

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المعهد الوطني للعلوم الفلاحية - الحراش  
INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE – EL HARRACH

# Thèse

EN VUE DE L'OBTENTION DU DOCTORAT D'ETAT  
EN SCIENCES AGRONOMIQUES

## Sujet

**Variabilité chimique et activités biologiques d'extraits  
de citronnelle (*Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng)  
du Sahara Algérien**

Par :Mme AOUS Wahiba

Soutenue devant le Jury composé de

le .....2015

M. ARAB K.  
M. HAZZIT M.  
Mme KHALFI HABBES O.  
Mme MILA A.  
Mme SETBEL S.

Président  
Directeur de thèse  
Co-directeur de thèse  
Examineur  
Examineur

Professeur U.M.B.B.  
MC A ENSA  
MC A ENSA  
MCA ENV  
MCA U.M.M.T.O.

Année Universitaire 2014-2015

## **Remerciements**

*Mes remerciements vont en premier lieu à mon directeur de thèse M.HAZZIT Mohamed, Maître de conférences au Département de Chimie à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique pour m'avoir dirigé, conseillé, et encouragé, et ainsi pour sa bonne volonté, sa patience et ses précieux conseils qu'il m'a prodigués tout au long de ce travail.*

*Mes remerciements vont également à Mme KHALFI O., Maître de conférences au Département de Zoologie Agricole et Forestière à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique pour son aide et son suivi.*

*Je remercie Monsieur ARAB karim, Professeur au Département de Biologie à l'Université Ahmed Bougara de Boumerdes pour avoir bien voulu accepter de présider mon jury.*

*Mes remerciements vont à Mademoiselle MILA Amel, Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire pour avoir accepté de faire partie de mon jury.*

*Mes remerciements vont également à Mademoiselle SETBEL Samira, Maître de conférences à l'Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou pour avoir accepté de faire partie de mon jury.*

*J'adresse aussi mes sincères remerciements à M., SELLAMI, Professeur au Département de Zoologie Agricole et Forestière à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique pour ses encouragements et son aide précieuse.*

*J'adresse aussi mes remerciements à M. BENZARA Professeur au Département Zoologie Agricole et Forestière à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique pour son aide dans les traitements statistiques.*

*Mes plus vifs remerciements sont destinés tout particulièrement à Mohamed Technicien au Laboratoire de Technologie alimentaire à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique pour son aide précieuse.*

*Mes remerciements s'adressent aussi à l'ensemble de l'équipe du Centre de Recherche et de Développement C.R.D. de Sidal pour leur aide dans la réalisation des tests microbiologiques.*

*Je tiens à exprimer mes sincères gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## Liste des symboles et abréviations

- ➔ **ABTS** : 2,2- azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate)
- ➔ **AChE** : Acétylcholinestérase
- ➔ **AFNOR** : Association Française de Normalisation
- ➔ **ATCC** : American Type Collection Culture
- ➔ **BHA** : Butyl-Hydroxy-Anisole
- ➔ **BHT** : Butyl-Hydroxy-Toluène
- ➔ **cfu/ml** : unités de colonies formés / millilitre
- ➔ **CG/SM** : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
- ➔ **CMB** : Concentration Minimale Bactéricide
- ➔ **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- ➔ **CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone
- ➔ **COV** : Composé Organique Volatil
- ➔ **CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse
- ➔ **CRAPC** : Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques
- ➔ **CRD** : Centre de Recherche et du Développement
- ➔ **DMSO** : Diméthyl sulfoxide
- ➔ **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
- ➔ **EM** : Extrait méthanolique
- ➔ **ENSA** : Ecole Nationale Supérieure Agronomique
- ➔ **Et** : Etalon
- ➔ **FID** : Détecteur à Ionisation de Flamme
- ➔ **GABA** : Acide gamma aminobutyrique
- ➔ **GAE** : Equivalent d'Acide Gallique
- ➔ **H3PMO12O4** : Acide phosphomolybdique
- ➔ **H3PW12O40** : Acide phosphotungestique
- ➔ **I(%)** : Pourcentage d'inhibition ou activité antioxydante
- ➔ **IC50** : Concentration inhibitrice de 50% des radicaux
- ➔ **IR** : Indice de Rétention
- ➔ **min** : Minute
- ➔ **MO<sub>8</sub>O<sub>3</sub>** : Molybdène
- ➔ **MV** : Masse de la matière Végétale
- ➔ **QE** : Equivalent de quercétine
- ➔ **Rd** : Rendement en huile essentielle
- ➔ **RMN** : Résonance magnétique nucléaire
- ➔ **SDE** : Extraction distillations simultanées
- ➔ **SM** : Spectrométrie de Masse

- ➔ **TC:** Température critique
- ➔ **TR :** Temps de rétention
- ➔ **W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>:** Tungstène
- ➔ **A:** Alpha
- ➔ **β :** Beta
- ➔ **γ :** Gamma
- ➔ **δ :** Delta
- ➔ **ρ :** Para
- ➔ **Ψ:** Psi.

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1:</b> les souches utilisées dans l'étude antimicrobienne des HE.....	<b>32</b>
<b>Tableau 2:</b> Rendements en huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> de différentes origines.....	<b>47</b>
<b>Tableau 3:</b> Composition chimique (%) des huiles essentielles des différents échantillons de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> .....	<b>56</b>
<b>Tableau 4:</b> Principaux composés des huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> de différentes origines.....	<b>59</b>
<b>Tableau 5 :</b> Composition chimique (%) de l'huile essentielle d' <i>Artemisia judaica</i> .....	<b>59</b>
<b>Tableau 6:</b> Teneurs en phénols totaux (mg. EAG/g d'extrait) et en flavonoïdes (mg. EQ/g d'extrait) des extraits non volatils.....	<b>61</b>
<b>Tableau 7:</b> Activité de piégeage du radical DPPH', exprimée en termes d'IC <sub>50</sub> (mg/L), par le BHT et les extraits non volatils méthanoliques de <i>C. schoenanthus</i> .....	<b>67</b>
<b>Tableau 8:</b> Activité de piégeage du radical ABTS <sup>•+</sup> (%) du TROLOX et de trois échantillons de Tamanrasset, Méria et Béchar.....	<b>67</b>
<b>Tableau 9:</b> Activité de piégeage du radical ABTS <sup>•+</sup> , exprimée en termes d'IC <sub>50</sub> (mg/L), par le TROLOX et les extraits non volatils méthanoliques de <i>C. schoenanthus</i> .....	<b>67</b>
<b>Tableau 10 :</b> Mortalités corrigées % ± écart type enregistrée dans les populations de <i>C. maculatus</i> lors du traitement par fumigation des huiles essentielles.....	<b>69</b>
<b>Tableau 11 :</b> Les CL <sub>50</sub> des huiles essentielles testées.....	<b>70</b>
<b>Tableau 12:</b> Analyse de la variance pour l'effet de la dose sur la mortalité (test fumigation).....	<b>71</b>
<b>Tableau 13:</b> Moyenne d'œufs pondus par les femelles de <i>Callosobruchus maculatus</i> traitées avec les huiles essentielles par fumigation.....	<b>77</b>
<b>Tableau 14:</b> Emergence des adultes de première génération dans les graines traitées par les huiles essentielles par fumigation.....	<b>81</b>
<b>Tableau 15:</b> Mortalités corrigées % ± écart type enregistrée dans les populations de <i>C. maculatus</i> lors du traitement par contact des huiles essentielles.....	<b>83</b>
<b>Tableau 16 :</b> Les DL <sub>50</sub> des huiles essentielles testées.....	<b>84</b>
<b>Tableau 17 :</b> Analyse de la variance pour l'effet de la dose sur la mortalité (test contact).....	<b>85</b>
<b>Tableau 18 :</b> Moyenne d'œufs pondus par les femelles de <i>Callosobruchus maculatus</i> traitées avec les huiles essentielles par contact.....	<b>89</b>
<b>Tableau 19 :</b> Emergence des adultes de première génération dans les graines traitées par les huiles essentielles par contact.....	<b>92</b>
<b>Tableau 20 :</b> Analyse de la variance pour le facteur mode de pénétration.....	<b>93</b>
<b>Le tableau 21 :</b> Test de Newman-Keuls pour le facteur mode de pénétration.....	<b>93</b>
<b>Tableau 22</b> Moyennes des diamètres (mm) des zones d'inhibition des différentes souches testées.....	<b>95</b>
<b>Tableau 23:</b> les valeurs de la concentration minimale inhibitrice en % des huiles essentielles testées vis-à-vis des germes testés.....	<b>99</b>
<b>Tableau 24 :</b> les valeurs de la concentration minimale Bactéricide et levuricide en % des huiles essentielles testées vis-à-vis des germes testés.....	<b>100</b>

<b>Tableau 25:</b> activité antimicrobienne et antifongique de la gamme des concentrations d'huiles essentielles vis-à-vis des germes testés.....	<b>101</b>
<b>Tableau 26 :</b> Sensibilité des souches étudiée aux antibiotiques sélectionnés.....	<b>113</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Dégâts occasionnés par <i>Callosobruchus maculatus</i> F. sur grains de pois chiche commercial (Original). (Gr. 10 x 4).....	5
<b>Figure 2 :</b> Adulte de <i>Callosobruchus maculatus</i> (Fabricius1775).(A) : Vue dorsale femelle ; (B) : Vue dorsale male.....	6
<b>Figure 3:</b> Œuf de <i>Callosobruchus maculatus</i> F. (Gr.40 x 0.8).....	7
<b>Figure 4:</b> Larve de <i>Callosobruchus maculatus</i> F. (Gr.40 x 0.8).....	7
<b>Figure 5:</b> dimorphisme sexuel chez les adultesde <i>Callosobruchus maculatus</i> F.....	8
<b>Figure 6 :</b> <i>Cymbopogon Schoenanthus</i> L. Spreng. tassili hoggar-algérie.....	11
<b>Figure 7:</b> <i>Artemisia judaica</i> ssp. <i>Sahariensis</i> (Chev.) Maire (Armoise de Judée) .....	15
<b>Figure 8:</b> Acide gallique.....	34
<b>Figure 9:</b> Quercétine (flavnoïde).....	35
<b>Figure 10 :</b> Inhibition du radical DPPH par un antioxydant AH.....	37
<b>Figure11:</b> Réaction du radical ABTS <sup>+</sup> en présence d'un antioxydant.....	39
<b>Figure 12:</b> Schéma du protocole expérimental de l'évaluation du pouvoir réducteur.....	40
<b>Figure 13:</b> Spectre de masse du 2-Carene.....	49
<b>Figure 14:</b> Spectre de masse de la pipéritone.....	49
<b>Figure 15:</b> Spectre de masse de l'elemol.....	50
<b>Figure 16:</b> Spectre de masse du p-Menth-2-en-1-ol.....	50
<b>Figure 17:</b> Spectre de masse du Piperitol.....	51
<b>Figure 18 :</b> Spectre de masse du β-Eudesmol.....	51
<b>Figure 19 :</b> Chromatogramme total GC-MS de l'huile essentielle de <i>Cymbopogon schoenatus</i> de Tamanrasset.....	52
<b>Figure 20:</b> Chromatogramme total GC- FID de l'huile essentielle de <i>Cymbopogon schoenatus</i> de Tamanrasset.....	52
<b>Figure 21:</b> Chromatogramme (agrandi) GC-MS de l'huile essentielle de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> de Tamanrasset.....	53
<b>Figure 22:</b> Chromatogramme total GC-MS de l'huile essentielle de Ghardaia.....	54
<b>Figure 23:</b> Chromatogramme total GC- FID de l'huile essentielle de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> de Tamanrasset.....	54
<b>Figure 24:</b> Chromatogramme (agrandi) GC-MS de l'huile essentielle de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> deGhardaia.....	55
<b>Figure25:</b> Formules chimiques des principaux composés identifiés dans les différents échantillons des huiles essentielles de <i>C. schoenanthus</i> .....	58
<b>Figure 26:</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	61
<b>Figure 27:</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	61
<b>Figure 28:</b> Pouvoir réducteur des huiles essentielles des différents échantillons de <i>C. schoenanthus</i> .....	63
<b>Figure 29:</b> Pouvoir réducteur des extraits méthanoliques non volatils de <i>C. schoenanthus</i> de trois régions (Tamanrasset, Ménia et Béchar.....	64
<b>Figure 30:</b> Inhibition du radical DPPH'par les huiles essentielles des différents échantillons de <i>C. schoenanthus</i> et du BHT.....	66

<b>Figure 31:</b> Inhibition du radical DPPH <sup>*</sup> par le BHT et les extraits méthanoliques non volatils de <i>C. schoenanthus</i> de Tamanrasset, Ménia et Béchar.....	<b>66</b>
<b>Figure 32:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de <i>C. schoenanthus</i> de Tamanrasset par fumigation.....	<b>72</b>
<b>Figure 33:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de <i>C. schoenanthus</i> de Djanet par fumigation.....	<b>72</b>
<b>Figure 34:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de <i>C. schoenanthus</i> d' El-Goléa par fumigation.....	<b>73</b>
<b>Figure 35:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de <i>C. schoenanthus</i> de Ghardaia par fumigation.....	<b>73</b>
<b>Figure 36:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de <i>C. schoenanthus</i> de Béchar par fumigation.....	<b>74</b>
<b>Figure 37:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de <i>C. schoenanthus</i> de Ouargla par fumigation.....	<b>74</b>
<b>Figure 38:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle d' <i>Artemisia judaica</i> par fumigation.....	<b>75</b>
<b>Figure 39 :</b> Effet des huiles essentielles par inhalation sur la fécondité De <i>Callosobruchus maculatus</i> .....	<b>78</b>
<b>Figure 40 :</b> Effet des huiles essentielles par fumigation sur l'émergence des adultes De <i>Callosobruchus maculatus</i> .....	<b>81</b>
<b>Figure 41:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle d' <i>Artemisia judaica</i> par contact.....	<b>85</b>
<b>Figure 42:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de <i>C. schoenanthus</i> Tamanrasset par contact.....	<b>86</b>
<b>Figure 43:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de <i>C. schoenanthus</i> Djanet par contact.....	<b>86</b>
<b>Figure 44:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de <i>C. schoenanthus</i> Ouargla par contact.....	<b>87</b>
<b>Figure 45:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de <i>C. schoenanthus</i> El-Goléa par contact.....	<b>87</b>
<b>Figure 46:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de <i>C. schoenanthus</i> Béchar par contact.....	<b>88</b>
<b>Figure 47:</b> Evolution des mortalités corrigées des adultes de <i>C. maculatus</i> en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de <i>C. schoenanthus</i> de Ghardaia par contact.....	<b>88</b>
<b>Figure 48 :</b> Effet des huiles essentielles par contact sur la fécondité.....	<b>90</b>
<b>Figure 49 :</b> Effet des huiles essentielles par contact sur l'émergence des adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i> .....	<b>92</b>
<b>Figure 50 :</b> Moyennes des diamètres (mm) des zones d'inhibition des souches testées par les huiles essentielles.....	<b>96</b>
<b>Figure 51 :</b> Zones d'inhibitions des huiles essentielles testées sur <i>Bacillus subtilis</i> .....	<b>104</b>
<b>Figure 52 :</b> Zones d'inhibitions des huiles essentielles testées sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>104</b>
<b>Figure 53 :</b> Zones d'inhibitions des huiles essentielles testées sur <i>Escherichia coli</i> .....	<b>105</b>

<b>Figure 54:</b> Zones d'inhibitions des huiles essentielles testées sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	<b>105</b>
<b>Figure 55:</b> Zones d'inhibitions des huiles essentielles testées sur <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	<b>106</b>
<b>Figure 56 :</b> Zones d'inhibitions des huiles essentielles testées sur <i>Candida albicans</i> .....	<b>106</b>
<b>Figure 57 :</b> Détermination de la <b>CMI des bactéries</b> de l' <b>H.E.</b> du <i>Cymbopogon Schoenanthus</i> de Tamanrasset.....	<b>107</b>
<b>Figure 58 :</b> Détermination de la <b>CMI des bactéries</b> de l' <b>H.E.</b> du <i>Cymbopogon Schoenanthus</i> de Béchar.....	<b>107</b>
<b>Figure 59 :</b> Détermination de la <b>CMI des bactéries</b> de l' <b>H.E.</b> du <i>Cymbopogon Schoenanthus</i> D'El-Goléa.....	<b>108</b>
<b>Figure 60 :</b> Détermination de la <b>CMI des bactéries</b> de l' <b>H.E.</b> du <i>Cymbopogon Schoenanthus</i> C.Ghardaia.....	<b>108</b>
<b>Figure 61:</b> Détermination de la <b>CMI des bactéries</b> de l' <b>H.E.</b> du <i>Cymbopogon Schoenanthus</i> de Ouargla.....	<b>109</b>
<b>Figure 62 :</b> Détermination de la CMI des levures de l' <b>H.E.</b> du <i>Cymbopogon Schoenanthus d'El Goléa</i> .....	<b>109</b>
<b>Figure 63 :</b> Détermination de la <b>CMB</b> des bactéries et levures des essentielles testées.....	<b>112</b>
<b>Figure 64 :</b> Diamètres d'inhibitions des microorganismes testés par les huiles essentielles.....	<b>114</b>
<b>Figure 65 :</b> Zone d'inhibition des antibiotiques sur les souches ( <i>Pseudomonas aeruginosa, staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Candida albicans et Saccharomyces serevisiae</i> .....)	<b>115</b>

## SOMMAIRE

Introduction .....	1,2,3
<b>Chapitre I Données Bibliographique</b>	
1. Données bibliographiques sur le matériel biologique utilisé.....	4
1.1. Matière biologique animal .....	4
1.1.1. Aperçu général sur <i>Callosobruchus maculatus</i> F.....	4
1.1.1.1. Position systématique.....	4
1.1.1.2. Description de l'insecte.....	4
1.1.1.3. Origine et répartition géographique.....	5
1.1.1.4. Régime alimentaire et dégâts .....	5
1.1.1.5. Biologie de <i>Callosobruchus maculatus</i> (F.).....	6
1.1.1.6. Dimorphisme sexuel .....	8
1.1.1.7. Biologie .....	8
1.2. Matériel biologique végétal.....	10
1.2.1. <i>Cymbopogon schoenanthus</i> (Spreng)L. ....	10
1.2.1.1. Classification et dénomination vernaculaire .....	10
1.2.1.2. Description botanique.....	10
1.2.1.3. Origine et distribution géographique.....	11
1.2.1.4. Composition Chimique .....	11
1.2.1.5. propriétés biologiques.....	12
1.2.1.5.1. Propriétés médicinales .....	12
1.2.1.5.2. Propriétés alimentaires .....	13
1.2.1.5.3. Propriétés bactéricides et fongicides.....	13
1.2.1.5.4. Propriétés insecticides.....	14
1.2.2. <i>Artémisia judaica</i> ssp. <i>Sahariensis</i> (Chev.) Maire (Armoise de Jude)....	14
1.2.2.1. Classification et dénomination vernaculaire .....	14
1.2.2.2. Description Botanique.....	15
1.2.2.3 Origine et distribution.....	16
1.2.2.4 composition chimique.....	16
1.2.2.5 Propriétés biologiques .....	16

2. Données bibliographiques sur les huiles essentielles.....	17
2.1 Définition.....	17
2.2 Intérêt thérapeutique, écologique et économique des huiles essentielles.....	17
2.3 Propriétés physiques des huiles essentielles.....	18
2.4 Localisation des huiles essentielles dans le végétal.....	19
2.5 Composition chimique des huiles essentielles.....	19
2.5.1 Les terpénoïdes.....	19
2.5.2 Les monoterpènes.....	20
2.5.3 Les sesquiterpènes .....	21
2.5.4 Les composés aromatiques.....	21
2.5.5 Les composés d'origine diverses.....	21
2.6 Effets indésirables des huiles essentielles.....	21
2.7 Analyse des huiles essentielles.....	22
2.7.1 La chromatographie en phase gazeuse.....	22
2.7.2 La spectrométrie de masse.....	23
2.7.3 La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	23
2.8 Activités biologique des huiles essentielles.....	24
2.8.1 Activité antioxydante.....	24
2.8.2 Activité antimicrobienne .....	26
A-Nature de l'agent antimicrobien .....	27
B-Type du microorganisme .....	27
2.8.3 Activité insecticide par l'utilisation des huiles essentielles.....	27

## **Chapitre II Matériel biologique**

1. Matériel biologique.....	31
1.1 Matériel végétal.....	31
1.2 Matériel animal.....	31
1.2.1 <i>C. maculatus</i> (Coleoptera : Bruchidae).....	31
1.2.2 Sélection des souches antimicrobiennes.....	31
2. Extraction des huiles essentielles.....	32
3. Rendement de l'extraction.....	33
4. Préparation d'extraits non volatils.....	33
4.1 Mode opératoire .....	33
5. Dosage des composés phénoliques des extraits.....	33

5.1 Dosage des polyphénols .....	33
5.1.1 Principe .....	34
5.1.2 Mode opératoire .....	34
5.2 Dosage des flavonoïdes .....	34
5.2.1 Principe .....	34
5.2.2 Mode opératoire .....	35
6. Analyse qualitative et semi-quantitative des huiles essentielles par GC et GC/ SM.....	35
6.1 Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse (GC).....	35
6.2 Analyse qualitative des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).....	36
6.3 Identification des constituants des huiles essentielles.....	36
7. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	37
7.1 Activité de piégeage du radical DPPH• (2-2-Diphényl-1-picrylhydrazyl).....	37
7.1.1 Principe .....	37
7.1.2 Mode opératoire .....	37
7.1.3 Concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50).....	38
7.2 Inhibition du radical positif ABTS•+ ou 2,2 -Azino-bis (3-éthylbenzthiazoline-6-sulphonic acid).....	38
7.3 Mesure du pouvoir réducteur.....	39
8. Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles.....	41
8.1 Elevage de la Bruche.....	41
8.2 Evaluation de la toxicité des huiles essentielles sur <i>Callosobruchus maculatus</i> .....	41
8.2.1 Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par fumigation.....	41
8.2.2 Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par contact.....	41
8.2.3 Effet des deux huiles essentielles sur la fécondité et la fertilité.....	42
8.2.4 Méthodes d'analyse des données.....	42
8.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	42
8.3.1 Préparation des suspensions microbiennes.....	42
8.3.2 Etude qualitative de l'effet antimicrobien des huiles essentielles étudiées par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme) .....	43
8.3.3 Etude quantitative par la méthode de dilutions en milieu liquide par spectrométrie.....	44
A. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	44

a-Préparation de l'inoculum.....	44
b- Préparation de la gamme de dilutions des huiles essentielles testés.....	45
B.Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) .....	44
3-Analyses statistiques.....	46

## **CHAPITRE III Résultats et discussions**

1.Rendements des extractions.....	47
2. Composition chimique.....	48
2.1 Huiles essentielles .....	48
2.2Extrait méthanolique de la fraction non volatile.....	60
2.2.1. Phénols totaux et flavonoïdes.....	60
3. Activité antioxydante.....	62
3.1Pouvoir réducteur .....	62
3.2Inhibition du radical DPPH• .....	65
3.3Activité de piégeage du radical positif ABTS•+.....	67
4. Activité insecticide .....	68
4.1Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par fumigation sur <i>C. maculatus</i> .....	68
4.1.1Effet des huiles essentielles sur l'oviposition.....	77
4.1.2Effet des huiles sur l'émergence des adultes.....	81
4.2Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par effet contact .....	82
4.2.1Effet des huiles essentielles sur l'oviposition.....	89
4.2.2Effet des huiles sur l'émergence des adultes .....	91
5. Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées.....	94
5.1Etude qualitative des huiles essentielles analysées.....	94
5.2Etude quantitative de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées.....	98
5.3 Activité antibiotique .....	112
<b>Conclusion</b> .....	117
<b>Référence bibliographique</b> .....	119
<b>Résumé</b> .....	136

# Introduction Générale

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Actuellement, les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux (Tchamdja, 1995).

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytotrapie, les huiles essentielles sont utilisées dans les préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol sont souvent utilisés comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques. Dans les domaines phytosanitaires et agro-alimentaires, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires.

Les activités antimicrobiennes des huiles essentielles ont été rapportées dans plusieurs travaux. Dans la plupart des cas, ces activités sont attribuées aux mono terpènes oxygénés (Koba, 2003).

L'utilisation des molécules naturelles pour remédier au phénomène d'oxydation des corps gras, ses conséquences sur la santé et ses répercussions économiques ont fait l'objet de plusieurs recherches. De nombreux travaux sur les activités antioxydantes des huiles essentielles d'une grande variété de plantes aromatiques montrent que ces propriétés sont en relation avec la composition chimique. La capacité antioxydante de l'huile volatile est étroitement liée à tout le contenu phénol (Stefanovits-Benyai et al., 2003).

Les plantes constituent également une source de substances naturelles qui présente un grand potentiel d'application contre les insectes et d'autres parasites des plantes et du monde animal.

Depuis longtemps, la lutte contre le ennemi des cultures est basée sur l'application continue des insecticides de synthèse et fumigènes (Shaaya et al. 1991 et Lee et al. 2003). Bien qu'efficace, leur utilisation répétée dégage des inconvénients qui limitent son emploi. Il s'agit notamment de la présence dans les denrées de résidus, du développement de souches d'insectes résistantes à ces insecticides, de la pollution de l'environnement, de nombreux cas d'intoxication et d'empoisonnement signalés dans certains pays (Kumar R.,

1991 ; Regnault-Roger et al. 2004 ; Lee, 2002 ; Benhalima *et al.*, 2004 ; Bughio et Wilkins, 2004).

Ces préoccupations environnementales et sanitaires soulignent la nécessité de développer de nouvelles stratégies de lutte. L'utilisation des plantes comme source de pesticides facilement biodégradables ont fait l'objet de plusieurs recherches en vue de réduire les pertes occasionnées par les insectes ravageurs des grains stockées par leur effet insecticide (Regnault-Roger et al., 1993 ; Huang et al., 1999 ; Lale et Mustapha, 2000 et Owusu, 2000 ; Ketoh et al., 2000 ; Tripathi et al., 2000 ; Kéita et al., 2001 ; Cox, 2004 ; Han et al., 2006 ; Rosman et al., 2007). De part les huiles essentielles qu'elles renferment, de nombreuses plantes sont réputées actuellement comme possédant des propriétés insecticides, acaricides, fongicides, anti-appétantes, et répulsives ce qui a été rapporté dans divers travaux parmi lesquels nous citons : Arnason et al. (1989); Regnault-Roger et al.(1991); Shaaya et al.(1993); Talukder et Howse (1993); Papachristos et Stamopoulos (2002); Belhattab et al.(2004); Koonan et al. (2004); Tapondjou et al.(2005) .

Actuellement l'azadirachtine est commercialisé aux Etats Unis pour son activité insecticide sur les insectes (El-lakwah et El-kashla, 1999). L'efficacité des huiles essentielles a été démontrée contre les Bruchidae par de nombreux travaux (Tapondjou et al., 2003 ; Kellouche, 2005).

Selon Hostettmann (1997), connaître une plante ayant des vertus médicinales suppose pouvoir décrire sa morphologie et son anatomie, connaître son origine et son mode d'action, apprécier l'incidence de ceux-ci sur sa qualité, analyser sa composition chimique.

L'Algérie possède un patrimoine végétal très riche mais malheureusement très peu exploité. C'est dans le cadre de la valorisation des ressources végétales que nous apportons notre modeste contribution par le présent travail que nous avons intitulé :

Ce travail repose sur six plantes très peu étudiées de citronnelle *Cymbopogon schoenanthus* L. (Spreng) provenant de différentes régions du Sahara Algérien : Tamarasset (Hoggar), Djanet (Tassili), Ouargla, El-Goléa ou Menia, Ghardaia et Bechar et celle d'*Artemisia judaica* provenant de Djanet.

L'objectif général de ce travail est la valorisation scientifique des données sur les potentialités insecticides, antimicrobiennes, et antioxydantes de ces plantes étudiées à huiles essentielles susceptibles d'être exploitées.

Ce travail est constitué de quatre parties :

- la première partie présente les généralités sur les modèles biologiques retenus, la composition chimique des huiles essentielles, et leurs potentialités biologiques ;
- la deuxième partie est consacrée aux matériels et méthodes ;
- la troisième partie concerne les résultats et discussion ;
- Dans la quatrième partie nous présenterons la conclusion générale et les perspectives.

# Données bibliographiques

## 1. Données bibliographiques sur le matériel biologique utilisé

### 1.1. Matière biologique animal

#### 1.1.1. Aperçu général sur *Callosobruchus maculatus* F.

##### 1.1.1.1. Position systématique

Selon Fabricius, 1775 et Balaschowvsky, 1962 ; l'espèce *Callosobruchus maculatus*, appelée communément la bruche de pois chiche occupe la position systématique suivante :

- Embranchement : Arthropoda
- Classe : Insecta.
- Section : Néoptères
- Sous section : Néoptères endoptérygogènes
- Ordre : Coleoptera.
- Sous Ordre : Phytophaga
- Super Famille : Phytophagoidae
- Famille : Bruchidae
- Sous Famille : Bruchinae
- Genre : *Callosobruchus*
- Espèce : *Callosobruchus maculatus*(Fabricius, 1775)

##### 1.1.1.2. Description de l'insecte

*Callosobruchus maculatus* (découverte par Fabricius en 1775), est considérée parmi les ravageurs majeurs des denrées stockées en Afrique et en Asie.

Le genre *Callosobruchus* renferme une vingtaine d'espèces. Selon Hoffman *et al.* (1962) c'est un genre caractérisé par un prothorax conique, des fémurs postérieurs pourvus d'une dent au bord infero-externe.

L'adulte de *C. maculatus* mesure 3 à 3,8 mm de long (Figure2), le corps est oblongue, de coloration rougeâtre (Hoffman, 1945). Le prothorax est noir et orné à sa base d'une tâche blanc-jaunâtre. Les élytres ne recouvrent pas entièrement l'abdomen et possèdent quatre macules noires arrondies placées latéralement, les deux plus grosses vers le milieu, les deux autres vers l'apex. Les antennes sont assez longues, les quatre premiers articles sont roux. Le pygidium allongé avec deux taches latérales, brunes ou oblongues (Hoffman, 1945).Le mâle est moins coloré et de plus petite taille que la femelle.

### 1.1.1.3. Origine et répartition géographique

Selon Balachowsky (1962) les bruches sont repartis dans les zones tropicales et subtropicales. Les espèces *C. maculatus* et *Callosobruchus chinensis* (L.) sont considérées comme les ravageurs majeurs des denrées stockées en Afrique et en Asie (Southgate, 1958, 1965; Singhet *al.*, 1978; Warui ,1984; Dharmasena et Subasinghe, 1986).

### 1.1.1.4. Régime alimentaire et dégâts

Les femelles des *Bruchidae*, pondent sur les gousses dans les cultures et les attaques se poursuivent dans les stocks. Plusieurs générations peuvent se succéder dans les systèmes de stockage provoquant des pertes élevées. Les dégâts perpétrés par les larves sont de deux types ; une perte quantitative qui peut être de l'ordre de 33% selon Caswell , 1970 in (Southgate, 1978), et de 800 g/kg sur niébé après 7 mois de stockage selon Ouedraogo *et al.*, (1996) et une perte qualitative qui se traduit selon Pingale *et al.* 1956 in (Southgate, 1978) par une diminution de la thiamine, une dénaturation des protéines, et une augmentation de l'acidité des graisses des graines (**Figure1**).



**Figure 1:** Dégâts occasionnés par *Callosobruchus maculatus* F. sur grains de pois chiche commercial (Original). (Gr. 10 x 4).

### 1.1.1.5. Biologie de *Callosobruchus maculatus* (F.)

#### 1.1.1.5.1. L'imago

L'adulte de *Callosobruchus maculatus* mesure 2,8 à 3,5 mm de long et est de forme courte ; ramassée et globuleuse. La tête est noire, les antennes et le pronotum sont de couleur rouge clair ou brun. Le corps est de coloration rougeâtre ; Les mâles ont des antennes noires avec les quatre premiers articles roux, chez les femelles ; ils sont entièrement rouges (Balachowsky, 1962). Recouverts d'une pilosité fine, les élytres sont fortement sclérifiés et ne sont utilisés que lors du vol. Ils protègent ainsi les ailes membraneuse et la plus grande partie de l'abdomen, sauf chez la femelle dont le dernier tergite abdominal reste découvert (Gaitan, 1990).



**Figure 2 :** Adulte de *Callosobruchus maculatus*(Fabricius1775).(bmdtran.net)

(A) : Vue dorsale femelle ; (B) : Vue dorsale mâle

#### 1.1.1.5.2. Les oeufs

Après la copulation, *C. maculatus* dépose ses oeufs sur les graines (Alzouma, 1981) ; les oeufs sont de forme ovoïde et sont déposés sur le péricarpe (Huignard *et al.*, 1985 ; Delobel et Tran, 1993). Les oeufs sont pondus et fixés par la femelle avec une substance gélatineuse à la surface des graines et des gousses. La dimension des oeufs pondus par *C. maculatus* varie selon le substrat et influence la survie de la descendance. Ainsi, Fox (1994) estime que les descendants issus de gros oeufs éclosent plus rapidement, ont un taux d'éclosion élevé, un

taux de survie larvaire élevé, se développent plus rapidement en nymphes et produisent des adultes grands, et plus tolérants à la pénurie alimentaire et à la dessiccation.

Les œufs de *Callosobruchus maculatus* F. sont asymétriques, arrondis à la base, sub-conique à l'extrémité.

Fraîchement pondus, ces œufs sont de couleur jaunâtre et translucide ; ils deviennent ensuite blanc opaque à maturité. Ils mesurent  $0,4 \times 0,7$  mm de long sur  $0,3 \times 0,45$  mm de large. Ils adhèrent aux graines par un liquide adhésif qui se solidifie au contact de l'air.



**Figure 3:** Œuf de *Callosobruchus maculatus* F. (Gr.40 x 0.8)

( pbt.padil.gov.au)

#### 1.1.1.5.3. Les larves

L'éclosion des œufs survient 5 à 7 jours après la ponte dans les conditions les plus favorables. La larve néonée de type chrysomélien doit creuser à travers la cloison de la gousse ou de la graine pour chercher sa nourriture. Elle est pourvue, à cet effet, d'une plaque de chitine sclérotinisée en forme de H. Beaucoup de larves néonates creusent à travers l'enveloppe de la gousse et entrent dans la première graine disponible (Kellouche, 2005).



**Figure 4:** Larve de *Callosobruchus maculatus* F. (Gr.40 x 0.8)  
(canadart.org)

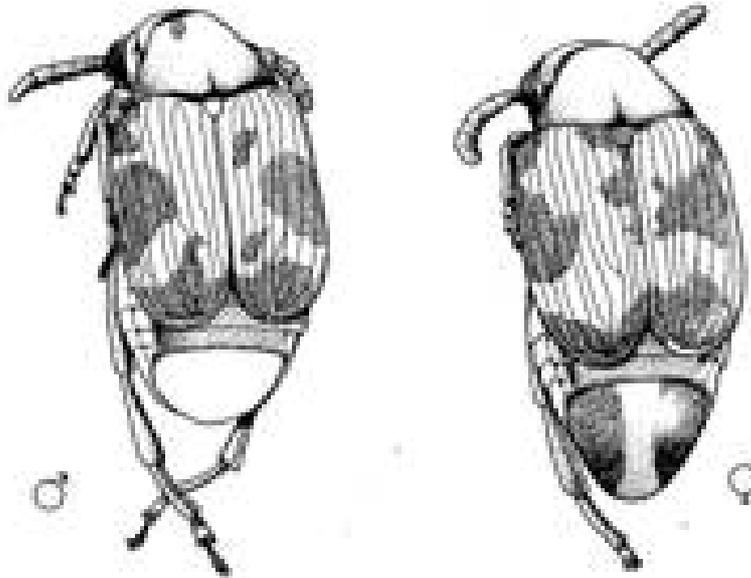
#### **1.1.1.5.4. Les nymphes**

*C. maculatus* se nymphose à l'intérieur d'une seule graine après avoir construit une fenêtre au niveau du tégument (Southgate, 1979). Le développement larvaire dure 15 jours et la nymphose environ 6 jours.

Khalfi (1983) a révélé que cette espèce a un développement maximal de 30 jours à une température de 28°C et une humidité de 75,85 %.

#### **1.1.1.6. Dimorphisme sexuel**

La distinction entre les deux sexes se fait par l'observation de la forme générale, le plus caractéristique est l'aspect et la coloration du pygidium, ce dernier est élargi et de couleur sombre sur les deux faces pour les femelles, par contre il est petit et manque de rayures chez les mâles. Les femelles sont de taille plus grande et de couleur plus foncée, contrairement aux mâles qui sont de couleur brune claire (Beck et al, 2007 ).



**Figure 5:** dimorphisme sexuel chez les adultes de *Callosobruchus maculatus* F.  
(esa.org)

#### 1.1.1.7. Biologie

*Callosobruchus maculatus* F. contamine les graines au champ et une fois introduite dans les entrepôts, elle continue à se multiplier (Singh et Taylor, 1978 ).

La ponte a lieu deux heures après l'accouplement qui se produit de jour ou de nuit ; Il peut exister **5 à 6** générations successives par an au niveau des entrepôts chauffés (Fleurat lessard, 1980). Selon Lepesme (1944), Multon (1982) et Khalfi (1983). Les œufs peuvent être déposés hors des graines sur les supports, les planches de bois, les vitres etc. Chez la femelle gravide, la ponte est déclenchée par un stimulus de nature chimique présent dans les téguments de la graine (Delobel, 1999).

En règle générale, le développement de l'œuf dure de **5 à 10 jours** à partir du moment de la ponte. La première nécessité pour la larve à l'éclosion est d'accéder à la graine (Southgate, 1983).

Après l'éclosion, la larve pénètre invariablement au point d'adhésion de l'œuf en s'arc-boutant dans la partie convexe. Les œufs mal placés avortent (Multon, 1982). La larve néonate de type chrysomélien pénètre dans la graine et passe au deuxième stade apode. La nymphose a lieu soit dans la graine elle-même, soit à sa proximité (Balachowsky et al., 1962).

Le développement larvaire est en fonction de la température ambiante. Il peut être très rapide autour de son optimum de **15 à 20 jours** à une température de 32°C si l'insecte se

développe dans des graines qui constituent son habitat préférentiel. Au contraire, il se prolonge pendant plusieurs mois si les conditions sont défavorables (Delobel, 1999). Selon Hoffman et Labeyrie (1962) ; le nombre de mue est de deux à quatre.

*C. maculatus* F. accomplit son cycle biologique, de l'œuf au stade adulte en **28 jours** et cela en conditions de laboratoire à savoir **27°C et 70%** d'humidité relative (Hoffmann, 1945). Selon Kellouche (2005), la durée du cycle du développement (de l'œuf à l'adulte) est en moyenne de **28 ± 3 jours** dans les graines de pois-chiche. L'incubation des œufs dure environ 1 semaine, le développement larvaire 15 jours et la nymphose environ 6 jours. Cette durée de développement varie dans les limites assez larges avec l'espèce de la graine hôte, son état d'hydratation et la température (Multon, 1982).

L'étude réalisée par Khalfi (1983) a révélé que cette espèce a un développement maximal à une température de 28°C et une humidité de 75,85 %. Sous ces deux facteurs abiotiques la fécondité moyenne des femelles est de 82 œufs par femelle et la durée du cycle est de 30 jours. Par contre la fertilité est maximale à une température de 30°C et une hygrométrie de 90.

## 1.2. Matériel biologique végétal

### 1.2.1. *Cymbopogon schoenanthus* (Spreng)L.

#### 1.2.1.1. Classification et dénomination vernaculaire

L'espèce *Cymbopogon Schoenanthus* occupe la position systématique suivante :

- **Règne** : planteae (végétal)
- **Embranchement** : spermatophytes (phanérogames)
- **Sous embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Monocotylédone
- **Ordre** : poales
- **Famille** : poaceae
- **Genre** : *Cymbopogon*
- **Espèces**: *Cymbopogon Schoenanthus* (Spreng) L.

Le nom *Cymbopogon* est dérivé des mots grecs kymbe (bateau) et pogon (la barbe), se référant à la hampe florale (plantes, 2004). En référence à l'aspect de la tige de *Schoenanthus* : vient du grecque scheinos, corde jonc comme une tige.

Plusieurs appellations sont distribuées à la citronnelle dans différentes régions du monde :

Nom scientifique : *Cymbopogon schoenanthus*

Arabe : el lemad, idjhir (اللماد)

Berbère : tébarémt

Anglais : camel's hay, camel grass

Français : schoenante officinale, herbe à chameau, paille de la Mecque (S.Benhouhou, 2005).

#### 1.2.1.2. Description botanique

*Cymbopogon schoenanthus* est une plante cespiteuse densément touffue et généralement aromatique. Ses chaumes arrondis sont dressés, ses feuilles sont souvent grossières, linéaires, étroites et arrondies à la base. Les racèmes sont courts, géminés, plus ou moins recouverts par leurs spathéoles et réunis en panicules contractées, souvent denses, à rachis articulé et fragile (Jacques-Felix, 1962). C'est une herbe vivace ou pérenne (elle poursuit son développement pendant plusieurs années); elle peut fleurir tous les ans ou seulement de temps en temps dans certaines circonstances. Rappelons qu'à l'opposé les espèces annuelles accomplissent tout leur cycle, de la graine à la graine, en une seule saison. Sur chaque racème se trouvent deux paires d'épillets hétérogames et une triade terminale constituée de deux épillets pédicellés et d'un épillet sessile. Les fleurs femelles se trouvent dans les épillets sessiles, les mâles dans les épillets pédicellés (Jacques-Felix, 1962)



**Figure 6 :** *CymbopogonSchoenanthus* L. Spreng. tassili hoggar-algérie  
(sahara-nature.com)

### 1.2.1.3. Origine et distribution géographique

Le genre *Cymbopogon* comprend environ 30 espèces de graminées, surtout originaire du Vieux Monde (Tripplebrookfarm, 2003).

*Cymbopogon Schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae) ou le nard indien, originaire d'Inde, (Ketoh GK., et al., 2005). Elle se développe dans des régions arides avec de basses précipitations (autour de 100-150 millimètres par an). Cette plante est trouvée dans des sols caillouteux-arénacés des lits non-salins de oued aussi bien comme sur les sols caillouteux-pierreux des djebels. Elle est largement distribuée dans l'Afrique du Nord et l'Asie, elle est distribuée dans le Sahara Algérien (S. Benhouhou, 2005).

### 1.2.1.4. Composition Chimique

Les huiles essentielles des espèces de *Cymbopogon* comprennent principalement les fractions de monoterpène. La composition chimique de l'huile essentielle de *C.citratus* varie en fonction de l'origine géographique, les composés hydrocarbonés comme les terpènes, des alcools, les cétones, les esters et les aldéhydes, ont principalement constamment été enregistrée (Costa, 1986; et Cicognaal, 1986-1987. Matouschek & Stahl, 1991; Trease, 1996; Silva Jr. et al., 1995). Parmi les nombreux isolants et les substances provenant des feuilles et des racines identifiés de citronnelle, il existe des alcaloïdes, de la saponine, (A-sistostérol, des terpènes, des alcools, des cétones, des flavonoïdes, chlorogénicacide, l'acide caféique, l'acide p-coumarique et sucres (Alves & Souza, 1960; Olaniyiet al., 1975; Hanson et al., 1976; Gunasingh & Nagarajan, 1981; Matouschek & Stahl, 1991; Chisowa et al., 1998). Ces huiles essentielles sont très riches en piperitone (Ketoh GK., et al., 2005, Koba K., et al 2004, Khadri A., et al., 2008).

Plusieurs travaux de recherche ont été faits visant à élargir la connaissance de la composition chimique des espèces de *cymbopogon* (Chisowa et al., 1998) in (Negrelle, R.R.B.; Gomes, E.C , 2007 ).

### **1.2.1.5. propriétés biologiques**

#### **1.2.1.5.1. Propriétés médicinales**

*Cymbopogon schoenanthus* est une plante aromatique de la famille des Poaceae très souvent utilisée dans la pharmacopée traditionnelle pour les traitements internes et externes. Ses propriétés médicinales sont connues depuis l'antiquité, étant déjà décrites par "Pline l'Eldey" dans son livre *Naturalis Historia*. Le Floc'h (1983), rapporte son utilisation contre certaines maladies telles que le rhumatisme et de la fièvre. Cet auteur décrit aussi son utilisation comme diurétique, insecticide et un cataplasme pour soigner les blessures de dromadaire. Dans la région de Djanet, elle est appréciée pour ses valeurs médicinales, employée comme diurétique (infusion), traite les troubles intestinaux et les intoxications alimentaires.

Les huiles essentielles de *Cymbopogon flexuosus*, *C. citratus*, *C. martinii*, *C. winterianus*, *C. nardus*, *C. khasianus*, *C. nervatus*, *C. schoenanthus*, *C. giganteus* et *C. densiflorus* possèdent plusieurs bioactivités utiles. En outre, les différents constituants chimiques tels que citrique, le géraniol, le citronellol, citronellal, linalol, limonène, piperitone, bornéol, bisabolol et isointermèdeol ont démontré des bioactivités remarquables, y compris l'activité anticancéreuse (Kumar A., et al., 2008). Plusieurs études ont montré les activités antitumorales et anticancerigènes de l'extrait de l'herbe de citron. Selon Kauderer et al. (1991), l'A-myrcène présente une activité antimutagène dans les cellules mammaires. Balboa et Lim (1995) a expliqué que les jus dérivés des feuilles de cette plante contiennent des inhibiteurs de la phase de développement de tumeurs cutanées. Cette espèce de *Cymbopogon* a une tendance significative dans les dix dernières années en pharmacutique et en médecine qui est dû à son potentiel bioactif.

#### **1.2.1.5.2. Propriétés alimentaires**

*Cymbopogon Spreng L.*, est une plante aromatique connue en Tunisie sous le nom de "El bekhirai", les jeunes feuilles (Frais) sont utilisés pour préparer des recettes traditionnelles. En raison de son arôme agréable très appréciée, cette plante est utilisée pour préparer le thé dans le nord de l'Afrique.

#### 1.2.1.5.3. Propriétés bactéricides et fongicides

Les huiles essentielles de citronnelle sont très connus par leur bactéricide et fongicide propriétés (Guenther, 1950; Pattnaik et al., 1995). Selon Onawunmi et al. (1984), des composés existant dans l'huile de cette plante, le gèranial, le Neral présente également un effet antimicrobien. Plusieurs espèces de *Cymbopogon* sont dénommées antifongiques contre les agents pathogènes riz, en particulier contre *Rhizoctonia solani* et *Sclerotium oryzae* (Naidu et John, 1981; Shimoniet al, 1993). L'huile obtenue à partir de *C. citratus* présente une activité anti-microbienne contre les bactéries, levures et champignons). L'huile essentielle a également présenté l'activité antifongique contre *Candida albicans* (Syed et al. , 1995; Chalchat et al., 1997; Hameret al, 1998); *Candida pseudotropicalis* et *Gyraseum Mycosporum* (Onawunmi, 1988), *Aspergillus niger* (Joarder & Khatun, 1982) et *Beauveria bassiana* (Raghavaiah & Jayaramaiah, 1987).

Cette huile végétale présente une activité d'inhibition de la croissance de champignons associés au stockage des céréales comme *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *Microphomina phaseoli* et *Penicilium chrysogenum* (Adegoke & Odesola, 1996). Ces extraits de plantes et /ou de l'huile essentielle, le citral, composé de cette huile présente une activité antibactérienne contre *Escherichia coli* (Ogulana et al., 1987), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*, *Neisseria perfringens gonorrhoeae*, *Clostridium* (Onawunmi et al., 1984; Onawunmi et al., 1988; Syed et al., 1995 ; El-Kamali et al. , 1998); *Pseudomonas fluorescens* (Adegoke & Odesola, 1996).

#### 1.2.1.5.4. Propriétés insecticides

La toxicité des huiles essentielles extraites de la plante aromatique *Cymbopogon schoenanthus* (Poacées) sur *C. maculatus*, a été démontrée par Ketoh et al. (2005).

Bouchikhi Tani et al. , ( 2010) ont constaté des propriétés insecticides des huiles essentielles extraites de *Cymbopogon schoenanthus* et d'*Artemisia herba-alba* sur la bruche *A. obtectus*. Selon Nafadjara et al, ( 2013), l'huile essentielle de *C. schoenanthus* et de ses composés majoritaires pipéritone et du  $\delta$ -2-carene a révélé des activités insecticides sur les larves de stade II de *Dysdercus voelkeri*. Des propriétés biologiques contre les parasites (Ketoh GK., et al., 2006).

## 1.2.2. *Artémisia judaica* ssp. *Sahariensis* (Chev.) Maire (Armoise de Judée)

### 1.2.2.1. Classification et dénomination vernaculaire

L'espèce *Artémisia judaica* ssp. occupe la position systématique suivante :

- **Règne** : Plantae
- **Embranchement** : Magnoliophyta
- **Sous-embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Sous-classe** : Asteridae
- **Ordre** : Gentianales
- **Famille** : Asteraceae
- **Genre** : *Artemisia*
- **Espèce** : *Artemisia judaica* ssp. *Sahariensis* (Chev.) Maire

Le nom latin d'*Artemisia* aurait deux origines possibles : soit du nom grec de Diane, Artemis, qui présidait aux accouchements et secourait les femmes malades, soit du nom de la femme de Mausole, roi de Carie .

*Artemisia judaica* est appelé en :

Arabe : Ba'atharan

Anglais : Judean wormwood

Targui: Téharagélé

Français : Armoise de Judée

### 1.2.2.2. Description Botanique

Le genre *Artemisia* (les armoises) regroupe des herbacées, des arbrisseaux et des arbustes, généralement aromatiques, densément tomenteux, pubescents ou glabres, de la famille des Astéracées. Leur feuilles sont pennées (rarement palmées) (Ozenda, P., 2004).

C'est un arbrisseau vivace, formant de grosses touffes vert bleuté atteignant 50 à 80 cm de hauteur. Les tiges sont plus ou moins ligneuses. Inflorescences en panicules denses très ramifiées. Les capitules jaunes bombés, jaune pâle, assez gros. La plante a une odeur agréable. Les petites feuilles très divisées sont couvertes d'un duvet argenté. Les inflorescences assez grosses, elles fleurissent au début du printemps. Les fruits sont des akènes petits ne dépassant pas 5 mm de taille. Flore et végétation du Sahara.

Cette plante est probablement l'absinthe de la Bible. C'est une plante assez commune des pâturages, surtout sablonneux. Elle est endémique du Sahara des pays Méditerranéens (Quezel et Santa, 1963)(Figure7).



**Figure 7:** *Artemisia judaica* ssp. Sahariensis (Chev.) Maire (Armoise de Judée)  
(<http://WWW.Sahara-Nature.com>)

### 1.2.2.3. Origine et distribution

Cette Armoise est saharo-arabique. La sous-espèce sahariensis, propre au Sahara central, abonde dans les lits d'oueds sablonneux. On la rencontre en fait dans de nombreuses régions, même sur sable grossier et gravillons. La sous-espèce est endémique au Maroc, Algérie et la Libye (Benhouhou S., 2005).

### 1.2.2.4. Composition chimique

Le screening phytochimique de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Artemisia judaica* a donné des flavonoïdes, des saponines, des terpènes et de tanins (Nofal et al., 2009). L'huile essentielle des parties aériennes d'*Artemisia judaica* L., comprennent 25 composants Pipéritone (45,0%) trans-éthyle cinnamate, (20,8%) et le éthyle-3-phényl propionate (11,0%) étaient les composantes prédominantes, suivies par spathulenol (6,27%), cis-éthyle cinnamate (5,64%), 2,6-diméthyl Phenole (1,39%) et le méthyl

cinnamate (1,06%). L'huile de l'armoise a une saveur caractéristique, pourrait donc être adapté pour l'utilisation en tant qu'agent antioxydant et de l'arôme dans l'industrie alimentaire (El-Massry, 2002).

#### 1.2.2.5. Propriétés biologiques

L'armoise a des propriétés diurétiques mais provoque à forte dose des insuffisances rénales. *A. judaica* a des constituants médicinaux importants qui pourraient être utilisés dans la production de médicaments pharmaceutiques. est largement utilisé dans la médecine traditionnelle en Egypte, il a été recommandé comme plante guérisseur et a un effet anti-diabétique (Nofal et al., 2009), et utilisé pour le traitement des troubles gastro-intestinaux (Liu et al., 2004). Al-Mustafa Et Al-Thunibat (2008), ont rapporté que *l'A. judaica* était parmi les plantes médicinales qui a le potentiel de l'activité antioxydante et utilisés par la population jordanienne comme un agent anti-diabétique traditionnelle. Les petites feuilles, séchées ou non, sont broyées avec les doigts et avalées avec un verre d'eau. A Djanet on ne manque pas d'en mettre quelques branches dans les vignes dès que les raisins sont bien formés afin qu'aucun effluve négatif ne les gêne. Il se peut que sa forte odeur chasse les insectes. Pendant les fêtes, en préventif, on prend une cuillère à soupe d'armoise avec un verre d'eau, ou une tisane, avant d'attaquer les fêtes, pour éviter les désagréments intestinaux (Benchelah Et Al., 2011). Elle aide en infusion à s'endormir, comme la menthe. Le goût est un peu amer.

L'utilisation de son huile essentielle contre *Callosobruchus maculatus* (Abd-Elhady, 2012) a fourni une bonne activité insecticide. La repulsivité de *C. maculatus* à l'égard de l'armoise (*C. ambrosioides*) est affirmée par Tapondjou *et al.* (2003). L'huile de l'armoise présente des propriétés répulsives à l'égard de *Rhyzopzrha dominica* et *C. maculatus* (Khalfi-Habbes O. 2007 ; Hacib H., 2005) . L'extrait de la plante Artemisia a montré un effet antioxydant très significatif ( Liu CZ, 2004).

De même, son utilisation comme inhibiteur du radical DPPH a montré une activité comparable à celles des antioxydants de synthèse (BHT et le Terbutyl hydroquinone) (El-Massry et al., 2002).

*A. judaica* présente des propriétés Anti-microbiennes contre *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* et *Rodotorula ruba* (Batanouny et al. 1999).

## **2. Données bibliographiques sur les huiles essentielles**

### **2.1. Définition**

Selon Abrassat (1988), les huiles essentielles sont des substances huileuses volatiles et odorantes que l'on peut extraire de certaines plantes appelées pour cette raison plantes aromatiques. Dans le langage courant, on les appelle indifféremment huile essentielle, essence de plante, essence aromatique ou encore extrait aromatique de plante.

La norme **AFNOR NF T 75-006 (Anonyme, 2000)** définit une huile essentielle comme étant un produit obtenu à partir d'une matière première végétale soit par entraînement à la vapeur d'eau soit par des procédés mécaniques. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques.

### **2.2. Intérêt thérapeutique, écologique et économique des huiles essentielles**

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne. Cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre. Dans les domaines phytosanitaires et agroalimentaires, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires.

Les huiles essentielles jouent un rôle écologique dans les interactions végétales, végétale-animales et pourraient même constituer des supports de communication par des transferts de messages biologiques sélectifs. En effet, elles contribuent à l'équilibre des écosystèmes, attirent les abeilles et des insectes responsables de la pollinisation, protègent les végétaux contre les herbivores, les rongeurs, et les prédateurs (acariens, nematodes, insectes...), possèdent des propriétés antifongiques, antibactériennes, allopathiques dans les régions arides et peuvent servir de solvants bioactifs des composés lipophiles.

Traditionnellement, les huiles essentielles sont présentes dans le processus de fabrication de nombreux produits finis destinés aux consommateurs. Ainsi, elles sont utilisées dans l'agroalimentaire (gâteaux, biscuits, soupe, sauce, chewing gum, chocolats, bonbons...) pour aromatiser la nourriture. Elles sont également utilisées dans l'industrie de la parfumerie, de la cosmétique et de la savonnerie. On les utilise aussi dans la fabrication des adhésifs (colle, scotch ...), et celle de la nourriture pour animaux, dans l'industrie automobile, dans

la préparation des sprays insecticides. L'homéopathie et l'aromathérapie sont des exemples courants d'usage d'huiles essentielles en médecine douce, et leur popularité s'est accrue d'une façon considérable ces dernières années.

### **2.3. Propriétés physiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont des substances liquides plus ou moins épaisses ayant une odeur souvent forte et très caractéristique.

Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, dans l'éther, dans les huiles mais insolubles dans l'eau à laquelle pourtant elles communiquent leur odeur. Elles sont rarement utilisées pures à cause de leur haut pouvoir d'action.

Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles ce qui les différencie des huiles fixes et perdent rapidement leurs propriétés. Elles commencent à vieillir au bout de six mois et on admet qu'elles n'ont pratiquement plus de propriétés thérapeutiques après deux années (Abrassat, 1988). Elles perdent d'autant plus rapidement leurs propriétés qu'elles sont exposées à la chaleur ou à la lumière. C'est pour cette raison que toutes les huiles essentielles doivent être impérativement stockées dans des flacons de verre teintés bien fermés et doivent être conservées dans un endroit frais (Bruneton, 1999).

### **2.4. Localisation des huiles essentielles dans le végétal**

Les huiles essentielles se trouvent dans tout le règne végétal. Elles sont emmagasinées dans des structures spécialisées de la plante au niveau des fleurs, des feuilles, des fruits, des graines, des écorces, ou des racines. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule.

On comprend dans ces conditions qu'il ne puisse pas exister un procédé unique d'obtention des huiles essentielles. Bien au contraire les moyens les plus divers ont été mis en œuvre pour retirer des végétaux les essences aromatiques avec les rendements les plus élevés tout en conservant aussi intact que possible les parfums les plus délicats.

### **2.5. Composition chimique des huiles essentielles**

La chimie des huiles essentielles est extrêmement complexe. Leur composition varie selon la partie de la plante utilisée (bois, racine, écorce, fleur, feuille, tige, semence) et la

variété. De plus, une même variété peut produire une huile essentielle très différente, selon les conditions climatiques, géographiques et agronomiques où elle évolue.

La variation de la composition des huiles essentielles de la même plante peut être attribuée à des différences dans la méthode de l'isolement et de l'équipement utilisé. En outre, la variation entre les études peut être dû à des différences de temps, l'emplacement, les variétés végétales ou le temps de la récolte ( Wong et al. 2005 et Bakkali et al. 2008).

En règle générale, les composants des huiles essentielles se divisent en deux grands groupes : les terpénoïdes et les composés aromatiques.

### 2.5.1. Les terpénoïdes

Ce sont des hydrocarbures de nature terpéniques dont la formule générale est  $(C_5H_8)_n$ . Ces terpènes sont des substances volatiles à masse moléculaire peu élevée. Les plus fréquents sont les monoterpènes ( $C_{10}H_{16}$ ), les sesquiterpènes ( $C_{15}H_{24}$ ) sont moins répandus.

### 2.5.2. Les monoterpènes

Ce sont des stimulants généraux, des antiseptiques, et des décongestionnants. Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle notamment chez les citrus. Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène...), monocycliques ( $\alpha$  et  $\gamma$ -terpinène) ou bicycliques (pinène, camphène, limonène). En plus de ces carbures, plusieurs molécules sont rencontrées dans les huiles essentielles parmi lesquelles nous citons :

**Les phénols** : Ce sont des molécules anti-infectieuses puissantes qui tuent directement les bactéries par destruction de leur membrane cellulaire (Ausloos, 2002). Très acides, les phénols modifient fortement le terrain biologique dans un sens favorable à la santé, ils sont de puissants énergisants. En plus de leur activité bactéricide les phénols sont des virucides, des fongicides tels que le thymol dans le thym et l'eugénol dans le clou de girofle.

**Les aldéhydes** : Ils sont de deux types : les aldéhydes aromatiques et les aldéhydes terpéniques. Les premiers ont des propriétés et des effets secondaires identiques aux phénols tandis que les aldéhydes terpéniques sont des calmants, des anti-inflammatoires et des antalgiques. Plus exactement, les phénols donnent aux huiles essentielles leurs propriétés anti-infectieuses, et les aldéhydes leurs propriétés anti-inflammatoires.

**Les cétones** : Ce sont des composés très actifs à faibles doses. Les cétones sont calmantes et sédatives. A forte doses, elles sont neurotoxiques, épiléptisantes (pinocamphone dans *l'Hyssopus officinalis* L.). Elles sont faiblement antiseptiques mais surtout immunostimulantes et cicatrisantes comme le cas du menthol (menthe), et du camphre (le romarin, la sauge).

**Les alcools** : Ce sont des immunostimulants, ils possèdent d'excellentes propriétés anti-infectieuses, bactéricides, virucides et fongicides. Signalons le gèranil (rose et géranium), et le linalol (thym, lavande).

**Les acides** : Ils sont généralement présents à l'état de traces dans les huiles essentielles, et souvent sous la forme combinée d'esters. Etant très solubles, les acides se trouvent davantage dans les eaux de distillation (hydrolats) comme l'acide benzoïque et l'acide cinnamique.

**Les esters** : Ils ont une action antispasmodique et calmante comme l'acétate de linalyle (bergamote, lavande). Ils agissent surtout sur le système nerveux et sont considérés préférentiellement comme antispasmodiques mais aussi comme rééquilibrant nerveux.

**Les oxydes** : 1,8-cinèole (eucalyptol) et aussi les éthers cycliques, tétrahydrofuraniques qui pour certains, jouent un rôle majeur dans l'arôme des fruits (oxyde de linalol, oxyde de roses).

### 2.5.3. Les sesquiterpènes

Ces composés sont souvent représentés en faibles quantités dans les huiles essentielles et n'apportent pas ou peu d'effets toxiques. On trouvera quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles : carbures mono ou polycycliques ( $\beta$ -bisobolène,  $\beta$ -caryophyllène), les alcools (farnésol, carotol), les cétones (cis-longipinane-2,7-dione), les aldéhydes (sininsals) et les esters (acétate de cedryle) (Bruneton, 1999).

### 2.5.4. Les composés aromatiques

Les composés de cette série sont beaucoup moins fréquents que les monoterpènes et les sesquiterpènes. Les composés aromatiques dérivés du phenylpropane ( $C_3$ - $C_6$ ) sont très souvent des allyles et prophenylphenols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'*Apiaceae* telle que l'eugénol et l'apiol.

### **2.5.5. Les composés d'origine diverses**

Les huiles essentielles peuvent aussi renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire entraînés lors de l'hydrodistillation comme des carbures, des acides (C<sub>3</sub> à C<sub>10</sub>), des alcools, des esters, des lactones (Bruneton, 1999)

### **2.6. Effets indésirables des huiles essentielles**

Les études toxicologiques ne sont pas encore suffisamment nombreuses pour réglementer l'emploi général des huiles essentielles. Les huiles essentielles sont très puissantes et certaines pourraient avoir des effets secondaires ou toxiques si elles sont utilisées à mauvais escient ou en surdosage. Les huiles essentielles de moutarde et de sabine ne sont pas commercialisées car elles sont vésicantes et nécrosantes. Les huiles essentielles riches en cétones (thujone, menthone) présentent une toxicité pour les tissus nerveux immatures ou fragilisés. Les huiles essentielles du Genévrier de térébenthine stimulent l'activité rénale et peuvent irriter les néphrons des patients souffrant d'insuffisance rénale. Les huiles essentielles phénolées enrichies en aldéhyde sont très agressives pour la peau. C'est pour cela que tout individu possédant un terrain allergique devra tester l'huile essentielle retenue pour son usage.

### **2.7. Analyse des huiles essentielles**

Parmi les méthodes d'analyse des huiles essentielles, les méthodes chromatographiques sont les plus utilisées. La chromatographie est une technique d'analyse qui consiste à séparer les constituants d'un mélange par entraînement au moyen d'une phase mobile (gaz vecteur) le long d'une phase stationnaire qui peut être solide ou liquide fixée.

Vu le nombre de composés et la diversité des constituants d'une huile essentielle, la chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire en programmation de température est la mieux adaptée pour la séparation et l'analyse de ces mélanges complexes (Viala, 1998).

#### **2.7.1. La chromatographie en phase gazeuse**

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique dont l'application remonte au début des années 40. Elle a concerné le contrôle des fractions légères des raffineries de pétrole. Son développement qui n'a cessé depuis, est dû à son extrême sensibilité, à sa polyvalence conférée par les nombreuses phases stationnaires et les nombreuses analyses mises au point (Stahl, 1974).

La phase mobile est un gaz inerte, qui ne réagit pas chimiquement, il est généralement pur (azote, hélium,..). Ce gaz vecteur présente une propriété physique très différente de celle du soluté à analyser. En effet, la détection du soluté à examiner sera possible grâce à cette différence de propriétés physiques.

A part le four avec tout son réglage électronique pour garantir la température exacte à chaque instant de l'analyse (iso thermique ou programmation de température), les éléments essentiels de l'appareillage sont :

- une chambre d'injection,
- une colonne de séparation
- un système de détection. (Multon et Richard, 1992)

#### ●Chambre d'injection

La colonne est précédée d'une chambre d'injection à température plus élevée, pour faciliter l'évaporation des échantillons.

#### ●Colonne

La colonne contient la phase stationnaire (liquide ou solide). Cette dernière qui est traversée par le gaz vecteur, transportant le soluté volatilisé à analyser constitue la partie la plus importante où se produit la séparation des constituants. Cette séparation des constituants du soluté à analyser s'effectue selon un coefficient de partage.

#### ●Détecteur

A la sortie de la colonne est placé l'élément nécessaire à l'analyse qui est le détecteur, ce dernier permet d'enregistrer en continu la variation de la concentration en fonction du temps sous forme d'un chromatogramme.

### 2.7.2. La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse (SM) désigne une méthode d'analyse qui repose sur la détermination des masses des espèces atomiques ou moléculaires individuelles de l'échantillon à analyser, ce qui permet de réunir des informations relatives à sa structure (Constantin, 1986). Cette dernière est basée sur le calcul direct du rapport de la masse au nombre de charges élémentaires ( $M/Z$ ), positif ou négatif, d'ions en phase gazeuse obtenus à partir de la substance à analyser.

Les ions formés dans la source de l'appareil, sont accélérés, puis séparés par l'analyseur" avant de rejoindre le "détecteur". L'ensemble de ces opérations s'effectue dans une enceinte où est maintenu grâce à un groupe de pompage un vide de  $10^{-3}$  à  $10^{-6}$  Pa.

Le spectre obtenu représente l'abondance relative des différentes espèces ioniques, comme une fonction de M/Z; le signal correspondant à un ion comporte plusieurs pics correspondant à la distribution statistique des différents isotopes qui le constitue. On parle de "profil isotopique" et, au moins dans le cas des molécules de petites taille, le pic correspondant aux isotopes les plus abondants de chaque atome est appelé "pic mono isotopique" (Viala., 1998).

### **2.7.3. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse**

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse identifie les différents constituants d'un mélange grâce à leur spectre de masse. Les molécules, séparées par CPG, sont ionisées à l'état gazeux dans un vide très poussé et soumises à des champs électriques et magnétiques puissants. Les fragments dissociés sont sélectionnés en fonction du rapport de leur charge électrique.

La masse moléculaire d'un composé organique est relativement peu caractéristique : de nombreuses substances ont la même composition globale en éléments simples (carbone, oxygène, hydrogène, azote, etc.....), mais se différencient en fonction de l'arrangement de leurs groupements fonctionnels. Sous l'action d'un impact électronique elles vont se scinder au niveau des zones de liaison particulièrement fragiles, libérant spécifiquement des espèces ioniques, plus courtes de masse déterminée (Constantin, 1986).

Le couplage informatique permet en outre d'identifier les spectres obtenus, par référence à la bibliothèque mise en mémoire dans l'appareillage (Viala, 1998).

## **2.8. Activités biologique des huiles essentielles**

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires (J. Pellecuer., et al. 1980) ou au niveau de la microflore vaginale (C. Viollon., et al 1994), et d'origine fongique contre les dermatophytes (Chaumont and LEGER, 1989). Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques (Sivropoulou., et al 1996) qui les

rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Dans les domaines phytosanitaires et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (J. Pellecuer., et al. 1980).

### **2.8.1. Activité antioxydante**

La génération des espèces réactives de l'oxygène dénommé ROS (Reactive Oxygen Species) se produit naturellement au cours de la respiration cellulaire. Les ROS désignent une appellation collective et comprennent les radicaux libres et certaines molécules qui sont des agents d'oxydation et ou facilement convertis en radicaux. Les ROS dont les plus courants : le radical hydroxyl ( $\bullet\text{OH}$ ), l'anion superoxyde ( $\bullet\text{O}_2^-$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), le dioxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ) endommagent la vie cellulaire en causant l'oxydation des lipides, des protéines et de l'acide désoxyribonucléique (ADN).

Depuis à peu près **1980**, les antioxydants naturels sont apparus comme alternative aux antioxydants synthétiques qui sont souvent considérés comme toxiques, et ils sont aujourd'hui généralement préférés par les consommateurs, ce qui impose l'orientation du marché vers des antioxydants d'origine naturelle (Macheix, 2006).

La capacité des huiles essentielles est étroitement liée à tout le contenu phénol ont montré dans une étude portant sur l'huile essentielle de Thymus (Thymus vulgare L.), que les chemotypes phénolique (linalool) sont capables de réduire le radical 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl, avec un effet plus élevé enregistré pour les chémotypes phénoliques (Macheix, 2006).

### **2.8.2. Activité antimicrobienne**

Les microorganismes sont présents dans l'environnement naturel de l'homme (eau, sol, surfaces diverses...), sur l'homme lui-même et sur tous les êtres vivants- plantes et animaux- dont il tire son alimentation. De ce fait le risque de contamination pour un produit alimentaire est permanent tout au long de la chaîne alimentaire. Selon les germes implantés, les contaminations peuvent avoir de plus ou moins grandes conséquences allant de la simple altération du produit, lui faisant perdre ses qualités organoleptiques ou sa valeur commerciale,

à des toxi-infections pouvant avoir de graves incidences sur la santé du consommateur (Bourgeois et al., 1996).

Dans le but de remédier à ce problème, plusieurs moyens de lutte sont proposés, leur rôle est soit d'inhiber la croissance des microorganismes ou de les détruire complètement. La tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation plus naturelle, à entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour des substances naturelles. Depuis deux décennies, des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications est l'exploitation des propriétés antiseptique des huiles essentielles et d'extraits phénoliques dans le domaine alimentaire (Oussalah et al., 2007).

Les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols : thymol, carvacrol et eugénol. Les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utilisés contre les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelle que soit leur localisation. Le thymol et l'eugénol sont responsables des activités fongicides et bactéricides des huiles essentielles qui en contiennent. La molécule de thymol exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches et, parmi elles, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, sur lesquelles elle provoque des fuites d'ions potassium (H. J. D. Dorman & coll., 2000).

Selon (Oussalah et al., 2006) la composition des huiles essentielle d'une même espèce varie selon la localisation géographique, les conditions climatiques, la période de récolte, la partie de la plante utilisée, par conséquent, leurs propriétés antimicrobiennes varient également. Il est donc important de sélectionner une huile essentielle standardisée dont les composants actifs sont clairement identifiés et quantifiés.

Parmi ses facteurs qui favorise ou inhibe l'action antimicrobienne en cite :

### **A-Nature de l'agent antimicrobien**

Un agent antimicrobien est caractérisé par son spectre d'activité, c'est-à-dire le nombre d'espèces vis-à-vis desquelles son pouvoir bactériostatique ou bactéricide s'exerce (Ait Guenissaid, 2008). Généralement, plus un agent chimique est concentré ou plus un agent physique est intense, plus les microorganismes sont détruits rapidement. Parfois, un agent est plus efficace à plus faibles concentrations. C'est le cas de certains agents chimiques dont l'activité s'accroît en présence d'eau (Prescott et al, 2007). L'activité de certains agents

chimiques dépend de leur stabilité, pour d'autres l'activité est liée à leur décomposition (Guiraud, 2003).

### **B-Type du microorganisme**

La sensibilité des microorganismes peut varier selon le germe testé car une huile essentielle peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, biostatique vis-à-vis d'autres ou n'avoir aucun effet (Hermal, 1993). C'est pour cela qu'il est important de mentionner la dénomination complète ainsi que le Gram des microorganismes ainsi que l'espèce botanique et le chémotype de l'huile essentielle. La susceptibilité des bactéries est en effet indépendante du Gram (Dorman et Deans, 2000) ou dépend des huiles essentielles utilisées (Deans et Ritchie, 1987). Il semblerait tout de même qu'en règle générale, les bactéries à Gram négatif soient plus résistantes aux huiles essentielles. Ces résultats sont confirmés par de nombreuses expériences (Cosentino et *al.*, 1999 ; De Billerbeck, 2000).

Selon Caillet (2007), les huiles essentielles possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches de bactéries, mais d'une manière générale leur action se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

### **2.8.3. Activité insecticide par l'utilisation des huiles essentielles**

L'utilisation des huiles essentielles dans la lutte contre les insectes remonte aux anciennes civilisations, tout d'abord en Orient et au Moyen Orient, et par la suite au nord de l'Afrique et en Europe (Thiam et Ducommun, 1993; Franchomme et al., 1990). Plusieurs auteurs, comme Vincent et al. (2000), Ntezurubanza (2000), Isman (2000), Regnault - Roger et al. (1993), Thiam et Ducommun (1993), Rodgers (1993), rapportent qu'un nombre important d'espèces de plantes riches en huiles essentielles est utilisé comme moyens traditionnels de protection des stocks.

De nombreux chercheurs, qui sont à la recherche des insecticides efficaces, peu rémanents, respectueux de la santé humaine et de l'environnement, se sont penchés sur l'utilisation des plantes aromatiques. Ainsi, de nombreux travaux ont été réalisés dans ce sens pour le contrôle des ravageurs des grains stockés. D'après Isman (2000) et Kéita (1999), plus de 1000 plantes recensées aujourd'hui ont des propriétés variant de la dissuasion à la répulsion avec association de l'antiappétence ou la létalité contre les ennemis des cultures et des stocks. Mais l'évaluation scientifique de l'efficacité de ces substances dans les situations réelles dans les stocks n'a que rarement été démontrée.

Aujourd'hui, l'utilisation des huiles essentielles comme insecticide est devenue une piste d'avenir à intérêt scientifique important. L'une des plantes qui a fait l'objet d'un nombre important d'études scientifiques est le neem (*Azadirachta indica* A. Juss). C'est l'une des principales sources d'insecticides botaniques de nos jours.

De nombreux chercheurs se sont également intéressés à l'évaluation des effets insecticides d'autres espèces de plantes médicinales utilisées par les paysans (Regnault-Roger et al., 2008; Isman, 2006; Thiarn et Ducommum, 1993). Au Togo par exemple, Ketoh et al. (1998) ont évalué les effets de plusieurs plantes sur *Callosobruchus maculatus* Fab.; Les plantes à toxicité élevée étaient *Cymbopogon shoenanthus* Cernel. et *Lavandula* (sp) Swiss.

Selon Glitho(2002), des programmes de recherche sur les insecticides naturels ont été initiés dans de nombreux pays tels que le Togo, le Bénin, le Burkina Faso, le Niger à la suite des Colloques internationaux du réseau Africain de recherche sur les Bruches (REARB). Ces programmes de recherche sur les huiles essentielles ont débouché sur de très nombreuses communications et publications scientifiques en Afrique, en Europe, en Amérique comme celles de (Glitho et al., 1997; Seck et al., 1996; Koumaglo et al., 1996a; Koumaglo et al., 1996b; Gakuru et Foua-Bi., 1995; Koumaglo et al., 1994; Weaver et al., 1994; Niber et al., 1992; Sube et al., 1991; Lale, 1991; Seck et al., 1991; Iwuala et al., 1981). Par exemple, Seck et al. (1996) ont mené des études dans des systèmes hermétiques de stockage et ont montré que l'utilisation des fruits des *Boscia senegalensis* Pers, à la dose de 1,2g/lL réduit considérablement les émergences de *C. maculatus* F. Aux doses de 2,4 à 4,8g/lL, l'émergence de la nouvelle génération de cette espèce est complètement inhibée.

Plusieurs plantes testées sur les Coléoptères du genre Bruchidae, ravageurs du maïs, du manioc et du haricot ont montré un effet insecticide et ovicide (Glitho et al., 2008; Monge et al., 1988). C'est le cas de l'effet des feuilles de *Boscia senegalensis* (pers.) testées sur les adultes de *Bruchidius atrolineatus* (Pic.) et ceux de *Callosobruchus maculatus* (Fab.) par Alzouma et Boubacar (1987) au Niger. Au Congo, les effets similaires ont été notés aussi pour les feuilles de *Chenopodium ambrosioides*, de *Cymbopogon schoenanthus* et de *Lavandula* (sp) sur les Bruches surtout les adultes de *C. maculatus* par Delobel et Malonga, (1987). Les auteurs comme (Ketoh et al., 2002; Békele et Hassanali 2001; Ketoh et al., 1998; Baba-moussa et al., 1997) ont également noté les mêmes effets pour *Ocimum kilimandscharicum* et *Ocimum kenyse* (Labiatae) sur les bruches au Bénin et au Togo.

Les études faites par Koumaglo et al. (1998) à l'Université du Bénin, ont montré que l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* Camel. avait un effet toxique sur différents stades de développement de *C. maculatus* ainsi que sur la survie des adultes. Les auteurs ont observé également, une forte diminution de la ponte de la femelle et une inhibition du développement des œufs frais et des larves. Ils ont conclu que la plante possède des propriétés insecticides intéressantes contre *C. maculatus*. De plus, les vapeurs d'huile essentielle de *Seseli indicum* L. protègent les graines de pois contre les insectes ravageurs. Il a vaporisé 30 ml d'huile de lemongrass ou *Cymbopogon citratus* Stapf et d'*E. camaldulemis* sur 20 charançons placés séparément dans des boîtes de Pétri, il a obtenu 86, 95 et 83% de mortalité chez les charançons. Cinq millilitres de citronnelle ont provoqué la mortalité de 100% des charançons après 30 minutes de contact. Ces travaux ont montré que les huiles essentielles de ces plantes sont biologiquement actives contre les termites et les charançons par contact direct ou par vaporisation, à l'échelle du laboratoire et sur le terrain (dans le cas des termites).

Ces travaux ont contribué à la compréhension des activités insecticide, répulsive, antiappétante de certaines substances végétales vis-à-vis des insectes (Foua-Bi, 1992; Caswell, 1968). Ils ont permis également aux chercheurs, d'orienter les travaux sur la recherche des métabolites responsables de ces actions insecticides afin de les identifier, les isoler et les doser pour enfm, s'intéresser à leur formulation. C'est ainsi qu'il a été démontré que l'extrait du neem constitue un mélange de plus de 100 composés qui sont responsables de la mortalité des insectes testés (Addea-Mensah, 1998; Mordue et Blackwell, 1993; Zongo et al., 1993). Gauvin et al. (2003) ont montré que l'azadirachtine (C3~14016) était la principale composante à propriétés insecticides des extraits de neem.

Selon Garneau (2001), les terpènes et les phénypropanes, principaux constituants des huiles essentielles, sont aussi responsables des activités insecticides.

Toutes ces informations ont contribué à faire comprendre que les effets insecticides des plantes dépendent de leur composition chimique et du niveau de sensibilité des insectes testés (Isman, 2002; Casida, 1990). Selon Garneau, (2001) et Garneau et al. (1996), chaque plante est un cas particulier qu'il faut regarder et analyser parce que la composition chimique des huiles essentielles des plantes varie en fonction des espèces de plante, en fonction des facteurs géographiques, climatiques, annuels ou saisonniers. Elle pourrait également varier d'un peuplement à l'autre et, à l'intérieur d'un même peuplement, d'un individu à l'autre.

De nos jours, les constituants de beaucoup d'huiles essentielles possédant des activités neurotoxiques pour les insectes sont connus (Sanon et al., 2002). Mais, l'état actuel des connaissances sur le pouvoir insecticide des extraits de beaucoup d'autres plantes n'est pas suffisant pour estimer leur pouvoir insecticide dans les laboratoires et dans les champs.

Bostanian et al. (2005) affirment que les substances doivent être toxiques pour les ravageurs ciblés et en même temps avoir peu d'effets sur les agents biologiques tels que les prédateurs et les parasitoïdes. Ces critères importants doivent être satisfaits avant l'utilisation d'une préparation à l'échelle commerciale.

# Matériels et méthodes

## 1. Matériel biologique

### 1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de 6 échantillons de citronnelle (*Cymbopogon schoenanthus* L. (Spreng)) provenant de différentes régions du Sahara Algérien : Tamanarasset (Hoggar), Djanet (Tassili), Ouargla, El-Goléa ou Menia, Ghardaia et Bechar. Ainsi qu'*artemisia judaica* provenant de Djanet et d'un échantillon d'armoïse *A. judaica* provenant de Djanet (Tassili). L'authentification de ces espèces a été réalisée au département de botanique de l'ENSA par comparaison avec les spécimens de l'herbier et la confirmation des professeurs du département.

Les critères de choix reposent sur la disponibilité de la plante sur le territoire national, sur son usage en pharmacopée traditionnelle locale, et sur ses propriétés insecticides, antimicrobiennes et antioxydantes, relatées dans la littérature.

### 1.2. Matériel animal

#### 1.2.1. *C. maculatus* (Coleoptera : Bruchidae)

Le matériel biologique animal qui a été retenue pour notre étude est la Bruche du pois chiche *C. maculatus* (Coleoptera : Bruchidae), en raison de son importance économique et son large distribution. Ce ravageur s'élève facilement au laboratoire ce qui nous permet de tester nos huiles essentielles sur un nombre important d'individus.

#### 1.2.2. Sélection des souches antimicrobiennes

Le choix des souches est basé sur plusieurs paramètres:

- pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires ;
- les souches sont choisies pour leur résistance naturelle à divers types d'agents antimicrobiens.

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées, nous avons utilisé quelques souches sauvages, qui ont été choisie pour leur fréquence élevée de contamination ; sauf pour *Saccharomyces cerevisiae* dont le choix a été pour confirmer l'activité antifongique de nos produits.

Ce sont des lots de « American Type Culture Collection » ATCC ; déposés par repiquage, avant chaque test, pour les purifier (Tableau 1).

**Tableau 1:** les souches utilisées dans l'étude antimicrobienne des HE :

La souche		Famille	N. ATCC	Milieu de culture	
Bactéries	Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	Micrococcaceae	6538	Muller-Hinton
		<i>Bacillus subtilis</i>	Bacillaceae	937	
	Gram-	<i>Escherichia coli</i>	Enterobacteriaceae	24157	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pseudomonadaceae	4352	
Levures		<i>Candida albicans</i>	Cryptococcaceae	24433	Sabouraud
		<i>Saccharomyces</i>	Saccharomycetaceae	2601	
		<i>Cerevisiae</i>			

ATTC : American type culture collection

TSA (Tryptic Soy Agar) : milieu favorable au développement des bactéries (repiquage des souches)

Muller-Hinton : Milieu Favorable à la croissance des bactéries.

Sabouraud : Milieu connu comme étant favorable au développement des levures.

## 2. Extraction des huiles essentielles

100 gde matière végétale constituée des parties aériennes (feuilles et tiges) sont introduites dans un ballon de 2 litres rempli d'eau jusqu'au 2/3 de sa capacité. L'ensemble est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon. La vapeur d'eau chargée de produits volatils monte dans la colonne de récupération vers le réfrigérant où elle sera condensée. Le condensât recueilli se sépare en deux phases : une phase aqueuse (plus dense) constitue la phase inférieure et une phase organique (phase supérieure) constituant l'huile essentielle. Cette dernière est ensuite séchée avec du sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) afin d'éliminer

toutes traces d'eau. Les huiles essentielles sont conservées au réfrigérateur dans des flacons en verre brun, hermétiquement fermés, à l'abri de la lumière et à une température de 0 à 4°C en vue de leurs utilisations.

### 3. Rendement de l'extraction

Le rendement en huile essentielle est exprimé en volume (millilitres d'huile) pour 100 g de matière végétale sèche.

$$Rdt(\%) = VHE / 100g \text{ matière végétale sèche}$$

### 4. Préparation d'extraits non volatils

Dans le présent travail, en plus des huiles essentielles nous avons élaboré et testé l'extrait méthanolique non volatile de trois échantillons (Tamanrasset, Béchar et El-Goléa). Les extraits méthanoliques ont été obtenus en utilisant un extracteur de soxhlet (extraction solide-liquide).

#### 4.1. Mode opératoire

Les feuilles et les tiges des échantillons étudiées ont été broyées et réduites en poudre fine. 20g de la poudre obtenue ont été placés dans une cartouche en cellulose et extraits avec 200 ml de méthanol sous à un chauffage à reflux total pendant 6 heures (solvant devenu incolore). Le solvant riche en substances extraites, a été récupéré dans un ballon et concentré avec un évaporateur rotatif, puis lyophilisé. L'extrait sous forme de poudre ainsi récupéré a été placé dans un dessiccateur, pesé et conservé à 4-6°C. Le rendement en extrait éthanolique est calculé selon la formule suivante : **Taux de la matière extraite (%) = (P<sub>1</sub>/P<sub>0</sub>). 100**

Avec :

$P_1$  = Poids de l'extrait après lyophilisation (g)

$P_0$  = Poids de l'échantillon (20g)

### 5. Dosage des composés phénoliques des extraits

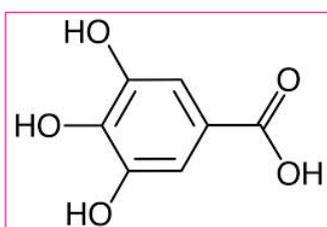
#### 5.1. Dosage des polyphénols

La teneur en composés phénoliques est évaluée selon la méthode Folin-ciocalteu décrite par Singleton et al. (1999) utilisant l'acide gallique comme standard.

### 5.1.1. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune, constitué de poly hétérocycles acides contenant l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ), dont la réaction est :

Oxydation des phénolates  $\rightarrow$  réduction des polyheterocycles  $\rightarrow$  formation d'un complexe molybdène ( $Mo_8O_{23}$ )-tungstène ( $W_8O_{23}$ ) stable bleu qui absorbe fortement à une longueur d'onde de l'ordre 765 nm. Le phénol standard utilisé dans cette méthode est l'acide gallique dont la formule chimique est la suivante (**Figure 8**) :



**Figure 8: Acide gallique**

### 5.1.2. Mode opératoire

Un volume de 0,25ml d'extrait dilué est mélangé à 1,25 ml de réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 minutes de temps de réaction du mélange, 1ml de la solution de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à une concentration de 75g/l est ajouté. Après 30 minutes à l'abri de la lumière et à température ambiante, l'absorbance est lue à 765 nm. L'expérience est répétée trois fois pour chaque concentration d'extrait.

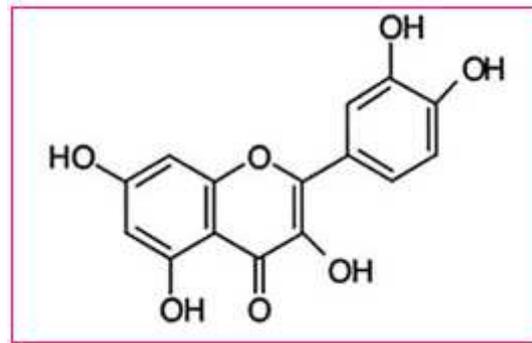
La même procédure est appliquée au standard d'acide gallique. Ainsi la concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et sera exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/100 g extrait).

## 5.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est estimée selon la méthode au trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) modifiée (Lamaison et Carnet, 1990).

### 5.2.1. Principe

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe avec les flavonoïdes dont on dose l'absorbance à 420 nm. Le flavonoïde standard utilisé dans cette méthode est la quercétine dont la formule chimique est la suivante (**Figure 9**)



**Figure 9: Quercetine (flavnoide)**

### 5.2.2. Mode opératoire

1ml de l'extrait dilué est ajouté à 1ml de la solution de chlorure d'aluminium. Après 1heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 420 nm. Cette expérience est répétée trois fois. La teneur en flavonoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine et sera exprimée en mg équivalent quercétine par g d'extrait (mg EQ/g extrait).

## 6. Analyse qualitative et semi-quantitative des huiles essentielles par GC et GC/ SM

### 6.1. Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse (GC)

L'analyse des huiles essentielles des différents échantillons a été effectuée au laboratoire d'analyse instrumentale du département de technologie alimentaire à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique sur appareil de type CP. Chrompack 9002, selon les conditions opératoires suivantes : Colonne capillaire : HP 5MS de phase stationnaire (5% Phenyl methyl siloxane) de longueur : 30 m ; et de diamètre interne : 0.25 mm ; épaisseur du film de la phase 0,25  $\mu\text{m}$ . Températures de l'injecteur et du détecteur (FID), 250 et 320°C, respectivement. Programmation de la température : 60°C pendant 8 min puis augmentation de la température à raison de 2 °C/min jusqu'à 280 °C ; maintenue en isotherme pendant 15 min. Gaz vecteur : Azote. Débit du gaz vecteur : 1 ml/min. Volume injecté : 0,2  $\mu\text{l}$  dans le mode d'injection split avec un rapport de division de 1/20.

Les concentrations relatives des constituants des huiles sont obtenues à partir des aires des pics obtenus par GC-FID.

## 6.2. Analyse qualitative des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS)

Cette analyse a été effectuée au Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques (CRAPC) sur un appareil du type **HP6890 N** (*HP Agilent technologies*) couplé à un spectromètre de masse **3973 A** (*HP Agilent technologies*), selon les conditions opératoires suivantes : Colonne capillaire: HP5MS (5% Phenyl methyl siloxane) ; longueur : 30 mètres ; diamètre interne: 0,25 mm ; épaisseur du film de la phase: 0,25 µm ; température d'injection : 250 °c ; gaz vecteur: hélium ; débit du gaz vecteur: 5 ml/ min ; volume injecté: 0,2 µl dans le mode split avec un rapport de division de 1/20. La programmation de température du four est identique à celle décrite ci-dessus dans la section : analyse par CPG. Le potentiel d'ionisation est de 70 eV. Le mode de détection est Scan dans la gamme 30-550 unités de masse atomique.

## 6.3. Identification des constituants des huiles essentielles

L'identification des constituants des huiles essentielles est basée sur la comparaison des indices de rétention (**IR**) déterminés par rapport à une série de *n*-alcanes (C<sub>9</sub>-C<sub>17</sub>) injectés dans les mêmes conditions que les huiles essentielles par rapport à ceux de certains composés purs disponibles dans le laboratoire (étalons : **Et**) ainsi qu'à ceux disponibles dans la littérature (Babushock et *al.*, 2011). En parallèle nous avons comparé les spectres de masse des pics à ceux stockés dans les banques de données informatiques (**Wiley 7N et NIST 2005**) reliées à l'appareil GC-MS et par comparaison aussi des spectres à ceux de la bibliographie (Adams, 2007). Les indices de rétention **IR** sont calculés selon la formule suivante :

$$IR = 100z + 100n \cdot \frac{TR_c - TR_z}{TR_{z+n} - TR_z}$$

*Avec:*

- **TR<sub>c</sub>**: Temps de rétention du composé étudié (**mn**);
- **TR<sub>z</sub>**: Temps de rétention de l'alcane à **z** atomes de carbone qui précède le composé étudié (**mn**);
- **TR<sub>z+n</sub>** : Temps de rétention de l'alcane à **z+n** atomes de carbone qui suit le composé (**mn**);
- **n**: Différence des nombres d'atomes de carbone (n est généralement égal à 1);

## 7. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

L'activité antioxydante a été évaluée *in vitro* par trois méthodes de référence citées dans la littérature : l'activité d'inhibition du radical **DPPH<sup>•</sup>** ou (**2-2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl**) activité de réduction du radical cation **ABTS<sup>•+</sup>** ou (**2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)**) et le **pouvoir réducteur du fer ferrique en fer ferreux**. Chacun des précédents tests a été comparé par rapport à un antioxydant de synthèse.

### 7.1. Activité de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup> (2-2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

#### 7.1.1. Principe

La capacité de céder des hydrogènes par les huiles essentielles, extraits ou par certains composés purs, est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution alcoolique (méthanol ou éthanol) contenant le radical libre DPPH<sup>•</sup> comme l'illustre la figure suivante où AH est un antioxydant (Figure 10).

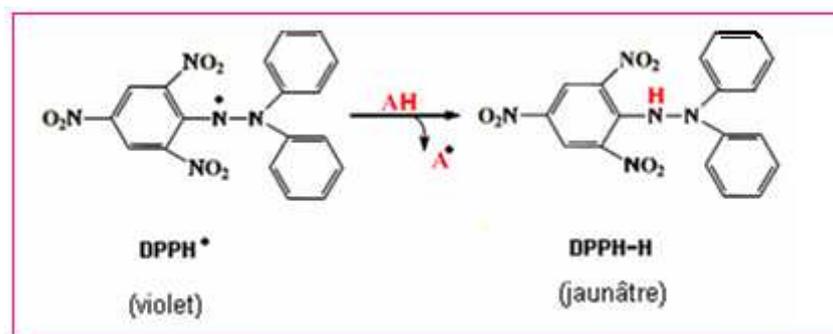


Figure 10 : Inhibition du radical DPPH par un antioxydant AH.

#### 7.1.2. Mode opératoire

Le test du radical DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par Burits et Bucar (2000) et Hazzit *et al.*(2009), où 25  $\mu$ l de chacune des dilutions des extraits testés (huiles essentielles ou extraits non volatils) et du ou des témoins positifs utilisés (BHT : Butyl hydroxytoluène) sont mélangés avec 975  $\mu$ l d'une solution méthanolique de DPPH (60  $\mu$ M). Après une période d'incubation de 30 mn à l'abri de la lumière et de l'oxygène atmosphérique, et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm. Les expériences sont réalisées en 3 expériences indépendantes pour chaque concentration et pour chaque échantillon. Le BHT (Butyl hydroxytoluène) a été utilisé comme témoin positif.

L'activité antioxydante (A %) est calculée selon la formule suivante :

$$A (\%) = (1 - A_{\text{échantillon}}/A_{\text{blanc}}) \cdot 100$$

*Avec :*

- $A_{\text{blanc}}$  : Représente l'absorbance du **DPPH<sup>\*</sup>** au temps zéro avant l'addition de l'échantillon (huile essentielle ou extrait non volatil ou témoin) à une concentration donnée ;
- $A_{\text{éch}}$  : Absorbance de l'échantillon testé (échantillon + DPPH) après **30min**.

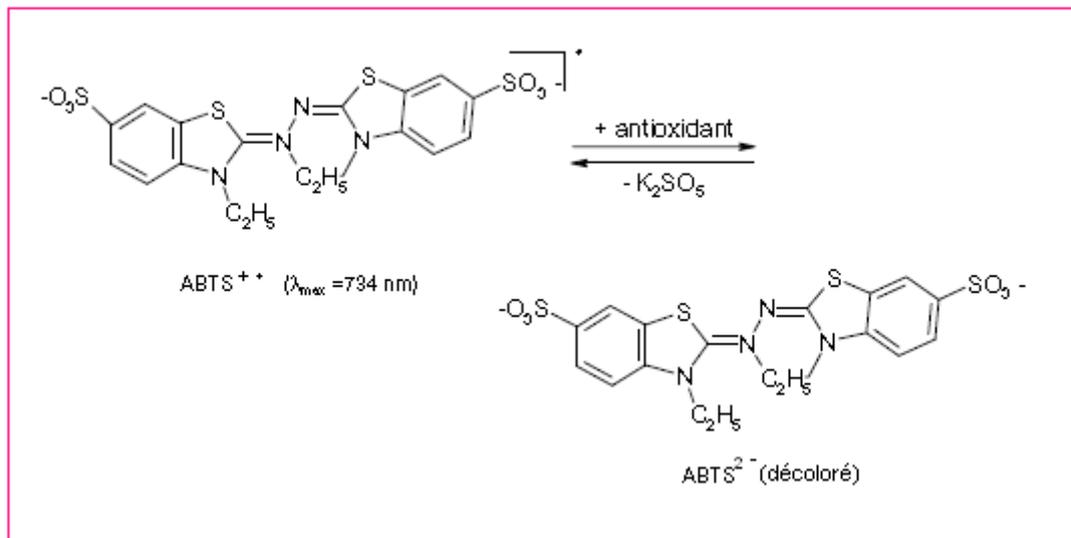
### 7.1.3. Concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC<sub>50</sub>)

Elle est définie comme étant la quantité ou la concentration d'antioxydants (huile essentielle ou toute autre substance utilisée comme antioxydant) nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50% des radicaux. En d'autres termes, c'est la concentration nécessaire pour obtenir une activité en % égale à 50. Elle est obtenue à partir de l'équation de la courbe de l'activité antioxydante (%) en fonction de la concentration de l'antioxydant. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son IC<sub>50</sub> est petite.

## 7.2. Inhibition du radical positif ABTS<sup>•+</sup> ou 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)

La méthode est basée sur l'évaluation du degré de la réduction du radical cation d'ABTS (vert) obtenu par oxydation avec du persulfate de potassium pendant **12-16 h** à **4° C** à l'abri de la lumière comme l'illustre la figure 11.

L'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> est effectuée selon la méthode décrite par Sacan et Yanardag (2010). La solution préparée est 7.4 mM ABTS et 2.6 mM persulfate de potassiums. Cette solution est préparée en mélangeant les deux réactifs en quantités égales et en les laissant réagir pendant 12 heures à température ambiante à l'abri de la lumière. La solution sera ensuite diluée en mélangeant 1 ml ABTS avec 60 ml de méthanol de manière à obtenir une absorbance au spectrophotomètre de 1,1±0,02 unités à 734 nm. Une solution ABTS fraîche doit être préparée au moment de l'expérience. Un mélange de 1 ml ABTS et 25 µl de la dilution de l'échantillon à tester est laissé incubé pendant 7 min à température ambiante avant de mesurer son absorbance à 734 nm. L'expérience est répétée 3 fois et le TROLOX (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)) qui est l'équivalent synthétique de la vitamine E a été utilisé comme témoin positif.



**Figure11: Réaction du radical ABTS<sup>•+</sup> en présence d'un antioxydant**

L'activité d'inhibition du radical ABTS est calculée selon la formule suivante :

$$A(\%) = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$

Avec:

$A_0$ : Absorbance de l'ABTS (seul)

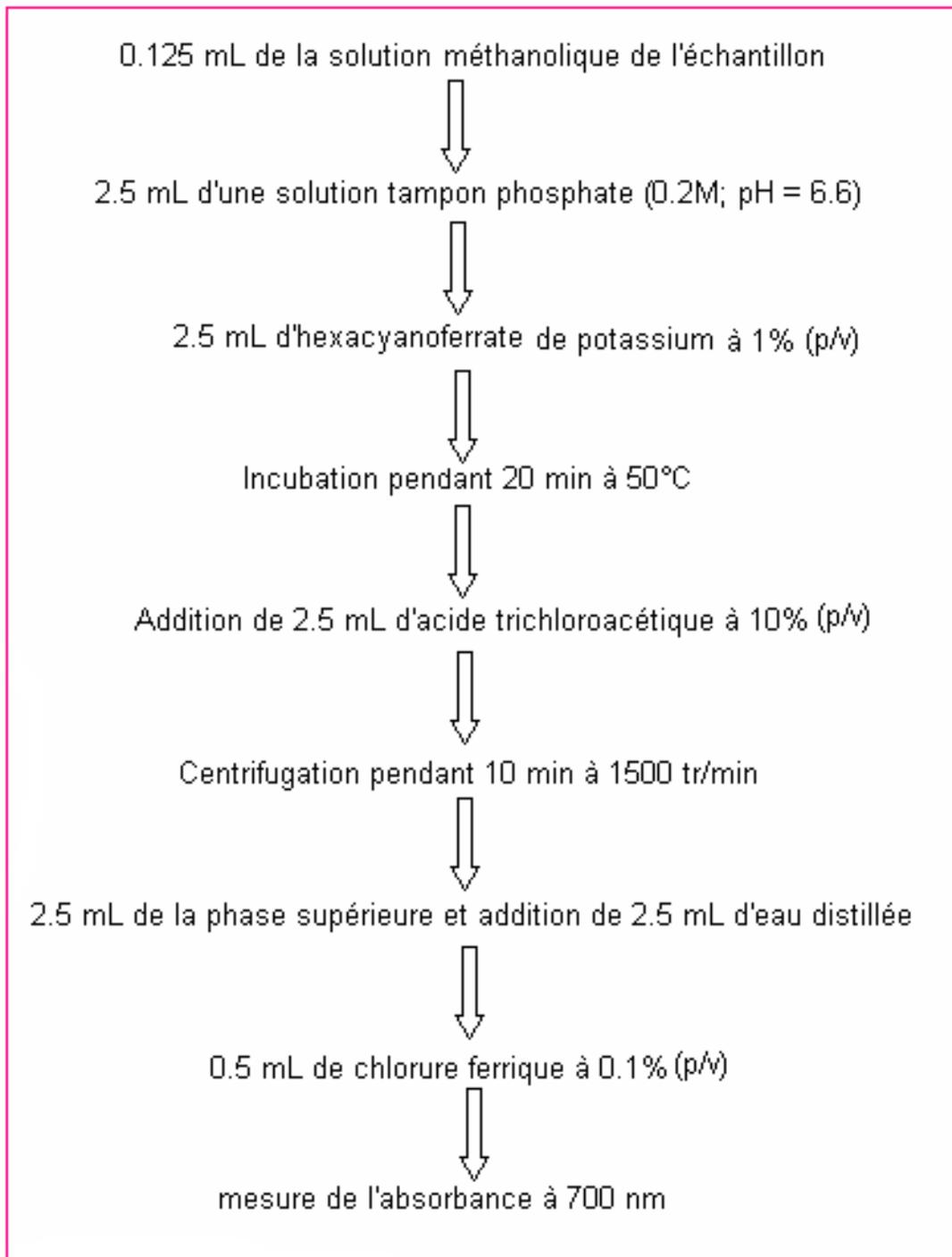
$A_1$  Absorbance de l'ABTS + échantillon à tester.

La concentration inhibitrice de 50% des radicaux ABTS ( $IC_{50}$ ) est calculée de la même manière que celle effectuée pour le radical DPPH.

### 7.3. Mesure du pouvoir réducteur

L'aptitude des huiles essentielles et de certains composés à réduire le fer ferrique est évalué par la méthode décrite par Oyaizu (1986).

L'estimation du pouvoir réducteur des échantillons étudiés (huiles essentielles, extraits et BHT) est obtenue selon le protocole expérimental de la figure 12. L'augmentation de l'absorbance indiquera une augmentation du pouvoir réducteur. Le test a été répété 3 fois pour chaque concentration de chaque échantillon étudié. Le BHT a été utilisé comme témoin positif.



**Figure12: Schéma du protocole expérimental de l'évaluation du pouvoir réducteur**

## **8. Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles**

L'activité biologique sur la mortalité, la fécondité et le nombre de descendants des adultes de la bruche *Callosobruchus maculatus* a été évaluée selon deux modes de pénétration ; contact et inhalation dans des conditions de laboratoire (température de  $30 \pm 1$  °C et une humidité relative de  $70\% \pm 5\%$ ). En utilisant des huiles essentielles de *Cymbopogon schoeanthus* L.(Spreng) des différentes régions du Sahara Algérien et d'*Artemisia judaica* provenant de Djanet .

### **8.1. Elevage de la Bruche**

L'élevage en masse de la bruche a été réalisé sur pois chiche ( *Cicer arietinum* L.)( une importante culture de légumineuses cultivées dans le monde) dans des bocaux de 18 cm de hauteur et 11 cm de diamètre. Les bocaux étaient maintenus à l'obscurité dans une étuve réglée à une température de  $30 \pm 1$  °C et une humidité relative de  $70\% \pm 5\%$ . Les mêmes conditions de température et d'humidité ont été retenues pour réaliser nos expériences.

#### **Evaluation de la toxicité des huiles essentielles sur *Callosobruchus***

### **8.2. *maculatus***

#### **8.2.1. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par fumigation**

Quinze couples de bruches adultes de *C. maculatus* (agés de 0 à 24 heures) ont été introduits dans des bocaux en verre de 0.280 l en présence de 50 g de graines de pois chiche. Une gamme de concentrations de chaque huile ont été utilisés (10, 20, 40, 80  $\mu$ l correspondant aux 35.71, 71.43, 142.86 et 285.71  $\mu$ l/l air). La concentration appropriée a été appliquée sur papier filtre Whatman en utilisant une micropipette. Le papier filtre a été immédiatement introduit dans le couvercle du bocal qui a été ensuite fermé hermétiquement. Pour chaque huile essentielle nous avons utilisé 4 doses. Quatre répétitions ont été réalisées pour chaque concentration de même que pour le témoin (graines traitées avec de l'acétone seulement). Le dénombrement des insectes morts est réalisé 24, 48,72 et 96h heures après traitement.

#### **8.2.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par contact**

Dix couples de bruches adultes de *C. maculatus* (âgés de 0 à 24 heures) ont été introduits dans des boîtes de Pétri en verre ( 9 cm de diamètre et 2 cm de hauteur) contenant 20g de graines saines de pois chiche que l'on a mélangé ensuite avec chacune des huiles essentielles

testées à des différentes concentrations (10, 20, 40 et 80 µl correspondant aux 0,5, 1, 2 et 4 µl/g de pois chiches). Pour chaque huile essentielle nous avons utilisé 4 doses. Quatre répétitions ont été réalisées pour chaque concentration de même que pour le témoin (graines traitées avec de l'acétone seulement). Le dénombrement des insectes morts est réalisé 24, 48, 72 et 96h heures après traitement.

### **8.2.3. Effet des deux huiles essentielles sur la fécondité et la fertilité**

Les bruches adultes ayant survécues au traitement par les huiles sont maintenues sur les graines de pois chiche jusqu'à leur mort. Les œufs pondus sont comptés sous loupe binoculaire à partir du 5<sup>ème</sup> jour et sont placés dans les étuves d'élevage jusqu'à l'émergence des adultes. Le dénombrement des individus de la première génération s'est étalé du 25<sup>ème</sup> jour au 45<sup>ème</sup> jour après traitement. Les insectes sont retirés des boites de Pétri au fur et à mesure qu'ils sortent des graines.

### **8.2.4. Méthodes d'analyse des données**

L'efficacité d'un produit biocide est évaluée par la mortalité de l'organisme cible. Cependant, le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tués par ce toxique. Il existe en fait dans toute population traitée une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par le toxique, pour cela les pourcentages de mortalité doivent être corrigés par la formule d'Abbott (Abbott, 1952) qui est la suivante :

$$MC(\%) = \frac{M - Mt}{100 - Mt} \times 100$$

**MC (%) :** Pourcentage de mortalité corrigée

**M (%) :** Pourcentage de morts dans la population traitée

**Mt (%) :** Pourcentage de morts dans la population témoin

## **8.3. Evaluation de l'activité antimicrobiennes des huiles essentielles.**

### **8.3.1. Préparation des suspensions microbiennes**

On a effectué un prélèvement des souches test, provenant de l'organisme ATCC sous forme de disques lyophilisés. Ces dernières ont été inoculées dans un bouillon nutritif et incubées à 37°C pendant 24 h. Les cultures ont été soumises à trois repiquages successifs afin

de déterminer la pureté et la viabilité de chaque souche avant son utilisation. Seules les souches âgées de 18 à 24 h, ont été utilisées. Trois (3) à 4 colonies ont été prélevées à l'aide d'une anse stérile, et introduites dans un tube contenant de l'eau physiologique. Après une bonne agitation et homogénéisation à l'aide d'un vortex, on a mesuré les transmittances, pour une longueur d'ondes égale à 620 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre de marque Shimatzu (série Visible). Celles-ci étaient comprises entre 22 et 32 % pour les bactéries et 2 à 3 % pour les levures, ce qui correspond à une concentration égale à  $10^7 - 10^8$  ufc/ml.

### **8.3.2. Etude qualitative de l'effet antimicrobien des huiles essentielles étudiées par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme)**

L'activité antimicrobienne a pour objectif de déterminer la sensibilité des microorganismes (bactéries et levures) vis-à-vis des différentes huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* provenant des différentes régions du Sahara (Tamanrasset, Djanet, Ghardaia, Ouargla, Béchar, El-Goléa) et l'huile essentielle extraite d'*Artemisia judaica* provenant de Djanet.

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques en papier buvard stérile imprégnés des huiles essentielles à tester appelés aromatogrammes.

Le principe de la méthode a été tiré à partir du titrage des antibiotiques (Pharmacopée Européenne, 2002).

Cette méthode a été utilisée auparavant par Plusieurs auteurs (Deans et Ritchie, 1987 ; Smith-Palmer et al., 1998 ; Lisbalchin et Hart, 2000 ; Chao et al., 2000 ; Burt et Reinders, 2003 ; Ozcan et al., 2003).

#### **Mode opératoire**

La méthode utilisée consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antibactérienne et antifongique ou les deux en même temps, en les mettant en présence des germes testés, dont la concentration est ajustée à  $10^7 - 10^8$  germes/ml à l'aide du spectrophotomètre UV visible.

Des disques de papier buvard stériles de **9mm**, imprégnés d'une quantité bien définie d'huile essentielle à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les huiles essentielles diffusent de manière uniforme dans la gélose se qui va permettre

l'inhibition de la croissance des germes, tout au tour des disques, si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles au diamètre du disque. Les milieux ont ensuite été incubés à l'étuve pendant 24 heures à 37 °C. Les milieux de réisolement sont conservés au réfrigérateur. Nous avons procédé à la mesure du diamètre des zones d'inhibition autour de chaque disque. Les antibiotiques standards ont été testés dans les mêmes conditions.

Après incubation, la sensibilité des germes aux huiles essentielle se traduit par la présence d'une zone claire au tour de des disques (zone d'inhibition en mm) à l'aide d'un pied à coulisse.

### **8.3.3. Etude quantitative par la méthode de dilutions en milieu liquide par spectrométrie**

La méthode de dilution en milieu solide à été utilisée pour effectuer un premier screening sur l'extrait à une concentration unique. A l'issue de cette étude préliminaire, pour tout pourcentage d'inhibition  $\geq 50\%$  sur une souche, on détermine la concentration minimale inhibitrice (CMI) et les concentrations minimales bactéricides (CMB) des différentes souches testées par la méthode de dilution en milieu liquide.

#### **A. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :**

La concentration minimale bactéricide est définie comme étant la plus faible concentration d'agent antimicrobien capable d'entraîner la mort de 99% des bactéries d'un inoculum. La CMI est déterminée pour les huiles présentant une activité antibactérienne intense sur les souches bactériennes les plus sensibles. Le tableau suivant regroupe les bactéries sélectionnées pour le calcul des CMI pour chaque H.E. Uniquement les souches présentant une sensibilité accrue sont retenues pour le calcul de la CMI (+++)

#### **Mode opératoire**

Cette méthode a comme principe d'effectuer des dilutions de l'huile essentielle dans le milieu gélosé solide Muller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures, puis inoculer ce milieu avec les souches testées ; grâce à ces dilutions on pourra définir la plus faible concentration qui inhibera la croissance microbienne.

### **a-Préparation de l'inoculum**

A partir de jeunes cultures (18h à 24h pour les bactéries et 48h pour les levures), on réalise des suspensions de  $10^8$  germes/ml, a partir de cette suspension on prépare une série de dilutions allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-4}$  germes/ml.

### **b- Préparation de la gamme de dilutions des huiles essentielles testés**

On procède aux étapes suivantes:

- Liquéfaction de 200 ml du milieu à  $95^{\circ}\text{C}$  dans un bain marie ; en lui additionnant 1 ml de Tween 80.
- Préparation d'une dilution de 2% de l'huile essentielle à tester en diluant 1 ml de cette dernière dans 49 ml du milieu gélose (Muller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures).
- Bien homogénéiser le premier flacon puis verser 25 ml de son contenu dans un autre flacon puis ajuster à 50 ml de milieu pour avoir la dilution de 1%, continuer ainsi jusqu'à obtention de la dilution 0.03%.
- A partir de chaque dilution préparé, on verse 20 ml dans chaque boîte de pétri et on les laisse solidifier.
- Ensemencer les boîtes par spotage à l'aide d'une microseringue de  $3\mu\text{l}$  des suspensions microbienne de la dilution  $10^{-4}$  germes/ml, on laisse diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes. On incube à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h pour les bactéries et  $25^{\circ}\text{C}$  pendant 48h pour les levures.

La lecture des résultats se fait à l'œil nue, en se basant sur la détermination de la plus faible concentration de l'huile essentielle où aucune croissance visible n'est constatée au niveau des spots. Lors de la lecture, la présence d'une ou deux colonies n'est pas prise en considération.

L'interprétation des tests de sensibilité en aromathérapie est comme suit :

- **$\text{CMI} < 50\mu\text{l.ml}^{-1}$** : excellent pouvoir inhibiteur ;
- **$50 \mu\text{l.ml}^{-1} < \text{CMI} < 250 \mu\text{l.ml}^{-1}$** : pouvoir inhibiteur intéressant ;
- **$250 \mu\text{l.ml}^{-1} < \text{CMI} < 500 \mu\text{l.ml}^{-1}$** : faible pouvoir inhibiteur ;
- **$\text{CMI} > 500 \mu\text{l.ml}^{-1}$** : pouvoir inhibiteur médiocre ou nulle.

### **B. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)**

Le caractère bactéricide des huiles essentielles étudiées par la détermination de la CMB qui correspond à la concentration minimale en huiles essentielles pour obtenir la destruction

de 99,99% de l'inoculum initial (soit moins de 0,01% des survivants) en 24heures pour les bactéries et 48 heures pour les levures.

La méthode consiste à prélever les disques issus de la CMI (ou aucune croissance n'est observé) et déposé dans les boites de Pétri identifiée et coulées par les milieux de cultures dépourvu d'huile essentielles ; puis incuber les boites de Pétri à **37°C** pendant **24h** pour les bactéries et à **25°C** pendant **48h** pour les levures. La lecture s'effectue à l'œil nu, en déterminant la plus petite concentration de l'huile essentielle où aucune croissance d'une souche donnée n'est constatée après sa subculture.

### **3-Analyses statistiques**

L'analyse statistique retenue est l'analyse de la variance à un et deux critères de classification selon les tests. Lorsque cette analyse révélait des différences significatives, elle était complétée par le test de Newman et Keuls (logiciel Statitcf, version 5).

# Résultats et discussion

## Résultats et discussions

### 1. Rendements des extractions

Au vu de nos résultats, les échantillons de *Cymbopogon schoenanthus* étudiés renferment des quantités variables en huile essentielle. En effet, Les teneurs en huiles essentielles (ml/100 g de matière sèche) obtenues des échantillons récoltés de la région de Tamanrasset et de Djanet ont présenté des valeurs de l'ordre de 3,3% et 3,7%, respectivement. Par contre ceux prélevés dans les autres régions ont enregistré des rendements en huiles essentielles moins importantes : Béchar et Ouargla (2.1%), El-Goléa et Ghardaia (1,9%). La comparaison des rendements fournis par nos échantillons avec ceux obtenus pour la même espèce d'autres origines et avec le même mode d'extraction (tableau 2) nous permet de constater que les huiles du Hoggar et du Tassili sont assez riches en huiles essentielles. Par contre, ceux des autres régions fournissent des rendements plus ou moins médians.

**Tableau 2:** Rendements en huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* de différentes origines

Origine	Région	Rendement (%) V/100g)	Référence
Algérie	Tamanrasset	<b>3.3</b>	Ce travail
	Djanet	<b>3.7</b>	
	Ouargla	2.1	
	Ghardaia	1.9	
	El-Goléa (Ménia)	1.9	
	Béchar	2.1	
Togo	Lomé University	3.0	Abouwaliou Nadio et al. (2013)
Tunisie	Dhibat	2.6	Khadri et al. (2008)
	Echareb	1.2	
	Gourdhab	2.1	
Burkina Fasso	Ouagadougou	<b>4.6</b>	Yentema et al. (2007)

Les variations des rendements en huiles essentielles et d'autres métabolites secondaires des plantes quelque soit leur genre ou espèces sont attribuées aux facteurs pédoclimatiques.

## 2. Composition chimique

### 2.1. Huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles de *Cymbopogon* des différentes régions étudiées par chromatographie en phase gazeuse (GC) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) a conduit à l'identification et à la quantification de 64 composés (Tableau 3). Les échantillons de Tamanrasset et Djanet ont des compositions qualitatives similaires et ne diffèrent que du point de vue quantitatif des constituants de leurs huiles essentielles. Leurs principaux composés respectifs sont le 2-carene (16.7, 9.3%), la pipéritone (55.1, 63.2%) et l'elemol (4.8, 9.5%) dont les spectres de masses respectifs sont présentés (figures 14-16)

Les huiles essentielles des échantillons de Méria et Bechar ont des compositions similaires qui se caractérisent par les principaux composés respectifs suivants : 2-Carene (13.4 et 13.9 %), limonene (11.8 et 11.7%), cis-p-Menth-2-en-1-ol (12.1 et 14%), trans-p-Menth-2-en-1-ol (8.4 et 8.5%), trans-Piperitol (5.6 et 5.4%), l'elemol (8.7, 9.6%) et le  $\beta$ -Eudesmol (7.7 et 6.2%) dont les spectres de masses et les formules de certains d'entre eux sont représentés dans les figures 16-18-25.

Les échantillons de Ghardaia et Ouargla ont de manière générale des compositions plus ou moins similaires à celles de Méria et Béchar. Les principales différences qui caractérisent les huiles issues des régions de Ghardaia et Ouargla par rapport à celles de Méria et Béchar sont : l'absence du limonène et l'importance du  $\beta$ -phellandrene (8%) dans de l'huile de Ouargla et la faible teneur relative en  $\beta$ -Eudesmol (2.8%) et en elemol (4.9%) et la forte teneur enregistrée pour les autres composés importants communs, dans l'huile de Ghardaia.

On distingue donc deux types dominants de compositions chimiques que nous avons choisi de représenter par les chromatogrammes des huiles essentielles de Tamanrasset et Ghardaia (Figures 19-24). Le premier type (représenté par les échantillons de Béchar, Méria, Ouargla et Ghardaia) très riche en hydrocarbures monoterpéniques et en alcools (monoterpéniques et sesquiterpéniques) et le second type (représenté par les échantillons de Tamanrasset et Djanet) très riche en pipéritone qui est une cétone aromatique.

La comparaison des compositions de nos échantillons avec ceux d'autres origines (Tableau 4) nous fait apparaître une certaine similarité de nos huiles issues du Hoggar et Tassili avec celles de l'Afrique sub-saharienne.

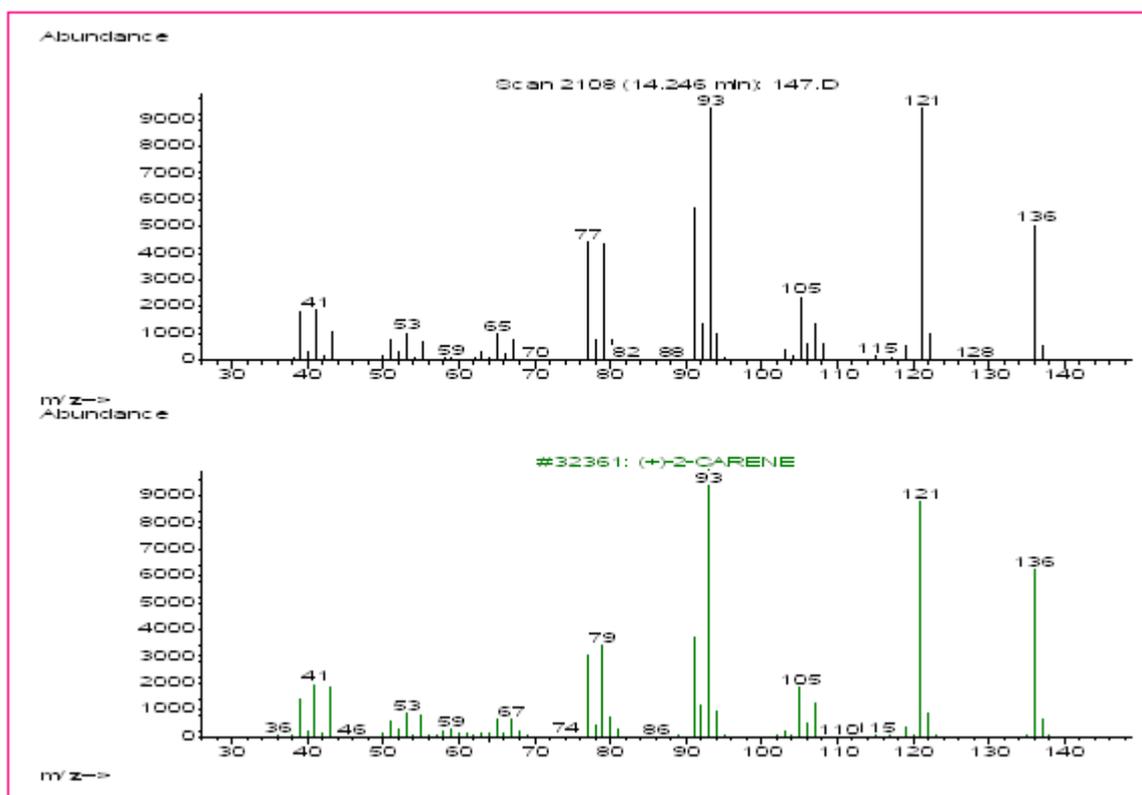


Figure 13: Spectre de masse du 2-Carene

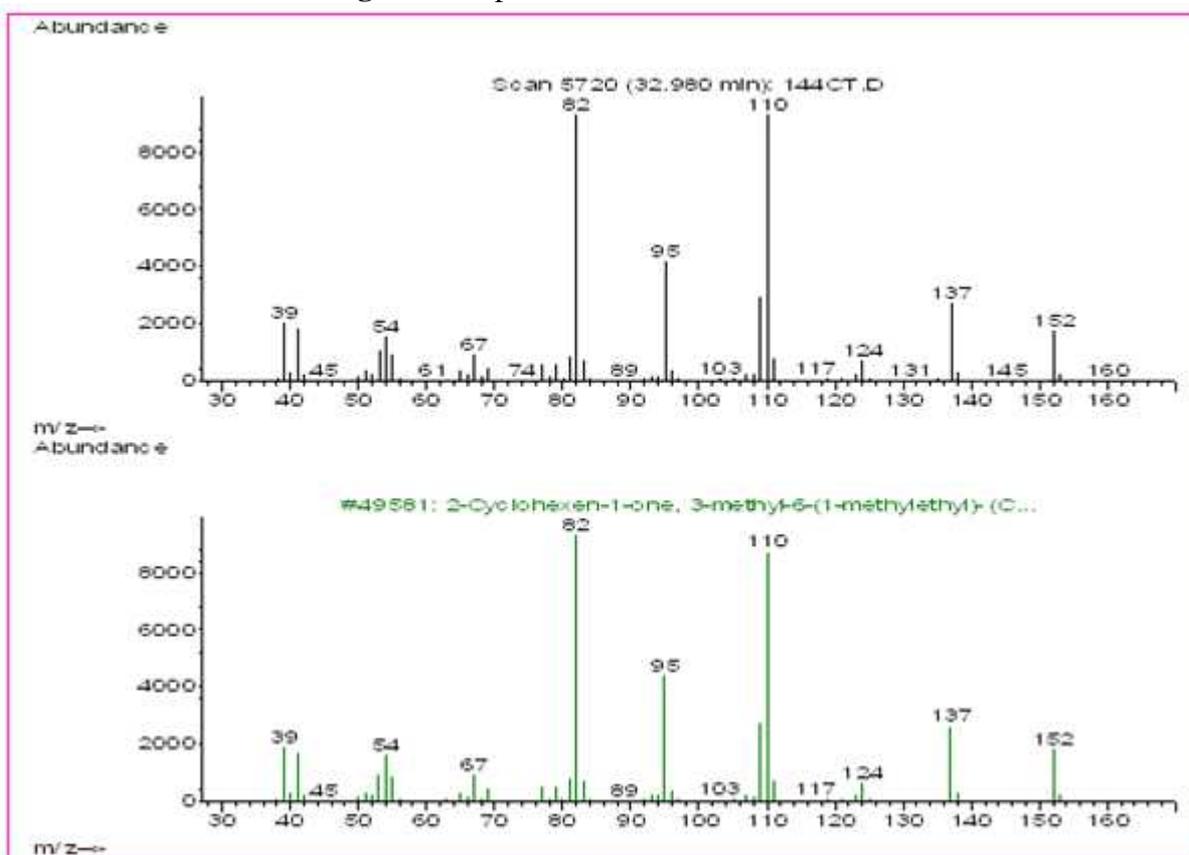


Figure 14: Spectre de masse de la pipéritone

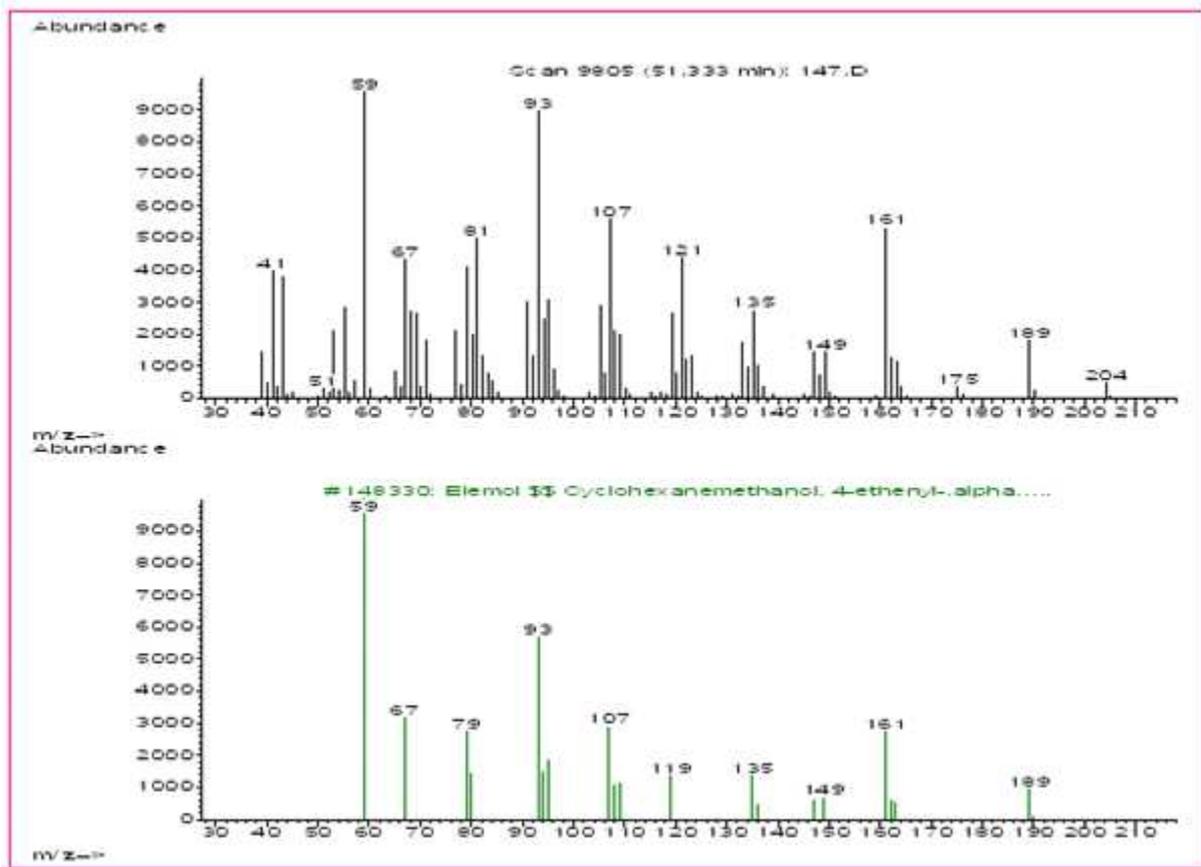


Figure 15: Spectre de masse de l'elemol

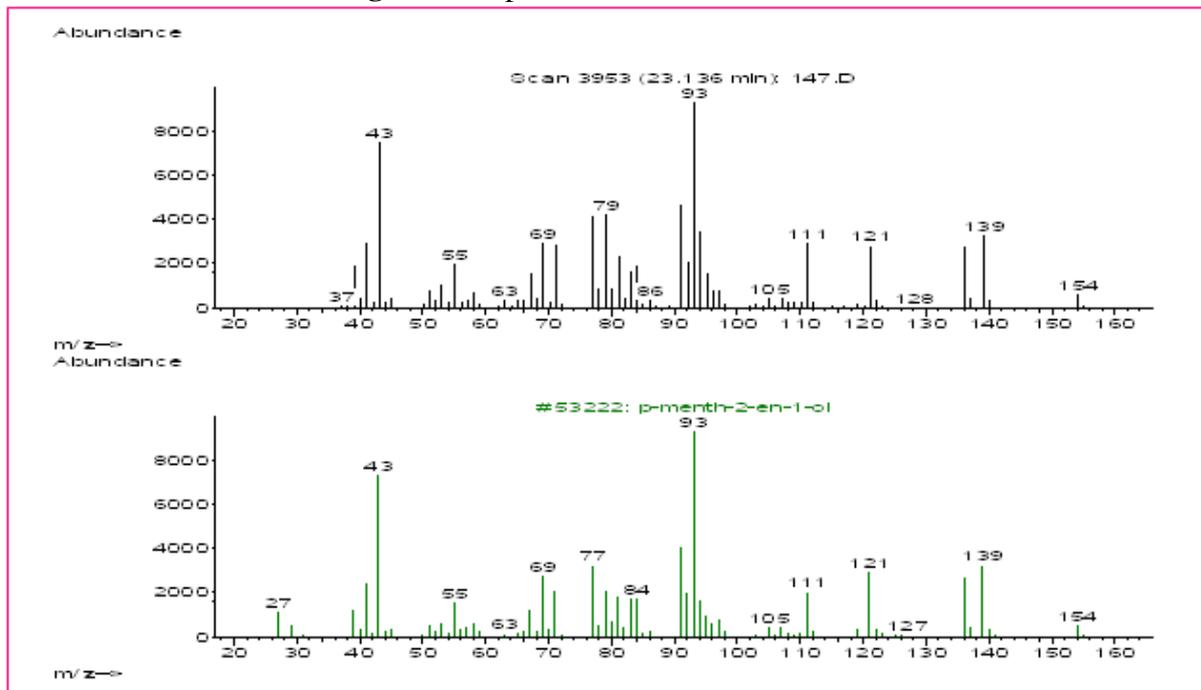


Figure 16: Spectre de masse du p-Menth-2-en-1-ol

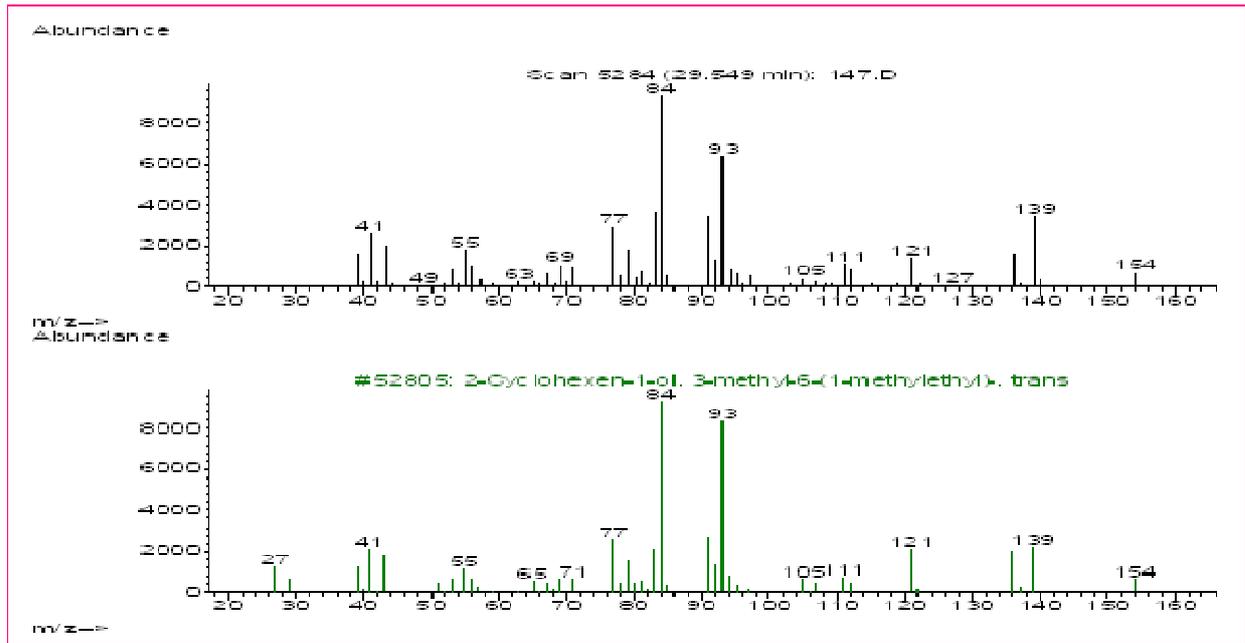


Figure 17: Spectre de masse du Piperitol

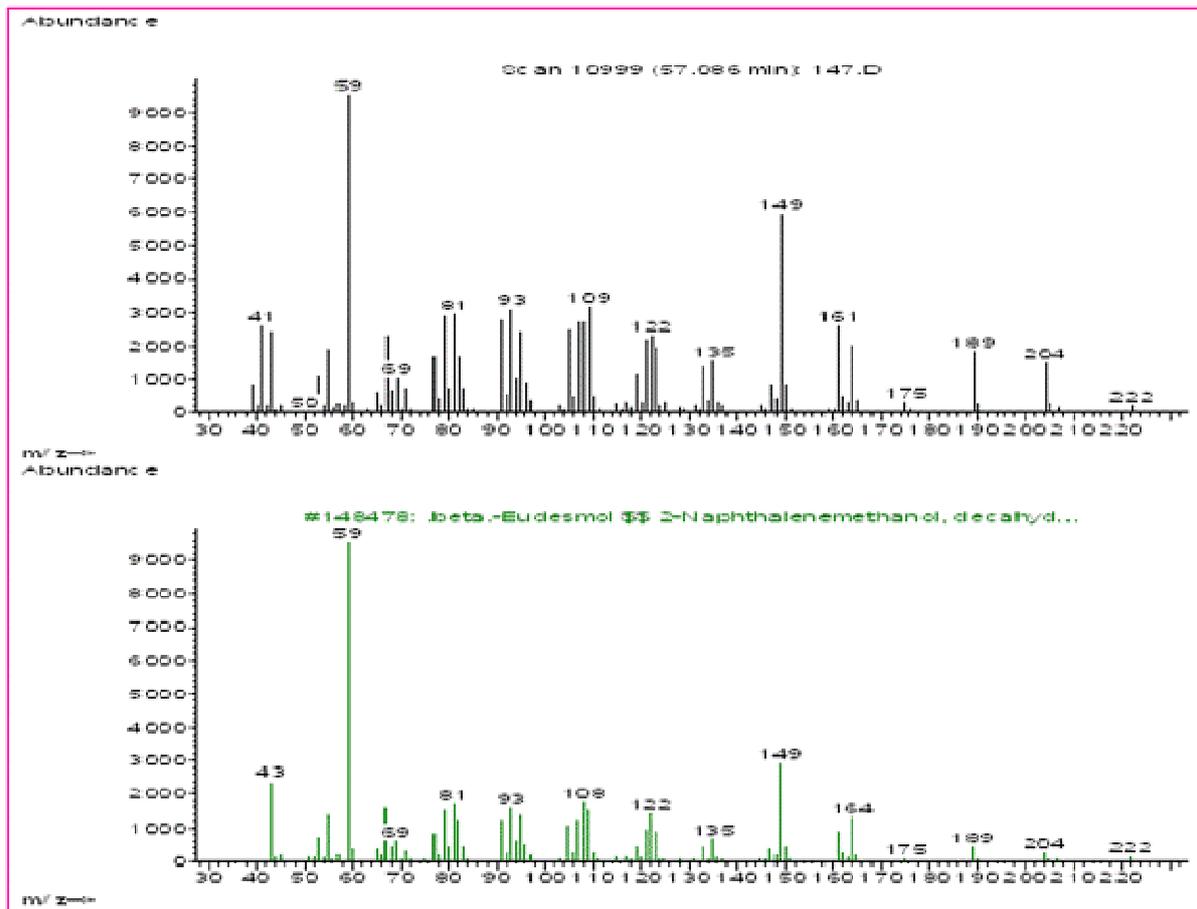
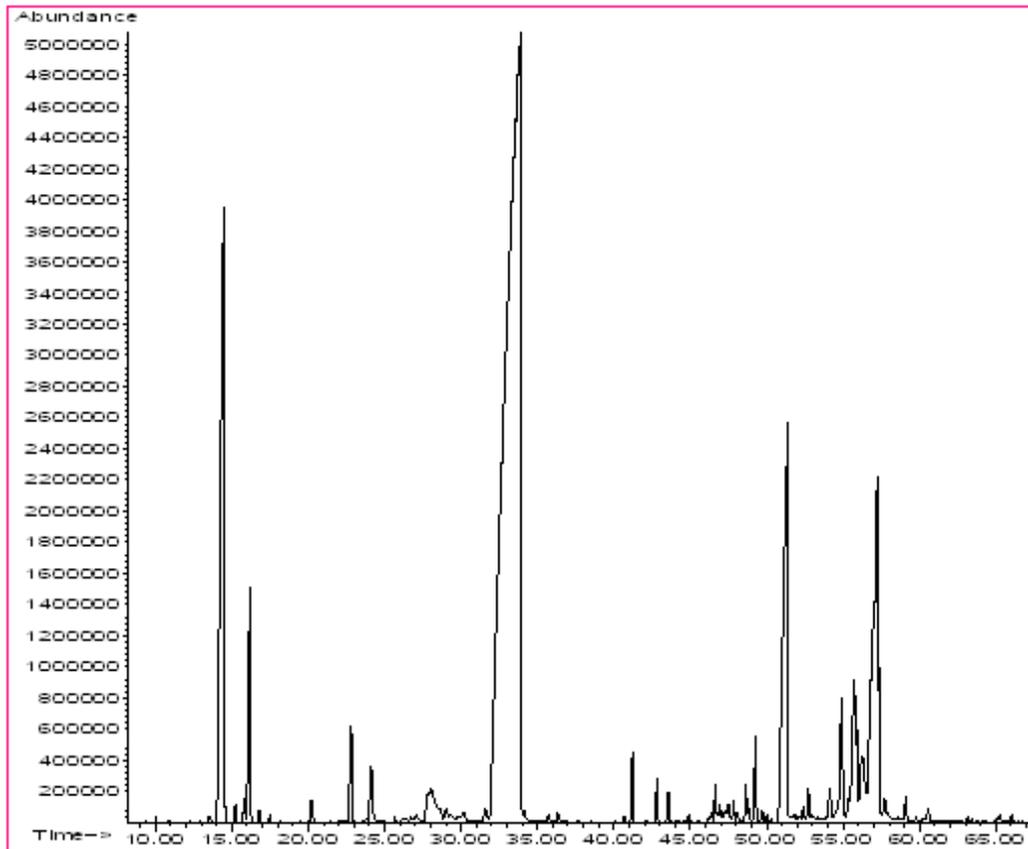
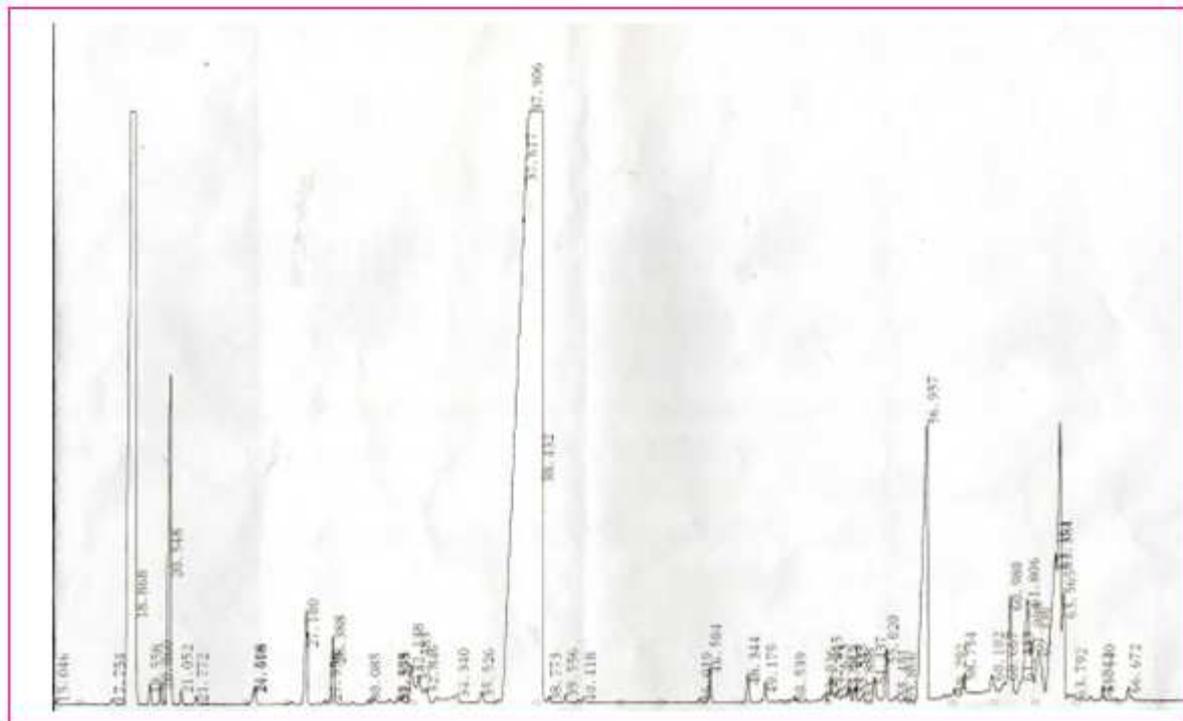


Figure 18 : Spectre de masse du  $\beta$ -Eudesmol

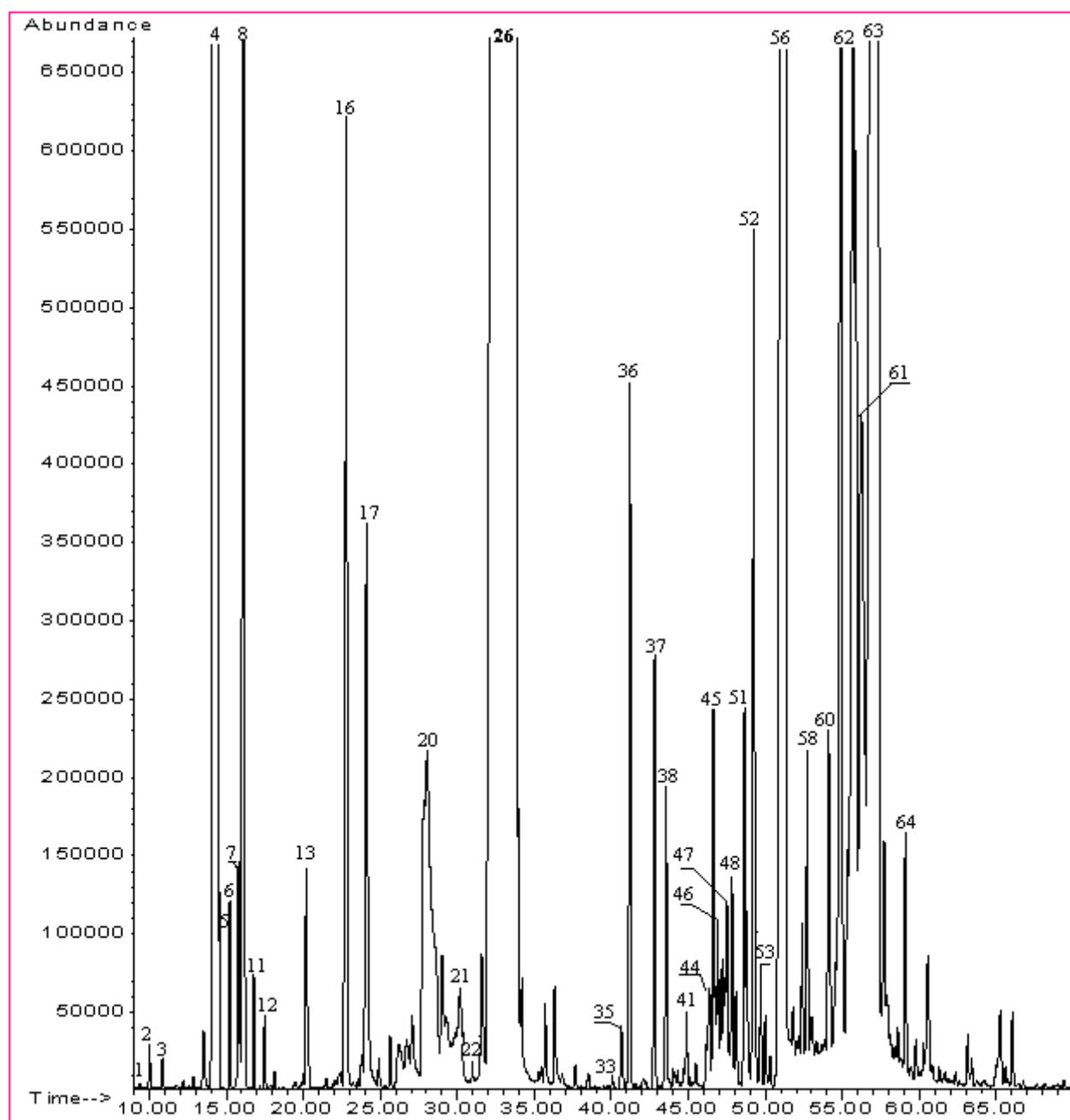
\*Pour chaque composé, le spectre de masse du haut correspond à celui du composé et celui du bas à celui de la banque de données (NIST et Wiley).



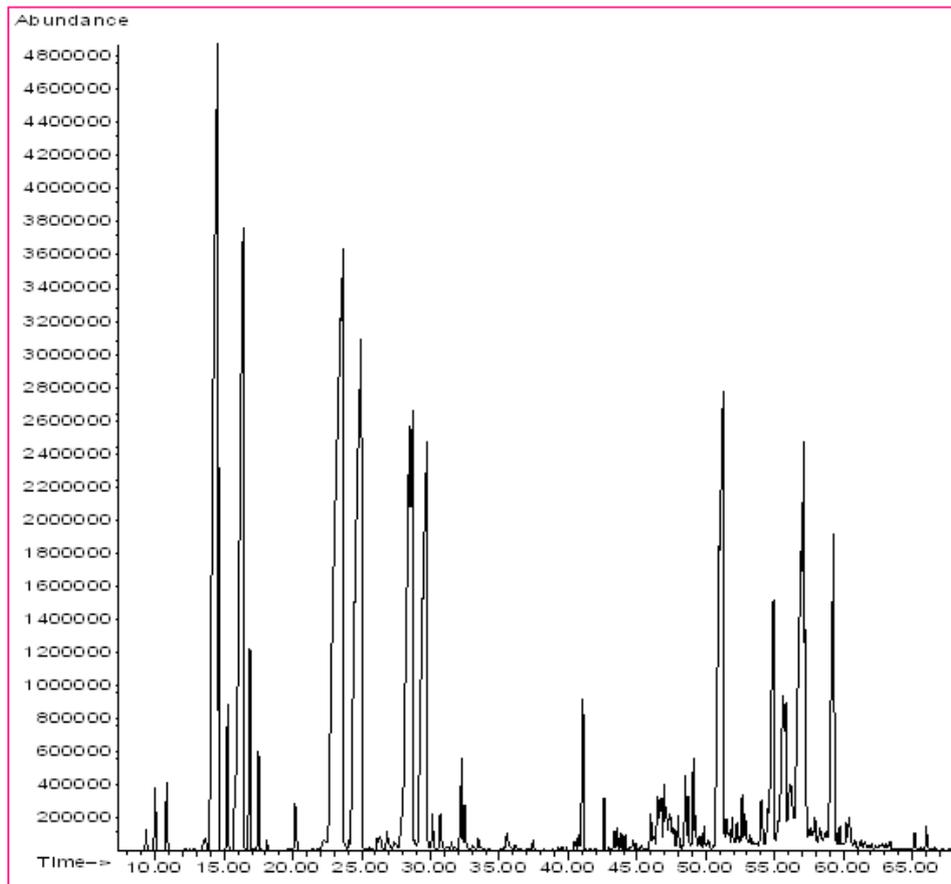
**Figure 19 :** Chromatogramme total GC-MS de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenatus* de Tamarasset.



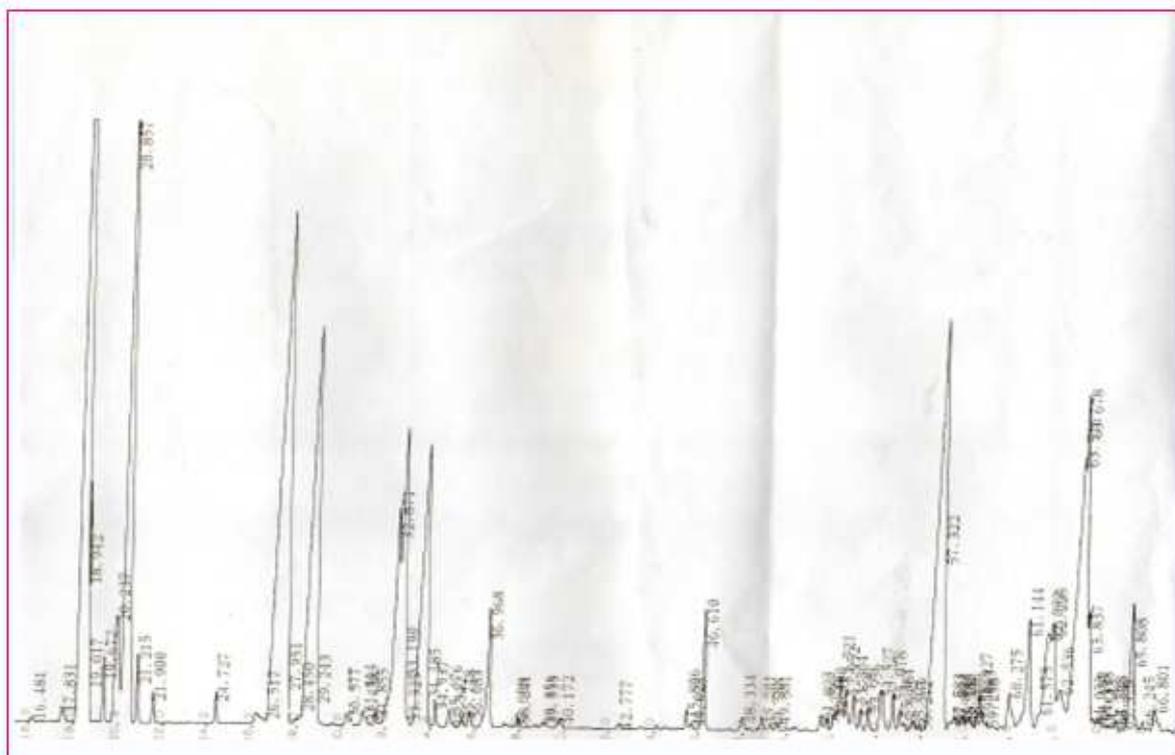
**Figure 20:** Chromatogramme total GC- FID de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenatus* de Tamarasset



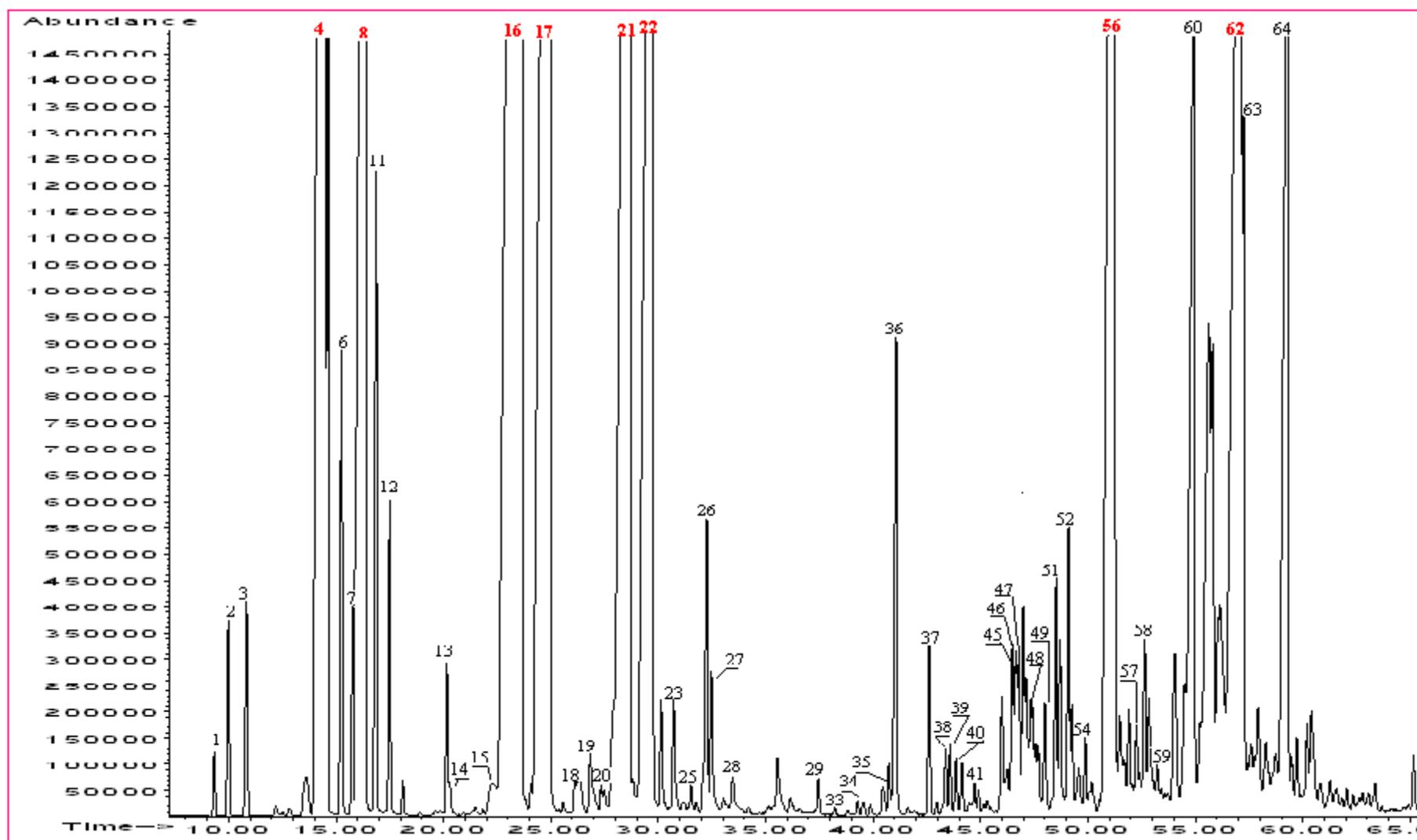
**Figure 21:** Chromatogramme (agrandi) GC-MS de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* de Tamanrasset. Les numéros sur les pics correspondent aux numéros d'ordre des composés du tableau de la composition chimique.



**Figure 22:** Chromatogramme total GC-MS de l'huile essentielle de Ghardaia.



**Figure 23:** Chromatogramme total GC- FID de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* de Tamanrasset



**Figure 24 :** Chromatogramme (agrandi) GC-MS de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenatus* de Ghardaia. Les numéros sur les pics correspondent aux numéros d'ordre des composés du tableau de la composition chimique.

**Tableau 3:** Composition chimique (%) des huiles essentielles des différents échantillons de *Cymbopogon schoenanthus*

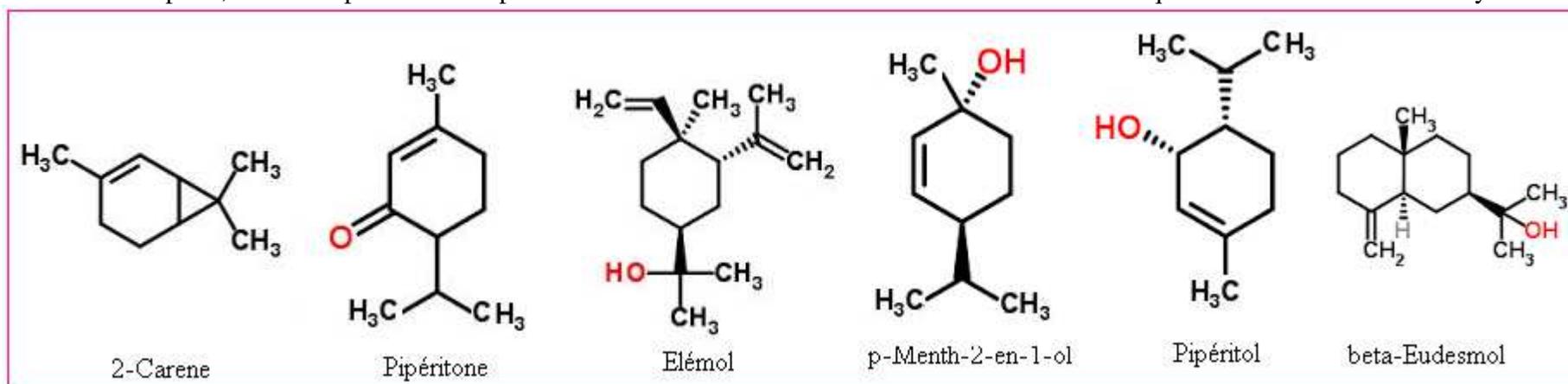
N°	Composés	IK	Menia	Béchar	Tam.	Ghardaia	Ouargla	Djanet	Identification
1	Tricyclene	932	0.1	0.1	t	0.1	0.1	-	IR-SM
2	$\alpha$ -Pinene	937	0.2	0.2	t	0.2	0.3	T	IR-SM- Et
3	Camphene	952	0.3	0.3	t	0.3	0.4	T	IR-SM- Et
4	2-Carene	1001	<b>13.4</b>	<b>13.9</b>	<b>16.7</b>	<b>20.4</b>	<b>14.3</b>	<b>9.3</b>	IR-SM
5	$\alpha$ -Phellandrene	1004	1.2	0.8	0.1	T	1.0	T	IR-SM- Et
6	$\alpha$ -Terpinene	1017	0.5	0.4	0.1	0.3	0.5	0.1	IR-SM- Et
7	p-Cymene	1025	1.3	1.5	0.2	0.7	1.2	0.1	IR-SM
8	Limonene	1027	<b>11.8</b>	<b>8.7</b>	3.0	<b>13</b>	-	1.9	IR-SM- Et
9	$\beta$ -Phellandrene	1030	0.4	0.4	-	0.7	<b>8.0</b>	-	IR-SM
10	1,8-Cineole	1032	-	-	0.1	-	0.4	0.1	IR-SM- Et
11	<i>trans</i> - $\beta$ - Ocimene	1037	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.1	IR-SM
12	<i>cis</i> - $\beta$ -Ocimene	1048	0.2	0.2	0.1	T	0.2	0.1	IR-SM
13	Terpinolene	1087	0.2	0.2	0.1	0.1	T	0.1	IR-SM- Et
14	p-Cymenyl	1089	T	T	t	T	T	T	IR-SM
15	Fenchyl alcohol	1115	T	T	t	T	T	T	IR-SM
16	<i>cis</i> -p-Menth-2-en-1-ol	1123	<b>12.1</b>	<b>14.0</b>	0.8	<b>15.1</b>	<b>12.1</b>	1.0	IR-SM
17	<i>trans</i> -p-Menth-2-en-1-ol	1137	<b>8.4</b>	<b>8.5</b>	0.5	<b>9.2</b>	<b>6.7</b>	0.6	IR-SM
18	Borneol	1166	0.1	0.1	-	T	0.1	-	IR-SM- Et
19	4-Terpineol	1177	0.1	0.1	-	0.1	0.1	-	IR-SM- Et
20	$\alpha$ -Terpineol	1190	2.5	3.6	0.6	0.1	0.1	1.2	IR-SM- Et
21	<i>cis</i> -Piperitol (=cis-p-menth-1-en-3-ol)	1195	<b>3.3</b>	<b>3.8</b>	0.4	<b>6.9</b>	<b>6.1</b>	-	IR-SM
22	<i>trans</i> -Piperitol (=cis-p-menth-1-en-3-ol)	1206	<b>5.6</b>	<b>5.4</b>	0.1	<b>6.6</b>	<b>7.7</b>	-	IR-SM
23	Nerol	1228	0.1	0.2	-	0.1	0.2	-	IR-SM
24	Cuminaldehyde	1238	-	0.1	-	-	T	-	IR-SM
25	Carvone	1242	0.1	0.1	-	T	T	-	IR-SM- Et
26	Piperitone	1253	0.5	1.1	<b>55.1</b>	0.7	0.6	<b>63.2</b>	IR-SM
27	Geraniol	1255	T	0.1	-	0.1	T	-	IR-SM- Et

Résultats et discussion

28	2-Caren-10-al	1283	T	T	t	T	T	-	IR-SM
29	$\delta$ -Elemene	1337	T	T	-	T	T	-	IR-SM
30	$\alpha$ -Cubebene	1351	T	T	-	-	T	-	IR-SM
31	Cycloisosativene	1368	T	T	-	-	0.1	-	IR-SM
32	Carvacryl acetate	1371	T	T	-	-	-	-	IR-SM
33	$\alpha$ -Copaene	1376	T	T	t	T	T	T	IR-SM
34	Geranyl acetate	1382	0.1	0.1	-	T	T	-	IR-SM
35	$\beta$ -Bourbonene	1384	T	T	t	T	0.1	T	IR-SM
36	$\beta$ -Elemene	1390	0.9	1.0	0.1	0.4	1.3	0.5	IR-SM
37	$\beta$ -Caryophyllene	1418	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.4	IR-SM- Et
38	$\beta$ -Gurjunene	1431	0.1	0.1	0.1	0.1	0.4	T	IR-SM
39	$\gamma$ -Elemene	1433	T	T	-	T	0.1	-	IR-SM
40	$\alpha$ -Guaeiene	1440	0.1	0.1	-	T	0.1	-	IR-SM
41	$\alpha$ -Humulene	1453	0.1	0.1	t	T	T	0.1	IR-SM
42	Alloaromadendrene	1460	T	0.1	-	T	-	-	IR-SM
43	$\beta$ -Farnesene	1461	T	0.1	-	T	T	-	IR-SM
44	$\gamma$ -Muurolene	1476	0.1	0.1	0.1	0.1	0.3	T	IR-SM
45	Germacrene D	1481	0.3	0.4	0.2	0.1	0.6	0.1	IR-SM
46	$\beta$ -Selinene	1486	0.2	0.1	0.1	0.1	0.5	0.1	IR-SM
47	$\alpha$ -Selinene	1494	0.1	0.1	0.2	0.2	0.5	0.2	IR-SM
48	$\alpha$ -Muurolene	1498	T	T	0.1	0.2	0.1	0.1	IR-SM
49	$\alpha$ -Bulnesene	1504	T	-	-	0.1	-	T	IR-SM
50	Cuparene	1505	T	0.1	0.1	0.1	T	T	IR-SM
51	$\gamma$ -Cadinene	1513	0.4	0.5	0.3	0.2	0.4	0.2	IR-SM
52	$\delta$ -Cadinene	1523	0.4	0.3	0.5	0.2	0.3	0.4	IR-SM
53	trans-Cadina-1-4-diene	1531	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	T	IR-SM
54	$\alpha$ -Cadinene	1532	0.5	0.1	0.1	0.1	0.2	T	IR-SM
55	$\alpha$ -Calacorene	1541	0.1	0.1	t	0.1	0.1	T	IR-SM
56	Elemol	1547	<b>8.7</b>	<b>9.6</b>	<b>4.8</b>	<b>4.9</b>	<b>9.9</b>	<b>9.5</b>	IR-SM
57	Spathulenol	1576	T	T	-	T	0.1	-	IR-SM
58	Caryophyllene oxide	1580	0.1	0.1	0.4	0.3	0.4	0.2	IR-SM- Et

59	Viridiflorol	1591	T	0.1	-	0.1	0.5	-	IR-SM
60	$\gamma$ -Eudesmol	1630	2.8	2.0	1.1	0.7	2.6	1.8	IR-SM
61	t-Cadinol	1638	0.8	0.9	0.3	0.5	0.3	0.3	IR-SM
62	$\beta$ -Eudesmol	1652	<b>7.7</b>	<b>6.2</b>	3.2	2.8	<b>7.6</b>	3.7	IR-SM
63	$\alpha$ -Eudesmol	1653	<b>4.5</b>	<b>2.8</b>	2.8	2.6	<b>3.7</b>	2.7	IR-SM
64	Eudesm-7(11)-en -4-ol	1692	2.5	1.6	0.1	2.3	3.2	T	IR-SM
	Total identifié (%)		<b>94.3</b>	<b>90.9</b>	<b>92.8</b>	<b>91.3</b>	<b>93.9</b>	<b>98.1</b>	
	Monoterpènes		29.8	26.9	20.4	36	26.2	11.7	
	Monoterpènes oxygénés		32.9	37.2	<b>57.5</b>	38.9	34.1	<b>66.1</b>	
	Sesquiterpènes		3.5	3.5	2.2	2.2	5.4	2.1	
	Sesquiterpènes oxygénés		28.1	23.3	12.7	14.2	28.2	18.2	
	Rendement (% m/v)		1.9	2.1	3.3	1.9	2.1	3.7	

Note : Composés classés par ordre d'éluion sur colonne capillaire HP5MS ; IK : Indices de Kovats ou indices de rétention relatifs aux n-alcanes (C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub>) ; Identification : IR = comparaison des indices de rétention calculés à ceux de la littérature ; Et= comparaison des indices de rétention à ceux d'étalons purs ; SM= comparaison des spectres de masse à ceux de la littérature et à ceux de la banque de données NIST et Wiley 05.



**Figure25** : Formules chimiques des principaux composés identifiés dans les différents échantillons des huiles essentielles de *C. schoenanthus*.

**Tableau 4:** Principaux composés des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* de différentes origines

Origine	Principaux composés	%	Référence
Togo	2-Carene	16.9	Apeti Gbogbo et al. (2006)
	Piperitone	69.01	
	Elemol	5.76	
Algérie (Ain Sefra)	cis-p-menth-2-en-1-ol	18.6	Bouchikhi et al. (2010)
	trans-p-menth-2-en-1-ol	9.5	
	Elémol	7.4	
	cis-Pipéritol	7,2	
	Limonène	7,0	
Algérie (Illizi)	Piperitone	61.9	Hellali et Hadj-Mahammad (2008)
Tunisie (Dhibat)	Limonène	24.6	Khadri et al. (2008)
	$\alpha$ -Terpinene	8.9	
	$\alpha$ -Terpineol	9.6	
Burkina Faso	2-Carene	8.2	Yentema et al. (2007)
	Piperitone	42.0	
	Elémol	6.2	
Benin (Nalohou 2)	2-Carene	15.5	Bossou et al. (2013)
	Piperitone	58.9	
	Elemol	5.3	
Benin (Djougou)	2-Carene	11.5	Alitonou et al. (2012)
	Piperitone	68.4	
	$\alpha$ -Eudesmol	4.6	

L'analyse de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* a abouti à l'identification de 38 composés représentant 88.8% de la totalité de l'huile. Sa composition se caractérise par le camphor (23.3%) et la piperitone (35.1%) comme composés les plus importants. La piperitone comme l'un des composés les plus importants est remarquable puisque ce composé est le plus important de *C. schoenanthus* issu de la même région (Djanet) que l'armoise étudiée. Cette composition est en accord avec celle d'*Artemisia Judaica* d'El Arich (Sinai-Egypte) rapportée par **Abel-Hadi, (2012)** qui trouve ces composés comme majoritaires avec des teneurs respectives de 20.6% et 32.4% (Tableau 5 ).

**Tableau 5 :** Composition chimique (%) de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica*

N°	Composés	%
1	$\alpha$ -Pinene	0.1
2	Camphene	0.1
3	$\beta$ -Pinene	0.2
4	$\beta$ -Myrcene	0.1
5	$\alpha$ -Phellandrene	1.6
6	$\alpha$ -Terpinene	0.3
7	1,8-Cineole	0.4
8	Artemisia Ketone	1.2

9	Artemisia alcohol	0.2
10	Terpinolene	0.2
11	Fenchone	0.9
12	Linalool	0.1
13	$\beta$ -Thujone	3.1
14	<b>Chrisantenone</b>	<b>5.0</b>
15	<b>Camphor</b>	<b>23.3</b>
16	Borneol	0.1
17	Terpinene-4-ol	3.8
18	Lavandulol	2.3
19	$\alpha$ -Terpineol	0.3
20	Verbenone	0.2
21	Carveol	0.3
22	<b>Piperitone</b>	<b>35.1</b>
23	Geraniol	0.8
24	Geranial	0.3
25	Bornyl acetate	2.8
26	Carvacrol	0.1
27	Citronellyl acetate	0.5
28	$\beta$ -Elemene	0.3
29	$\alpha$ -Cedrene	0.1
30	$\beta$ -Caryophyllene	0.6
31	Allo-aromadendrene	0.1
32	Valencene	t
33	$\beta$ -Bisabolene	0.1
34	$\gamma$ -Cadinene	1.2
35	Spathulenol	0.3
36	Caryophyllene oxide	1.2
37	t-Cadinol	0.2
38	$\beta$ -Eudesmol	0.2
	Total (%)	<b>88.8</b>

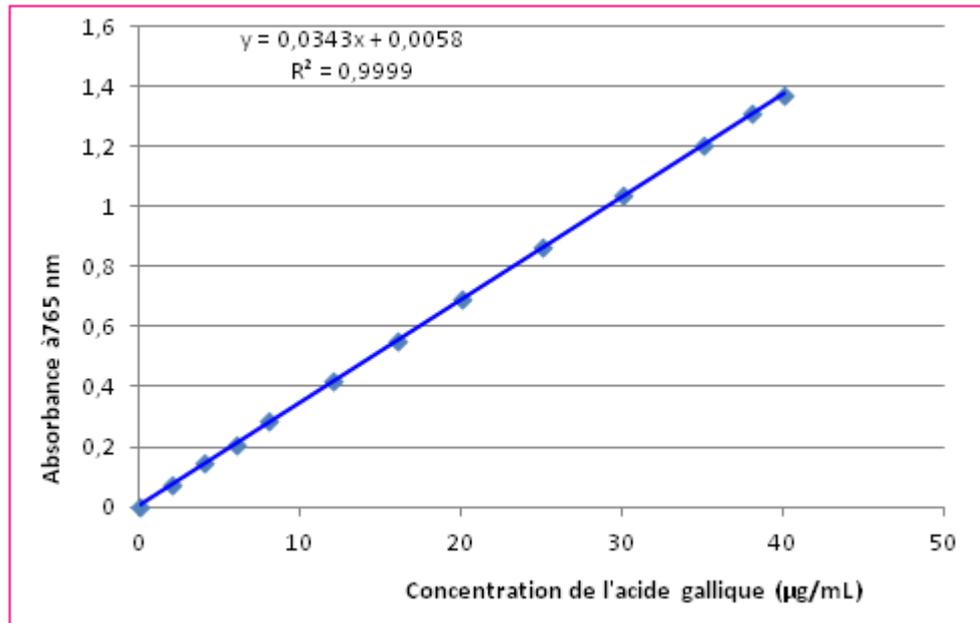
## 2.2.Extrait méthanolique de la fraction non volatile

Trois échantillons (Tamanrasset, Béchar et Ménia) ont été soumis à une extraction au moyen d'un extracteur de Soxhlet. Les fractions non volatiles obtenues ont été de 8.4, 7.5 et 8.2 g d'extrait sec/100 g de matière végétale sèche. Nous n'avons pas trouvé de travaux ultérieurs sur les extraits non volatils de *C. schoenanthus* pour pouvoir comparer nos résultats. Cependant, les rendements obtenus avec d'autres plantes sont souvent d'un ordre variant entre 6 et 45%. Donc, les rendements obtenus comptent parmi les plus faibles.

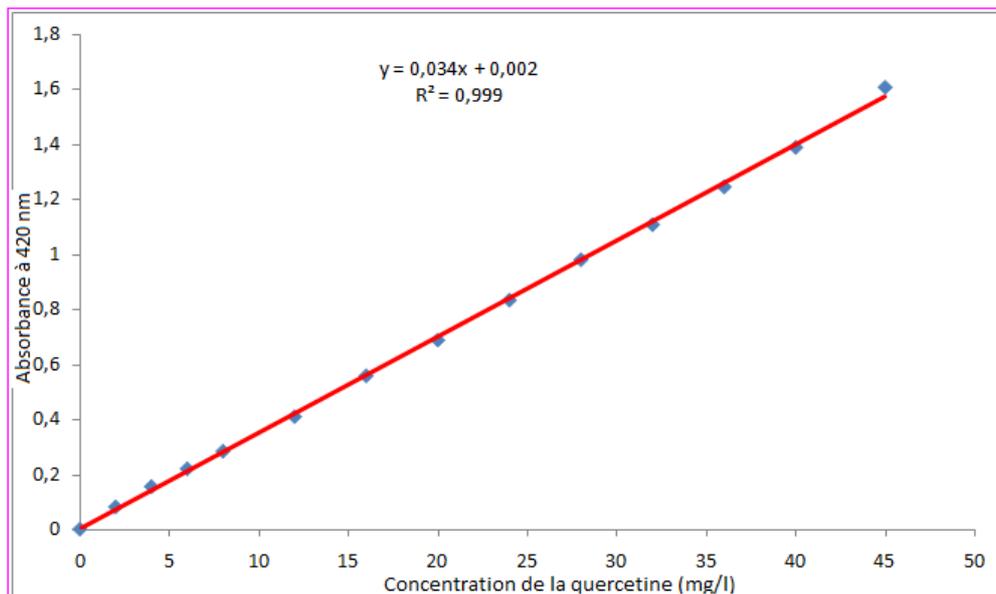
### 2.2.1. Phénols totaux et flavonoïdes

La teneur en phénols totaux des 3 échantillons étudiés est déterminée par la méthode colorimétrique de Folin Ciocalteu, en utilisant la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique qui est représentée par la figure 25. Le dosage des phénols totaux a fourni des teneurs

variant entre 21.1 et 45.3 mg. EAG/g d'extrait (Tableau 6). La plus faible valeur a été enregistrée pour l'échantillon de Béchar et la plus élevée pour celui de Tamarrasset.



**Figure 26:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



**Figure 27:** Courbe d'étalonnage de la quercétine

**Tableau 6:** Teneurs en phénols totaux (mg. EAG/g d'extrait) et en flavonoïdes (mg. EQ/g d'extrait) des extraits non volatils

Echantillons de <i>C. shoenanthus</i>	Phénols totaux	Flavonoïdes
Tamarasset	45.3 ±0.7	18.5±0.1
Bechar	21.1±0.3	7.2±0.09
Ménia	37.8±0.2	15.3±0.07

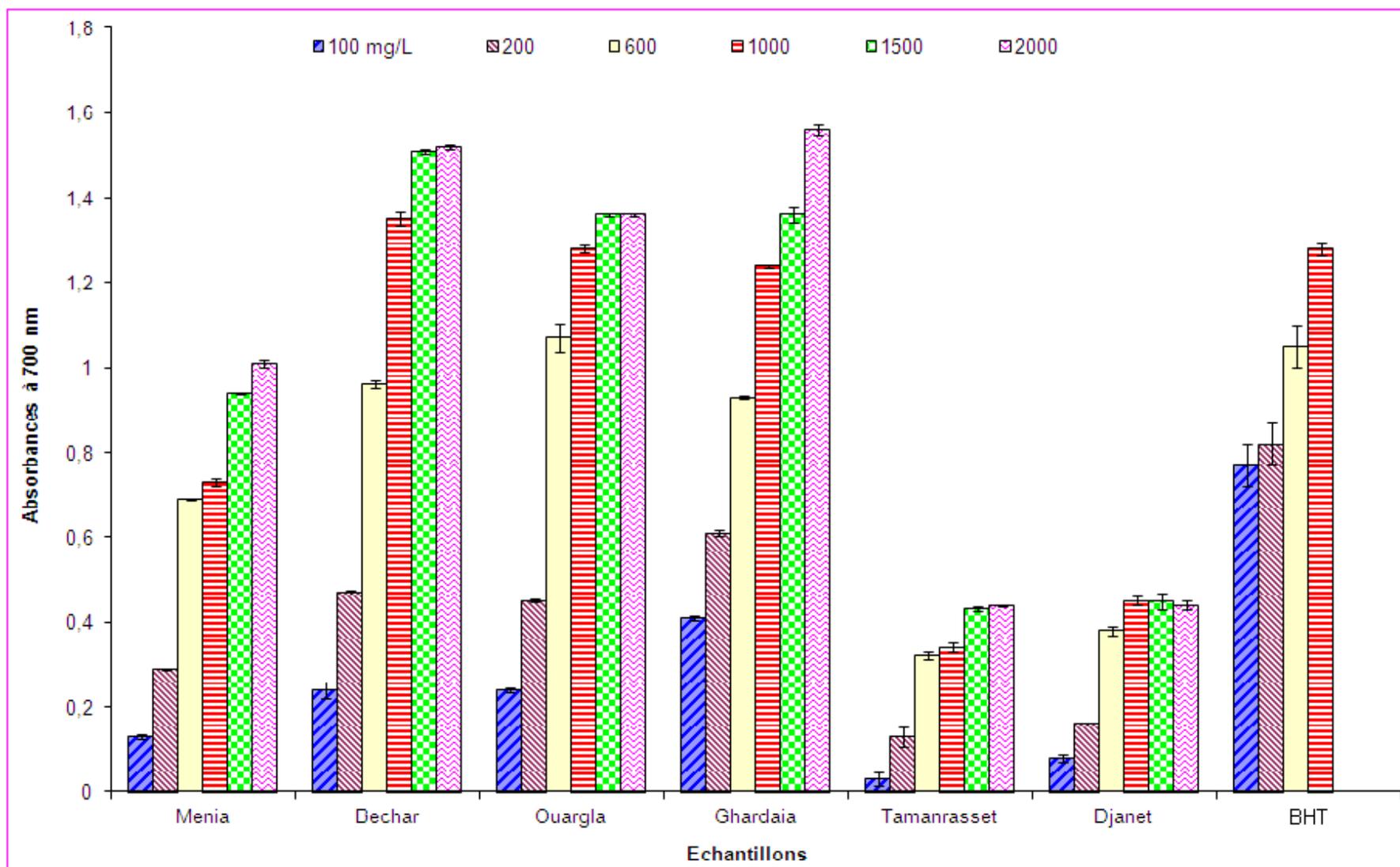
Comme nous l'avons déjà précédemment signalé, les travaux sur les extraits non volatils de *C. schoenanthus* sont très rares, le seul travail trouvé est celui de Khadri et al. (2010) qui rapporte une teneur en phénols totaux de 47, 5±1.5 mg EAG/g extrait, pour un échantillon du désert de Tunisie. Cette valeur est très proche de celle que nous avons trouvée pour l'échantillon de Tamanrasset. La teneur en flavonoïdes varie dans le même sens que celle des phénols totaux. Les valeurs fournies par Khadri et al. (2010) sont estimées en mg équivalent rutine/ g extrait et ne peuvent pas être comparées par rapport aux nôtres qui sont exprimées en mg EQ/ g extrait.

### 3. Activité antioxydante

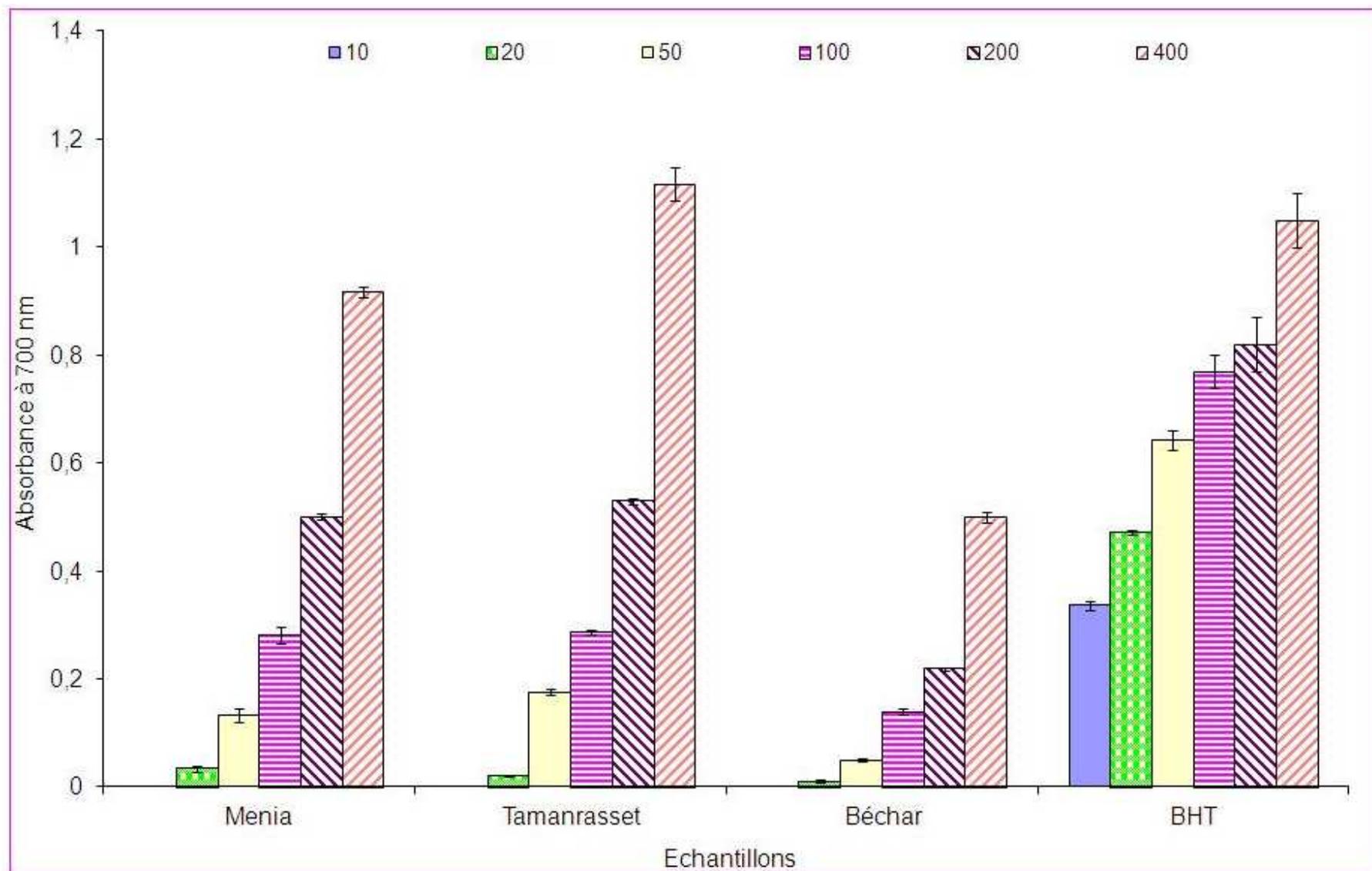
#### 3.1. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est basé sur la réduction du fer ferrique ( $Fe^{+3}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{+2}$ ) dans lequel la coloration jaune de la solution à tester change vers diverses nuances de couleurs vertes et bleues en rapport avec le pouvoir réducteur de chaque échantillon (Hazzit et al., 2013). La présence d'agents réducteurs provoque la conversion du complexe  $Fe^{3+}$  / ferricyanure à la forme ferreuse qui peut être suivie à 700 nm grâce à la formation  $Fe_4 [Fe(CN)_6]_3$ , de couleur bleu de Prusse. L'augmentation de l'absorbance à 700 nm indique une augmentation de la capacité réductrice. La capacité réductrice des différentes huiles est dose-dépendante (Figure 28). Les échantillons de Tamanrasset et de Djanet ont manifesté de faibles pouvoirs réducteurs comparés à ceux de l'antioxydant de synthèse (BHT) et ceux des autres échantillons. Cela pourrait être dû à leurs faibles teneurs relatives en composés alcooliques par rapport aux autres échantillons. En effet, c'est aux composés contenant des fonctions alcools et principalement des phénols que sont attribués les effets antioxydants (Shimada et al., 1992). Les échantillons de Bechar, Ghardaia et Ouargla ont montré un fort pouvoir réducteur supérieur ou comparable à celui du BHT pour les concentrations élevées ( $\geq 600$  mg/L). L'échantillon d'El-Goléa (Ménia) a manifesté une activité réductrice un peu inférieure à celle des autres échantillons de composition chimique similaire (Bechar, Ghardaia et Ouargla). Ce comportement peut être dû à sa teneur moins élevée en alcools, par rapport aux autres échantillons.

L'évaluation de la capacité réductrice des extraits méthanoliques de la fraction non volatile des échantillons de Ménia, Tamanrasset et Béchar (figure 29) a montré une faible capacité réductrice de l'échantillon de Béchar par rapport aux autres échantillons et au BHT pour toutes les concentrations. Ce comportement est en relation avec sa faible teneur en phénols totaux et flavonoïdes. Par contre, l'échantillon de Tamanrasset qui est le plus riche en



**Figure 28:** Pouvoir réducteur des huiles essentielles des différents échantillons de *C. schoenanthus*



**Figure 29:** Pouvoir réducteur des extraits méthanoliques non volatils de *C. schoenanthus* de trois régions (Tamarasset, Ménia et Béchar).

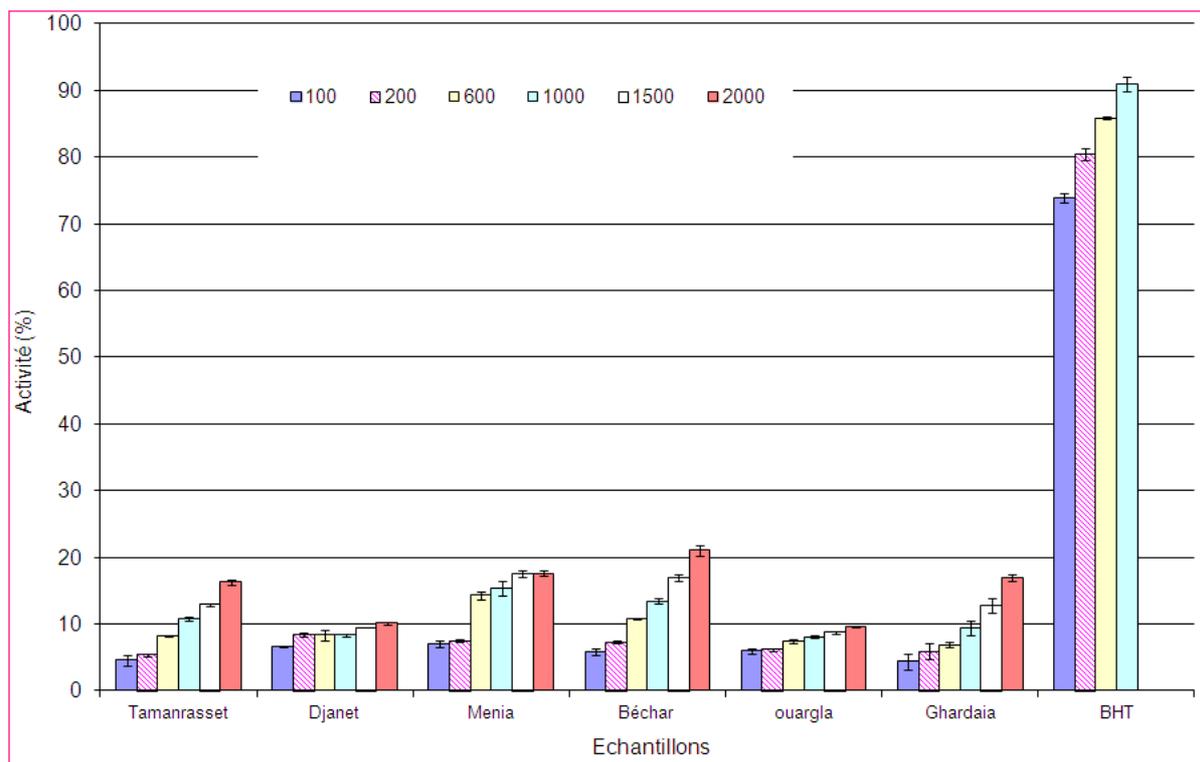
polyphénols a manifesté le meilleur pouvoir réducteur, principalement pour la concentration de 400 mg/L.

### 3.2. Inhibition du radical DPPH<sup>•</sup>

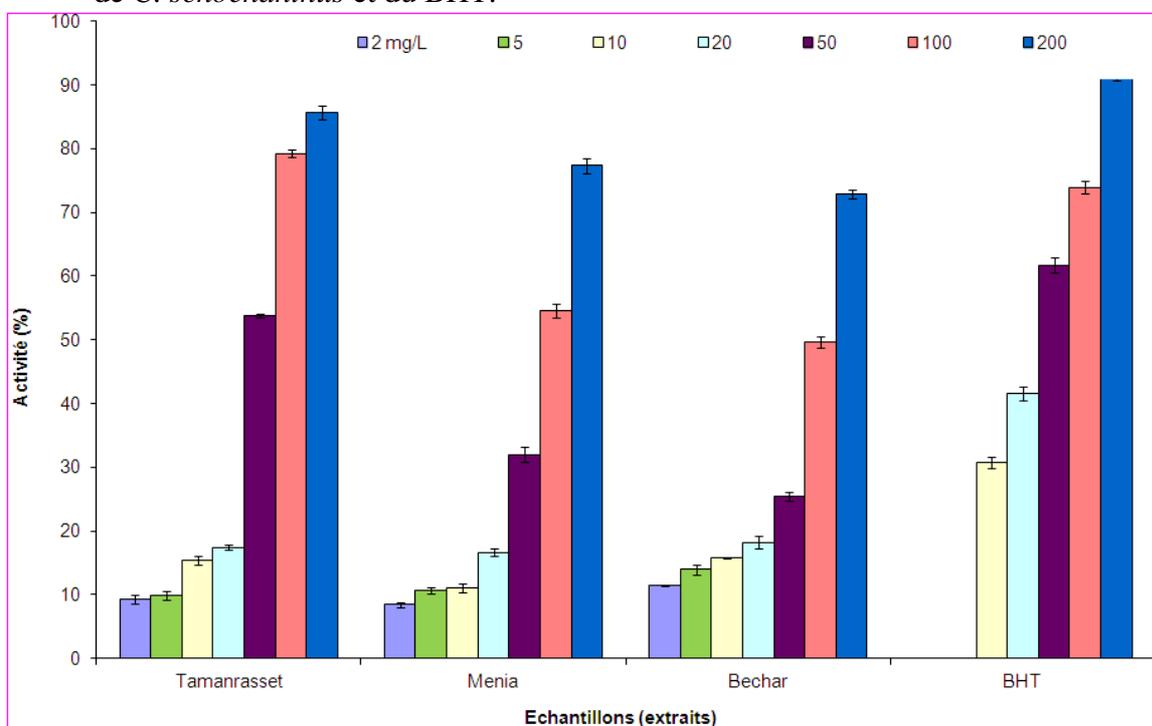
Les différents échantillons d'huiles essentielles (figure 30) ont manifesté une très faible capacité inhibitrice du radical DPPH<sup>•</sup> par rapport à l'antioxydant de synthèse (BHT) même pour des concentrations très élevées (1500 et 2000 mg/L). Exception faite des plantes à huiles essentielles riches en composés phénoliques tels que le **thymol**, le **carvacrol** et l'**eugénol** les huiles essentielles de toutes les plantes sont dotées d'un faible pouvoir d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup>. C'est ce qu'on a pu vérifier pour nos échantillons qui contiennent des alcools mais ces alcools ne sont ni aromatiques (c'est-à-dire contenant un noyau aromatique) ni des phénols. Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'études qui traitent l'activité de piégeage du radical DPPH par les huiles essentielles de *C. schoenanthus* pour pouvoir comparer nos résultats. Le résultat du piégeage du radical DPPH<sup>•</sup> ne varie pas dans le sens de celui du pouvoir réducteur. Cela n'est pas une exception du moment où plusieurs études ont abouti à un résultat similaire pour d'autres huiles issues d'autres plantes telles que, à titre d'exemple, des espèces des lauracées de l'Himalaya (Joshi et al., 2010), de *Myrtus communis* var. *italica* (Wannes et al., 2010), d'*Hymenocrater longiflorus* (Ahmadi et al., 2010), *Origanum onites* L. (Ozkan et al., 2010) et de *Psammogeton canescens* (Gholivand et al., 2010).

Pour les extraits, qui sont le plus souvent constitués de polyphénols, il faut toujours s'attendre à obtenir une activité très élevée de piégeage du radical DPPH, pour cela il faut prendre le soin de tester des concentrations très faibles par rapport à celles des huiles essentielles. Ainsi, nous avons testé des concentrations variant entre 2 et 200 mg/L pour les extraits non volatils et des concentrations variant entre 100 et 2000 mg/L pour les huiles. Les résultats obtenus avec les extraits (figure 31) montrent une activité importante de piégeage du radical DPPH à partir de la concentration de 50 mg/L. Par ailleurs l'échantillon de Tamanrasset, le plus riche en polyphénols (Tableau 6) a fourni des capacités inhibitrices du DPPH équivalentes ou supérieures à celles de l'antioxydant de synthèse (BHT) pour les concentrations de 50, 100 et mg/L. L'activité est très souvent exprimée en termes d'IC<sub>50</sub> qui mesure la concentration nécessaire pour piéger 50% des radicaux libres. Plus l'IC<sub>50</sub> est petite et plus l'activité est grande. Le meilleur résultat (Tableau 7) est obtenu avec l'extrait de l'échantillon de Tamanrasset (46.5 ± 0.3 mg/L). Cette dernière valeur est très éloignée de celle trouvée par Khadri et al. (2010) (17.1 ± 6.3 mg/L). Cette différence pourrait être due à

une différence en flavonoïdes entre les deux échantillons. Tous les échantillons ont fourni des IC<sub>50</sub> inférieures à celle du BHT (28.0 ± 0.7 mg/L).



**Figure 30:** Inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> par les huiles essentielles des différents échantillons de *C. schoenanthus* et du BHT.



**Figure 31:** Inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> par le BHT et les extraits méthanoliques non volatils de *C. schoenanthus* de Tamanrasset, Ménia et Béchar.

**Tableau 7:** Activité de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup>, exprimée en termes d'IC<sub>50</sub> (mg/L), par le BHT et les extraits non volatils méthanoliques de *C. shoenanthus*.

Echantillons	*IC <sub>50</sub> (mg/L)
Tamanrasset	46.5 ± 0.3
Menia	91.72 ± 1.8
Béchar	100.73 ± 1.6
BHT	28.0 ± 0.7

\*Les valeurs sont les moyennes de trois répétitions indépendantes ± l'écart type

### 3.3. Activité de piégeage du radical positif ABTS<sup>•+</sup>

L'activité d'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> a été testée uniquement pour les huiles et pour les échantillons de Tamanrasset, Ménia et Béchar. Les résultats obtenus (Tableaux 8 et 9) font apparaître une très faible activité des huiles par rapport au Trolox. Ainsi, pour une concentration de ce dernier de 0.01 mg/L on obtient une activité supérieure ou égale à celle de 200 mg/L des huiles. L'huile de Ménia a été remarquablement faible dans l'inhibition de ce radical. Tous les auteurs s'accordent à affirmer que l'utilisation d'un seul test pour évaluer l'activité antioxydante n'est pas suffisant. Ceci vient d'être vérifié dans ce travail par les résultats parfois contradictoires dus aux aspects divers de l'oxydation.

**Tableau 8:** Activité de piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> (%) du TROLOX et de trois échantillons de Tamanrasset, Ménia et Béchar

Concentration (mg/L)	Activité (% ; moyenne ± écart type)			Concentration (mg/L)	TROLOX
	Tamanrasset	Béchar	Ménia		
100	15.8±0.4 <sup>d</sup>	15.1±0.4 <sup>f</sup>	6.6±0.6 <sup>f</sup>	0.01	19.67±0.39 <sup>c,d</sup>
200	16.1±0.4 <sup>d</sup>	19.5±0.5 <sup>e</sup>	15.2±0.8 <sup>e</sup>	0.1	19.86±0.39 <sup>c,d</sup>
600	34.2±0.5 <sup>c</sup>	40.0±0.8 <sup>d</sup>	18.8±0.7 <sup>d</sup>	0.5	21.67±0.36 <sup>c</sup>
1000	50.5±0.2 <sup>b</sup>	58.9±0.8 <sup>c</sup>	31.8±0.4 <sup>c</sup>	1	25.34±0.38 <sup>b</sup>
1500	52.4±0.5 <sup>b</sup>	75.2±0.7 <sup>b</sup>	40.5±0.3 <sup>a,b</sup>	5	76.26±1.98 <sup>a</sup>
2000	81.6±0.2 <sup>a</sup>	86.7±0.9 <sup>a</sup>	43.8±0.8 <sup>a</sup>		

\*Les valeurs sont les moyennes ± écart type de trois répétitions indépendantes. Les valeurs avec des lettres différentes, dans chaque colonne, sont significativement différentes (P<0.05).

**Tableau 9:** Activité de piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup>, exprimée en termes d'IC<sub>50</sub> (mg/L), par le TROLOX et les extraits non volatils méthanoliques de *C. shoenanthus*.

Echantillons	*IC <sub>50</sub> (mg/L)
Tamanrasset	1149.56 ± 2.3c
Menia	ND*
Béchar	919.35 ± 1.9b
TROLOX	28.03 ± 0.3a

\*ND : Valeur non disponible c'est-à-dire non atteinte dans l'intervalle de concentrations testées.

#### 4. Activité insecticide

Actuellement les plantes aromatiques réputées pour leurs richesses en huiles essentielles sont très utilisées comme des biopesticides dans le domaine agroalimentaire, notamment en vue de réduire les pertes occasionnées par les insectes ravageurs des denrées stockées.

D'après les résultats obtenus nous constatons que les huiles essentielles extraites de *Cymbopogonschoenanthus* testées, présentent des propriétés insecticides vis-à-vis de la bruche *Callosobruchus maculatus*, qui s'exerce d'une part par effet létal sur les adultes et d'autre part se manifestent par une inhibition de la reproduction : diminution de la fécondité.

L'activité insecticide des huiles essentielles testées a été évaluée par la mortalité des adultes de *C. maculatus* obtenue selon deux modes de pénétration ; le contact et l'inhalation. Leur efficacité a été déterminée par les  $DL_{50}$  et  $CL_{50}$  tirées des courbes de régression des **Probits** respectivement en fonction des logs doses selon la méthode décrite par **Finney en 1971**.

L'effet de ces huiles a été aussi mesuré sur le potentiel de ponte par le nombre d'œufs pondus et sur la descendance de la même espèce par le pourcentage d'adultes ayant émergés.

##### 4.1. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par fumigation sur *C. maculatus*

Lors du test de fumigation, les huiles essentielles se volatilisent rapidement dans l'atmosphère confinée et atteignent les insectes pour exercer leur action.

Les résultats obtenus montrent l'évolution des pourcentages de mortalités cumulées et corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps, de la plante et de la dose des huiles essentielles sur les graines, aucune mortalité n'a été observée dans le lot témoin pendant la durée d'exposition (Tableau 10).

Les pourcentages de mortalité obtenus après 24 heures d'exposition varient de 32,30 à 100 % pour l'huile de Tamanrasset, de 15,83 à 100 % pour l'huile de Djanet, de 15,00 à 100 % pour celle d'El-Goléa, de 6,66 à 100 % pour *C. de Béchar*, de 5,00 à 100 % pour *C. de Ghardaia*, de 3,33 à 100 % pour le *C. shoenantus* de Ouargla, et de 23,3 à 100% pour

**Tableau 10 :** Mortalités corrigées %  $\pm$  écart type enregistrée dans les populations de *C.maculatus* lors du traitement par fumigation des huiles essentielles.

Huiles essentielles	Temps d'exposition (heures)	Doses ( $\mu$ l/ air)				
		0	35,71	71,42	142,86	285,71
<b>C.schoenanthus Tamanrasset</b>	24	0,00 $\pm$ 0,00C	32,3 $\pm$ 0,8B	80,00 $\pm$ 2,94A	100 $\pm$ 00A	100 $\pm$ 00A
	48	0,00 $\pm$ 0,00C	95,00 $\pm$ 3,3B	100 $\pm$ 00A	100 $\pm$ 00A	100 $\pm$ 00A
	72	0,00 $\pm$ 0,00C	100 $\pm$ 0,0B	100 $\pm$ 00A	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
	96	0,00 $\pm$ 0,00C	100 $\pm$ 0,0B	100 $\pm$ 00A	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
<b>C.schoenanthus Djanet</b>	24	0,00 $\pm$ 0,00D	15,83 $\pm$ 3,94C	63,33 $\pm$ 8,28B	99,16 $\pm$ 0,5A	100 $\pm$ 0,0A
	48	0,00 $\pm$ 0,00D	76,66 $\pm$ 4,08C	85,83 $\pm$ 8,50B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
	72	0,00 $\pm$ 0,00D	92,5 $\pm$ 1,7C	97,50 $\pm$ 1,50B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
	96	0,00 $\pm$ 0,00D	95,83 $\pm$ 1,5C	98,33 $\pm$ 1,00B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
<b>C.schoenanthus El-Golea</b>	24	0,00 $\pm$ 0,00D	15,00 $\pm$ 2,51C	33,33 $\pm$ 5,09B	71,66 $\pm$ 2,38A	100 $\pm$ 0,0A
	48	0,00 $\pm$ 0,00D	60,83 $\pm$ 276C	87,20 $\pm$ 4,70B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
	72	0,00 $\pm$ 0,00D	75,33 $\pm$ 2,57C	90,16 $\pm$ 1,68B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
	96	0,00 $\pm$ 0,00D	86,00 $\pm$ 244C	95,44 $\pm$ 2,50B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
<b>C.schoenanthus Béchar</b>	24	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>E</sup>	6,66 $\pm$ 1,53D	21,66 $\pm$ 3,87C	65,16 $\pm$ 1,29B	100 $\pm$ 0,0A
	48	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>E</sup>	55,2 $\pm$ 1,19D	65,16 $\pm$ 2,77C	100 $\pm$ 0,0B	100 $\pm$ 0,0A
	72	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>E</sup>	60,5 $\pm$ 1,5D	70,25 $\pm$ 2,56C	100 $\pm$ 0,0B	100 $\pm$ 0,0A
	96	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>E</sup>	65,3 $\pm$ 2,3D	74,00 $\pm$ 4,50C	100 $\pm$ 0,0B	100 $\pm$ 0,0A
<b>C.schoenanthus Ghardaia</b>	24	0,00 $\pm$ 0,00D	5,00 $\pm$ 0,57C	14,16 $\pm$ 2,98B	74,16 $\pm$ 1,89A	100 $\pm$ 0,0A
	48	0,00 $\pm$ 0,00D	50,83 $\pm$ 4,11C	85 $\pm$ 7,72B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
	72	0,00 $\pm$ 0,00D	75,00 $\pm$ 1,29C	87,5 $\pm$ 2,87B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
	96	0,00 $\pm$ 0,00D	85,83 $\pm$ 2,98C	95,00 $\pm$ 1,00B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
<b>C.schoenanthus Ouargla</b>	24	0,00 $\pm$ 0,00C	3,33 $\pm$ 0,81B	6,66 $\pm$ 3,36B	55,00 $\pm$ 4,79A	100 $\pm$ 0,0A
	48	0,00 $\pm$ 0,00C	9,16 $\pm$ 1,5B	18,33 $\pm$ 3,78B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
	72	0,00 $\pm$ 0,00C	62,5 $\pm$ 2,06B	87,50 $\pm$ 2,30B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
	96	0,00 $\pm$ 0,00C	76,66 $\pm$ 2,44B	89,16 $\pm$ 2,50B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
<b>Artemisia judaica</b>	24	0,00 $\pm$ 0,00D	23.3 $\pm$ 1.8C	44,16 $\pm$ 3,86B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
	48	0,00 $\pm$ 0,00D	44.1 $\pm$ 3.8C	60,00 $\pm$ 2,58B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
	72	0,00 $\pm$ 0,00D	100.0 $\pm$ 0.0C	79,16 $\pm$ 2,75B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A
	96	0,00 $\pm$ 0,00D	100.0 $\pm$ 0.0C	85,00 $\pm$ 3,31B	100 $\pm$ 0,0A	100 $\pm$ 0,0A

Les valeurs sont les moyennes de quatre répétitions indépendantes. Les valeurs avec des lettres différentes, dans chaque colonne, sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ) (Test de Newman et Keuls).

NB- Chaque temps de latence après le traitement est analysé séparément (Annexes).

*Artemisia judaica*. Nous remarquons que la dose 35.71 µl/l air ne provoque qu'une faible mortalité après 24 heures d'exposition, et cela pour toutes les huiles essentielles utilisées. À partir de la dose 71, 42 µl/l air toutes les huiles essentielles testées occasionnent une mortalité comprise entre 74, 00 et 100 % au quatrième jour d'exposition (Tableau 10).

De toutes les huiles essentielles, celle de Tamanrasset est la plus toxique puisque même à la plus faible dose (35.71 µl/l air), les adultes vivent moins de 72 heures, elle présente également la plus faible valeur de CL<sub>50</sub> obtenue par la méthode de Probit (Tableau 14), suivi de l'huile de Djanet qui provoque une mortalité de 92,5 % après 72 heures d'exposition à la même dose (Tableau 10).

La transformation des pourcentages de mortalité des adultes de *C.maculatus* après 24 heures d'exposition en probits, et la régression de ces données en fonction du logarithme de la dose en huiles essentielles, a permis d'obtenir les équations et les CL<sub>50</sub> suivants (tableau 11) :

**Tableau 11** : Les CL<sub>50</sub> des huiles essentielles testées

Plante	Formule	CL <sub>50</sub> ( µl/l air)
<i>C.shoenantus</i> Tamanrasset	Y = 4,261 X - 1,894 (R <sup>2</sup> =0.899)	CL <sub>50</sub> =41,48 µl/l air
<i>C.shoenantus</i> Djanet	Y = 4,738 X - 3,296 (R <sup>2</sup> =0.971)	CL <sub>50</sub> = 56,35 µl/l air
<i>C.shoenantus</i> El-Goléa	Y = 4,492 X - 3,423 (R <sup>2</sup> =0.918)	CL <sub>50</sub> = 74,99 µl/l air
<i>C.shoenantus</i> Béchar	Y = 4,934 X - 4,58 (R <sup>2</sup> =0.913)	CL <sub>50</sub> = 87,41 µl/l air
<i>C.shoenantus</i> Ghardaia	Y = 5,279 X - 5,327 (R <sup>2</sup> =0.933)	CL <sub>50</sub> = 90,4 µl/l air
<i>C.shoenantus</i> Ouargla	Y = 5,481 X - 6,02 (R <sup>2</sup> =0.892)	CL <sub>50</sub> = 102,44 µl/l air
<i>Artemisia judaica</i>	Y = 4,889 X - 3,474 (R <sup>2</sup> =0.856)	CL <sub>50</sub> = 54,11 µl/ l air

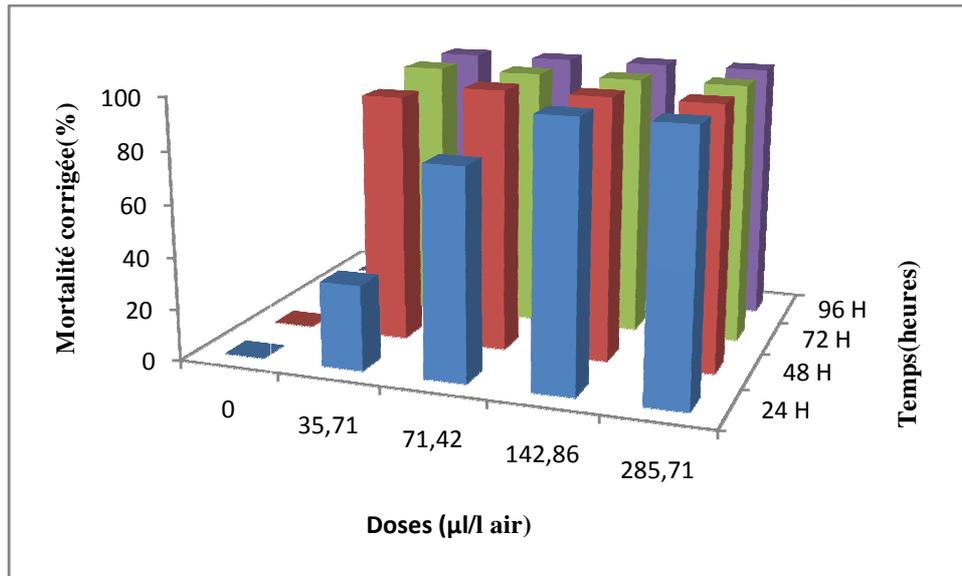
Ces résultats (Tableau 11) montrent que les valeurs de  $CL_{50}$  des huiles essentielles extraites de *C.shoenantus* de Tamanrasset (41,48  $\mu$ l/l air), d' *Artemisia judaica* ( 54,11  $\mu$ l/ l air) et de Djanet (56,35  $\mu$ l/l air) sont beaucoup plus faibles comparativement aux  $CL_{50}$  des huiles d'El-Goléa (74,99  $\mu$ l/l air); Béchar (87,41  $\mu$ l/l air) ; Ghardaia (90,4  $\mu$ l/l air) ; et Ouargla (102,44  $\mu$ l/l air).

L'efficacité en ce qui concerne la toxicité est suivie dans l'ordre:C.Tamanrasset> *Artemisia judaica*>C. Djanet>C. d'El-Goléa >C. Béchar>C. Ghardaia >C. Ouargla après 24 h après le traitement.

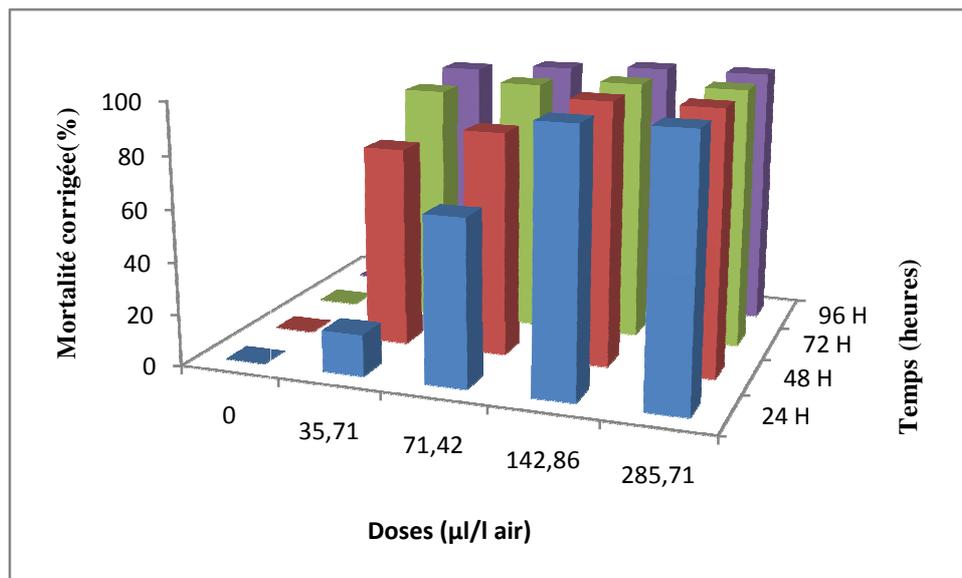
Concernant l'évaluation des huiles essentielles étudiées par effet fumigation, l'analyse statistique a montré une différence très hautement significative entre les moyennes de mortalité de *C. maculatus*(  $P < 0,0001$ ) quelques soit les doses et les temps d'expositions (Tableau 12 ).

**Tableau 12:** Analyse de la variance pour l'effet de la dose sur la mortalité (test fumigation)

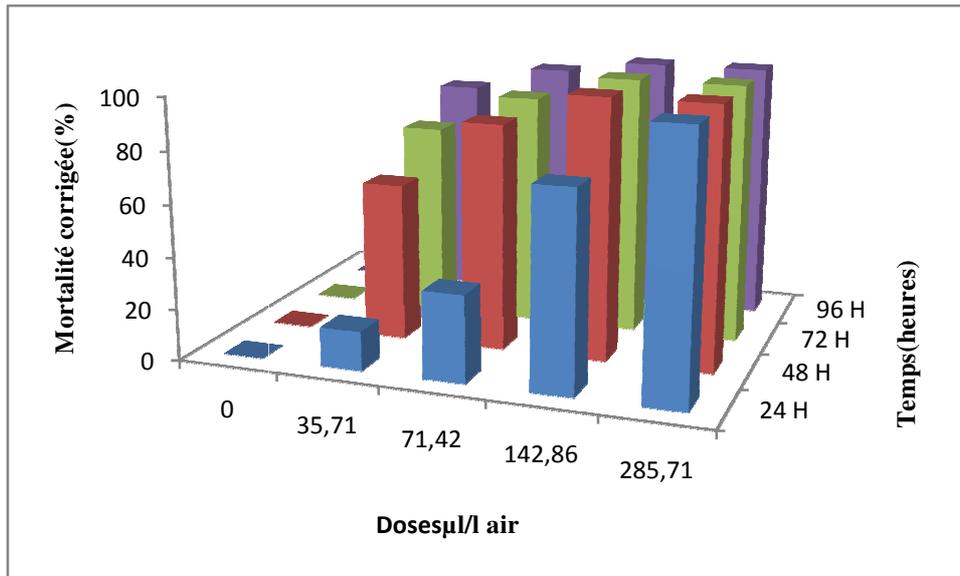
Plante	Ddl	F	P
<i>C.shoenantus</i> Tamanrasset	7	102,783	<0,0001
<i>C.shoenantus</i> Djanet	7	61,576	<0,0001
<i>C.shoenantus</i> El-Goléa	7	91,945	<0,0001
<i>C.shoenantus</i> Béchar	7	117,707	<0,0001
<i>C.shoenantus</i> Ghardaia	7	25,446	<0,0001
<i>C.shoenantus</i> Ouargla	7	31,937	<0,0001
<i>Artemisia judaica</i>	7	144,564	<0,0001



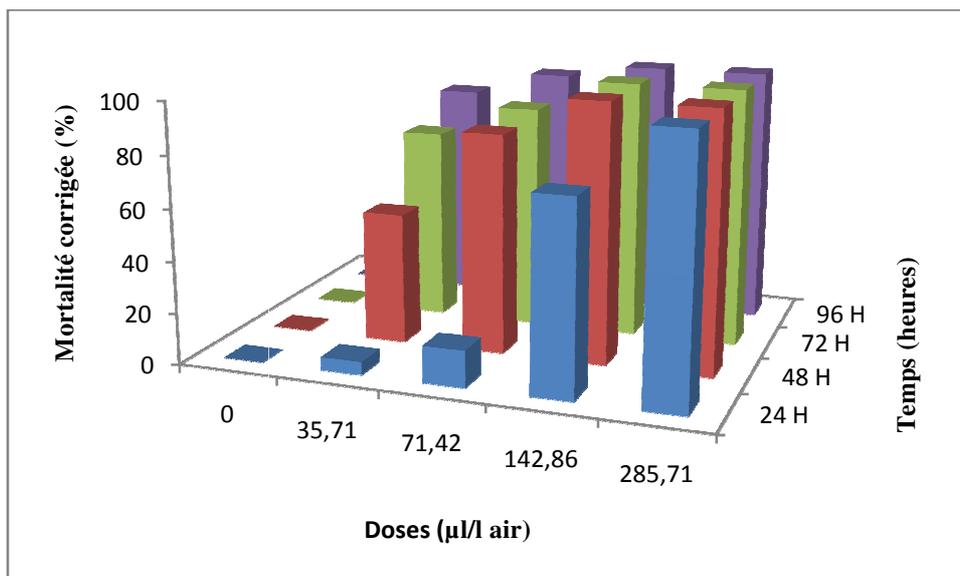
**Figure 32:** Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de *C.schoéanthus* de Tamanrasset par fumigation



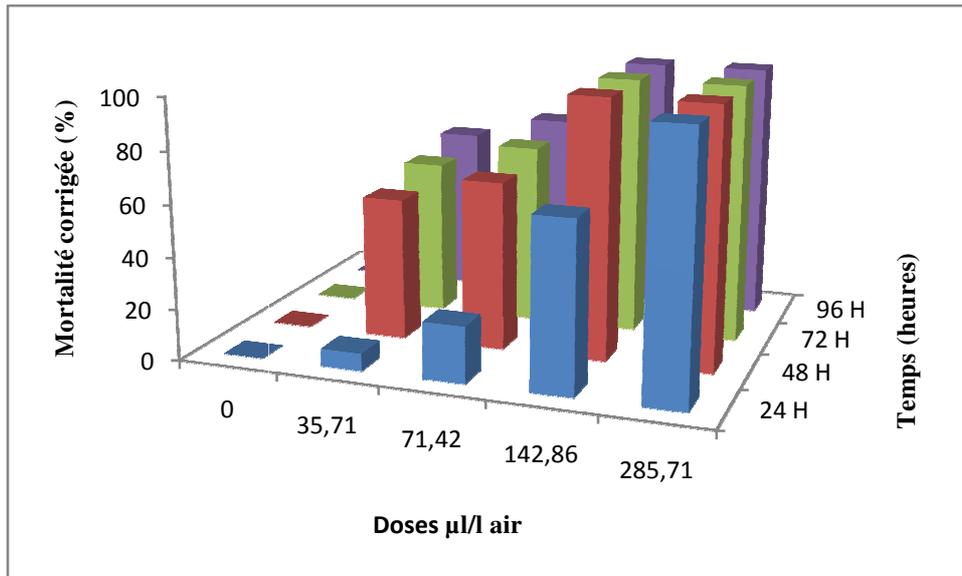
**Figure 33:** Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de *C.schoéanthus* de Djanet par fumigation



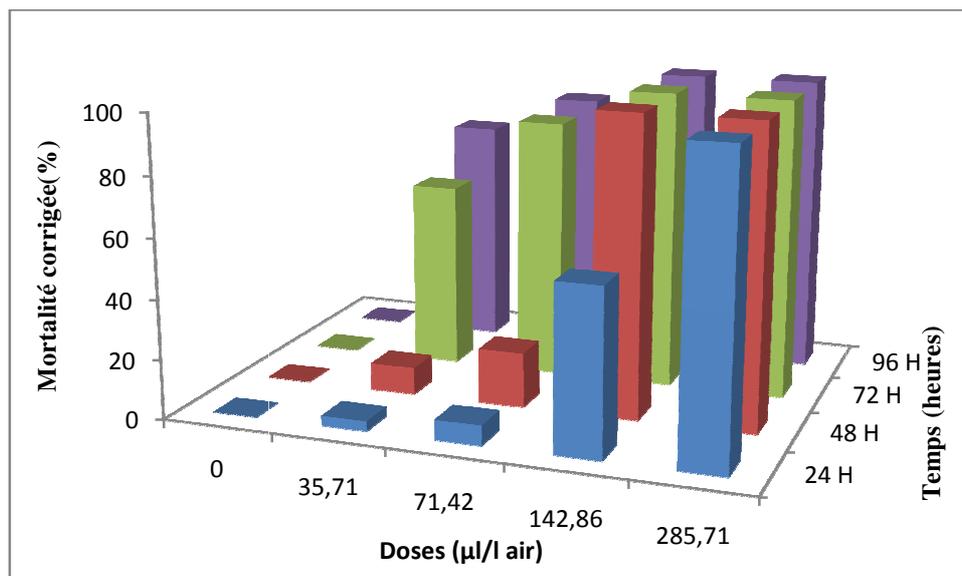
**Figure 34:** Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de *C. schoéanthus* d' El-Goléa par fumigation



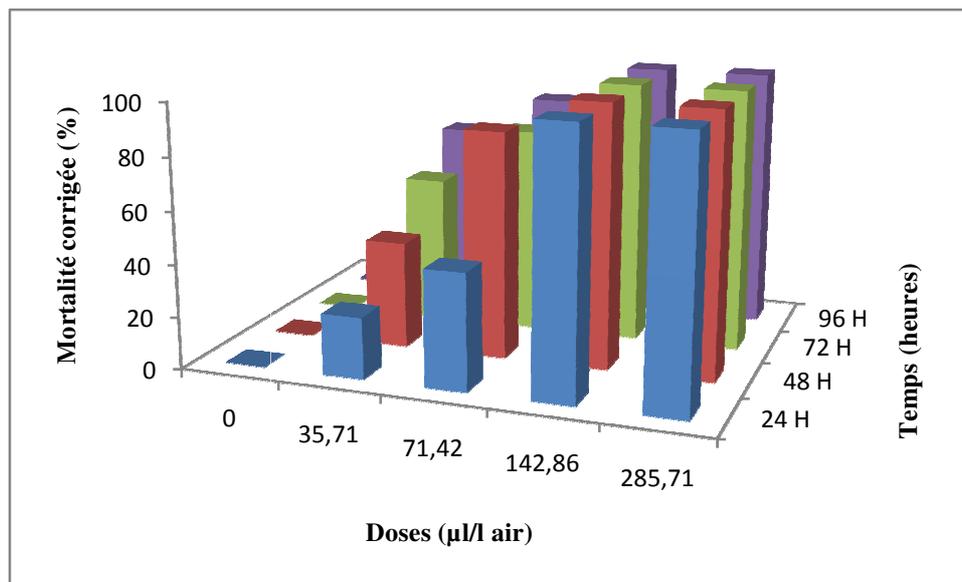
**Figure 35:** Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de *C. schoéanthus* de Ghardaia par fumigation



**Figure 36:** Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de *C. schoëanthus* de Béchar par fumigation



**Figure 37:** Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de *C. schoëanthus* de Ouargla par fumigation



**Figure 38:** Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* par fumigation

Dans nos conditions expérimentales, les sept huiles essentielles testées présentent des effets variables sur la mortalité des adultes de la bruche *C. maculatus*. Ainsi, en fonction de l'efficacité de ces huiles, l'huile essentielle de Tamanrasset et Djanet ont été les plus efficaces à l'égard de *C. maculatus*.

La différence observée par rapport à nos résultats est probablement liée au chémotype utilisé. Nous pouvons dire que la pipéritone qui est l'un des principaux constituants majoritaires des huiles essentielles de *C. schoenanthus* de Tamanrasset et de Djanet serait en partie responsable de l'activité de ces huiles essentielles et certains composés tels que le  $\delta$ -2-carène auraient un effet synergique avec la pipéritone. Cette composition qui dépend également de la zone de récolte des plantes.

L'efficacité des huiles essentielles est généralement liée à la nature de leurs composants majoritaires, ce sont les terpènes émis par les huiles essentielles qui sont toxiques aux adultes de *C. maculatus* (Ketoh et al., 2002). L'activité adulte de ces huiles essentielles extraites d'autres espèces du genre *Cymbopogon* a été signalée. Selon Ketoh et al. (2006), l'activité insecticide des huiles essentielles brutes extraites de *Cymbopogon schoenanthus* et de son constituant principal, pipéritone, a été évaluée à différents stades de développement sur *Callosobruchus maculatus*. Bowers et al. (1993), ont montré que ce composé a des propriétés anti-appétences et répulsives sur les fourmis du genre *Crematogaster*.

En effet, selon Schumtterer (1992) , l'activité insecticide des espèces végétales varie en fonction des écotypes utilisés. Cette observation est confirmée par les travaux réalisés en Côte d'Ivoire par Séri-Kouassi (2004) qui pense que le degré d'intoxication des insectes est fonction de la composition des huiles testées, une Composition qui dépend elle même de la zone de récolte des plantes et de l'organe du végétal utilisé. L'efficacité d'une nouvelle formulation de l'huile essentielle d'*Ocimum canum* et l'huile de *Cymbopogon schoenanthus* à été étudiée contre les termites (Gbenyedji K. et Jean Norbert, 2014).

La composition chimique de l'huile essentielle d'*A. judaica* pourrait être modifiée en fonction de sa distribution géographique et il pourrait être un facteur efficace affectant son activité insecticide. Les principaux composants d'huile essentielle d'*A. judaica* sont pipéritone et trans-éthyl cinnamate, qui se sont avérés jouer un rôle clé dans le contrôle de *Spodoptera littoralis* (Abdelgaleil et al. , 2008).

L'action toxique par fumigation de certaines plantes sous forme d'huile essentielle sur *C. maculatus* a été mise en évidence par plusieurs chercheurs.

L'huile essentielle de *Mentha pipetaest* toxique vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus*, la mortalité atteint 100% à la dose de 20µl/l après 24 heures d'exposition (Kellouche et al., 2010).L'efficacité d'une nouvelle formulation de l'huile essentielle d'*Ocimum canum* et l'huile de *Cymbopogon schoenanthus* à été étudiée contre les termites (Gbenyedji K. et Jean Norbert, 2014).La toxicité inhalatoire des huiles essentielles d'*Artemisia aucheri* (Bioss.) et de *Salvia bracteata* (L.) est affirméesur *Callosobruchus maculatus*, *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae*, et *Sitophilus granarius*(Shakarami et al., 2005).Mahfouz et Khalequezzaman, (2007) ont montré l'efficacité des huiles essentielles de Cardamome, de cannelle, des clous de girofle, d'eucalyptus et du neem sur *C. maculatus*.

Les effets insecticides constatés pour les huiles d' *Ocimum basilicum*, d'*Ocimum gratissimum* et de *Cymbopogon citratus* ont été aussi mis en évidence par plusieurs auteurs contre d'autres ravageurs des stocks comme *Callosobruchus maculatus* Fab. Par exemple, Seri-Kouassi et al. (2004) ont affirmé la présence d'une activité insecticide de l'huile d' *O. gratissimum* et de celle de *Melaleuca quinquenervia* L. par fumigation de *C. maculatus* sous l'effet à différents volumes. Kéita et al.(2001) ont montré aussi qu'après 12 heures de fumigation à la dose de 25 µl, les huiles d'*o. basilicum*, d'*o. gratissimum* provoquaient respectivement des mortalités de 80 et 70% chez *C. maculatus*. Gakuru et Foua-Bi (1996) ont montré également, que les extraits étherés d'*Ocimum basilicum* à 1% ont provoqué 82,5% de mortalité chez *C. maculatus* et chez *Sitophilus oryzae*.

La toxicité par fumigation des huiles essentielles à partir des rhizomes d'*Alpinia conchigera*, *Zingiber zerumbet*, *Curcuma zedoaria* et leurs composés principaux a été étudiée sur les adultes de *Sitophilus zeamais*, *Tribolium castaneum*, *Anisopteromalus calandrae* et *Deion trichogrammes* larves (Duangsamorn S. et al. 2011).

#### 4.1.1. Effet des huiles essentielles sur l'oviposition

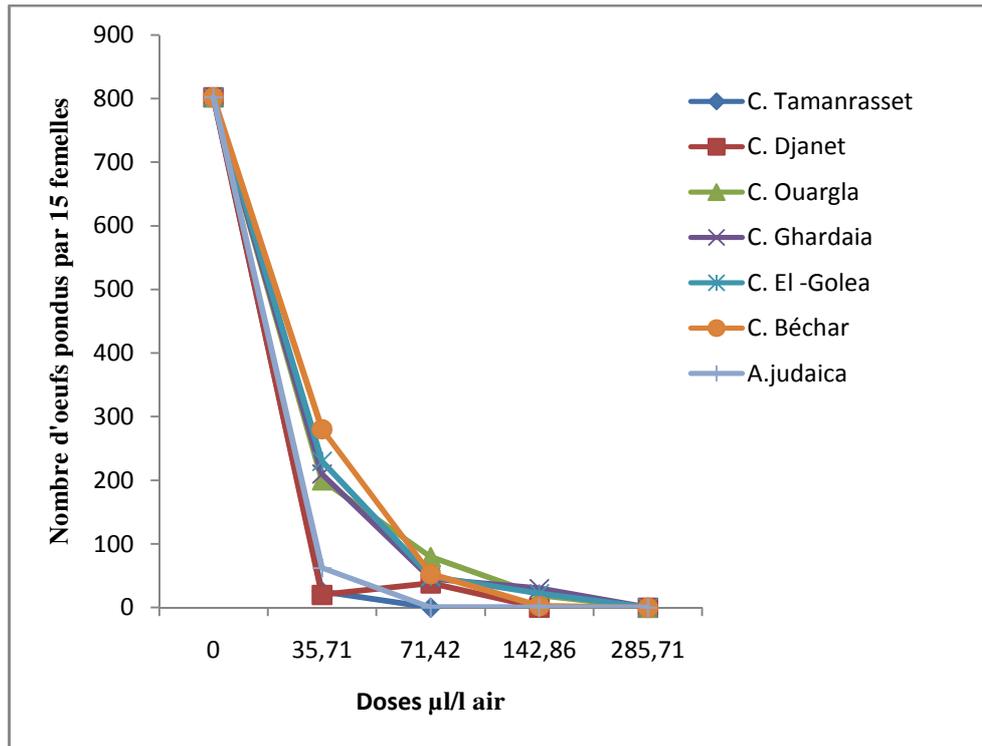
L'effet insecticide des huiles s'accompagne d'une diminution du nombre d'œufs pondus par femelle et la l'oviposition change selon la dose utilisée en huiles essentielles de la fécondité d'une façon progressive avec l'augmentation de la dose des huiles (Tableau 13).

Le nombre d'œufs pondus a été plus élevé (802±11,50 œufs) sur les graines de pois chiches dans les lots témoins que sur les graines traitées avec les huiles essentielles.

La fécondité diminue d'une façon progressive avec l'augmentation de la dose des huiles. Les huiles extraites de C. Tamanrasset et d'*Artemisia judaica* inhibent complètement la ponte des œufs dès la dose 71,42 µl / l air. L'huile essentielle de C. Djanet provoque un arrêt de la ponte à la dose 142,86 µl/l air et moins de 25 œufs à la faible dose. La ponte s'annule dès la 2<sup>ème</sup> dose pour C. de Tamanrasset et de *Artemisia judaica* et dès la 3<sup>ème</sup> dose pour C. Djanet, alors que les huiles essentielles d'El-Golée ; Béchar ; Ghardaia ; et Ouargla, réduisent la ponte des œufs à la forte dose.

**Tableau 13:** Moyennes d'œufs pondus par les femelles de *Callosobruchus maculatus* traitées avec les huiles essentielles par fumigation

Doses (µl/l air)	Moyennes d'œufs pondus par femelles traitées par les huiles essentielles par fumigation						
	C. Djanet	C. Ouargla	C. Ghardaia	C. Tamanrasset	A. judaica	C. El – Golea	C. Béchar
0	802±11,50	802±11,50	802±11,50	802±11,50	802±11,50	802±11,50	802±11,50
35,71	19,95±2,07	200±6,50	210±6,20	25±2,15	62±5,25	230±9,04	280,5±9,44
71,42	37,95±2,28	79,5±5,14	45±2,35	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	48,5±1,35	52,5±3,35
142,86	0.0 ± 0.0	19,25±1,04	30±2,18	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	22±0,56	2,53±0,84
285,71	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0



**Figure 39 :** Effet des huiles essentielles par inhalation sur la fécondité De *Callosobruchus maculatus*

En effet, la réduction de la fécondité n'est pas seulement liée à la diminution de la période de ponte ou de survie des femelles adultes mais elle peut être également le résultat d'une perturbation du processus de vitellogenèse.

Les huiles essentielles étudiées contiennent des composants biochimiques qui agissent négativement sur la fécondité des femelles de *C. maculatus*. Nous remarquons que de même, les monoterpènes (2-Carène, Limonene,  $\beta$  phéllandrene, Piperitone...) libérés par nos huiles essentielles sont susceptibles d'affecter sérieusement à faibles doses la fécondité de *C. maculatus* contrairement au témoin non traité qui s'avère sensible aux attaques de cette espèce. En effet, selon Sanon (2006), les composés terpéniques pourraient provoquer dans une situation de stockage, une diminution de l'activité reproductrice des femelles de *C. maculatus*. Selon (K. Ketoh et al., 2006), le Pipéritone a inhibé le développement des oeufs fraîchement pondus et des larves nouveau-né de *C. maculatus*.

En ce qui concerne la capacité de ponte des femelles de *C. maculatus*, nous avons relevé une diminution significative du nombre d'œufs pondus par les femelles après leur exposition aux différentes huiles essentielles par rapport au témoin aux différentes doses.

La réduction de la ponte, observée chez *C. maculatus* en présence des huiles essentielles, est probablement liée à la mortprécoce de certaines femelles ou à l'état demorbidité observée chez les adultes. Des observations similaires ont été faites par Koumaglo et al. (1996) et Glitho et al. (1997) avec l'effet des huiles essentielles de *Lippia multiflora* et de *Cymbopogon schoenanthus* et par Séri-Kouassi (2004) avec l'effet de *Cymbopogon giganteus*, *Cymbopogon citratus*, *Ageratum conyzoides*, *Melaleuca quinquenervia* et *Mentha piperita* sur *C. maculatus*. Ces travaux confirment également ceux de Schmidt et al. (1991) et Mazibur et Gerhard (1999) qui ont étudié l'effet de l'huile de *Acorus calamus* (Asteraceae) respectivement sur *Callosobruchus chinensis* et *Callosobruchus phaseoli*. Selon Seri-Kouassi et al. (2004), les huiles essentielles d'*d'ocimum gratissimum* entraînent chez les femelles de *C. maculatus* une réduction très significative de la ponte par rapport au témoin.

L'inhibition de la ponte des femelles de *Callosobruchus maculatus* et de *C. subinnotatus* serait aussi liée à une perturbation de l'oviposition due aux vapeurs d'huiles essentielles.

En effet, l'observation de l'appareil reproducteur de certaines femelles de *Cymbopogon. Subinnotatus* traitées aux doses inférieures ou égales à 20 µL/L avec l'huile essentielle de *C. giganteus*, montre dans les ovarioles des ovocytes dont certains arrivés à maturité sont en rétention dans les oviductes et dans la bourse copulatrice. Ceci suggère que les huiles essentielles provoqueraient la rétention des œufs par incapacité physique d'oviposition chez les femelles de ces espèces de bruches. Les huiles essentielles de *C. giganteus* et de *C. nardus* réduisent le nombre d'œufs pondus par les femelles de *C. maculatus* et de *C. subinnotatus* avec un taux de réduction de plus de 80% pour *C. maculatus* et de plus de 90% pour *C. subinnotatus* par rapport au témoin. La dissection effectuée au niveau de l'abdomen de certaines femelles traitées aux doses inférieures ou égales à 20 µL/L aux huiles essentielles de *C. giganteus* et de *C. nardus* a permis d'observer des ovocytes dans les ovarioles dont certains arrivés à maturité sont en rétention dans les oviductes et dans la bourse copulatrice (Seth Wolali Nyamador, 2009).

Selon Schmidt et al. (1991), les vapeurs d'huiles d'*Acorus calamus* entraînent des changements ovariens semblables à ceux causés par les chémostérilisants ou les composés à base d'hormone juvénile. Ceci serait à l'origine du blocage de l'émission des œufs par les femelles des deux espèces de bruches. La perturbation physiologique induite par les huiles essentielles chez les insectes a été aussi évoquée par Séri-Kouassi (2004), Ketoh (1998) et El Nahal et al. (1994). Selon, les travaux de Girardie (1964) sur *Locusta migratoria* (Orthoptère), les interventions directes sur la pars intercerebralis perturbent fortement le fonctionnement

ovarien et induisent une accumulation du neurosécrétat. Ceblocage provoquerait chez la femelle de bruches la non contraction des sphincters susceptibles de pousser les œufs de la bourse copulatrice vers l'orifice génital pour leur émission. Différents travaux confirment ces hypothèses.

Par ailleurs, selon Raccaud–Schoeller (1980), la non sécrétion des neurohormones par les corpora allata stimulatrices de la ponte empêcherait les contractions spontanées des oviductes latéraux et l'activation du dernier ganglion abdominal réglant par voie humorale l'émission finale des œufs. Des interprétations similaires ont été faites par Séri-Kouassi (2004) pour expliquer l'inhibition de l'oviposition par les huiles essentielles chez les femelles de *C. maculatus*. Selon cet auteur et bien d'autres auteurs tels que Raccaud-Schoeller (1980), la présence d'ovocytes mûrs dans les oviductes et dans la bourse copulatrice inhiberait le contrôle du système gonadotrope sur la libération de l'hormone de ponte. La rétention d'œufs induirait donc une inhibition de l'activité ovarienne.

Les huiles essentielles extraites d'*A. Aucheri*, *S. bracteata* et *Nepeta cataria* (L.) réduisent significativement l'oviposition des adultes de *C. maculatus* à la dose de  $0,37 \mu\text{l}/\text{cm}^3$  (Shakarami *et al.* 2005). Salunke *et al.* (2005) rapportent que les flavonoïdes extraits de *Calotropis procera* (Ait.) utilisés à la dose 10 mg/ml réduisent la ponte de *C. chinensis*. Papachritos et Stamopoulos (2002) affirment que l'huile essentielle de *J. oxycedrus*, *L. nobilis*, *O. vulgare*, *R. officinalis*, *M. viridis*, *M. microphylla* diminuent le potentiel reproducteur d'*A. obtectus*.

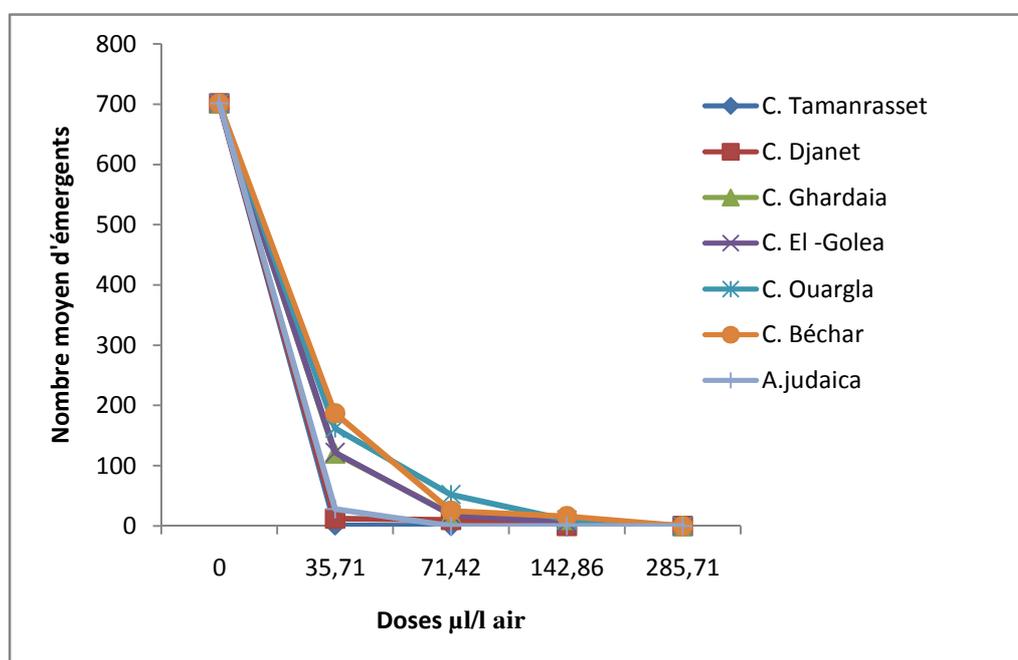
Seri-Kouassi *et al.* (2004) ont affirmé une réduction significative de la ponte de *C. maculatus* sous l'effet de l'huile d'*o. gratissimum* et de celle de *Melaleuca quinquenervia* L par fumigation.

#### **4.1.2. Effet des huiles sur l'émergence des adultes**

Les traitements en huiles essentielles ont réduit le nombre d'émergents comparativement à la série témoin (Tableau 14). Nous remarquons que l'émergence des adultes s'annule dans les graines traitées avec l'huile essentielle de *C. schoenanthus* de Tamanrasset à la dose  $35,71 \mu\text{l}/\text{l}$  air, alors dans les pois chiches traités avec l'huile essentielle d'*Artemisia judaica*, l'émergence des bruches s'arrête à la dose  $71,42 \mu\text{l}/\text{g}$ , par contre l'émergence des bruches s'annule à la plus forte dose avec les huiles prélevés dans les autres régions.

**Tableau 14:** Emergence des adultes de première génération dans les graines traitées par les huiles essentielles par fumigation

Doses (µl/l air)	Nombre d'adultes émergents						
	C. Tamanrasset	C. Djanet	C. Ghardaia	C. El - Golea	C. Ouargla	C. Béchar	A.judaica
0.0 ± 0.0	701±14,46	701±14,46	701±14,46	701±14,46	701±14,46	701±14,46	701±14,46
35,71	1±0,5	12±2,05	120±7,33	122±5,08	162±7,79	187±9,35	28±2,03
71,42	0.0 ± 0.0	10±2,76	20±0,89	18,5±1,25	52±3,78	25±1,16	0.0 ± 0.0
142,86	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	10±14,46	6±0,32	10±3,54	16±0,88	0.0 ± 0.0
285,71	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0



**Figure 40 :** Effet des huiles essentielles par fumigation sur l'émergence des adultes De *Callosobruchus maculatus*

Plusieurs auteurs ont observé une réduction significative du nombre de descendants chez *C. maculatus*, Ketoh *et al.* (2005) affirment que l'huile essentielle de *C. schoenanthus* inhibe l'éclosion des œufs et le développement des larves néonates de *C. maculatus* à la dose de 33,3 µl/ml. Les huiles essentielles de *J. oxycedrus*, *L. nobilis*, *O. vulgare*, *R. officinalis*, *M. viridis*, *M. microphylla* diminuent le potentiel reproducteur d'*A. obtectus* (Papachritos et Stamopoulos, 2002). Kéita *et al.* (2001) ont montré que l'application des poudres d'argile purifiées aromatisées par l'huile d'*O. basilicum* avait des effets significatifs sur l'émergence des bruches adultes du niébé.

#### 4.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par effet contact

D'après les résultats obtenus nous constatons que les huiles essentielles *testées*, présentent également des propriétés insecticides par contact vis-à-vis de bruche *Callosobruchus maculatus*. L'évolution des pourcentages de mortalités cumulées et corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps, de la plante et de la dose des huiles essentielles sur les graines est présentée dans le Tableau 15 et illustrée dans les figures.

Aucune mortalité n'a été observée dans le lot témoin pendant la durée d'exposition.

En effet, L'efficacité varie selon les huiles essentielles. Elle va de 5,50 à 100 % pour l'huile de C. Tamanrasset, de 3,75 à 100 % pour C. Djanet, de 3,3 à 100% pour C. Ghardaia, de 5,8 à 85,75 % pour C. d'El-Goléa, de 4,65 à 80,50 % pour C. Béchar, et de 5,0 à 100% pour C. Ouargla. L'huile d'*Artemisia judaica* manifeste une mortalité de 100 % dès la plus faible dose (0,5 µl/g).

La transformation des pourcentages de mortalité des adultes de *C. maculatus* après 24 heures d'exposition en probits, et la régression de ces données en fonction du logarithme de la dose en huiles essentielles, a permis d'obtenir les équations et les DL50 (Tableau 16).

**Tableau 15:** Mortalités corrigées % ± écartype enregistrée dans les populations de *C.maculatus* lors du traitement par contact des huiles essentielles.

Huiles essentielles	Temps d'exposition (heures)	Doses( $\mu$ l/g )				
		0	0,5 $\mu$ l/g	1 $\mu$ l/g	2 $\mu$ l/g	4 $\mu$ l/g
C.Tamanrasset	24	0,00±0,00D	5,5± 0,73C	38,75±2,64B	100±00A	100±0,0A
	48	0,00±0,00D	8,75 ±1C	23,75±1,56B	90±4,78A	100±0,0A
	72	0,00±0,00D	12,5± 2,1C	46,25±2,3B	91,25±5,04A	100±0,0A
	96	0,00±0,00D	15± 2,45C	53,75±1,9B	100±00A	100±0,0A
C.Djanet	24	0,00±0,00 <sup>E</sup>	3,75±0,86D	41,25±1,5C	72,50±1,25B	100±0,0A
	48	0,00±0,00 <sup>E</sup>	10±1,56D	56,25±2,2C	90±5,10B	100±0,0A
	72	0,00±0,00 <sup>E</sup>	10±0,81D	61,25±3,30C	90±4,03B	100±0,0A
	96	0,00±0,00E	20±2,8D	71,25±3,28C	96,25±4,16B	100±0,0A
C. El-Golea	24	0,00±0,00C	0,00±0,00C	0,00±0,00C	5,8±1,20B	75,16±3,85A
	48	0,00±0,00C	0,00±0,00C	0,00±0,00C	15,60±2,34B	78,20±4,18A
	72	0,00±0,00C	0,00±0,00C	0,00±0,00C	55,00±2,78B	82,30±2,90A
	96	0,00±0,00C	0,00±0,00C	0,00±0,00C	58,20±4,21B	85,75±2,50A
C. Béchar	24	0,00±0,00C	0,00±0,00C	0,00±0,00C	4,65±0,87B	72,58±2,81A
	48	0,00±0,00C	0,00±0,00C	0,00±0,00C	12,20±1,24B	75,16±2,05A
	72	0,00±0,00C	0,00±0,00C	0,00±0,00C	45,80±2,50B	78,00±1,78A
	96	0,00±0,00C	0,00±0,00C	0,00±0,00C	54,16±4,08B	80,50±2,80A
C. Ghardaia	24	0,00±0,00C	0,00±0,00C	0,00±0,00C	3,30±0,95B	72,50±1,35A
	48	0,00±0,00C	0,00±0,00C	0,00±0,00C	7,50±1,03B	80,00±2,80A
	72	0,00±0,00C	0,00±0,00C	0,00±0,00C	42,50±1,30B	100±0,0A
	96	0,00±0,00C	0,00±0,00C	0,00±0,00C	55,00±2,02B	100±0,0A
C. Ouargla	24	0,00±0,00 <sup>E</sup>	0,00±0,00D	0,00±0,00C	32,50±3,18B	100±0,0A
	48	0,00±0,00 <sup>E</sup>	0,00±0,00D	5,00±0,78C	68,75±5,20B	100±0,0A
	72	0,00±0,00 <sup>E</sup>	0,00±0,00D	17,50±1,29C	86,25±3,18B	100±0,0A
	96	0,00±0,00 <sup>E</sup>	0,00±0,00D	40,00±0,59C	90,00±2,03B	100±0,0A
Artemisia judaica	24	0,00±0,00B	100±0,0A	100±0,0A	100±0,0A	100±0,0A
	48	0,00±0,00B	100±0,0A	100±0,0A	100±0,0A	100±0,0A
	72	0,00±0,00B	100±0,0A	100±0,0A	100±0,0A	100±0,0A
	96	0,00±0,00B	100±0,0A	100±0,0A	100±0,0A	100±0,0A

Les valeurs sont les moyennes de quatre répétitions indépendantes. Les valeurs avec des lettres différentes, dans chaque colonne, sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ) (Test de Newman et Keuls).

NB- Chaque temps de latence après le traitement est analysé séparément (Annexes).

**Tableau 16 :** Les DL50 des huiles essentielles testées

Plante	Formule	DL <sub>50</sub> ( µl/g)
<i>C.shoenantus</i> Tamanrasset	$Y = 5,738 X - 0,513$ ( $R^2 = 0,887$ )	DL50= 9,12 µl/g
<i>C.shoenantus</i> Djanet	$Y = 5,097 X - 0,433$ ( $R^2 = 0,959$ )	DL50=11,638µl/g
<i>C.shoenantus</i> Ouargla	$Y = 7,565 X - 6,042$ ( $R^2 = 0,882$ )	DL50= 28,77 µl/g
<i>C.shoenantus</i> El-Goléa	$Y = 5,461 X - 3,502$ ( $R^2 = 0,894$ )	DL50= 35,97 µl/g
<i>C.shoenantus</i> Béchar	$Y = 5,371 X - 3,436$ ( $R^2 = 0,892$ )	DL50= 37,15 µl/g
<i>C.shoenantus</i> Ghardaia	$Y = 6,619 X - 12,05$ ( $R^2 = 0,897$ )	DL50= 375,83 µl/g
<i>Artemisia judaica</i>	$Y = 8,09$	

Ces résultats montrent que les DL 50 des huiles essentielles extraites de *C.shoenantus* de Tamanrasset, de Djanet et d' *Artemisia judaica* sont faibles comparativement aux DL50 des huiles d'El-Goléa ; Béchar ; Ghardaia ; et Ouargla.

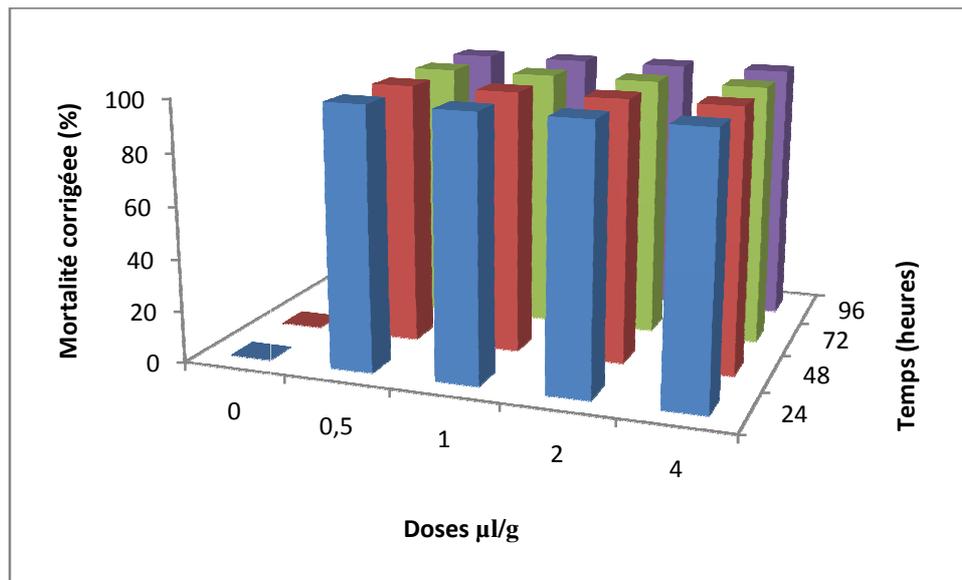
L'efficacité en ce qui concerne la toxicité est suivie dans l'ordre: *Artemisia judaica* > *C. Tamanrasset* > *C. Djanet* > *C. Ouargla* > *C. d'El-Goléa* > *C. Béchar* > *C. Ghardaia* après 24 h après le traitement.

Contrairement au test inhalation, nous constatons que la majorité des huiles provoquent une mortalité avoisinant les 100 % à la plus forte dose. L'analyse des concentrations létales 50 (Figure 26 à 34) montre que la toxicité par contact enregistrée varie en fonction des plantes ayant donné les extraits utilisés. Les substances testées semblent manifester à l'égard des adultes, une toxicité beaucoup plus par inhalation que par fumigation.

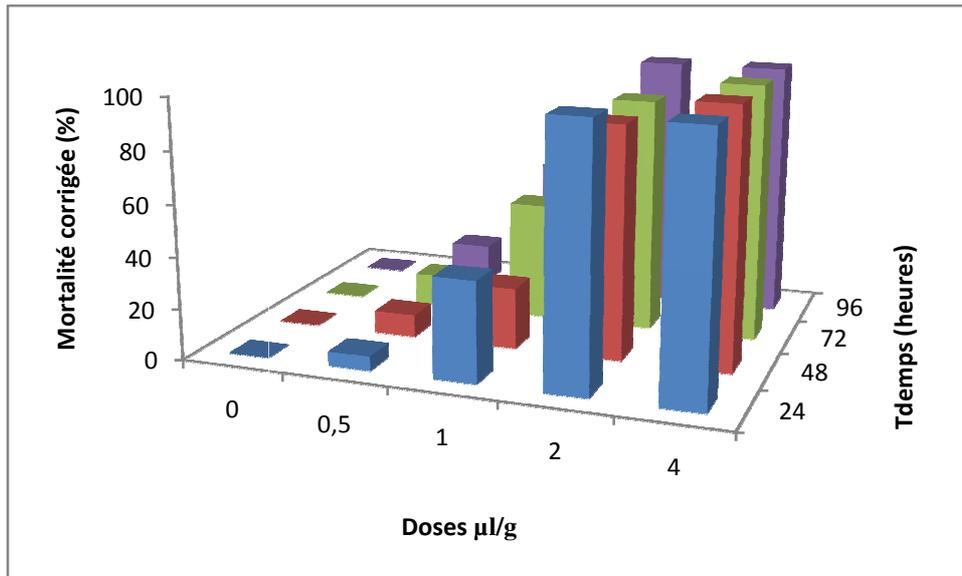
Concernant l'évaluation des huiles essentielles étudiées par effet contact, l'analyse statistique a montré une différence très hautement significative entre les moyennes de mortalité de *C. maculatus* ( $P < 0,0001$ ) quelques soit les doses et les temps d'expositions (Tableau 17).

**Tableau 17** :Analyse de la variance pour l'effet de la dose sur la mortalité (test contact).

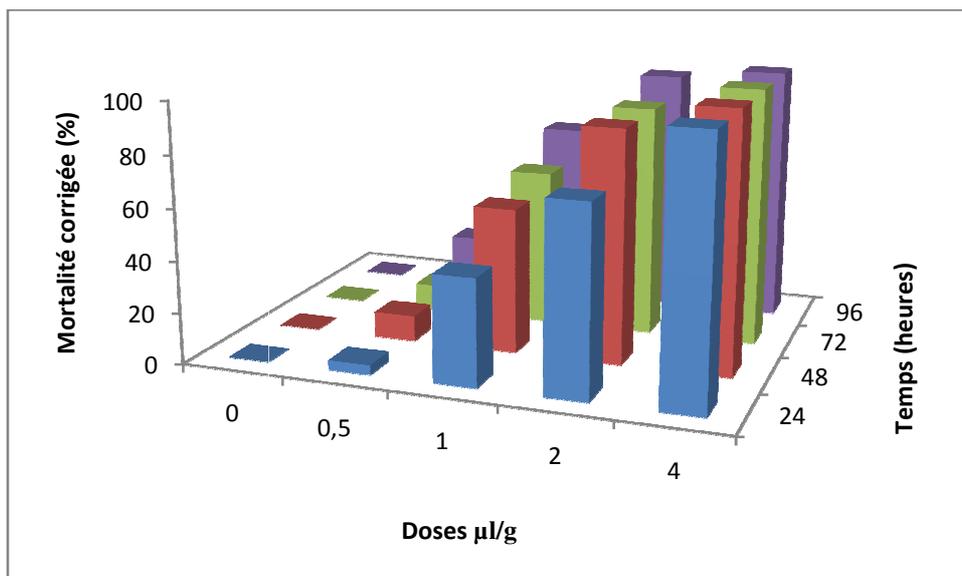
Plante	Ddl	F	P
<i>C.shoenantus</i> Tamanrasset	7	242,166	<0,0001
<i>C.shoenantus</i> Djanet	7	238,377	<0,0001
<i>C.shoenantus</i> El-Goléa	7	91,945	<0,0001
<i>C.shoenantus</i> Béchar	7	96,19	<0,0001
<i>C.shoenantus</i> Ghardaia	7	101,869	<0,0001
<i>C.shoenantus</i> Ouargla	7	95,644	<0,0001
<i>Artemisia judaica</i>	6	6,861	<0,0001



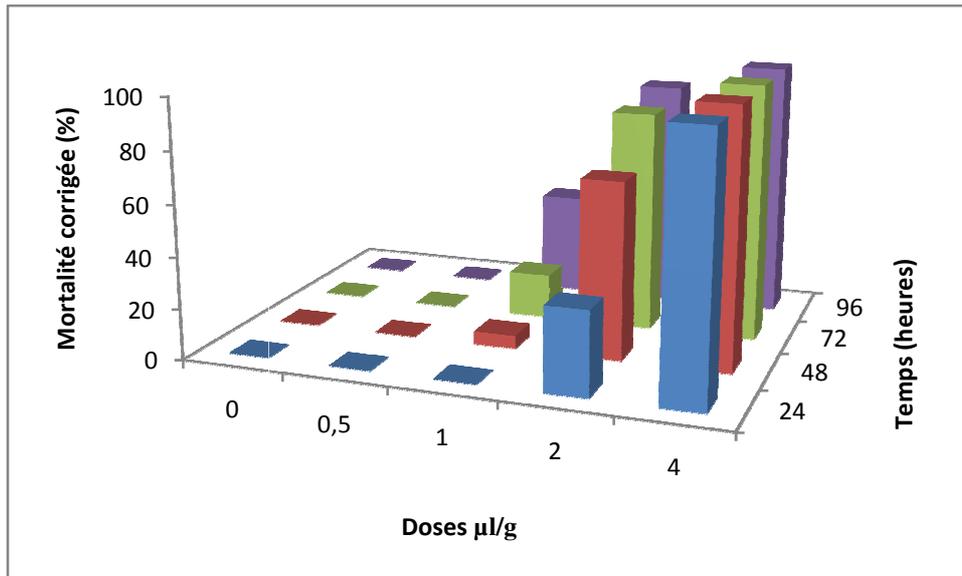
**Figure 41**: Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* par contact



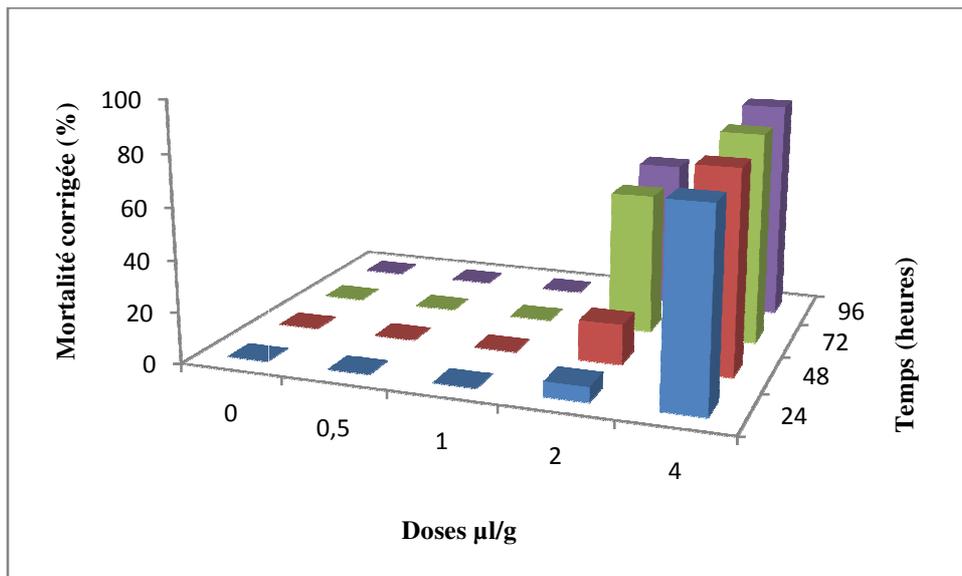
**Figure 42:** Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de *C. shoenanthus* Tamanrasset par contact



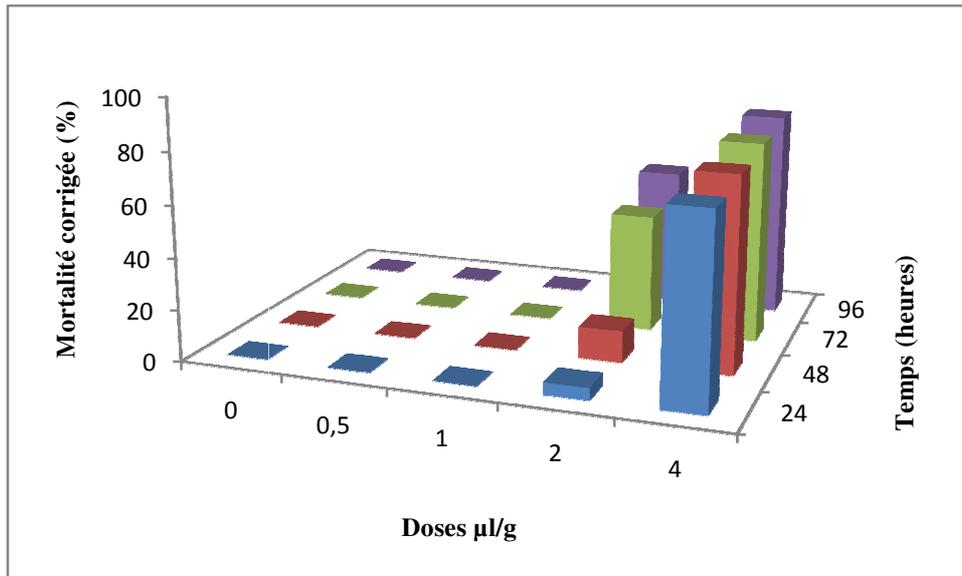
**Figure 43:** Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de *C. shoenanthus* Djanet par contact



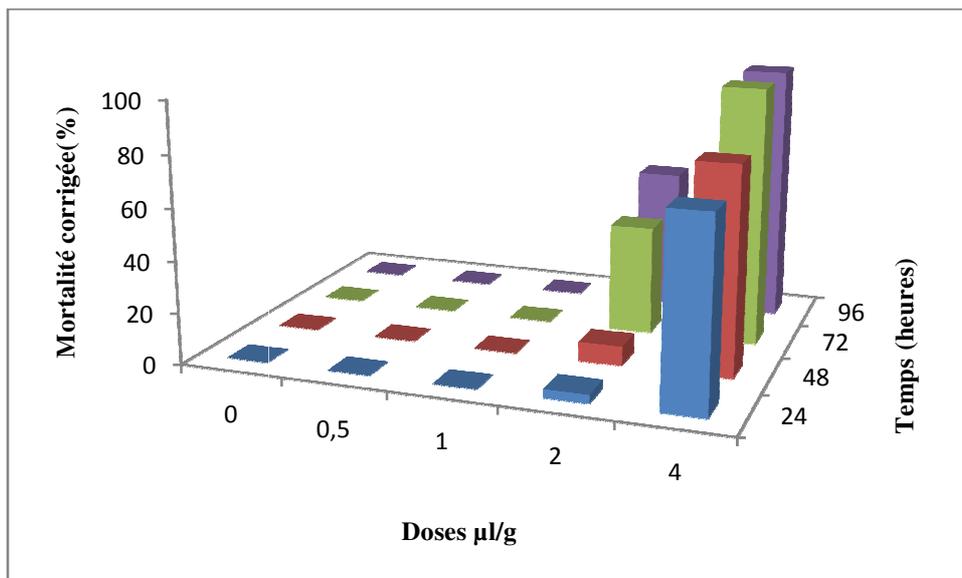
**Figure 44:** Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de *C. shoenanthus* Ouargla par contact



**Figure 45:** Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de *C. shoenanthus* El-Golée par contact



**Figure 46:** Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de *C. shoenanthus* Béchar par contact



**Figure 47:** Mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle de *C. shoenanthus* de Ghardaia par contact

La toxicité des huiles essentielles extraites de la plante aromatique *Cymbopogon schoenanthus* (Poacées) sur *C. maculatus*, a été démontrée par Ketoh *et al.* (2005), avec une DL50 de 2,3 µl/l. Bouchikhi Tani *et al.*, 2010) ont constaté des propriétés insecticides des huiles essentielles extraites de *Cymbopogon schoenanthus* DL50 = 1,16 µl/ 30 g et d'Artemisia herba-alba DL50 = 1,69 µl/ 30 g sur la bruche *A. obtectus*.

Les huiles essentielles extraites de *Rosmarinus officinalis* ont montré également une toxicité à l'égard d'*A. obtectus* avec DL50 = 0,59 µl/ 30 g de graines après 48 h d'exposition (Bouchikhi Tani *et al.*, 2008).

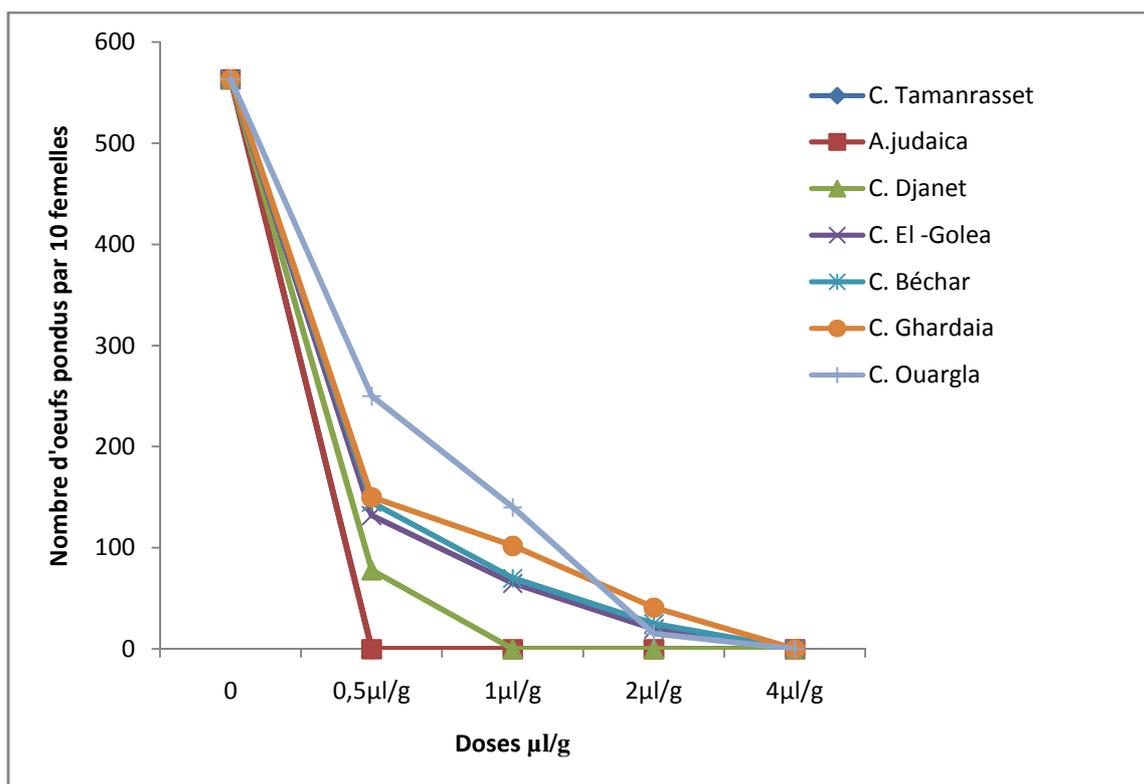
#### 4.2.1. Effet des huiles essentielles sur l'oviposition

Les résultats de nos traitements montrent clairement que les huiles essentielles testées affectent d'une façon significative le nombre d'œufs pondus par les femelles de *C. maculatus* (Figure 48) sur les graines de pois chiches.

La moyenned'œufs pondus par les femelles dans les lots témoins est de 563±14,50 œufs, elle diminue d'une façon progressive avec l'augmentation de la dose des huiles (Tableau18 ).

**Tableau 18 :** Moyennes 'œufs pondus par les femelles de *Callosobruchus maculatus* traitées avec les huiles essentielles par contact

Doses (µl/g)	Moyennes d'œufs pondus par les femelles traitées avec les huiles essentielles par effet contact						
	C. Djanet	C. Ouargla	C. Ghardaia	C. Tamanrasset	A.judaica	C. El – Golea	C. Béchar
0	563±14,50	563±14,50	563±14,51	563±14,52	563±14,53	563±14,54	563±14,55
0,5µl/g	78±7,5	250±8,13	150±10,34	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	132±10,24	145±8,29
1µl/g	0,0 ± 0,0	140±7,13	102±6,25	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	65±5,38	70±3,52
2µl/g	0,0 ± 0,0	15±1,84	41±4,50	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	20±1,19	25±2,97
4µl/g	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0



**Figure 48 :** Effet des huiles essentielles par contact sur la fécondité De *Callosobruchus maculatus*

Une inhibition de pontes et une action ovicide chez les insectes traités par des extraits végétaux est relatée par une abondante littérature. Une baisse de la fécondité a été observée chez *C. maculatus* après traitement par les huiles essentielles de *Tagetes minuta* (L.), *T. patula* (L.), *T. erecta* (L.) (Alok *et al.*, 2005) et chez *S. zeamais* et *T. castaneum* après traitement par les huiles essentielles de *C. sempervirens* et *E. saligna* (Tapondjou *et al.*, 2005). Rahman et Schmidt (1999) ont aussi mis en évidence l'action inhibitrice de l'huile d'*Acarus calamus* (L.) sur le potentiel reproducteur de *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal). Les huiles essentielles extraites d'*Origanum glandulosum* Inhibent complètement la fécondité d'*A. obtectus*, *C. maculatus*, et *B. rufimanus* à partir de la dose 5 µl/ 30 g graines (Bouchikhi *et al.* 2011).

Papachritos et Stamopoulos (2002) affirment que l'huile essentielle de *J. oxycedrus*, *L. nobilis*, *O. vulgare*, *R. officinalis*, *M. viridis*, *M. microphylla* diminuent le potentiel reproducteur d'*A. obtectus*. Selon Shakarami *et al.* (2005), les huiles essentielles extraites d'*A. aucheri*, *S. bracteata* et *Nepeta cataria* (L.) réduisent significativement l'oviposition des adultes de *C. maculatus* à la dose de 0,37 µl/cm<sup>3</sup>. Salunke *et al.* (2005) rapportent que les flavonoïdes extraits de *Calotropis procera* (Ait.) utilisés à la dose 10 mg/ml réduisent la ponte de *C. chinensis* et affecte le nombre et le poids des adultes émergents. L'efficacité de *Dennettia tripetala* (Baker), *Eugenia aromatica* (L.), *Piper guineense* et *Anchomanes difformis* (Blume)

comme biopesticide a été aussi mise en évidence par Adedire et Akinkurolere (2005) sur *S. zeamais*, *T.castaneum*, *C. maculatus*, *O. mercator* (Fauvel) et *Lasioderma serricorne* (F.).

Les huiles essentielles étudiées contiennent des composants biochimiques qui agissent négativement sur la fécondité des femelles de *C. maculatus*. Nous remarquons que de même, les monoterpènes (2-Carène, Limonene,  $\beta$  phéllandrene, Piperitone...) libérés par nos huiles essentielles sont susceptibles d'affecter sérieusement à faibles doses la fécondité de *C. maculatus* contrairement au témoin non traité qui s'avère sensible aux attaques de cette espèce. En effet, selon Sanon (2006), les composés terpéniques pourraient provoquer dans une situation de stockage, une diminution de l'activité reproductrice des femelles de *C. maculatus*.

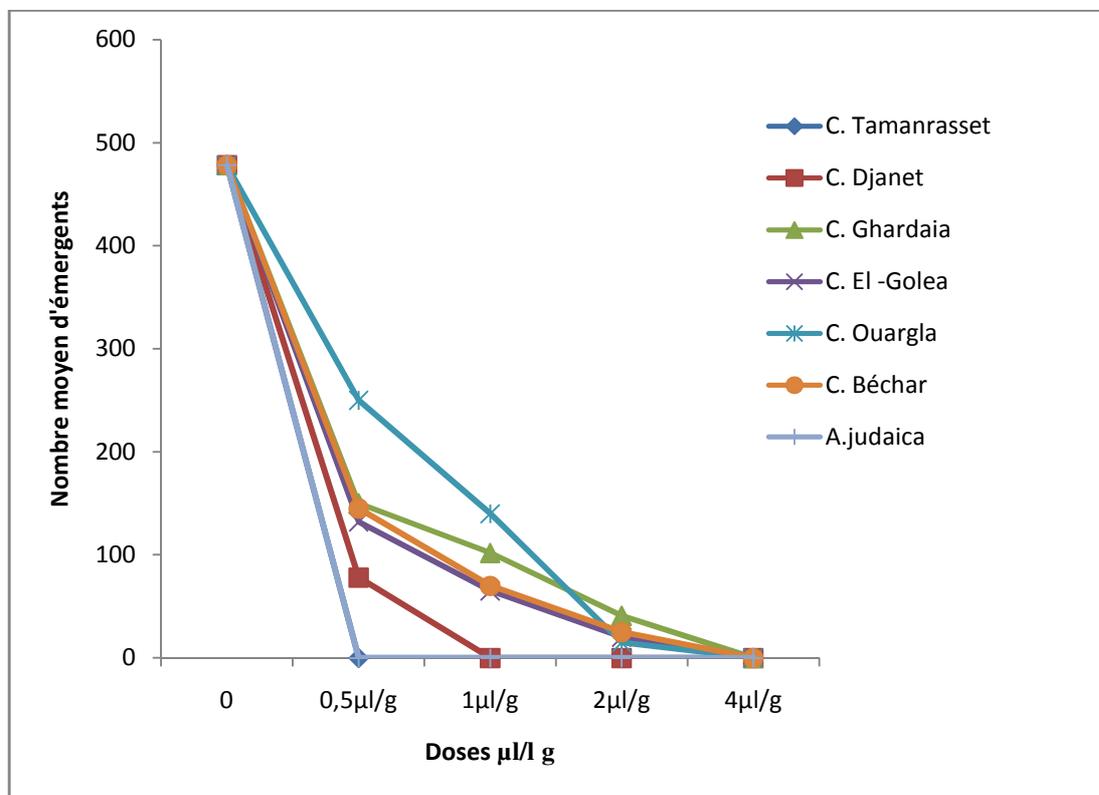
Les huiles essentielles extraites d'*Origanum glandulosum* Inhibent complètement la fécondité d'*A. obtectus*, *C. maculatus*, et *B. rufimanus* à partir de la dose 5  $\mu$ l/ 30 g graines (Bouchikhi et al., 2011). Selon Shakarami *et al.* (2005), les huiles essentielles extraites d'*A. aucheri*, *S. bracteata* et *Nepeta cataria* (L.) réduisent significativement l'oviposition des adultes de *C. maculatus* à la dose de 0,37  $\mu$ l/cm<sup>3</sup>. L'huile essentielle des clous de girofle (l'eugénol), à la dose 5  $\mu$ l/50 g de graines de niébé, diminue d'une manière significative la fécondité de *C. maculatus* (Kellouche et Soltani, 2004).

#### 4.2.2. Effet des huiles sur l'émergence des adultes

Les résultats de nos traitements par contact révèlent un effet significatif des huiles essentielles sur la fertilité de *Callosobruchus maculatus*. Les traitements ont réduit le nombre d'émergents comparativement à la série témoin (Tableau 19). Nous remarquons que dans les graines traitées avec les huiles essentielles de *C. Tamanrasset* et d'*A. judaica*, aucun insecte n'émerge à partir de la dose 0,5  $\mu$ l/g, dans les pois chiches traités avec l'huile de *C. Djanet* l'émergence des bruches s'arrête à la dose 1 $\mu$ l/g, alors que pour *C. Ghardaia*, *C. El -Golea*, *C. Ouargla*, et *C. Béchar* l'émergence des bruches s'arrête à la dose 2 $\mu$ l/g.

**Tableau 19 :** Emergence des adultes de première génération dans les graines traitées par les huiles essentielles par contact

Doses (µl/g)	Nombre d'adultes émergents						
	C. Tamanrasset	C. Djanet	C. Ghardaia	C. El - Golea	C. Ouargla	C. Béchar	A.judaica
0	478±10,16	478±10,16	478±10,16	478±10,16	478±10,16	478±10,16	478±10,16
0,5µl/g	0.0 ± 0.0	78±6,54	150±9,98	132±8,20	250±7,33	145±7,18	0.0 ± 0.0
1µl/g	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	102±5,35	65±3,18	140±4,11	70±6,40	0.0 ± 0.0
2µl/g	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	41±2,45	20±1,26	15±1,05	25±2,5	0.0 ± 0.0
4µl/g	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0



**Figure 49 :** Effet des huiles essentielles par contact sur l'émergence des adultes De *Callosobruchus maculatus*

Kellouche & Soltani (2004), ont observé une réduction significative du nombre de Descendants chez labruche *Callosobruchus maculatus* en testant les poudres des feuilles dufiguier *Ficus carica* (Moracées), l'eucalyptus *Eucalyptus globulus* (Myrtacées), l'olivier *Olea europaea* (Oleacées), et le citronnier *Citrus limon* (Rutacées).

L'analyse de la variance à un critère de classification (fumigation, contact) (Tableau 20) révèle une différence très hautement significative pour toutes les huiles essentielles testées ( $P < 0,0001$ ). Ceci est confirmé par le test de Newman-Keuls (Tableau 21) qui fait ressortir deux groupes A et B statistiquement différents. En effet la moyenne de la mortalité cumulée notée par fumigation se révèle plus importante que celle notée par contact avec respectivement de 30,00 et 11,25. (Tableau 21).

**Tableau 20** : Analyse de la variance pour le facteur mode de pénétration

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
Inhalation ~ Contact	18,750	15,660	2,012	< 0,0001	Oui

**Tableau 21** : Test de NEWMAN-KEULS pour le facteur mode de pénétration

Modalités	Moyenne	Regroupements
Fumigation	30,000	A
Contact	11,250	B

Compte tenu de la grande diversité des monoterpènes contenus dans nos huiles essentielles, les résultats de mortalités exhibés lors de ces différents modes d'administration confirment que leur activité insecticide est due à plusieurs mécanismes synergiques qui affectent des cibles multiples et perturbent ainsi plus efficacement l'activité cellulaire.

## 5. Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées

### 5.1. Etude qualitative des huiles essentielles analysées

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* de différentes régions et d'*Artemisia judaica*, la technique utilisée est celle de l'aromatogramme, identique à celle de l'antibiogramme pour les antibiotiques. C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles et, en pratique, on utilise un milieu d'ensemencement solide du fait qu'il est le plus simple et plus facilement reproductible. Pour cela, après avoirensemencé le milieu de culture avec la suspension microbienne, et en déposant un disque stérile imprégné d'huile essentielle, on incube les boîtes de Pétri dans les conditions prédéfinies. Après un temps de latence de 24h pour les bactéries et de 48h pour les levures, le diamètre du halo d'inhibition entourant les disques est alors mesuré. Chaque halo, une zone claire, nommée aussi zone d'inhibition de la croissance microbienne, montre la destruction des germes et donne une indication précise sur l'activité antimicrobienne des huiles utilisées.

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par (Meena et Sethi., 1994) et (Ela et al., 1996), ces derniers ont classé le pouvoir antimicrobien, en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne en quatre classes (le diamètre de disque et de 9mm) :

- ❖ **Fortement inhibitrice** lorsque : diamètre de la zone d'inhibition  $\geq 28\text{mm}$  ;
- ❖ **Modérément inhibitrice** lorsque :  $16\text{mm} \leq$  diamètre de la zone d'inhibition  $< 28\text{mm}$  ;
- ❖ **Légèrement inhibitrice** lorsque :  $10\text{mm} \leq$  diamètre de la zone d'inhibition  $< 16\text{mm}$  ;
- ❖ **Non inhibitrice** lorsque : diamètre de la zone d'inhibition  $< 10\text{mm}$ .

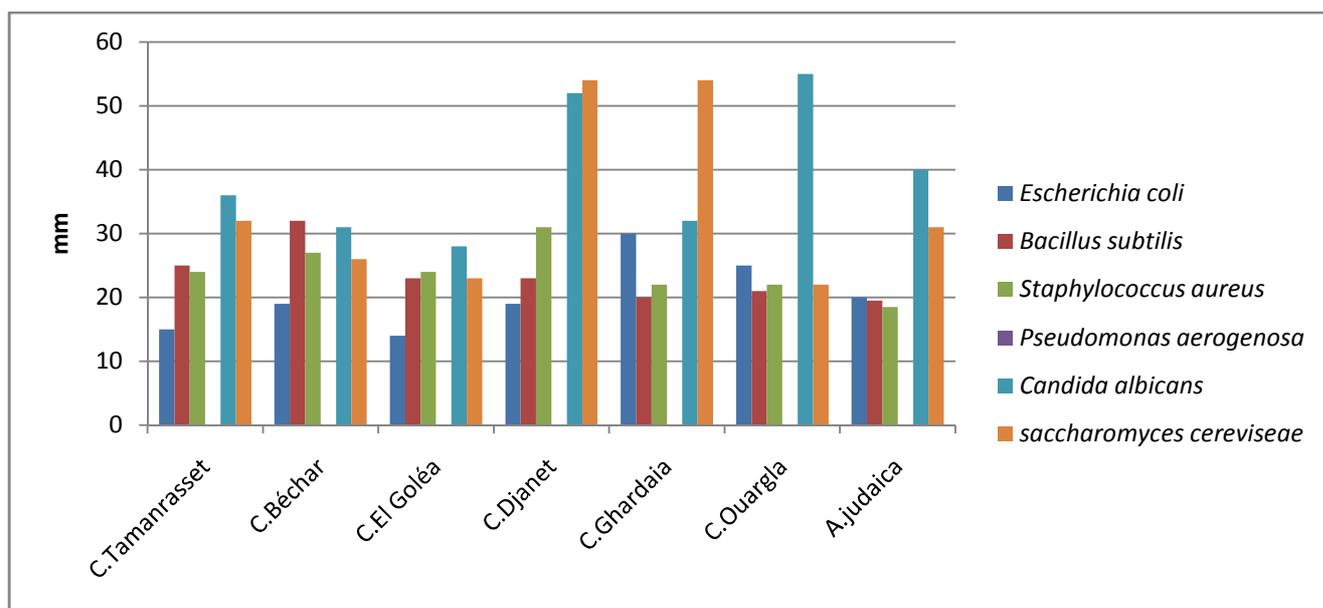
Toutes les huiles essentielles testées présentent une activité modérément inhibitrice sur les bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*), excepté deux cas, *Escherichia coli* est fortement inhibé par l'huile essentielle de C. de Ghardaia avec un diamètre d'inhibition de 30 mm, et *Staphylococcus aureus* est fortement inhibé par l'huile de C. de Djanet et de Béchar avec respectivement des diamètres d'inhibition de 31 mm et 27 mm. Les diamètres des zones d'inhibition varient en fonction de la sensibilité des souches utilisées. Quant aux levures (*Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*), elles manifestent une sensibilité considérable à toutes les huiles testées, les diamètres d'inhibition varient entre 22mm (le diamètre du disque) et 55 mm pour l'espèce la plus active. Ainsi, il ressort que *Pseudomonas aeruginosa* révèle très résistante à toutes les huiles utilisées.

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 22. Les moyennes des diamètres des zones d'inhibition de chaque souche (bactéries et levures) en fonction des huiles essentielles testées sont représentées par la figure 50 sous forme d'histogramme.

**Tableau 22 :** Moyennes des diamètres (mm) des zones d'inhibition des différentes souches testées.

Souches	Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches testées(mm)						
	C.Tamanrasset	C.Béchar	C.El Goléa	C.Djanet	C.Ghardaia	C.Ouargla	A.judaica
<i>Escherichia coli</i>	15	19	14	19	30	25	20
<i>Bacillus subtilis</i>	25	32	23	23	20	21	19,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	24	27	24	31	22	22	18,5
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida albicans</i>	36	31	28	52	32	55	40
<i>saccharomyces cereviseae</i>	32	26	23	54	54	22	31

Diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques (diamètre du disque inclus).  
 Les valeurs sont les moyennes de trois répétitions indépendantes  $\pm$  l'écart type  
 (-) : pas d'inhibition.



**Figure 50 :** Moyennes des diamètres (mm) des zones d’inhibition des souches testées par les huiles essentielles

D’après les résultats obtenus, La souche *Pseudomonas aeruginosa* possède un potentiel de résistance très élevé contre l’action antibactérienne des différentes huiles. *Pseudomonas aeruginosa* a la réputation d’être très résistante à toutes sortes d’agents antimicrobiens et antibiotiques en général. Cela est probablement dû à la capacité qu’a la bactérie à de former un biofilm. Un biofilm est une organisation complexe, composée de différentes strates dans lesquelles les bactéries se trouvent dans des états physiologiques spécifiques à leur situation. Ainsi toute la population bactérienne n’est pas exposée simultanément et identiquement au produit. Il est établi que le traitement de telles bactéries nécessite des concentrations considérables d’agents antimicrobiens (Fleurette, Freney et al., 1995). Ainsi, toute la population bactérienne n’est pas exposée simultanément et identique à un produit (Pibiri, 2006)

En résumé on peut dire que toutes les souches testées à l’exception de *Pseudomonas aeruginosa* ont montré des degrés de sensibilités tout à fait spécifiques à l’huile essentielle.

On remarque qu’indépendamment de la nature de l’huile ou de sa concentration, les bactéries Gram- possède une forte résistance. Cette résistance n’est pas surprenante et probablement due à une différence dans la composition chimique de la paroi cellulaire bactérienne.

Les bactéries **Gram<sup>+</sup>** sont dotées d’une couche de peptidoglycane entre la membrane plasmique et une assise externe constituée de lipopolysaccharides et de protéines, cette

structure peut empêcher la prise de l'huile essentielle ou de l'extrait. La membrane externe de lipopolysaccharides (LPS) des bactéries **Gram**<sup>-</sup> peut être considérée comme un obstacle à la diffusion rendant les bactéries **Gram**<sup>-</sup> moins vulnérables aux agents antimicrobiens (Deans et Ritchie, 1987).

Selon Nakatani (1984), les bactéries à **Gram**<sup>+</sup> sont plus sensibles à l'action des huiles essentielles que les bactéries **Gram**<sup>-</sup>.

La structure des membranes des bactéries **Gram**<sup>-</sup> peut empêcher la prise d'huile et protéger la couche peptidoglycane vis-à-vis des huiles essentielles. Cependant, Deans et Ritchie (1987) n'y trouvent pas de différence significative entre la sensibilité des bactéries **Gram**<sup>-</sup> et celles à **Gram**<sup>+</sup>, comme ce fut le cas de nos résultats. Le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles est en relation directe avec plusieurs paramètres tels que la nature des composés majoritaires et leurs concentrations, la nature et la structure des groupements fonctionnels et l'interaction probable entre les différents constituants (synergie).

En outre, la réponse de la bactérie **Gram**<sup>+</sup> était plus importante que le reste des bactéries **Gram**<sup>-</sup>. De ce fait, l'action de l'huile essentielle de *C. Schoenanthus* étudié est inhibitrice plus spécialement contre les bactéries du groupe **Gram**<sup>+</sup> dont la structure pariétale diffère de celle des **Gram**<sup>-</sup>. En remarque également que les deux germes de la famille des entérobactéries manifestaient une sensibilité remarquable à l'huile essentielle de *C. Schoenanthus* dont la composition chimique est principalement dominée par les composés à fonctions phénoliques.

La forte activité antimicrobienne des huiles essentielles contre presque tous les microorganismes sensible peut être attribuée à la présence d'une forte concentration de monoterpènes ayant un potentiel antibactérien et antifongique (Jalsenjak et al., 1987, Sivropoulou et al., 1997). Outre les principaux composés, ainsi que d'autres constituants mineurs des huiles essentielles ont une activité antimicrobienne (Dorman et Deans, 2000). En fait, les effets synergiques de la diversité des constituants majeurs et mineurs constituant présents dans les huiles essentielles doivent être pris en considération pour rendre compte de leur activité biologique.

Selon (Oussalah et al., 2007) le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles est en relation directe avec plusieurs paramètres à savoir :

- ◆ La nature des composés majoritaires et leurs concentrations
- ◆ Nature et structure des groupements fonctionnels
- ◆ L'interaction probable entre les différents constituants (Synergie)

Plusieurs chercheurs ont prouvé que ce sont les composés phénoliques qui confèrent aux HE une forte activité antimicrobienne, comme le thymol, le carvacrol, le carvacrol méthyl-ether et leurs précurseurs biosynthétiques qui sont  $\gamma$ -terpinène et p-cymène (Bendahou, 2007)

Le faible pouvoir antimicrobien qu'on a constaté n'est pas étonnant, vu les teneurs infimes à savoir l'absence des composés phénoliques dans le profil chimique de nos huiles.

A ce facteur s'ajoute la multiplicité et la diversité des constituants qui rentrent dans la composition de l'huile essentielle.

## **5.2. Etude quantitative de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées.**

Pour pousser davantage nos analyses, et dans le but d'une investigation de l'exacte dose au-delà de laquelle toute croissance microbienne est inhibée, nous avons procédé à la détermination des valeurs de la **CMI** (*Concentration Minimale Inhibitrice*) et les valeurs de la **CMB** (*Concentration Minimale Bactéricide*) pour les huiles essentielles qui se sont montrées efficaces durant le test de sensibilité précédent.

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration d'un antibiotique capable d'inhiber la croissance d'un microorganisme, après 24/48 heures de contact avec les bactéries et levures.

Les résultats de la **CMI** de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles sur les cinq germes précédents sont regroupés dans le **tableau 23**.

**Tableau 23** : les valeurs de la concentration minimale inhibitrice en % des huiles essentielles vis-à-vis des germes testés.

Souche	CMI (%)				
	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomyces seriveseae</i>
<i>Tamanrasset</i>	1,00%	1,00%	1,00%	0,125%	0,25%
<i>Béchar</i>	1,00%	0,06%	0,03%	0,25%	0,25%
<i>El Goléa</i>	0,25%	0,03%	1,00%	0,25%	0,25%
<i>C.Ghardaia</i>	0,50%	0,125%	0,03%	0,06%	0,03%
<i>C.Ouargla</i>	1,00%	0,06%	0,03%	0,125%	0,06%
<i>C.Djanet</i>	2,00%	1,00%	0,125%	0,125%	0,125%
<i>A.judaica</i>	0,50%	0,25%	0,25%	0,125%	0,125%

Comme, le montre le tableau les résultats les plus prometteurs étaient obtenues à partir de l'huile essentielle de C. Ghardaia qui avait les valeurs de CMI les plus faibles contre toutes les souches testées.

Il convient de noter que les bactéries Gram+ (*B.subtilis* et *S.aureus*) se sont montrées plus sensibles que les Gram- (*E. coli*) envers toutes les huiles testées ce qui confirme les résultats obtenus dans l'étude qualitative de l'activité antimicrobienne. Les levures testées, *Candida albicans* et *Saccharomyces cereviceae* ont révélé la plus grande résistance envers les différentes huiles essentielles.

Les valeurs de la **CMB** sont regroupées dans les tableaux 24 et 25.

L'évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles testées a confirmé l'existence d'un effet antimicrobien de ces huiles essentielles sur un large spectre de microorganismes (Bactéries et levures).

**Tableau 24:** les valeurs de la concentration minimale Bactéricide et levuricide en % des huiles essentielles testées vis-à-vis des germes testés.

Souche	CMB (%)				
	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomyces seriveseae</i>
<i>C.Tamanrasset</i>	2,00%	1,00%	2,00%	1,00%	0,50%
<i>C.Béchar</i>	2,00%	0,50%	2,00%	0,25%	0,25%
<i>C.El Goléa</i>	2,00%	0,50%	2,00%	0,25%	0,25%
<i>C.Ghardaia</i>	0,50%	0,25%	0,125%	0,25%	0,125%
<i>C.Ouargla</i>	2,00%	0,125%	0,06%	0,25	0,25%
<i>C.Djanet</i>	2,00%	1,00%	1,00%	0,25%	0,25%
<i>A.judaica</i>	0,50%	0,50%	1,00%	0,25%	0,50%

Pour les bactéries les valeurs de la **CMB** sont plus ou moins proches aux **CMI**. Toutefois, en ce qui concerne l'espèce *Escherichia coli* seules les concentrations supérieures ou égales à **2%** pour les huiles essentielles de *C. Schoenanthus* de toutes les régions s'avèrent bactéricides, sauf, pour *Artemisia* et *C. de Ghardaia* dont leur valeur de la CMB est de 0.5%.

Les huiles essentielles étudiées montrent clairement que leur action statique et inhibitrice à une action légèrement inhibitrice sur l'ensemble des germes testés (cas des bactéries **Gram<sup>+</sup>** et **Gram<sup>-</sup>** et les levures). Par ailleurs, le pouvoir antibactérien de nos huiles essentielles est proportionnel à leur concentration. Le phénomène de dilution pourrait affecter sensiblement leur efficacité dans certains cas. Aussi l'activité de ces huiles varie en fonction de leurs concentrations et de la nature des souches testées.

**Tableau 25:** activité antimicrobienne et antifongique de la gamme des concentrations d'huiles essentielles vis-à-vis des germes testés.

Volume	Souche	CMB (%)					
		<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
1/50 v/v (2%)	CT	-	-	-	+	-	-
	CB	-	-	-	+	-	-
	CE	-	-	-	+	-	-
	CG	-	-	-	+	-	-
	CD	-	-	-	+	-	-
	CO	-	-	-	+	-	-
	AJ	-	-	-	+	-	-
1/100 v/v (1%)	CT	-	-	-	+	-	-
	CB	-	-	-	+	-	-
	CE	-	-	-	+	-	-
	CG	-	-	-	+	-	-
	CD	+	-	-	+	-	-
	CO	-	-	-	+	-	-
	AJ	-	-	-	+	-	-
1/200 v/v (0,5%)	CT	+	+	+	+	-	-
	CB	+	-	-	+	-	-
	CE	-	-	+	+	-	-
	CG	-	-	-	+	-	-
	CD	+	+	-	+	-	-
	CO	+	-	-	+	-	-
	AJ	-	-	-	+	-	-
1/400 v/v (0,25%)	CT	+	+	+	+	-	-
	CB	+	-	-	+	-	-
	CE	-	-	-	+	+	-
	CG	+	-	-	+	-	-
	CO	+	-	-	+	-	-
	CD	+	+	-	+	-	-
	AJ	+	-	-	+	-	-
1/800 v/v (0,125%)	CT	+	+	+	+	-	+
	CB	+	-	-	+	+	-
	CE	+	-	+	+	+	+
	CG	+	-	-	+	-	-
	CO	+	-	-	+	-	-
	CD	+	+	-	+	-	-
	AJ	+	+	+	+	-	-
1/1600 v/v (0,06%)	CT	+	+	+	+	+	+
	CB	+	-	-	+	+	+
	CE	+	-	+	+	+	+

Résultats et discussion

	<b>C G</b>	+	+	-	+	-	-
	<b>C O</b>	+	-	-	+	+	-
	<b>C D</b>	+	+	+	+	+	-
	<b>A J</b>	+	+	+	+	+	+
<b>1/3200 v/v (0,03%)</b>	<b>C T</b>	+	+	+	+	+	+
	<b>C B</b>	+	+	-	+	+	+
	<b>C E</b>	+	-	+	+	+	+
	<b>C G</b>	+	+	-	+	+	-
	<b>C O</b>	+	+	-	+	+	+
	<b>C D</b>	+	+	+	+	+	+
	<b>A J</b>	+	+	+	+	+	+

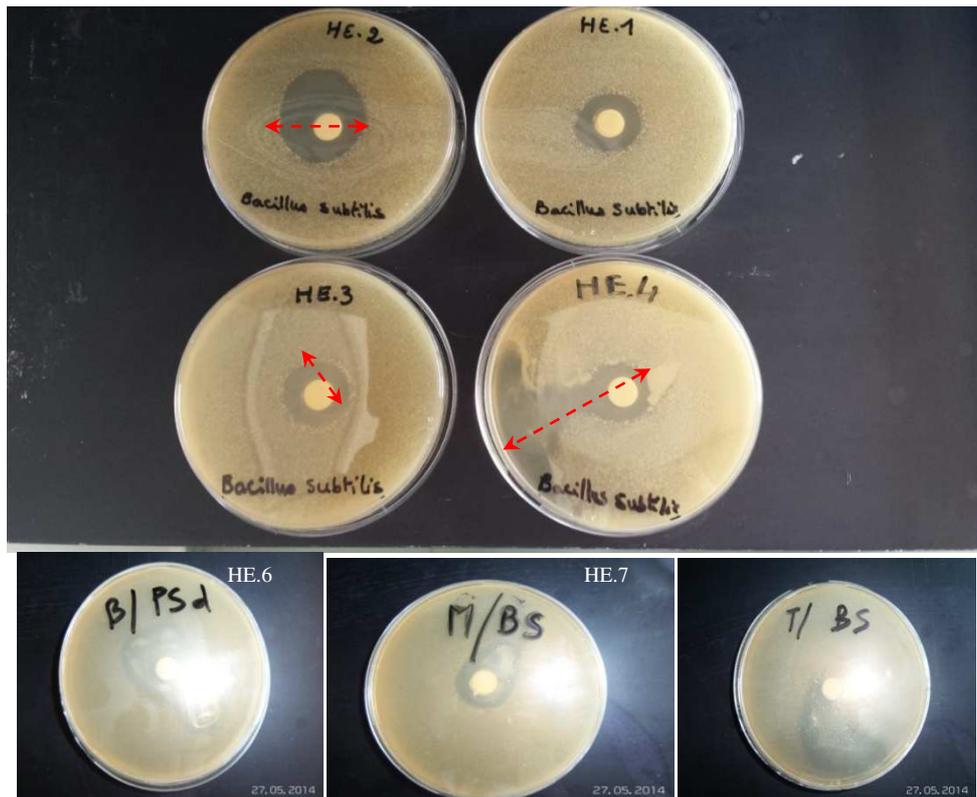
. - = inhibition ; + =croissance ;Béch.=*Béchar*; El G. =*El Goléa*;Tam. =*Tamanrasset*.

L'huile essentielle de *Cymbopogon. citratus*, et celle de *C. nardus* présente une activité fongicide, exception faite pour *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Microsporium gypseum*. De plus, cette huile se révèle pratiquement sans effet, *in vitro*, sur les souches bactériennes (Koba et al, 2004).

Dans la littérature, des résultats similaires ont été obtenus. Selon les résultats obtenus par (Kobak et al., 2003) qui ont testé le pouvoir inhibiteur d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon sp*. l'activité inhibitrice de *C. citratus* et de *C. nardus* est due pour la première à une forte concentration en aldhydes monoterpéniques (néral, géraniol, citronellal) et pour le second aux alcools de nature chimique voisine (citronellole et géraniol), à l'inverse, le faible pouvoir inhibiteur de l'huile essentielle de *C. Schoenanthus* pourrait s'expliquer par l'absence de composé cité ci-dessus. Ils sont remplacés par une forte concentration en pipéritone, cétone considérée déjà comme active.

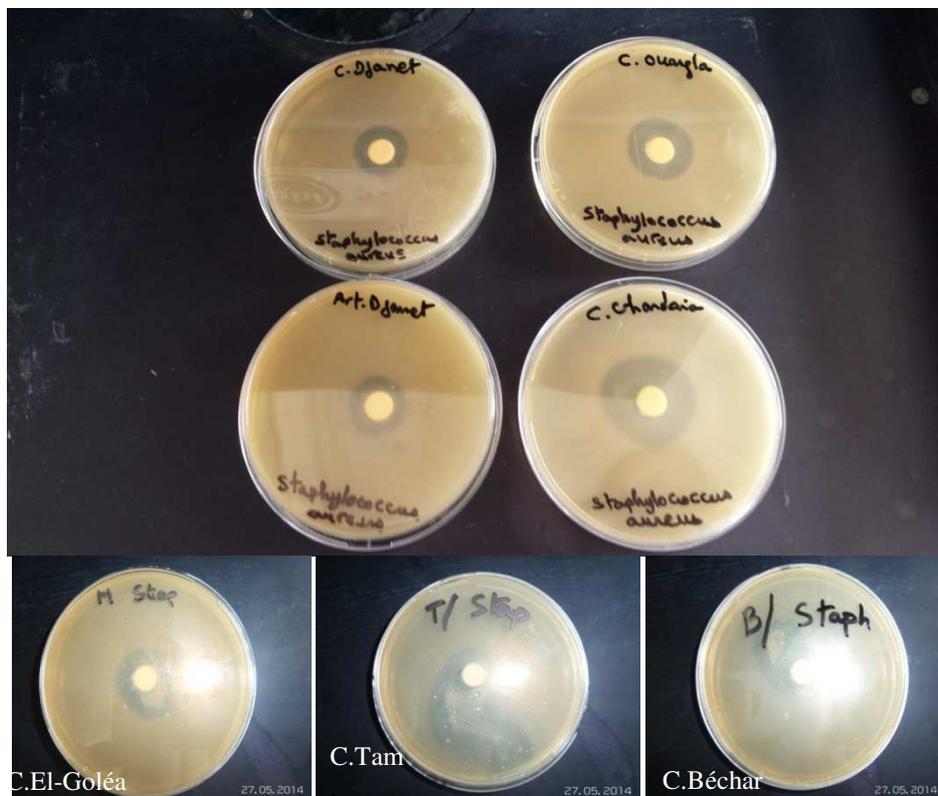
Paranagama et al. (2003) ont montré que le riz traité avec l'huile essentielle de citronnelle est protégé contre les champignons et les insectes destructeurs du riz en stockage. La comparaison du spectre d'action de *Cymbopogon schoenanthus* à celui d'*Ocimum basilicum* montre qu'elles ont approximativement les mêmes effets sur la croissance des divers germes testés.

Ainsi Oyediji et al. (1999) ont démontré des activités antibactériennes considérables sur les bactéries à gram positif et négatif, et antifongiques sur *Candida albicans* des huiles essentielles de cinq variétés d'*Eucalyptus* du Nigéria. Elaissi et al. (2011) ont décrit que l'huile essentielle d'*Eucalyptus odoratae* est la plus active contre *Staphylococcus aureus*. Selon Bachir et al. (2012) l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* a un effet sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.



HE.1 : C.Ouargla ;HE.2 :C.Djanet ; HE.3 :C.Ghardaia ;HE.4 :A.judaica ;HE.5 :C.Béchar ; HE.6 :C.El-Goléa ;HE7 :C.Tamanrasset

**Figure 51:** Zones d'inhibitions des huiles essentielles testées sur *Bacillus subtilis*



**Figure 52 :** Zones d'inhibitions des huiles essentielles testées sur *Staphylococcus aureus*

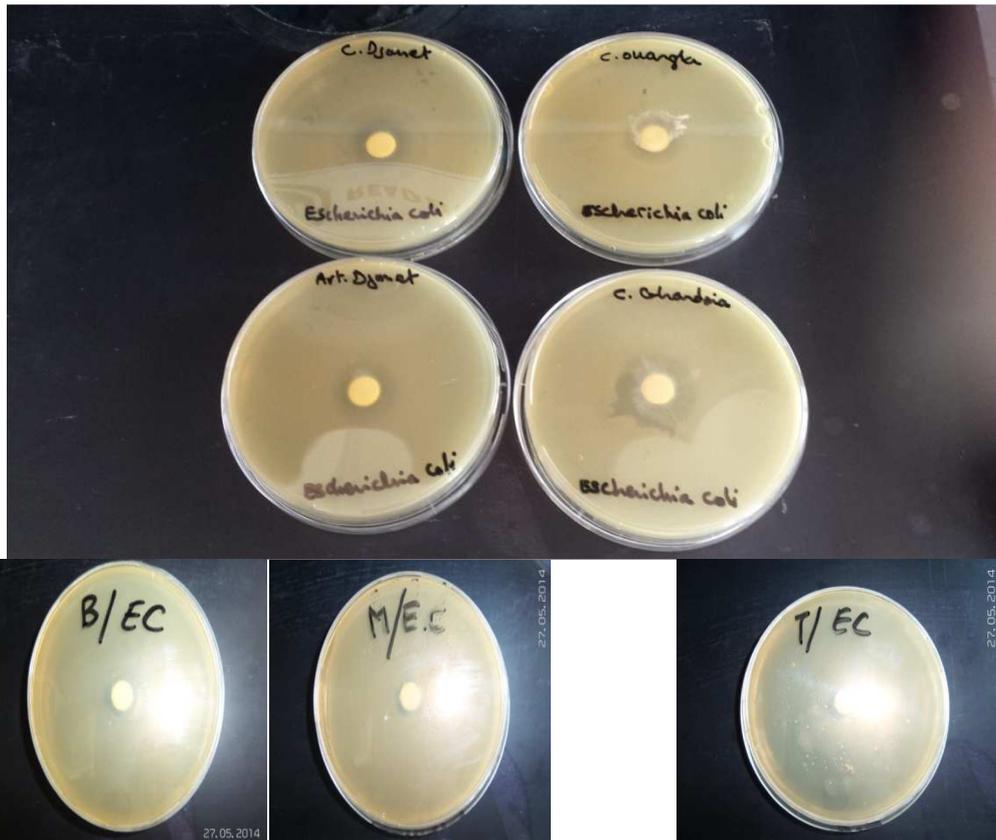


Figure53 :Zones d'inhibitions des huiles essentielles testées sur*Escherichia coli*

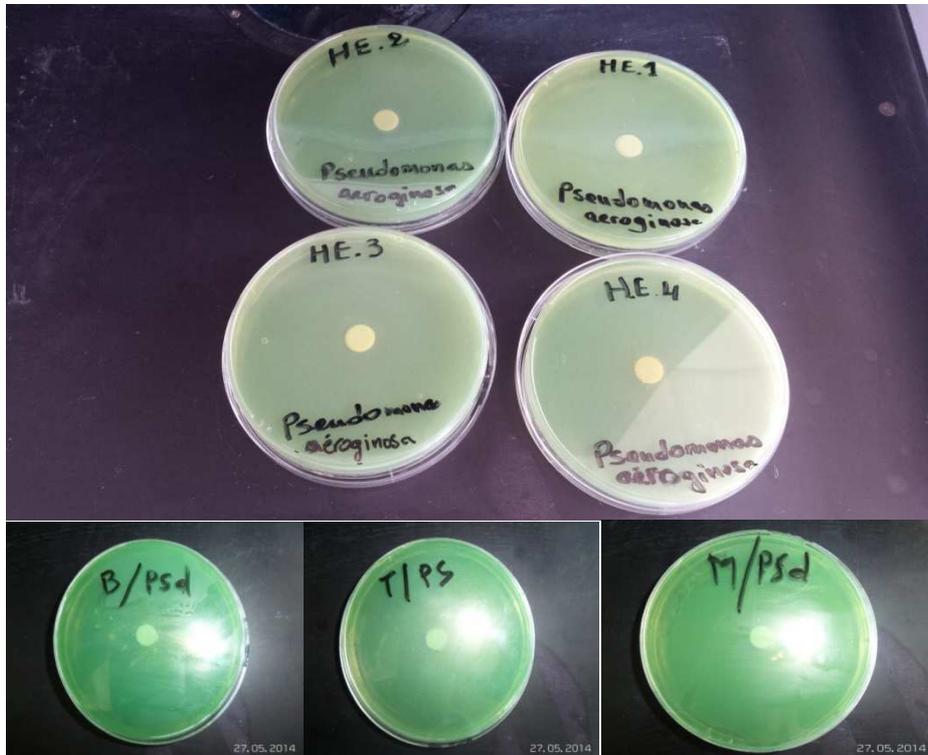


Figure54 :Zones d'inhibitions des huiles essentielles testées sur*Pseudomonas aeruginosa*

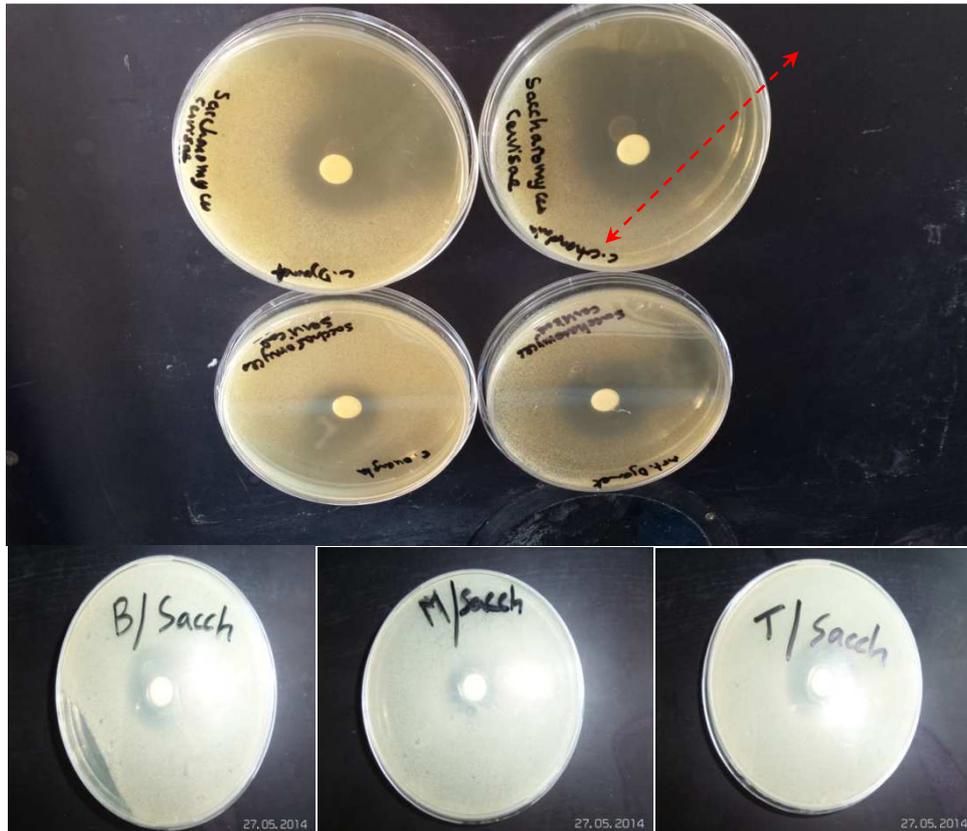


Figure 55 : Zones d'inhibitions des huiles essentielles testées sur *Saccharomyces cerevisiae*

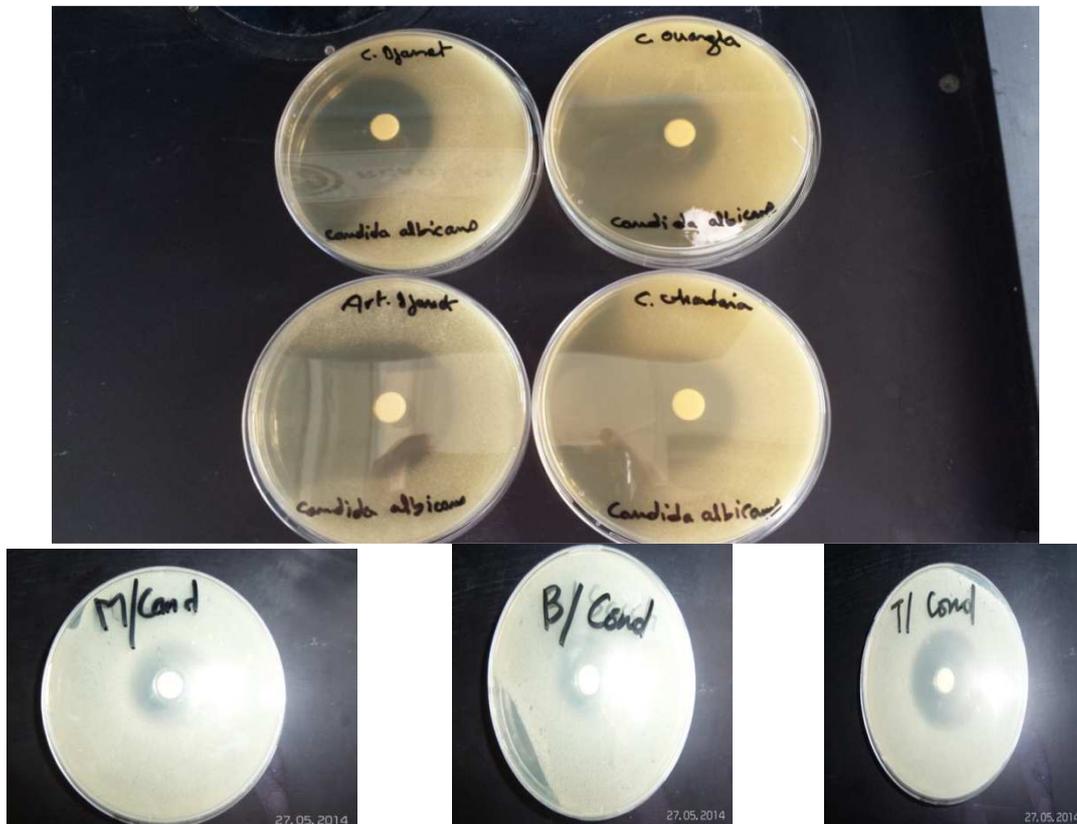
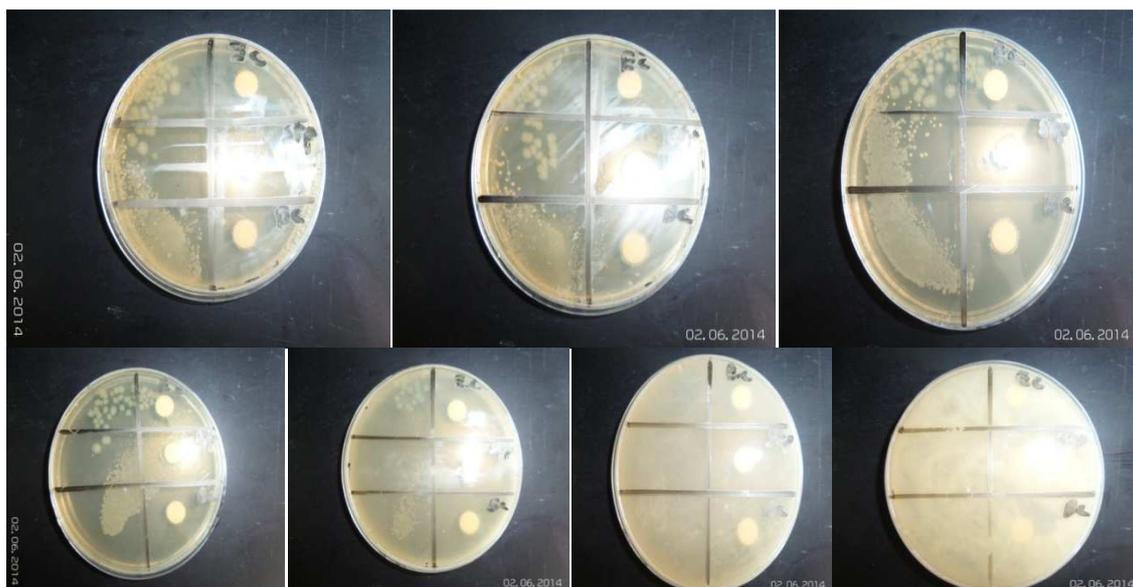
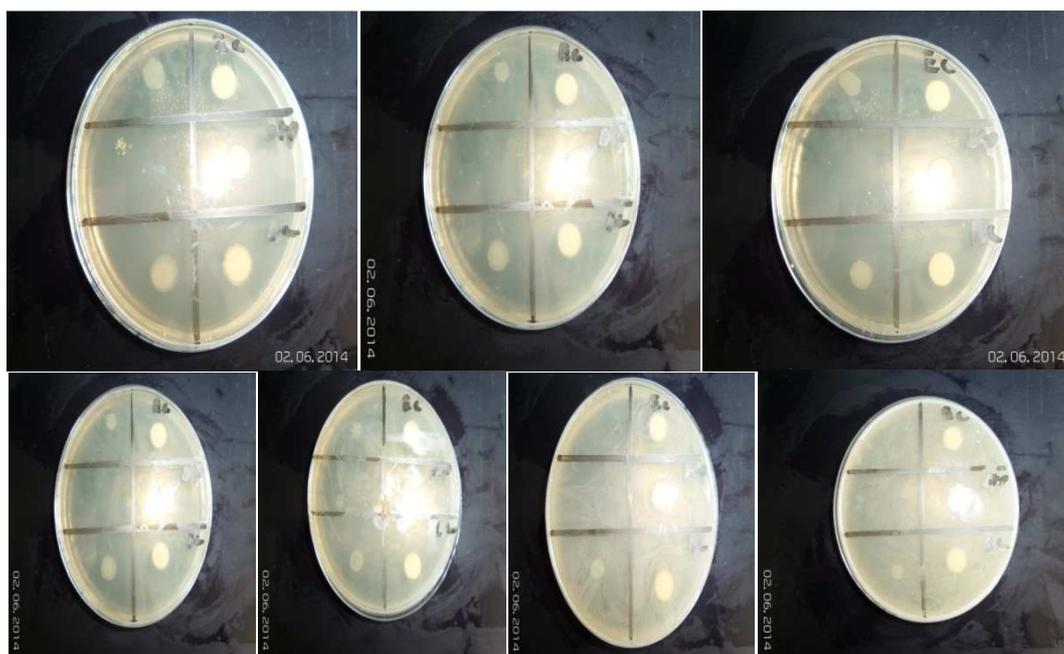


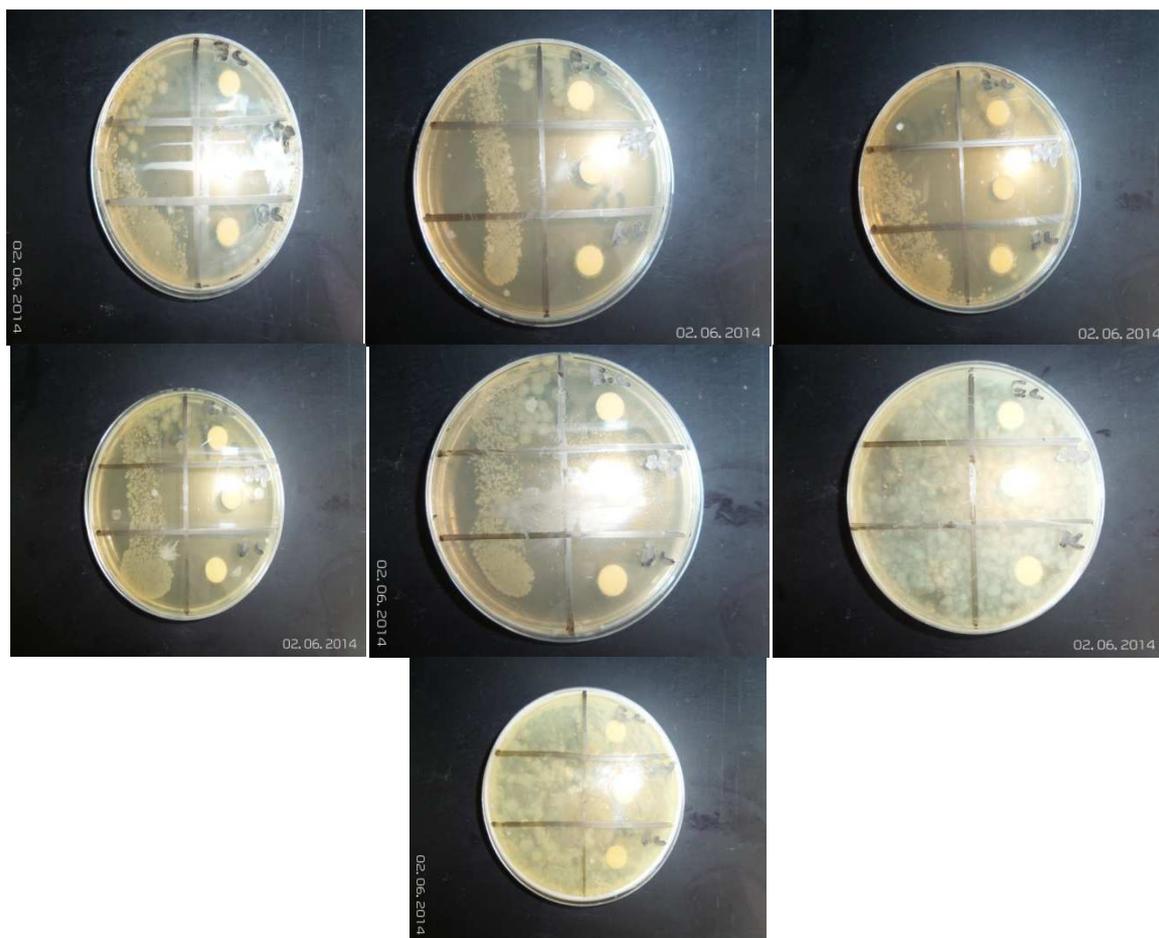
Figure 56 : Zones d'inhibitions des huiles essentielles testées sur *Candida albicans*



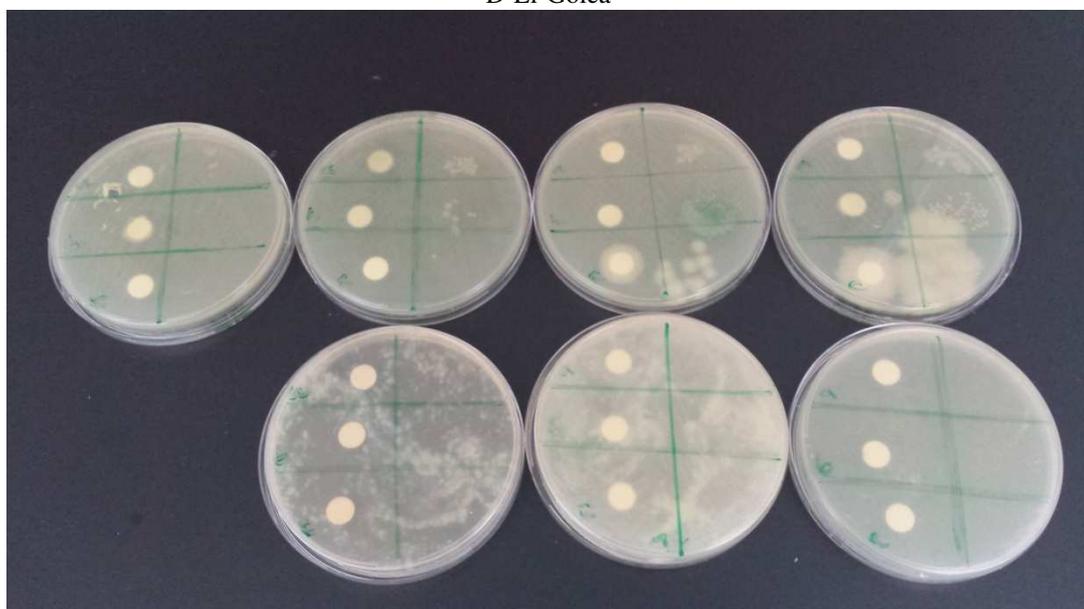
**Figure 57** : Détermination de la CMI des bactéries de l'H.E. du *Cymbopogon Schoenanthus* de Tamanrasset



**Figure 58** : Détermination de la CMI des bactéries de l'H.E. du *Cymbopogon Schoenanthus* de Béchar



**Figure 59** : Détermination de la CMI des bactéries de l'H.E. du *Cymbopogon Schoenanthus* D'El-Goléa



**Figure 60** : Détermination de la CMI des bactéries de l'H.E. du *Cymbopogon Schoenanthus* C.Ghardaia

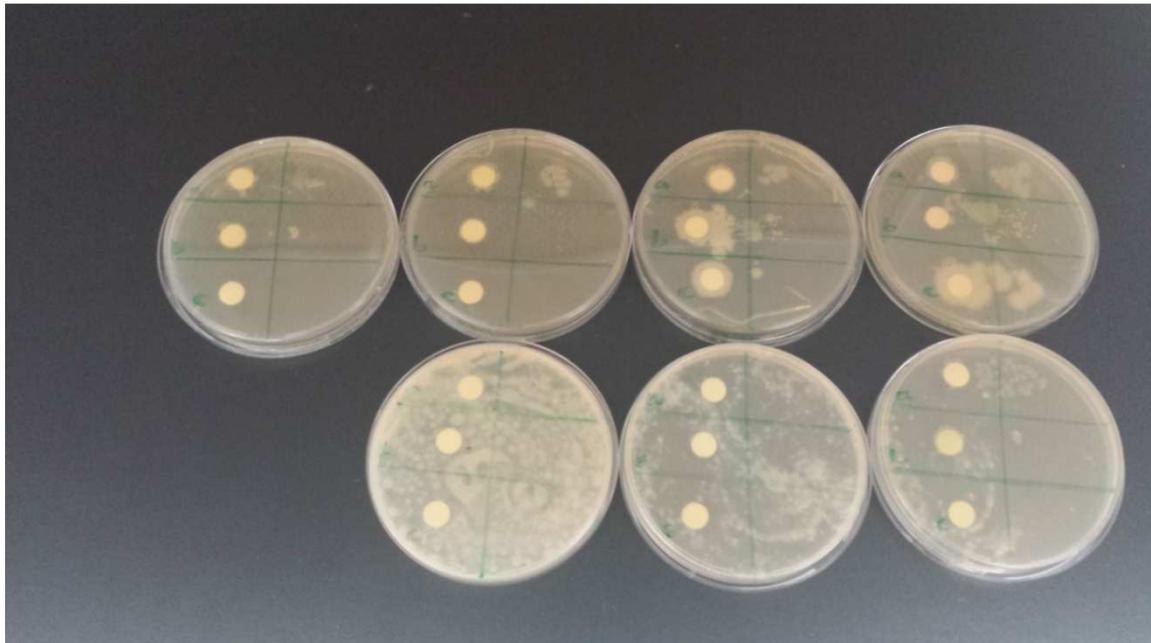


Figure 61 : Détermination de la CMI des bactéries de l'H.E. du *Cymbopogon Schoenanthus* de Ouargla

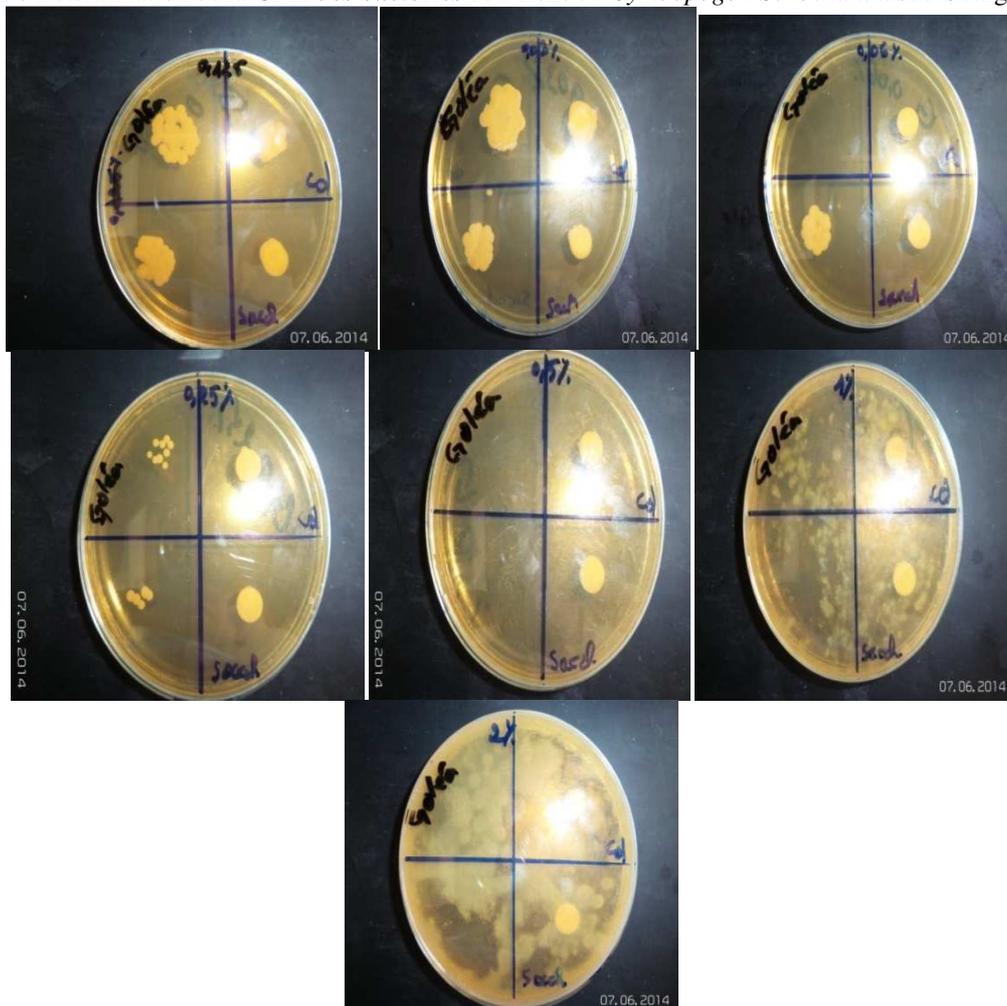
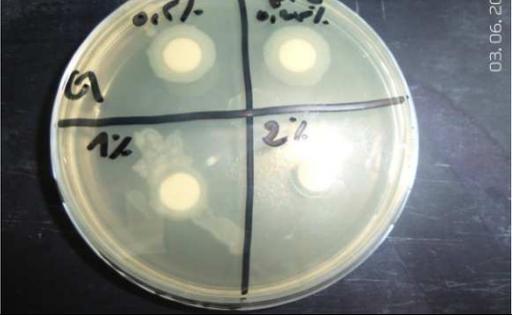
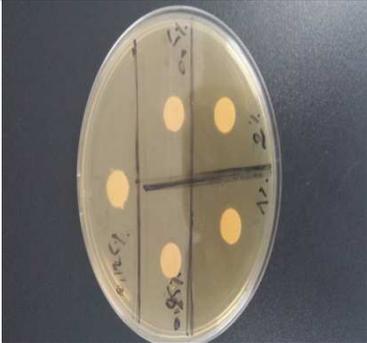
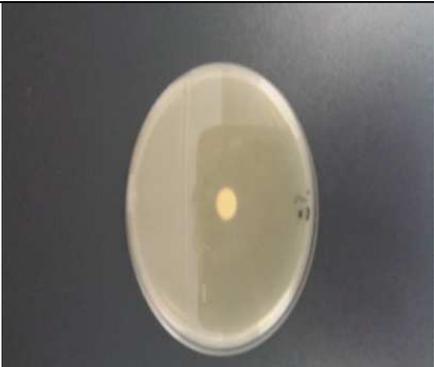


Figure 62 : Détermination de la CMI des levures de l'H.E. du *Cymbopogon Schoenanthus* d'El Goléa

Plante	CMB	
Tamanrasset		
<i>Staphylococcus aureus</i>		
Béchar		
<i>Staphylococcus aureus</i>		
El Goléa		
<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>
A.judaïca		
<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Escherichia coli</i>

		
	<i>Candida albicans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
		
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
<b>C. Djanet</b>		
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>
		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>



**Figure 63** : Détermination de la CMB des bactéries et levures des essentielles testées

### 5.3. Activité antibiotique

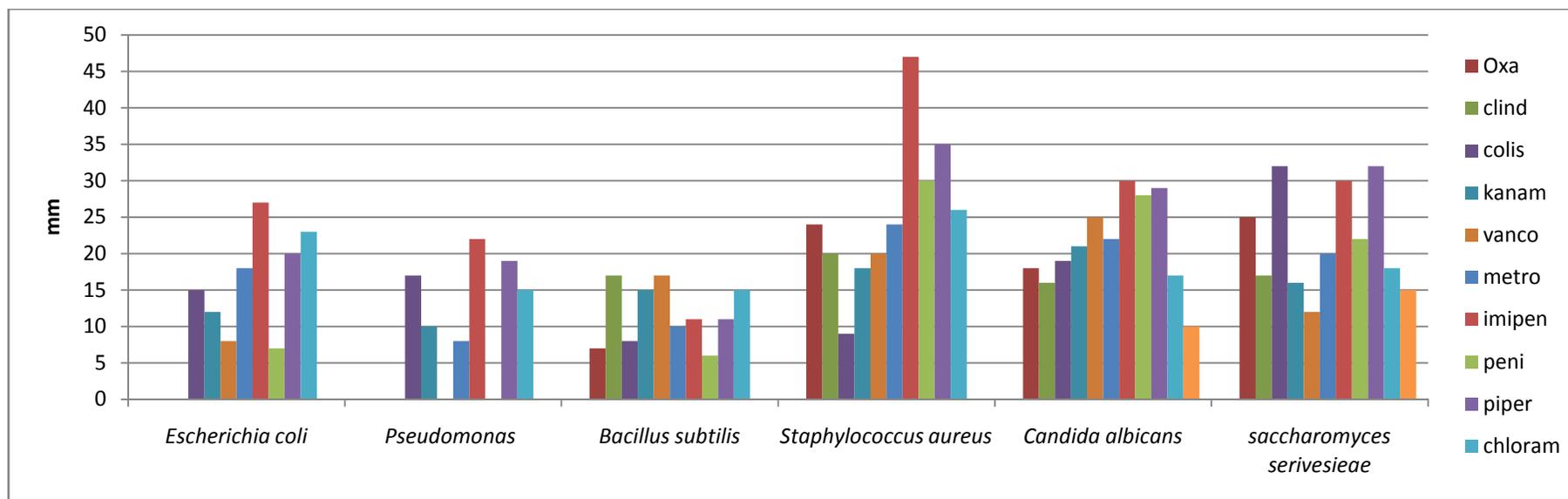
L'évaluation du pouvoir antibiotique des huiles essentielles par l'estimation du diamètre de la zone d'inhibition a montré que les antibiotiques utilisés présentent une activité antimicrobienne qui varie en fonction de la sensibilité des souches utilisées.

L'action inhibitrice a été constatée sur toutes les souches. Néanmoins, cette action est effective mais à des degrés différents (**tableau 26**).

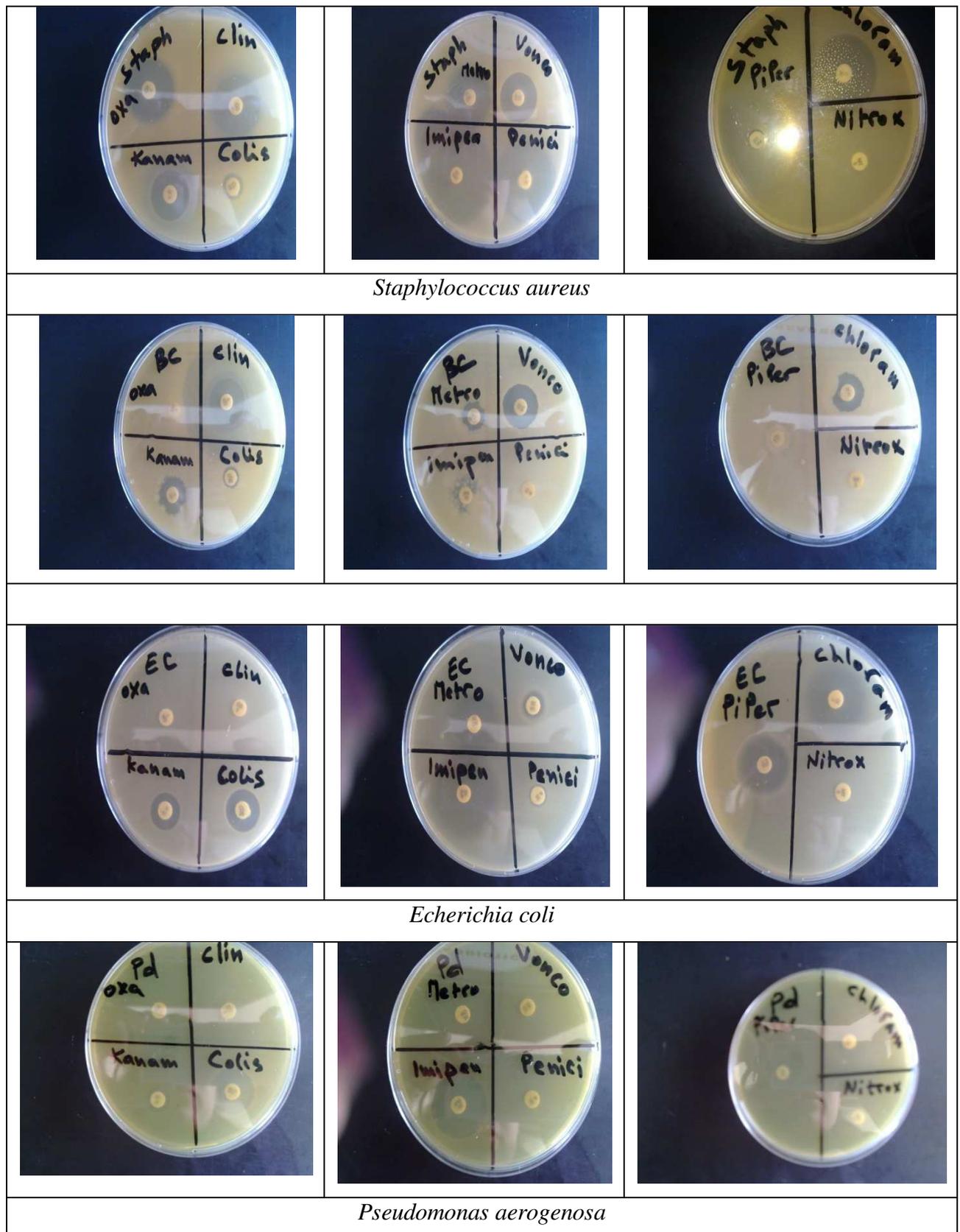
Les résultats du test de sensibilité microbienne aux antibiotiques (antibiogrammes) sont regroupés dans le **tableau 26**. L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de l'antibiotique. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un antibiotique à un autre. Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un antibiotique a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à **12 mm (Sadaç, 2003)**. De même, la **figure 94**.

**Tableau26** :Sensibilité des souches étudiées aux antibiotiques sélectionnés

<i>souches</i>	<b>Antibiotique</b>										
	<b>Oxa</b>	<b>Clind</b>	<b>Colis</b>	<b>kanam</b>	<b>vanco</b>	<b>metro</b>	<b>Imipen</b>	<b>Peni</b>	<b>piper</b>	<b>chloram</b>	<b>Nitrox</b>
<i>Escherichia coli</i>	0	0	15	12	8	18	27	7	20	23	0
<i>Pseudomonas</i>	0	0	17	10	0	8	22	0	19	15	0
<i>Bacillus subtilis</i>	7	17	8	15	17	10	11	6	11	15	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	24	20	9	18	20	24	47	30	35	26	0
<i>Candida albicans</i>	18	16	19	21	25	22	30	28	29	17	10
<i>saccharomyces serivesieae</i>	25	17	32	16	12	20	30	22	32	18	15



**Figure 64 :** Diamètres d'inhibitions des microorganismes testés par les huiles essentielle



**Figure 65 :** Zone d'inhibition des antibiotiques sur les souches ( *Pseudomonas aeruginosa*, *staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* et *Saccharomyces serevisiae*)

Clin : Clindamycin	-Piper : Piperacillin	-Colis : colistin
Chloram : Chloramphenicol	-Oxa : Oxacillin	-Lmipen : Lmipenem
Penici : Penicillin	-Kanam : Kanamycin	-Vanco : Vancomycin
Nitrox: Nitroxolin	-Metro: Metronidazol	

En comparant les résultats obtenus de la sensibilité des souches étudiées aux H.E de *Cymbopogon schoenanthus* des régions de Tamanrasset, Béchar et El Goléa et c'elle des antibiotiques, en remarque une certaine similarité entre eux Pour la zone d'inhibition d'*E.coli* des H.E est la même que celle de Colistin Pou la zone d'inhibition de *Staphylococcus aureus* est egal à celle d'Oxacillin et Chloramphenicol Pour les zones d'inhibition de *Candida albicans* est egal à celle de Penicillin

Pour les zones d'inhibition de *Saccharomyces ceriviseae* est égal à celle de Colistin et pour les zones d'inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* est egal à celle de l'Oxacillin, Clindamycin, Vancomycin, Penicillin et Nitroxolin.

# Conclusion

Ce travail se place dans une problématique de recherche pluridisciplinaire.

Au vu de nos résultats, les échantillons de *Cymbopogon schoenanthus* provenant des différentes régions du Sahara renferment des quantités variables en huile essentielle. Les variations des rendements en huiles essentielles et d'autres métabolites secondaires des plantes quelque soit leur genre ou espèces sont attribuées aux facteurs pédoclimatiques.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie couplée à la spectrométrie de masse des huiles essentielles extraites des échantillons de *Cymbopogon schoenanthus* sont constituées de composés terpéniques essentiellement des monoterpènes hydrocarbonés et des monoterpènes oxygénés. Ces huiles essentielles sont différentes par leurs composants majoritaires. On distingue donc deux types dominants de compositions chimiques, le premier type représenté par les échantillons de Béchar, d'El-Goléa, Ouargla et Ghardaia très riche en hydrocarbures monoterpéniques et en alcools (monoterpéniques et sesquiterpéniques) et le second type représenté par les échantillons de Tamanrasset et Djanet très riche en pipéritone. L'analyse de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* a abouti à l'identification de 38 composés représentant 88.8% de la totalité de l'huile. Sa composition se caractérise par le camphor (23.3%) et la piperitone (35.1%) comme composés les plus importants.

Les échantillons de Tamanrasset et de Djanet ont manifesté de faibles pouvoirs réducteurs comparés à ceux de l'antioxydant de synthèse (BHT) et ceux des autres échantillons. Cela pourrait être dû à leurs faibles teneurs relatives en composés alcooliques par rapport aux autres échantillons. En effet, c'est aux composés contenant des fonctions alcools et principalement des phénols que sont attribués les effets antioxydants (Shimada et al., 1992). Les échantillons de Bechar, Ghardaia et Ouargla ont montré un fort pouvoir réducteur supérieur ou comparable à celui du BHT. L'échantillon d'El-Goléa a manifesté une activité réductrice un peu inférieure à celle des autres échantillons de composition chimique similaire (Bechar, Ghardaia et Ouargla). Ce comportement peut être dû à sa teneur moins élevée en alcools, par rapport aux autres échantillons.

L'évaluation de la capacité réductrice des extraits méthanoliques de la fraction non volatile des échantillons d'El-Goléa, Tamanrasset et Béchar a montré une faible capacité réductrice de l'échantillon de Béchar par rapport aux autres échantillons et au BHT pour toutes les concentrations. Ce comportement est en relation avec sa faible teneur en phénols totaux et flavonoïdes. Par contre, l'échantillon de Tamanrasset qui est le plus riche en poly

phénols a manifesté le meilleur pouvoir réducteur. Les huiles essentielles de toutes les plantes sont dotées d'un faible pouvoir d'inhibition du radical DPPH\*. C'est ce qu'on a pu vérifier pour nos échantillons qui contiennent des alcools mais ces alcools ne sont pas des phénols.

Dans nos conditions expérimentales, les sept huiles essentielles testées présentent des effets variables sur la mortalité des adultes de la bruche *C. maculatus* en fonction des doses et du temps d'exposition, leur toxicité varie selon le type d'action du test effectué (contact et fumigation). En effet, l'élimination des adultes permettra la réduction de l'oviposition et préservera la graine de larves, et réduisent le nombre de bruches adultes qui émergent.

La différence observée par rapport à nos résultats est probablement liée au chémotype utilisé. L'efficacité des huiles essentielles est généralement liée à la nature de leurs composants majoritaires, ce sont les terpènes émis par les huiles essentielles qui sont toxiques aux adultes de *C. maculatus*. Nous pouvons dire que la pipéritone qui est l'un des principaux constituants majoritaires des huiles essentielles de *C.schoenanthus* de Tamanrasset et de Djanet et celle d'*Artemisia judaica* serait en partie responsable de l'activité insecticide de ces huiles essentielles et certains composés tels que la  $\delta$ -2-carène auraient un effet synergique avec la pipéritone. Cette Composition qui dépend également de la zone de récolte des plantes.

L'utilisation des huiles essentielles aptes à contrôler les insectes nuisibles dans les pays en voie de développement pourrait constituer une approche alternative complémentaire aux traitements insecticides classiques. Des expériences complémentaires sont nécessaires pour préciser la nature du (ou des) composés responsable (s) de cette activité, pour optimiser les doses efficaces, car il est bien connu que les composants isolés et purifiés agissent à faibles doses. Malgré les résultats obtenus certes encourageants, l'efficacité de ces huiles reste encore à démontrer en situations réelles (dans les entrepôts de stockage).

Enfin, l'évaluation de l'effet antimicrobien des huiles essentielles testées a permis d'affirmer qu'elle a un pouvoir inhibiteur vis à vis des microorganismes testés indépendamment de leur gram et de leur morphologie, signalons que la bactérie à gram positif est plus sensible que la bactérie à gram négatif, alors que nos huiles testées se sont révélées inactives contre *Pseudomonas aerogenosa*.

D'une manière globale, nous avons constaté que les huiles essentielles sont composés d'un grand nombre de constituants chimiques pourront varier considérablement au sein d'une même espèce connue.

# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

1. **Abbott W.S. (1952).**A method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, Vol.18, pp.265-267.
2. **Abd-El hady, H.K., (2012).** Insecticidal activity and chemical composition of essential oil from *artemisia judaica* l. against *callosobruchus maculatus* (f.) (coleoptera: bruchidae). Journal of Plant protection Research,52 (3), 347-352.
3. **Abouwaliou Nadio, N., Koba, K., Poutouli, W., Akantetou, P., Laba, B., Essolakina Bokobana, M., Raynaud, C., Sand, K., (2013).**Activités insecticides de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* (L.)Spreng. sur les larves de stade II de *Dysdercus voelkeri* Schmidt (Heteroptera:Pyrrhocoridae). Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie, 35, 8-14
4. **Abrassat J. (1988).** Mille et une vertus des huiles essentielles. Ed. Guy Trenadel, 94p.
5. **Adams, R.P., (2007).** Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th ed., Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL., USA.
6. **Adedire C.O., Akinkurolere R.O. (2005).** Bioactivity of four plants extracts on coleopterous pests of stored cereals and grains legumes in Nigeria. Zoological Research, Vol. 26, n°3, pp. 243-249.
7. **ADEGOKE, G.O.; ODESOLA, B.A.** Storage of maize and cowpea and inhibition of microbial agents of biodeterioration using the powder and essential of lemon grass (*Cymbopogon citratus*).International Biodeterioration & Biodegradation, v.37, n.1/2, p.81-4,1996.
8. **Afnor, 2000-** huile essentielle. association française de normalisation. Paris. pp559-563
9. **Ahmadi, F., Sadeghi, S., Modarresi, M., Abiri, R., Mikaeli, A., (2010).** Chemical composition, in vitro antimicrobial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methanolic extract of *Hymenocrater longiflorus* Benth., of Iran. Food Chemistry and Toxicology, 48, 1137–1144.
10. **Al-Mustafa A. H. Et Al-Thunibat O. Y., 2008** - Antioxidant activity Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. Pakistan J. Biol. Sci., 11: 351–358 p.

11. **Alitonou, G.A., Avlessi, F., Tchobo, F., Noudogbessi, J.P., Tonouhewa, A., Yehouenou, B., Menut, C., Sohounhloue, D.K., (2012).** Chemical composition and biological activities of essential oils from the leaves of *Cymbopogon giganteus* Chiov. and *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng (Poaceae) from Benin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6, 1819-1827.
12. **Alok K., Veena P., Bhasney S., Tripathi A.K., Sushil K. (2005).** Potential toxicity of new genotypes of *Tagetes* (Asteraceae) species against stored grain insect pests. *International Journal of Tropical Insect Science*, Vol.25, n°2, pp. 122-128.
13. **Ansari K.K, Prakash S., Pandey P.N. (2004).** Effect of some indigenous plant products on the emergence and longevity of adults of rice-moth. *Corcyra cephalonica* (Stainton). *Flora and Fauna (Jhansi)*, Vol. 10, n°1, pp. 35-36.
14. **Apeti Gbogboci, K., Batawilae, K., Ananici, K., PrinceDavid.M., Gbeassore, M., Bouchet, P., Akpaganae, K., (2006).** Activite antifongique des huiles essentielles de *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) et *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. (Poaceae) sur des micromycetes influençant la germination du maïs et du Niebe. *Acta Botanica Gallica*, 153 (1), 115-124.
15. **Arnason J.T. , Philogene B.J.R. Et Morand P.,1989-** Insecticides of plant origin. ACS Symposium series, 387, Waschigton, 213p.
16. **Ausloos P. (2002).** L'huile essentielle : un triangle corps-esprit-emotion, ou comment l'aromathérapie s'affranchit de la dualité cartésienne. Aromalves-conception ABC creat-web, CNIL, n° 806675, 6 p.
17. **Azalenko K. (1995),** Contribution à la détermination des chemotypes d'une plante à huile essentielle du Togo : *Lippia mutiflora*. Mémoire d'ingénieur de travaux, ESTBA, Univ. Lomé.
18. **Baba Aissa F. (1999).** Encyclopédie des plantes utiles (flore d'Algérie et du Maghreb), Librairie moderne, Rouiba, 173 p.
19. **Baba-Moussa, F., Koumaglo, K, Ayedoun, A, Akpagana, K, Moudachirou, M., et Bouchet, P. 1997.** «Activité antifongique d'huiles essentielles extraites au Bénin et au Togo». *Cryptogamie, Mycol.*, 18,2: 165-168.
20. **Babushok, V.I., Linstrom, P.J., Zenkevich, I.G., (2011).** Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 40, 43101-1- 43101-47

21. **Balachowsky A. S. (1962).**Entomologie appliquée à l'agriculture. Ed. Masson et Cie, Tome 1, Vol. 1, Paris, 547 p.
22. **Bakkali F., Averbeck S., D. Averbeck, M. Idaomar 2008** Les effets biologiques des huiles essentielles - un examen. *Food and Chemical Toxicology*, 46 (2008), pp 446-475.
23. **Beck C.W Et Blumer L.S.,2007.** Bean beetles, *callosobruchus maculatus*, a model system for inquiry-based undergraduate laboratories. 274-283pp. In tested studies for laboratory Teaching, Volume 28 (M.A.O'Donnell, Editor) Proceedings of the 28<sup>th</sup> Workshop/Conference of the association for biology laboratory Education (ABLE), p403.
24. **Bekele J. et Hassanali, A 2001.** «Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyse* (Labiatae) on two post-harvest insect pests». *Phytochemistry*, 57: 385-391.
25. **Belhattab R., Larous L., Kalantzaki G., Boskou D., Exarchou V. (2004).** Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. Extracts. *Journal of Food, Agriculture, and Environment (J.F. A. E.)*, Vol.2, n° 1, pp. 69-73.
26. **Benchelah, A.C., H.Bouriane and M.Muka (2004).** Flowers of Sahara, trees and grasses; A trip throughout the utilizations by the Tuargs of Tassili *Phytotérapie*. 2:191,197.
27. **Bendahou M., 2007.** Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatique et médicinales de l'ouest algérien. Thèse de doctorat d'état en biochimie, Univ. Tlemcen, 282 p.
28. **Benhalima H., Chaudhry M.Q., Mills K.A. and Price N.R. (2004).** Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities. *Journal of Stored Products Research*, Vol. 40, n° 3, pp. 241-249.
29. **Benhouhou S., 2005.** *Cymbopogon schoenanthus* spreng in A Guide to Medicinal Plants in North Africa. IUCN the World Conservation Union, Espagne p.p. 139.
30. **Bossou, A. D., Manginck, S., Yedomonhan, H., Boko, P.M., Akogbeto, M.C., De Kimpe, N., Avlessi, F., Sohounhloue, D.C.K., (2013).** Chemical composition and insecticidal activity of plant essential oils from Benin against *Anopheles gambiae* (Giles). *Parasites & Vectors*, 6:337, 1917.
31. **Bostanian N. J., Akalach M., And Chiasson H., ( 2005).** Effects of a Chenopodium based botanical insecticide/acaricide on *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) and *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae). *Pest Manag. Sci*, 61, pp: 979-984.

32. **Bouchikhi Tani, Z.; Khelil, M. A. & Hassani, F. 2008.** Fight against the bruchid *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) and the mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) by the essential oils extracted from *Rosmarinus officinalis*. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 5 (2): 651-656.
33. **Bouchikhi Tani, Z., Bendahou, M., Khelil, M.A., (2010).** Lutte contre la bruche *Acanthoscelides obtectus* et la mite *Tineola bisselliella* par les huiles essentielles extraites de deux plantes aromatiques d'Algérie. *Lebanese Science Journal*, 11, 55-58.
34. **Bourgois C. M., Mescle J. F. et Zucca J., (1996).** Microbiologie alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed. Tec. Et Doc., Paris. 672P. (Sciences et techniques agroalimentaires).
35. **Bowers, W.S., Ortego, F., You, X., Evans, P.H., 1993.** Insect repellents from the Chinese prickly ash *Zanthoxylum bungeanum*. *Journal of Natural Products* 56, 935–938.
36. **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2<sup>ème</sup> édition. Ed. tech. & doc. Lavoisier, Paris, pp.469-488
37. **Bughio F. M. and Wilkins R. M. (2004).** Influence of malathion resistance status on survival and growth of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae), when fed on flour from insect-resistant and susceptible grain rice cultivars. *Journal of Stored Products Research* Vol. 40, n° 1, pp. 65-75.
38. **Burits, M., & Bucar, F. (2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14, 323–328.
39. **Burt S. A. et Reinders, 2003.)** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review international. *J. Food Microbiol.* 94: p.p. 223-253.
40. **Caillet S., Yu H., Lessard S., Lamoureux G., Ajdukovic D., Lacroix M., (2007).** Fenton reaction applied for screening natural antioxidants. *Food Chemistry*, Vol. 100, p.p. 542-552.
41. **Casida J.H., ( 1990).** Pesticide mode of action, evidence for implications of a finite number of biochemical targets. In: Casida J.E. (ed.). *Pesticides and alternatives. Innovative chemical and Biological Approaches to Pest Control.* Amsterdam: Elsevier, pp. 11-22.
42. **Caswell, G.H 1968.** «The storage of cowpea in Northern States of Nigeria». *Proc. Agric. Soc. Niger*, 5 : 4-5.

43. **Chaumont. J.P. Leger. D.,(1989).**, Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement trèsvoisin. Relation structure –activité. *Plant Med. Phyto.* 23(2), 124-126.
44. **Chisowa, E.H.; Hall, D.R.; Farman, D.I.(1998).** Volatileconstituentes of the essential oil of *Cymbopogon citrates* Stapf grown in Zambia. *Flavour and Fragrance Journal*,v.13, n.1, p.29-30.
45. **Chao et al., 2000.** Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses, *J. Essent. Oil. Res.*, n.12, p.p.63-649.
46. **Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E. Warmington T.R., Wyllie S.G., (2000).** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternafolia* (Tea tree oil). *Journal of Applied. Microbiology*, Vol. 88, p.p.170-175.
47. **Constantin A. et Schenell A. (1986).** Spectrométrie de masse, principes et application. Ed.Techniques & Documentation, Lavoisier, 151p.
48. **Cosentino S. et al., (1999).** In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Sardinian Thymus* essential oils in letter *Applied Microbiology*, vol. 29, n.2, p.p. 130-135.
49. **Deans S.G. et Ritchie G., (1987).** Antimicrobial proprieties of essential oils in journal of food microbiology, vol.5, p.p.162-180.
50. **Delobel A. And Malonga P. 1987.**Insecticidal propertiesofsix plant rmaterials against*Caryedon serratus*. *J.StoredProd.Res.*voI.23,173-176.
51. **Delobel, A. & Tran, M., 1993.** Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes, Paris, 424 p.
52. **Delobel B.,1999.**Une protéine du petit pois contre les charançons.In presse info.INRA.p.p5-10.
53. **Dharmasena C. M. D. and Subasinghe S. M. C. (1986).** Resistance of mung bean *Vigna radiata* spp. *Tropical Agricultural*, Vol. 142, pp.1-6.
54. **Duangsamorn Suthisut ,Paul G. champs Angsumarn Chandrapatya, (2011).**Toxicité fumigation des huiles essentielles à partir de trois usines thaïlandaises (Zingiberaceae) et leurs composés majeurs *contre Sitophilus zeamais* , *Tribolium castaneum* et deux parasitoïdes*Journal of stockée recherche sur les produits.*Volume 47, Numéro 3, Pages 222-230.

55. **Dorman, H.J.D. and Deans, S.G., (2000).** Antimicrobial agent from plants antimicrobial activity of plant volatile oils, *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), p.p 308-316.
56. **Ela M. A. et al., 1996.)** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Pharmazie*, vol 51, p.p. 993-995.
57. **El-Kamali, H.H. Et al.** Antibacterial properties of essential oils from *Nigella sativa* seeds, *Cymbopogon citratus* leaves and *Pulicaria undulate* aerial parts. *Fitoterapia*, v.69, n.1, p.77-8, (1998).
58. **El-Lakwah F. A And El-Kashla I ., (1999)-** Efficiency of neemzal powder 10 % against some stored product insects. *alexandria Res. , Vol. 44 (2), pp : 71 – 283.*
59. **El-Massry, K.F., El-Ghorab, A.H., Farouk, A., (2002).** Antioxidant activity and volatile components of Egyptian *Artemisia judaica* L. *Food Chemistry*, 79, 331–336.
60. **El-Nahal, A.K.M.; Schidt, G.H. & Risha, E.M. (1994).** Influence of vapours of *Acorus calamus* L. oil on the reproductivity of some stored product Coleoptera. *Pakistan Journal of Entomology*, Karachi, 9(1): 21-27.
61. **Ernest S. (1987).** Arbres, arbustes et arbrisseaux en Algérie, O.P.U., n°586, 143 p.
62. **Finney D. J. (1971).** Probit analysis, 3rd Edition Cambridge University Press, London, UK, 333 p.
63. **Fleurat – Lessard F., (1978)-** Description et biologie des acariens. Coed. A.F.N.O.R, I.T.C.F., Paris, pp :67-81.
64. **Foua-Bi, K. (1992).** Préambule. In: Foua-Bi K, Philogène B, oos. 1990. La post-récolte en Afrique: Actes du Séminaire International de la Post-Récolte en Afrique, Abidjan, Côte d'Ivoire 29 jan - 1er fév. Montmagny. Aupelf-Uref, 152-4.
65. **Franchomme P. et Penoel D. (1990),** Matière médicale aromatique fondamentale (317-406), livre quatrième, l'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. R.Jollois Edit., Limoge, 446p.
66. **Gakurus. Etfoua-Bik.(1995).** Effet comparé des huiles essentielles de quatre espèces végétales contre la bruche duniébé (*Callosobruchus maculatus* Fab.) et le charançon du riz (*Sitophilus orirae* L.). *Tropicicultura* 13,4, 143-146p.
67. **Garneau, F.-X (2001).** Notes du cours Produits naturels. Département des Sciences fondamentales, UQAC, Chicoutimi, Québec. 17p.
68. **Garneau, F-X, Gagnon, H., Jean, F-I, Koumaglo, H.K., Moudachirou, M. et Addae-Mensah, (1996).** Les chémotypes de *Lippia multiflora*, *Melaleuca quiquenervia* et

- Clausenaanisata* du Togo, Bénin et Ghana. In Actes du 3ieme colloque produits naturels d'origine végétale. Edt. Collin, G. et Garneau, F.-X LASEVE\_UQAC' Chicoutimi, Québec. P. 125-135.
69. **Gauvin, M-I, Bélanger, A, Nébié, Ret Boivin, G. (2003).** «Azadirachta indica : l'azadiractine est-elle le seul ingrédient actif?». Phytoprotection, 84 :115-119.
70. **Gbenyedji Koami Bezo Jean Norbert (2014).** The Use Of Two New Formulations Of *Ocimum Canum* Sims And *Cymbopogon Schoenanthus* L. In The Control Of Amitermes Evuncifer Silvestri (Termitidae: Termitinae), In Togo .International Journal Of Natural Sciences Research, 2(10): 195-205
71. **Gholivand, M.B., Rahimi-Nasrabadi, M., Batooli, H., Ebrahimabadi, A.H., (2010).**Chemical composition and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of *Psammogeton canescens*. Food Chem. Toxicol., 48, 24–28 (2010).
72. **Girardie, A.(1966).**Contrôle de l'activité génitale chez *Locusta migratoria*.Mise en évidence d'un facteur gonadotrope et d'un facteur allatotrope dans la pars intercérébralis.Bull.Soc.Zool.Fr.91, 423-439.
73. **Glitho, I.A., Ketoh, G.K., Koumaglo, K.H. (1997).**Effets de quelques Huiles Essentielles sur l'activité reproductrice de *Callosobruchus maculatus* Fab. Ann. Univ. Ouagadougou, 5: 174-185.
74. **Glitho, IA (2002).** Post-récolte et biopesticides en Afrique. In Regnault-Roger, c., PhilogèneB.J.R.& Vincent C coord.Biopesticides d'origine végétale. Paris:Lavoisier-Éditions Tec&Doc.,314-321.
75. **Glitho, LA. Ketoh, K.G., Nuto, P.Y., Amevoin, S.K. et Huignard, 1. (2008).** Approches non toxiques et non polluantes pour le contrôle des populations d'insectes nuisibles en Afrique du Centre et de l'Ouest. 207-217.
76. **Guiraud J.P., (2003).** La microbiologie alimentaire. Paris, 2éd., Dunod, 651p.
77. **Hacib H. (2005).** Extraction des huiles essentielles du faux poivrier (*Schinus molle*), du genévrier (*Juniperus phoenicea*) et de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*). Evaluation de ces trois huiles sur *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera : Bostrychidae). Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Zoophythiatrie, INA, El Harrach, 115 p.
78. **Harkenthal M., Reichling J., Geiss H.K., Saller R., (1999).** Comparative studyon the invitro antibacterial activity of Australian tea tree oil, cajuput, oil, niaouli oil, manuka oil, Kanuka oil, and *eucalyptus* oil. Pharmazie, Vol. 54, N°. 6, p.p.460-463.

79. **Harner T, Wideman JL, Jantunen LMM, Bidleman TF, Parkhurst WJ. (1999).**Residues of organochlorine pesticides in Alabama soils – Environmental Pollution 1999, 106: 323-332.
80. **Han M-K, Kim S-I, Ahn Y-J. (2006).** Insecticidal and antifeedant activities of medicinal plant extracts against *Attagenus unicolor japonicus* (Coleoptera: Dermestidae). Journal of Stored Products Research 42: 15–22.
81. **Hazzit, M., Baaliouamer, A., Verissimo, A.R., Faleiro, M.L., Miguel, M.G., (2009).** Chemical composition and Biological activities of Algerian Thymus oils. Food Chemistry, 116, 714-721.
82. **Hazzit, M., Baaliouamer, A., Douar-Latreche, S., (2013).**Effect of heat treatment on the chemical composition and the antioxidant activity of essential oil of *Thymus pallescens* de Noé from Algeria. Journal of essential oil research, 25(4), 308-314.
83. **Hellali, N., Hadj-Mahammad, M., (2008).**Analyse par GC-MS de l'huile essentielle de la plante *Cymbopogon schoenanthus* de la région d'Ilizi obtenue par hydrodistillation assistée par micro-ondes. PhytoChem et BioSub Journal, 2, 5.
84. **Hermal C. et al., (1993).** Activité bactériostatique de sept émulsions d'huiles essentielles et de deux associations d'émulsions d'huiles essentielles, Faculté de Pharmacie, Université de monpellier, 87p.
85. **Hoffman A. (1945).** Faune de France (Coleopteres, Bruchides et Anthribides). Ed. Lechevalier, Paris, 184 p.
86. **Hoffman A., Balachowsky A.S., et Labeyrie (1962).** In Entomologie appliqué à l'agriculture. Ed. Masson et Cie, Paris, T. 1, T.1, 564 p.
87. **Hoffman M.L., Buxton J.W., Weston L.A. (1996).** Using subirrigation to maintain soil moisture content in greenhouse experiments. Weed Science, Vol. 44, pp. 397-401.
88. **Hostettmann K. (1997),** Tout savoir sur le pouvoir des plantes, Ed. Favre, S.A., Lausanne, Suisse.
89. **Huang Y., Ho S.H., and Manjunatha Kini R. (1999).** Bioactivities of Safrole and Isosafrole on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Economic Entomology, Vol. 92, n°3, pp. 676-683.
90. **Hummelbrunner L. A.and Isman M.B. (2001).** Acute, sublethal, Antifeedant, and Synergistic effects of Monoterpenoid Essential Oil Compounds on the Tobacco Cutworm, *Spodoptera litura* (Lep. Noctuidae). Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 49, pp.715-720.

91. **Huignard J., (1985).** Importance des pertes dues aux insectes ravageurs des graines : problèmes posés par la conservation des légumineuses alimentaires, source de protéines végétales. *Cath. Nutr. Diét.*, XX, 3,193-200.
92. **Isman, M.B. (2000).** «Plant essential oils for pest and disease management». *Crop Protection*. 19: 603-608.
93. **Isman, M.B. (2006).** «Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world». *Ann. Rev. Entomol*, 51 :45-66.
94. **Iwuala, M.O.E., Osisogu, LW.W. et Agbakwuru, E.O. (1981).** «Dennettia oil and potential new insecticides: test with adults and nymphs of *Periplaneta americana* L. and *Zonocerus variegatus* L.». *J Econ. Entomol.*, 74: 249-252.
95. **Jacques-Felix, H; (1962).** Lesgraminées d'Afrique tropicale: IRAT (Institut deRechercheAgronomiqueTropicale)Paris,tome 1, pp:300-301
96. **Je Mahfouz, M Khalequzzaman. (2007).**Contact et Toxicité fumigant des huiles essentielles contre *Callosobruchus maculatus* Univ. j. Zool. Rajshahi Univ. Vol. 26, pp 63-66.
97. **Joshi, S.C., Verma, A.R., Mathela, C.S., (2010).**Antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oils of Himalayan Lauraceae species. *J. Chem. Toxicol.*, 48, 37–40.
98. **Joarder, G.J.; Khatun, M.** Inhibitory effects of lemongrass oil on *indigenous Microflora*. Part 1. Inhibition of *Aspergillus niger*. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, v.17, n.3/4, p.219-26, (1982).
99. **Kauderer, B.; Zamith,H.; Paumgarten, F.J.**Evaluation of the mutagenicity of  $\alpha$ -myrcene in mammalian cells in vitro. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v.18, n.1, p.28-34, (1991).
100. **Kéita, S.M., Amason, J.T., Baum, B.R., Marles, R., Camara, F., et Traoré, A.K. (1999).** «Étude ethnopharmaologique traditionnelle de quelques plantes médicinales anthelminthiques de la Haute-Guinée (République de Guinée)». *Revue Med.. Pharm. Afr.*, 13 :49-64.
101. **Keita S.M., Vincent C., Schmit J.P., Arnason J.T., Bélanger A. (2001).** Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O.gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, Vol. 37, n° 4, pp. 339-349.
102. **Kellouche, A. & Soltani, N. (2004).** Activité biologique des poudres de cinq plantes de l'huile essentielle d'une d'entre elles sur *Callosobruchus maculatus* (F.). *International Journal of Tropical Insect Science*, 24 (1): 184–191.

103. **Kellouche, A. (2005).** Etude de la bruche du poi-chiche, *Callosobruchus muculatus* (Coleoptera : bruchidae) : Biologie, physiologie, reproduction et lutte. Thèse. Doc d'état. Univ. Tizi-Ouzou, Algérie. 154p.
104. **Ketoh G.K. (1998).** Utilisation des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques du Togo comme biopesticides dans la gestion des stades de développement de *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Thèse de doctorat, Université du Benin, Lomé (Togo), 141pp.
105. **Ketoh, G.K., Glitho, I.A., Koumaglo, H.K., Garneau, F.-X. (2000).** Evaluation of essential oils from six plants in Togo for *Callosobruchus maculatus* F. pest control. *Insect Sci. Appl*, 20, 45-49.
106. **Ketoh G. K., Glitho I. A., And Huignard J., (2002).** Susceptibility of the Bruchid *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its Parasitoid *Dinarmus Basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) to Three Essential Oils. *J. Econ. Entomol.*, 95(1), pp: 174-182.
107. **Ketoh G. K., Koumaglo H.K., Glitho I.A. (2005).** Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon Schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Stored Products Research*, Vol. 41, pp 363-371.
108. **Ketoh GK, Koumaglo HK, Glitho IA, Huignard J., (2006).** Comparative effects of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil and piperitone on *Callosobruchus maculatus* development. *Fitoterapia* 77: 506-510.
109. **Khadri, A., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Neffati, M., Smiti, S., Araujo, M.E.M., (2008).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC–mass spectrometry and <sup>13</sup>C NMR. *Food Chemistry* 109, 630–637.
110. **Khadri, A., Neffati, M., Smiti, S., Fale, P., Lino, A.R.L., Serralheiro, M. L. M. Araujo, M.E.M., (2010).** Antioxidant, antiacetylcholinesterase and antimicrobial activities of *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng (lemon grass) from Tunisia. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 331–336.
111. **Khalfi O. (1983).** Biologie de la reproduction de *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Effet de trois insecticides de synthèse sur la reproduction. Thèse de Magister, option phytotechnie, INA, El-Harrach, 120 p.

112. **Kim S., Roh J. Y., Kim D. H., Lee H. S., Ahn Y. J. (2003)** . Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchuschinenssi*. Journal of Stored Products Research, Vol. 39, pp. 293-303.
113. **Koba K. (2003)**. Activités antimicrobiennes de différents chimiotypes d'huiles essentielles de quatre Lamiacées aromatiques de la flore togolaise vis-à-vis des germes représentatifs de la microflore cutanée. (Application à la formulation d'émulsions à usage topique). Thèse de Doctorat Université de Lomé 172p.
114. **Koba K., Sanda K. , Raynaud C., Nenonene Y. A, Millet J. , Et Chaumont J.P.(2004)**. Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon* sp. *africains* vis-à-vis de germes pathogènes d'animaux de compagnie, Ann. Méd. Vét., , (3148, 202-206
115. **Koona P., Dorn S. (2005)**. Extracts from *Tephrosia vogelii* for the protection of stored legume seeds against damage by three bruchid species. Annals of Applied Biology, Vol.147, n° 1, pp. 43-48.
116. **Koumaglo, KH., Akpagana, K, et Glitho, LA (1994)**. «Essential Oil of *Diplophiumafricanum* Turcz». J Essent. Oil Res., 6: 449-452.
117. **Koumaglo, KH., Guillaume, K, Kétoh, K, et Glitoh, LA(1998)**. L'huile essentielle de *Cymbopogon Schoenanthus*, un biopesticide efficace contre *Callosobruchus maculatus* F., prédateurs du niébé. Actes du Colloque (Ottawa, 26-29 mai 1998), 151-159.
- **Kumar R.,(1991)**, La lutte contre les insectes ravageurs. La situation de l'agriculture africaine. Editions Karthala et CTA, Pays-Bas, Paris, 310 p.
118. **Lale, N.E.S. (1991)**. «The biological effects of three essential oils on *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae)>>. J Afric. Zool., 105: 357-362.
119. **Lale N. E. S., Mustapha A. (2000)**. Potential of combining neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed oil with varietal resistance for the management of the cowpea bruchid, *Callosobruchus maculatus* (F.). Journal of Stored Products Research, Vol.36, n° 3, pp. 215-222.
120. **Lamaison, J.L.C. et Carnet, A., (1990)**. Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D. C.) en fonction de la végétation. Pharmaceutica Acta Helvetiae, 65, 315 – 320.
121. **Larson R.O. (1989)**. The commercialization of neem. In: Jacobson, M. Focus on Phytochemical pesticides. Vol.1, the neem tree. CRC Press, Boca Raton, Fla, pp.155-158.
122. **Lee S.E. (2002)**. Biochemical mechanisms conferring cross-resistance to fumigant toxicities of essential oils in a chlorpyrifos-methyl resistant strain of *Oryzaephilus*

- surinamensis* L. (Coleoptera : Silvanidae ). Journal of Stored Products Research Vol.38, n° 2, pp.157-166.
123. **Lee S., Peterson C.J., Coats J.R. (2003).** Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. Journal of Stored Products Research Vol.39, pp.77-85.
124. **Lepeseme P.,1944.**Les coleopteres des denres alimentaires et des produits industriels entreposes.Ed. Paul le chevalier,Paris,335p.
125. **Lis- Balchin M. et Hart S. L., 2000.)** Pharmacological and antimicrobial studies on different tea-tree oils, originating in Australia and New Zealand. Phytotherapy Research, vol.14, p.p. 623-629.
126. **Liu CZ, Murchb SJ, EL-Demerdash M, Saxena PK. Artemisia judaica L.:** micropropagation and antioxidant activity. Journal of Biotechnology (2004); 110: 63– 71
127. **Macheix.,( 2005).**Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, Coll.Biologie.Ed.Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 192p.
128. **Meena M.R. et Sethi V., 1994.)** Antimicrobial activity of the essential oil from spices. J. Food Sci. and Tech. Mysore, vol. 31, p.p. 68- 70.
129. **Monge, G.P. Germain, J. F. et Huignard., J. (1988).** Importance des variations thermiques sur l'induction de la diapause reproductrice chez *B. atrolineatus* Pic. (Coleoptera: Bruchidae), Ecology and coevolution. Kluwer Academic Publishers, 91-100.
130. **Mordue, A.J., et Blackwell, A (1993).** «Azadirachtin: an update». J Insect Physiol. 39 : 903-924.
131. **Multon J.L.,(1982).**Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés céréales,oleagineux,proteagineux,aliments pouranimaux.Ed.Lavoisier,Tec &Doc .Apria.T.1Paris,p.p.394-412.
132. **Multon J.L. et Richard H. (1992).** Les arômes alimentaires, collection sciences et techniques agroalimentaires. Techniques & Documentation, Lavoisier, 438 p.
133. **Nafadjara AbouwaliouNadio1, Koffi Koba1\*, Wiyao Poutouli2, Pikassélé Akantetou3,Bakouma Laba1, Magnim Essolakina Bokobana1, Christine Raynaud4, Komla Sanda1J. (2013).**Activités insecticides de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* (L.)Spreng. sur les larves de stade II de *Dysdercus voelkeri* Schmidt(Heteroptera:Pyrrhocoridae),Soc. Ouest-Afr. Chim035 ; 8 – 14
134. **Naidu, V.D.; John, V.T.** In vitro inhibition of rice fungal pathogens by extracts from higher plants. InternationalRice Research News Letter, v.6, p.5-12,(1981).

135. **Negrelle, R.R.B.; Gomes, E. C** *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf : chemical composition and biological activities. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.9, n.1, p.80-92, (2007).
136. **Niber, N.B., Hellenius, J. et Varis, AL. (1992).**«Toxicity of plant extracts to three storage beetles (Coleoptera)>>. J Appt. Ent. 113: 202-208.
137. **Nofal, S. M., Mahmoud S. S., Ramadan A., Soliman G.A. et Fawzy R.(2009).** Anti- Diabetic effect of *Artemisia judaica* extracts. Res. J. Med. Med. Sci., 4: 42–48 pp.
138. **Ntezurubanza, L.(2000).** «Les huiles essentielles du Rwanda». LASEVE-UQAC, Chicoutimi, Québec. 17p.
139. (Coleoptera: Bruchidae): Mécanisme d'action de l'huile essentielle de *Cymbopogongiganteus* Chiov. Thèse de doctorat de l'Université de Lomé, FDS, (2009) 177p
140. **Ogulana, E.O. et al. (1987).**Effects of lemongrass oil on themorphological characteristics and peptidoglycansynthesis of *Escherichia coli* cells.Microbios, v. 50, n.202, p. 43-59.
141. **Onawunmi, G.O.; Yisak, W.A.; Ogunlana, G.O. (1984)..**Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citrates* (D.C.) Stapf. Journal of Ethnopharmacology, v.12, n.3, p.279-86.
142. **Onawunmi, G.O.(1989).** In vitro studies of the antibacterialactivity of phenoxyethanol in combination with lemon grass oil. Die Pharmazie, v.43, n.1, p.42-4
143. **Ouedraogo A.P., Sou S., Sanon A., Monge J.P., Huignard J., Tran M.D. et Credland P.F. (1996 ).**Influence of temperature and humidity on populations of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) in two zones of Burkina Faso. Bulletin of Entomological Research, Vol. 86, pp. 695-702.
144. **Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M., (2006).** 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, Article in press.
145. **Oussalah M., Caillet S., Saucier L. et 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, Vol. 18, p.p. 414-420.

146. **Owusu E.O. (2000).** Effect of some Ghanaian plant components on control of two stored-product insect pests of cereals. *Journal of Stored products Research*, Vol. 37, n°1, pp 85-91.
147. **Oyaizu M. (1986).** Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
148. **Ozenda, P., (2004).** Flore et végétation du Sahara. Third edition. Ed. CNRS, Paris. 662 p.
149. **Ozkan M., J.-C. Chalchat, (2003.)** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in turkey. *Bulg. J. Plant Physiol.* **30** (4): p.p. 68-73.
150. **Ozkan, G., Baydar, H., Erbas, S., (2010).** The influence of harvest time on essential oil composition, phenolic constituents and antioxidant properties of Turkish oregano (*Origanum onites* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 205–209 (2010).
151. **Ozlem Sacan, O., Refiye Yanardag, R., (2010).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of chard (*Beta vulgaris* L. var. cicla). *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1275–1280.
152. **Papachristos D. P. and Stamopoulos D.C. (2002).** Repellent, toxic, and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, Vol. 38, n° 2, pp. 117-128.
153. **Pellecuer J., Roussel J.L et Dary C., (1980).** Recherche du pouvoir antifongique de quelques huiles essentielles. *Rivista Italiana Essenzo (EPPOS)*. 23, 45-50.
154. **Pattnaik, S. Et al.** Antibacterial activity of essential oil of *Cymbopogon*: inter and intra-specific differences. *Microbios*, v.84, n.341, p.239-45, (1996).
155. **Pibiri M.C., (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. thèse de Doctorat, Lausanne, Canada, p :177.
156. **Pinto E., Pina-Vaz C., Salgueiro L., Gonçalves M.J., Costa-de Oliveira S., Cavaleiro C., Palmeira A., Rodrigues A., Martinez-de-Oliveira J., (2006).** Antifungal activity of the essential oil of *thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of medical microbiology*, Vol. 55, p.p. 1367-1373.
157. **Prescott L.M., (2003).** *Microbiologie*, 2<sup>e</sup> éd., DeBoeck éd., 244p.
158. **Quezel P. et Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, tome II, Ed. CNRS, 599 p.
159. **Raccaud-Schoeller (1980).** Les insectes Physiologie développement. Ed. Masson, 296p.

160. **Regnault–Roger C. et Hamraoui A. (1993).**Efficiency of plants from south of France used as Tadtional protectant of *Phaseolus vulgaris* L. against its bruchid *Acanthoscelides obtectus* Say. Journal of. Stored Products Research Vol. 29, pp. 259-264.
161. **Regnault-Roger C., Hamraoui A., Holeman M., Theron E., Pinet R. (1993).** Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: bruchidae), a pest of Kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal.of Chemical Ecology, Vol.19, pp.1233-1244.
162. **Regnault-Roger C.,& Hamraoui A. (1994).**Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), a kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) bruchid, by aromatic essential oils. Crop Protection, 13 (8), pp: 624-628.
163. **Regnault-Roger, C., Philogène, B.J.R et Vincent, C. (2008).** Biopesticides d'origine végétale, 2ème édition, Lavoisier, Paris. édition, 550p.
164. **Regnault - Roger C. Et Hamraoui A.,1991-** Effect of ten mediterranean botanicals as protectants of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) against the pulse borer (*Acanthoscelides obtectus* Say) Ixè International society of chemical Ecology, Symposium OGULANA, E.O. et al. Effects of lemongrass oil on themorphological characteristics and peptidoglycansynthesis of *Escherichia coli* cells.Microbios, v. 50, n.202, p. 43-59, 1987.Dijon.
165. **Rodgers, P.B., (1993).** «Potential ofBiopesticides in Agriculture». Pestie. Sei, 117-129.
166. **Rozman V., Kalinovic I., Korunic Z. (2007)** La toxicité des composés de Lamiacées et Lauraceae naturellement à trois insectes dans les denrées. Journal of stockée recherche sur les produits, 43 (2007), pp 349-355
167. **Salunke B. K., Kotkar H.M., Mendki P.S., Upasani S. M., Maheshwari V. L. (2005).** Efficacy of flavonoids in controlling *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Bruchidae), a post harvest pest of grain legumes. Crop Protection, Vol. 24, n°10, pp.888-893.
168. **Sanon, A, Garba, M., Auger, 1. et Huiganrd, J. (2002).**«Analysis of innsecticidal activity of methylisocyanate on *Callosobrutus maculatus*, and its parasitoid *Dimarmus basalis*». J. Stored Prod. Res., 38:129-138.
169. **Schmidt, G. H.; Risha, E. M. &El-Nahal, A. K. M. (1991).** Reduction of progeny of some stored-product Coleoptera by vapour of *Acorus calamus*oil. The Journal of Stored ProductsResearch, 27 (2): 121-128.

170. **Schmidt G.H., Rembold H., Adel.A.I. Ahmed and Breuer M. (1998).** Effect of *Melia azzedarach* fruit extract on juvenile hormone titer on protein content in the hemolymph of two species of noctuid Lepidopteran larvae (Insecta : Lepidoptera: Noctuidae). *Phytoparasitica*, Vol.26, n°4, 283-291.
171. **Schmutterer H. (1992).** Higher plants as source of novel pesticides. In *Insecticides : Mechanism of action and resistance*. Intercept Andover p.3-14.
172. **Schmutterer H. (1990).** Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual review of entomology* 35:271-97.
173. **Seck D., Sidibe B., Handrue E., And 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, *Med. Fac. Landbouwwet, Univ. Gent*, 56, pp: 1217-1224.
174. **Seck, D.G., Lognay, E., Haubruge, M. Marlier et Gaspar, C. (1996).** «Alternative Protection of Cowpea Seeds Against *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) using Hermetic Storage alone or in Combination with *Boscia senegalensis* Pers. Lam. Ex. Poin». *J Stored Prod. Res.*, 32: 39-44.
175. **Seth W. Nyamador,** Influence des traitements à base d'huile essentielle sur les capacités de reproduction de *Callosobruchus subinnotatus* Pic. et de *Callosobruchus maculatus* F.
176. **Seri-Kouassi, B. P.; Kanko, C.; ET Aboua, L. R. N.; Bekon, K. A.; Glitho, A. I.; Koukoua, G. & Guessan, Y. T. (2004).** Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* F. du niébé. *C. R. Chimie* 7: 1043–1046.
177. **Shaaya E., Ravid U., Paster N., Juven B., Zisman U., Pissarev V. (1991).** Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-product insects. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 17, pp.499-504.
178. **Shaaya E., Ravid U., Paster N., Kostjukovsky M., Menasherov M. and Plotkin S. (1993)** Essential oils and their components as active fumigants against several species of stored product insects and fungi. *Acta Horticulturae*, Vol. 344, pp.131-137.
179. **Shimoni, M.; Reuveni, R.; Ravid, U.** Growth inhibition of plant pathogenic fungi by essential oils. *Hassadeh*, v.3, p.306-8, (1993).
180. **Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T., (1992).** Antioxidative properties of xanthan on the autooxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 945–948.

181. **Silue S., Jacquemin J Et Baudoin J,(2010)** Utilisation des mutations induites pour l'étude de l'embryogénèse chez le haricot *P. vulgaris* L. et deux plantes modèles, *A. rubidopsis thaliana* (L.) Heynh. Et *Zea mays* L. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* PP 195-205
182. **Singh S. R., Luse L. A., Leuschner K. and Nangju D. (1978).** Groundnut oil treatment for the control of *Callosobruchus maculatus* (F.). *Journal of Stored Products Research*, Vol. 14, pp.77-80.
183. **Sivropoulou A., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M., (1995).** Antimicrobial activity of mint essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, 43, pp: 2384-2388.
184. **Sivropoulou A., E; Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras And M. Arsenakis., (1996).** Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 44, 1202-1205.
185. **Smith-palmer A., Stewart J. and Fyfe L.,(1998.)** Antimicrobial properties of plant essential oil and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 26, 118-22.
186. **Southgate, B.J. (1958).** Systematic notes of species of *Callosobruchus* of economic importance. *Bulletin of Entomological Research*, Vol. 49, pp.591-599.
187. Southgate B.J. (1978). *Pests of grain legumes. Ecology and control.* Ed. S.R. Singh, H. F. Van Emdem, and T. A. Taylor, Academic press, New York, 454 p.
188. **Stahl E. (1974).** *Analyse chromatographique et microscopique des drogues,* Techniques & Documentation, Lavoisier, 251 p.
189. **Su, H.C.F. (1991).** «Toxicity and Repellency of Chenopodium oil to four species of stored product insects». *J Ent Sei.*, 26 : 178-82.
190. **Sube, S., Singal, S.K. et Venna, A.N. (1991).** «Evaluation of some edible oils as protectant of chickpea seeds, *C. arietinum* L. against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* L. By preferential feeding method. *Proceedings of the 5th International Working Conference on Stored-Product. Protection.* éd. Fleurat-Lessard, F. et Ducom, P. Bordeaux, 3: 1715-1754.
191. **Sube, S., Singal, S.K. et Venna, A.N. (1991).** «Evaluation of some edible oils as protectant of chickpea seeds, *C. arietinum* L. against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* L. By preferential feeding method. *Proceedings of the 5th International Working Conference on Stored-Product. Protection.* éd. Fleurat-Lessard, F. et Ducom, P. Bordeaux, 3: 1715-1754.

192. **SYED, M. et al.** Essential oils of the family Gramineae with antibacterial activity. Part 2. The antibacterial activity of a local variety of *Cymbopogon citratus* oil and its dependence on the duration of storage. Pakistan Journal of Science and Industrial Research, v.38, n.3/4, p.146-8, (1995).
193. **Talukder F.A. and Howse P.E. (1993).** Deterrent and insecticidal effects of extracts of Pithraj, *Aphanamixis polystachya* (Meliaceae) against *Tribolium castaneum* in storage. Journal of Chemical Ecology, Vol.19, n°11, pp.2463-2471.
194. **Tapondjou L. A., Adler C., Bouda H., Fontem D.A. (2003).** Bioefficacité des poudres et des huiles essentielles des feuilles de *Chenopodium ambrosioides* et d'*Eucalyptus saligna* à l'égard de la bruche du niébé, *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera, Bruchidae). Cahiers d'études et de recherches francophones / Agriculture, Vol. 12, n°6, pp.401-407.
195. **Tapondjou A. L., Adler C., Fontem D.A., Bouda H., Reichmuth C. (2005).** Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* Duval. Journal of Stored Products Research, Vol. 41, n° 1, pp. 91-102.
196. **Tchamdja K.M.(1995),** Etude de performance d'un extracteur artisanal pour la production d'essence de citronnelle. Mémoire d'ingénieur des travaux biologiques, ESTBA, UB, 95 p.
197. **Thiam, B. et Ducommun, G. 1993.** Protection naturelle des végétaux en Afrique. ENDA, Tiersmonde, Dakar. 213p.
198. **Tripathi AK, V. Prajapati, KK Aggarwal, S. Kumar (2001)** Toxicité, la dissuasion alimentaire, et l'effet de l'activité de 1,8-cinéole de *Artemisia annua* on la production de la descendance de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Ténébrionidés). Journal of Economic Entomology, 94 (2001), pp 979-983
199. **Tripplebrookfarm.(2003).** *Cymbopogon citratus*. Lemongrass. Available from: <<http://www.tripplebrookfarm.com/iplants/Cymbopogon.html>>.
200. **Viala A. (1998).** Elément de toxicologie, Techniques et Documentation, Lavoisier, 521 p.
201. **Vincent, c., Panneton, B., Fleurat-Lessard, F. (2000).** La lutte physique en phytoprotection. INRA, Paris. 347p.
202. **Viollon C., J.P. Chaumont., (1994).** Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*. Mycopathologia. 128(3), 15 1-153.

203. **Wannes, W.A., Mhamdi, B., Sriti, J., Jenia, M.B., Ouchikh, O., Hamdaoni, G., Kchouk, M.E., Marzouk, B., (2010).** Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica*) leaf, stem and flower. *Food Chemistry and Toxicology*, 48, 1362–1370.
204. **Warui M. (1984).** Bruchid infestation of cowpea varieties in the field. *Insect Science and its Application*, Vol. 5, pp. 283-286.
205. **Weaver, D.K., Dunkel, F.Y., Potter, R.C. et Ntezurubanza, L. (1994).** «Contact and fumigant efficacy of powdered and intact *Ocimum canum* Sims (Lamiales: Lamiaceae) against *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) adults (Coleoptera: Bruchidae)>>. *J Stored Prod. Res.*, 30: 243-252.
206. **Wong KC, BC Lee, NF Lam, P. Ibrahim(2005)** Les huiles essentielles des rhizomes d' *Alpinia conchigera* Griff. et *Alpinia latilabris* Ridl ;*Flavour and Fragrance Journal*, 20 (2005), pp 431-433
207. **Yentema, O., Aliouane, O., Abdoul Dorosso, S., (2007).**Chemical composition and physical characteristics of the essential oils of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng of Burkina Faso, *Journal of Applied Science*, 7, 503-506.
208. **Zongo, 1., Vincent, C., et Stewart, R.K. (1993).** «Effects of neem seed kernel extracts on egg and larval survival of the sorghum shoot fly, *Atherigona soccata* Rondani (Dipt.: Muscidae)>>. *JAppl.Entomol.*, 115:363-369.

# **Annexes**

## I. Tests statistiques (XLStat 2014): Résultat de l'ANOVA ( $p < 0,05$ ).

### -Analyse de la variance de l'activité insecticide :

#### 1-Analyse de la variance du test fumigation :

#### a-Analyse de la variance C. EL GOLEA

Tableau 27 :Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	ddl	Somme de carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	10043,956	1434,851	91,945	< 0,0001
Résidus	71	1107,994	15,606		
Total	78	11151,949			

Tableau 28 :Tests de comparaisons multiples pour la variable T1 :

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
D4 ~ T1	30,000	21,130	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	12,250	8,771	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D2	7,000	5,012	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D3	2,125	1,521	2,799	0,133	Non
D3 ~ T1	27,875	19,634	2,799	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	10,125	7,249	2,799	< 0,0001	Oui
D3 ~ D2	4,875	3,490	2,799	0,001	Oui
D2 ~ T1	23,000		2,799	< 0,0001	Oui
D2 ~ D1	5,250	3,759	2,799	0,000	Oui
D1 ~ T1	17,750	12,502	2,799	< 0,0001	Oui

Tableau 29 .Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Références bibliographiques

Modalités	Moyenne	Regroupements
D4	30,000	A
D3	27,875	A
D2	23,000	B
D1	17,750	C
T1	0,000	D

b-Analyse de la variance C. Tamanrasset

Tableau30 : Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	10440,866	1491,552	102,783	< 0,0001
Résidus	71	1030,323	14,512		
Total	78	11471,190			

Tableau30 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
D4	30,000	A
D3	30,000	A
D2	28,500	A
D1	24,563	B
T1	0,000	C

Tableau31 : Tests de comparaisons multiples pour la variable Témoin (T1):

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
D4 ~ T1	30,000	21,912	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	5,438	4,037	2,631	0,001	Oui
D4 ~ D2	1,500	1,114	2,394	0,509	Non
D4 ~ D3	0,000	0,000			Non
D3 ~ T1	30,000	21,912	2,631	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	5,438	4,037	2,394	0,000	Oui
D3 ~ D2	1,500	1,114	1,994	0,269	Non
D2 ~ T1	28,500	20,817	2,394	< 0,0001	Oui
D2 ~ D1	3,938	2,924	1,994	0,005	Oui
D1 ~ T1	24,563	17,941	1,994	< 0,0001	Oui

c-Analyse de la variance C. Béchar

Tableau32 : Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	9889,749	1412,821	117,707	< 0,0001
Résidus	71	852,200	12,003		
Total	78	10741,949			

Tableau33 : Tests de comparaisons multiples pour la variable Témoin (T1):

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
D4 ~ T1	30,000	24,094	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	15,938	13,011	2,631	< 0,0001	Oui
D4 ~ D2	12,688	10,358	2,394	< 0,0001	Oui
D4 ~ D3	2,625	2,143	1,994	0,036	Oui
D3 ~ T1	27,375	21,986	2,631	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	13,313	10,868	2,394	< 0,0001	Oui
D3 ~ D2	10,063	8,215	1,994	< 0,0001	Oui
D2 ~ T1	17,313	13,904	2,394	< 0,0001	Oui
D2 ~ D1	3,250	2,653	1,994	0,010	Oui
D1 ~ T1	14,063	11,294	1,994	< 0,0001	Oui

Tableau 34: Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements			
D4	30,000	A			
D3	27,375		B		
D2	17,313			C	
D1	14,063				D
T1	0,000				E

d-Analyse de la variance C. Djanet

Tableau35 : Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	10186,185	1455,169	61,576	< 0,0001
Résidus	71	1677,891	23,632		
Total	78	11864,076			

Tableau36 : Tests de comparaisons multiples pour la variable T1 :

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
D4 ~ T1	30,000	17,171	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	8,938	5,200	2,631	< 0,0001	Oui
D4 ~ D2	4,125	2,400	2,394	0,049	Oui
D4 ~ D3	0,063	0,036	1,994	0,971	Non
D3 ~ T1	29,938	17,135	2,631	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	8,875	5,164	2,394	< 0,0001	Oui
D3 ~ D2	4,063	2,364	1,994	0,021	Oui
D2 ~ T1	25,875	14,810	2,394	< 0,0001	Oui
D2 ~ D1	4,813	2,800	1,994	0,007	Oui
D1 ~ T1	21,063	12,055	1,994	< 0,0001	Oui

Tableau 37: Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements			
D4	30,000	A			
D3	29,938	A			
D2	25,875		B		
D1	21,063			C	
T1	0,000				D

e-Analyse de la variance C. Ouargla

Tableau 38: Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	11163,311	1594,759	49,934	< 0,0001
Résidus	71	2267,549	31,937		
Total	78	13430,861			

Tableau 39: Tests de comparaisons multiples pour la variable T1 :

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
D4 ~ T1	30,000	14,771	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	18,625	9,322	2,631	< 0,0001	Oui
D4 ~ D2	14,875	7,445	2,394	< 0,0001	Oui
D4 ~ D3	3,375	1,689	1,994	0,096	Non
D3 ~ T1	26,625	13,109	2,631	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	15,250	7,632	2,394	< 0,0001	Oui
D3 ~ D2	11,500	5,756	1,994	< 0,0001	Oui
D2 ~ T1	15,125	7,447	2,394	< 0,0001	Oui
D2 ~ D1	3,750	1,877	1,994	0,065	Non

Références bibliographiques

D1 ~ T1	11,375	5,601	1,994	< 0,0001	Oui
---------	--------	-------	-------	----------	-----

Tableau40: Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements	
D4	30,000	A	
D3	26,625	A	
D2	15,125		B
D1	11,375		B
T1	0,000		C

f-Analyse de la variance C. Ghardaia

Tableau 41: Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	10480,785	1497,255	58,841	< 0,0001
Résidus	71	1806,658	25,446		
Total	78	12287,443			

Tests de comparaisons multiples pour la variable T1 :

Tableau42 : Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
D4 ~ T1	30,000	16,548	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	13,750	7,710	2,631	< 0,0001	Oui
D4 ~ D2	8,875	4,976	2,394	< 0,0001	Oui
D4 ~ D3	1,938	1,086	1,994	0,281	Non
D3 ~ T1	28,063	15,479	2,631	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	11,813	6,623	2,394	< 0,0001	Oui
D3 ~ D2	6,938	3,890	1,994	0,000	Oui
D2 ~ T1	21,125	11,652	2,394	< 0,0001	Oui
D2 ~ D1	4,875	2,733	1,994	0,008	Oui
D1 ~ T1	16,250	8,963	1,994	< 0,0001	Oui

Tableau41 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements	
D4	30,000	A	
D3	28,063	A	
D2	21,125		B
D1	16,250		C
T1	0,000		D

g-Analyse de la variance d'Artémisia judaica

Tableau 42: Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	9989,830	1427,119	144,564	< 0,0001
Résidus	71	700,904	9,872		
Total	78	10690,734			

Tableau43 : Tests de comparaisons multiples pour la variable T1 :

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
D4 ~ T1	30,000	26,567	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	15,688	14,122	2,631	< 0,0001	Oui
D4 ~ D2	9,875	8,890	2,394	< 0,0001	Oui
D4 ~ D3	0,000	0,000	1,994	1,000	Non
D3 ~ T1	30,000	26,567	2,631	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	15,688	14,122	2,394	< 0,0001	Oui
D3 ~ D2	9,875	8,890	1,994	< 0,0001	Oui
D2 ~ T1	20,125	17,822	2,394	< 0,0001	Oui
D2 ~ D1	5,813	5,232	1,994	< 0,0001	Oui
D1 ~ T1	14,313	12,675	1,994	< 0,0001	Oui

Tableau44 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
D4	30,000	A
D3	30,000	A
D2	20,125	B
D1	14,313	C
T1	0,000	D

## 2-Analyse de la variance du test Contact

a-Analyse de la variance de C. d'El-Goléa

Tableau45 : Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	3308,520	472,646	103,546	< 0,0001
Résidus	71	324,087	4,565		
Total	78	3632,608			

Tableau43 : Tests de comparaisons multiples pour la variable T1 :

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
D4 ~ T1	16,188	21,082	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	16,188	21,430	2,631	< 0,0001	Oui
D4 ~ D2	16,188	21,430	2,394	< 0,0001	Oui
D4 ~ D3	9,563	12,659	1,994	< 0,0001	Oui
D3 ~ T1	6,625	8,628	2,631	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	6,625	8,771	2,394	< 0,0001	Oui
D3 ~ D2	6,625	8,771	1,994	< 0,0001	Oui
D2 ~ T1	0,000	0,000	2,394	1,000	Non
D2 ~ D1	0,000	0,000			Non
D1 ~ T1	0,000	0,000			Non

Tableau 44: Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
D4	16,188	A
D3	6,625	B
D2	0,000	C
D1	0,000	C
T1	0,000	C

b-Analyse de la variance de C.Tamanrasset

Tableau 45: Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	6014,835	859,262	242,166	< 0,0001
Résidus	71	251,924	3,548		
Total	78	6266,759			

Tableau 46: Tests de comparaisons multiples pour la variable T1 :

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
D4 ~ T1	20,000	29,543	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	18,063	27,122	2,631	< 0,0001	Oui
D4 ~ D2	13,563	20,365	2,394	< 0,0001	Oui
D4 ~ D3	0,000	0,000	1,994	1,000	Non
D3 ~ T1	20,000	29,543	2,631	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	18,063	27,122	2,394	< 0,0001	Oui
D3 ~ D2	13,563	20,365	1,994	< 0,0001	Oui
D2 ~ T1	6,438	9,509	2,394	< 0,0001	Oui

Références bibliographiques

D2 ~ D1	4,500	6,757	1,994	< 0,0001	Oui
D1 ~ T1	1,938	2,862	1,994	0,006	Oui

Tableau47 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements			
D4	20,000	A			
D3	20,000	A			
D2	6,438		B		
D1	1,938			C	
T1	0,000				D

c-Analyse de la variance de C.Béchar

Tableau 48: Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	2953,640	421,949	96,190	< 0,0001
Résidus	71	311,448	4,387		
Total	78	3265,089			

Tableau49 : Tests de comparaisons multiples pour la variable T1 :

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
D4 ~ T1	15,375	20,426	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	15,375	20,763	2,631	< 0,0001	Oui
D4 ~ D2	15,375	20,763	2,394	< 0,0001	Oui
D4 ~ D3	9,438	12,745	1,994	< 0,0001	Oui
D3 ~ T1	5,938	7,888	2,631	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	5,938	8,018	2,394	< 0,0001	Oui
D3 ~ D2	5,938	8,018	1,994	< 0,0001	Oui
D2 ~ T1	0,000	0,000	2,394	1,000	Non
D2 ~ D1	0,000	0,000			Non
D1 ~ T1	0,000	0,000			Non

Tableau 50: Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements			
D4	15,375	A			
D3	5,938		B		
D2	0,000			C	
D1	0,000			C	
T1	0,000			C	

d-Analyse de la variance de C.Djanet

Tableau 51: Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	5070,335	724,334	238,377	< 0,0001
Résidus	71	215,741	3,039		
Total	78	5286,076			

Tableau 52: Tests de comparaisons multiples pour la variable T1 :

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
D4 ~ T1	20,000	31,924	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	17,813	28,902	2,631	< 0,0001	Oui
D4 ~ D2	8,500	13,792	2,394	< 0,0001	Oui
D4 ~ D3	2,563	4,158	1,994	< 0,0001	Oui
D3 ~ T1	17,438	27,834	2,631	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	15,250	24,744	2,394	< 0,0001	Oui
D3 ~ D2	5,938	9,634	1,994	< 0,0001	Oui
D2 ~ T1	11,500	18,356	2,394	< 0,0001	Oui
D2 ~ D1	9,313	15,110	1,994	< 0,0001	Oui
D1 ~ T1	2,188	3,492	1,994	0,001	Oui

Tableau 53: Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements			
D4	20,000	A			
D3	17,438		B		
D2	11,500			C	
D1	2,188				D
T1	0,000				E

e-Analyse de la variance de C.Ouargla

Tableau 54 : Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	5099,901	728,557	95,644	< 0,0001
Résidus	71	540,833	7,617		
Total	78	5640,734			

Tableau 55: Tests de comparaisons multiples pour la variable T1 :

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence		Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
	Différence	réduite			
D4 ~ T1	19,313	19,470	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	19,313	19,792	2,631	< 0,0001	Oui
D4 ~ D2	16,438	16,845	2,394	< 0,0001	Oui
D4 ~ D3	6,313	6,469	1,994	< 0,0001	Oui
D3 ~ T1	13,000	13,106	2,631	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	13,000	13,323	2,394	< 0,0001	Oui
D3 ~ D2	10,125	10,376	1,994	< 0,0001	Oui
D2 ~ T1	2,875	2,898	2,394	0,014	Oui
D2 ~ D1	2,875	2,946	1,994	0,004	Oui
D1 ~ T1	0,000	0,000	1,994	1,000	Non

Tableau56 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements			
D4	19,313	A			
D3	13,000		B		
D2	2,875			C	
D1	0,000				D
T1	0,000				D

f-Analyse de la variance de C.Ghardaia

Tableau 56: Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	3870,106	552,872	101,869	< 0,0001
Résidus	71	385,337	5,427		
Total	78	4255,443			

Tableau 57: Tests de comparaisons multiples pour la variable T1 :

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence		Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
	Différence	réduite			
D4 ~ T1	17,625	21,051	2,799	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	17,625	21,398	2,631	< 0,0001	Oui
D4 ~ D2	17,625	21,398	2,394	< 0,0001	Oui
D4 ~ D3	12,188	14,797	1,994	< 0,0001	Oui
D3 ~ T1	5,438	6,494	2,631	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	5,438	6,602	2,394	< 0,0001	Oui
D3 ~ D2	5,438	6,602	1,994	< 0,0001	Oui
D2 ~ T1	0,000	0,000	2,394	1,000	Non

Références bibliographiques

D2 ~ D1	0,000	0,000	Non
D1 ~ T1	0,000	0,000	Non

Tableau 58: Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
D4	17,625	A
D3	5,438	B
D2	0,000	C
D1	0,000	C
T1	0,000	C

g-Analyse de la variance d'Artémisia judaica

Tableau 59: Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	6	1768,142	294,690	6,861	< 0,0001
Résidus	72	3092,617	42,953		
Total	78	4860,759			

Tableau 60 : Tests de comparaisons multiples pour la variable T1 :

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
D4 ~ T1	20,000	231,759	2,798	< 0,0001	Oui
D4 ~ D1	0,000	0,000	2,630	1,000	Non
D4 ~ D2	0,000	0,000			Non
D4 ~ D3	0,000	0,000			Non
D3 ~ T1	20,000	9,911	2,630	< 0,0001	Oui
D3 ~ D1	0,000	0,000	2,393	1,000	Non
D3 ~ D2	0,000	0,000			Non
D2 ~ T1	20,000	9,911	2,393	< 0,0001	Oui
D2 ~ D1	0,000	0,000			Non
D1 ~ T1	20,000	9,911	1,993	< 0,0001	Oui

Tableau 61: Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
D4	20,000	A
D3	20,000	A
D2	20,000	A
D1	20,000	A
T1	0,000	B

Tableau62 : Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ( $H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$ ) :

Source	Ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	5741,488	820,213	41,624	< 0,0001
Résidus	47	926,148	19,705		
Total	54	6667,636			

### 3-Analyse de la variance pour le facteur mode de pénétration ( contact\*fumigation)

Tableau63 : Paramètres du modèle :

Paramètre	Valeur	Ecart-type	t de Student	Pr > t	Borne inférieure 95 %	Borne supérieure 95 %
Constante	25,188	1,812	13,899	< 0,0001	21,542	28,833
Inhalation-Inhalation	0,000	-	-	-	-	-
Inhalation-Contact	-18,578	1,199	-15,499	< 0,0001	-20,990	-16,167
EL GOLEA-EL GOLEA	0,000	-	-	-	-	-
EL GOLEA-TAMANRASSET	9,102	2,299	3,959	0,000	4,477	13,727
EL GOLEA-BECHAR	0,352	2,299	0,153	0,879	-4,273	4,977
EL GOLEA-Djanet	8,102	2,299	3,524	0,001	3,477	12,727
EL GOLEA-Oergla	5,977	2,299	2,600	0,012	1,352	10,602
EL GOLEA-Ghardaia	-0,148	2,299	-0,065	0,949	-4,773	4,477
EL GOLEA-Artemisia	9,102	2,299	3,959	0,000	4,477	13,727

Tableau 64: Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
Artemisia	25,000	A
TAMANRASSET	25,000	A
Djanet	24,000	A
Oergla	21,875	A
BECHAR	16,250	B
Ghardaia	15,750	B
EL GOLEA	14,571	B

Tableau 65: Test de Kruskal-Wallis :

Remarque : le H de Kruskal-Wallis a été calculé en tenant compte des ex æquo

H (valeur observée)	373,663
H (valeur critique)	3,841
Ddl	1
p-value unilatérale	< 0,0001
Alpha	0,05

Le H de Kruskal-Wallis est distribué comme un  $Khi^2$

Conclusion :

Au seuil de signification Alpha=0,050 on peut rejeter l'hypothèse nulle d'absence de différence entre les 2 échantillons. Autrement dit, la différence entre les échantillons est significative.

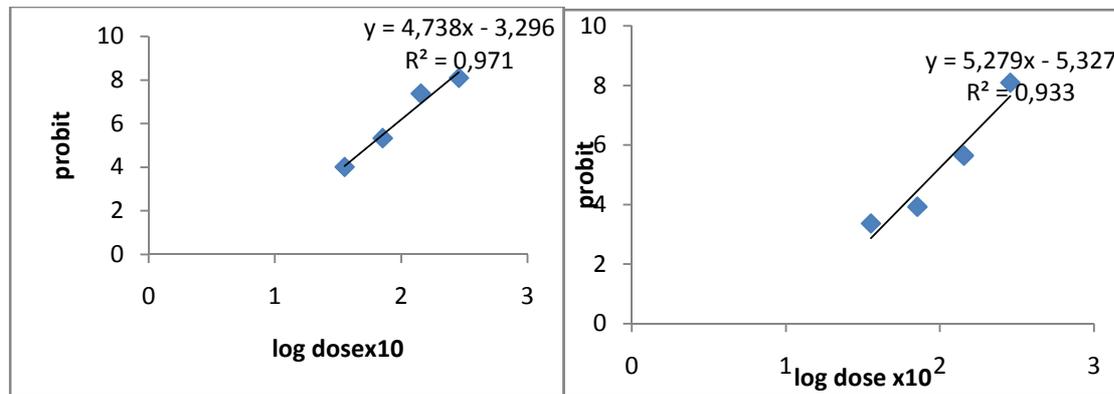
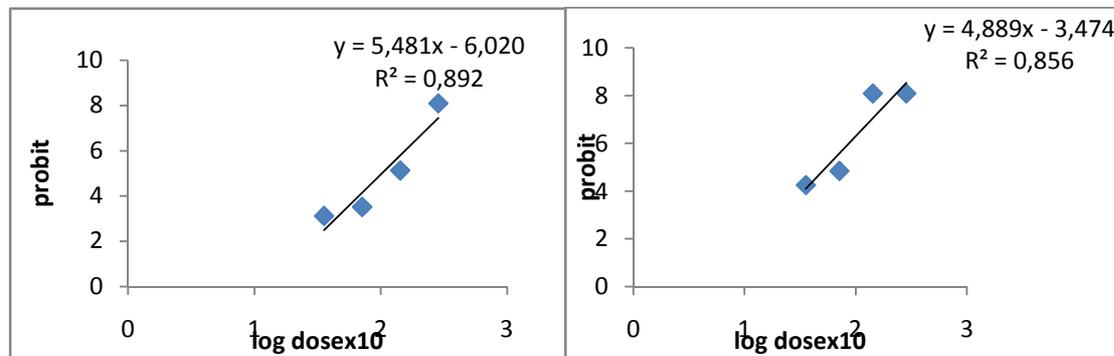
**4--Analyse de la variance activité antioxydante :**

**Analyse de la variance ABTS\***

**Tableau 66 : Analyse de la variance**

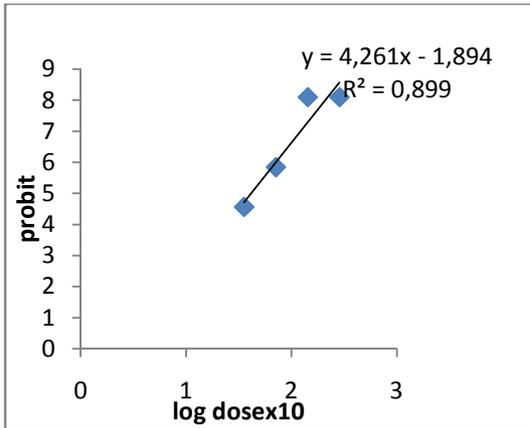
Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr >
Modèle	6	55,323	27,661	16,316	0,000
Erreur	51	86,463	1,695		
Total corrigé	53	141,785			

**6-Figures de régression de mortalités doses par effet fumigation des huiles essentielles testées sur *C.maculatus* :**

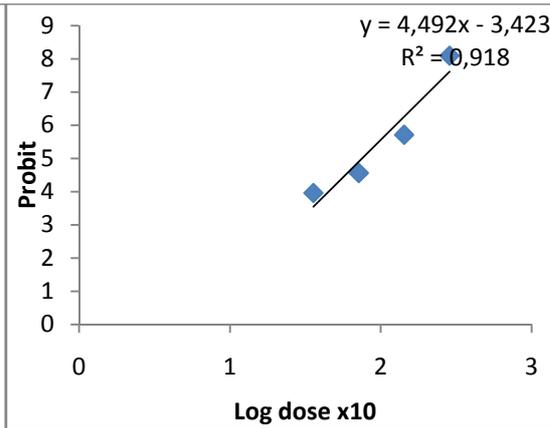


c)C.Djanet

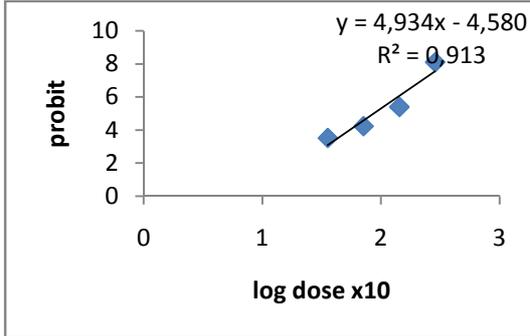
d) C.Ghardaia



e) C. Tamanrasset

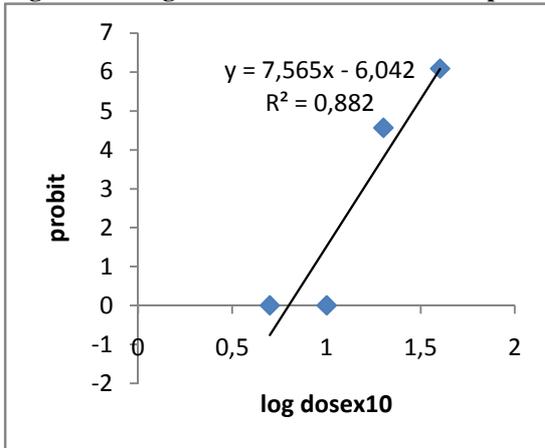


f) C. El-Goléa

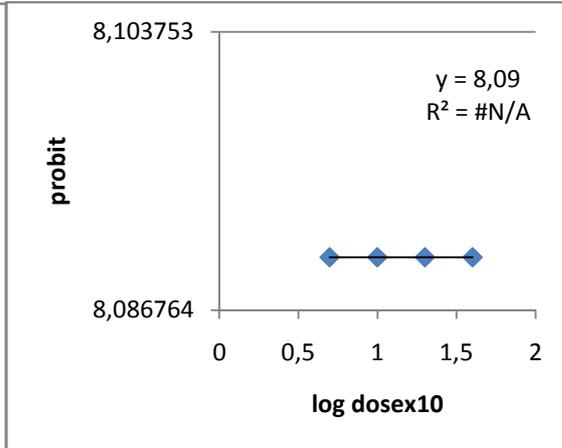


g) C. Béchar

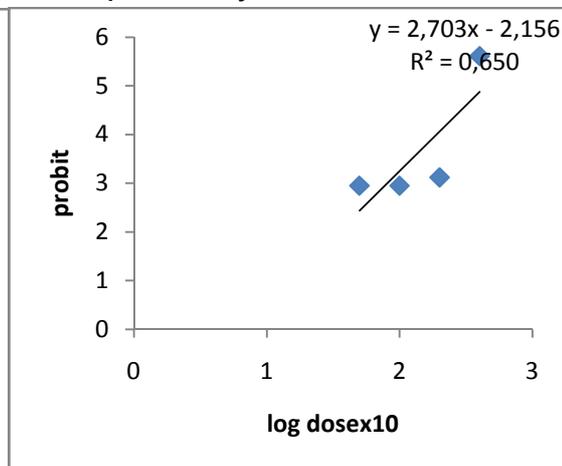
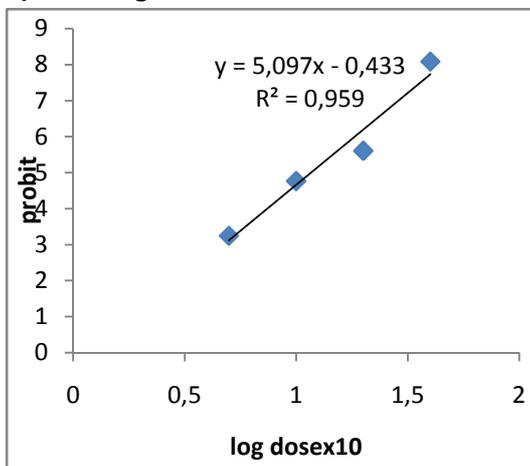
Figures de régression de mortalités doses par effet contact des huiles essentielles testées sur *C. maculatus* :



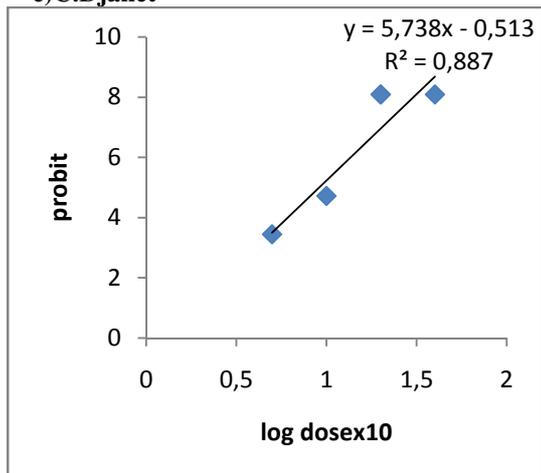
a) C. Ouargla



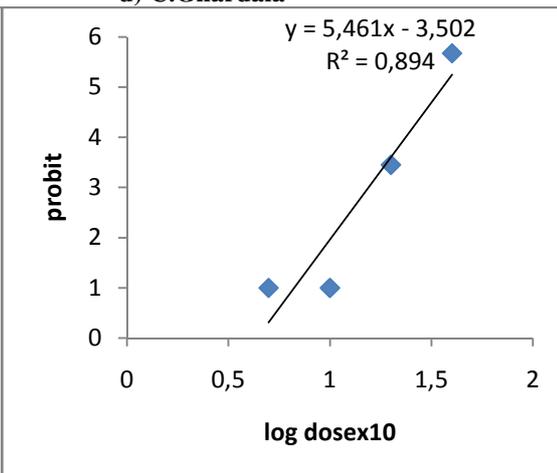
b) *Artémisia judaica*



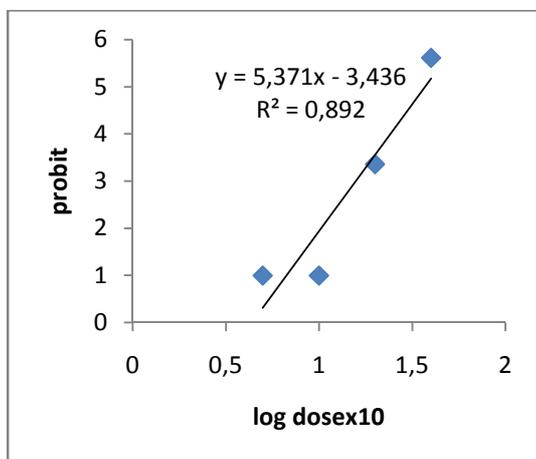
c) C.Djanet



d) C.Ghardaia



e) C.Tamanrasset



f) C.El-Goléa

g) C.Béchar

## Résumé

Les huiles essentielles de six échantillons de *Cymbopogon schoenanthus* (L.) recueillies auprès du Sahara algérien ont été analysées pour leurs compositions chimiques et testées pour leurs activités insecticides, antioxydantes et antimicrobiennes. Les huiles essentielles ont été analysées par GC et GC-MS. L'activité insecticide contre *Callosobruchus maculatus* F. a été évaluée en utilisant l'application de contact direct et la méthode de fumigation. Les huiles des régions Hoggar et Taasili Najer ont été caractérisées par pipéritone comme composant principal, tandis que les échantillons de toutes les autres régions du Sahara ont été dominées par 2-carène (de 13,4 à 20,4%), le limonène (0- 13%), cis-p-Menth-2-en-1-ol (12.1- 15,1%), trans-p-Menth-2-en-1-ol (6.7 à 9.2%), cis-pipéritol (3.3- 6,9%), trans-pipéritol (05.04 à 07.07), élémol (4.9 à 9.9%) et  $\alpha$ -eudesmol (6.2- 7.7%). Les huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* présentent des propriétés insecticides, elles exercent un effet sur le potentiel de ponte et sur l'émergence des adultes.

Les résultats de l'activité antioxydante montrent que les différents échantillons d'huiles essentielles ont manifesté une très faible capacité inhibitrice du radical DPPH<sup>•</sup> par rapport à l'antioxydant de synthèse (BHT) même pour des concentrations très élevées (1500 et 2000 mg/L).

Les résultats obtenus avec les extraits montrent une activité importante de piégeage du radical DPPH à partir de la concentration de 50 mg/L. Par ailleurs l'échantillon de Tamanrasset, le plus riche en polyphénols a fourni des capacités inhibitrices du DPPH équivalentes ou supérieures à celles de l'antioxydant de synthèse (BHT) pour les concentrations de 50, 100 et mg/L.

Quant à l'activité antimicrobienne, toutes les huiles essentielles testées présentent une activité modérément inhibitrice sur les bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*) à l'exception de *Pseudomonas aerogenosa*, quant aux levures (*Candida albicans* et *saccharomyces cerevisiae*), elles manifestent une sensibilité considérable à toutes les huiles testées.

Enfin, les résultats obtenus montrent aussi que les activités antimicrobienne et antioxydante sont liées à la composition chimique.

Mots clés: *Cymbopogon schoenanthus*, *Callosobruchus maculatus*, huile essentielle, activité insecticide, composition chimique, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

### Abstract

The essential oil from Hoggar and Tassili Najer regions were characterized by a high proportion of piperitone (55.1-63.2%) as the main prominent component, while samples from all the other Sahara regions were determined by 2-carene (13.4-20.4%), limonene (0-13%), cis-p-Menth-2-en-1-ol (12.1-15.1%), trans-p-Menth-2-1-ol(6.7-9.2%), cis-piperitol (3.3-6.9%), trans-piperitol(5.4-7.7), elemol(4.9-9.9%) and  $\beta$ -Eudesmol(6.2-7.7).The essential oils also have insecticidal activity by fumigation.

The essential oils of six samples of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) collected from the wide Algerian Sahara were analyzed for their chemical compositions and tested for their insecticidal activities. The essential oils were analyzed by GC and GC-MS.. The oils from the Hoggar and Taasili Najer regions were characterized by piperitone (55.1- 63.2%) as the main prominent component, while samples from all the other Sahara regions were dominated by 2-carene (13.4 - 20.4%), limonene (0- 13%), cis-p-Menth-2-en-1-ol (12.1- 15.1%), trans-p-Menth-2-en-1-ol (6.7-9.2%), cis-piperitol (3.3-6.9%), trans-piperitol (5.4-7.7), elemol (4.9 - 9.9%) and  $\beta$ -Eudesmol (6.2- 7.7%). The essential oils from *Cymbopogon scheonanthus*, have insecticidal properties , exert a lethal effect on adults and also exhibit inhibition of reproduction: decrease fertility.

The Different samples of essential oil have demonstrated a very weak inhibitory capacity radical DPPH• radical ABTS compared to the synthetic antioxidant (BHT) and trolox respectively. As for the antimicrobial activity, all essential oils tested have a moderately inhibitory activity on bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*) with the exception of *Pseudomonas aeruginosa*, for yeast (*Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*), they show a considerable sensitivity to all oils tested.

The results show that antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of oils and extracts are dependent to their chemical composition.

**Key words:** *Cymbopogon schoenanthus*, *callosobruchus maculatus*, essential oil, insecticidal activity, chemical composition, antimicrobial activity, antioxidant activity.

من اجل المساهمة في تثمين النباتات المحلية ذات الأهمية البالغة:منابتحليل الزيوت الأساسية منست عينات (*Cymbopogon schoenathus* (L.) تم جمعها من الصحراء الجزائرية, كل من تامنغست، جانت، منيعة، ورقلة، غرداية،و بشار. قمنا من جهة، استخلاص الزيوت الأساسية عن طريق بخار الماء تم التحليل لهذه الزيوت المنتجة عن طريق الكروماتوغرافية الغازية CPG/SM, CPG للتعرف على مكونات الزيوت لهاتهاالنباتات ومن جهة أخرى، خصت دراستنا على تحديد مدى سمية هذه الزيوت الأساسية على حشرة *callosobruchus maculatus*. كما تم كذلك دراسة كل من النشاط المضاد للاكسدة والنشاط المضاد للمكروبات كانت النتائج كما يلي:

- تبين ان الزيوت من المناطق الهقار و Taasili Najer غنية ب (55.1-63.2%) piperitone باعتبارها العنصر الرئيسي، في حين جميع المناطقأخرى من الصحراء غنية (0-13%) limonene (13.4-20.4%), 2-carene (12.1-15.1%), cis-p-Menth-2-en-1-ol (6.7-9.2%), cis-piperitol (3.3-6.9%), trans-piperitol(5.4-7.7), elemol(4.9-9.9%) and  $\beta$ -Eudesmol(6.2-7.7)
- حيث أظهرت النتائج المتحصل عليها ان جميع المستخلصات الميثانولية لها قدرة عالية على استرجاع الجذور الحرة عكس الزيوت الأساسية. كما برهنت النتائج على فعالية الزيوت الطيارة ضد المكروبات والحشرات المستعملة في هذه الدراسة .