

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université MOULOUD MAMMARI de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie Animale et Végétale



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques et Agronomique
Spécialité : Entomologie appliquée à la médecine, à l'agriculture et la foresterie.

Thème

Toxicité de deux huiles essentielles de romarin à l'égard d'un
insecte ravageur des grains stockés *Tribolium confusum*
(Coleoptera : Tenebrionidae).

Réalisé par :

M^{elle} ABAHRI Hakima

Devant le jury

Mme AIT AIDER F.	Maître assistant « A »	UMMTO	Présidente.
Mr KELLOUCHE A.	Professeur	UMMTO	Promoteur.
Mr ARKOUB M	Maître assistant « B »	UMMTO	Co-promoteur.
M ^{elle} KERBEL S	Doctorante	UMMTO	Examinatrice.

Année universitaire 2016/2017

REMERCIEMENTS

Je remercie avant tout Dieu (Allah) le tout puissant de m'avoir accordé force et volonté pour terminer ce travail.

Le professeure KELLOUCHE A, de faculté des sciences Biologiques et des sciences Agronomiques de l'UMMTO.

C'est avec beaucoup de rigueur, assiduité et disponibilité que vous avez dirigé cette étude. Acceptez l'expression de ma profonde estime et sincère reconnaissance.

Mes sincères remerciements vont également à mon co-promoteur Mr ARKOUB M, maître assistant « B » à l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, qui a fait preuve d'un apport pour la réalisation de ce travail.

Je tiens à transmettre mes vifs remerciements

Au M^{me} AIT AIDER F, Maitre assistante à la faculté des sciences Biologiques et des sciences Agronomiques de l'UMMTO, d'avoir voire accepté de présider le jury.

Je tiens à remercier remercions également M^{elle} KERBEL S, qui a accepté de participer à ce jury.

Un témoignage de reconnaissance à M^{elle} KHELOUL L, enseignante chercheuse à l'université l'UMMTO de m'avoir soutenue durant les moments difficiles, et pour ses conseils et ses qualités humaines.

Mes vifs remerciements vont également à toutes les personnes, qui de près ou de loin, ont contribués à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

- *La mémoire de mon très cher grand père mohamed, puisse dieu l'accueillir en son vaste paradis ;*
- *La mémoire de mon cher oncle Ali, qui est toujours présent dans mon cœur et j'aurais tant aimé que tu sois parmi nous à ce moment, puisse dieu l'accueillir en son vaste paradis ;*
- *La source de tendresse et d'amour ma très chère maman la plus merveilleuse et la plus courageuse des mères du monde que dieu la protège à chaque moment.*

Amon chère père Ahmed

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le respect que j'ai pour toi.

Rien au monde ne vaut les efforts tu as fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

A ma grands mère Fatima.

A mes très chères sœurs : Naima et son mari Djamal, Razika, et saida.

A mes très chère frère : Idir, Mustapha, Elmahdi et Djilali.

A mon oncle Rabah et sa femme Malika, leurs enfants : Nassim, Hakim, Amina, Momoh et Amel.

A tous mes amis (es)

Meilleures amies : Djamila, Dihia, Fariza, Lilia, Naima, Nassima, Tassadit, Fatiha, Amel et Lynda.

A la promo de 2^{eme} année Master Entomologie de l'année 2016 – 2017.

HAKIMA

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1 : <i>Tribolium confusum</i> G 40× 2 (adulte) (Originale, 2017).....	4
Figure 2 : Les œufs de <i>Tribolium confusum</i> G 40× 2 (Originale, 2017).....	5
Figure 3 : La larve de <i>Tribolium confusum</i> G 40× 2 (Originale, 2017).....	6
Figure 4 : La nymphe de <i>Tribolium confusum</i> G 40× 2 (Originale, 2017).	6
Figure 5 : L'adulte de <i>Tribolium confusum</i> G 40 ×2 (Originale, 2017).....	7
Figure 5 : Dégâts de <i>T. confusum</i> sur la semoule commerciale (original, 2017).	8
Figure 6 : Aspects morphologiques du romarin (Originale, 2017).	11
Figure 7 : Aspect morphologique de la feuille (Originale, 2017).	12
Figure 8 : Matériels utilisés au laboratoire (Originale, 2017).	20
Figure 9: Elevage de masse de <i>T. confusum</i> (Originale, 2017).....	21
Figure 10 : Les feuilles séchées du romarin (Originale, 2017).	22
Figure 11 : Appareillage d'hydrodistillation (Originale, 2017).	23
Figure 12: Illustration du processus de décantation et de récupération des huiles essentielles (Originale, 2017).	23
Figure 13: Appareil de l'analyse chromatographique (Originale, 2017).	25
Figure 14 : Appareil enregistreur (Originale, 2017).	25
Figure 15: Dispositif expérimental du Test par inhalation (Originale, 2017).	26
Figure 16 : chromatogramme de l'huile essentielle du romarin local.....	annexe 1
Figure 17 : chromatogramme de l'huile essentielle du romarin importé.	annexe 2
Figure 18 : Effet de l'huile essentielle de romarin local par inhalation sur la mortalité (%) des adultes de <i>T. confusum</i>	32
Figure 19 : Effet de l'huile essentielle de romarin importé par inhalation sur la mortalité (%) des adultes de <i>T. confusum</i>	33

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1 : Résultats du rendement de l'huile essentielle du romarin local.....	27
Tableau 2 : Analyse qualitative et quantitative de l'HE du romarin local par CG-MS.	28
Tableau 3 : Analyse qualitative et quantitative de l'HE du romarin importé par CG-MS. .	29
Tableau 4 : nombre moyen d'individus morts (n = 20) (\pm écart-type) pour le facteur l'huile essentielle.....	30
Tableau 5 : nombre moyen d'adultes morts chez <i>T. confusum</i> (\pm écart- type) dans les traitementsavec les deux huiles essentielles de romarin selon le facteur dose.....	30
Tableau 6 : nombre moyen d'adultes morts (n = 20) (\pm écart -type) selon les deux facteurs huiles et doses.	31
Tableau7 : Nombre d'individus morts chez les adultes de <i>T. confusum</i> traités par inhalation (moyenne \pm écart- type) avec les deux huiles essentielles à différentes doses (μ l) et à quatre temps d'exposition (h).	32
Tableau 8 : Résultats de l'analyse de la variance à trois critères de classification, huile essentielle (F1), temps d'exposition (F2) et doses (F3) concernant l'effet inhalation du romarin local et du romarin importé.	annexe n°3.
Tableau 9 : Résultats du test Newman et Keuls montrant l'effet des quatre doses des deux huiles essentielles testées par inhalation sur le nombre de morts chez les adultes de <i>T. confusum</i>	34
Tableau 10 : résultats du test de Newman et Keuls indiquant l'effet du facteur temps sur le nombre des adultes morts chez <i>T.confusum</i>	34
Tableau 11 : Résultats du test Newman et Keuls indiquant l'effet de l'interaction de deux facteurs (huiles essentielles et doses) sur le nombre de morts chez des adultes de <i>T. confusum</i>	35

Tableau 12 : Résultats du test Newman et Keuls indiquant l'effet de l'interaction de deux facteurs (temps et doses) sur la mortalité des adultes de *T. confusum*.Annexe n°4.

Sommaire

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Aperçu biologique sur *Tribolium confusum*.

1-Position systématique <i>Tribolium confusum</i> :	4
2- Appellation :	4
3 - Origine et répartition géographique :	4
4 - Description des différents stades de développement :	5
5- Biologie.....	7
6 - Régime alimentaire et dégâts	8
7 - Les ennemis naturels.....	9

Chapitre II : Présentation du romarin.

1 - Origine et définition.....	10
2 - Répartition géographique.....	10
3 – Classification.....	11
4 - Description.....	11
a- La racine.....	11
b- La tige	11
c - La feuille	11
d- la fleur	12
e - Le fruit.....	12
5 - La récolte	12
6 - La conservation.....	13
7 – Utilisation	13

Chapitre III : Les huiles essentielles

1 - Définition	14
2- Répartition.....	14
3- Composition chimique des huiles essentielles.....	14

4- Composition chimique des huiles essentielles du romarin	14
5- Distillation des huiles essentielles du romarin.....	15
6- Méthodes d'extraction des huiles essentielles du romarin.....	15
A - Hydrodistillation	15
B - Distillation à la vapeur d'eau.....	15
7 - Contrôle de qualité.....	16
8- Rôles écologiques	16
9- Utilisation des huiles essentielles en tant que biopesticides	17
10- Toxicité des huiles essentielles du romarin	17
11- Activité insecticide des huiles essentielles	17
12- Conservation des huiles essentielles	18

Deuxième partie : expérimentation

Chapitre IV : Matériels et méthodes

1 .Objectif.....	19
2 - Matériel et Méthode.....	19
2-1- Matériel de laboratoire.....	19
2-2 - Matériel biologique.....	20
2-2-1- Matériel animal	20
2-2-2-Matériel végétal.....	21
a- Substrat d'élevage.....	21
b - La plante testée.....	21
c-Les huiles essentielles	21
2-3 –Protocole expérimental	22
2-3-1- Methodes d'extraction de l'huile essentielle	22
2-3-2- La Méthode de décantation.....	23
2-3-3- Calcul du rendement en huile après extraction	24
2-3-4- Analyses par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG /MS) :	24
2-3-5 -Mode opératoire	25
Tests d'inhalation sur les adultes	25
2-3-6- Analyses statistiques	26

Chapitre V : Résultats et discussions

I – Résultats	27
1 - Résultats du rendement de l'extraction en huile essentielle.....	27
2 -Résultats des analyses par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG /MS).....	27
3 -Résultats des tests d'inhalation des huiles essentielles du <i>Rosmarinus officinalis</i> (local et importé).....	30
II - Discussion.....	36
Conclusion.....	39

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Les céréales constituent la base de l'alimentation de la plupart des pays méditerranéens. La consommation humaine directe se situe aujourd'hui autour de 250 Kg par habitant et par an dans les pays à forte consommation et à faible revenu (ANONYME, 2006a).

Depuis l'antiquité, les céréales ont constitué l'aliment principal dans la ration alimentaire en Algérie ; cette constance du modèle de consommation dominant s'explique par les traditions alimentaires et les habitudes de consommation. Cette stabilité du mode traditionnel de consommation est renforcée par les mécanismes et les politiques alimentaires mises en œuvre (ANONYME, 2006a).

Les agriculteurs subissent de lourdes pertes de grains stockés dues aux insectes ravageurs. Selon les estimations de l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), environ 5 à 21 % de la nourriture récoltée dans le monde est détruite par les insectes et les rongeurs nuisibles (RICHARD-MOLARD, 1982).

Selon FLEURAT-LESSART (1982), deux ordres principaux comprennent la majorité des espèces inféodées aux stocks : il s'agit des coléoptères et des lépidoptères, dont la propagation a été favorisée par les échanges internationaux. Les coléoptères constituent l'ordre d'insectes le plus riche en espèces avec environ 350 000. Néanmoins, ceux adaptés aux stocks ayant une importance économique mondiale sont peu nombreux. Pourtant, ils sont responsables de l'essentiel des pertes dans les silos des pays industrialisés. Ces insectes ravageurs peuvent être classés en deux catégories selon leur importance : les ravageurs primaires tels que *Rhyzopertha dominica* (Bostrychidae) et *Sitophilus oryzae* (Curculionidae) et les ravageurs secondaires comme : *Tribolium confusum* (Tenebrionidae) (DELOBEL et TRANS, 1993).

Des estimations récentes indiquent que la croissance de la population et la croissance économique future nécessitent de doubler la production alimentaire actuelle, y compris une augmentation de 2000 à 4000 millions de tonnes de céréales par an (TUBIELLO *et al.*, 2007). Cependant, les activités des insectes et des acariens pourraient contrecarrer ces efforts. Ces arthropodes ravageurs sont responsables de la détérioration des aliments stockés et peuvent causer des pertes annuelles estimées à environ 30% des 1800 millions de tonnes de céréales stockées (HAUBRUGE *et al.*, 2000).

En Afrique, elles sont souvent de 30% par contre, dans les pays développés, elles avoisinent les 3% (BULOT, 1990).

De bonnes méthodes de stockage combinées à une bonne hygiène, à un séchage adéquat et à toutes les autres mesures de sécurité ne suffisent pas toujours à prévenir

efficacement les pertes durant le stockage. Les ravageurs parviennent malgré tout à pénétrer dans le produit et à occasionner des dégâts.

Avec l'avènement de la révolution industrielle et vu l'importance des pertes céréalières durant le stockage, des mesures de protection ont été particulièrement développées. Elles sont principalement axées sur l'application de produits chimiques. Ces derniers sont efficaces, néanmoins leur utilisation induit l'apparition des phénomènes de résistance et de pollution des biotopes ainsi que des problèmes de santé, liés à l'accumulation de résidus nocifs dans les aliments. Ils pèsent lourd non seulement sur l'agriculture mais aussi sur l'écologie de la planète et à long terme, sur la santé de l'homme (RIBA et SILVY, 1989 ; REGNAULT-ROGER, 2003).

De nos jours, la recherche scientifique a enregistré d'importants progrès concernant les moyens de lutte contre les insectes ravageurs des récoltes ; il s'agit de :

- La lutte préventive consistant à respecter les mesures d'hygiène ; elle se base sur des opérations à entreprendre avant le stockage (DUCOM, 1982).
- La lutte curative qui peut être de nature chimique, en particulier avec l'utilisation des fumigants ; elle peut également être non chimique comme la lutte physique (chaleur, froid, radiations, ...etc.) et la lutte biologique avec l'utilisation de microorganismes, de prédateurs, de parasites et surtout des substances végétales tels que terpènes et les alcools (AUGER *et al.*, 1999).

L'utilisation de plantes comme source de pesticides est relatée par une abondante littérature (REGNAULT-ROGER *et al.*, 1993). De part les huiles essentielles qu'elles renferment, de nombreuses plantes sont caractérisées par des propriétés insecticides. Leur action toxique (par contact et inhalation), leur répulsivité, leur anti-appétence, de même que leurs effets néfastes sur le potentiel reproducteur des insectes, ont été à maintes reprises prouvés. L'étude menée par SHAYA *et al.* (1997) sur l'évolution de l'activité inhalatrice de 26 extraits de plantes, sur *Oryzaphilus surinamensis* (L.), *Rhyzopertha dominica*, *Tribolium castaneum* (Erbst) et *Sitophilus oryzae* (L.), a révélé que la lavande, le laurier, le romarin et la sauge sont hautement toxiques pour les quatre coléoptères étudiés (HUANG *et al.*, 1999).

En effet, beaucoup d'études ont été réalisées pur tester l'effet insecticide des huiles essentielles de différentes plantes. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude dans laquelle nous avons testé l'effet insecticide de deux huiles essentielles de romarin (local et importé) sur un insecte ravageur des denrées stockées (*T. confusum*). L'activité de ces substances naturelles a été évaluée par des tests d'inhalation.

L'objectif de cette étude rentre dans le cadre de la recherche d'une méthode alternative de lutte contre les insectes ravageurs des récoltes céréalières dans les entrepôts de stockage.

Notre travail s'articule autour de trois parties :

La première partie comporte des données bibliographiques sur *T. confusum*, le romarin (*Rosmarinus officinalis*) et les huiles essentielles.

La deuxième partie consiste en la présentation du matériel et des méthodes utilisés pour la réalisation de nos tests ;

Dans la troisième partie, nous avons regroupé les résultats obtenus en les discutant. Enfin, notre travail s'achève par une conclusion générale ainsi que des perspectives.

Première partie: Synthèse bibliographique

Chapitre I: Aperçu biologique sur Tribolium confusum

1-Position systématique de *Tribolium confusum* :

Selon Lepesme (1944), cet insecte ravageur occupe la position systématique suivante :

Règne Animalia

Embranchement Arthropoda.

Sous-embranchement Hexapoda

Classe Insecta.

Ordre Coleoptera.

Famille Tenebrionidae.

Sous Famille Ulominae.

Genre *Tribolium*.

Espèce *Tribolium confusum* (Duval).



Figure 1 : *Tribolium confusum* (adulte)
G 40× 2 (Originale, 2017).

2- Appellation :

Cette espèce a été décrite pour la première fois par Jacquelin DuVal (1868). Le nom commun Français attribué à ce ravageur est :

Tribolium brun de la farine. Dans les autres langues courantes, il est connu comme confused flour beetle, mason beetle en Anglais, «Tribolio confuso » escarabajo americano de la harina en espagnol (DELOBEL et TRANS, 1993).

3 - Origine et répartition géographique :

L'aire de répartition de *T. confusum* est très vaste à travers le monde. Il est généralement distribué dans le monde entier et il est très abondant dans toutes les parties des Etats-Unis (ANONYME, 1955).

Selon LEPESME (1944), cette espèce préfère les régions tempérées et remonte assez loin dans le nord de l'Europe et de l'Amérique, sous les climats froids (ANONYME, 2001).

On rencontre cet insecte dans la nature, non seulement en Afrique, mais aussi dans les régions où elle fut introduite, sous l'écorce des arbres (DELOBEL et TRANS, 1993).

4 - Description des différents stades de développement :

L'œuf : l'œuf est ovalaire, sans sculpture, il mesure en moyenne 0,6 mm de long (STEFFAN, 1978). Il est oblong et blanchâtre, presque transparent, sa surface lisse est recouverte d'une substance visqueuse qui lui permet d'adhérer à la denrée infestée (LEPESME, 1944).

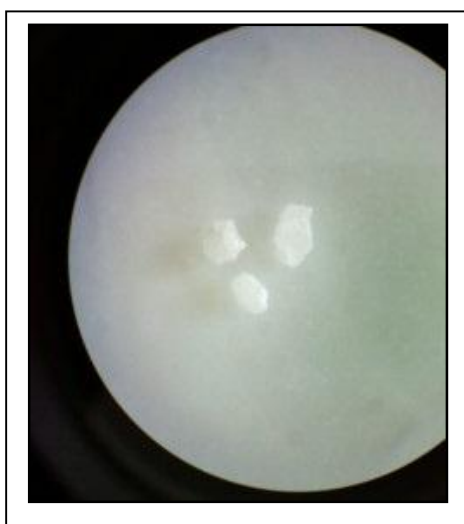


Figure 2 : Les œufs de *T. confusum* G 40 ×2 (Originale, 2017).

La Larve : Son corps est recouvert d'un tégument assez mou, taché de jaune sur le dessus et couvert de nombreuses soies, s'achève par une paire d'urogomphes de couleur rousse. Les larves, qui ne dépassent pas 1,4 mm lors de l'éclosion, atteignent 6 à 7 mm à l'achèvement de leur croissance. Le nombre de mues, 4 au minimum, 11 au maximum, varie selon de nombreux facteurs : température, humidité, qualité de l'alimentation, etc.... (STEFFAN, 1978). Elle est étroite, mobile et de couleur blanche à jaune-brun (ANONYME, 2001). Il y a 7 ou 8 stades larvaires (DELOBEL et TRANS, 1993).



Figure 3 : La larve de *T. confusum* G 40 × 2 (Originale, 2017).

La nymphe : Selon LEPESME (1944), la nymphe femelle possède à la face ventrale, au dessus de la paire d'urogomphes à extrémité très aiguë et brun foncée, deux petites cornes qui, chez le mâle, se réduisent à un légèrement protubérance déprimée.



Figure 4 : La nymphe de *T. confusum* G 40 × 2 (Originale, 2017).

L'imago : La nymphe subit une mue imaginale et donne naissance à un imago (ANONYME, 1955). *T. confusum* est un coléoptère brillant, de couleur brun rouge, long d'environ 3,5 mm, aplati et ovale dont la tête et la partie antérieure du thorax sont densément couverts de points minuscules et les élytres sont striés dans le sens de la longueur avec de rares ponctuations entre les stries.

Les antennes sont moniliformes avec les 3 derniers articles élargis (BALACHOWSKY, 1962).



Figure 5 : L'adulte de *T. confusum* G 40× 2 (Originale, 2017).

5- Biologie

L'insecte hiverne à l'état adulte dans la farine, le son et les recoins des magasins à gains. Il reprend son activité, en général au printemps (ANONYME, 2001). La longévité moyenne des adultes est d'environ un an, mais on a observé que certains individus avaient atteint 3 ans et 9 mois. Les femelles pondent en moyenne environ 450 œufs chacune. Les petits œufs blancs sont déposés séparément dans la farine ou autres matières alimentaires dans lesquelles vivent les adultes. Ils sont recouverts d'une sécrétion visqueuse et, ainsi enrobés de farine, ils adhèrent facilement aux parois des sacs, des caisses, et autres récipients, de telle sorte que le matériel frais placé dans ces derniers est rapidement infesté (ANONYME, 1955).

Dès l'éclosion, qui se produit six à dix jours après la ponte, la jeune larve se montre très active, sillonnant dans tous les sens la denrée-hôte de ses galeries, elle ne se départit pas de cette activité au cours des 25 à 100 jours qu'il lui faut pour achever son développement,

elle subit au total sept à huit mues (LEPESME, 1944). Elles se transforment en petites nymphes nues, d'abord blanches, les nymphes passent graduellement au jaune puis au brun et se transforment alors rapidement en adultes. Le développement de l'œuf à l'adulte dure environ 6 semaines en été, lorsque les conditions de température sont favorables, mais le cycle évolutif est fortement prolongé par temps froid, comme c'est le cas pour tous les insectes ravageurs des grains (ANONYME, 1955).

Dans des conditions optimales (environ 30-35°C), la population du *Tribolium* sera multipliée par 60 en 28 jours (ANONYME, 2001). La longévité de cet insecte peut atteindre deux ou trois ans.

En absence d'alimentation, *T. confusum* exerce le cannibalisme, dévore les œufs et les larves de leurs congénères (STEFFAN in SCOTTI, 1978).

6 - Régime alimentaire et dégâts

Le *Tribolium* recherche surtout les denrées amylacées pulvérulentes comme la farine, le son, les issues... etc. (LEPESME, 1944). Les adultes sécrètent une odeur persistante et désagréable aux produits alimentaires envahis. La substance émise affecte les propriétés de la pâte faite avec de la farine contaminée, cette substance est irritante pour l'homme et elle peut causer des désordres gastriques (ROGER, 2002).

D'après STEFFAN (in SCOTTI, 1978), les adultes sont très polyphages, ce sont des cléthrophages secondaires, car les larves et les adultes se nourrissent surtout de brisures, elles attaquent les grains endommagés, escortent souvent les charançons ou parachèvent leurs dégâts.



Figure 5 : Dégâts de *T. confusum* sur la semoule commerciale (original, 2017).

7 - Les ennemis naturels

Selon LEPESME (1944), quelques arthropodes tendent à limiter l'activité des *Tribolium* en particulier les acariens et Béthylides :

Les acariens :

Pyemotes ventricosus Newp = (*Pediculoides ventricosus* Newp).

Acarophenax tribolii Newp.et Duv.

Les Béthylides : (Ordre : Hyménoptère)

Rhabdepyris zea Turn.et Waterst,

Scleroderma immigrans Bridw qui parasite les larves.

Chapitre II: Présentation du romarin

1 - Origine et définition

Le romarin est une plante des coteaux arides, garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne et même un peu plus au Sud, jusqu'aux confins sahariens (BOULLARD, 2001).

Le nom de la plante provient du latin *Rosmarinus* qui signifie « rosée de la mer », cette appellation pourrait s'appliquer au parfum de la plante, à la couleur de sa fleur ou même à sa prédilection pour le littoral ; *officinalis* rappelle les propriétés médicinales de la plante (BENISTON *et al.*, 1984 ; ROLET, 1930 ; BACON *et al.*, 2013).

2 - Répartition géographique

Le romarin est du sud de l'Europe (BACON *et al.*, 2013), notamment les régions côtières de la mer méditerranée : l'Espagne, le sud de la France, l'Italie, la Grèce, la Turquie, le Maghreb (du Maroc à la Tunisie), ainsi que la région du Caucase (TEUSCHER *et al.*, 2005).

Le romarin est une plante spontanée qui pousse sur les côtes méditerranéennes (POLETTI, 1982). On le trouve en Espagne, en Italie, en Grèce, en Asie (PELIKAN, 1986). Il est rencontré également dans le maquis corse avec les Myrtes et jusqu'en Afrique du Nord dans les lieux secs et chauds (PERROT, 1928 ; 1947).

En Algérie, on le trouve sur les coteaux arides et les collines (DELILLE, 2010), c'est l'une des plantes les plus populaires puisqu'elle se rencontre dans tous les jardins et les parcs (BENISTON *et al.*, 1984).

3 – Classification

Selon ANTON et LOBSTEN (2005), le romarin appartient au :

Règne.....Végétal

Embranchement.....Spermatophytes

Sous embranchement..... Angiospermes

ClasseDicotylédones

Ordre Lamiales

FamilleLamiacées

Genre..... *Rosmarinus*

Espèce.....*Rosmarinus officinalis*



Figure 6 : plante du romarin (Originale, 2017).

4 - Description

Le romarin est un arbuste de la famille des Lamiaceae (CECCHINI *et al.*, 2008), très odorant et qui pousse à l'état sauvage ou cultivé. Il est xérophyte, toujours vert, fortement rameux (TEUSCHER *et al.*, 2005) et très feuillu, sa taille peut varier de 60 cm à 2 m (AÏT YOUSSEF, 2006). Il a une odeur aromatique forte, agréable et faiblement camphrée, il évoque le pin (ANTON et LOBSTEN, 2005).

a- La racine

La racine du romarin est pivotante, ligneuse et fibreuse (ANTON et LOBSTEN, 2005).

b- La tige

La tige du romarin est ligneuse, généralement érigée, pouvant atteindre jusqu'à 2 m de haut (ANTON et LOBSTEN, 2005).

c - La feuille

Les feuilles sont opposées et sessiles ; elles sont persistantes, coriaces, entières et de forme linéaire, étroitement lancéolées, faisant 2 à 3 cm de long sur 1 à 2 mm de large ;

elles sont gaufrées et leurs bords sont reliés en dessous (feuilles enroulées sur les bords, dites « à marge révolutée » ; leur face supérieure est chagrinée et elles sont de couleur vert foncé, et leur face inférieure est de couleur blanchâtre (AÏT YOUSSEF, 2006). Elles sont vert et chagrinées au dessus, blanchâtres et cotonneuses en dessous, roulées en dessous par les bords (BOULLARD, 1988). Elles mesurent 2 à 3,5 cm de long sur 1 à 3 mm de large (BOSSARD et CUISANCE, 1984).

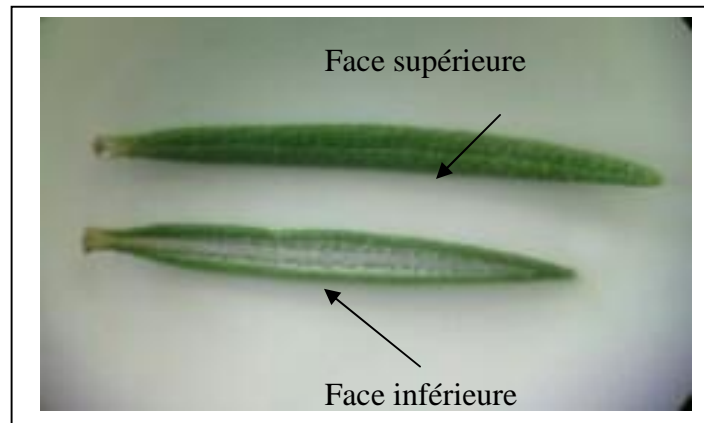


Figure 7 : Aspect morphologique de la feuille de romarin (Originale, 2017).

d- la fleur

Les fleurs sont regroupées en petites grappes axillaires terminales, disposées à l'aisselle des feuilles (TEUSCHER *et al.*, 2005). Ils sont de couleur bleu mauve, sous forme de grappes symétriques, avec un petit calice en de cloche à trois dents ; la corolle est longue et carénée (KOUBISSI, 1998).

e - Le fruit

Le fruit est un tétrakène lisse et globuleux, brun foncé et de 2,3 mm de long (SPICHIGER *et al.*, 2004 ; TEUSCHER *et al.*, 2005).

5 - La récolte

Le romarin fleurit de janvier jusqu'à l'automne. C'est presque toute l'année que l'on peut en faire la cueillette. Toutefois, la meilleure période de la distillation s'étend de mai à juillet et même jusqu'à septembre (PERROT, 1928). La parfumerie demande la plante entière fleurie, coupée par temps chaud et sec. Les rameaux odorants doivent être aussitôt livrés à la distillerie (ANONYME ^b, 2006).

6 - La conservation

Selon ANTON et LOBSTEN. (2005), les feuilles ou les parties aériennes fraîches peuvent être conservées quelques jours au réfrigérateur, emballées dans un sachet plastique au congélateur, hachées et mélangées avec un peu d'eau.

Les parties aériennes sèches se conservent quelques années au frais, conditionnées dans des récipients hermétiques, (en porcelaine, en verre ou en métal). Ces récipients les protègent contre l'humidité et la lumière (perte d'arôme faible). Une fois pulvérisé, le pouvoir aromatique du romarin décroît rapidement (ANONYME, 2000).

7 – Utilisation

Il est cultivé depuis l'antiquité comme plante aromatique, médicinale et condimentaire. Il symbolisait l'amitié, l'amour et la fidélité (BARTELT, 1998).

Le romarin est souvent cultivé pour son huile essentielle. Dans la médecine traditionnelle, ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique. Les fumigations de romarin sont indiquées pour calmer les maux de dents (BELLAKHDAR, 1997).

Le romarin stimule la circulation cérébrale, améliore la concentration et la mémoire. Il soulage également la migraine, le rhumatisme, la fatigue et la fièvre. Il favorise la poussée des cheveux en stimulant l'irrigation du cuir chevelu (CECCHINI *et al.*, 2008).

Il a été observé dans les pratiques empiriques que les agriculteurs introduisaient souvent dans les greniers des plantes aromatiques, tel que le romarin issues de la pharmacopée locale, pour protéger les graines entreposées (SANON *et al.*, 2002).

Les végétaux produisent des composés secondaires (terpènes, composés soufrés, phénols, souvent considérés comme étant un moyen de défense de la plante contre divers organismes déprédateurs (AUGER *et al.*, 1999). L'utilisation de ces substances végétales en tant que biopesticides dans la protection des graines de légumineuses ou céréales stockées contre les insectes a fait l'objet de nombreuses études notamment en zone tropicale (ARTHUR, 1996).

Chapitre III: Les huiles essentielles

1 - Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés odorants, volatils et lipophiles (TEUSCHER *et al.*, 2005) d'origine végétale obtenus par entraînement à la vapeur d'eau (cas général). Généralement ce sont des liquides, à la température ordinaire, d'odeur aromatique forte. Elles sont très peu solubles dans l'eau et sont solubles dans les solvants organiques apolaires usuels et dans les alcools de titre élevé (GHESTEM *et al.*, 2001).

2- Répartition

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, selon Lawrence, 17 500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, exemple : Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae,...etc (BRUNETON, 1999).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs (bergamotier, tubéreuse), feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier noble), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal), rhizomes (curcuma, gingembre), fruits (toute épice, anis, badiane), et graines (muscade) (BRUNETON, 1999).

3- Composition chimique des huiles essentielles

Selon BRUNETON (1987), la composition chimique d'une huile essentielle est assez complexe et chaque classe chimique est étroitement liée à une réponse thérapeutique précise.

Les composés aromatiques ne sont pas immuables pour une même plante aromatique. L'ensoleillement, la latitude, l'altitude, la nature et la composition de sol peuvent influencer la biosynthèse végétale. Pour différencier dans une même espèce cette variation chimique, on utilise le terme de chémotype ou race chimique (ANONYME, 2006 b).

4- Composition chimique des huiles essentielles du romarin

Selon BELLAKHDAR (1997), l'huile essentielle du romarin (1 à 2% dans la plante) contient, selon la provenance : de l' α -pinène (de 7 à 80 %), de la verbénone (1 à 37 %), du camphre (1 à 38 %), de l'eucalyptol (1 à 35 %) du bornéol (4 à 19 %), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène. On y trouve aussi parfois du β -carène, du caryophyllène, du α -pinène, de l' α -terpinéol, du géraniol et du myrcène.

On distingue, en fonction de la composition de l'huile essentielle, quatre chimiotypes :

1. type à eucalyptol ;
2. type à camphène / bornéol ;
3. type à -pinène et verbénone ;
4. type à myrcène.

5- Distillation des huiles essentielles du romarin

Selon ROLET (1930), l'huile essentielle du romarin se distille toute l'année, mais la meilleure période, par rapport au rendement, est celle allant de mai à septembre. Il ne faut pas laisser sécher les épis. Les feuilles donnent une essence supérieure à celle des fleurs.

6- Méthodes d'extraction des huiles essentielles du romarin

Différentes méthodes sont utilisées pour l'extraction des huiles essentielles du romarin. Les principales procédures d'isolation sont l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau (ANONYME, 2006_b).

A - Hydrodistillation

Selon BRUNETON (1999), l'hydrodistillation est la méthode la plus fréquemment utilisée. Elle permet d'isoler les huiles essentielles à l'état pur et de fournir de meilleurs rendements. Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou grossièrement broyé) dans de l'eau qui est portée à ébullition. Cette solution aqueuse diffuse à travers les membranes cellulaires et une fois arrivée à la surface, l'huile est immédiatement volatilisée. Cette vapeur est ensuite condensée et l'huile récupérée par décantation. Ce processus continue jusqu'à l'extraction totale des huiles existantes dans les cellules.

B - Distillation à la vapeur d'eau

Trois cuves sont reliées entre elles par de minces tubes. La première cuve reçoit de l'eau et la seconde les plantes. L'eau est progressivement chauffée et la vapeur passe dans la cuve contenant les plantes. La vapeur circule à travers les plantes et se charge des principes actifs. Puis elle s'échappe par un long tuyau fin en forme de serpentin qui baigne dans un récipient d'eau froide. La vapeur, ainsi refroidie, se condense en gouttelettes et arrive dans la troisième cuve (l'essencier). Les huiles essentielles étant plus légères que l'eau, il suffit de les récupérer en surface, tandis que l'eau qui se trouve en dessous sera utilisée pour créer des eaux florales et des hydrolats (ANONYME, 2002).

7 - Contrôle de qualité

L'accroissement important des huiles essentielles dans des domaines divers des activités humaines, pharmacie, parfumerie, cosmétiques, aromathérapie, alimentation et industrie des boissons, a provoqué une demande extensive réalisable pour les analyses des huiles essentielles. Ces exigences ont été satisfaites par la chromatographe en phase gazeuse (CPG) couplée à un spectromètre de masse (CPG-SM) (BURT, 2004).

Selon la pharmacopée française et européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants (PIBIRI, 2005).

L'analyse par la CPG est la méthode la plus adaptée pour le contrôle des huiles essentielles, compte tenu de la volatilité des constituants (BAKKALI *et al.*, 2008 ; BRUNETON, 1999), de la facilité de la mise en œuvre et du temps d'analyse assez court (BRUNETON, 1999). La meilleure carte d'identité quantitative et qualitative d'une huile essentielle reste cependant le « profil chromatographique » en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés (PIBIRI, 2005).

La possibilité de coupler le chromatographe à un spectromètre de masse (SM) augmente considérablement la qualité et la quantité des informations obtenues. En CPG-SM, la comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec un ou plusieurs "bibliothèques" de références permet son identification (BRUNETON, 1999).

Une huile essentielle pure et naturelle est caractérisée par sa composition strictement « végétale », contrairement aux essences synthétiques ou « identiques naturelles » intégralement reconstituées à partir de composés chimiques de synthèse (PIBIRI, 2005).

8- Rôles écologiques

D'après RICHTER (1993), les huiles essentielles jouent plusieurs rôles écologiques :

- Interaction plante-plante (inhibition de la germination et de la croissance) ;
- interaction plante-animal, pour leur protection contre les prédateurs (insectes, herbivores, champignons, micro-organismes) ; attraction des insectes pollinisateurs.

9- Utilisation des huiles essentielles en tant que biopesticides.

L'utilisation répandue des insecticides synthétiques a mené à beaucoup de conséquences négatives (résistance aux insecticides, toxicité sur la faune auxiliaire, problèmes de résidus, pollution environnemental) ayant pour résultat l'attention croissante donnée aux produits naturels (ISMAN, 2005).

Les plantes peuvent fournir des solutions de rechange potentielles aux agents actuellement utilisés contre les insectes parce qu'elles constituent une source riche en produits chimiques bioactifs. Beaucoup d'efforts ont été donc concentrés sur les matériaux dérivés de plantes pour les produits potentiellement utiles en tant qu'agents commerciaux de lutte contre les insectes (KIM *et al.*, 2003). Les plantes aromatiques sont parmi les insecticides les plus efficaces d'origine botanique et les huiles essentielles constituent souvent la fraction bioactive des extraits de plantes (SHAAYA *et al.*, 1997).

10- Toxicité des huiles essentielles du romarin

Selon BRUNETON (1999), les huiles essentielles peuvent aussi être toxiques à des doses élevées. Ainsi, celle du romarin est cholérétique, diurétique et provoque une action spasmodique due principalement au bornéol.

Pour ANTON et LOBSTEN. (2005), aucune toxicité aiguë ou chronique n'a été signalée pour l'emploi des huiles essentielles du romarin (jusqu'à 20 gouttes par jour).

Selon ROGER *et al.* (2002), l'huile essentielle du romarin contient des cétones (risque neurotoxique et abortif). Elle ne doit être pas utilisée en cas de grossesse, pour les sujets épileptiques, les femmes allaitantes et les bébés.

11- Activité insecticide des huiles essentielles

De multiples travaux ont été réalisés dans notre laboratoire d'entomologie de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université de Tizi-Ouzou, sur l'activité insecticide des huiles essentielles de différentes plantes aromatiques à l'égard des principaux insectes ravageurs des denrées stockées, à savoir :

- Les travaux de KELLOUCHE et SOLTANI (2004) sur l'activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elles sur *Callosobruchus maculatus*.

- ceux de KELLOUCHE *et al.* (2010) sur l'activité biologique de dix huiles essentielles contre le coléoptère, *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidae) ;
- L'étude réalisée par (HEDJAL- CHEHHEB *et al.* (2013) sur la composition de l'huile essentielle de six conifères et leur Activité biologique contre la bruche du niébé, *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidae).
- L'étude menée par TOUDERT-TALAB *et al.* (2014) sur la composition des huiles essentielles extraites de six plantes aromatiques originaires de Kabylie (Algérie) et évaluation de leur bioactivité sur *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera; Bruchidae).
- Les travaux de HAOUEL HAMDI *et al.* (2015) sur la gestion des souches de population de trois ravageurs (*Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica*, et *Callosobruchus maculatus*) en provenance de Tunisie et d'Algérie utilisant des huiles essentielles d'Eucalyptus.

Selon ROGER *et al.* (2002), les huiles essentielles du romarin exercent un effet protecteur sur les graines de légumineuses, elles provoquent la mort de l'insecte ravageur en inhibant sa reproduction.

Dans certains cas, l'utilisation des huiles essentielles dans le domaine phytosanitaire peut s'avérer délicate en raison de la multiplicité des profils photochimiques qu'elles présentent (ROGER *et al.*, 2002).

12- Conservation des huiles essentielles

L'instabilité relative des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation délicate (BRUNETON, 1993). Trois facteurs interviennent dans l'altération des huiles essentielles :

- **La température** : obligation de stockage à basse température (entre 8 et 25°C).
- **La lumière** : stockage à l'obscurité et dans un récipient opaque, brun de préférence.
- **L'oxygène** : les flacons doivent être entièrement remplis et fermés de façon étanche, il est possible de recourir à l'adjonction d'antioxydants. La durée de conservation admise est de 2 à 5 ans.

Deuxième partie: Expérimentation

Chapitre IV: Matériels et méthodes

1 .Objectif

Le but de l'essai est d'évaluer l'activité insecticide par inhalation de deux huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (importée et locale) contre les adultes d'un insecte ravageur des denrées stockées, *Tribolium confusum* (Coleoptera : Tenebrionidae).

2 - Matériels et Méthodes

La partie expérimentale de ce travail à été réalisée au laboratoire d'entomologie appliquée de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomique de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, durant la période allant de 17 Octobre 2016 au 15 Mai 2017.

2-1- Matériels de laboratoire

Pour les différentes expériences réalisées, nous avons utilisé plusieurs outils et appareils (Figure 8) :

- Des bocaux en verre utilisés pour l'élevage de masse de *T. confusum* .
- Un étuve réfrigérée réglée à une température de 30 ± 1 °C et une humidité relative de 70 ± 5 %, qui correspondent aux conditions optimales du développement de *T. confusum*.
- Pour le dosage des huiles essentielles nous avons utilisé une micropipette de 4 à 16 μ l.
- Des flacons en plastique de 4 cm de diamètre et de 6.5 cm de hauteur utilisées dans le test par inhalation.
- Un appareil d'hydrodistillation, de type Clevenger, utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle de romarin.
- Ampoule à décanter pour la séparation de l'eau et l'huile essentielle.
- Une balance électrique pour peser les quantités de semoule utilisée pour les tests.
- Une pipette de 2 ml pour mesurer la quantité d'huile essentielle extraite.
- Un autre type de matériel utilisé comme accessoires tels que un pinceau, un tamis, un rouleau adhésif, des étiquettes, des boîtes de Pétri en plastique, une loupe binoculaire pour les observations, des épingles, des ciseaux, du papier aluminium, des béchers, une éprouvette graduée....etc.



Figure 8 : Matériels utilisés au laboratoire (Originale, 2017).

2-2 - Matériels biologiques

2-2-1- Matériel animal

La souche de *T. confusum* est composée d'adultes qui proviennent des élevages de masse réalisés avec de la semoule (Figure 9). Ils sont placés dans des bocaux en verre d'une capacité variable.

Afin d'éviter le phénomène de surpopulation, nous avons procédé à un transfert régulier des adultes dans de nouveaux bocaux, permettant ainsi d'assurer de nouvelles infestations.

Nous avons utilisé dans nos essais des adultes d'âge connu (7 jours), pour cela nous avons réalisé des tamisages réguliers pour récupérer de nouveaux individus.



Figure 9: Elevage de masse de *T.confusum* (Originale, 2017).

2-2-2-Matériels végétales

a- Substrat d'élevage

Nous avons utilisé de la semoule comme substrat alimentaire dans l'élevage de masse ; celle-ci provient du marché local et n'est pas infestée. Elle est préalablement conservée dans le réfrigérateur pendant toute la période expérimentale.

b- La plante testée

Le matériel végétal utilisé dans cette étude correspond à des feuilles de *Rosmarinus officinalis*. La récolte s'est faite par échantillonnage au hasard sur le terrain du jardin de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (campus Bastos), aux mois d'octobre et décembre 2016.

Les échantillons récoltés sont séchés à l'ombre, afin d'éviter l'altération des principes actifs par la lumière. Ils sont conservés jusqu'à l'extraction de l'huile essentielle (Figure 10).

a- Les huiles essentielles

Nous avons utilisé de deux huiles essentielles de romarin dans le test d'inhalation: l'huile essentielle de provenance local et d'importation (France).



Figure 10 : Les feuilles de romarin séchées (Originale, 2017).

2-3 –Protocole expérimentale

2-3-1- Méthode d'extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle du romarin a été réalisée au niveau du laboratoire d'entomologie de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques par hydrodistillation. Le protocole d'extraction est le suivant:

- 130g la matière séchée sont pesés et mis dans un ballon de 2000 ml. La matière végétale est ensuite immergée d'eau distillée au deux tiers du ballon, celle-ci est ensuite déposée dans un chauffe-ballon avec thermostat connecté à un tube réfrigérant.

Au bout d'une demi-heure de chauffage régulier, commence l'évaporation. Les vapeurs chargées d'huile sont récupérées dans un flacon opaque. la durée de distillation est de 2 heures (Figure 11).

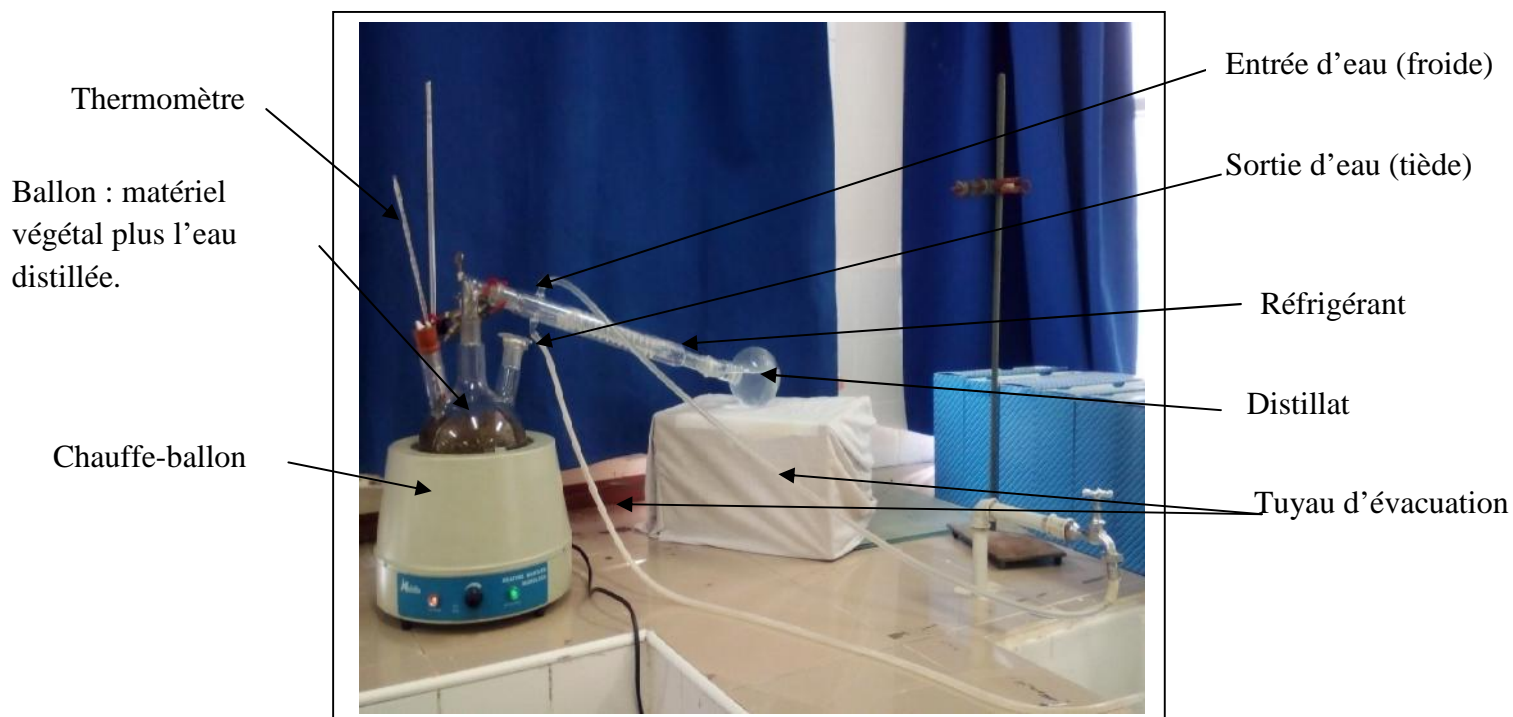


Figure 11 : Appareillage d'hydrodistillation (Originale, 2017).

2-3-2- La Méthode de décantation

L'huile essentielle (phase surnageante) est séparée de l'eau par décantation (différence de densités) (Figure 12). Elle est conditionnée dans des flacons en verre opaques, hermétiquement fermés pour éviter tout risque d'altération. Les flacons remplis d'huile essentielle sont conservés jusqu'à l'utilisation dans l'expérimentation dans un réfrigérateur.

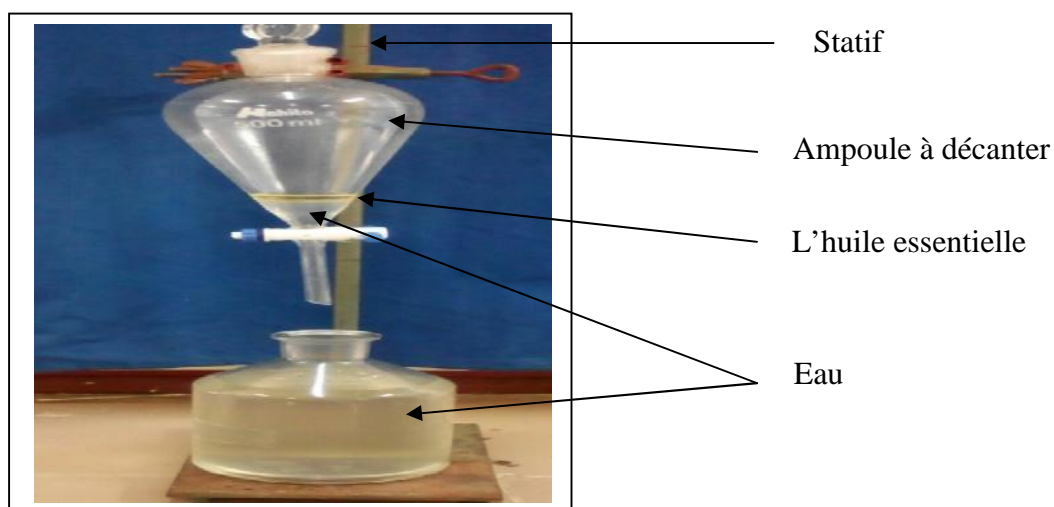


Figure 12: Processus de décantation et de récupération des huiles essentielles (Originale, 2017).

2-3-3- Calcul du rendement en huile après extraction

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée.

$$R_{EH} = \frac{M}{M_0} \times 100$$

Où :

R_{HE} : désigne le rendement de l'extraction en huile essentielle en %.

M : désigne la masse de l'huile essentielle en g.

M_0 : désigne la masse de la matière végétale utilisée en g.

2-3-4- Analyses par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG /MS) :

Après l'extraction de l'huile essentielle de romarin par l'hydrodistillation, la séparation des composés a été faite par la chromatographie en phase gazeuse avec l'utilisation de produits étalons et de données de rétention pour leur identification, au niveau du laboratoire de Technologie Alimentaire de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach.

Les analyses chromatographiques ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse à régulation électrique de pression, de type Chrompack CP 9002, équipé d'une colonne capillaire en silice fondue de type DB-5 de 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre et 0,25 μ m d'épaisseur de film, d'un détecteur à ionisation de flamme réglé à 280 °C et alimenté par un mélange de gaz H₂/air et d'un injecteur split splitless réglé à 250 °C. On l'introduit à l'aide d'une microsiringue, sous un volume inférieur à 0,2 μ l avec rapidité.

Le gaz vecteur est l'azote à 1 ml/min. Le mode d'injection est split (rapport de fuite de 1/50, débit de fuite 66 ml /mn). La température de la colonne est programmée de 50°C (3 mn) à 250 °C/ mn, puis est maintenue à 250°C pendant 10 mn (Figure 13).

Les résultats des analyses de deux huiles essentielles sont présentés sous forme de chromatogrammes à l'aide d'un enregistreur (Figure 14).



Figure 13: Appareil de l'analyse chromatographique (Originale, 2017).



Figure 14 : Appareil enregistreur (Originale, 2017).

2-3-5 -Mode opératoire

a- Tests d'ihalation sur les adultes

Ce test consiste à évaluer l'effet de deux huiles essentielles de provenance local et d'importation (France).

Les doses utilisées sont : 0 μ l, 4 μ l, 8 μ l et 16 μ l. Pour chaque dose nous avons varié la durée d'exposition : 24h, 48h, 72 h et 96 h. Quatre répétitions sont réalisées pour chaque dose (R_1 , R_2 , R_3 et R_4), y compris pour le témoin (sans traitement).

Pour chaque essai, nous avons utilisé des flacons stériles contenant 3 g de semoule commerciale, plus 20 adultes du *Tribolium* âgés de 7 jours.

Une dose d'huile essentielle est déposée sur un demi- cercle de papier filtre de 2,5 cm de diamètre , suspendu à un fil fixé à la face interne du couvercle du flacon stérile qui sera ensuite fermé rapidement et hermétiquement (Figure 15).

La mortalité des insectes est déterminée après un temps de traitement variant de 24 à 96 h .



Figure 15: Dispositif expérimental du Test par inhalation (Originale, 2017).

2-3-6- Analyses statistiques

Les résultats obtenus ont été soumis aux tests de l'analyse de la variance à trois critères de classification, les variables dont les analyses statistiques montrent une différence significative ont subi le test de NEWMAN et KEULS, au seuil $P = 5 \%$ (logiciel statistica version 7).

$P > 0,05$: différence non significative.

$P = 0,05$: différence significative.

$P = 0,01$: différence hautement significative.

$P = 0,001$: différence très hautement significative

Chapitre V: Résultats et discussion

I. Résultats

1 - Résultats du rendement de l'extraction en huile essentielle

Après l'opération d'extraction, nous avons obtenu un rendement en huile essentielle de 0,669 % pour le romarin local, les résultats sont représentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Résultats de rendement de l'huile essentielle du romarin local.

Masse de la matière séchée en (g)	Masse de l'HE obtenue en (g)	Rendement d'HE en (%)
1500	10.04	0.669

2 - Résultats des analyses par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG /MS).

Les résultats des analyses des huiles essentielles du romarin local et du romarin importé sont présentés sous forme de chromatogrammes. Le chromatogramme de chaque huile essentielle comporte plusieurs pics : 26 pics pour le romarin local (Figure 16, annexe n°1) et 18 pour romarin importé (figure 17, annexe n°2).

Les deux huiles essentielles ont une même composition chimique, mais on observe une différence entre la teneur (en %) de leurs composés (Tableaux 2 et 3).

Le tableau 2 montre que 88,84 % de la totalité de huile essentielle du romarin local ont été quantifiés, où 31,72 % sont représentés par l' - pinène et 12,93 % correspond à la teneur du verbénone, suivi du camphre (12,20 %), du camphène (5,45 %), du limonène (5,23 %), du p.cymène (3.37 %), et du bornéol (3,14 %). Ces composés sont les constituants majoritaires de cette huile.

Tableau 2 : Analyse qualitative et quantitative de l'HE du romarin local par GC-MS.

Nom du composé	Teneur %
- thujène	0,21
- pinène	31,72
Camphène	5,45
Verbenène	0,88
-pinène	0,50
Myrcène	1,15
-phelladrene	0,12
-terpinène	0,35
P.Cymène	3,37
Limonène	5,23
L'Eucalyptol ou 1-8 cinéole	0,24
□- terpinène	0,32
Terpinolène	0,86
Linalol	5,13
I-Campholène	1,32
Camphre	12,20
Bornèol	3,14
-Terpenèol	1,53
4-Terpineol	1,50
Verbenone	12,93
Bornyl Acetate	0,58
Thymol	0,06
Eugénol	0,05
Total	88,84

Le tableau 3 montre que 95,92% de la totalité de huile essentielle du romarin importé ont été quantifiées où 48,35 % sont représentés par l'eucalyptol, ou 1-8 cinéole, et 12,65 % correspondent à la teneur de l' -pinène, viennent ensuite le camphre (9,93%), le -pinène (5,58 %), le camphène (9,49%), le verbènone (3,19%) et le limonène (2,39 %). Ces composés sont les constituants majoritaires de cette huile.

Tableau 3 : Analyse qualitative et quantitative de l'HE du romarin importé par GC-MS.

Nom du composé	Teneur %
- thujène	0,26
- pinène	12,65
Camphène	3,49
Verbenène	Trace
-pinène	5,58
Myrcène	1,49
-phelladrène	Trace
α -terpinène	0,52
P.Cymène	1,42
Limonène	2,39
L'eucalyptol ou 1-8 cinéole	48,35
□- terpinène	0,95
Terpinolène	0,35
Linalol	0,74
I-Campholène	Trace
Camphre	9,93
Bornéol	2,23
4-Terpineol	0,62
-Terpinéol	0,62
Verbenone	3,19
Bornyl Acetate	0,74
Thymol	Trace
Eugénol	Trace
Total	95,92

3 -Résultats des tests d'inhalation avec les huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis* (local et importé).

Les résultats révèlent qu'il y a une différence hautement significative pour le facteur étudié (huile) ($P = 0.0167$).

L'effet du romarin importé sur la mortalité des adultes de *T. confusum* est plus important que celui obtenu avec le romarin local (respectivement 4.72 et 3.86) (Tableau 4).

Tableau 4 : nombre moyen d'individus morts ($n = 20$) (\pm écart-type) pour le facteur l'huile essentielle.

F1	romarin local	romarin importé
moyenne \pm écart-type	3,86 \pm 2,67	4,72 \pm 1,79
Probabilité	0,0167	

Le tableau 5 montre qu'il y a une différence très hautement significative pour le facteur dose (F3) ($P = 0.0000$).

L'effet de la dose sur la mortalité des adultes de *T. confusum* est très significatif, à 16 μ l, la mortalité est de 10.63 (Tableau5).

Tableau 5 : nombre d'individus morts chez les adultes de *T. confusum* (\pm écart-type) selon le facteur dose.

Doses (F3)	0 μ l (témoin)	4 μ l	8 μ l	16 μ l
Moyenne \pm écart- type	0,41 \pm 0,55	2,19 \pm 1,74	3,94 \pm 2,77	10,63 \pm 3,38
Probabilité	0,0000			

Les résultats révèlent qu'il y'a une différence très hautement significative pour l'interaction des deux facteurs étudiés (huile et dose) ($P= 0.0000$).

L'effet du romarin importé sur la mortalité des adultes de *T. confusum* est relativement plus important que celui obtenu avec le romarin local.

A la dose 16 μ l, la mortalité des adultes de *T. confusum* est de 12.50 pour le romarin importé et de 8.75 pour le romarin local, cependant ces résultats restent très supérieurs à ceux obtenus dans les lots témoins (0.31 ; 0.50) (Tableau 6).

Tableau 6 : nombre d'individus morts (a = 20) (\pm écart -type) selon les deux facteurs huiles et doses.

Doses	romarin local	romarin importé	Probabilité
0 μ l (témoin)	0,50 \pm 0,55	0,31 \pm 0,56	0.0000
4 μ l	3,13 \pm 3,32	1,25 \pm 0,95	
8 μ l	3,06 \pm 2,93	4,81 \pm 2,69	
16 μ l	8,75 \pm 3,97	12,50 \pm 2,81	

Les résultats obtenus montrent que les deux huiles essentielles testées ont une activité insecticide par inhalation vis-à-vis des adultes de *T. confusum* (figure18 et 19, tableau 7).

Un effet dose est observé dans tous les cas. L'activité varie selon les huiles essentielles utilisées. Le taux de mortalité varie de 6.25 % à 42.5 % pour le romarin local (Figure 18) et de 3.75 % à 87.5 pour le romarin importé (Figure 19).

L'effet insecticide le plus élevé est obtenu avec le romarin importé, comparativement au romarin local. Le taux de mortalité le plus élevé est de 87.5 %, à la dose 16 μ l et après 96 heures d'exposition pour le romarin importé (figure 19, tableau 7).

Le taux de mortalité est de 42.5 %, à la plus forte dose (16 μ l) et à 48 h, 72 h et 96 h d'exposition pour le romarin local (figure18, tableau 7).

Tableau 7 : Nombre d'individus morts chez les adultes de *T. confusum* traités par inhalation (moyenne \pm écart- type) avec les deux huiles essentielles à différentes doses (μl) et à quatre temps d'exposition (h).

Type d'huile	Doses (μl)	Temps d'exposition (h)			
		24	48	72	96
HE de romarin local	0	0,50 \pm 0,58	0,75 \pm 0,96	0,75 \pm 0,50	0,00 \pm 0,00
	4	1,50 \pm 1,00	2,75 \pm 1,71	7,00 \pm 4,69	1,25 \pm 0,96
	8	2,00 \pm 0,82	1,50 \pm 1,00	5,50 \pm 5,52	3,25 \pm 2,50
	16	5,00 \pm 2,94	8,50 \pm 4,51	8,50 \pm 4,43	13,00 \pm 5,48
H Ede romarin importé	0	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,25 \pm 0,50	1,00 \pm 1,15
	4	1,25 \pm 1,26	0,75 \pm 0,50	1,50 \pm 1,29	1,50 \pm 1,00
	8	2,25 \pm 1,71	4,50 \pm 1,29	7,00 \pm 4,55	5,50 \pm 3,32
	16	9,25 \pm 4,03	10,25 \pm 1,71	13,00 \pm 3,83	17,6 \pm 2,38

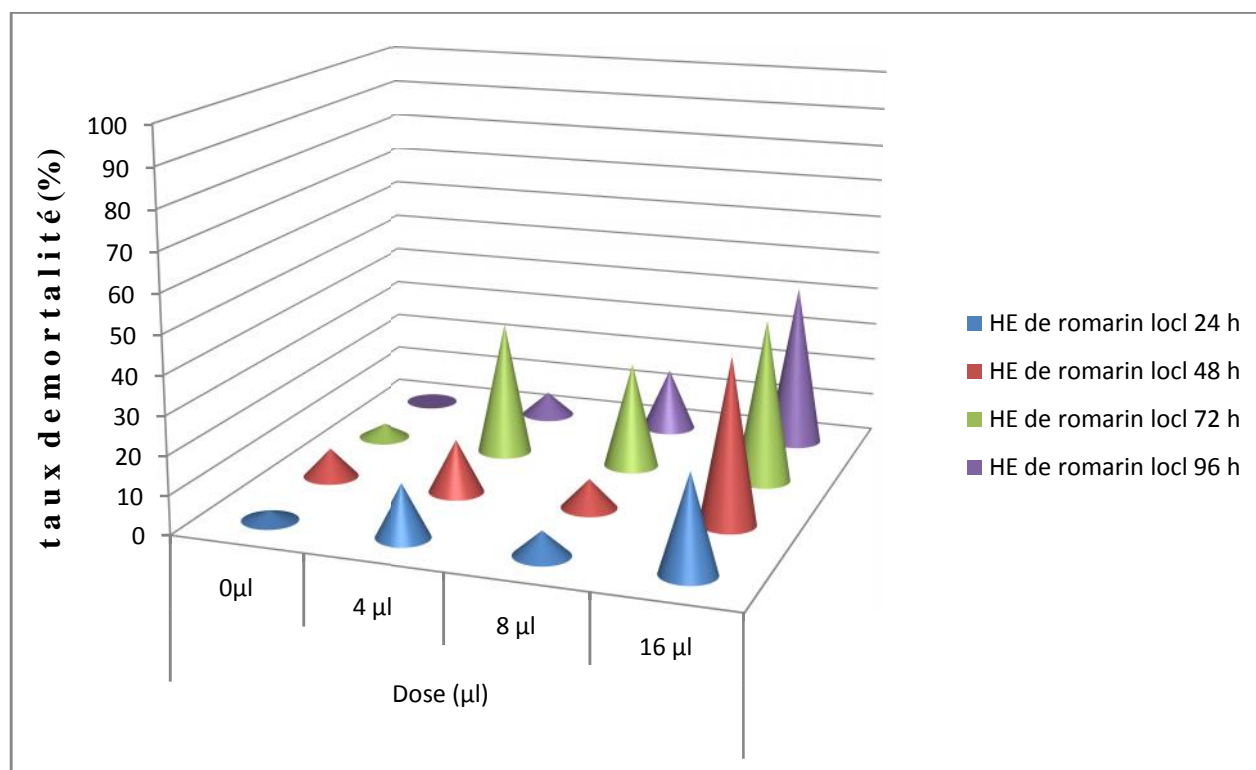
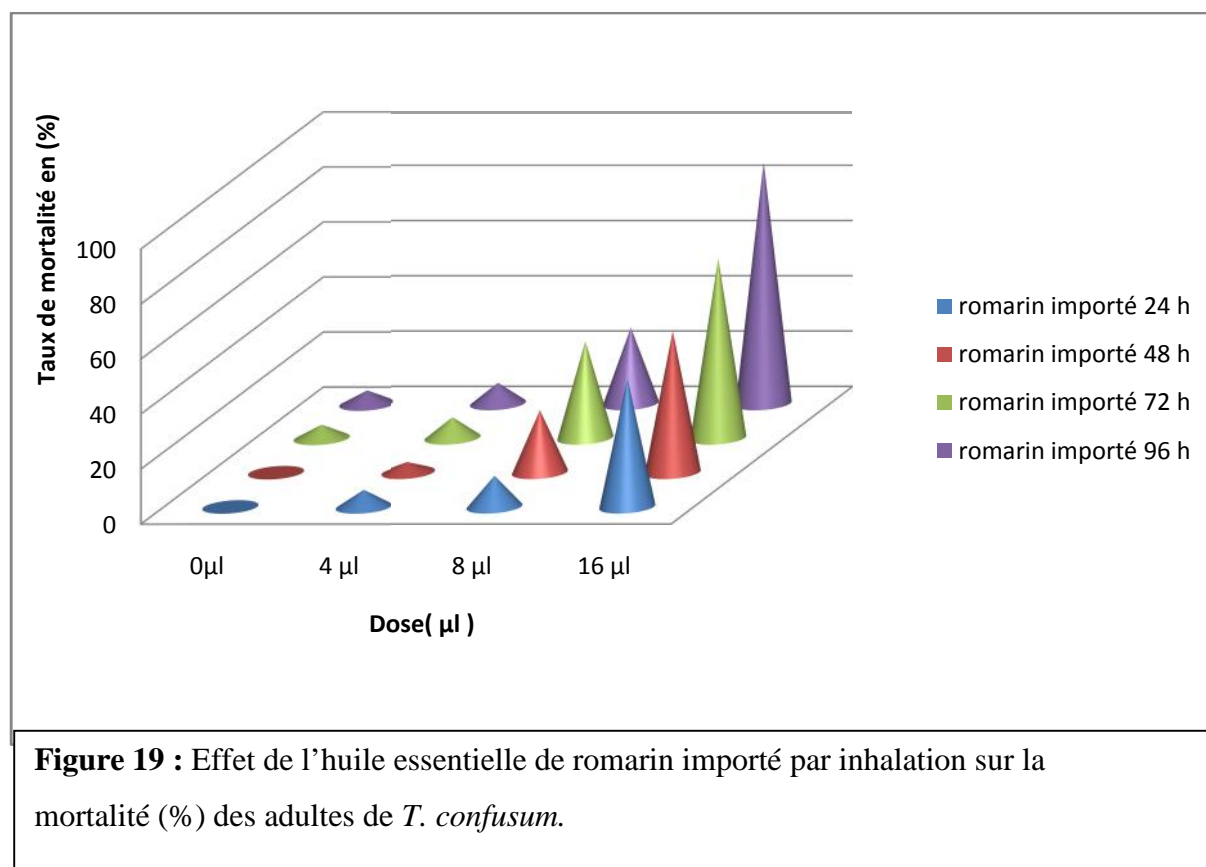


Figure 18 : Effet de l'huile essentielle du romarin local par inhalation sur la mortalité (%) des adultes de *T. confusum*.



Les résultats de l'analyse de variance ont montré un effet très hautement significatif pour le facteur temps ($F=7.96$; $P=0.0001$; $DDL=3$) pour le facteur dose ($F= 88.02$; $P=0.0000$; $DDL=3$) , pour l'interaction des deux facteurs $F1*F3$ ($F=6.53$; $P=0.0005$; $DDL=3$) et pour l'interaction des deux facteurs $F2*F3$ ($F=3.57$; $P=0.0008$; $DDL=9$) et un effet non significatif pour le facteur huile ($F= 3.26$; $P=0. 0704$; $DDL=1$), pour l'interaction des deux facteurs $F1*F2$ ($F=0.80$; $P= 0.4992$; $DDL=3$) et pour l'interaction des trois facteurs $F1*F2*F3$ ($F= 0.71$; $P=0.7025$; $DDL=9$) (Annexe 3, tableau 8).

Le test de Newman et Keuls, au seuil de signification 5%, classe le facteur doses en quatre groupes homogènes A, B, C, D. La dose 16 µl est la plus efficace, elle appartient au groupe A, avec une moyenne de 10.63, la dose 8 µl montre une efficacité moindre, et appartient au groupe B (3.93), alors que la dose 4 µl se retrouve dans le groupe homogène C et enfin nous avons la dose 0 µl appartenant au groupe D des lots témoins (Tableau 9).

Tableau 9: Résultats du test Newman et Keuls montrant l'effet des quatre doses des deux huiles essentielles testées par inhalation sur le nombre de morts chez les adultes de *T. confusum*.

F3	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
4	16 µl	10,63	A
3	8 µl	3,93	B
2	4 µl	2,19	C
1	0 µl (témoin)	0,41	D

Pour le facteur temps (F2), le test de Newman et Keuls fait ressortir deux groupes homogènes A et B : les temps de 72 h et de 96 h dans le groupe A (respectivement 5.44 et 5.38). Les temps de 48 h et 24 h sont classés dans le groupe B, avec une moyenne plus faible, avec respectivement, 3.63 et 2.72 (Tableau 10).

Tableau 10 : résultats du test de Newman et Keuls indiquant l'effet du facteur temps sur le nombre des adultes morts chez *T.confusum*.

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
3	72 h	5,44	A
4	96 h	5,38	A
2	48 h	3,63	B
1	24 h	2,72	B

Ainsi le test de Newman et Keuls classe les interactions des deux facteurs : huile essentielle *doses en six groupes homogènes. Les groupe A et B représentent une meilleure interaction avec une moyenne 12.5 entre l'huile essentielle du romarin importé et la dose 16 µl ; par ailleurs, nous avons obtenu un moyenne de 8.75 dans l'interaction entre l'huile essentielle du romarin local et la dose 16µl.

Le groupe homogène CD regroupe les interactions huile essentielle du romarin importé et la dose 4 µl et l'interaction de l'huile essentielle du romarin local avec des moyennes très proches (respectivement, 3.13 et 3.06) (Tableau 11).

Tableau 11 : Résultats du test Newman et Keuls indiquant l'effet de l'interaction de deux facteurs (huiles essentielles et doses) sur le nombre de morts chez les adultes de *T. confusum*.

F1	F3	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
2	4	roI - 16 μ l	12,5	A
1	4	rol - 16 μ l	8,75	B
2	3	roI - 8 μ l	4,81	C
1	2	rol - 4 μ l	3,13	CD
1	3	roL - 8 μ l	3,06	CD
2	2	roI - 4 μ l	1,25	DE
1	1	roL - 0 μ l	0,5	E
2	1	roI - 0 μ l	0,31	E

Le test de Newman et Keuls classe les interactions des deux facteurs, temps et doses, en huit groupes homogènes. La meilleure interaction est représentée dans le groupe A avec une moyenne de 15.25, entre 96h d'exposition et la dose 16 μ l. Le groupe homogène F regroupe les interactions avec des moyennes très proches et variant de 0.38% à 3% ; l'effet de ces interactions étant plus faible (Tableau12, Annexe 4).

II - Discussion

Le rendement en huile essentielle est de 0,669 %, il est conforme avec les résultats du FROUHAT et LAHCIN (2013), qui ont collecté du romarin au niveau de l'université Kasdi Merbah de Ouargla, ils ont utilisé la partie aérienne (tiges et feuilles) et l'huile essentielle est extraite par la technique de hydrodistillation, leur rendement a été égal à 0.76 %.

BRUNETON (1999) affirme que le rendement en huile essentielle de *R. officinalis* L. varie de 10 à 25 ml/kg.

La différence entre les teneurs des composés et le rendement de deux huiles essentielles du romarin peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, en effet selon BRUNETON (1987), les huiles essentielles obtenues peuvent varier quantitativement ou qualitativement selon l'espèce et à l'intérieur de la même espèce. Plusieurs facteurs peuvent influencer le rendement et la teneur de ces différents constituants (l'origine géographique, les conditions climatiques, la nature de sol ...etc.).

Les résultats de l'analyse GC/MS classent l'huile essentielle du romarin importé comme une huile essentielle contenant des concentrations élevées en 1-8 cinéol comparativement à l'huile essentielle du romarin local.

Selon BOUTEKDJIRET *et al.* (1998), il pourrait exister deux principaux types d'huiles essentielles du romarin : l'un ayant des concentrations élevées en 1-8 cinéol et l'autre est caractérisée par de faibles teneurs en ce même composé.

Les résultats obtenus montrent que l'effet insecticide des deux huiles essentielles testées sur *T. confusum* est significatif (Figure 18 et 19). Les tests par inhalation ont mis en évidence une mortalité des adultes variant en fonction des huiles essentielles utilisées, des doses et du temps d'exposition.

L'effet de l'huile essentielle du romarin importé sur la mortalité des adultes de *T. confusum* est plus important que celui du romarin local.

La figure 19 montre que, pour un temps de traitement allant de 24 h à 96 h, avec les doses 4 μ l et 8 μ l, le romarin importé est moins efficace, la mortalité a varié de 3.5 % à 35 %. Avec la dose de 16 μ l, cette huile a un effet plus important, la mortalité augmente de 46 % à 24 h jusqu'à 87.5 % après 96 h d'exposition.

Par contre, pour l'huile essentielle du romarin local, aux temps allant de 24 h à 48 h avec les deux doses (4 μ l et 8 μ l) la mortalité des adultes de *T. confusum* est inférieure à 36%. Cette huile essentielle reste moins efficace même avec l'augmentation de la dose jusqu'à 16 μ l, à 96 h d'exposition, la mortalité est inférieure à 45% (figure 18).

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par différents auteurs ayant mis en évidence l'activité biologique de nombreux extraits des plantes comme les huiles essentielles à l'égard des principaux ravageurs des grains stockés.

L'apparition d'une résistance aux insecticides chez les population du *Tribolium* est un problème mondial (CHAMP et DYTE, 1976) : des cas de résistance ont été détectés en Amérique (HALLIDAY *et al.*, 1988), ainsi qu'en Asie (SAXENA *et al.*, 1991) et en Australie (COLLINS, 1998).

En raison de la nature dangereuse des insecticides classiques de synthèse, qui sont relativement néfastes à l'homme, d'autres animaux et les organismes non visés, il est impératif d'évaluer des insecticides botaniques contre ces insectes nuisibles (JABILOU *et al.*, 2006).

TUNC *et al.* (2000) ont mis en évidence l'efficacité des huiles d'origan (*Oreganum synarum*), du romarin et d'eucalyptus qui réduisent la longévité de *T. confusum* et provoquent une mortalité variant de 77% à 89 % après 96 heures d'exposition.

Selon BENAZZADDINE (2010), l'huile essentielle du romarin et celle de la menthe verte provoquent une mortalité de 100%, après 24 heures de traitement sur *T. confusum*, par inhalation. Les mêmes pourcentages ont été enregistrés pour le thym et l'eucalyptus, après 120 heures, enfin, la citronnelle a donné des résultats ne dépassant pas 55%, après 144 heures d'exposition.

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, par ingestion et par fumigation a été bien démontré contre les déprédateurs des denrées entreposées dans plusieurs études. A titre d'exemple, EL- NAHL *et al.* (1989) avaient testé l'effet toxique des vapeurs de l'huile essentielle d'*Acorus calamus* L. de l'inde. Ils avaient trouvé que *Callosobruchus chinensis* L. était le plus sensible comparativement à *Sitophilus granarius* L, *Sitophilus oryzae* L., *Tribolium confusum* et *Rhyzoperta dominica* F., le facteur influençant l'efficacité des vapeurs était la durée d'exposition.

D'après TAPONDJOU *et al.* (2005), l'effet toxique d'*Eucalyptus saligna* a été mis en évidence à l'égard de *Sitophilus zeamais* et *T. confusum*, à la dose 0.36 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$.

Conclusion

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse, couplée à la spectrométrie de masse des deux huiles essentielles étudiées a révélé, chez le romarin local, que le composé majoritaire est l' pinène, alors que chez le romarin importé, c'est l' eucalyptol.

Les difficultés rencontrées dans le contrôle des populations des insectes ravageurs des grains stockés sont aggravées par les limites et les conséquences liées à l'utilisation des pesticides de synthèse.

Notre étude rentre dans le cadre de la recherche de solutions alternatives permettant de réduire les pertes occasionnées par ces insectes nuisibles.

Elle a été consacrée à l'évaluation des propriétés insecticides à l'égard d'un insecte ravageur des grains stockés *T. confusum* par inhalation de deux huiles essentielles de romarin (*R. officinalis*) dans les conditions contrôlées.

Les deux substances naturelles testées manifestent une activité insecticide par inhalation variable selon l'origine de la plante.

Les traitements par inhalation ont révélé que l'huile essentielle du romarin importé est relativement plus toxique que celle du romarin local, vis -à- vis des adultes de *T.confusum*, avec un taux de mortalité de 87.5 % à la dose de 16 µl et à 96 h d'exposition.

Ce travail, rentrant dans le cadre de l'utilisation des plantes aromatiques comme insecticide dans la protection des récoltes, nous ouvre de larges perspectives, d'une part dans le domaine des connaissances fondamentales et d'autre part dans le domaine appliqué.

Pour atteindre compléter les expériences réalisées nous recommandons quelques recherches comme :

- ✓ Evaluer l'activité de ces substances naturelles sur d'autres stades de développement (œufs, larves, prénymphe et nymphe) du *Tribolium* et d'autres insectes ravageurs des grains.
- ✓ Réaliser une étude phytochimique et toxicologique de ces huiles essentielles ;
- ✓ Réaliser une étude sur la variabilité géographique des huiles essentielles afin de déceler une éventuelle spécificité régionale en vue d'une valorisation commerciale.
- ✓ Etudier l'impact de ces biopesticides sur la qualité des différents substrats alimentaires infestés par ces insectes ravageurs.

Références bibliographiques

- 1- **AÏT YOUSSEF, M., 2006.** Plantes médicinales de Kabylie. Ed. Ibis press. 349 P.
- 2- **ANONYME., 1955.** Les ravageurs des grains entreposés. 3^{ème} éd. CRET, Paris. 54p.
- 3- **ANONYME, 2000.** Les huiles essentielles (Recueils de Normalisation Française), 2^{ème} édition. 474p.
- 4- **ANONYME, 2001.** Contrôle de la qualité des céréales et protéagineux. Ed. ITCF. 268 P.
- 5- **ANONYME, 2002.** Aromathérapie, recueil N°41.
- 6- **ANONYME, 2006a.** La méditerranéenne. L'essence de la vie. 25 P.
- 7- **ANONYME, 2006b.** Agriculture, pêche, alimentation et développement rural durable dans la région Méditerranéenne. Agri. Med. Rapport annuel. 424 p.
- 8- **ANTON, R. et LOBSTEN, A., 2005.** Plantes aromatiques (épices, aromates, condiments et huiles essentielles). Ed. Lavoisier ISBN. 522 P.
- 9- **ARTHUR F.H., 1996.** Grain protectants : current statut and prospects for the future. Journal of Stored product Research Vol. 32, pp. 203-293.
- 10- **AUGER J.C., CADOUX F. et THEBOUT E., 1999.** Thiosulfirate as substitute fumigants for methyl bromide, PesticideScience. Vol.n° 55, pp. 200-202.
- 11- **BULOT S., 1990.** Traitement à la carte pour le grain stocké. Semence et progrès, 63, 140-142.
- 12- **BACON J., CLIFTON C., CONNOR D., FOSTER S., GRAUE J., LOYER J., 14-MOORACHIAN M., 2013.** 500 Plantes comestibles : Histoire botanique alimentation. Ed .Delachaux et Niestlé, Pais. 360 P.
- 13- **BAKKALI F., AVERBECK S., AVERBECK, D. ET IDAOMAR, M., 2008.** Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology 46: 446-475.
- 14- **BALACHOWSKY A. S., 1962.** Entomologie appliquée à l'agriculture. Ed. Masson et c^{ie}, paris, Tome I. 1564 p.
- 15- **BARTELS, A., 1998.** Guide des plantes du bassin méditerranéen. Ed. Eugen ulmer. 400 p.
- 16- **BELLAKHADAR, J., 1997.** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoir populaire. Ed. IBIS Press. 764 PP.
- 17- **BENAZZEDDINE S., 2010.** Effet insecticide de cinq huiles essentielles vis- à - vis de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera; Curculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptera; Tenebrionidae). Ecole nationale supérieure agronomique El-Harrach d'Alger - Ingénieur d'état en science. P, 89.
- 18- **BENISTON. NT .WS., 1984.** Fleurs d'Algérie. Ed. E. N. L. Alger.359p.

- 19- BOSSARD, R., CUISANCE, P., 1984.** Arbustes d'ornement. Ed. Techniques et documentations. Lavoisier. 600 p.
- 20- BOULLARD, B., 1988.** Dictionnaire de botanique. E d. Marketing. 398 p.
- 21- BOULLARD, B., 2001.** Dictionnaire : plantes médicinales du monde. Réalité et Croyance. Ed. Estem. 636 p.
- 22- BOUTEKDJIRET C, BENTAHAR F., BELABBES R. & BESSI7RE J. M., 1998.** The essential oils from *Rosmarinus officinalis* L. in Algeria, Journal of Essential Oils Research. Vol.10: 680- 682.
- 23- BRUNETON, J., 1987.** Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Ed. Lavoisier.585p.
- 24- BRUNETON J 1999.** Pharmacognosie. Phytochimie, Plantes Médicinales. 3^{ème} éd. Lavoisier. 1120p.
- 25- BRUNETON, J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris, Lavoisier, 623p.
- 26- BURT, S., 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in Foods-a review. International Journal of Food Microbiology 94: 223– 253.
- 27- CECCHINI, T., TICLI, B., 2008.** Les plantes médicinales. Reconnaître les plantes, faire des recettes, décoctions, onguents pour soigner et soulager les douleurs du quotidien. Ed. Devenecchi. 351 p.
- 28- CHAMP B.R &DYTE C.F., 1976.** Report of the FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pest. FAO Rome, 297 pp.
- 29- DELOBEL A. & TRANS, M., 1993 :** Les coléoptères des denrées entreposées dans les régions chaudes .Ed ORSTOM, Paris, 424 p.
- 30- DELILLE L. A., 2010.** Les plantes médicinales d'Algérie. 2^{ème} éd. BERTI. 239 P.
- 31- DUCOM P., 1982 :** La protection phytosanitaire des grains après récolte. Revue Phytoma. Defense des Cultures Vol.1, n°133, pp.32-37.
- 32- EL-NAHLA. K. M., SCHIMIDIT G. H. and RISHA E. M., 1989.** Vapeurs of *Acorus calamus* oil. Asapce treatment for stored product insects. Journal of stored products research, vol. 254, pp. 211-216.
- 33- FLEURAT- LESSARD F., 1982.** Les insectes et les acariens .Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés, vol.1, Ed. Lavoisier et APARIA., Paris, 396pp.
- 34- FROUHA, T., LAHCINI B., 2013.** Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Universite Kasdi Merbah- Ouargla. p 49.

- 35- GHESTEM, A., SEGUIN,É., PARIS, M. ET ORECCHIONI, A-M., 2001.** Le préparateur en pharmacie, Dossier 2 « Botanique- Pharmacognosie- Phytothérapie- Homéopathie ». Éditions Tec & Doc, Éditions médicales internationales, Paris : 275p.
- 36- HALLIDAY W. R., ARTHUR F. H., & ZETTLER J. L., 1988.** Resistance status of red flour beetle (Coleoptera : tenebrionidae). Infesting stored panuts in southeastern United States. *Journal of Economic Entomogy* 81, 74-77.
- 37- HAOUEL HAMDI S., HEDJAL- CHEBHEB M., KELLOCHE M., LARBI KHOUJA M., BOUDABOUS A., MEDIOUNI BEN JEMÂA J., 2015.** Management of three pests population strains from Tunisia and Algeria using Eucalyptus essential oils. *Industrial crops and products* 74.551- 556.
- 38- HAUBRUGE E, HUNG Y., LAM S.L., HO S.H., 2000.** Bioactivities of essentiel oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. To *Sitophilus zeamais* Motschusky and *Tribolium castaneam* (Herbst). *Journal of Stored Products Research*. Vol .36, n°2, pp.107-117.
- 39- HEDJAL-CHEHHEB M., TOUDERT-TALEB K., KHOUDJA M L., BENABDESSELAM R., MELLOUK M & KELLOUCHE A., 2013.** Essentielle oils compositions of six conifers and their biological activity against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculates* Fabricius 1775 (Coleoptera: Bruchidae and *Vigna unguiculata* seeds. *African Entomology* Vol .21, No.2.
- 40- HUNAG Y., HE S.H and Manjunatha KINI R 1999.** Bioactivities of Sfrole and Isosafrole on *Sitophylus zeamais* (Coleoptera : Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology*. Vol.92, n°3, pp.676- 683.
- 41- ISMAN, M.B., 2005.** Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Revue of Entomology*, 51: 45-66.
- 42- JABILOUR., ENNEBILI A. & SAYAH F., 2006.** Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbts). (Coleoptera : Tenebrionidae). *African Journal of Biotechnology*, 5 (10) : 936-940.
- 43- KELLOUCHE A et SOLTANI N., 2004.** Activité biologique des podres de cinq plantes et de l'huiles essentielles d'une d'entre ells sur *Callosobruchus maculatus* .*International Journal of Tropical insect Science* Vol. 24. No. 1 pp: 184- 191.
- 44- KELLOUCHE A., AIT AIDER F., LABDAOUI K., HAMADI N., OURMDANE A., FREROT B., MELLOUK M., 2010.** Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera : Bruchidae). *International Journal of Integrative Biology*. IJIB .Vol. 10, No. 2, 86- 89.

- 45- KIM, S., C. PARK, M. OHH, H. CHO AND Y. AHN., 2003.** Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). *Journal of Stored Product Research*, 29 : 11-19.
- 46- KOUBISSI H., 1998.** Encyclopidie des plantes médicinales. Ed. Dar el Beirut, pp.1-565.
- 47- LEPESME P., 1944.** Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. Ed. Paul le chevalier, Paris.335p.
- 48- PELIKAN J., 1986.** Matières premières du règne végétal. Ed. masson et cie, T.2, Paris, 2343p.
- 49- PERROT, E' , 1928.**Plantes médicinales de France.Ed. Delachaux et Niestle, Lausanne, T. 1.64p.
- 50- PIBIRI, M C., 2005.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse doctorat, école polytechnique fédérale de Lausanne : 161p.
- 51- REGNAULT-ROGE C., HAMRAOUI A., HOLEMAN M., THERON E., PINET R., 1993.** Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obectus* Say (Coleoptera : Bruchidae), a pest of Kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of Chemical Ecology*, Vol.19, pp. 1233-1244.
- 52- REGNAULT R., 2003.** Biopesticides d'origine végétale. Ed, Tec et Doc ; Lavoisier, 369p.
- 53- RIBA et SILVY C., 1989.** Combattre les ravageurs des cultures, enjeux et perspectives, INRA station de recherche de lutte biologique, Ed.Tec et Doc, 236p.
- 54- RICHARD-MOLARD D., 1982.** Les caractères généraux de la microflore des grains et graines et principales altérations qui en résultent. Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés, vol.1, Ed. Lavoisier et APARIA., Paris, 254pp.
- 55- RICHTER, G., 1993.** Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. Ed. P.P.U.R .526P.
- 56- ROGER D., 2002.** Les coléoptères carabidés et ténébrionidés : écologie et biologie. Ed. Lavoisier, Paris. 154p.
- 57- ROGER, R., PHILOGENE, JR., VINCENT, C., 2002.** Biopesticides d'origine végétale. Ed. Lavoisier. 337 p.
- 58- ROLET A., 1930.** Les plantes à parfum et les plantes aromatiques. 2^{ème} éd. Baillère J. B et fils. Paris. 406 p.

- 59-SEXENAJ. D., BHATIA S. K & SINHAS. R., 1991.** Status of insecticide resistance in *Tribolium castaneum* (Herbst) in India.IV : Resistance to phosphine. Bulletin of grain Technology, 29(3):148-151 pp.
- 60- SANON A., GRBA M., AUGER J., HUIGNARD J., 2002.** Analyse of insecticidal activity of methylisothiocyanate on *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarnus basalis*. Journal of Stored product Research N° 38, pp.129-138.
- 61-SHAAYA E., KOSJUKOVSKI M., ELBEGRG J., and SAKPRA KARN C., 1997.** Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored product insects. Journal of Stored Products Research.Vol. 33, n°1, pp 7-15.
- 62-SPICHIGER, R., VINCENT., MURIELLEFIGRT, S., JEANMONOD, D., 2004.** Botanique et systématique des plantes à fleurs. 3^{ème} éd. P. P. U. R. 413 P.
- 63-STEFFAN J.R., 1978.** Description et biologie des insectes .Les insectes et les acariens des céréales stockées .Coed . A. F. N .O R.-I.T. G. C. F, Paris.237 p.
- 64-TAPONDJOU, A. L., ADHER, C., FONTEM, D. A., BOUDA, REICHMUT, C., 2005.** Bioactivities of cymol and essential oils of *cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitiphilus zeamais* and *Tribolium confusum* du val. Journal of Stored Products Research, volume 41: PP, 91-102.
- 65- TEUSCHER, E., ANTON, R., LOBSTIEN, A., 2005.** Plantes aromatique (épices, aromates, condiments et huiles essentielles).E d. Lavoisier ISBN. 522 P.
- 66-TOUDERT-TALEB K.,, HEDJAL-CHEBHEB M., HAMI H , J-F. DEBRAS J-F & KELLOUCHE A., 2014.** Composition of essential oils extracted from six aromatic plants of Kabylia origin (Algeria) and evaluation of their bioactivity on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae).African Entomology Vol. 22 No. 2 . 417- 427.
- 67-TUBIELLO FN., SOUSSANA J F., HOWDEN SM., 2007.** Crop and pasture response to climate change .Proc. Natl. Academy of Sci. The United States of America 104 : 19686-19690.
- 68-TUNC I. BERGER. B. M., ERLER. F. et DAGLI. F., 2000.** Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored product insects. Journal of Stored Products Research. 36 (2) : PP. 161-168.

Annexes

Annexe : 2

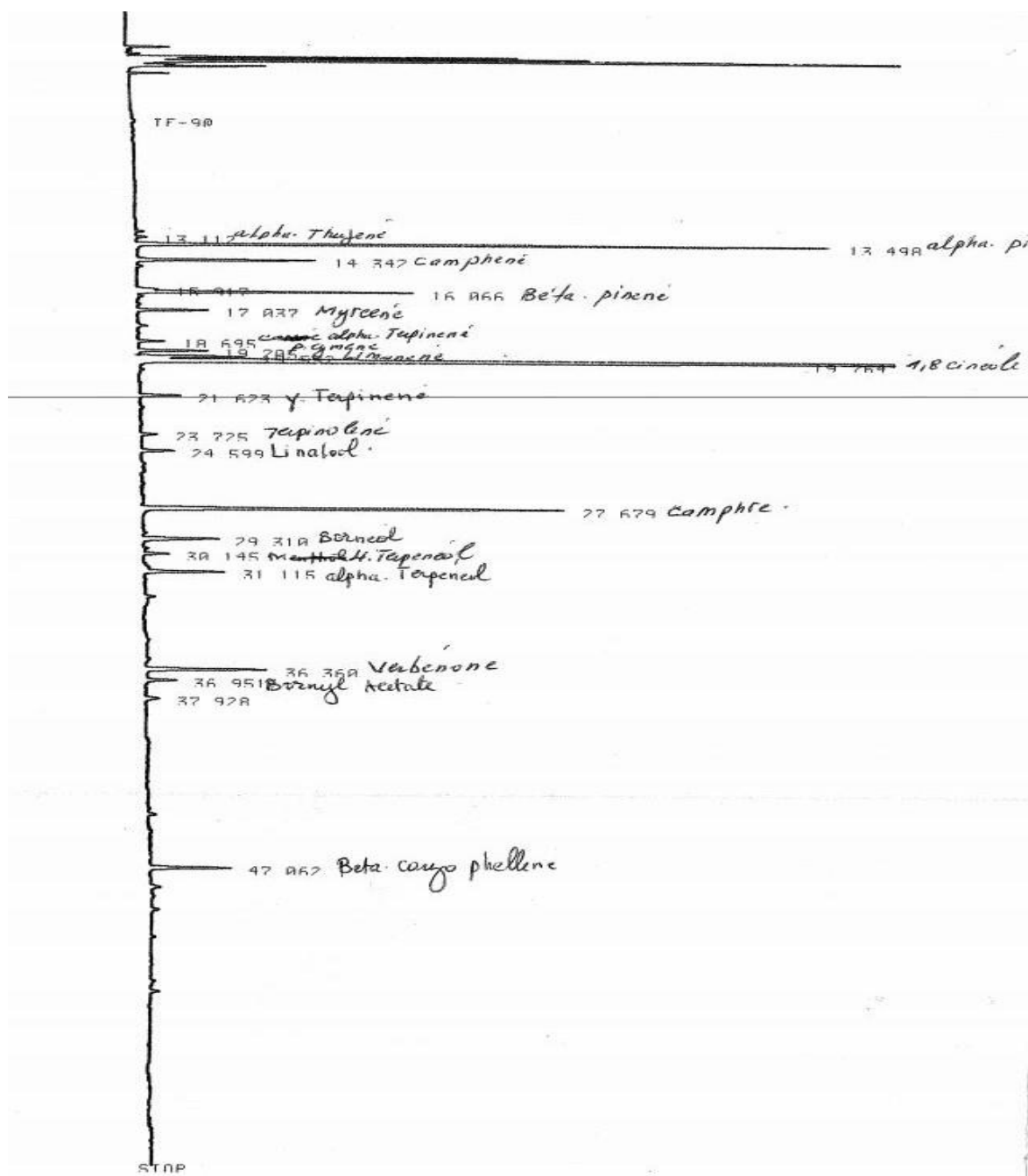


Figure 17 : Chromatogramme de l'huile essentielle du romarin importé.

Annexe : 3

Tableau 8 : Résultats de l'analyse de la variance à trois critères de classification, huile essentielle (F1), temps de l'exposition (F2) et doses (F3) concernant l'effet inhalation de romarin local et romarin importé.

	DDL	Carrés moyene	Test F	Proba	E, T	C, V
Variation totale	127	25,53	/	/	/	/
Variation facteur 1	1	23,63	3,26	0,0704	/	/
Variation facteur 2	3	57,65	7,96	0,0001	/	/
Variation facteur 3	3	637,45	88,02	0	/	/
Variation facteur F1 *F2	3	5,8	0,8	0,4992	/	/
Variation facteur F1 *F3	3	47,26	6,35	0,0005	/	/
Variation facteur F2 *F3	9	25,88	3,57	0,0008	/	/
Variation facteur F1 * F2 * F3	9	5,12	0,71	0,7025	/	/
Variation résiduelle 1	96	7,24	/	/	2,69%	62,70%

Annexe : 4

Tableau 12 : Résultats du test Newman et Keuls indiquant l'effet de l'interaction de deux facteurs (temps. Doses) sur la mortalité des adultes de *T. confusum*.

F2	F3	Libelles	Moyennes	Groupe Homogène
4	4	96 h- 16 µl	15,25	A
3	4	72 h- 16 µl	10,75	B
2	4	48 h- 16 µl	9,38	BC
1	4	24 h- 16 µl	7,13	CD
3	3	72 h- 8 µl	6,25	CDE
4	3	96 h- 8 µl	4,38	DEF
3	2	72 h - 4 µl	4,28	EF
2	3	48 h - 8µl	3	F
1	3	24 h -8 µl	2,13	F
2	2	48 h - 4 µl	1,75	F
1	2	24 h - 4 µl	1,38	F
4	2	96 h - 4 µl	1,38	F
3	1	72 h - 0 µl	0,5	F
4	1	96 h - 0µl	0,5	F
2	1	48 h - 0 µl	0,38	F

Résumé

Les tests par inhalation réalisés avec deux huiles essentielles extraites du romarin, *Rosmarinus officinalis* (Lamiacées), sur un coléoptère ravageur des denrées stockées, *Tribolium confusum*, mettent en évidence une certaine activité biologique à l'égard des adultes. Dans cette expérience, nous avons testé quatre doses, 0 µl, 4 µl, 8 µl et 16 µl et quatre temps d'exposition, 24 h, 48 h, 72 et 96 h. L'huile essentielle du romarin importé montre une toxicité relativement plus élevée que celle de romarin local, vis-à-vis des adultes de *T. confusum*. Après 96 h d'exposition, à la dose 16 µl, cette huile provoque une mortalité de 87.5 % (le taux le plus élevé).

Mots clés : effet insecticide, huile essentielle, inhalation, *Rosmarinus officinalis*, *Tribolium confusum*.

Abstract

Inhalation tests with two essential oils extracted from rosemary, *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae), show some biological activity against adults of a stored pest beetle, *Tribolium confusum*. In this experiment, we tested four doses, 0 µl, 4 µl, 8 µl and 16 µl and four exposure times, 24 h, 48 h, 72 h and 96 h. The essential oil of imported rosemary shows a relatively higher toxicity than that of local rosemary, against adults of *T. confusum*. After 96 h of exposure, at the dose 16 µl, this oil causes a mortality of 87.5% (the highest rate).

Key words: essential oil, inhalation, insecticidal effect, *Rosmarinus officinalis*, *Tribolium confusum*.