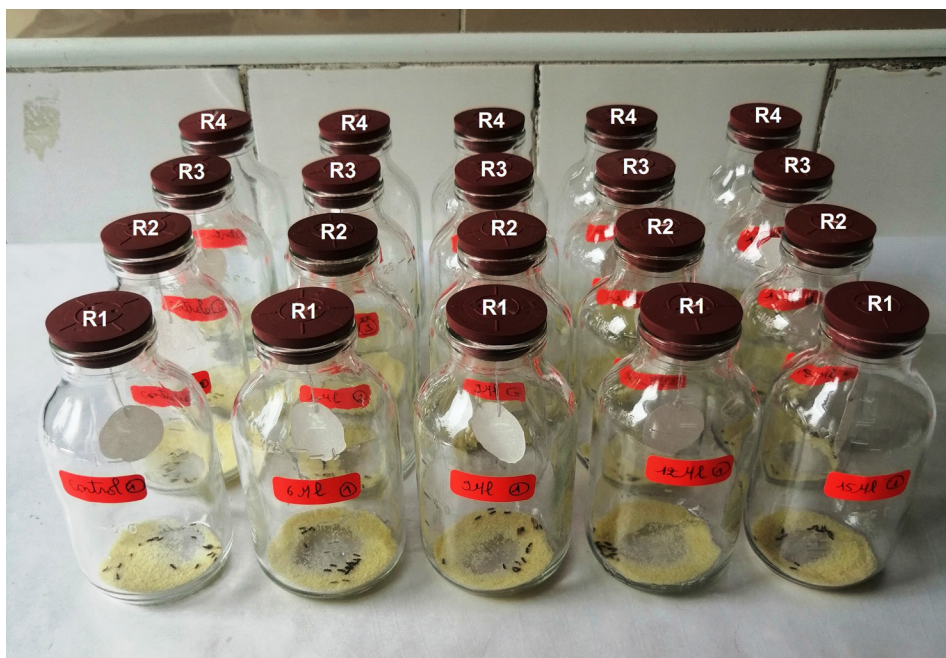
### **Data analysis**

The normality conditions of residuals and equality of variance were not verified (Levene's test). Fumigation toxicity results were subjected to the non-parametric test of Friedman using JASP (version 0.16) (Amsterdam, 2021). The results corresponding to repellency activity were subjected to the Kruskal-Wallis test at the 5 % threshold. Probit analysis was used to determine the  $LC_{50}$ ,  $LC_{90}$ ,  $LT_{50}$  and their 95 % confidence limits at 48 h and 80  $\mu$ L using the SPSS version 26 software package.

## **Results**

### **Essential oils compounds**

Chemical analysis by GC/MS showed 35



**Figure 1.** Experimental device of the fumigation test (R: replication number)

volatile compounds in *S. molle* EO and 33 in *C. sempervirens* EO produced at about 94.13 % and 93.67 % of the total content, respectively. The identified compounds and their percentages are listed in table 1 and Supplementary data. The major components were  $\beta$ -Eudesmol (15.19%), Elemol (13.97%), D-Limonene (9.89%), Spathulenol (9.33%) and  $\beta$ -Phellandrene (7.72%) for *S. molle* EO and Cedrol (44.81%),  $\alpha$ -Pinene (15.71%) and *neoiso*-Dihydrocarveol acetate (9.7%) for *C. sempervirens* EO.

### Biological activities of essential oils

#### Fumigant toxicity

Statistical analysis revealed that the toxicity of EOs treatments was dose and exposure-time-dependent. There were highly significant differences between the doses ( $p < 0.001$ ) and exposure times ( $p < 0.001$ ) but non-significant differences between the treatments ( $p = 0.644$ ) (Table 2).

In control experiments, mortality rate values recorded were less than 10% (Figure 2). A

mortality rate exceeding 50 % was recorded after 24 h exposure time to 80  $\mu\text{L/L}$  of both *S. molle* and *C. sempervirens* EOs. The high value of about 94% was reached at the dose of 100  $\mu\text{L/L}$  after 72 h exposure to *S. molle* and 24 h exposure to *C. sempervirens*. *Cupressus sempervirens* EO showed its maximum effectiveness (100%) at the highest dose of 100  $\mu\text{L/L}$  after 72 h exposure.

$\text{LC}_{50}$  and  $\text{LC}_{90}$  determined after 48 h exposure were respectively 72.5  $\mu\text{L/L}$  and 110.46  $\mu\text{L/L}$  for *S. molle* EO and 70.38  $\mu\text{L/L}$  and 99.91  $\mu\text{L/L}$  for *C. sempervirens* EO (Table 3).

$\text{LT}_{50}$  estimated at the concentration of 80  $\mu\text{L/L}$  was 19.59 h for *S. molle* and 25.65 h for *C. sempervirens*. This indicates that at 80  $\mu\text{L/L}$  concentration of both EOs, 50% of individuals were killed approximately at 24 h (Table 4).

#### Repellent activity

Repellent activity percentages evaluated for the two treatments are given in Figure 3. Statistical analysis results showed the following: there

**Table 1. GC/MS analysis chemical composition (%) of *Schinus molle* and *Cupressus sempervirens* essential oils**

No.	Compounds	RT	RI*	RI**	Concentration (%)	
					<i>S. molle</i>	<i>C. sempervirens</i>
1	$\alpha$ -Pinene	7.98	930	936	2.91	15.71
2	Camphene	8.63	943	950	-	0.18
3	Sabinene	10.11	971	973	0.06	0.07
4	$\beta$ -Pinene	10.25	974	978	0.05	0.19
5	$\beta$ -Myrcene	11.24	993	990	0.4	0.1
6	$\alpha$ -Phellandrene	12.1	1007	1004	3.57	0.15
7	$\delta$ -3-Carene	12.3	1010	1011	0.21	1.28
8	<i>p</i> -Cymene	13.3	1025	1024	1.14	1.13
9	<i>D</i> -Limonene	13.7	1031	1030	9.89	-
10	$\beta$ -Phellandrene	13.9	1034	1030	7.72	1.75
11	Terpinen-4-ol	24.09	1180	1177	-	0.67
12	<i>p</i> -Cymen-8-ol	24.96	1193	1184	-	0.47
13	<i>p</i> -Cymen-9-ol	25.3	1198	1205	-	0.55
14	4-Methylene Isophorone	26.46	1215	1217	-	0.26
15	Isobornyl acetate	31.34	1287	1286	-	0.25
16	3-Thujanol acetate	32.23	1300	1295	-	1.15
17	<i>Cis</i> -Pinocarvyl acetate	32.7	1307	1312	0.36	-
18	( <i>Z</i> )-Patchenol	33.66	1322	1318	-	0.3
19	$\delta$ -Elemene	34.53	1335	1337	0.74	-

table 1. (continued).

No.	Compounds	RT	RI*	RI**	Concentration (%)	
					<i>S. molle</i>	<i>C. sempervirens</i>
20	Piperitenone	35.03	1343	1341	0.84	-
21	$\alpha$ -Terpinyl acetate	35.13	1345	1347	-	0.57
22	$\alpha$ -Cubebene	35.28	1347	1351	0.15	0.9
23	<i>neoiso</i> -Dihydrocarveol acetate	36.07	1359	1359	-	9.7
24	$\alpha$ -Ylangene	36.95	1373	1370	0.14	0.33
25	$\beta$ -Bourbonene	37.59	1383	1384	-	0.31
26	$\beta$ -Elemene	38.2	1392	1390	1.45	-
27	$\alpha$ -Gurjunene	39.08	1406	1409	0.41	-
28	$\alpha$ -Cedrene	39.36	1411	1412	-	2.8
29	( <i>E</i> )-Caryophyllene	39.74	1417	1420	0.64	0.96
30	$\gamma$ -Elemene	40.88	1436	1436	2.86	-
31	<i>Allo</i> -Aromadendrene	42.23	1458	1460	0.49	-
32	Germacrene D	43.33	1476	1481	0.41	1.04
33	$\alpha$ -Amorphene	43.54	1479	1483	0.16	-
34	$\beta$ -Selinene	43.83	1484	1486	0.32	-
35	$\beta$ -Vetispirene	44.16	1489	1493	0.18	0.58
36	$\alpha$ -Selinene	44.65	1497	1494	2.57	-
37	$\alpha$ -Muurolene	44.9	1501	1498	1.19	0.74
38	$\gamma$ -Cadinene	45.65	1512	1513	0.63	1
39	$\delta$ -Cadinene	46.45	1524	1523	6.29	-
40	$\alpha$ -Cadinene	47.03	1532	1533	0.26	-
41	Elemol	48	1547	1547	13.97	-
42	$\beta$ -Vetivenene	48.45	1553	1555	-	0.9
43	( <i>E</i> )-Nerolidol	48.86	1560	1561	0.38	-
44	Spathulenol	50	1576	1576	9.33	-
45	Caryophyllene oxide	50.55	1584	1581	0.86	1.22
46	Cedrol	51.42	1597	1600	-	44.81
47	$\beta$ -Atlantol	51.75	1603	1608	-	1.7
48	$\gamma$ -Eudesmol	52.91	1629	1631	5.08	-
49	<i>Epi</i> - $\alpha$ -Muurolol	53.45	1641	1641	3.28	-
50	$\beta$ -Eudesmol	54.1	1656	1650	15.19	-
51	14-Hydroxy-( <i>Z</i> ) Caryophyllene	54.64	1668	1667	-	1.06
52	Acorenone	55.81	1694	1692	-	0.84
Grouped compounds						
Monoterpene hydrocarbons (No.1-10)					25.95	20.56
Oxygenated monoterpenes (No.11-18, 20-21, 23)					1.20	13.92
Sesquiterpene hydrocarbons (No.19, 22, 24-40, 42)					18.89	9.56
Oxygenated sesquiterpenes (No.41, 43-52)					48.09	49.63
Total identified compounds					94.13	93.67
Unidentified compounds					5.87	6.33

RT = Retention Times

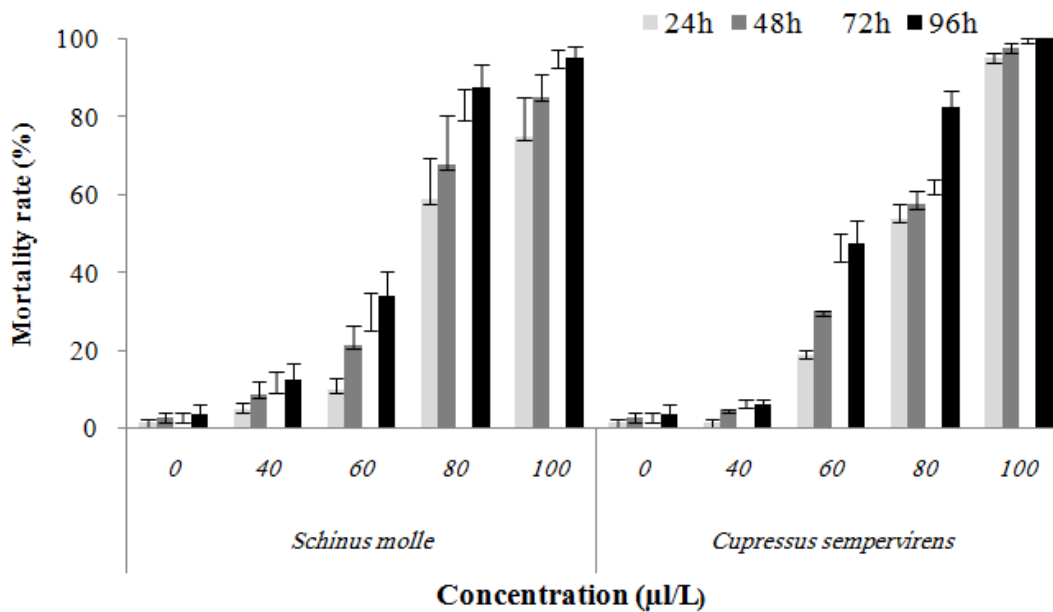
RI\* = Retention index calculated from relative time position between the nearest n-alkanes (C8-C28)

RI\*\* = Retention index reviewed from literature 36-38

**Table 2. Friedman analysis of fumigant activity of *Schinus molle* and *Cupressus sempervirens* against *O. surinamensis* adults**

Factor	$\chi^2$	df	p
Dose	77.321	3	<0.001*
Time	27.205	3	<0.001*
Treatment	3.382	3	0.644 ns

P\* $<$ 0.05, there is significant difference, according to the Friedman test % threshold  
 ns: P $>$ 0.05, no significant difference, according to the Friedman test % threshold



**Figure 2.** Mortality rate (mean  $\pm$  SEM; n = 4 repeats each containing 20 individuals) of *O. surinamensis* adults exposed to *Schinus molle* and *Cupressus sempervirens* essential oils by fumigation

**Table 3. Probit analysis of fumigation toxicity of *Schinus molle* and *Cupressus sempervirens* EOs against *O. surinamensis* after 48 h exposure time**

Treatment	LC <sub>50</sub> (µL/L)	95 % CL	LC <sub>90</sub> (µL/L)	95% CL	Intercept	Slope	df	$\chi^2$
<i>S. molle</i>	72.50	54.66-98.30	110.46	86.57-361.38	-12.26	6.6	2	7.37 <sup>(a)</sup>
<i>C. sempervirens</i>	70.38	18.49-169.55	99.91	77.15-29537054.89	-16.03	8.77	2	14.13 <sup>(a)</sup>

(a) Since the significance level is  $<$  0.05, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits; LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values calculated with 95 % confidence limits (CL) fail to overlap

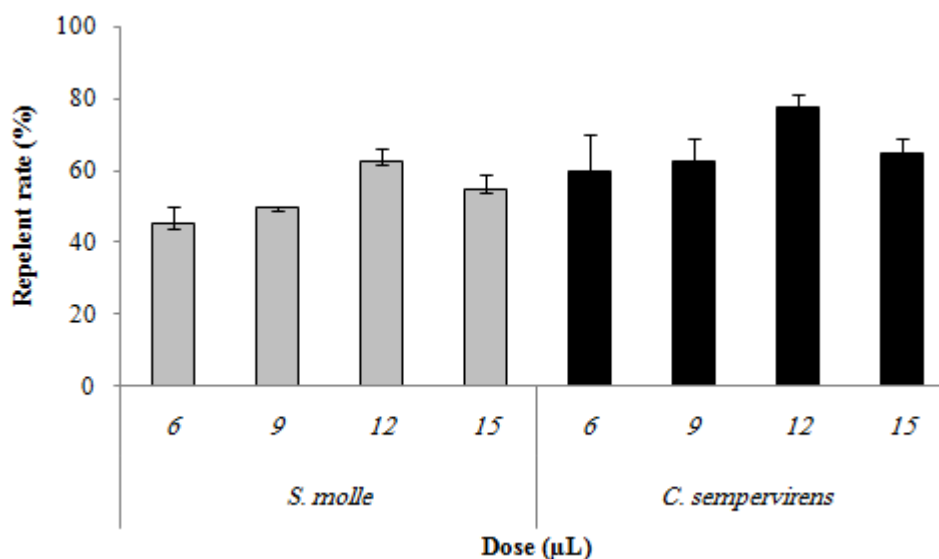
was no significant difference in treatment effect ( $\chi^2=3.361$ , p=0.067, df=1), there was a significant difference between the doses of *S. molle* EOs and there were no significant

differences between the doses of *C. sempervirens* EOs (Table 5). According to Mc Donald *et al.*<sup>41</sup> classifications, *S. molle* EO is classified into class III and it is moderately repellent (55.62

**Table 4. Probit analysis of fumigation toxicity of *Schinus molle* and *Cupressus sempervirens* EOs against *O. surinamensis* at 80  $\mu\text{L/L}$**

Treatment	LT <sub>50</sub> ( $\mu\text{L/L}$ )	95 % CL	Intercept	Slope	df	$\chi^2$
<i>S. molle</i>	19.59	9.87-27.06	-1.96	1.51	2	9.29 <sup>(a)</sup>
<i>C. sempervirens</i>	25.65	-	-1.63	1.15	2	9.17 <sup>(b)</sup>

<sup>(a)</sup>Since the significance level is greater than 0.05, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits; <sup>(b)</sup>Since the significance level is lower than 0.05, an heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits; LT<sub>50</sub> value calculated with 95 % confidence limits (CL) fail to overlap



**Figure 3.** Average rate of repellency (mean $\pm$  SEM; n = 4 repeats each containing 20 individuals) of *Schinus molle* and *Cupressus sempervirens* essential oils against *O. surinamensis* adults

**Table 5. Kruskal-Wallis analysis for dose factor of *Schinus molle* and *Cupressus sempervirens* repellency against *O. surinamensis***

Treatment	$\chi^2$	df	p
<i>S. molle</i>	9.391	3	0.025*
<i>C. sempervirens</i>	2.502	3	0.475 ns

\*P<0.05, there is significant difference, according to the Kruskal-Wallis test % threshold  
ns: P>0.05, no significant difference, according to the Kruskal-Wallis test % threshold

); while *C. sempervirens* EO is classified into class IV, corresponding to number one repellent (66.25 %).

## Discussion

### Essential oils composition

GC/MS analysis showed that the major compo-

nents of *S. molle* EO were:  $\beta$ -eudesmol (15.19%), elemol (13.97%), D-limonene (9.89%), spathulenol (9.33%) and  $\beta$ -phellandrene (7.72%), and those of *C. sempervirens* EO were cedrol (44.81%),  $\alpha$ -pinene (15.71%) and *neoisodihydrocarveol* acetate (9.7%). Many reports are available regarding the chemical composition

of *S. molle* and *C. sempervirens* collected from various parts of the world.

Our results are slightly different from those reported by Bouhenna *et al.*<sup>38</sup> who found  $\beta$ -eudesmol (13.24%), cadinene (10.48%), spathulenol (9.82%) and elemol (8.06%), as major compounds of *S. molle* aerial parts collected at the Algiers region. However, Rouibi *et al.*<sup>42</sup> showed  $\alpha$ -phellandrene (24.2%) as a major compound of the leaves of the same plant harvested in the same region (Blida), followed by limonene (21.62%),  $\beta$ -myrcene (17.76%) and  $\alpha$ -pinene (4.13%).

For *C. sempervirens*, our results differ from those of Almadiy and Nenaah<sup>43</sup> who reported  $\alpha$ -pinene as the major component having an area of 49.1% followed by  $\delta$ -3-carene (21.4%) and  $\alpha$ -cedrol (5.1%). Similarly, Arguiet *et al.*<sup>16</sup> revealed  $\alpha$ -pinene (42%),  $\delta$ -3-carene (21.26%) and limonene (5.96%) as major compounds. These differences may be explained by the variable environments<sup>44</sup>, molecular diversity<sup>45</sup>, geographical origin, season, growth, ecological factors and extraction methods of the studied plants<sup>7</sup>. In fact, Chemat and Lucchesi<sup>46</sup> stated that the presence of solvent residues can induce the degradation of certain constituents during the extraction of EOs. In the same context, Ferhat *et al.*<sup>47</sup> compared the extraction of a variety of lemons by two methods, hydrodistillation (HD) and microwave-assisted extraction without solvent (ESSAM). They found that the number of extracted aromatic compounds is 48 and 57, respectively. The terpene essence obtained by ESSAM was rich in oxygenated compounds (6.03%) compared to HD (5.51%).

## Toxicity of treatments

### Fumigation effect

Fumigant toxicity tests showed there was a significant increase in the mortality rate of *O. surinamensis* induced by the EOs of *S. molle* and *C. sempervirens* which was dose and time-exposure dependent. At low doses, we recorded very weak lethal effects with both EOs. The maximum mortality rate was achieved only at the highest dose (100  $\mu$ L/L); values around 94.73 % of mortality were recorded by *S. molle* EO at

the longest exposure time (96 h) and 100% by *C. sempervirens* EO after 72 h.

Regarding the activity of *S. molle* EO, this study's results differ from those obtained by Hamani-Aoudjit<sup>48</sup> on *Bruchus rufimanus*: he recorded a 100 % adulticidal effect at the dose of 8  $\mu$ L/L, after 96 h of exposure. For *C. sempervirens* EO, the study results are not in accordance with those reported by Kellouche *et al.*<sup>49</sup>, who demonstrated 100 % mortality of *Callosobruchus maculatus* adults at a dose of 40  $\mu$ L/L, after 24 h. Whereas, this EO eliminated 100 % of *B. rufimanus* at the lowest dose (2  $\mu$ L/L), after 96 h exposure time with LC<sub>50</sub>s of 2.82  $\mu$ L/L and 2.45  $\mu$ L/L for *S. molle* and *C. sempervirens*, respectively<sup>48</sup>.

Nevertheless, the EOs studied here exhibited an insecticidal activity that differs from insect pests treated. These differences could be attributed to the physiological process for each insect. In fact, these treatments were toxic against *O. surinamensis* at the highest dose. Indeed, Bekele and Hassanali<sup>50</sup> reported a large variation in the sensitivity of insect species for the same EO. Ngamo and Hance<sup>6</sup> claimed that the toxicity of an EO depends on the plant species and the insect treated and that the same EO does not necessarily exhibit the same activity on the different stages of an insect. Additionally, Khelfane-Goucem<sup>51</sup> reported that the EOs that are highly toxic against *Acanthoscelides obtectus* adults are also the greatest inhibitors of reproduction reducing egg-laying and female fertility.

### Effect by repellency

The EO of *S. molle* showed moderate repellent to *O. surinamensis* with an average percentage of 55.62 % while *C. sempervirens* EO is highly repulsive (66.25%). Regarding *S. molle*, the result displayed was greater than that obtained by Abdel-Sattar *et al.*<sup>28</sup> against the red flour beetle *T. castaneum* (38.42%), at a concentration of 250  $\mu$ L/10mL. For *C. sempervirens*, the results differ from those obtained by Kellouche *et al.*<sup>49</sup> who showed moderate repellent activity (46.8%) against *C. maculatus* adults.

Our results revealed that both investigated EOs were not only repellent but also toxic to *O.*

*surinamensis*. Papachristos and Stamopoulos<sup>52</sup> asserted that most toxic EOs also have the highest level of repellency. Furthermore, Chauhan *et al.*<sup>53</sup> and Taleb-Toudert *et al.*<sup>54</sup> reported that the repellent effect of EO is due to its monoterpene compounds and that one compound could be more repellent than another. In contrast, Oussalah *et al.*<sup>55</sup> assumed that the biological effect of EO is linked to its concentration, chemical composition, functional groups of its major compounds and the synergistic effect of its different components. In our case, we, therefore, assume that the fumigant and repellent activities of EOs are mainly attributed to the concentration and action of their major compounds such as cedrol,  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -eudesmol. Some identified compounds were present with small ratios but they might have an important insecticidal activity and act in synergy with the major ones.

EOs' bioactivity against insect pests of stored foodstuffs were demonstrated by Bounoua-Fraoucene *et al.*<sup>56</sup>, Kheloul *et al.*<sup>57</sup> and Taleb-Toudert *et al.*<sup>54</sup> who highlighted their richness in monoterpenes. Indeed, Lee *et al.*<sup>58</sup> claimed that the biocidal and volatile nature of monoterpenes facilitated their penetration via the integument of insects, disrupting their physiology and functioning. Sarma *et al.*<sup>59</sup> added that plants rich in sesquiterpenes as *Lantana camara* had also a promising scope in the fields of insecticidal compounds. For Kim *et al.*<sup>60</sup> both monoterpenes and sesquiterpenes cause toxicity by fumigation acting on the respiratory system. Eller *et al.*<sup>61</sup> suggest that Cedrol could represent a potential alternative to control several arthropods as a safe natural pest control agent. This compound exhibited high toxicity against nymphs of black-legged ticks *Ixodes scapularis*. According to Jaenson *et al.*<sup>62</sup>,  $\alpha$ -pinene is known for its repellency and toxicity against stored pests; it has anti-feeding and growth inhibitor effects on *Tribolium castaneum* and *Sitophilus zeamais* adults<sup>63</sup>. Likewise, Chaaban *et al.*<sup>64</sup> state that  $\alpha$ -phellandrene is neurotoxic causing morphological alterations in target organs (digestive tract, fat body and brain), macroscopic lesions of the cuticle and inhibit the emergence of adults of the blow fly *Lucilia cuprina*.

Indeed, EOs affect several targets. According to Almadiy<sup>65</sup>, some terpenes are neurotoxic; they act at the level of Acetyl-Choline Esterase (AChE) receptors in neuromuscular junctions. This finding corroborates that of Chang *et al.*<sup>7</sup> who assume that EOs reach the respiratory system of insect through spiracles, thereby causing inhibition of AChE activity. They prevent the AChE mediator hydrolysis and act on the  $\gamma$ -aminobutyric acid receptors by inhibiting the functioning of the chloride channels, octopamine receptors, tyramine and nicotinic acetylcholine receptors<sup>66</sup>.

### Conclusion

Our study revealed that *S. molle* and *C. sempervirens* EOs showed high toxicity by fumigation and repellency against *O. surinamensis* and therefore these potent EOs might be useful to control pests found in stored products. In order to manage pest control in stored products at a lower cost, it would be interesting to investigate the biological activity of EOs major compounds (Cedrol,  $\alpha$ -Pinene and  $\beta$ -Eudesmol) and their synergy in order to develop a formulation that could be applied on a large scale. The mode of action of these EOs also represents an interesting track to explore for the control of insect pests of stored grains, such as cuticle damage and neurotoxicity.

### Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

### Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial,

### References

1. Kumar, D. and Kalita, P. (2017). Reducing postharvest losses during storage of grain crops to strengthen food security in developing countries. *Foods*. 6(8): 1-22.
2. FAO (2021). World Food Situation. [accessed 2021 September 13]. <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/>.
3. Guèye, M.T., Seck, D., Wathélet, J.P. and Lognay, G. (2011). Pest control of cereal and

- legume stocks in Senegal and West Africa: Bibliographic summary. *Biotechnol. Agron. Soc. Envir.* 15(1): 183-194.
4. **Waongo, A., Yamkoulga, M., Dabire-Binso, C., Ba, M. and Sanon, A. (2013).** Post-harvest conservation of cereals in the southern Sudanese zone of Burkina Faso: Farmer perception and stock assessment. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 7(3): 1157-1167.
  5. **Righi Assia, F., Righi, K., Boungab, K. and Mokabli, A. (2019).** Study of cereals infestation by the cyst nematodes "*Heterodera* spp." and distribution of the involved species in western Algeria. *Cah. Agric.* 28(17): 1-10.
  6. **Ngamo, L. and Hance, T. (2007).** Diversity of food pests and alternative control methods in the tropics. *Tropicicultura.* 25(4): 215-220.
  7. **Chang, Y., Lee, S.H., Na, J.H., Chang, P.S. and Han, J. (2017).** Protection of grain products from *Sitophilus oryzae* (L.) contamination by anti-insect pest repellent sachet containing Allyl Mercaptan microcapsule. *J. Food. Sci.* 82(11): 2634-2642.
  8. **Trematerra, P., Kavallieratos, N.G. and Athanassiou, C.G. (2016).** Laboratory tests on the ability of *Oryzaephilus surinamensis* adults to locate different types of chocolate varying in quantity of cocoa. *Bull. Insectology.* 69(1): 21-24.
  9. **Nika, E.P., Kavallieratos, N.G. and Papanikolaou, N.E. (2020).** Developmental and reproductive biology of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) on seven commodities. *J. Stored Prod. Res.* 87: 1-6.
  10. **Rajendran, S. and Sriranjini, V. (2008).** Plant products as fumigants for stored product insect control. *J. Stored Prod. Res.* 44(2): 126-135.
  11. **Ngamo, S.T., Goudoum, A., Djakissam, W. and Madou, C. (2016).** Voandzou bruchids *Vigna subterranea* (L.) and post-harvest protection tools in northern Cameroon. *Entomol. Faun.-Faun. Entomol.* 69: 83-89.
  12. **Paw, M., Begum, T., Gogoi, R., Pandey, S.K. and Lal, M. (2020).** Chemical composition of *Citrus limon* L. Burmf peel essential oil from north east India. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 23(2): 337-344.
  13. **Dutta, P., Sarma, N., Saikia, S., Gogoi, R., Begum, T. and Lal, M. (2021).** Pharmacological activity of *Trachyspermum ammi* L. Seeds essential oil grown from Northeast India. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 24(6): 1373-1388.
  14. **Pandey, S.K., Bhandari, S., Sarma, N., Begum, T., Munda, S., Baruah, J., Gogoi, R., Haldar, S. and Lal, M. (2021).** Essential oil composition, pharmacological importance and agro technological practices of patchouli (*Pogostemon cablin* Benth): A review. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 24(6): 1212-1226.
  15. **Munda, S., Pandey, S.K., Dutta, S., Baruah, J. and Lal, M. (2019).** Antioxidant activity, antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Artemisia vulgaris* L. leaves from Northeast India. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 22(2): 368-379.
  16. **Argui, H., Youchret-Zalleza, OB., Suner, SC., Periz, C.D., Türker, G., Ulusoy, S., Ben-Attia, M., Büyükkaya, F., Oral, A., Coskun, Y. and Said, H. (2021).** Isolation, chemical composition, physicochemical properties, and antibacterial activity of *Cupressus sempervirens* L. essential oil. *J. Essent. Oil-Bear. Plants,* 24(3): 439-452.
  17. **Asili, J., Tayarani-Najaran, Z., Emami, S.A., Iranshahi, M., Sahebkar, A. and Eghbali, S. (2021).** Chemical composition, cytotoxic and antibacterial activity of essential oil from aerial parts of *Salvia tebesana* Bunge. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 24(1): 31-39.
  18. **Gogoi, R., Loying, R., Sarma, N., Begum, T., Pandey, S.K. and Lal, M. (2020).** "Comparative in-vitro biological activities of methyl eugenol rich *Cymbopogon khasianus* Hack., leaf essential oil with pure methyl eugenol compound". *Curr. Pharm. Biotechnol.* 21(10): 927-938.
  19. **Khelfane-Goucem, K., Lardjane, N. and Medjdoub-Bensaad, F. (2016).** Fumigant and repellent activity of Rutaceae and Lamiaceae essential oils against *Acanthoscelides obtectus* Say. *Afr. J. Agric. Res.* 11(17): 1499-1503.

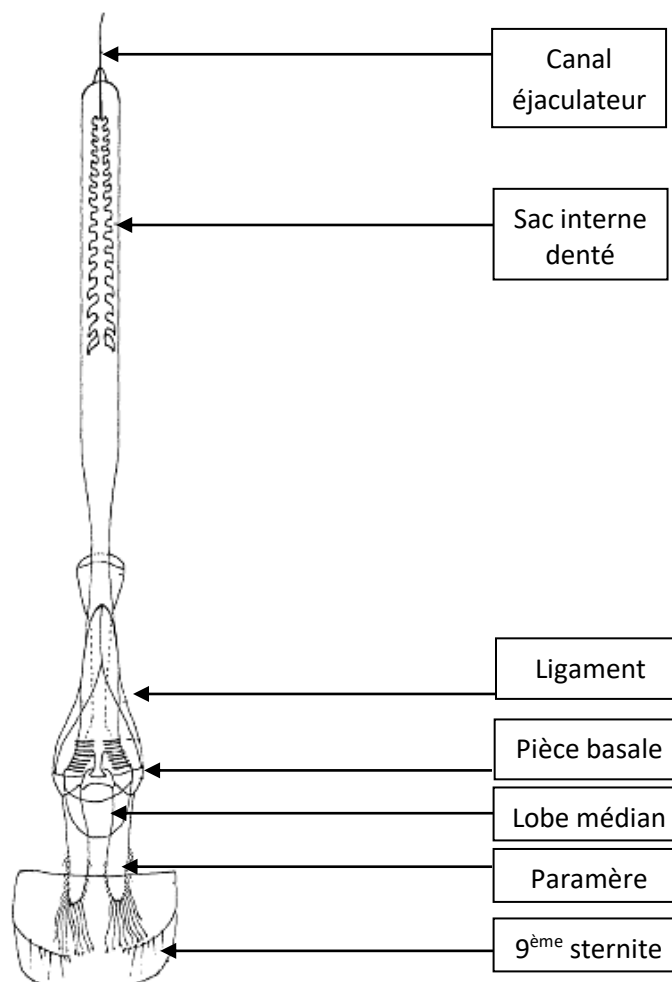
20. Boukraa, N., Ladjel, S., Goudjil, M.B., Eddoud, A. and Sanori, K.W.M. (2020). Chemical compositions, fumigant and repellent activities, of essential oils from three indigenous medicinal plants and their mixture, against stored grain pest, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Asian J. Res. Chem.* 13(6): 455-464.
21. Filomeno, C.A., Almeida Barbosa, L.C., Teixeira, R.R., Pinheiro, A.L., Farias, E.D.S., Ferreira, J.S. and Picanço, M.C. (2020). Chemical diversity of essential oils of Myrtaceae species and their insecticidal activity against *Rhyzopertha dominica*. *J. Pre-Proof.* 137: 1-25.
22. Kellouche, A. and Soltani, N. (2004). Biological activity of the powders of five plants and the essential oil of one of them on *Callosobruchus maculatus* (F.). *Int. J. Trop. Insect. Sci.* 24(2): 184-191.
23. Ait Aider, F., Kellouche, A., Fellag, H. and Debras, J.F. (2016). Evaluation of the bio-insecticidal effects of the main fatty acids of olive oil on *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera-Bruchidae) in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.)). *J. Plant. Dis. Prot.* 123(5): 235-245.
24. Kassimi, A., Watik, L., Mohammed, M. and Hamid, C. (2017). Mortality of watermelon aphids by neem natural oil and a chemical synthetic product. *J. Adv. Agric. Sci. Technol.* 4(1): 1-6.
25. Aissaoui, F., Hedjal-Chebheb, M., Soltani, A., Haouel-Hamdi, S., Talhi, O., Chérif Ziani, B.E. and Mediouni-Benjemâa, J. (2021). Variations of chemical composition of two Algerian essential oils collected for different seasons and assessment of their insecticidal toxicity against three moth pests. *J. Plant Dis. Prot.* 128: 1167-1176.
26. Badji, C.A., Dorland, J., Kheloul, L., Richomme, P., Kellouche, A., Azevedo de Souza, R.C., Bezerra, A.L. and Anton, S. (2021). Behavioral and antennal responses of *Tribolium confusum* to *Varronia globosa* essential oil and its main constituents perspective for their use as repellent. *Molecules.* 26(15): 4393.
27. Estrella-Parra, E.A., Nolasco-Ontiveros, E., Alarcon-Enos, J., Cespedes-Acuna, C.L., Garcia-Bores, A.M., Penalosa-Castro, I., Espinosa-Gonzalez, A.M. and Avila-Acevedo, J.G. (2021). *Hyptis mociniana* (Benth.) Epling aerial parts essential oil: Chemical composition and insecticidal activity against *Cydia pomonella* and *Drosophila melanogaster* larvae. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 24(4): 786-791.
28. Abdel-Sattar, E., Zaitoun, A.A., Farag, M.A., Gayed, SHE. and Harraz, F.M.H. (2010). Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* L. leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. *Nat. Prod. Res.* 24(3): 226-235.
29. Bonnier, G. (1990). The great flora of France in colors. (Ed.) Belin, pp: 214-221.
30. Belhamel, K., Abderrahim, A. and Ludwig, R. (2008). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Schinus molle* L. grown in Algeria. *Int. J. Essent. Oil Ther.* 2: 175-177.
31. Owolabi, M.S., Ogundajo, A.L., Dosoky, N.S. and Setzer, W.N. (2020). Chemical composition and antimicrobial potential of essential oils of leaf and stem bark of *Haematostaphis barteri* Hook. F. (Anacardiaceae). *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 1-11.
32. Volpini-Klein, A.F.N, Lima Júnior, S.E., Cardoso, C.A.L., Cabral, M.R.P., Louro, G.M., Coutinho, E.J., Dione, A.J., Djalma, P.J. and Simionatto, E. (2021). Chemical composition of essential oils from leaves and fruits of *Schinus molle* obtained by different extraction methods (hydrodistillation, Fractional hydrodistillation and steam distillation) and seasonal variations. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 24(2): 228-242.
33. Jahani, M., Akaberi, M., Khayyat, M.H. and Abd Emami, S.A. (2019). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from *Cupressus sempervirens* var. *sempervirens*, *C. sempervirens* cv. *Cereiformis* and *C. sempervirens* var. *horizontalis*. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 22(4): 917-931.
34. Manivannan, R., Senthil Kumar, M., Jawahar, N., Sai Ganesh, E. and Jubie, S.

- (2005). A comparative antimicrobial study on the essential oil of the leaves of various species of *Cupressus*. *Anc. Sci. Life*. 24(3): 131-133.
35. **Riou-Nivert, P. (2001)**. Softwoods. Volume 1: Knowledge and recognition. 2<sup>nd</sup> (ed.) of Institute for Forestry Development, pp: 215-255.
  36. **Adams, R.P. (2017)**. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured publishing, Carol Stream, Illinois.
  37. **Babushok, V., Linstrom, P. and Zenkevich, I. (2011)**. Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *J. Phys. Chem. Ref. Data*. 40(4): 43101-43148.
  38. **Bouhenna, M.M., Bensouici, C., Khattabi, L., Chebrouk, F. and Mameri, N. (2020)**. Chemical composition, antioxidant, alpha-glucosidase inhibitory, anticholinesterase and photoprotective activities of the aerial parts of *Schinus molle* L. *Curr. Bioact. Compd*. 16: 1-17.
  39. **Abbott, W.S. (1925)**. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol*. 18: 265-267.
  40. **Jilani, G. and Saxena, RC. (1990)**. Repellent and feeding deterrent effects of turmeric oil, sweetflag oil, neem oil, and a neem-based insecticide against lesser grain borer (Coleoptera: Bostrychidae). *J. Econ. Entomol*. 83(2): 629-634.
  41. **Mc Donald, L.L., Guy, R.H. and Speirs, R.D. (1970)**. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents, and attractants against stored-product insects. Washington: Agricultural Research Service.
  42. **Rouibi, A., Saidi, F. and Boutoumi, H. (2010)**. Identification by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) and determination of antimicrobial effects of essential oils from peppertree (*Schinus molle* L.). *Acta Hort*. 853: 219-228.
  43. **Almadiy, A.A. and Nenaah, G.E. (2022)**. Bioactivity and safety evaluations of *Cupressus sempervirens* essential oil, its nano emulsion and main terpenes against *Culex quinquefasciatus* Say. *Environ. Sci. Pollut. Res*. 29(9): 13417-13430.
  44. **Lal, M., Begum, T., Munda, S. and Pandey, S.K. (2021)**. Identification of high rhizome and essential oil yielding variety (Jor Lab ZB-103) of *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*. 24(5): 1010-1025.
  45. **Pandey, S.K., Baruah, J., Paw, M., Sarma, N., Begum, T., Saikia, S. and Lal, M. (2022)**. Molecular diversity and chemical composition among induced mutation lines of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. Using RAPD and ISSR Marker. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*. 25(2): 234-249.
  46. **Chemat, F. and Lucchesi, M.E. (2005)**. Microwave-assisted extractions of essential oils and aromatic extracts. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*. 20: 77-99.
  47. **Ferhat, M., Boukhatem, M., Hazzit, M. and Chemat, F. (2016)**. Rapide extraction of volatile compounds from *Citrus* fruits using a microwave dry distillation. *J. Fundam. Appl. Sci*. 8(3): 753-781.
  48. **Hamani-Aoudjit, S. (2019)**. Bioecology and biocontrol of bean weevil *Bruchus rufimanus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in the region of Bouira. Doctoral dissertation, Mouloud Mammeri University of Tizi-Ouzou (Algeria), p.153. <https://www.ummtto.dz/dspace/handle/ummtto/8899>.
  49. **Kellouche, A., Ait-Aider, F., Labdaoui, K., Moula, D., Ouendi, K., Hamadi, N., Ouramdane, A., Frerot, B. and Mellouk, M. (2010)**. Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidae). *Int. J. Integr. Biol*. 10(2): 86-89.
  50. **Bekele, J. and Hassanali, A. (2001)**. Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry*. 57: 385-391.
  51. **Khelfane-Goucem, K. (2014)**. Study of the insecticidal activity of essential oils and powders of some plants against bean bruchid *Acanthocelides obtectus* Say (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae) and behavior of this pest towards the volatile compounds of different varieties of the host plant (*Phaseolus*

- vulgaris* L.). Doctoral dissertation, Mouloud Mammeri University of Tizi-Ouzou (Algeria), p.144.
52. **Papachristos, D.P. and Stamopoulos, D.C. (2002).** Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored. Prod. Res.* 38: 365-373.
  53. **Chauhan, N., Malik, A. and Sharma, S. (2018).** Repellency potential of essential oils against house fly, *Musca domestica* L. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25(5): 4707-4714.
  54. **Taleb-Toudert, K., Hedjal-Chebheb, M., Derdah, Y. and Kellouche, A. (2021).** Repellent and insecticidal effects of basil essential oil (*Ocimum gratissimum*) from Kabylie (Algeria) on *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrychidae): impact of treatment on the physicochemical and rheological qualities of common wheat flour (*Triticum aestivum*). *Afr. Entomol.* 29(2): 547-562.
  55. **Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. and Lacroix, M. (2007).** Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control.* 18(5): 414-420.
  56. **Bounoua-Fraoucene, S., Kellouche, A. and Debras, J.F. (2019).** Toxicity of four essential oils against two insect pests of stored grains, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Afr. Entomol.* 27(2): 344-359.
  57. **Kheloul, L., Anton, S., Breard, D. and Kellouche, A. (2021).** Fumigant toxicity of some essential oils and eucalyptol on different life stages of *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Bot. Lett.* 1-12.
  58. **Lee, S., Peterson, C.J. and Coats, J.R. (2003).** Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. *J. Stored. Prod. Res.* 39: 77-85.
  59. **Sarma, N., Begum, T., Pandey, S.K., Gogoi, R., Munda, S. and Lal, M. (2020).** Chemical profiling of leaf essential oil of *Lantana camara* Linn. From North-East India. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 23(5): 1035-1041.
  60. **Kim, S.I., Yoon, J.S., Jung, J.W., Hong, K.B., Ahn, Y.J. and Kwon, H.W. (2010).** Toxicity and repellency of origanum essential oil and its components against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. *J. Asia. Pac. Entomol.* 13(4): 369-373.
  61. **Eller, F.J., Vander Meer, R.K., Behle, R.W., Flor-Weiler, L.B. and Palmquist, D.E. (2014).** Bioactivity of cedarwood oil and cedrol against arthropod pests. *Chem. Ecol.* 43(3): 762-766.
  62. **Jaenson, T.G., Katinka, P. and Borg-Karlson, A.K. (2006).** Evaluation of extracts and oils of mosquito (Diptera: Culicidae) repellent plants from Sweden and Guinea-Bissau. *J. Med. Entomol.* 43(1): 113-119.
  63. **Huang, Y. and Ho, S.H. (1998).** Toxicity and antifeedant activities of cinnamaldehyde against grain storage insects, *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais*. *Motsch. J. Stored Prod. Res.* 34(1): 11-17.
  64. **Chaaban, A., Richardi, V.S., Carrer, A.R., Sperotto Brum, J., Cipriano, R.R., Nogueira Martins, C.E., Navarro Silva, M.A., Deschamps, C. and Molento, M.B. (2018).** Insecticide activity of *Curcuma longa* (leaves) essential oil and its major compound  $\alpha$ -phellandrene against *Lucilia cuprina* larvae (Diptera: Calliphoridae): Histological and ultrastructural biomarkers assessment. *Pestic. Biochem. Physiol.* 21(2018): 1776-1778.
  65. **Almadiy, A.A. (2021).** Insecticidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Achillea biebersteinii* essential oil and its nanoemulsion and major monoterpenes against *Tribolium castaneum*. *J. Asia-Pacific Entomol.* 24(4): 1170-1178.
  66. **Tong, F. and Coats, J.R. (2010).** Effects of monoterpenoid insecticides on [3H]-TBOB binding in house fly GABA receptor and 36Cl- uptake in American cockroach ventral nerve cord. *Pestic. Biochem. Physiol.* 98(3): 317-324.

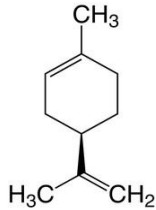
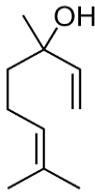
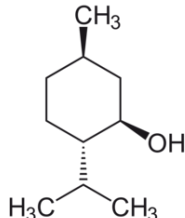
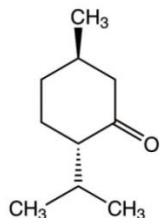
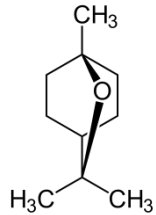
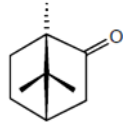
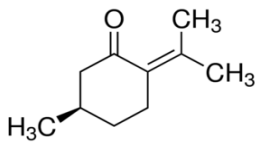
# *Annexes*

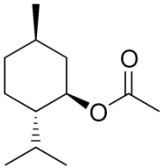
**Annexe 1.** Genitalia mâle d'*Oryzaephilus surinamensis*, aspect ventral (Komson, 1967)



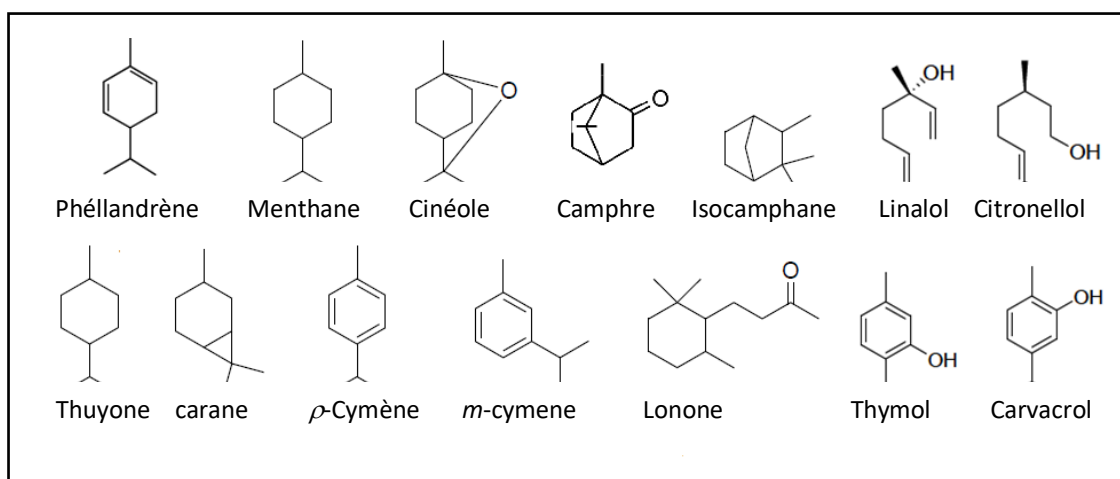
**Annexe 2.** Structure de quelques monoterpènes

Composé		Structure chimique
$\alpha$ -pinène <i>S. molle</i> , <i>C. sempervirens</i>	bicyclique	
(E)-béta-ocimène ( <i>Ocimum basilicum</i> )	acyclique	

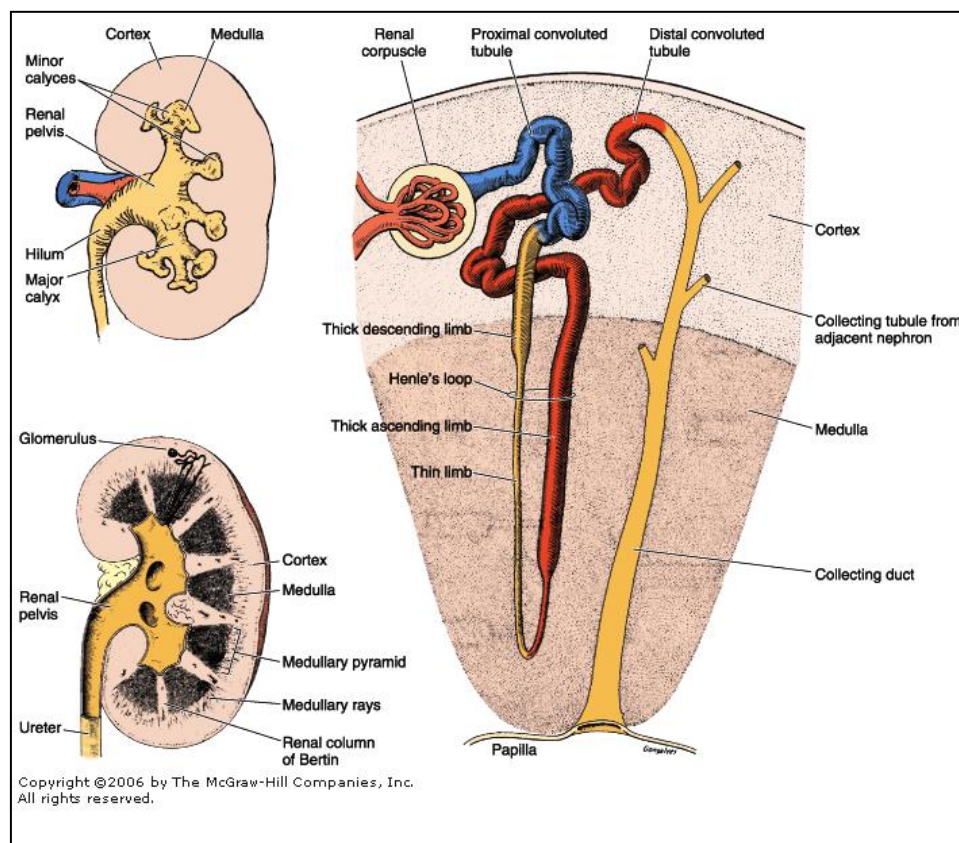
<p>Limonène (<i>Lavandula latifolia</i>)</p>	monocyclique	
<p>Linalol monoterpénol, (<i>O. basilicum, L. latifolia</i>)</p>	acyclique	
<p>Menthol monoterpénol (<i>Mentha piperita</i>)</p>	monocyclique	
<p>Menthone monoterpénones (<i>M. piperita</i>)</p>	monocyclique	
<p>1,8-cinéole (eucalyptol) oxyde terpénique (<i>M. piperita, L. latifolia</i>)</p>	bicyclique	
<p>Camphre (cétones) (<i>L. latifolia</i>)</p>	bicyclique	
<p>Pulégone (<i>M. piperita</i>)</p>	monocyclique	

<p>Acétate de méthyle (ester terpénique) (<i>M. piperita</i>)</p>	<p>monocyclique</p>	
---	---------------------	---

**Annexe 3.** Structure de quelques monoterpènes (Mabou et Nzeuwa Yossa, 2021)



**Annexe 4.** Organisation générale du rein (Junqueira et Carneiro, 2005)





**Annexe 6.** Taux moyen de répulsion (%) des huiles essentielles de *S. molle*, *C. sempervirens*, *M. piperita* *L. latifolia*, *O. basilicum* et (*M. piperita*+ *O. basilicum*) vis-à-vis des adultes d'*O. surinamensis* (moyenne  $\pm$  SEM, n = 5 répétitions contenant chacune 20 individus)

Huiles essentielles	Doses ( $\mu$ L)					Taux moyen de répulsivité (%)	Classe de répulsivité
	3	6	9	12	15		
<i>S. molle</i>	/	45 $\pm$ 5.78	50 $\pm$ 0	72.5 $\pm$ 4.33	55 $\pm$ 4.33	55.62 $\pm$ 4.88	(III) Moyennement répulsif
<i>C. sempervirens</i>	/	60 $\pm$ 11.56	62.5 $\pm$ 7.22	77.5 $\pm$ 4.33	65 $\pm$ 4.33	66.25 $\pm$ 3.25	(IV) Répulsif
<i>M. piperita</i>	64 $\pm$ 3.6	56 $\pm$ 6	68 $\pm$ 3.6	76 $\pm$ 3.2	/	66 $\pm$ 3	(IV) Répulsif
<i>L. latifolia</i>	50 $\pm$ 3.6	66 $\pm$ 3.2	40 $\pm$ 3.6	44 $\pm$ 3.2	/	50 $\pm$ 4	(III) Moyennement répulsif
<i>O. basilicum</i>	54 $\pm$ 8.8	54 $\pm$ 2.4	54 $\pm$ 2.4	68 $\pm$ 4	/	57.5 $\pm$ 2.62	(III) Moyennement répulsif
<i>M. piperita</i> + <i>O. basilicum</i>	58 $\pm$ 3.6	68 $\pm$ 8.4	70 $\pm$ 3.6	58 $\pm$ 7.2	/	63.5 $\pm$ 2.75	(IV) Répulsif

**Annexe 7.** Pesage des souris à l'aide d'une balance électronique (© T. Laoudi)



## Annexe 8. Statut des souris

وزارة الصحة و السكان و إصلاح المستشفيات  
Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière

INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE



معهد باسستور بالجزائر

Département animalerie

Laboratoire des petits animaux de laboratoire

Alger le  
27 AVR. 2021

**Attestation d'acquisition d'animaux de laboratoire**

Le service des animaux de laboratoire de l'Institut Pasteur D'Algérie (IPA) atteste par la présente que Mr/Mme LAOUA, de la wilaya de Tizi Ouzou s'est porté acquéreur d'animaux de laboratoire de type Souris Balb/c au nombre de 50 et à statut **Holoxénique** ces animaux proviennent d'un élevage de **type conventionnel** et ne présentent aucun signe clinique de pathologies au moment de leurs mises à disposition ; néanmoins l'usage fait de ces animaux après avoir quittés l'enceinte des animaleries de l'IPA, leurs conditions de transport, d'hébergement, et de manipulations (devant obéir a des règles d'hygiène , de sécurité et une compétence dans ce domaine) et les possibles conséquences liées a cela relèvent de la responsabilité exclusive de l'acquéreur .

Mr/Mme

Service des animaux de laboratoire

Institut Pasteur d'Algérie  
Laboratoire des petits Animaux  
Dr Vétérinaire R. FOURAR

**Annexe 9.** Fiches techniques de préparation d'histologie

**Fiche technique n°1 : Fixateur Bouin hollandaise (Gabe, 1968)**

Broyer à froid dans un mortier :

Acétate de cuivre .....2.5g

Eau distillée.....100ml

Agiter puis ajouter peu à peu

Acide picrique.....4g

(Le liquide se conserve indéfiniment)

Filtrer après une complète dissolution et ajouter

Formaldéhyde 36-40% (en solution saturée) .....10ml

Acide acétique cristallisable .....1ml

**Fiche technique n°2 : Trichrome de Masson (Martoja et Martoja, 1967)**

Avant d'appliquer la coloration, les coupes déparaffinées hydratées passent successivement dans :

Hématoxyline de Groat.....3min

Lavage à l'eau courante .....5min

Eau acétifiée à 1% ..... rinçage

Orange G .....5min

Eau acétifiée à 1%..... rinçage

Vert lumière ..... 5min

Eau acétifiée à 1%..... rinçage

Après la coloration, les coupes sont déshydratées et montées à l'aide d'Eukitt. Les noyaux sont colorés en brun noir, les cytoplasmes en rouge brique.

**Fiche technique n°3 : Hématoxyline de Groat (préparation à froid) (Martoja et Martoja, 1967)**

1<sup>e</sup> solution

Acide sulfurique concentré.....0.8ml

Alun de fer.....1g

Eau distillée.....50ml

2<sup>e</sup> solution

Hématoxyline.....0.5g

Alcool à 95° .....50ml

Après dissolution, les deux solutions sont mélangées et sont laissées reposer pendant une heure de temps puis elles sont filtrées.

(La solution peut se conserver durant trois mois).

**Fiche technique n°4 : Mélange fuchsine acide ponceau (préparation à froid) (Martoja et Martoja, 1967)**

Fuchsine acide .....0.1g

Ponceau .....0.2g

Eau distillée .....300ml

Après dissolution ajouter

Acide acétique .....0.6ml

(La conservation de la solution est illimitée)

**Fiche technique n°5 : Orange G (Martoja et Martoja, 1967)**

Acide phosphomolybdique ou phostotungstique.....3 à 5g

Eau distillée .....100ml

Orange G .....2g

(La conservation de la solution est illimitée)

**Fiche technique n°6 : Vert lumière (Martoja et Martoja, 1967)**

Vert lumière .....1g

Eau distillée .....100ml

Acide acétique .....0.2ml

(La conservation de la solution est illimitée)

## Annexe 10. Différentes étapes suivies pour l'étude histologique

<b>Etape</b>	<b>Produit</b>	<b>Durée</b>
<b>Fixation</b>	Bouin hollandaise	7j
<b>Désydratation</b>	Ethanol 50°	1h
	Ethanol 70°	1h
	Ethanol 90°	1h
	Ethanol 100°	1h
	Xylène 1	1h
	Xylène 2	1h
<b>Imprégnation</b>	1/2 paraffine+1/2 xylène	1h
	Paraffine 1	1h
	Paraffine 2	1h
Inclusion et confection des coupes		
<b>Déparaffinage</b>	Xylène 1	15min
	Xylène 2	15min
<b>Réhydratation</b>	Ethanol 100°	10-15min
	Ethanol 90°	10-15min
	Ethanol 70°	10-15min
	Ethanol 50°	10-15min
<b>Coloration</b>	Hématoxyline de Groat	3min
	Lavage à l'eau courante	5min
	Mélange Fuchsine ponceau	5min
	Eau acétifiée à 1%	Rinçage
	Orange G	5min
	Eau acétifiée à 1%	Rinçage
	Vert lumière	5min
	Eau acétifiée à 1%	rinçage

## Résumé

Ce présent travail s'intéresse à l'étude de la biologie du silvain dentelé *Oryzaephilus surinamensis*, insecte ravageur des denrées stockées, sur trois substrats alimentaires, la semoule, les farines d'avoine et de riz. Le suivi du cycle de vie de cet insecte ravageur fait ressortir qu'il est relativement court dans la semoule (28.97 j), comparativement à l'avoine et le riz (40 j environ). Le taux d'émergence des adultes est faible dans le riz (35%), élevé dans la semoule et l'avoine, avec respectivement 59% et 68%. La longévité des adultes la plus longue a été observée sur l'avoine avec 186.18 j. L'évaluation du potentiel biocide de six traitements révèle leur efficacité par fumigation sur les adultes de ce ravageur, avec un maximum de 100% obtenu avec la combinaison de l'huile essentielle (HE) de *Mentha piperita* et *Ocimum basilicum* à la dose de 20 µL dès 24 h d'exposition. Les tests par répulsion montrent que les HEs de *C. sempervirens*, *M. piperita* et la mixture (*M. piperita*+*O. basilicum*) sont répulsives avec des taux moyens de répulsion variant entre 63.5% et 77.5%. Les expériences du test de labyrinthe en croix sur élevée montrent que les souris soumises à trois modes de traitement avec l'HE de *Lavandula latifolia* par voie orale, intrapéritonéale et inhalation, étaient anxieuses ; en revanche, le test de la nage forcée a révélé que les souris traitées n'ont pas manifesté un comportement dépressif. Des coupes histologiques réalisées sur les testicules, le rein et les poumons des animaux traités ont montré un blocage de la spermatogénèse et des altérations de la structure du tissu rénal. Par contre, le traitement n'a pas affecté le parenchyme pulmonaire.

**Mots-clés:** *Oryzaephilus surinamensis*, Biologie, Huile essentielle, Activité insecticide, Toxicité, Comportement, Souris.

## Abstract

The present work focuses on the study of the biology of the toothed woodworm *Oryzaephilus surinamensis*, insect pest of stored foodstuffs, in three food substrates, semolina, oat flour and rice flour. The monitoring of the life cycle of this insect shows overall a total duration of the cycle which is relatively short in semolina (28.97 days) compared to oats and rice (about 40 days). Adult emergence rate was low in rice (35%), high in semolina and oats, with 59% and 68%, respectively. The longest adult longevity was observed on oats with 186.18 d. The evaluation of the biocidal potential of six treatments revealed their efficacy by fumigation on the adults of this pest with a maximum of 100% obtained with the essential oils (EO) of *Mentha piperita* and *Ocimum basilicum* mixture at a dose of 20 µL from 24 hours of exposure. The repulsivity tests showed that the EOs of *C. sempervirens*, *M. piperita* and the mixture (*M. piperita*+*O. basilicum*) were repellent with average rates of repulsion varying between 63.5% and 77.5%. Our experiments using the elevated cross-maze test showed that mice subjected to three modes of treatment with *Lavandula latifolia* EO, by the oral, intraperitoneal and inhalation routes were anxious; on the other hand, the forced swimming test revealed that the treated mice did not show depressive behavior. Histological sections taken from the testicles, kidney and lungs of the treated animals showed a blockage of spermatogenesis and alterations in the structure of the renal tissue. On the other hand, the treatment did not affect the lung parenchyma.

**Key-words:** *Oryzaephilus surinamensis*, Biology, Essential oil, insecticidal activity, toxicity, behavior, mice.

## ملخص

يركز هذا العمل على دراسة بيولوجيا خنفساء الحبوب المنتشارية المسننة *Oryzaephilus surinamensis*، الآفة الحشرية للمواد الغذائية المخزنة، في ثلاث أنواع غذائية، السميد، دقيق الشوفان والأرز. تظهر مراقبة دورة حياة هذه الحشرة ان إجمالي مدة الدورة قصيرة نسبياً في السميد (28.97 يوماً) مقارنة بالشوفان والأرز (حوالي 40 يوماً). معدل ظهور البالغين منخفض في الأرز (35%)، ومرتفع في السميد والشوفان، 59% و 68% على التوالي. ولوحظ أطول عمر للبالغين على الشوفان حيث بلغ 186.18 يوم. يكشف تقييم إمكانات المبيدات الحيوية لسنة علاجات فعاليتها عن طريق التبخير على البالغين من هذه الآفة بحد أقصى 100%. تم الحصول عليها بمزيج من زيوت عطرية أساسية *Mentha piperita* و *Ocimum basilicum* بجرعة 20 ميكرو لتر خلال 24 ساعة. أظهرت اختبارات التنافر أن الزيوت الأساسية ل *C. sempervirens* و *M. piperita* والمزيج (*M. piperita*+*O. basilicum*) طاردة مع متوسط معدلات تنافر تتراوح بين 63.5% و 77.5%. تُظهر تجاربنا لاختبار المتاهة المرتفعة أن الفئران التي خضعت لثلاث طرق من العلاج باستخدام *Lavandula latifolia* EO عن طريق الفم وداخل الصفاق والاستنشاق كانت قلقة؛ عكس ذلك كشف اختبار السباحة القسري أن الفئران المعالجة لم تظهر سلوكاً اكتئابياً. كما أظهرت المقاطع النسيجية المأخوذة من الخصيتين، الكلى والرئتين للحيوانات المعالجة انسداداً في تكوين الحيوانات المنوية وتغيرات في بنية النسيج الكلوي. من ناحية أخرى، لم يؤثر العلاج على حمة الرئة.

**الكلمات المفتاحية:** علم الأحياء، زيت عطري أساسي، نشاط مبيد الحشرات، السمية، السلوك، الفأر *Oryzaephilus surinamensis*.