

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Université Chadli Bendjedid
El-Tarf



جامعة الشاذلي بن جديد
UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشاذلي بن جديد
الطارف

Faculté des Sciences de la Nature et
de la Vie

Département de Biologie

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

THESE

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de
Doctorat es Sciences

THÈME

**Contribution à l'étude de quelques activités
biologiques des plantes aromatiques et
médicinales de la région d'El-Tarf**

Présentée par : M^{me} REKIOUA Naouel

Devant le jury composé des membres suivants :

Pr. NASRI Hichem	Pr	Président	Université Chadli Bendjedid - El-Tarf
Dr. BOUBSIL Soumaya	MCA	Examinatrice	Université Mohamed Cherif Messadia - Souk Ahras
Dr. DJEKOUN Meriam	MCA	Examinatrice	Université Badji Mokhtar - Annaba
Dr. DELIMI Amel	MCA	Examinatrice	Université Chadli Bendjedid - El-Tarf
Dr. FEKNOUS Nesrine	MCA	Examinatrice	Université Chadli Bendjedid - El-Tarf
Pr. TAIBI Faiza	Pr	Encadrante	Université Badji Mokhtar - Annaba
Pr. BOUMENDJEL Mahieddine	Pr	Co-encadrant	Université Badji Mokhtar - Annaba

Année universitaire 2022-2023

DEDICACES

Je dédie ce travail à ...

*A la mémoire de mes grands parents (paternels et maternels) et à ma belle mère. Toutes mes pensées sont tournées vers vous : **Twahachtkoum!***

A mes chers parents

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis pour mon éducation et mon bien être.
Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ne cessent de me combler. Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

A mon époux

Merci pour tout le soutien, les encouragements et surtout pour l'immense patience.

*A ma petite princesse **Lydia***

A toute la famille Rekioua et Boucetta

A toutes les amies

Avec lesquelles j'ai passé des moments inoubliables et en particulier : Nacira, Samra, Sarra, Meryouma, Amina, Loulou, Sofia, Nadia, Zahia, Hamia, Aychoucha, Laylouma et Imen.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible, je vous dis merci.

Naouel

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier **ALLAH**, le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il ma a donné durant toutes ces années d'études.

Mes remerciements vont particulièrement à:

M^{me} BOUMENDJEL-TAIBI Faiza, Professeur à l'Université Badji Mokhtar (Annaba). Ce fut un honneur de m'initier avec elle à la recherche et de partager ses brillantes intuitions tout au long de ces années de thèse. Je ne pourrais jamais la remercier assez pour ses précieuses aides, disponibilité permanente et son encadrement exceptionnel. Sans elle, ce travail n'aurait jamais vu le jour. Recevez Professeur, mes sincères remerciements.

M^r BOUMENDJEL Mahieddine, Professeur à l'Université Badji Mokhtar (Annaba) d'avoir co-encadré ce travail qui été le fruit d'une collaboration pleine de nombreux encouragements et fructueux conseils qui m'ont prodigués le chemin de la recherche. Je reste reconnaissante pour ses minutieuses relectures et corrections. Qu'il trouve ici mes plus profonds respects.

M^r NASRI Hichem, Professeur à l'Université Chadli Bendjedid (El-Tarf), Doyen de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, d'avoir accepté la présidence de ce jury malgré ses occupations administrative à la tête de la faculté.

Aux membres du jury : **M^{me} BOUBSIL Soumaya**, Maître de conférences à l'Université Cherif Messaadia (Souk Ahras), **M^{me} DJEKOUN Meriam**, Maître de conférences à l'Université Badji Mokhtar (Annaba) et **M^{me} FEKNOUS Nesrine**, Maître de conférences à l'Université Chadli Bendjedid (El-Tarf) et **M^{me} DELIMI Amel**, Maître de conférences à l'Université Chadli Bendjedid (El-Tarf) d'avoir acceptés d'examiner ce modeste travail. Veuillez trouvez ici, l'expression de mes gratitude et de ma grande estime.

A toute l'équipe des laboratoires à l'université d'El-Tarf, je vous adresse l'expression de ma gratitude. Soyez rassurés de mon profond respect et de ma vive reconnaissance pour m'avoir fait bénéficier de vos expériences et de vos rigueurs scientifiques et professionnelles.

Mes vifs remerciements au **P^r MADIOUNI BEN JEMAA Jouda**, **D^r BENALIOUCHE Fouzia** et **P^r DJAHOUDI Abd Elghani**, pour leurs collaborations et leurs soutiens inconditionnels.

Mille Merci....

من أجل إعادة ترميم الإرث المحلي لمنطقة نوميديا الشرقية، تم إجراء استبيان بين سكان ولاية الطارف (شمال شرق الجزائر)، حول مدى استخدام نباتين معروفين في الطب التقليدي (*Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) و (*Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). بعد دراسة البيانات، كشف الإستطلاع عن هيمنة أنثوية للفئة العمرية (40 إلى 60 سنة) في التداول بهذه النباتات. هذه الأخيرة يتم التطبيب بها من قبل السكان في حالتها الطازجة ويفضلون الورقة كالجاء الأكثر استخدامًا للاحتياجات العلاجية والتجميلية. بالإضافة إلى ذلك، تظل حمامات البخار و منقوع النباتات أكثر طرق التحضير شيوعًا. غالبية المستجوبين يستخدمون هذه النباتات لعلاج الأنفلونزا واضطرابات الجهاز التنفسي وأمراض الجهاز الهضمي. يظهر التحليل GC-MS للزيوت الأساسية المستخرجة من النباتات المدروسة تواجد الكحول الممثلة بـ *monoterpéniques* (42.73%)، *sesquiterpènes* (32.6%) و *oxydes* (10.48%) بالنسبة لـ *E. globulus*. كما تظهر النتائج نسبة عالية من *oxydes* (38.11%) و *Alcools monoterpéniques* (20.43%) و *monoterpènes* (19.70%) في ما يخص *Rosmarinus officinalis*. دراسة النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية. أسفر عن وجود خاصية التثبيط للعديد من بكتيريا ال جرام + (*Staphylococcus aureus*)، الجرام - (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*، *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) والخميرة (*Sacchromyces cerevisiae*). بالنسبة للنشاط المضاد للفطريات، فهناك تأثير فطري مثبط لنمو اثنين من فطريات المحاصيل الزراعية *Fusarium solani* و *Fusarium tricinctum*. كما تم إجراء ثلاث اختبارات لتحديد سمية الزيوت الأساسية المدروسة ضد الحشرة *Ephestia kuehniella* التي تتغذى على المواد الغذائية المخزونة. قدرت وفيات البالغين لهذه الحشرة في نتائج اختبار التلامس لنبتة *Eucalyptus globulus* بـ ($CL_{50}=0,013$; $CL_{95}=0,081\mu l/cm^2$) أما *Rosmarinus officinalis* فقدرت بـ ($CL_{50}= 0,011$; $CL_{95}= 0,059\mu l/cm^2$). يختلف الوقت المميت باختلاف الجرعة المستخدمة والنبات الذي تم اختياره. إذ يؤكد اختبار السمية بالاستنشاق عن تناقص طول عمر البالغين من الحشرة *Ephestia kuehniella* مع *Rosmarinus officinalis* ($DL_{50}=4,03\mu l/d'air$; $DL_{95}=14,73\mu l/d'air$) و *Eucalyptus globulus* ($DL_{50}=7,76\mu l/d'air$; $DL_{95}= 21,23\mu l/d'air$). الإختبار الأخير للنباتات المدروسة يُظهر تأثيرًا طاردًا للحشرات بالنسبة للزيوت الأساسية *Eucalyptus globulus* و *R. officinale*، على التوالي، تنافرًا معتدلاً بنسبة **42.22%** ($DR_{50}=0,09$) ($DR_{95}= 0,24\mu l/cm^2$; $DR_{50}= 0,06\%$) ($DR_{50}= 0,06\%$) ميكرو لتر / سم 2 ؛ $DR_{95} = 0,35$ ميكرو لتر / سم 2) ضد البالغين من حشرة المواد الغذائية المخزنة *Ephestia kuehniella*. تشكل الموارد النباتية خزائنًا حقيقيًا للجزيئات النشطة بيولوجيًا التي يمكن أن تعمل كمبيدات حيوية وبالتالي تكافح العديد من مسببات الأمراض الدقيقة (البكتيريا والخمائر والفطريات) أو الحشرات المهدة المحاصيل. هذه الخاصية تجعلها مفيدة في الحفاظ على صحة الإنسان وحماية البيئة.

الكلمات المفتاحية: *Rosmarinus officinalis*، *Eucalyptus globulus*، إستبيان نباتي، زيت عطري، أنشطة مضادة للميكروبات، اختبارات السمية، *Ephestia kuehniella*.

Abstract

In order to revalorize the local heritage of the Eastern Numidia region, an ethnobotanical survey was carried out among a population of the department of El-Tarf (North-East Algeria), on the frequency of use of two plants known in traditional medicine: *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) and *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). After processing the data, our results reveal that the use of these plants is predominantly by women in a fairly advanced age group (40 to 60 years). These plants are used by the inhabitants in their fresh state, who consider the leaf to be the most effective part for therapeutic and cosmetic purposes. In addition, steam baths and infusion remain the most common methods of preparation. The majority of users use these plants mainly to treat: influenza, respiratory disorders and diseases of the digestive tract. Gas chromatography coupled with mass spectroscopy of essential oils extracted from the studied plants shows the dominance of alcohols represented by monoterpenes (42.73%), sesquiterpenes (32.6%) and oxides (10.48%) in *Eucalyptus globulus*. The data also show the richness of oxides (38.11%), monoterpene alcohols (20.43%) and monoterpenes (19.70%) in *Rosmarinus officinalis*. An antimicrobial effect of both extracted essential oils was revealed. The aromatogram shows a bacteriostatic effect on several Gram⁻ bacteria such as: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. A bacteriostatic effect is also observed on Gram⁺: *Staphylococcus aureus* and yeasts: *Sacchchromyces cerevisiae*. A fungistatic effect and a growth inhibition of two culture fungi *Fusarium tricinctum* and *Fusarium solani* was noted. Three toxicological tests were performed against a stored food pest: *Ephestia kuehniella*. The results of the contact test were estimated with *Eucalyptus globulus* (LC₅₀=0.013; LC₉₅=0.081µl/cm²) and *Rosmarinus officinalis* (LC₅₀= 0.011; LC₉₅= 0.059 µl/cm²). The lethal time changes depending on the dose used and the plant tested. The fumigation test confirms the toxicity by decreasing the longevity of *Ephestia kuehniella* adults with *Rosmarinus officinalis* (LD₅₀=4.03 µl/l of air; LD₉₅=14.73 µl/l of air) and *Eucalyptus globulus* (LD₅₀=7.76 µl/l of air; LD₉₅= 21.23 µl/l of air). The plants tested also show a remarkable repellent effect, since the essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* show a moderately repellent power with respectively 42.22% (DR₅₀=0.09 µl/cm² ; DR₉₅= 0.24 µl/ cm²) and a repellent power with respectively 60.00% (DR₅₀=0.06 µl/cm² ; DR₉₅= 0.35 µl/ cm²) towards the adults of *Ephestia kuehniella*. Plant resources constitute a real reservoir of bioactive molecules that could act as bio-pesticides against several micro-pathogens (bacteria, yeasts and fungi) or crop pests. This property makes them useful for preserving human health and protecting the environment.

Keywords: *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis*, ethnobotanical investigation, essential oil, antimicrobial activities, toxicological tests, *Ephestia kuehniella*.

Résumé

Pour une revalorisation du patrimoine local de la région de la Numidie Orientale, une enquête ethnobotanique a été menée auprès d'une population de la wilaya d'El-Tarf (Nord-est algérien), sur la fréquence d'usage de deux plantes connues en médecine traditionnelle : *Eucalyptus globulus* (Myrtacées) et *Rosmarinus officinalis* (Lamiacées). Après traitement des données, nos résultats révèlent une dominance féminine de l'usage de ces plantes chez une tranche d'âge assez avancée (40 à 60 ans). Ces plantes sont utilisées par les habitants à l'état frais qui considèrent la feuille comme la partie la plus efficace à des fins thérapeutiques et cosmétiques. De plus, les bains de vapeurs et l'infusion restent les modes de préparation les plus répandus. La majorité des usagés utilisent ces plantes pour soigner principalement : la grippe, les troubles respiratoires ainsi que les maladies du tube digestif. La chromatographie en phase gazeuse couplées à la spectroscopie de masse des huiles essentielles extraites à partir des plantes étudiées montre la dominance des alcools représentés par les monoterpéniques (42,73 %), sesquiterpènes (32,6 %) et oxydes (10,48 %) chez *Eucalyptus globulus*. Les données montrent aussi la richesse en oxydes (38,11 %), alcools monoterpéniques (20,43 %) et monoterpènes (19,70 %) chez *Rosmarinus officinalis*. Un effet antimicrobien des deux huiles essentielles extraites a été révélé. L'aromatogramme montre un effet bactériostatique sur plusieurs bactéries Gram⁻ telles que : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*. Un effet bactériostatique est également observé sur les Gram⁺ : *Staphylococcus aureus* et les levures : *Saccharomyces cerevisiae*. Un effet fongistatique et une inhibition de croissance de deux champignons de culture *Fusarium tricinctum* et *Fusarium solani* a été noté. Trois tests toxicologiques ont été réalisés contre un ravageur des denrées stockées : *Ephestia kuehniella*. Les résultats du test par contact ont été estimés avec *Eucalyptus globulus* (CL₅₀=0,013; CL₉₅=0,081 μl/cm²) et *Rosmarinus officinalis* (CL₅₀=0,011; CL₉₅=0,059 μl/cm²). Le temps léthal change en fonction de la dose utilisée et la plante testée. Le test par fumigation nous affirme la toxicité par la diminution de la longévité des adultes d'*Ephestia kuehniella* avec *Rosmarinus officinalis* (DL₅₀=4,03 μl/l d'air; DL₉₅=14,73 μl/l d'air) et *Eucalyptus globulus* (DL₅₀=7,76 μl/l d'air ; DL₉₅= 21,23 μl/l d'air). Les plantes testées montrent, en plus, un effet répulsif remarquable, puisque les huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis* manifestent un pouvoir modérément répulsif avec respectivement 42,22% (DR₅₀=0,09 μl/cm²; DR₉₅=0,24 μl/cm²) et un pouvoir répulsif avec respectivement 60,00% (DR₅₀=0,06 μl/cm²; DR₉₅=0,35 μl/cm²) à l'égard des adultes d'*Ephestia kuehniella*. Les ressources végétales constituent un véritable réservoir de molécules bioactives qui pourraient agir comme biopesticides luttant ainsi contre plusieurs micro-pathogènes (bactéries, levures et champignons) ou ravageurs de culture. Cette propriété les rend utiles pour préserver la santé humaine et protéger l'environnement.

Keywords: *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis*, enquête ethnobotanique, huile essentielle, activités antimicrobienne, tests toxicologiques, *Ephestia kuehniella*.

Liste des figures

FIGURE 1. ANCIENNE CARTE DU XIX ^{EME} SIECLE D'HEINRICH KIEPERT DELIMITANT LA NUMIDIE ORIENTALE ET LA NUMIDIE OCCIDENTALE	6
FIGURE 2. PRESENTATION GENERALE DE LA NUMIDIE ORIENTALE	7
FIGURE 3. CARTE REPRESENTANT LES POINTS CHAUDS DE LA BIODIVERSITE A TRAVERS LE MONDE	7
FIGURE 4. FIGURE REPRESENTANT LE ZONAGE DU P.N.E.K. (BOUMENDJEL, 2012)	8
FIGURE 5. CARTE DES FORMATIONS VEGETALES DU PARC NATIONAL D'EL-KALA	9
FIGURE 6. CARTE ECOTOURISTIQUE MURALE DE LA REGION D'ANNABA ET D'EL-TARF (BOUMENDJEL, 2012)	10
FIGURE 7. CARTE CLIMATOLOGIQUE DE LA WILAYA D'EL-TARF.....	11
FIGURE 8. RESEAU HYDROGRAPHIQUE DE LA WILAYA D'EL-TARF (ANONYME, 2010).....	12
FIGURE 9. CARTE D'OCCUPATION DES TERRES DE LA WILAYA D'EL-TARF (ANONYME, 2008).....	13
FIGURE 10. TIGES ET FEUILLES D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> DANS SON HABITAT	15
FIGURE 11. TIGES ET FEUILLES DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> . A: TIGES, FEUILLES – B: FLEURES – C: GRAINES.....	17
FIGURE 12. SITUATION GEOGRAPHIQUE DE SITES DE RECOLTE DE PLANTES : BOUGOUS ET RAMEL SOUK	20
FIGURE 13. SECHAGE (A : <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> - B : <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>) ET CONSERVATION (C)	21
FIGURE 14. EXEMPLES DU QUESTIONNAIRE D'ENQUETE UTILISE	23
FIGURE 15. DESCRIPTEURS DEMOGRAPHIQUES DU CORPUS QUESTIONNE	24
FIGURE 16. POURCENTAGE DES UTILISATEURS SELON LES PARTIES UTILISEES DES PLANTES D'ETUDE	25
FIGURE 17. POURCENTAGE DES UTILISATEURS SELON L'ETAT DE LA PLANTE	26
FIGURE 18. POURCENTAGE DE LA FAÇON DE PREPARATION DES PLANTES SELON LES UTILISATEURS.....	27
FIGURE 19. POURCENTAGE DE LA FAÇON DE CONSOMMATION DES PLANTES PAR LES UTILISATEURS	28
FIGURE 20. POURCENTAGE DU MODE D'ADMINISTRATION SELON LES UTILISATEURS	29
FIGURE 21. POURCENTAGE DES MALADIES TRAITEES PAR LES ESPECES ETUDIEES SELON LES UTILISATEURS	30
FIGURE 22. POURCENTAGE D'INTERDICTIONS DE CONSOMMATION DES ESPECES ETUDIEES	31
FIGURE 23. POURCENTAGE DES UTILISATEURS SELON LEUR SOURCE D'INFORMATION.....	32
FIGURE 24. FEUILLES FRAICHES POUR LES COUPES HISTOLOGIQUES (A : <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> – B : <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>)	40
FIGURE 25. BROYAGE LEGER DES FEUILLES DE PLANTES D'ETUDE.....	41
FIGURE 26. DISPOSITIF DE LA SPECTROMETRIE DE MASSE EN COUPLAGE AVEC LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE	42
FIGURE 27. LIBRAIRIE NIST UTILISEE	43
FIGURE 28. COUPE TRANSVERSALE DE LA FEUILLE D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> OBSERVE EN MICROSCOPE OPTIQUE × 4.....	44
FIGURE 29. COUPE TRANSVERSALE DE LA FEUILLE D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> OBSERVE EN MICROSCOPE OPTIQUE × 10.....	45
FIGURE 30. COUPE TRANSVERSALE DE LA FEUILLE DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> OBSERVE EN MICROSCOPE OPTIQUE × 10	45
FIGURE 31. STRUCTURES SUPERFICIELLES DE LA FEUILLE DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> OBSERVE EN MICROSCOPE OPTIQUE × 40	46
FIGURE 32. HUILES ESSENTIELLES (A) : <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> – (B) : <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> ET LEUR CONSERVATION (C)	46
FIGURE 33. RENDEMENTS EN HE D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	47
FIGURE 34. PROFILE CHROMATOGRAPHIQUE <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i>	48
FIGURE 35. CORRESPONDANCE DU PROFIL CHROMATOGRAPHIQUE <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i>	49
FIGURE 36. PROFILE CHROMATOGRAPHIQUE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	50
FIGURE 37. CORRESPONDANCE DU PROFIL CHROMATOGRAPHIQUE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	51
FIGURE 38. FAMILLES CHIMIQUES RELATIVES DES HES DES DEUX ESPECES ETUDIEES	52
FIGURE 39. SOUCHE REPIQUEE ET SUSPENSIONS BACTERIENNES	60
FIGURE 40. ETAPES DE L'ENSEMENCEMENT.....	61
FIGURE 41. APPLICATION DES DISQUES	61
FIGURE 42. LECTURE DES RESULTATS A L'AIDE DU PIED A COULISSE	61
FIGURE 43. METHODE DE CONTACT DIRECT	64

FIGURE 44. CROISSANCE MYCELIENNE DU <i>FUSARIUM SOLANI</i> EXPOSE AUX CONCENTRATIONS CROISSANTES DE L' HUILE ESSENTIELLE D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	68
FIGURE 45. CROISSANCE MYCELIENNE DU <i>FUSARIUM TRICINCTUM</i> EXPOSE AUX CONCENTRATIONS CROISSANTES DE L' HUILE ESSENTIELLE D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	69
FIGURE 46. EFFET FONGISTATIQUE DES HES D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	70
FIGURE 47. <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i> OU LA PYRALE DE LA FARINE	79
FIGURE 48. LES CŒUFS DEPOSES PAR UNE FEMELLE D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i>	80
FIGURE 49. DIMORPHISME SEXUEL DES LARVES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i>	80
FIGURE 50. CHRYSALIDE D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i>	81
FIGURE 51. CYCLE BIOLOGIQUE D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i>	81
FIGURE 52. MODE D' ELEVAGE D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i> AU LABORATOIRE	82
FIGURE 53. TEST SUR LES ADULTES D' <i>E. KUEHNIELLA</i> PAR FUMIGATION DES HUILES ESSENTIELLES.....	83
FIGURE 54. PROTOCOL DU TEST REPULSIF APPLIQUE SUR LES ADULTES D' <i>E. KUEHNIELLA</i> PAR LES DEUX HUILES ESSENTIELLES	84
FIGURE 55. TAUX DE MORTALITE (%) DES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i> A 48H ET A 72 H D' EXPOSITION PAR CONTACT AUX HUILES ESSENTIELLES D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	86
FIGURE 56. PROGRESSION DE LA MORTALITE (%) DES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i> APRES INHALATION DES DIFFERENTES DOSES D' HUILES ESSENTIELLES D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	89
FIGURE 57. POUVOIR REPULSIF DE L' HUILE ESSENTIELLE D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> SUR LES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i> APRES 24 HEURES D' EXPOSITION	90
FIGURE 58. EFFET REPULSIF DES HUILES ESSENTIELLES D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> (A GAUCHE) ET DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> (A DROITE) SUR LES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i>	91

Liste des tableaux

TABLEAU I. LES NOMS VERNACULAIRES <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i>	14
TABLEAU II. POSITION SYSTEMATIQUE D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i>	14
TABLEAU III. NOMS VERNACULAIRES DU <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	17
TABLEAU IV. POSITION SYSTEMATIQUE DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	19
TABLEAU V. REPARTITION DES ENQUETES ETHNOBOTANIQUES	24
TABLEAU VI. GENRE DE LA POPULATION QUESTIONNEE.....	24
Tableau VII. Fréquences des tranches d'âges de la population questionnée.....	24
Tableau VIII. Les parties utilisées de plantes selon la population questionnées.....	24
Tableau IX. Pourcentage des utilisateurs selon l'état de la plante.....	26
Tableau X. Pourcentage de la façon de préparation des plantes selon les utilisateurs.....	27
TABLEAU XI. POURCENTAGE DE LA FAÇON DE CONSOMMATION DES PLANTES SELON DES UTILISATEURS	28
TABLEAU XII. POURCENTAGE DU MODE D'ADMINISTRATION SELON LES UTILISATEURS.....	29
TABLEAU XIII. POURCENTAGE DES MALADIES TRAITEES PAR LES ESPECES ETUDIEES SELON LES UTILISATEURS	30
TABLEAU XIV. POURCENTAGE D'INTERDICTIONS DE CONSOMMATION LES ESPECES ETUDIEES.....	31
Tableau XV. Pourcentages de la population interrogée selon leur source d'information.....	32
TABLEAU XVI. PRESENTATION DES RENDEMENTS DE DEUX PLANTES	46
TABLEAU XVII. COMPOSITION CHIMIQUE RELATIVE DE L'HE D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i>	47
TABLEAU XVIII. COMPOSITION CHIMIQUE RELATIVE DE L'HE DU <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	50
TABLEAU XIX. PRESENTATION DES SOUCHES MICROBIENNES TESTEES	59
TABLEAU XX. CATEGORIES DE SENSIBILITE DES BACTERIES A L'HE.....	62
TABLEAU XXI. PRESENTATION DU MATERIEL FONGIQUE TESTE.....	63
TABLEAU XXII. SENSIBILITE BACTERIENNE VIS-A-VIS DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS DES DEUX HUILES ESSENTIELLES ETUDIEES	65
TABLEAU XXIII. DIAMETRES DES ZONES D'INHIBITIONS EN MM (MOYENNE \pm SE), LA CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE ET LE TYPE D'ACTIVITE DE L'HUILE ESSENTIELLE D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i>	66
TABLEAU XXIV. DIAMETRES DES ZONES D'INHIBITIONS EN MM (MOYENNE \pm SE), LA CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE ET LE TYPE D'ACTIVITE DE L'HUILE ESSENTIELLE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	67
TABLEAU XXV. POURCENTAGE D'INHIBITION DE LA CROISSANCE MYCELIENNE (MGI %) <i>IN-VITRO</i> DU <i>FUSARIUM SOLANI</i> (MOYENNE \pm SE)	68
TABLEAU XXVI. POURCENTAGE D'INHIBITION DE LA CROISSANCE MYCELIENNE (MGI %) <i>IN-VITRO</i> DU <i>FUSARIUM TRICINCTUM</i> (MOYENNE \pm SE).....	68
TABLEAU XXVII. CLASSEMENT ET NATURE DES HES D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	70
TABLEAU XXVIII. POURCENTAGE DE REPULSION SELON LE CLASSEMENT DE MC DONALD ET AL. (1970)	84
TABLEAU XXIX. ANALYSE DE LA VARIANCE (ANOVA) UNIDIRECTIONNELLE DE L'EFFET PAR CONTACT DES DEUX HES SUR LES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i>	86
TABLEAU XXX. EFFET TOXIQUE DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS D' HUILES ESSENTIELLES ETUDIEES SUR LA MORTALITE DES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i> APRES 48H ET 72H DE CONTACTE. (M \pm ES, N = 3).....	87
TABLEAU XXXI. DETERMINATION DE LA CL ₅₀ ET CL ₉₅ DU L'EFFET TOXIQUE PAR CONTACT	87
TABLEAU XXXII. TEMPS LETALE (TL ₅₀) DU L'EFFET TOXIQUE PAR CONTACT	87
TABLEAU XXXIII. ANALYSE DE LA VARIANCE (ANOVA A TROIS FACTEURS) UNIDIRECTIONNELLE DE L'EFFET FUMIGENE DES DEUX HES SUR LES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i>	88
TABLEAU XXXIV. DETERMINATION DES DL ₅₀ ET DL ₉₅ DE L'EFFET TOXIQUE PAR FUMIGATION DES HES D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> SUR LES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i>	89

TABLEAU XXXV. DETERMINATION DU TEMPS LETALE (TL_{50}) DU L'EFFET TOXIQUE PAR FUMIGATION DES HUILES ESSENTIELLES D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> SUR LES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i>	89
TABLEAU XXXVI. ANALYSE DE LA VARIANCE (ANOVA A TROIS FACTEURS) UNIDIRECTIONNELLE DE L'EFFET REPULSIF DES DEUX HES SUR LES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i>	90
TABLEAU XXXVII. POURCENTAGE DE REPULSION (MOYENNE \pm SE) DES HUILES ESSENTIELLES D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET <i>ROSMARINUS</i> <i>OFFICINALIS</i> (%) SUR LES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i> PENDANT 24H D'EXPOSITION	90
TABLEAU XXXVIII. LES CONCENTRATIONS DE REPULSION A 50% ET A 95% (CR_{50} - CR_{95}) DE HE D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> CONTRE LES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i> APRES 24 H D'EXPOSITION	91
TABLEAU XXXIX. LE TEMPS LETAL DE REPULSION A 50% (TL_{50}) DE L'HUILE ESSENTIELLE D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET <i>ROSMARINUS</i> <i>OFFICINALIS</i> CONTRE LES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i> APRES 24 H D'EXPOSITION	91

Liste des annexes

ANNEXE 1. QUESTIONNAIRE D'ENQUETE ETHNOBOTANIQUE	112
ANNEXE 2. COMPOSITION CHIMIQUE RELATIVE DE L'HE D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i>	114
ANNEXE 3. COMPOSITION CHIMIQUE RELATIVE DE L'HE DU <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	121
ANNEXE 4. ARTICLE DE THESE PUBLIE SUR CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY	125

Liste des abréviations

AFNOR	Association Française de NORmalisation
ANDI	Agence Nationale de Développement de l'Investissement
ANOVA	ANalyse Of VAriance
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CMB	Concentrations Minimales Bactéricides
CMF	Concentrations Minimales Fongicides
CMI	Concentrations Minimales Inhibitrices
CPG/SM	Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
DL ₅₀	Dose Létale à 50 %
DL ₉₅	Dose Létale à 95 %
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DO	Densité Optique DO
GN	Gélose Nutritive (GN)
HE	Huile Essentielle
INPV	Institut National de Protection des Végétaux
MCD	Méthode de Contact Direct
MH	Mueller Hinton
NCTC	National Collection of Type Culture
P.A.M.	Plantes Aromatiques et Médicinales
PDA	Potato Dextrose Agar
RHEs	Rendement des Huiles Essentielles
TL	Temps Létal
v/v	Volume per volume
v/w	Volume per Weight

Table des matières

ملخص	I
ABSTRACT	II
RESUME	III
LISTE DES FIGURES	IV
LISTE DES TABLEAUX	VI
LISTE DES ANNEXES	VIII
LISTE DES ABREVIATIONS	IX
TABLE DES MATIERES	X
INTRODUCTION GENERALE	1
PARTIE 1 : ENQUETE ETHNOBOTANIQUE ET MONOGRAPHIE DES PLANTES ETUDIEES.....	5
INTRODUCTION DE LA PREMIERE PARTIE	5
1 MATERIEL ET METHODES DE LA PREMIERE PARTIE	6
1.1 PRESENTATION GENERALE DE LA REGION D'ETUDE « LA NUMIDIE ORIENTALE ».....	6
1.2 PRESENTATION DU PARC NATIONAL D'EL-KALA	8
1.3 DESCRIPTION DE LA ZONE D'ETUDE	10
1.3.1 Situation géographique.....	10
1.3.2 Climatologie	11
1.3.3 Couverture végétale.....	11
1.3.4 Ressources hydriques.....	12
1.3.4.1 Les lacs.....	12
1.3.4.2 Les cours d'eau	12
1.3.4.3 Les barrages.....	13
1.3.5 Population	13
1.4 MONOGRAPHIE DES PLANTES ETUDIEES	14
1.4.1 <i>Eucalyptus globulus</i>	14
1.4.1.1 Caractéristiques d' <i>Eucalyptus globulus</i>	14
1.4.1.2 Description botanique d' <i>Eucalyptus globulus</i>	15
1.4.1.3 Répartition géographique des <i>Eucalyptus</i> en Algérie.....	16
1.4.1.4 Utilisation	16
1.4.1.5 Propriétés thérapeutiques d' <i>Eucalyptus globulus</i>	16
1.4.1.6 Position systématique d' <i>Eucalyptus globulus</i>	16
1.4.2 <i>Rosmarinus officinalis</i>	17
1.4.2.1 Caractéristiques.....	17
1.4.2.2 Description botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	18
1.4.2.3 Répartition géographique en Algérie	18
1.4.2.4 Utilisation	18
1.4.2.5 Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du Romarin	18
1.4.2.6 Position systématique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	19
1.5 SITES DE RECOLTE DU MATERIEL VEGETAL.....	20
1.5.1 Ramel Essouk.....	20
1.5.2 Bougous.....	20

1.6	SECHAGE ET CONSERVATION DU MATERIEL VEGETAL.....	21
1.7	METHODOLOGIE DE L'ENQUETE.....	22
1.7.1	Déroulement de l'enquête: Entretien direct.....	22
1.7.2	Lieu de l'enquête.....	22
1.7.3	Outil d'enquête.....	22
1.7.4	Traitement des données.....	23
2	RESULTATS DE LA PREMIERE PARTIE.....	24
2.1	REPARTITION SELON LE GENRE DE LA POPULATION QUESTIONNEE.....	24
2.2	REPARTITION SELON L'AGE DE LA POPULATION QUESTIONNEE.....	24
2.3	REPARTITION SELON LA PARTIE UTILISEE DES ESPECES ETUDIEES.....	25
2.4	REPARTITION SELON L'ETAT DES ESPECES ETUDIEES.....	26
2.5	REPARTITION SELON LA FAÇON DE PREPARATION DES ESPECES ETUDIEES.....	27
2.6	REPARTITION SELON LA FAÇONS DE CONSOMMATION DES ESPECES ETUDIEES.....	28
2.7	REPARTITION SELON LE MODE D'ADMINISTRATION DES ESPECES ETUDIEES.....	29
2.8	REPARTITION SELON LES MALADIES TRAITEES.....	30
2.9	REPARTITION SELON LES INTERDICTIONS DE CONSOMMATION.....	31
2.10	REPARTITION SELON LA SOURCE D'INFORMATION.....	32
3	DISCUSSION DE LA PREMIERE PARTIE.....	33
3.1	L'ENQUETE ETHNOBOTANIQUE.....	33
3.1.1	Le genre de personnes questionnées.....	33
3.1.2	L'âge.....	33
3.1.3	La partie utilisée des plantes.....	33
3.1.4	Etat de la plante utilisée.....	33
3.1.5	Façons de consommation.....	34
3.1.6	Mode d'administration des espèces étudiées.....	34
3.1.7	Préparation des espèces étudiées.....	34
3.1.8	Maladies traitées.....	34
3.1.9	Interdictions de consommation.....	35
3.1.10	Source d'informations.....	35
	CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE.....	36
	PARTIE 2 : LES HUILES ESSENTIELLES (LOCALISATION, EXTRACTION ET COMPOSITION).....	37
	INTRODUCTION DE LA DEUXIEME PARTIE.....	37
1	MATERIEL ET METHODES DE LA DEUXIEME PARTIE.....	39
1.1	MATERIEL VEGETAL UTILISE.....	39
1.2	LOCALISATION DES HUILES ESSENTIELLES DANS LES FEUILLES D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	39
1.2.1	Coupes histologiques.....	39
1.2.2	Mode opératoire.....	40
1.3	EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE.....	40
1.3.1	Extraction par hydrodistillation.....	40
1.3.2	Mode opératoire.....	41
1.3.3	Rendement d'extraction.....	41
1.4	DETERMINATION DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES PAR CPG/SM.....	42
1.4.1	Condition opératoire du CPG/SM.....	42
1.4.1.1	La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).....	42

1.4.1.1.1	Modèle de l'appareillage utilisé	42
1.4.1.1.2	Four du chromatographe	43
1.4.1.1.3	Colonne	43
1.4.1.1.4	Paramètres d'injection	43
1.4.1.1.5	Gaz vecteur	43
1.4.1.2	La Spectrométrie de Masse (SM).....	43
1.4.1.2.1	Détecteur	43
2	RESULTATS DE LA DEUXIEME PARTIE	44
2.1	RESULTATS DE L'ETUDE HISTOLOGIQUE.....	44
2.2	LE RENDEMENT D'EXTRACTION EN HE	46
2.3	RESULTATS D'ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES PAR CG/ SM	47
2.3.1	<i>Eucalyptus globulus</i>	47
2.3.2	<i>Rosmarinus officinalis</i>	50
2.4	ANALYSE DE LA COMPOSITION DES HUILES ESSENTIELLES	51
3	DISCUSSION DE LA DEUXIEME PARTIE.....	53
3.1	COUPES HISTOLOGIQUES	53
3.2	LE RENDEMENT D'EXTRACTION	53
3.3	COMPOSITION CHIMIQUE DES HES.....	54
3.3.1	<i>Eucalyptus globulus</i>	54
3.3.2	<i>Rosmarinus officinalis</i>	54
	CONCLUSION DE LA DEUXIEME PARTIE	56
	PARTIE 3 : ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE ET ANTIFONGIQUE	58
	INTRODUCTION DE LA TROISIEME PARTIE.....	58
1	MATERIEL ET METHODES DE LA TROISIEME PARTIE	59
1.1	ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE.....	59
1.1.1	Les souches microbiennes testées	59
1.1.2	Milieux de culture	59
1.1.3	Dilutions des huiles essentielles.....	59
1.2	L'AROMATOGRAMME OU LA METHODE DE DIFFUSION DES DISQUES SUR GELOSE	60
1.2.1	Procédure d'évaluation	60
1.2.1.1	Repiquage et réactivation des souches bactériennes	60
1.2.1.2	Suspensions bactériennes (inoculum)	60
1.2.1.3	Ensemencement.....	60
1.2.1.4	Application des disques et incubation.....	61
1.2.1.5	Lecture.....	62
1.2.2	Détermination des paramètres antimicrobiens CMI et CMB en milieu solide.....	62
1.2.2.1	La concentration minimale inhibitrice (CMI)	62
1.2.2.2	La concentration minimale bactéricide (CMB)	62
1.3	ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE	62
1.3.1	Souches testées.....	62
1.3.2	Méthode de contact direct	63
1.3.2.1	Lecture.....	63
1.3.3	Détermination des paramètres antifongiques CMI et CMF en milieu solide	64
1.3.3.1	La concentration minimale inhibitrice.....	64
1.3.3.2	La concentration minimale inhibitrice fongicide ou fongistatique	64
1.3.3.2.1	Lecture	64

1.4	ETUDE STATISTIQUE.....	64
2	RESULTATS DE LA TROISIEME PARTIE.....	65
2.1	ACTIVITE ANTIMICROBIENNE	65
2.1.1	Résultats d'analyse qualitative et de catégorisation des souches testées.....	65
2.1.2	Résultats d'analyse quantitative et des paramètres antimicrobiens	65
2.2	ACTIVITE ANTIFONGIQUE	68
2.2.1	Résultats de contact direct du test antifongique	68
2.2.2	Résultats du type d'activité des HEs étudiées <i>in vitro</i>	69
3	DISCUSSION DE LA TROISIEME PARTIE	72
3.1	ACTIVITE ANTIMICROBIENNE	72
3.2	ACTIVITE ANTIFONGIQUE	74
	CONCLUSION DE LA TROISIEME PARTIE.....	76
	PARTIE 4 : ETUDE DE L'ACTIVITE INSECTICIDE.....	78
	INTRODUCTION DE LA QUATRIEME PARTIE.....	78
1	MATERIEL ET METHODES DE LA QUATRIEME PARTIE	79
1.1	MATERIEL BIOLOGIQUE ANIMAL.....	79
1.1.1	Présentation d' <i>Ephestia kuehniella</i>	79
1.1.2	Cycle de vie.....	80
1.1.2.1	Les Œufs	80
1.1.2.2	La larve	80
1.1.2.3	La chrysalide ou nymphe	81
1.1.2.4	L'adulte.....	81
1.2	METHODES D'ELEVAGE	82
1.3	METHODE D'ETUDE DE LA TOXICITE	82
1.3.1.1	Paramètres mesurés.....	82
1.3.1.1.1	La Dose Létale DL ₅₀ et Concentration Létale CL ₅₀	82
1.3.1.1.2	La Dose Létale DL ₉₀ et Concentration Létale CL ₉₀	82
1.3.1.1.3	Le Temps Létal TL ₅₀	82
1.3.2	Effet toxique des HEs étudiées sur la longévité des insectes par contact	83
1.3.3	Effet toxique des HEs étudiées sur la longévité des insectes par fumigation	83
1.3.4	Effet toxique des HEs par répulsion	83
1.4	PRESENTATION DES OBSERVATIONS DE TESTS TOXICOLOGIQUES.....	85
1.4.1	Mortalité observée.....	85
1.4.2	Mortalité corrigée	85
1.5	TRAITEMENT DES RESULTATS	85
1.5.1	Analyse des probits	85
1.5.2	Analyse statistique	85
2	RESULTATS DE LA QUATRIEME PARTIE.....	86
2.1	TOXICITE DES HES PAR CONTACTE	86
2.2	EFFICACITE DE L'HUILE ESSENTIELLE D' <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ET DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> SUR LES ADULTES D' <i>EPHESTIA KUEHNIELLA</i>	87
2.3	EFFET TOXIQUE DES HES PAR FUMIGATION	88
2.3.1	Efficacité de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> et de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i>	89

2.4	EFFET DU POUVOIR REPULSIF DES HES.....	89
3	DISCUSSION DE LA QUATRIEME PARTIE	92
3.1	TOXICITE PAR CONTACT	92
3.2	TOXICITE PAR FUMIGATION	92
3.3	TOXICITE PAR REPULSION.....	92
	CONCLUSION DE LA QUATRIEME PARTIE.....	94
	CONCLUSION GENERALE	95
	PERSPECTIVES DE RECHERCHE.....	99
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	100
	ANNEXES.....	112

Introduction générale

Introduction générale

Depuis la nuit des temps, l'Homme a toujours cherché dans son environnement des ressources végétales (plantes, herbes et arbres) capables de satisfaire ses besoins culinaires, thérapeutiques et plus tard cosmétiques. Les plantes ont depuis toujours été utilisées par les populations du monde entier pour se soigner. Dès les premières sensations d'un malaise, notre premier réflexe reste celui de prendre une tisane à base de plantes médicinales et ce avant même d'aller consulter le médecin. Aujourd'hui, ces plantes représentent encore la première source de substances thérapeutiques dans les pays en voie de développement **(OMS, 2013 ; Boissiere, 2018)**. Ces dernières années, les chercheurs se sont concentrés sur le contenu biochimique des plantes médicinales à l'origine de leur capacité à soulager ou à soigner les maladies... Ce sont les principes actifs contenus dans les huiles essentielles et les extraits volatils ou non-volatils des plantes **(Bounoua-Fraoucene et al., 2019)**. Les plantes médicinales et aromatiques (P.A.M.), sont un appui important aux pharmaciens et aux biologistes pour l'élaboration de nouveaux médicaments. Les différentes parties constituantes des plantes sont utilisées directement comme remède comme c'est dans le cas de la Phytothérapie. Leurs extraits sont aussi utilisés telles que leurs huiles essentielles dans le cadre de l'Aromathérapie. Les plantes médicinales sont aussi appelées "drogues végétales". La drogue est donc la partie de la plante la plus riche en principe actif. Elle est issue de plantes fraîches ou desséchées et utilisées à des fins thérapeutiques comme le précise l'**Agence du Médicament (1998)**. Les P.A.M. sont également celles qu'on peut utiliser aussi bien en gastronomie qu'en thérapie. Vu leur large consommation et avec la mondialisation, les P.A.M. sont cultivées en quantités industrielles afin de faire profiter tous les ménages à travers le monde.

C'est grâce à la civilisation arabo-musulmane qu'une grande part d'innovation fut introduite dans le domaine de l'aromathérapie et plus précisément sur l'utilisation des principes actifs, des procédures détaillées et de l'appareillage de distillation à utiliser et ce grâce à son imminent savant **Ibn Sina**, plus connu en occident sous le nom d'**Avicenne (980-1037)**, qui produisait alors la première huile essentielle à partir de la *Rosa centifolia* ou Rosier Cent Feuilles **(Muther, 2015; Attanasio, 2018)**.

Gattefosse René-Maurice fut le premier à donner le nom « **Aromathérapie** » à cette discipline et ce depuis **1928**, terme décrivant une discipline de la phytothérapie. L'engouement croissant de nos jours pour la phytothérapie et l'aromathérapie est rendu possible grâce aux progrès des techniques et des méthodes de biochimie analytique venant compléter les connaissances empiriques collectées par des millions d'enquêtes ethnopharmacologiques. Avec la réussite de l'isolation et l'identification de quelques

métabolites secondaires (Principes actifs), les recherches se sont accélérées pour mettre à l'épreuve leur mode d'action en physiologie, pour l'intérêt de l'homme, afin de faire disparaître les résidus toxiques de la chimie industrielle (fabrication de médicaments) qui nous ont épuisés au fil des temps. Il est indispensable de rappeler qu'il ne faut pas confondre les propriétés et vertus médicinales de la plante et de son huile essentielle : les molécules et leurs concentrations ne sont pas les mêmes. Par conséquent, nous sommes véritablement face à deux thérapeutiques différentes, avec des bénéfices et des risques qu'il faut dissocier, bien que parfois, cela puisse se recouper (**Desseaux, 2018**).

La phytothérapie s'intéresse uniquement aux vertus médicinales des plantes, tout dépend de leur localisation (feuilles, fleurs, graines, racines, tiges ou plantes entières) et de leurs aspects (métabolites primaires, métabolites secondaires et même les déchets métaboliques) afin de les transformer entièrement en médicaments, ou bien de les enrober. Cependant, l'aromathérapie, inspirée de la phytothérapie, implique en particulier les huiles essentielles à des fins thérapeutiques.

Le terme « huile essentielle » a été inventé au **XVI^{ème}** siècle par le médecin suisse **Parascelsus Von Hohenheim** pour désigner le composé actif d'un remède naturel (**Lamamra, 2018; Burt, 2004**). Certaines huiles essentielles sont décrites comme d'extraordinaires « antibiotiques naturels ». Elles sont remarquables par leur très large spectre d'action, à la fois anti-infectieuse, antiseptique et antivirale (**Laurent, 2017**). L'huile essentielle est un composé complexe, caractérisé par des constituants chimiques volatils, non volatils et même des composés à l'état de traces. Chaque constituant est un élément actif même à faible concentration. Une goutte d'huile essentielle contient en moyenne 150 molécules différentes. On comprend alors aisément qu'une seule huile essentielle puisse avoir plusieurs vertus thérapeutiques donc plusieurs indications. Et inversement que plusieurs huiles essentielles peuvent traiter les mêmes maux (**Cazau-Beyret, 2013**). Les huiles essentielles ne caractérisent que les végétaux supérieurs, leurs élaborations (quantité) et compositions (qualité) sont soumises aux plusieurs facteurs abiotiques et facteurs biotopes. Actuellement, les recherches sur les huiles essentielles ont connu une grande avancée notamment grâce au perfectionnement des techniques de chimie analytique comme la chromatographie qui permettent d'affiner le lien entre la structure chimique des huiles essentielles et leurs propriétés thérapeutiques (**Perillaud, 2018**).

Avec le temps, en exploitant la végétation qui les entoure, les indigènes coalisaient les observations et les résultats de cet usage. Leurs pratiques deviennent des acquis patrimoniaux de ces vertus, d'où découlera leur savoir-faire ancestral. Les connaissances ainsi acquises dans le temps ont le plus souvent été transmises de manière orale, de génération en génération. Les connaissances les plus complexes sont souvent détenues par quelques érudits, reconnus par la population locale et dont le rôle dans les soins de santé

primaire est central, des sortes de chamanes ou de gourous (**Boissiere, 2018 ; OMS, 2013 ; Lavergne, 2001**). Parmi les disciplines scientifiques qui s'intéressent à la phytothérapie traditionnelle, l'ethnobotanique qui permet de traduire le savoir-faire populaire en savoir scientifique (**Lahsissene et al., 2009**). En effet, les connaissances ancestrales sont transmises de génération en génération, permettant ainsi la conservation de ce savoir mais sans pour autant le transcrire sur des supports conservables (**Lazli et al., 2019**). Ces enquêtes ont une valeur capitale pour la science et font l'objet de publications dans des revues très sérieuses, car elles permettent de gagner un temps fou dans l'expérimentation des activités des plantes... les connaissances empiriques seront ainsi vérifiées plus facilement au laboratoire. Plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont utilisés selon leur usage traditionnel (**Abedini, 2013**).

Notre présent travail, vise à étudier la composition, la localisation, les activités biologiques des huiles essentielles obtenues de deux plantes récoltées dans la région d'El-Tarf, l'*Eucalyptus globulus*, comme modèle de plantes médicinales appartenant à la famille des Myrtacées ; le *Rosmarinus officinalis*, comme modèle de plantes aromatiques appartenant à la famille des Lamiacées.

La wilaya d'El-Tarf (Nord-est algérien) longe la Méditerranée sur 90 Km. Cette bande côtière regorge de plantes médicinales et aromatiques sauvages. Cette verdure harmonieuse entretient la stabilité écologique de la région et a fait l'objet de plusieurs inventaires et de recherches tels que les travaux de **Boumendjel et al. (2012)**, **Lazli et al. (2019)** et **Arfa et al. (2019)**. Les connaissances empiriques acquises par les autochtones sur les usages des plantes aromatiques et médicinales ont le plus souvent été transmises de manière orale, de génération en génération permettant ainsi la conservation de ce savoir patrimonial (**Meddour et al., 2020 ; Lazli et al., 2019**).

Dans le cadre de la préservation de notre patrimoine naturel, afin de mettre à jour le savoir-faire thérapeutique de nos ancêtres et de valoriser la biodiversité floristique que possède la région d'El-Tarf, une enquête ethnobotanique a été menée auprès de la population de la région. L'étude ethnobotanique est devenue une approche très fiable pour l'exploration des connaissances ancestrales (**Laifaoui, 2019**). C'est une recherche établie dans ce manuscrit pour viser le potentiel d'usage thérapeutique et culinaire de deux plantes étudiées: *Eucalyptus globulus* en tant que plante médicinale et *Rosmarinus officinalis* en tant que plante aromatique afin de comprendre et justifier l'efficacité de leurs usages empiriques.

Notre but de recherche est d'affirmer ou infirmer les pratiques thérapeutiques de nos ancêtres dans la région d'El-Tarf. Pour aboutir à notre but, on a tracé quelques objectifs distinctifs. Tout d'abord, la détermination de la composition chimique des huiles essentielles

extraites par hydrodistillation des plantes médicinales et aromatiques: *Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis* comme l'un des métabolites secondaires sécrétés par les plantes. Puis, d'examiner l'impact de ces huiles essentielles naturelles et leurs composés susceptibles d'inhiber les attaques microbiennes de bactéries pathogènes (activité antibactérienne), de champignons phytopathogènes (activité antifongique) et aussi des insectes nuisibles aux denrées stockées (activité insecticide sur un modèle de ravageurs, *Ephestia kuehniella*).

Dans ce contexte, ce document est composé de quatre parties :

- La première partie propose une étude ethnobotanique avec une description de la région d'El-Tarf, pour une meilleure connaissance de la zone d'étude et une monographie des deux espèces appartenant à deux familles botaniques différentes; la famille des myrtacées représentée par l'*Eucalyptus globulus* et la famille des lamiacées représentée par *Rosmarinus officinalis*. Cette étude sera suivie par une démarche d'une enquête ethnobotanique visant à mettre la lumière sur les connaissances empiriques autochtones.
- La deuxième partie est consacrée à l'extraction des huiles essentielles et à la détermination de leur composition chimique par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectroscopie de masse (CPG/MS). Le tout sera suivi par une technique histologique à double coloration, étudiant les organites responsables de la sécrétion des HE, localisés dans les feuilles d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis*.
- La troisième partie est une mise en pratique de l'activité antibactérienne et l'activité antifongique des huiles essentielles étudiées.
- Enfin, la quatrième partie est accordée à l'étude des activités insecticides des HE contre un ravageur des denrées stockées, *Ephestia kuehniella*, pour la mise en application des luttes biologiques intégrées.

Chaque partie abordée comporte : une introduction, une partie expérimentale, les résultats relatifs, une discussion et une conclusion contextuelle.

Le document s'achève par une conclusion générale et quelques perspectives de recherche qui pourraient devenir des voies à explorer lors de nos prochains travaux...

Partie 1 :

Enquête ethnobotanique et monographie des plantes étudiées

PARTIE 1 : ENQUETE ETHNOBOTANIQUE ET MONOGRAPHIE DES PLANTES ETUDIEES

Introduction de la première partie

La discipline "**ethnobotanique**" a été créée grâce à **Hargsberger (1895)**. Selon **Balick et Cox (1996)**, c'est le domaine d'étude qui analyse les résultats des manipulations indigènes du matériel végétal ainsi que le contexte culturel dans lequel les plantes sont utilisées.

C'est donc une discipline qui étudie non seulement la relation entre l'homme dans une zone déterminée (ethnie) et les plantes (botanique) qui l'entourent, mais elle s'intéresse aussi à leurs usages thérapeutiques. C'est une étude théorique qu'on peut récolter des informations obtenues, des formes d'applications curatives des plantes. Les connaissances empiriques acquises par les autochtones sur les usages des plantes aromatiques et médicinales ont le plus souvent été transmises de manière orale, de génération en génération permettant ainsi la conservation de ce savoir patrimonial (**Meddour et al., 2020; Lazli et al., 2019**). Ces connaissances et savoir-faire, aux fils des années, ont donné naissance à plusieurs sciences et disciplines telles que : l'Aromathérapie et la Phytothérapie. Ce sont deux médecines qui se rencontrent, se complètent et s'entrecroisent, soit pour soigner, soit pour se régaler d'un plat savoureux. Entre une science et sa discipline, la médecine traditionnelle dans la région d'El-Tarf, reste très répandue et variée, elle fait appel aux plantes de la région, spontanées et cultivées. Ces plantes riches en principes actifs jouent un rôle capital et sont étudiées pour des usages thérapeutiques afin de canoniser leurs activités biologiques (**Rajadurai, 2018; Hassan et al., 2021**). La phytothérapie est certainement la meilleure approche d'une médecine de santé tournée autant vers la prévention que vers les soins (**Rombi et Robert, 2015**).

Pour mettre en valeur cette flore locale, notre choix de plantes étudiées été dicté, d'une part, par leur disponibilité (l'Eucalyptus reste une plante caractéristique de la région), d'autre part, par la fréquence d'usage comme remède et arôme dans la région. La réalisation d'une enquête été donc indispensable pour affirmer, infirmer ou justifier ces pratiques. Nous avons tracé nos objectifs de recherche comme suit :

- Une approche sur la fréquence d'usage thérapeutique d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis*.
- Une revalorisation de notre patrimoine local.
- Une monographie de plantes locales.

1 Matériel et méthodes de la première partie

1.1 Présentation générale de la région d'étude « la Numidie Orientale »

La Numidie est une ancienne appellation de la région Nord de l'Algérie et de la Tunisie (**Figure 1**). C'est le pays des berbères d'Afrique du Nord. Elle était globalement divisée en deux grandes régions : la Numidie Occidentale et la Numidie Orientale, cette dernière s'étendant de la région de Jijel en Algérie aux régions Est de la Tunisie.

La région avait comme capitale *Cirta* (actuelle Constantine) et les habitants étaient appelés les *Massyles*. Ils étaient constitués de tribus berbères et occupaient le territoire allant des régions du nord algérien (Kabyles et Chaouias) jusqu'au fin fond du Sahara (Touareg).

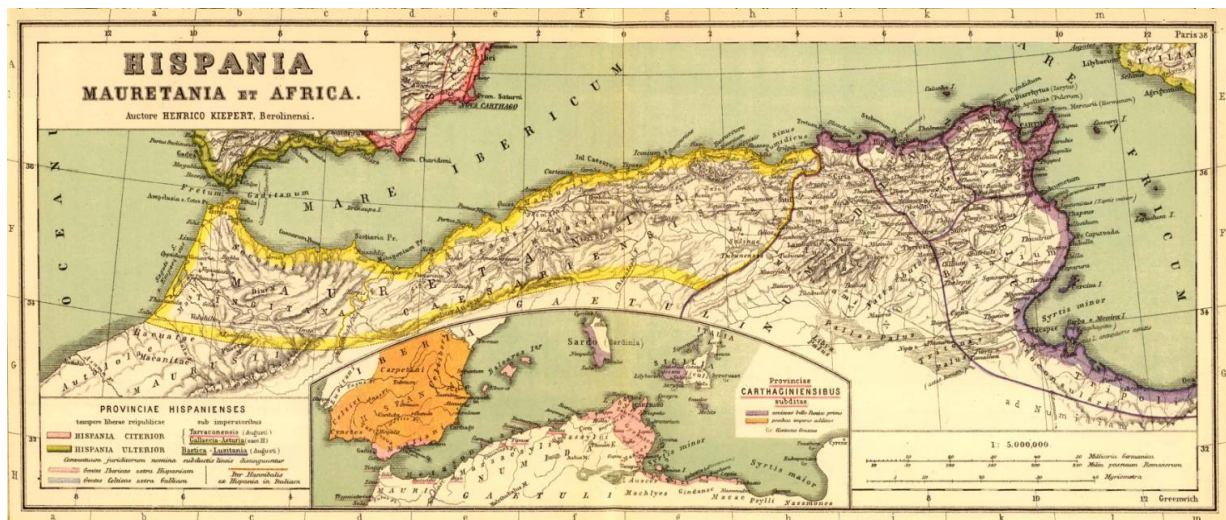


Figure 1. Ancienne carte du XIX^{ème} siècle d'Heinrich Kiepert délimitant la Numidie Orientale et la Numidie occidentale

La région d'étude concerne donc une partie seulement de la Numidie Orientale s'étalant sur la région côtière allant de Skikda à El-Tarf en passant par Annaba à l'Est de l'Algérie (Figure ci-dessous). C'est une région à climat humide à subhumide se trouvant dans l'extrême Nord-est du pays, dans la région frontalière entre l'Algérie et la Tunisie. La région de Numidie Orientale comprend tout un ensemble de mosaïques d'écosystèmes s'étalant de la région de Skikda à celle d'El-Kala. Cette région présente une biodiversité faunistique et floristique impressionnante et constitue un réservoir réel pour l'ensemble des régions limitrophes. La Numidie Orientale abrite aussi un très grand parc national, le Parc National d'El-Kala qui est justement l'un des joyaux de la biodiversité dans la région méditerranéenne (**Figure 2**).

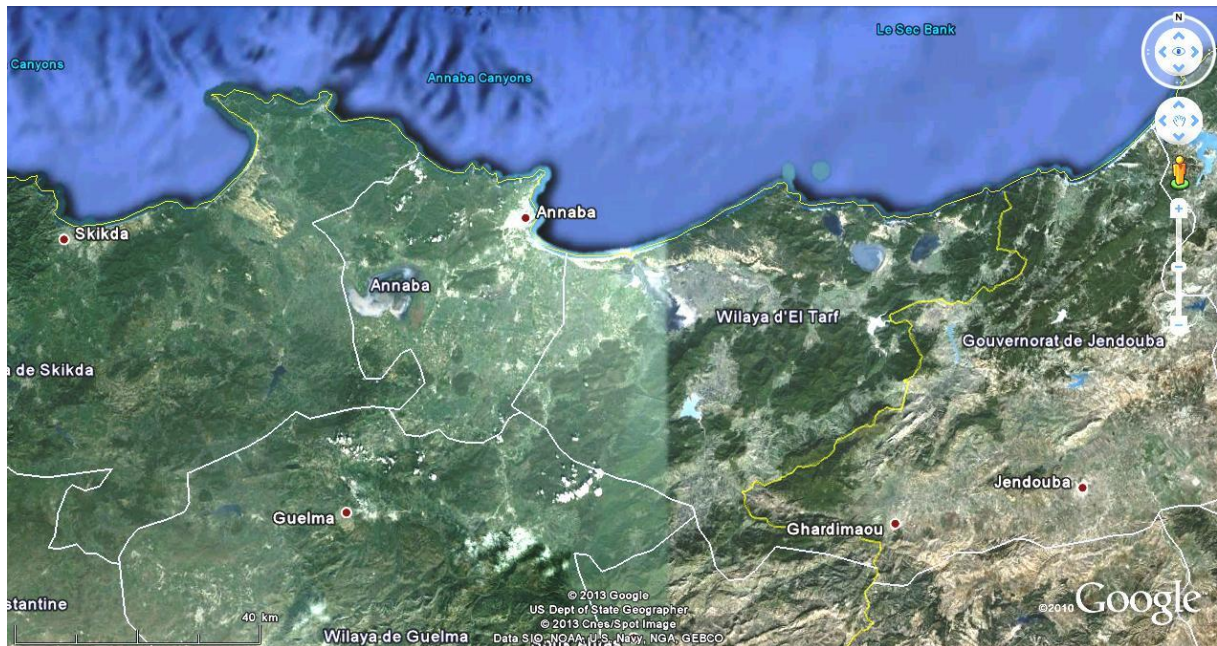


Figure 2. Présentation générale de la Numidie Orientale

En outre la région recèle un certain nombre de sites d'importance écologique majeure qui ont bénéficié depuis le début des années 80 de statuts spéciaux en tant que sites protégés suite à la ratification par l'Algérie de la convention internationale de RAMSAR. Ces sites présentent également une importance majeure pour beaucoup d'espèces aviennes migratrices qui transitent ou hivernent sur ces sites. Ces aires protégées jouent un rôle primordial dans l'équilibre écologique régional et participent au maintien du haut niveau de diversité biologique en tant que hot spot de la Biodiversité en Méditerranée (**Figure 3**).



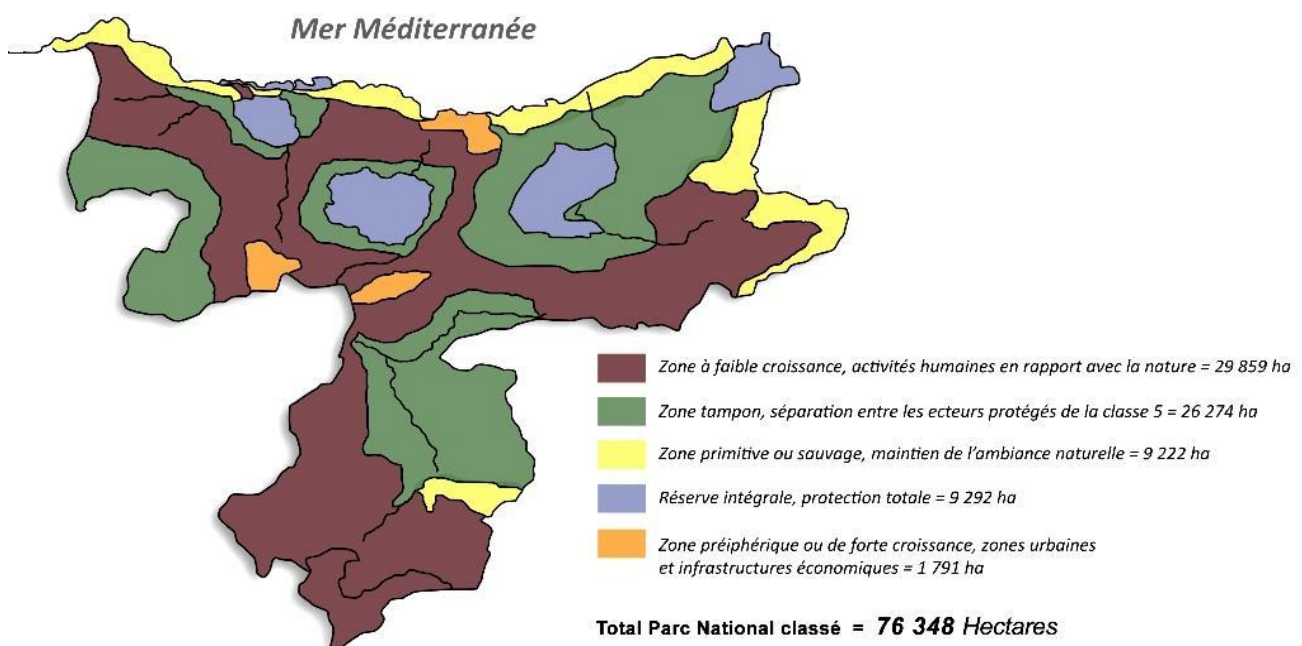
Figure 3. Carte représentant les points chauds de la biodiversité à travers le monde¹

¹ National Geographic, Janvier 2002

L'Algérie a aussi ratifié le 13 juin 1992² la Convention sur la diversité biologique qui a eu lieu à Rio (Brésil) et s'est engagée à protéger et conserver la biodiversité présente sur ses terres mais aussi à permettre le développement d'activités visant à une exploitation durable des ressources biologiques. Les deux principaux départements ayant fait objet de notre étude et faisant partie de la Numidie Orientale sont: Annaba et El-Tarf. Le département le plus connu pour son haut degré de biodiversité c'est celui de la Wilaya d'El-Tarf.

1.2 Présentation du Parc National d'El-Kala

Le Parc National d'El-Kala, classé le 23 juillet 1983 en tant que tel par décret n°83-462 a été parmi les premiers parcs nationaux du nord algérien et joue un rôle capital dans la conservation du patrimoine naturel et la biodiversité dans la région (**Figure 4**). Il a été également classé en tant que réserve de la Biosphère depuis le 17 décembre 1990 dans le cadre du projet MAB de l'UNESCO³. Ce dernier visant à instaurer les règles d'une bonne gouvernance des ressources naturelles et les principes d'un développement durable dans sa gestion et son fonctionnement. C'est le plus grand parc national côtier d'Algérie avec ses 76348 hectares et il est occupé par 140000 habitants. Divisé en trois secteurs de gestion : Secteur de Brabtia ; Secteur d'Oum Teboul ; Secteur de Bougous, il présente également un zonage interne en cinq catégories de zones comme le montre la carte ci-dessous :



Conception: Mahieddine Boumendjel, décembre 2012

Figure 4. Figure représentant le zonage du P.N.E.K. (Boumendjel, 2012)

² <http://www.cbd.int/convention/parties/list/default.shtml>

³ <http://www.unesco.org/mabdb/br/brdir/directory/biores.asp?code=ALG+02&mode=all>

Le Parc National d'El-Kala renferme le plus grand nombre de lacs, lagunes, marais, cours d'eau, sites RAMSAR, réserves de la biosphère de la région d'Afrique du Nord. La région d'Annaba et d'El-Tarf (Numidie Orientale) présente un certain nombre de sites d'importance écologique internationale qui méritent toute l'attention de la communauté internationale comme le montre la carte touristique de la région. La population locale du parc national y vit depuis des milliers d'années comme l'atteste la présence des sites préhistoriques de la région et les sites à dolmens de la région. Cette population s'est très bien adaptée aux conditions climatiques de la région qui est considérée comme un étage humide à subhumide avec un climat très humide et pluvieux en hivers (précipitations entre 800 à 1000 mm par an) à chaud et humide en été (température pouvant atteindre les 43°C). Le Parc National d'El-Kala est également connu pour sa végétation luxuriante et sa diversité biologique en termes d'écosystèmes, d'espèces et de variabilité génétique des populations présentes dans la région. Plusieurs travaux se sont donc attelés à définir la structure des populations végétales et leur inventaire (voir figure suivante), mais peu d'entre eux ont abordé l'aspect écotouristique dans l'exploitation de ces potentialités (Figure 5).

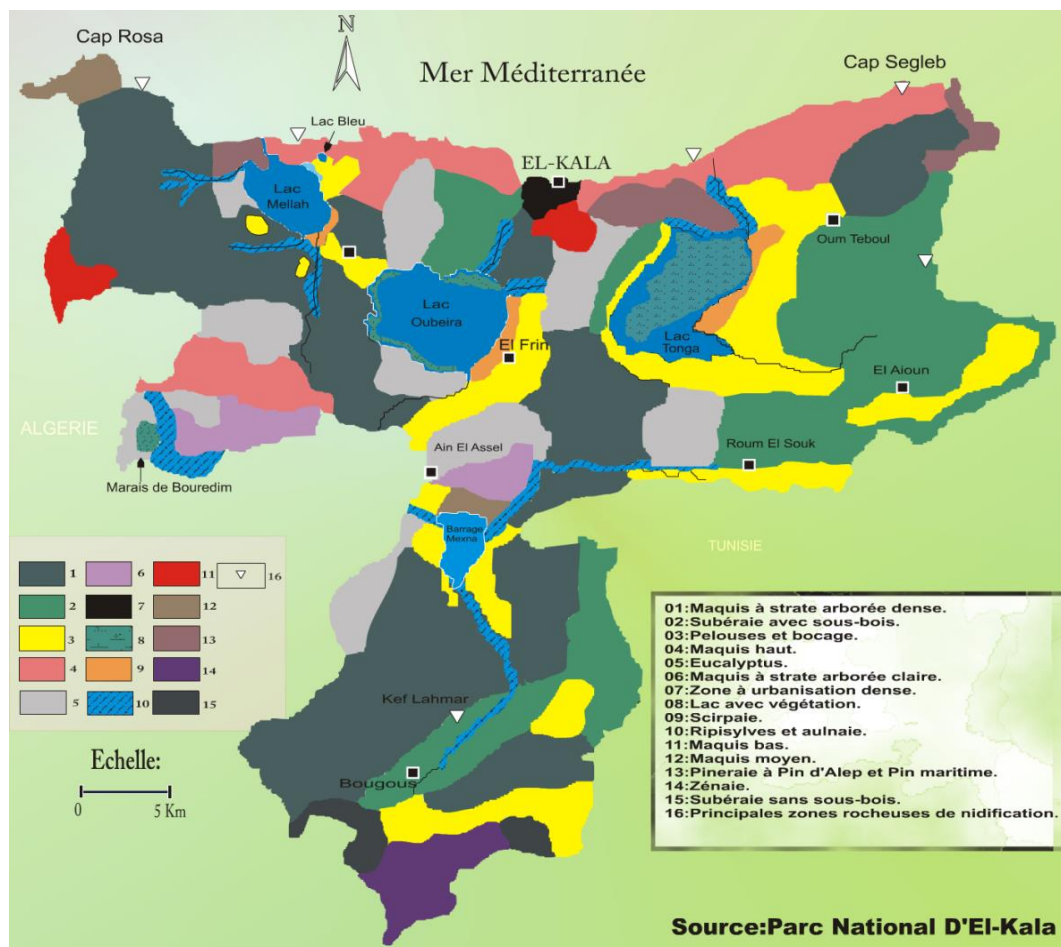


Figure 5. Carte des formations végétales du Parc National d'El-Kala⁴

⁴ PNEK, 2009. Cédérom multimédia de présentation du Parc National d'El-Kala

1.3.2 Climatologie

Un climat tempéré chaud est présent à El-Tarf. En hiver, les pluies sont bien plus importantes qu'elles ne le sont en été (**Figure 7**). La température moyenne annuelle à El-Tarf est de 18.3°C. La moyenne des précipitations annuelles atteint 694 mm.

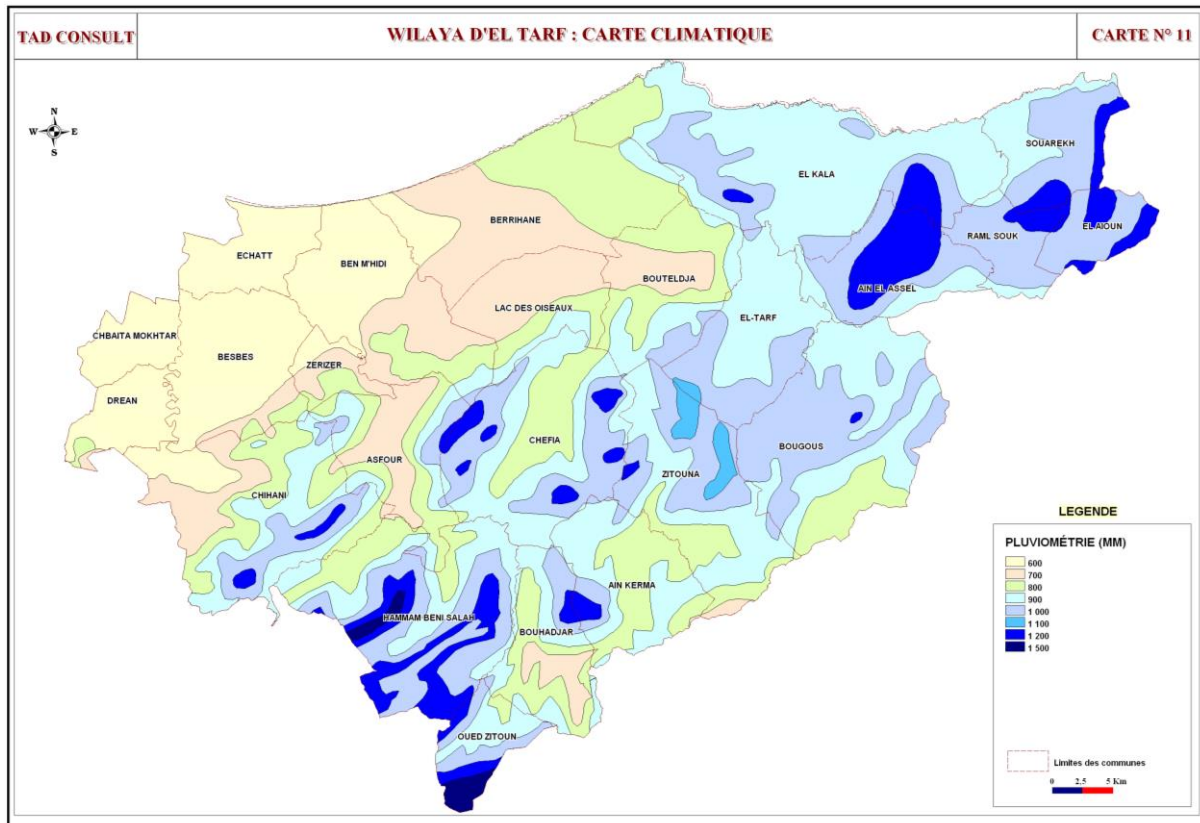


Figure 7. Carte climatologique de la wilaya d'El-Tarf

1.3.3 Couverture végétale

La wilaya d'El-Tarf est l'une des plus riches en termes de biodiversité végétale et de taux de couverture végétal du sol en Algérie.

Elle se divise en deux ensembles géographiques naturels : les zones montagneuses situées de 500 m au dessus de la mer et les plaines intérieures situées à 24m au dessus de la mer

La wilaya d'El-Tarf est une wilaya à vocation agricole (polyculture, élevage) ; la surface agricole est de 81,000 hectares.

Etude sur une superficie de 167,311 hectares, soit environ 57% de superficielle totale de la wilaya, on y trouve essentiellement les arbres de liège, les herbes médicinales et autres.

1.3.4 Ressources hydriques

La carte ci-dessous reprend l'essentiel du réseau hydrographique et le chevelu de cours d'eau de la wilaya d'El-Tarf (**Figure 8**).

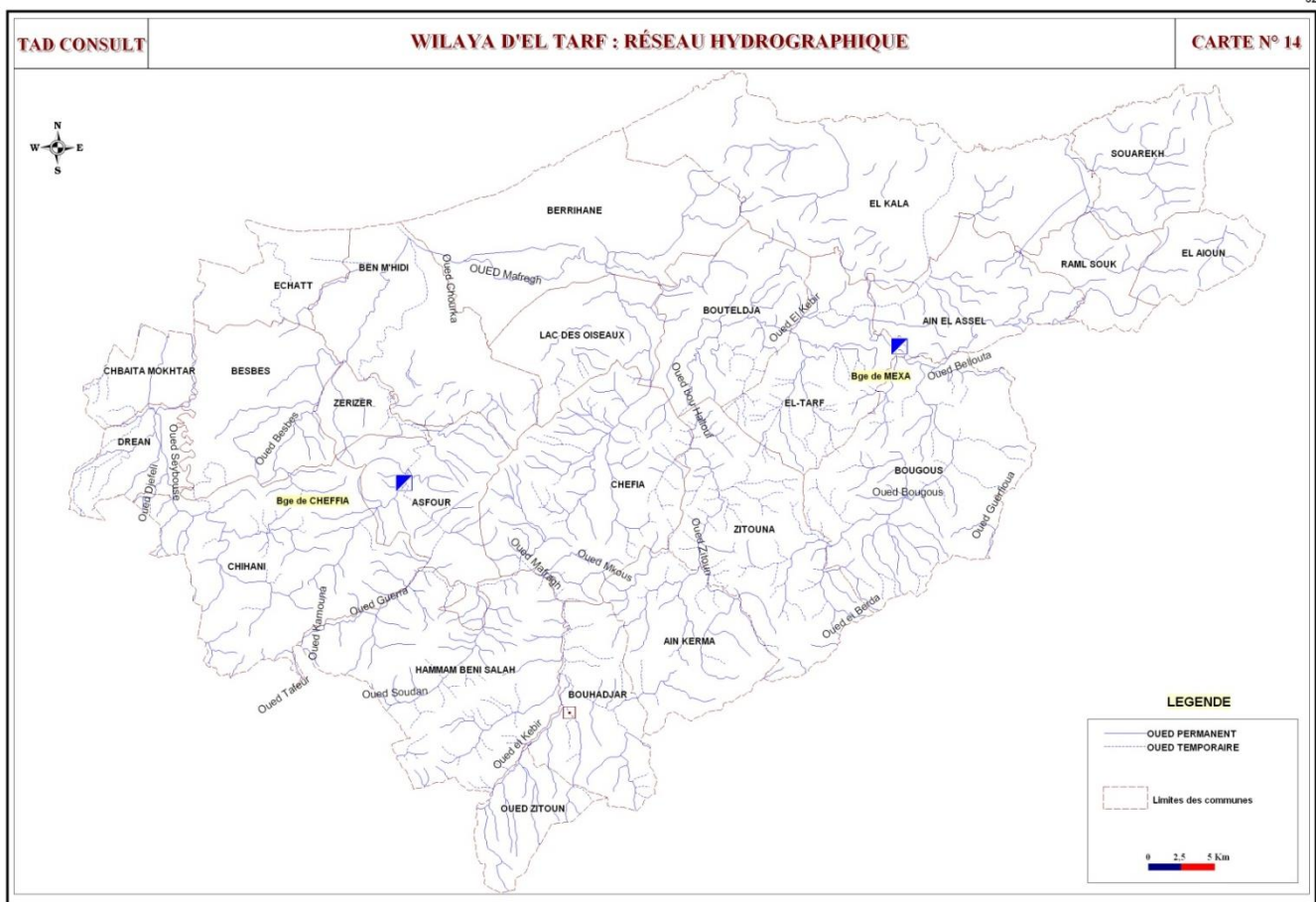


Figure 8. Réseau hydrographique de la wilaya d'El-Tarf (Anonyme, 2010)

1.3.4.1 Les lacs

La wilaya d'El-Tarf possède un complexe humide formé par plusieurs lacs dont le Lac Tonga, Lac Oubeira, Lac des Oiseaux, Lagune Mellah.

1.3.4.2 Les cours d'eau

La wilaya d'El-Tarf est drainée par un important réseau hydrique constitué principalement des oueds suivants :

- à l'Ouest: Oued Seybouse,
- à l'Est: Oued El Kebir,
- au centre: oued Bounamoussa.

1.3.4.3 Les barrages

La wilaya d'El-Tarf dispose de deux importants barrages : barrage de Mexna sur l'Oued El Kebir et barrage de Cheffia ou de Bounamoussa.

1.3.5 Population

La population totale de la wilaya est estimée à 430 000 habitants, soit une densité de 129 habitants par Km². Cette population occupe les terres de manière hétérogène, décrivant une forte exploitation des zones agricoles au Nord-ouest de la Wilaya et une implantation importante également dans les zones touristiques et les grands axes routiers au Nord-est de la wilaya, comme le montre la **figure 9** ci-dessous.

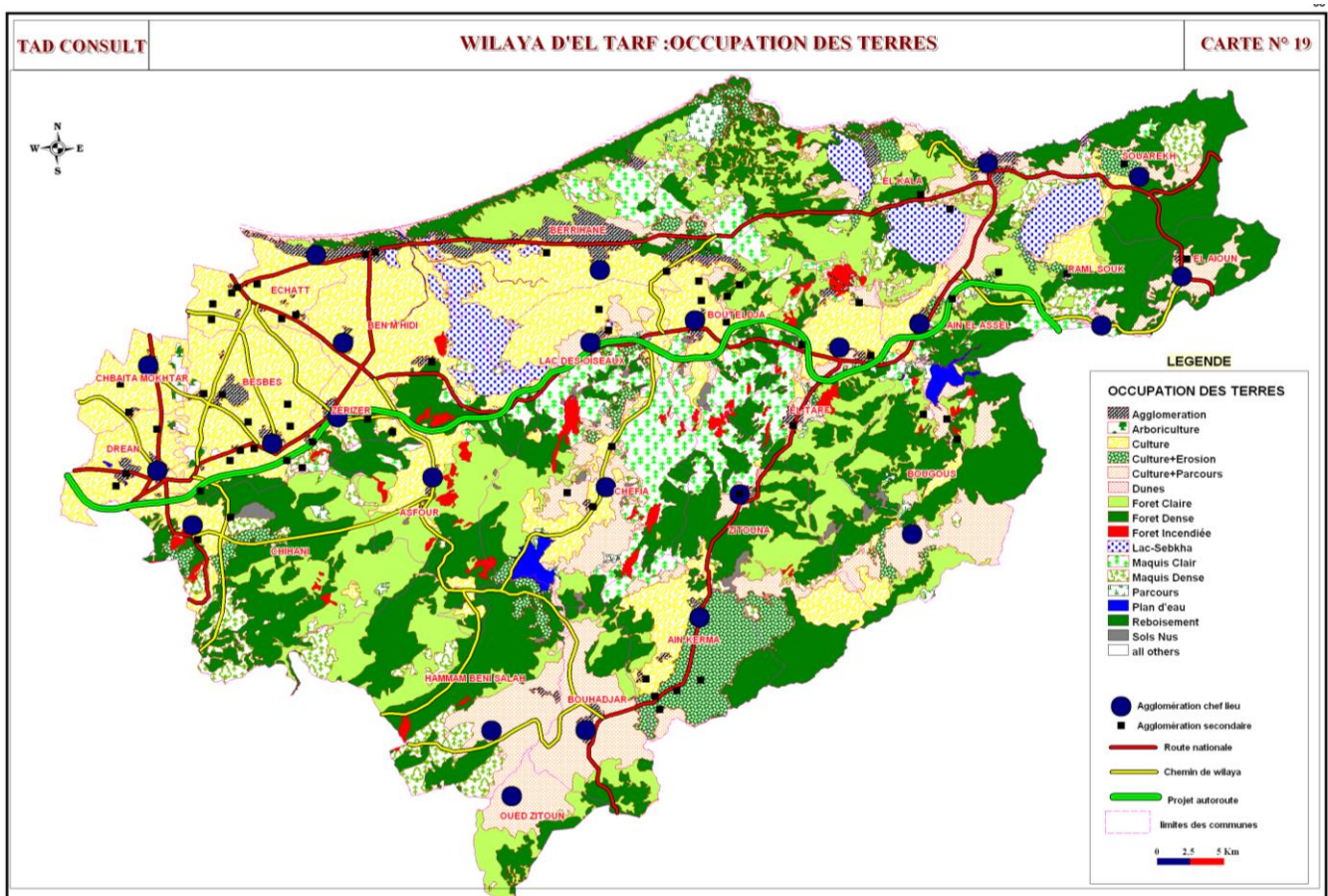


Figure 9. Carte d'occupation des terre de la wilaya d'El-Tarf (Anonyme, 2008)

1.4 Monographie des plantes étudiées

Vu la richesse et diversité floristique de la région d'El-Tarf, nous avons choisi pour notre étude deux plantes qui appartiennent à deux catégories de plantes différentes : *Eucalyptus globulus* notre exemple de plantes médicinales et *Rosmarinus officinalis*, une des plantes aromatiques.

1.4.1 *Eucalyptus globulus*

Le mot "Eucalyptus" vient du grec : **Eu** « bien » et **kaluptos** « couvert », car les étamines sont enfermées dans un étui formé par des pétales modifiés qui tombent à l'ouverture de la fleur (**Tableau I**).

- **Nom scientifique** : *Eucalyptus globulus* la Bill., 1800.

Tableau I. Les noms vernaculaires *Eucalyptus globulus*

Nom Algérien	كاليبتوس - Kalytous
Nom Arabe	كيناكاليبتوس
Nom berbère et Targui	كلتوس – Calitos
Noms français	Gommier bleu de Tasmanie, eucalyptus commun, arbre à la fièvre
Nom anglais	Eucalyptus, Tasmanian blue gum, southern blue gum, fever tree

Eucalyptus globulus (**Figure 10**) classé parmi les plantes médicinales, possède une activité pharmacologique pouvant conduire à des utilisations thérapeutiques, grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain (**Babulka, 2007**). Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Moreau, 2003**). Les plantes médicinales sont aussi appelées drogues végétales. La drogue est donc la partie de la plante la plus riche en principes actifs ; elle est issue de plantes fraîches ou desséchées et utilisée à des fins thérapeutiques (**Agence du Médicament, 1998**).

1.4.1.1 Caractéristiques d'*Eucalyptus globulus*

Les Eucalyptus appartiennent à la famille des Myrtacées, grande famille de 72 genres et 300 espèces (genres *Eucalyptus*, *Eugenia*, *Melaleuca* et *Myrta*). Ce sont donc des Angiospermes (ère tertiaire), dicotylédones. Le genre *Eucalyptus* comporte plus de 600 à 700 espèces et variétés (**Foudil-Cherif, 1991**). Certains eucalyptus s'hybrident facilement entre elles étant donné la facilité avec laquelle les graines de pollen se transfèrent d'une espèce à une autre, ce qui complique encore plus leur identification (**Benazzeddine, 2010**).

1.4.1.2 Description botanique d'*Eucalyptus globulus*

Les *Eucalyptus* sont de grands arbres dont certains peuvent dépasser 100 m de hauteur, mais la moyenne des espèces les plus courantes est de 40 à 50 m, d'autres ont des dimensions plus faibles (Traore *et al.*, 2013). Le tronc comprend une écorce à la base foncée et rugueuse et, en hauteur, lisse, gris cendre laissant s'exfolier son épiderme en longs lambeaux souples et odorants. Les feuilles juvéniles sont larges, opposées, sessiles, ovales et cireuses. Les feuilles matures (Figure 10) sont aromatiques, falciformes, longues de 12 à 30 cm, étroites, pointues, épaisses, vert foncé, courtement pétiolées, alternes et pendantes verticalement (Goetz & Ghedira, 2012). Les fleurs naissent à l'aisselle des feuilles et sont de couleur blanc-crème, en bouton de couleur blanc-bleu, en toupie surmontée d'une pseudo-corolle en forme de coiffe qui tombe lors de l'épanouissement, laissant apparaître un panache d'étamines (Baba Aissa, 2000). Le fruit ligneux est une grosse capsule glauque prenant une teinte marron à maturité, dure, anguleuse, verruqueuse, et s'ouvrant légèrement par trois, quatre ou cinq fentes (qui dessinent une étoile à son sommet) pour libérer de nombreuses graines sombres et minuscules (Goetz & Ghedira, 2012). Les *Eucalyptus* sont connus pour leur capacité à coloniser des terrains nus ou dévastés à cause de leurs graines très nombreuses; grâce à un organe souterrain, le lignotuber, même après une coupe ou un incendie; ils poussent sans marquer de dormance, tant que les conditions météorologiques ne sont pas défavorables. Ces dernières propriétés, ajoutées à sa grande valeur papetière, ont assuré à l'*Eucalyptus* une dispersion et un succès mondiaux (Fraval, 2005). Le genre botanique *Eucalyptus* enregistre plusieurs autres espèces (*Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus dives*, *Eucalyptus radiata*, *Eucalyptus polybractea*...etc.).



Figure 10. Tiges et feuilles d'*Eucalyptus globulus* dans son habitat

1.4.1.3 Répartition géographique des *Eucalyptus* en Algérie

Les *Eucalyptus* occupaient une surface de 5 855 hectares dont plus de la moitié dans la région Oranaise (**Boudy, 1955 ; Benazzeddine, 2010**). Actuellement des plantations longent le littoral d'El-Kala et d'Azefoun. On retrouve cette espèce dans la région de la Mitidja et celle de Hadjout (**Foudil-Cherif, 1991 ; Benazzeddine, 2010**).

1.4.1.4 Utilisation

L'*Eucalyptus* est utilisé pour soigner les maladies de refroidissement, le diabète, les douleurs rhumatismales, certaines affections des voies urinaires, les migraines, les sinusites et les vers intestinaux. L'extraction d'huile essentielle est réalisée à partir des feuilles et rameaux (**Padrini & Lucheroni, 1996**).

1.4.1.5 Propriétés thérapeutiques d'*Eucalyptus globulus*

L'HE d'*Eucalyptus globulus* est un antiseptique des voies respiratoires, expectorant, analgésique, en usage interne et externe, décongestionnant, hypoglycémiant, une action détoxifiante des toxines diphtérique et tétanique, antimicrobien sur les bactéries Gram +, antifongique, anti-inflammatoire, améliore les épreuves fonctionnelles respiratoires, mucolytique, antispasmodique bronchique, fébrifuge, tropisme broncho-pulmonaire très marqué, asséchante en forte proportion. Les propriétés médicinales de l'*Eucalyptus* sont surtout attribuables à l'eucalyptol (aussi appelé 1,8-cinéole) que renferment ses feuilles. Le 1,8-cinéole que contient l'*Eucalyptus* s'est révélé être efficace pour réduire la dose de corticostéroïdes utilisée par des sujets souffrant d'asthme et pour combattre le rhume (**Tesche et Metternich, 2008**).

L'identification botanique des plantes récoltées a été aimablement réalisée par le Professeur **Zaafour Moncef** de l'université Badji Mokhtar – Annaba (Algérie).

1.4.1.6 Position systématique d'*Eucalyptus globulus*

C'est une plante locale de la région d'El-Tarf, très utilisée en médecine traditionnelle. Sa position systématique est présentée par le **Tableau II**.

Tableau II. Position systématique d'*Eucalyptus globulus*

Règne	Plante
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Famille	Myrtacées
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>Eucalyptus globulus</i>

(Metro, 1970)

1.4.2 *Rosmarinus officinalis*

Rosmarinus est nom latin qui se compose de : "ros" signifie la rosée et "marinus" signifie appartenir à la mer (Tableau III). Mais, selon Heinrich *et al.* (2006), le nom original peut être dérivé du grec "rhops" arbuste et "myron" baume

- **Nom Scientifique** : *Rosmarinus officinalis*, L., 1753.

Tableau III. Noms vernaculaires du *Rosmarinus officinalis*

Nom Algérien	Klil – كليل
Nom Arabe	Iklil El-jabal (إكليل الجبل) - Hssalouban (حصى لوبان)
Nom Berbère et Targui	Ouzghir – Touzala (Elchahat, 2000).
Nom français	Romarin
Nom anglais	Rosemary

1.4.2.1 Caractéristiques

Rosmarinus officinalis (Figure 11) est une plante aromatique. Les plantes aromatiques sont constituées par des organes apportant une odeur et une saveur destinées à améliorer un bien-être lors de la dégustation. Il peut s'agir soit d'une plante entière ou d'un organe particulier (feuilles, fleurs, fruits, bourgeons, grains, rhizomes ou bulbes (Mostafa, 2011). Les plantes aromatiques représentent environ 10% des 800.000 espèces végétales recensées (Saint Girons, 2014).



Figure 11. Tiges et feuilles de *Rosmarinus officinalis*. A: Tiges, feuilles – B: fleurs – C: graines

1.4.2.2 Description botanique de *Rosmarinus officinalis*

Cette plante appartient à la famille des Labiées ou lamiacées. Elle se présente sous forme d'arbuste, sous arbrisseau ou herbacée (**Atik-Bekkara et al., 2007**) mesurant environ de 0,8 à 2 m de hauteur (**Gonzalez-Trujano et al., 1988**) et est couverte d'une écorce grisâtre. Elle se divise en nombreux rameaux opposés, tortueux. La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet (on trouve plus rarement la variété à fleurs blanches *Rosmarinus officinalis albiflorus*), hermaphrodites, visibles de janvier en mai. Elles sont groupées à l'extrémité des rameaux à la base des feuilles. Les feuilles opposées décussées insérées sur une tige à section carrée, étroites, lancéolées, linéaires, à bords roulés en dessous, sont vertes foncé et luisantes à la face supérieure. La floraison commence à la fin du mois de janvier et se poursuit jusqu'au début mai. Comme pour la plupart des *Lamiacées*, le fruit est un tétramère (de couleur brune), ovoïde, est entouré par un calice persistant et sec. Il attire les insectes (entomophiles) pour assurer la pollinisation (**Gregory, 1988**).

1.4.2.3 Répartition géographique en Algérie

Le Romarin pousse spontanément dans le Nord de l'Algérie. Il est originaire du bassin méditerranéen (aux altitudes faibles) (**Larousse des plantes médicinales, 2013**). Il longe les côtes méditerranéennes sur tout le Tell algérien et au Maghreb ainsi que sur les rives Sud de l'Europe (**Garnier et al., 1961**). Il se retrouve dans les garrigues, maquis, pelouses sèches ; souvent sur sols calcaires (**Escuder, 2007**).

1.4.2.4 Utilisation

Le *Romarin* est souvent utilisé dans l'assaisonnement des plats. Selon **Svoboda et Deans (1992)** le romarin est un bon antioxydant. De même, **Arnold et al. (1997)** constatent que le romarin est très répandu en cosmétique et la conservation des produits alimentaires, ainsi que pour l'amélioration des sols (**Heinrich et al., 2006**).

1.4.2.5 Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du Romarin

Cette plante est utilisée en médecine en raison de ses différentes propriétés :

- Anti spasmodiques, diurétiques, hépato protectrices, soulagement des désordres respiratoires (**Lemonica et al., 1996**).
- Antibactériennes, antimutagéniques, antioxydantes, chémopréventives (**Ibañez et al., 2000**).
- Anti-inflammatoires, antimétastatiques (**Cheung & Tai, 2007**).
- Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires (**Singletary & Nelshoppen, 1991**) et la prolifération des tumeurs cutanées (**Huang et al., 1994**).
- D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse (**Offord et al., 1995**), Carnosol du

Romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (HIV) (Aruoma *et al.*, 1996) alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-1 (Paris *et al.*, 1993).

1.4.2.6 Position systématique de *Rosmarinus officinalis*

C'est une plante aromatique qu'on peut cultiver pour profiter de ses vertus médicinales et l'utiliser également en gastronomie. Sa position systématique est représentée par le **tableau IV**.

Tableau IV. Position systématique de *Rosmarinus officinalis*

Règne	Plante
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Dicotylédones
Classe	Lamiales (labiales)
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i>

(Quezel et Santa, 1963).

1.5 Sites de récolte du matériel végétal

La récolte de nos échantillons a été réalisée au mois de janvier concernant *Eucalyptus globulus* et au mois de décembre concernant le *Rosmarinus officinalis*.

1.5.1 Ramel Essouk

Habitat naturel d'*Eucalyptus globulus* est Ramel Essouk, c'est une zone montagneuse, un secteur important du Parc National d'El-Kala. Riche en ressources aromatiques et médicinales, sources de revenu des populations rurales de la région. Cette zone s'étale sur une superficie totale de 6215 hectares, située au versant Nord d'El Tarf.

1.5.2 Bougous

Le Romarin est une plante largement cultivée dans la commune de Bougous, c'est une région montagneuse et elle représente le troisième secteur gestionnaire du Parc National d'El-Kala. Elle s'étend sur une superficie de 22 000 ha ; limitée au nord par la commune d'Ain Al-Assel, à l'est par la frontière Algéro-Tunisienne, à l'ouest par la wilaya d'El-Tarf, et au sud par la commune de Zitouna (Figure 12).

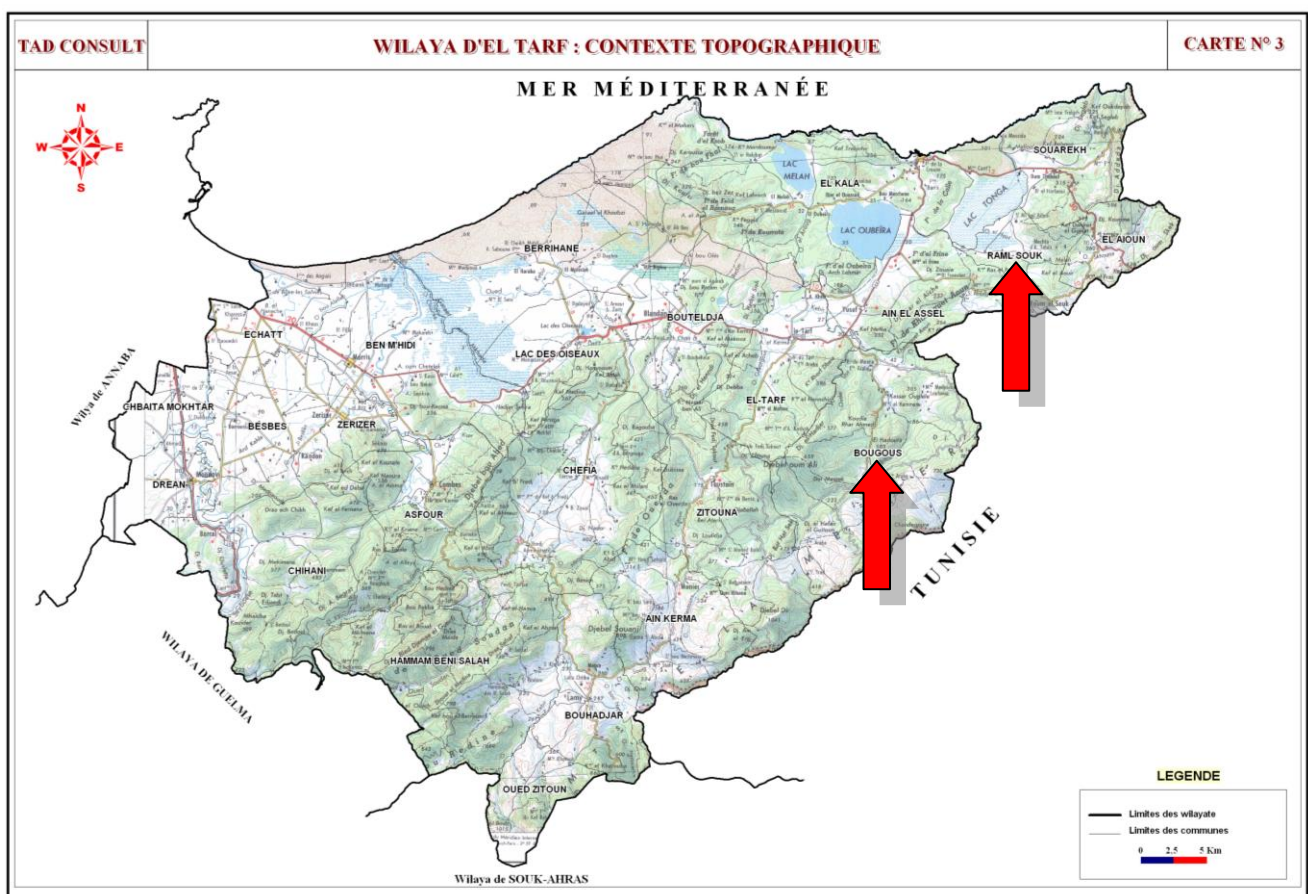


Figure 12. Situation géographique de sites de récolte de plantes : Bougous et Ramel Souk

Ramel Souk: Altitude 157 m – Latitude 36° 47' 10" Nord – Longitude 8° 32' 8" Est

Bougous : Altitude 183 mm – Latitude 36° 39' 34" Nord – Longitude 8° 22' 10" Est

1.6 Séchage et conservation du matériel végétal

Selon **Valnet (1983)**, les parties aériennes en premier temps doivent généralement être séchées à l'ombre en atmosphère sèche, pendant quelques jours (plus de trois semaines pour les plantes étudiées). Après séchage, nos échantillons ont été séparés des tiges puis conservés dans des sacs en papier ou dans des boîtes en bois dans un milieu sec (**Figure 13**).

NB : Les plantes une fois sèche, elles gardent sa verdure avec modération du degré de la couleur un peu claire (*Eucalyptus globulus*) ou bien foncée (*Rosmarinus officinalis*). Si elles deviennent noires, c'est du champignon.



Figure 13. Séchage (A : *Eucalyptus globulus* - B : *Rosmarinus officinalis*) et conservation (C)

1.7 Méthodologie de l'enquête

Dans notre étude nous avons adopté la méthode d'exploration des lieux.

1.7.1 Déroulement de l'enquête: Entretien direct

Nous avons adopté l'entretien direct. Pour gagner du temps, traiter les résultats à temps et pour éviter toute sorte d'humiliation des habitants à l'égard de la langue du questionnaire, on a posait les questions en arabe avec illustration des plantes d'étude sur le téléphone. Les entretiens étaient individuels en face à face. Les personnes enquêtées sont prises au hasard de différentes couches socio-économiques.

1.7.2 Lieu de l'enquête

L'enquête ethnobotanique, a été effectuée sur terrain au bout de quatre années successives (2017, 2018, 2019 et 2020), au niveau de 13 communes (**Tableau V**) de la wilaya d'El-Tarf (La wilaya d'El-Tarf se compose de 24 communes qui se regroupent en 7 Daïras) afin de recenser de près le maximum d'informations et de scruter les différentes formes et façons d'utilisation d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis* en phytothérapie traditionnelle. Les entrevues étaient aléatoires, la population choisie au hasard et non dirigée pour garder la transparence.

Tableau V. Répartition des enquêtes ethnobotaniques

Région d'étude	Commune	Fiches établies
El-Tarf	Ain Assel	52
	Ain Karma	12
	Ben Mhidi	8
	Besbess	26
	Bougous	56
	Bouhadjar	16
	Boutheldja	10
	Cheffia	38
	El Kala	38
	El Tarf	74
	Lac Des Oiseaux	12
	Zerizer	24
	Zitouna	34
Total	13 Communes	400 Fiches remplies

1.7.3 Outil d'enquête

Les réponses tenues des interviews ont été enregistrées à l'aide d'une fiche (**Annexe 01**) remplies par nous même, tout en gardant l'anonymat de la population questionnée. Nous avons tracé nous même ce questionnaire selon nos objectifs de recherche (**Figure 14**).

- La première partie du questionnaire concerne des interrogations sur le profile de la personne questionnée, son âge et genre.

2 Résultats de la première partie

Notre étude a été menée par questionnaire, après quatre années de récolte de données sur terrain auprès des habitants de 13 communes visitées de la région d'El-Tarf, on a compilé 400 fiches sur l'utilisation et les pratiques d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis*. Après traitement, les résultats sont présentés ci-dessous.

2.1 Répartition selon le genre de la population questionnée

Les résultats dans le **tableau VI** et la **Figure 15**, nous indiquent une dominance féminine intéressante d'un pourcentage de 60,25 %, pour l'utilisation des espèces étudiées et les pratiques thérapeutiques par rapport aux hommes avec un pourcentage de 39,75 %.

Tableau III. Genre de la population questionnée

Genre	Femme	Homme
Fréquence	241,00	159,00
Pourcentage (%)	60,25	39,75

2.2 Répartition selon l'âge de la population questionnée

Parmi les personnes questionnées, les personnes jeunes (20 à 40 ans) représentent 38,0 % des utilisateurs des plantes. Le pourcentage le plus élevé est représenté sur le **tableau VII** et la **Figure 15**, est celui de la classe d'âge de 40-60 ans, avec un pourcentage de 45,5 %. Par contre, on note un taux de (16,5 %) pour les personnes les plus âgées.

Tableau VII. Fréquences des tranches d'âges de la population questionnée

Tranches d'âge (Ans)	20 - 40	40 - 60	> 60
Fréquence	152	182	66
Pourcentage (%)	38,0	45,5	16,5

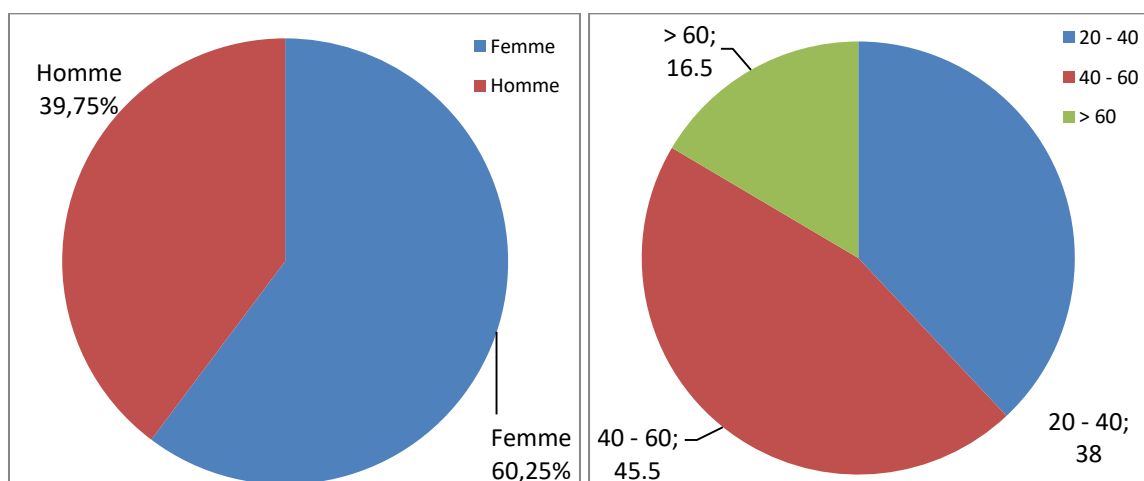


Figure 15. Descripteurs démographiques du corpus questionné

2.3 Répartition selon la partie utilisée des espèces étudiées

D'après nos résultats mentionnés sur le **tableau VIII** et la **figure 16**, nous envisageons que la feuille est la partie la plus utilisée pour les besoins thérapeutiques, cosmétiques et gastronomie. Avec un pourcentage de 73,2 % pour *Eucalyptus globulus* et de 53,3% pour *Rosmarinus officinalis* par rapport aux autres parties de la plante, suivie par les fleurs avec 13,2 % pour l'*Eucalyptus globulus* et 28,3% pour le *Rosmarinus officinalis*, la plante entière avec 13,2 % pour *Eucalyptus globulus* et 15,9 % pour *Rosmarinus officinalis*. Par contre les tiges et les graines avec un très faible pourcentage. Ceci peut s'expliquer par le fait que la feuille est la partie la plus accessible à l'homme en toutes les saisons.

Tableau VIII. Les parties utilisées de plantes selon la population questionnées

Parties des plantes		Feuilles	Fleure	Plante entière	Tiges	Graines
Plantes						
<i>Eucalyptus globulus</i>	Fréquence	322,0	58,0	58,0	2,0	0,0
	Pourcentage (%)	73,2	13,2	13,2	0,5	0,0
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Fréquence	168,0	89,0	50,0	4,0	4,0
	Pourcentage (%)	53,3	28,3	15,9	1,3	1,3

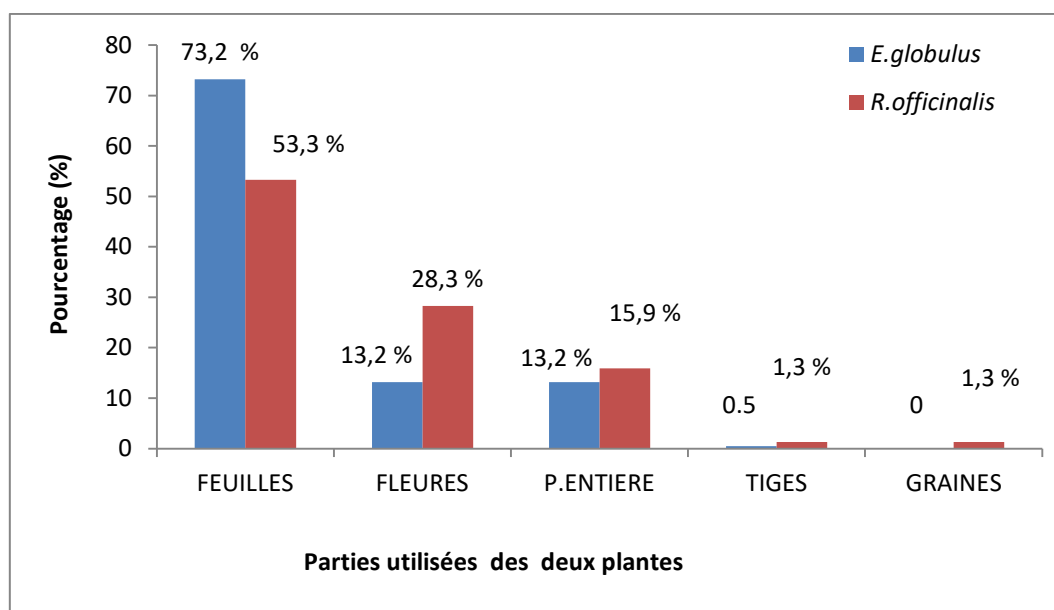


Figure 16. Pourcentage des utilisateurs selon les parties utilisées des plantes d'étude

2.4 Répartition selon l'état des espèces étudiées

Les résultats montrent que les habitants d'El-Tarf utilisent l'*Eucalyptus globulus* et le *Rosmarinus officinalis* à l'état frais avec un pourcentage qui varie respectivement entre 75,8 % et 61,8 %, qu'à l'état sec d'après les proportions enregistrées (Tableau IX, Figure 17) : 24,2 % pour *Eucalyptus globulus* et 38,2 % pour *Rosmarinus officinalis*. Ce résultat peut être expliqué par la disponibilité des plantes à l'état naturel ou bien sur le marché, puisque cette région appartient au parc d'El Kala région très riche en faune et flore.

Tableau IX. Pourcentage des utilisateurs selon l'état de la plante

Etats des plantes	<i>Eucalyptus globulus</i>		<i>Rosmarinus officinalis</i>	
	Fréquence	Pourcentage (%)	Fréquence	Pourcentage (%)
Frais	169	75,8	173	61,8
Sec	54	24,2	107	38,2

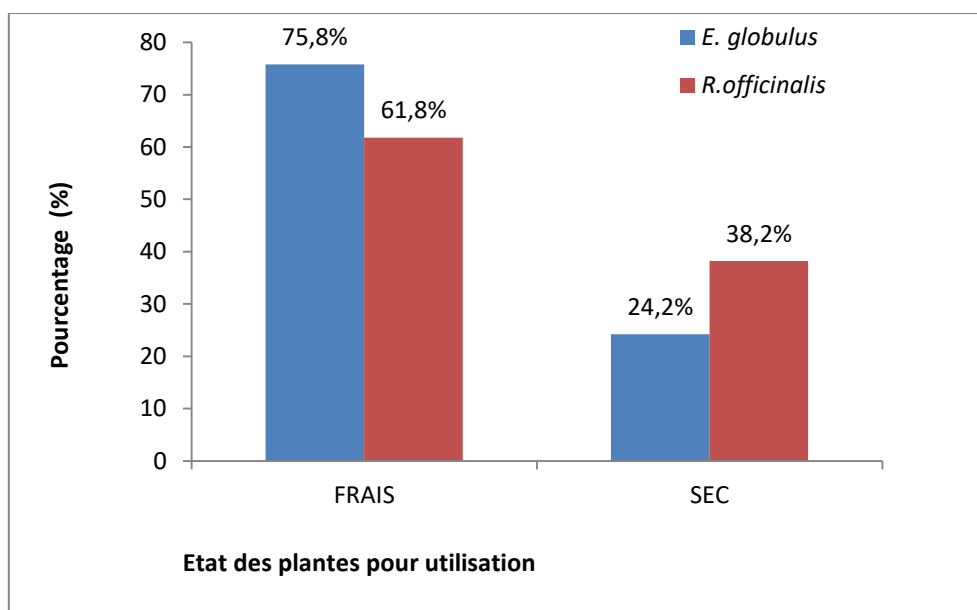


Figure 17. Pourcentage des utilisateurs selon l'état de la plante

2.5 Répartition selon la façon de préparation des espèces étudiées

Les résultats ressortent que les bains de vapeurs est le mode de préparation dominant du *Eucalyptus globulus* avec 69,2 %. Il semble que les habitants préfèrent ce mode pour la facilité d'emploi, puis l'utilisation en infusion avec 27,9 % et enfin poudre avec 2,5 % (Tableau X, Figure 18). Concernant le *Rosmarinus officinalis*, on remarque sur le tableau 8 et la figure 10 que la façon de préparation la plus répandue est surtout l'infusion (46,6 %) c'est le pourcentage le plus élevé suivie par décoction (29,7 %), poudre (16,3 %) et bain de vapeurs (7,4 %).

Tableau X. Pourcentage de la façon de préparation des plantes selon les utilisateurs

Préparations	<i>Eucalyptus globulus</i>		<i>Rosmarinus officinalis</i>	
	Fréquence	Pourcentage (%)	Fréquence	Pourcentage (%)
Bain de vapeurs	166	69,2	21	7,4
Cataplasme	1	0,4	0	0
Décoction	0	0	84	29,7
Infusion	67	27,9	132	46,6
Poudre	6	2,5	46	16,3

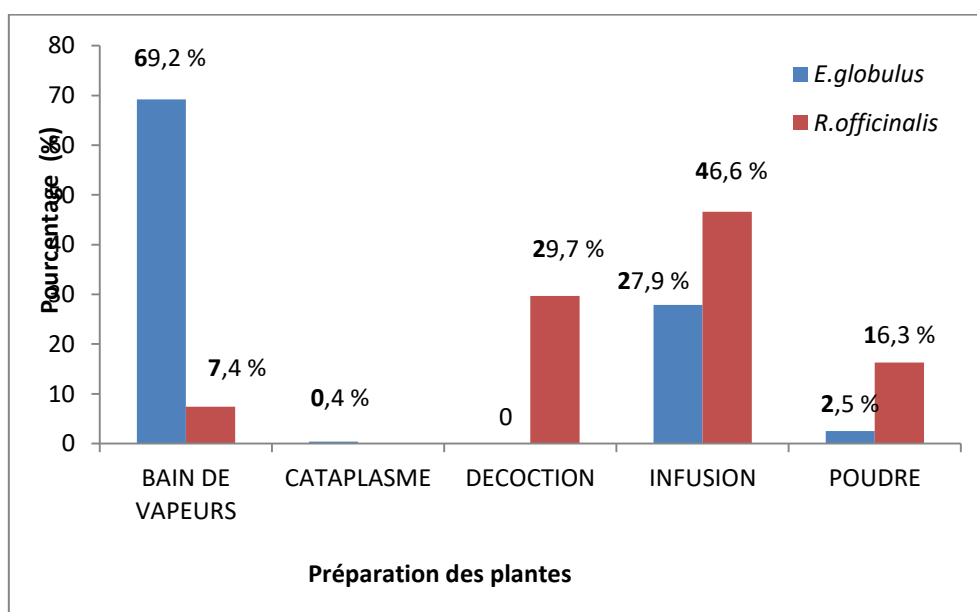


Figure 18. Pourcentage de la façon de préparation des plantes selon les utilisateurs

2.6 Répartition selon la Façons de consommation des espèces étudiées

Selon le **tableau XI** et la **Figure 19**, l'analyse des données collectées révèle que les deux espèces étudiées sont majoritairement utilisées seules avec un pourcentage enregistré de 89,3 % pour *Eucalyptus globulus* et 68,4 % pour *Rosmarinus officinalis*. La population questionnée nous révèle aussi que l'usage des espèces étudiées en mode associé est moins fort en enregistrant 10,7 % pour *Eucalyptus globulus* et 31,6 % pour *Rosmarinus officinalis*.

Tableau XI. Pourcentage de la façon de consommation des plantes selon des utilisateurs

Plantes Consommation	<i>Eucalyptus globulus</i>		<i>Rosmarinus officinalis</i>	
	Fréquence	Pourcentage (%)	Fréquence	Pourcentage (%)
Associée	22	10,7	89	31,6
Seule	183	89,3	193	68,4

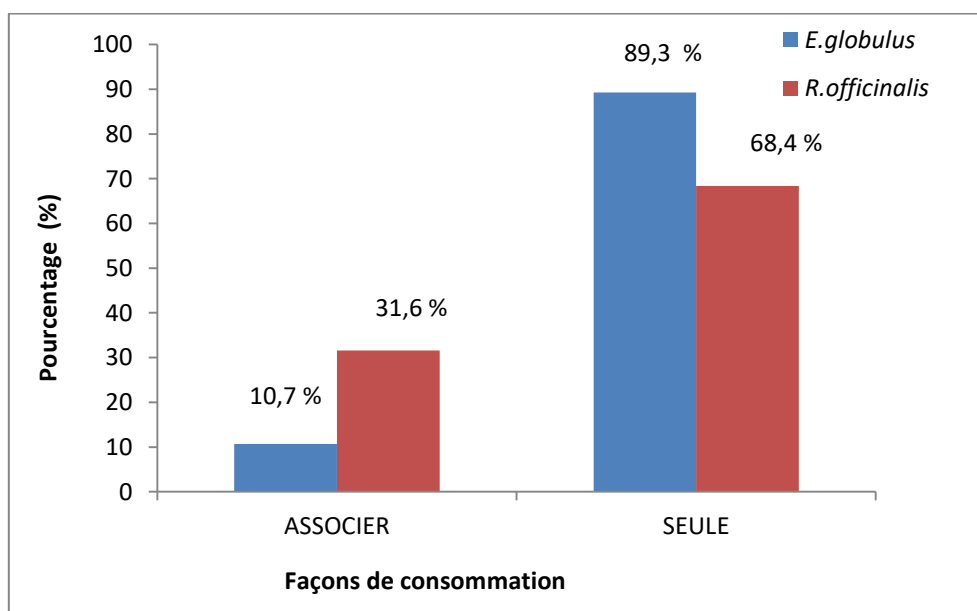


Figure 19. Pourcentage de la façon de consommation des plantes par les utilisateurs

2.7 Répartition selon le mode d'administration des espèces étudiées

On remarque qu'il ya une forte dominance de l'usage interne (71,5 %) par rapport à l'usage externe (28,5 %) du *Eucalyptus globulus* (Tableau XII, Figure 20). En parallèle, on remarque que le principal type d'usage de la population interrogée du *Rosmarinus officinalis* est l'usage interne (81,6 %) qu'externe (18,4%) (Tableau 10, Figure 20).

Tableau XII. Pourcentage du mode d'administration selon les utilisateurs

Administration \ Plantes	<i>Eucalyptus globulus</i>		<i>Rosmarinus officinalis</i>	
	Fréquence	Pourcentage (%)	Fréquence	Pourcentage (%)
Externe	65	28,5	45	18,4
Interne	163	71,5	200	81,6

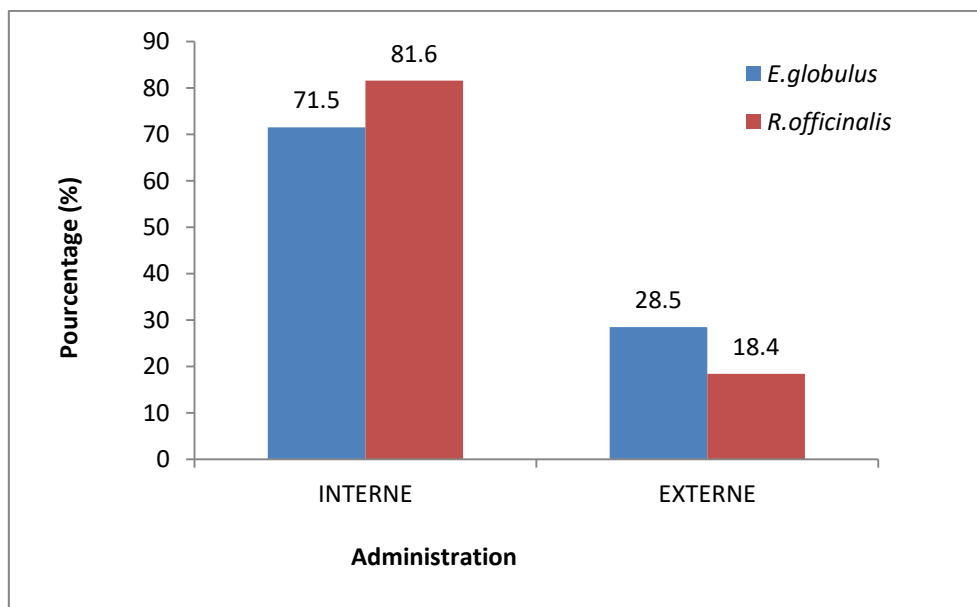


Figure 20. Pourcentage du mode d'administration selon les utilisateurs

2.8 Répartition selon les maladies traitées

On constate selon la population interrogée que la majorité des usages d'*Eucalyptus globulus* est pour soigner la grippe avec une dominance de 56,5%, suivie par les troubles respiratoires avec 38,2%, ensuite le stress avec 5,3%.

La **Figure 21** et le **Tableau XIII** montrent aussi que les maladies les plus traitées par *Rosmarinus officinalis* sont la grippe avec un pourcentage de 28,2%, suivi par les maladies du tube digestif et son usage en cuisine avec un pourcentage de 25,2% et de 21,0% respectivement. Les maladies représentant les fréquences les plus faibles sont le stress (11,2%), en cosmétiques (8,6%) et les maladies cardiovasculaires (5,8%).

Tableau IVII. Pourcentage des maladies traitées par les espèces étudiées selon les utilisateurs

maladies traitées	<i>Eucalyptus globulus</i>		<i>Rosmarinus officinalis</i>	
	Fréquence	Pourcentage (%)	Fréquence	Pourcentage (%)
Cardiovasculaires	0	0	25	5,8
Cosmétiques	0	0	37	8,6
Cuisine	0	0	90	21,0
Grippe	192	56,5	121	28,2
T. Respiratoires	130	38,2	0	0
Stress	18	5,3	48	11,2
Tube digestif	0	0	108	25,2

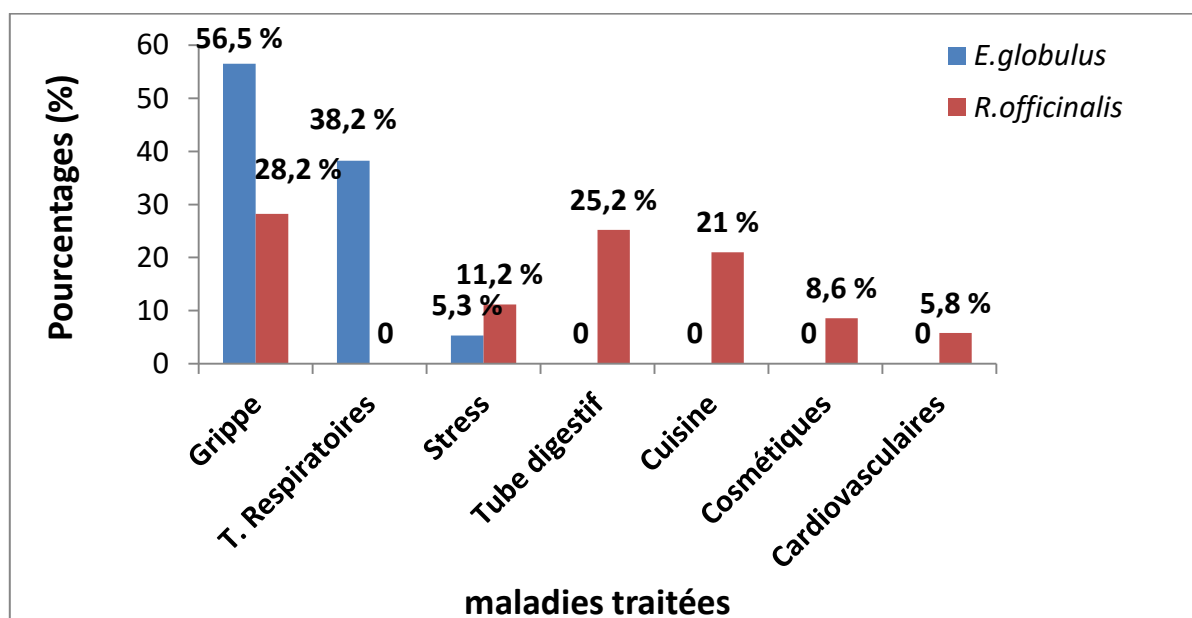


Figure 21. Pourcentage des maladies traitées par les espèces étudiées selon les utilisateurs

2.9 Répartition selon les interdictions de consommation

D'après le **tableau XIV** illustré en **figure 22**, la population interviewées se met d'accord sur l'interdiction d'usages des deux espèces étudiées à forte consommation. Même similitude d'interdiction pour certaines catégories sensibles comme : les nouveaux nés, les femmes enceintes et les enfants. En plus, les personnes qui souffrent de maladies chroniques comme : hypertendus, allergies. 8,1 % de la population questionnée interdisent la consommation d'*Eucalyptus globulus* pour les personnes asthmatiques et 7,9 % n'observent aucun effet indésirable après l'usage de *Rosmarinus officinalis*.

Tableau VV. Pourcentage d'interdictions de consommation les espèces étudiées

Plantes Consommation	<i>Eucalyptus globulus</i>		<i>Rosmarinus officinalis</i>	
	Fréquence	Pourcentage (%)	Fréquence	Pourcentage (%)
A forte consommation	70	14,6	78	13,9
Dans le cas d'allergies	10	2,1	34	6,1
Dans le cas de l'asthme	39	8,1	0	0
Aucun Effet notable	0	0	44	7,9
Chez l'enfant	34	7,1	43	7,7
Chez la femme Enceinte	139	29,0	156	27,9
Chez les hypertendus	43	9,0	45	8,0
Usage chez le nouveau Né	145	30,2	160	28,6

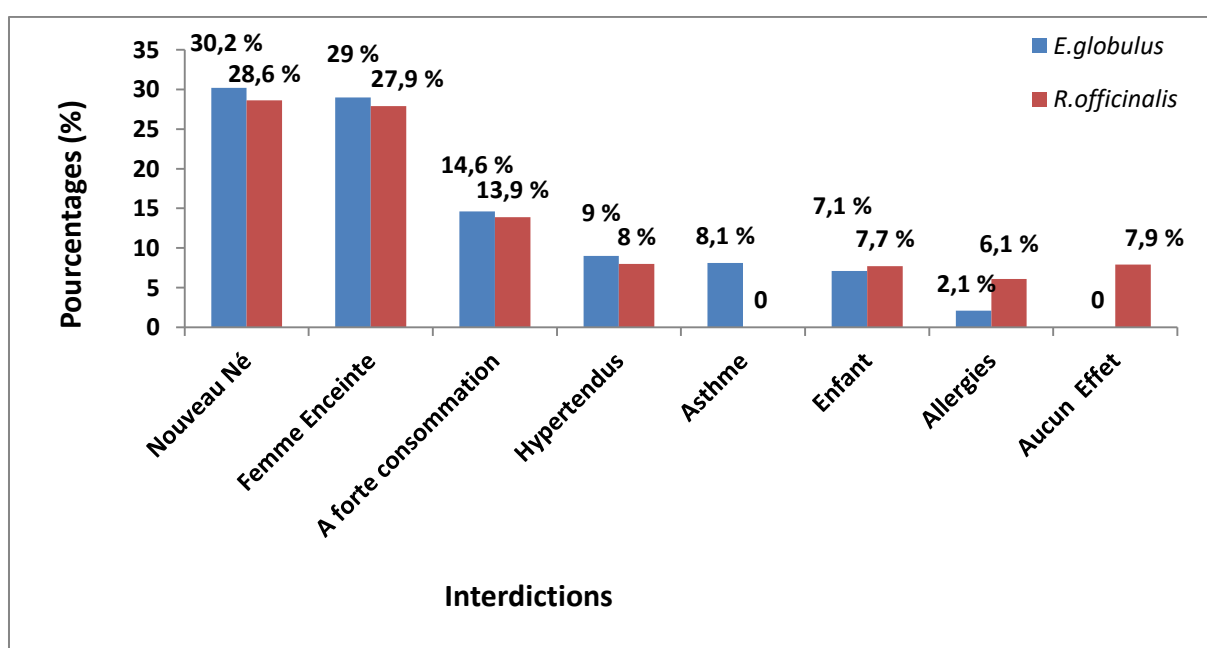


Figure 22. Pourcentage d'interdictions de consommation les espèces étudiées

2.10 Répartition selon la source d'information

On ressort du **Tableau XV** et **Figure 23**, que la population interrogée nous a fournie ces informations héritées de leurs proches, savoir-faire, ancêtres (48,0%), familles (39,82%) ou bien acquise d'après des expériences personnelles (9,64%) et des études effectuées (2,54%).

Tableau XV. Pourcentages de la population interrogée selon leur source d'information

Type de source	Ancêtres	Etude	Expérience Personnelle	Famille
Fréquence	264	14	53	219
Pourcentage (%)	48,0	2,54	9,64	39,82

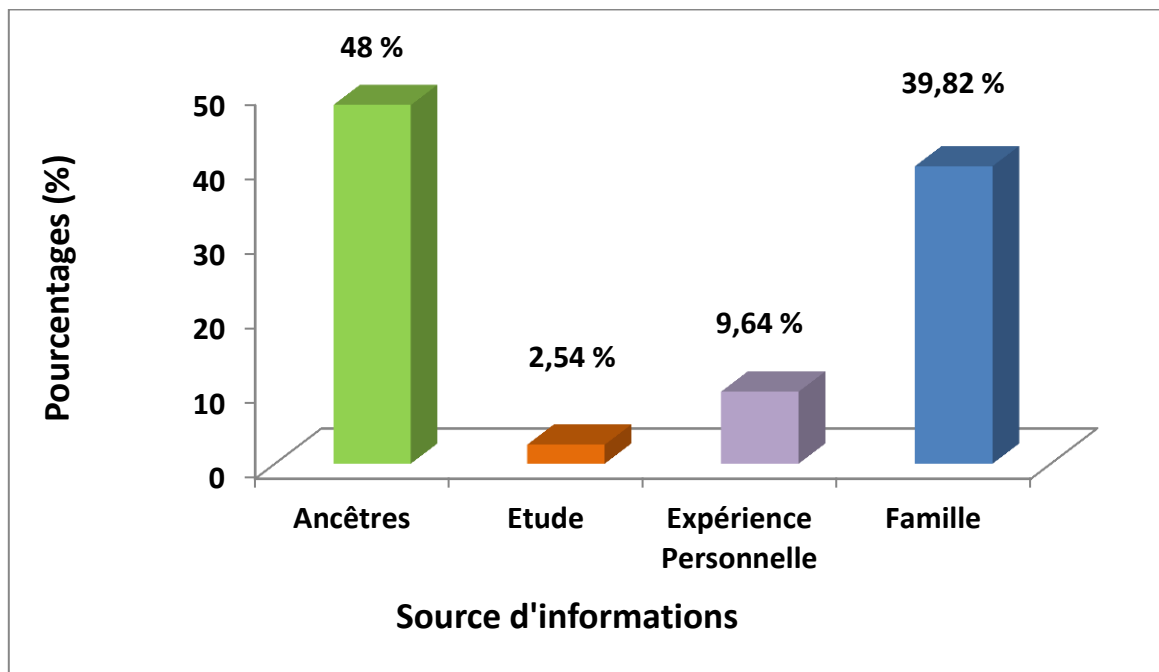


Figure 23. Pourcentage des utilisateurs selon leur source d'information

3 Discussion de la première partie

3.1 L'enquête ethnobotanique

3.1.1 Le genre de personnes questionnées

La population questionnée concernant l'utilisation de *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus globulus* dans différentes régions d'El-Tarf, nous révèle que les femmes sont les plus intéressées par l'utilisation des deux plantes (60,25 %) par rapport aux hommes (39,75 %). Même l'inventaire mené par **Lazli et al. (2019)** dans la même zone d'étude, révèle aussi que les femmes (71,8 %) de la région d'El-Tarf s'intéressent le plus à la médecine traditionnelle que les hommes (28,2 %). D'autres travaux ethnobotaniques le confirment (**Hamel et al., 2018 ; Alaoui et Laaribya, 2017; Boutabia et al., 2020**). Nous pouvons justifier cette dominance féminine par la transmission matriarcale des connaissances.

3.1.2 L'âge

Nous avons enregistré que les personnes âgées de 40 à 60 ans sont les plus utilisateurs des deux plantes (45,5 %) par rapport à la tranche d'âge de 20 à 40 ans (38 %). Nos résultats se réaffirment par beaucoup de travaux (**Hamel et al., 2018 ; Alaoui et Laaribya, 2017; Boutabia et al., 2020**). Alors que **Lazli et al. (2019)** dans leur enquête ont utilisé des tranches d'âges différentes mais les résultats se rapprochent où les personnes âgées de 50 à 75 ans sont représentées par un taux de 48,7% et celles de la tranche d'âge de 30 à 50 ans avec un pourcentage de 32,5%.

3.1.3 La partie utilisée des plantes

A partir de notre enquête, la partie de la plante la plus utilisée comme remède est les feuilles pour les deux plantes d'étude que ce soit *Eucalyptus globulus* (73,2 %) ou *Rosmarinus officinalis* (53,3 %). Ce qui est confirmé par l'inventaire de **Lazli et al. (2019)**, en plus des résultats enregistrés par d'autres travaux ultérieurs (**Boutabia et al., 2020; Hamel et al., 2018**). Selon les habitants de la région, le feuillage est la partie la plus riche en éléments thérapeutiques. La feuille reste la partie de plante la plus disponible. Sachant que l'*Eucalyptus globulus* est une plante locale de la région et *Rosmarinus officinalis* est largement cultivée.

3.1.4 Etat de la plante utilisée

Issues de nos interviews, nous constatons que les personnes sondées utilisent les deux plantes de façon fraîche, ce qui corrobore avec les résultats de **Lazli et al. (2019)**. En revanche, les résultats de **Adouane (2016)** révèlent que la population questionnée préfèrent l'utilisation des feuilles desséchées. L'utilisation des plantes sous forme fraîche ou sèche dépend principalement de leur disponibilité dans l'environnement des personnes

interrogées (**Aouadi, 2021**). Ce résultat peut être expliqué par la disponibilité des plantes soit à l'état naturel ou bien cultivé, puisque cette région appartient au parc d'El Kala région très riche en faune et flore.

3.1.5 Façons de consommation

Notre population sondée adhère en médecine traditionnelle l'usage des feuilles seules ce qui est similaire aux résultats de (**Adouane, 2016 ; Rhattas et al., 2016**). On peut justifier que les habitants de la région d'El-Tarf connaissent les plantes de la région et leurs formes thérapeutiques et qu'ils font confiance aux savoirs prés-requis.

3.1.6 Mode d'administration des espèces étudiées

Nous avons une forte dominance de l'usage interne par rapport à l'usage externe. Nos résultats correspondent aux résultats trouvés (**Adouane, 2016 ; Bouzid et al., 2017**). Cela peut justifier que la voie interne est plus rapide et bénéfique pour soigner le malaise.

3.1.7 Préparation des espèces étudiées

Les résultats de notre étude montrent que la façon de préparation la plus familière, et pour accélérer l'action thérapeutique d'*Eucalyptus globulus*, est le bain de vapeurs (69,2 %), suivi par l'infusion (27,9 %). Ces mêmes résultats ont été mentionnés par **Mikou et al. (2015)**. Alors que **Boumediou et Addoun (2017)** trouvent que la décoction constitue le mode d'emploi le plus fréquent. Concernant *Rosmarinus officinalis*, l'infusion (46,6 %) est la méthode la plus utilisée pour sa consommation, suivie par la décoction (29,7 %). Nos résultats semblent être similaires aux recherches de **Lazli et al. (2019)**, **Hendel (2017)** et **Bouayyadi et al. (2015)**. En revanche, **Adouane (2016)** ainsi que **Lazli et al. (2019)**, mentionnent que la fumigation est la méthode la plus utilisée pour l'*Eucalyptus globulus*, ce qui est semblable au principe de bains de vapeurs.

3.1.8 Maladies traitées

Les habitants de la région d'El Tarf connaissent parfaitement les propriétés thérapeutiques d'Eucalyptus et du Romarin. Selon notre étude, les maladies les plus traitées par l'Eucalyptus se sont la grippe (56,5 %), suivis par les maladies respiratoires (38,2%). Ceci confirme les résultats de **Lazli et al. (2019)**, **Boumediou & Addoun (2017)** ainsi que **Adouane (2016)**. La majorité des usages du Romarin est dans le but de soigner la grippe (28,2%) et les troubles de tube digestif (25,2%). Cependant, les recherches de **Lazli et al. (2019)**, de **Boumedio & Addoun (2017)** de **Adouane (2016)** et de **Hendel (2017)** mentionnent que le Romarin est très utile pour traiter respectivement les troubles hépatiques, troubles digestifs et troubles abdominaux. Uniquement les résultats d'enquête d'**Adouane (2016)** mentionnent l'usage du *Rosmarinus officinalis* en gastronomie et cosmétiques.

3.1.9 Interdictions de consommation

Nos plantes d'étude présentent plusieurs interdictions de consommation et effet indésirables pour les personnes sensibles et ceux qui souffrent de maladies chroniques. Selon les observations et connaissances des habitants de la région d'El-Tarf, nos espèces étudiées peuvent être toxiques à forte consommation, ce qui est constaté avec les résultats de **Boumedio & Addoun (2017)**. Alors que, d'autres résultats n'enregistrent aucun effet secondaire ou de risque sur la santé humaine (**Adouane, 2016**). En revanche, les propriétés thérapeutiques des plantes et de leurs huiles essentielles ne sont pas les mêmes car les vertus thérapeutiques ne possèdent pas la même concentration (**Desseaux, 2018**). Ce qui est confirmé par la population sondée dont ils n'abusent pas de la consommation des deux plantes d'étude.

3.1.10 Source d'informations

Nos résultats montrent que les données des personnes interviewées sont basées sur les connaissances des ancêtres (48,0%) et de leurs familles ou bien entourage (39,82%). Ce qui coïncide avec d'autres recherches (**Boutabia et al., 2020; Lazli et al., 2019; Alaoui & Laaribya, 2017**). Donc, on peut conclure que la connaissance des propriétés et usages des plantes médicinales sont généralement acquis suite à une longue expérience accumulée et transmise d'une génération à l'autre.

Conclusion de la première partie

D'après les résultats obtenus, nous constatons une dominance féminine. Les femmes qui appartiennent à la tranche d'âge de 40 à 60 ans s'intéressent à la phytothérapie traditionnelle et détiennent plus les informations du savoir-faire transmis des ancêtres. En plus, la phytothérapie traditionnelle est le moyen le moins coûteux du côté économique et le moins risqué sur la santé des enfants avant de consulter le médecin si le malaise se prolongeait.

De cette enquête nous pouvons conclure à ce qui suit :

- Selon les habitants de la région, le feuillage est la partie la plus riche des plantes en éléments thérapeutiques, et la plus facile d'usage à cause de la disponibilité des feuilles.
- La population sondée montre une grande affinité aux feuilles fraîches que sèches pour la préparation des remèdes. Sachant que, les deux plantes sont disponibles dans la région dont *Eucalyptus globulus* est une plante locale, facile à récolter et le *Rosmarinus officinalis* largement cultivé dans les maisons ou bien dans les établissements.
- Les habitants de la région d'El-Tarf connaissent les espèces étudiées et leurs formes thérapeutiques qui font confiance aux savoirs prés-requis. En utilisant les deux espèces étudiées seule et par voie interne. Cela leur semble plus rapide et bénéfique pour soigner leur malaise.
- Les habitants de la région d'El-Tarf connaissent parfaitement les propriétés thérapeutiques puisqu'ils les utilisent pour les mêmes fins. Cela est grâce aux savoir-faire transmis et conservé.
- Bain de vapeurs été la préparation la plus familière d'*Eucalyptus globulus* par les habitants de la région alors que l'infusion été le mode d'emploi le plus fréquent pour *Rosmarinus officinalis*.
- Le savoir thérapeutique des deux espèces étudiées est semblable aux pratiques de plusieurs régions de l'Algérie. Car ils partagent tous les mêmes connaissances presque sur les maladies traitées par *Eucalyptus globulus*, comme la grippe et les maladies respiratoires. Aussi le *Rosmarinus officinalis* traite les troubles liés aux tubes digestifs et semble aussi efficace en gastronomie et en cosmétique.
- Les habitants de la région d'El-Tarf montrent une bonne connaissance sur les interdictions de consommation des deux espèces étudiées et leur toxicité, ce qui corrobore avec des travaux antérieurs. Il semble être un savoir-faire thérapeutique des ancêtres qui est bien protégé et partagé.

Partie 2 :

Les huiles essentielles (localisation, extraction et composition)

composition)

PARTIE 2 : LES HUILES ESSENTIELLES (LOCALISATION, EXTRACTION ET COMPOSITION)

Introduction de la deuxième partie

Selon l'Association Française de Normalisation **AFNOR (1992)**, l'huile essentielle est « un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage ». L'huile essentielle est, le plus souvent, séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (**A.N.S.M., 2008**).

Le Professeur **Valnet (1983)**, père de l'aromathérapie, dépeint l'huile essentielle : « *l'huile essentielle est la partie atomique de la plante et le concentré de ses propriétés* ». Une huile essentielle peut contenir de vingt-cinq à cent molécules biochimiques différentes. Ce qui explique la polyvalence d'action des huiles essentielles. L'analyse d'une huile est complexe, de par son très grand nombre de constituants chimiques volatils mais aussi souvent, l'importance des composés à l'état de traces qui font le caractère spécifique de l'huile (**France-Ida, 1998**). On effectue une chromatographie en phase gazeuse liée à une spectrométrie de masse pour identifier et quantifier chacune de ces molécules et connaître ainsi la composition précise des huiles essentielles (**Mayer, 2012**). D'une manière générale, les huiles essentielles sont issues du métabolisme secondaire des plantes.

Le rôle des huiles essentielles au sein des plantes est assez mal défini. En premiers temps, elles étaient considérées comme simples déchets métaboliques mais au fil du temps plusieurs hypothèses se sont développées concernant leur utilité au sein de la plante. On distingue trois grandes activités: la résistance, la défense et la reproduction (**Perillaud, 2018**).

En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses. Cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants entant qu'agents antimicrobiens à large spectre (**Ferhat et al., 2009**). Chaque plante, et selon son développement, a sa propre façon d'accumuler les huiles essentielles, de les stocker et de les conserver jusqu'à leurs utilisation. Les huiles essentielles peuvent être une composition complexe volatile que la plante englobe dans des structures propres soit à la surface de la plante ou bien à l'intérieur. On peut déduire deux formes les plus répandues chez les végétaux supérieurs soit à la surface, sous forme de « poils glandulaires épidermiques » tel que chez les familles des lamiacées et géraniacées. Soit sous forme de poches sécrétrices

inclus dans l'épaisseur des feuilles de la plante « poches schizogène », tel que le cas des familles des myrtacées et rutacées. Avant chaque étude consacrée aux huiles essentielles, nous devons avoir une bonne connaissance sur leur localisation, leur composition et leur forme de stockage chez les végétaux pour éviter les accidents causés par certaines substances provoquant des réactions d'allergiques ou bien de toxicité.

Pour une approche plus scientifique, nous avons tracé trois objectifs :

- Détermination histologique des sites de sécrétion des huiles essentielles chez nos deux espèces.
- Extraction par Hydrodistillation des huiles essentielles à partir des deux espèces locales.
- Détermination de la composition chimique des huiles essentielles obtenues par analyse chromatographique fine.

1 Matériel et méthodes de la deuxième partie

1.1 Matériel végétal utilisé

Le matériel végétal utilisé est constitué de feuilles des deux plantes, *Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis*, récoltées respectivement de la région de Ramel Essouk et la région de Bougous.

Les échantillons sont préparés selon les bonnes pratiques de récolte des plantes médicinales et recommandations de l'**O.M.S. (2003)**, à savoir : Le choix des plantes médicinales ; la vérification de l'identité botanique ; la sauvegarde des spécimens témoins et les numéros vouchers des collections botaniques ; les techniques de récolte ; le choix des plantes à récolter ; la qualité des parties à récolter ; les quantités suffisante pour l'ensemble des manipulations ; la saison appropriée ; zone appropriée ; technique de récolte et de coupe des plantes non-destructrice ; moment approprié de récolte ; conditions météorologiques de la journée de récolte ; technique de transport ; matériaux de transport ; prétraitements des échantillons ; tri, sélection et découpage des parties concernées ; désinsectisation ; lavage des échantillons ; séchage et conditions de stockage ; contrôle périodique des échantillons ; durée de stockage avant utilisation...etc.

1.2 Localisation des huiles essentielles dans les feuilles d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis*

La biosynthèse et l'accumulation des molécules aromatiques sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées (cellules à essence, poches sécrétrices, canaux sécréteurs ...), souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante (**Bruneton, 1999**).

1.2.1 Coupes histologiques

Afin de localiser et mettre en évidence les organes responsables de la production des huiles essentielles, nous avons réalisé une étude histologique sur les feuilles (**Figure 24**), accomplie par la technique de double coloration (vert de méthyle- rouge Congo) suivi par des observations microscopiques.

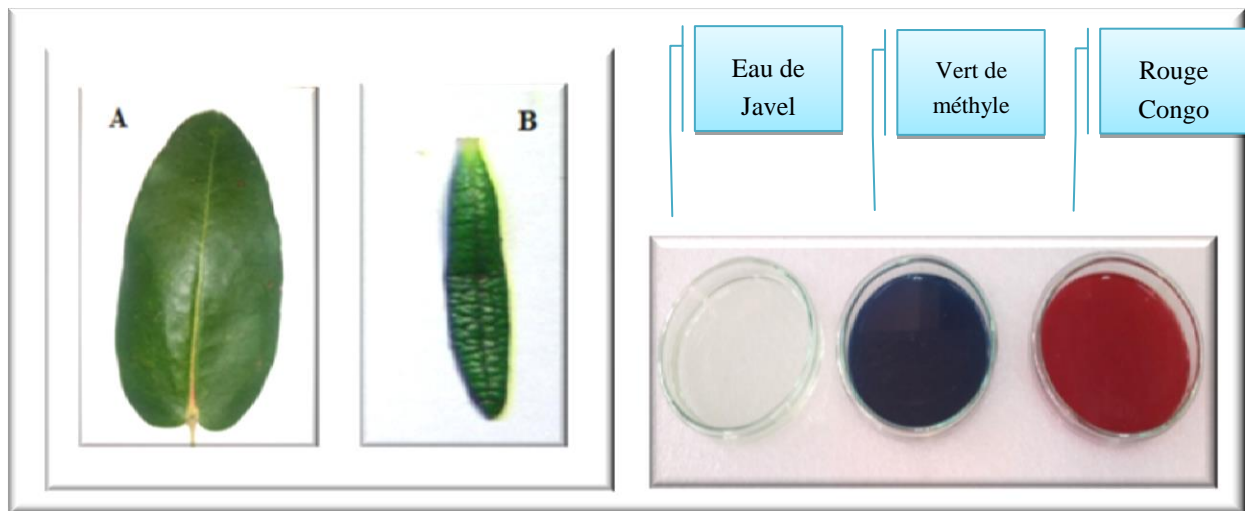


Figure 24. Feuilles fraîches pour les coupes histologiques (A : *Eucalyptus globulus* – B : *Rosmarinus officinalis*)

1.2.2 Mode opératoire

Les feuilles sélectionnées ont été découpées à l'aide de bistouri. Les tranches transversales très fines ainsi obtenues, ont été mises dans des tamis et placées successivement dans:

- l'eau de javel (1/2) pendant 15 min afin d'éliminer le contenu cellulaire et n'avoir que les parois squelettiques.
- Deux bains d'eau distillée pour enlever l'excès d'hypochlorite
- Vert de méthyle pendant 15 min qui colore les parois lignifiées et les tissus clarifiés en vert, bleu ou violet.
- La solution de rouge du Congo, pendant 8 min, pour colorer les tissus celluloseux en rose.
- Eau distillée, pour un dernier rinçage

Après coloration, les coupes seront montées entre lame et lamelle et observées sous microscope optique aux grossissements 10, 40 et 100.

1.3 Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis* est réalisée au sein du laboratoire de Phytochimie à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Chadli Bendjedid El-Tarf.

1.3.1 Extraction par hydrodistillation

L'hydrodistillation a été effectuée grâce à un **Clevenger (1928)** selon les normes **AFNOR** et **ISO**. Cette technique est basée sur l'immersion d'un échantillon solide (intacte ou broyé) dans l'eau portée à ébullition. La vapeur saturée composée d'eau et HE est traversée dans un serpentin et se dirige vers le réfrigérant (Froid), lieu de séparation des éléments condensés pour donner deux produits : l'eau florale et l'huile essentielle (**Figure 25**).

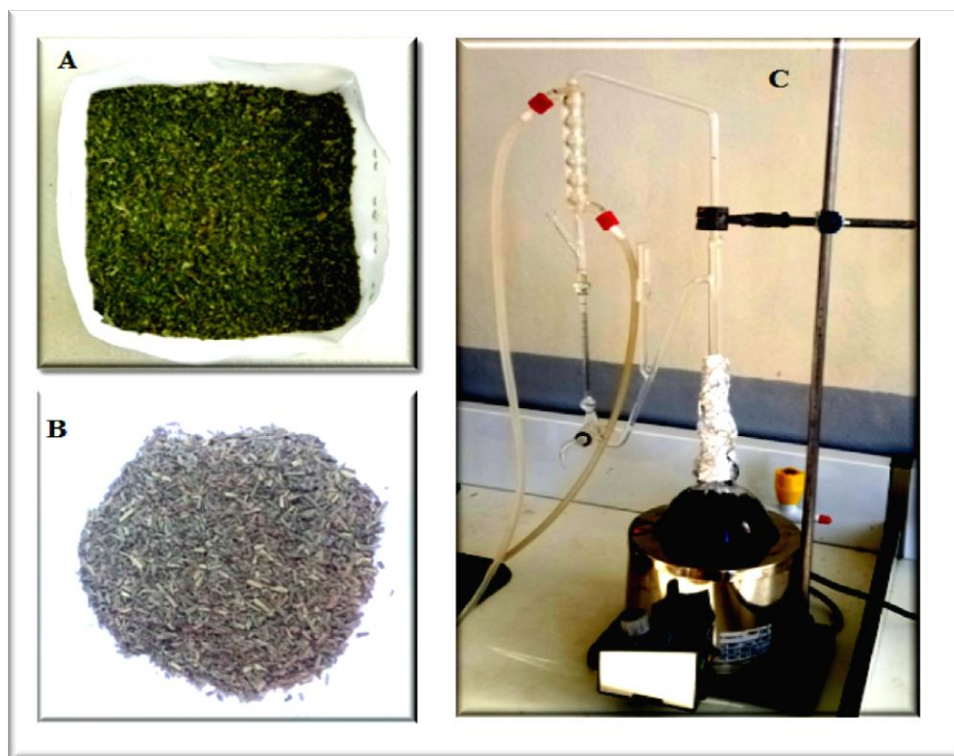


Figure 25. Broyage léger des feuilles de plantes d'étude

A : *Eucalyptus globulus* – B : *Rosmarinus officinalis* et C : Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger

1.3.2 Mode opératoire

Pour l'extraction des huiles essentielles, 100 g des feuilles des plantes ont été légèrement boryées, quelques minutes avant l'extraction et mises dans une fiole de 1000 ml qui fut remplie avec 700ml d'eau distillée. La fiole avec son contenu sont passés au chauffe-ballon.

Les HEs entrainées par les vapeurs d'eau générées dans la fiole sont dirigées vers le col de cygne. Une fois arrivées dans le réfrigérant, elle se condensent rapidement et se retrouvent dans l'ampoule à décantation qui permet la séparation de l'essence par sa densité.

Après 3 heures d'extraction, les HEs ont été recueillies dans des petits flacons en verre hermétique, pour les protéger de la lumière et sont ensuite conservées au réfrigérateur à 4°C.

1.3.3 Rendement d'extraction

Suivant les normes **AFNOR (1986)** le rendement est exprimé en pourcentage :

$$R \% = \frac{MHE}{MS} \times 100$$

R : Rendement de l'HE en %.

MHE : Masse d'Huile Essentielle récupérée en g.

MS : Masse de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

1.4 Détermination de la composition chimique des huiles essentielles par CPG/SM

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) est parmi les méthodes les plus pertinentes de nos jours, adoptée pour effectuer la séparation de différents constituants de l'échantillon suivi par l'identification de ses constituants. Cette méthode est une combinaison de deux techniques différentes et l'association de deux dispositifs (le tout lié à un ordinateur pour l'enregistrement et l'identification des résultats). La chromatographie sépare les composants de l'échantillon, alors que la spectrométrie les identifie par rapport à leur temps de rétention obtenu lors de la séparation par chromatographie. Dans le secteur particulier des huiles essentielles, le couplage CPG/SM est aujourd'hui la technique de référence (Paolini, 2009; Constantin, 1996 ; Longevialle, 1981).

1.4.1 Condition opératoire du CPG/SM

1.4.1.1 La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

1.4.1.1.1 Modèle de l'appareillage utilisé

La GC-MS est de type : Agilent Technologies modèle 7890B GC System comme le montre la **figure 26**. Il est couplé à un module de spectroscopie de masse de type Agilent Technologies 5977A MSD.



Figure 26. Dispositif de la spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse

1.4.1.1.2 Four du chromatographe

La température de la colonne est fixée initialement à 60 °C, maintenue constante. Puis, portée progressivement à 230 °C pendant 45 minutes à la vitesse de 2 °C/mn.

1.4.1.1.3 Colonne

Une colonne apolaire, de 60 m × 0,22 mm est utilisée avec une épaisseur du film de 0,25 µm.

1.4.1.1.4 Paramètres d'injection

L'injection est automatique d'un volume de 0.2 µl. Mode de split avec un rapport de division de 1/50. Température : 250 °C.

1.4.1.1.5 Gaz vecteur

Le gaz vecteur utilisé comme phase mobile est l'Hélium, à un débit de 1 ml/mn. La pression est de 25 psi (ce qui équivaut à 1.72 bar)

1.4.1.2 La Spectrométrie de Masse (SM)

1.4.1.2.1 Détecteur

Il est équipé d'un filtre quadripolaire avec ionisation électronique. L'intensité du filament est de 70 eV, avec une température de 280 °C. La gamme de masses est de 35 à 350 unités de masse atomique (uma). Le détecteur du spectre relié à un système informatique (**Figure 27**) gérant une bibliothèque de spectre référencié tel que la banque de données de **NIST** (*National Institute of Standards and Technology*). Cette banque de données permet l'identification des différents composés de l'huile essentielle.

The image shows the NIST Standard Reference Data website interface. At the top, there is a search bar and a menu icon. Below the header, a blue banner reads "STANDARD REFERENCE DATA" with a tagline: "For over 50 years, NIST has developed and distributed Standard Reference Data in Chemistry, Engineering, Fluids and Condensed Phases, Material Sciences, Mathematical and Computer Sciences and Physics...". The main content area is divided into a left sidebar and a central grid of database tiles. The sidebar lists various resources: SHOP, SRD Catalog, Free SRD, SRD Sorted by Topic, Public Law, SRD Definition, Critical Evaluation Criteria, Journal of Physical and Chemical Reference Data, National Standard Reference Data Series, and Related Data Products and Links. The central grid features three tiles: 1) "Mass Spec: NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library" accompanied by an image of a CD-ROM; 2) "NIST INORGANIC CRYSTAL STRUCTURE DATABASE (ICSD) SRD3" with a molecular structure visualization; 3) "REFPROP: NIST Reference Fluid Thermodynamic and Transport Properties" with a graph showing thermodynamic data. Below these tiles is a "New Database" section for the "Crystal Structure Database" with a link to <https://icsd.nist.gov>.

Figure 27. Librairie NIST utilisée

2 Résultats de la deuxième partie

2.1 Résultats de l'étude histologique

Les figures 28, 29, 30 et 31 nous présentent des coupes histologiques appartenant aux feuilles des deux espèces étudiées. La microscopie nous a permis d'observer et de localiser avec précision les différentes structures sécrétrices caractéristiques des feuilles d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis*.

- la feuille d'*Eucalyptus globulus* (Fig : 28 -29) présente des structures sécrétrices endogènes sous forme de cavités, de diamètre moyen localisées au niveau du parenchyme palissadique et Collenchyme. Ce sont des poches sécrétrices sphériques schizogènes qui sont nombreuses et actives (GS glande sécrétrice).

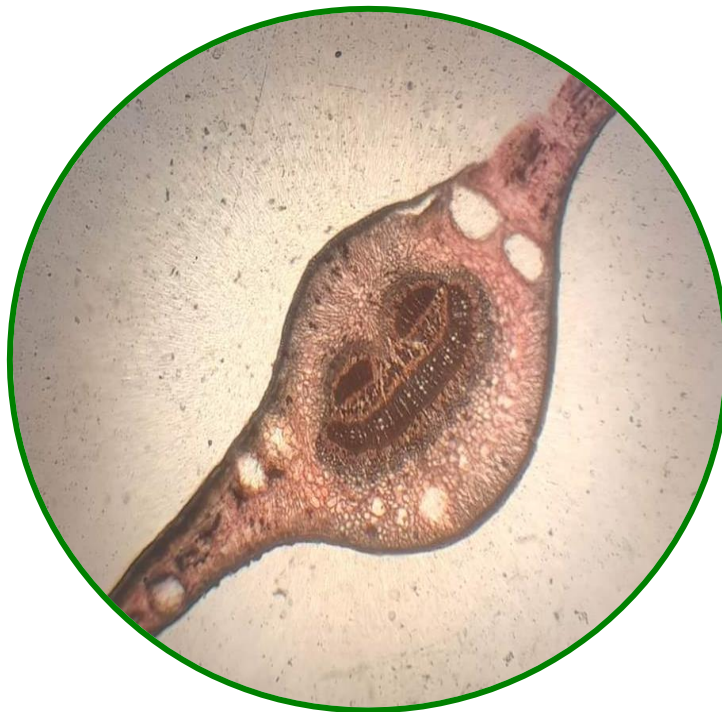


Figure 28. Coupe transversale de la feuille d'*Eucalyptus globulus* observé en microscope optique $\times 4$

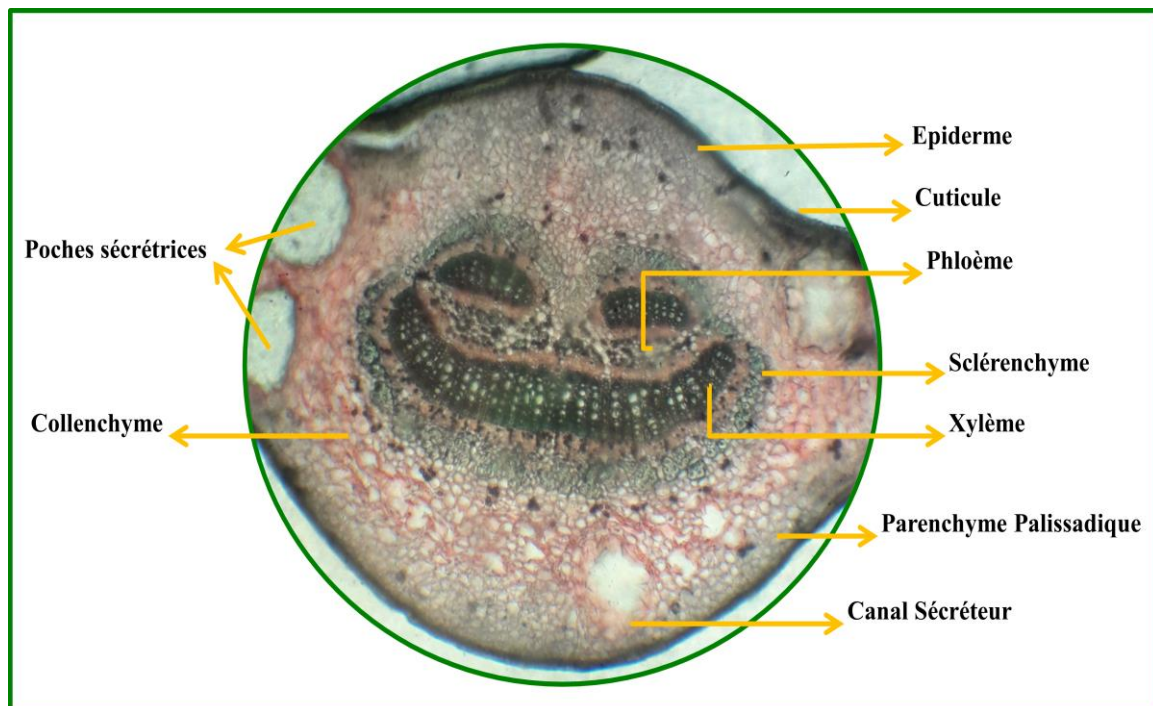


Figure 29. Coupe transversale de la feuille d'*Eucalyptus globulus* observé en microscope optique $\times 10$

- la feuille de *Rosmarinus officinalis* (Figure 30 et Figure 31) présente trois structures superficielles dont la dominance des poils tecteurs (Pt) qui sont plus long et protègent les trichomes peltés (Tp) et des trichomes capités (Tc) qui contiennent l'HE.

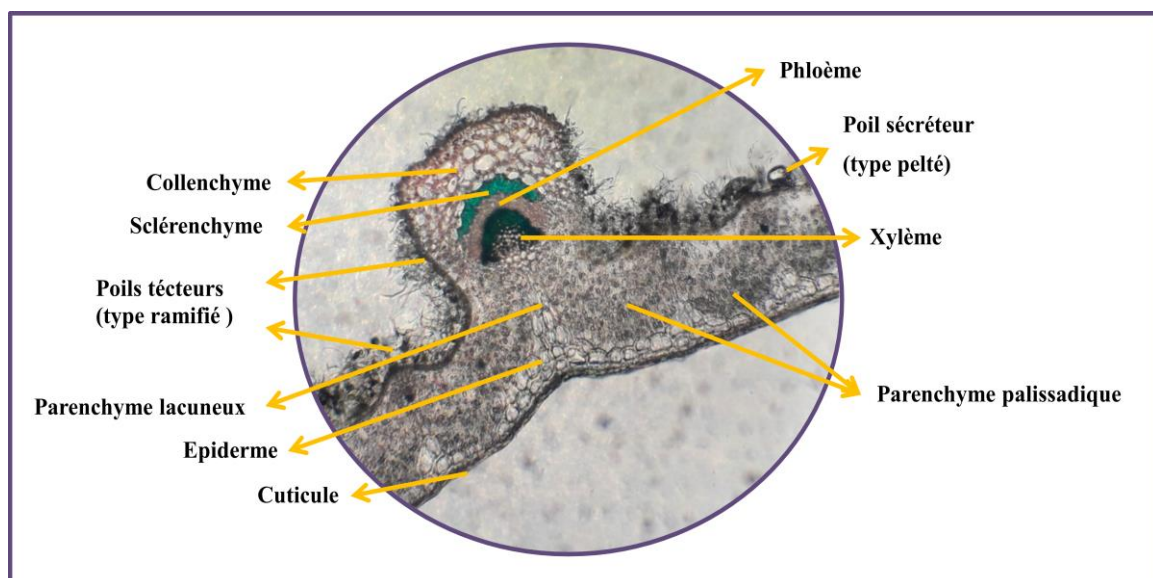


Figure 30. Coupe transversale de la feuille de *Rosmarinus officinalis* observé en microscope optique $\times 10$

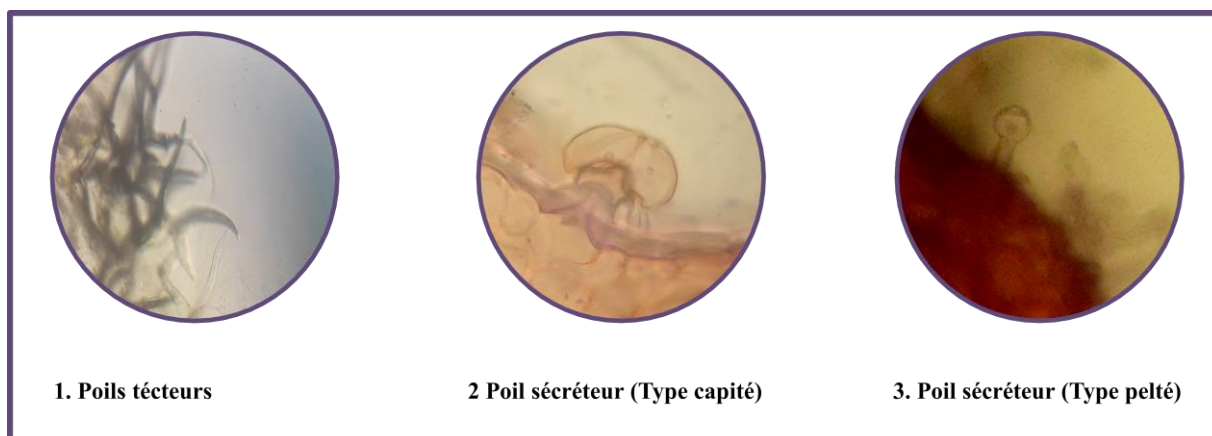


Figure 31. Structures superficielles de la feuille de *Rosmarinus officinalis* observé en microscope optique $\times 40$

2.2 Le rendement d'extraction en HE

La façon de conservation des HE est représentée sur **Figure 32**. De plus, le rendement d'extraction des deux plantes en HE est affiché sur le **tableau XVI** et la **Figure 33**.



Figure 32. Huiles essentielles (A) : *Eucalyptus globulus* – (B) : *Rosmarinus officinalis* et leur conservation (C)

Tableau XVI. Présentation des rendements de deux plantes

La plante	<i>Eucalyptus globulus</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Rendement (%)	1,65	0,36

A propos du rendement d'extraction en huile essentielle étudiées, nous constatons une variété importante en quantité d'huile issue des plantes d'étude, dont l'*Eucalyptus globulus* nous a fourni un rendement de 1,65 % et *Rosmarinus officinalis* un rendement de 0,36 %.

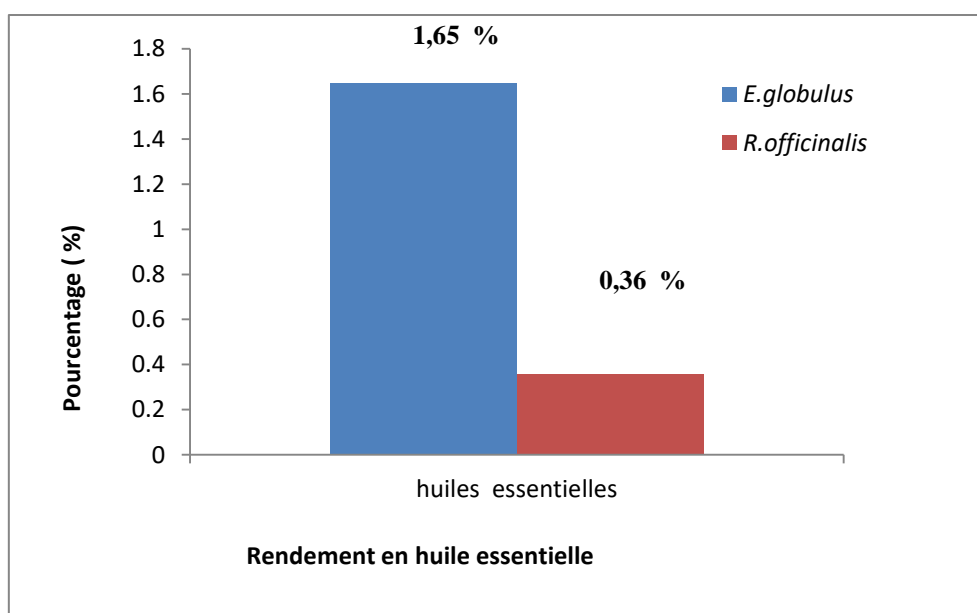


Figure 33. Rendements en HE d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis*

2.3 Résultats d'analyse des huiles essentielles par CG/ SM

2.3.1 *Eucalyptus globulus*

Ci-dessous le **tableau XVII** reprenant la composition chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* :

Tableau VIVII. Composition chimique relative de l'HE d'*Eucalyptus globulus*

N°	TR	Composés	Area %	N°	TR	Composés	Area %
Monoterpène 5,97				Esters 6,62			
1	5,52	3-Carene	4,18	27	22,63	Hydroxycineole acetate	0,34
2	6,808	β -Pinene	0,28	28	23,028	α -Terpinyl acetate	5,83
3	7,784	α -Phellandrene	0,17	29	24,565	Nerol acetate	0,45
4	8,553	o-Cymene	0,69	Alcools monoterpéniques 42,73			
5	9,916	γ -Terpinene	0,22	30	11,678	Linalool	0,13
6	11,165	Terpinolene	0,43	31	12,186	Fenchol	0,12
Sesquiterpènes 32,58				32	13,295	Pinocarveol	1,21
7	23,941	Isoledene	0,48	33	15,565	Isocarveol	0,90
8	24,062	α -Copaene	0,34	34	18,442	Carveol	0,08
9	25,541	α -Gurjunene	1,75	35	14,506	endo-Borneol	0,21
10	26,475	β -Gurjunene	1,30	36	15,059	Terpinen-4-ol	0,39
11	26,904	Aromandendrene	14,5	37	15,721	α -Terpineol	2,22
12	27,008	Selina-5,11-diene	0,88	38	15,941	(-)-Myrtenol	0,2
13	27,759	Alloaromadendrene	5,36	39	17,396	p-Mentha-1(7),8-dien-2-ol	0,97
14	28,221	γ -Gurjunene	0,45	40	18,69	Nerol	0,32
15	28,412	γ -Muurolene	0,39	41	31,837	Epiglobulol	3,93
16	28,793	β -Selinene	0,87	42	32,12	Globulol	1,77
17	28,885	Longifolene	0,70	43	32,559	Spathulenol	0,43

Partie 2 : Les huiles essentielles (localisation, extraction et composition)

18	29,215	Ledene	3,28	44	32,917	Ledol	12,26
19	29,44	α -Muurolene	0,1	45	33,16	Viridiflorol	3,19
20	29,989	γ -Cadinene	0,45	46	33,235	Guaiol	1,35
21	30,174	Aromadendrene, dehydro-	0,55	47	33,558	cis-Eudesm-6-en-11-ol	1,93
22	34,61	β -Guaiene	1,18	48	34,373	β -Selinol	2,53
Cétone 1,1				49	34,708	γ -Eudesmol	1,52
23	14,369	Pinocarvone	0,51	50	35,101	.tau.-Cadinol	0,36
24	17,529	Verbenone	0,43	51	35,436	β -Eudesmol	4,34
25	18,101	D-Carvone	0,16	52	35,543	α -Eudesmol	2,37
Oxyde 10,48							
26	8,859	Eucalyptol	10,48				

Les structures des molécules identifiées sont présentées en annexes du présent document.

Ci-dessous le profil chromatographique *Eucalyptus globulus* (Figure 34 et Figure 35).

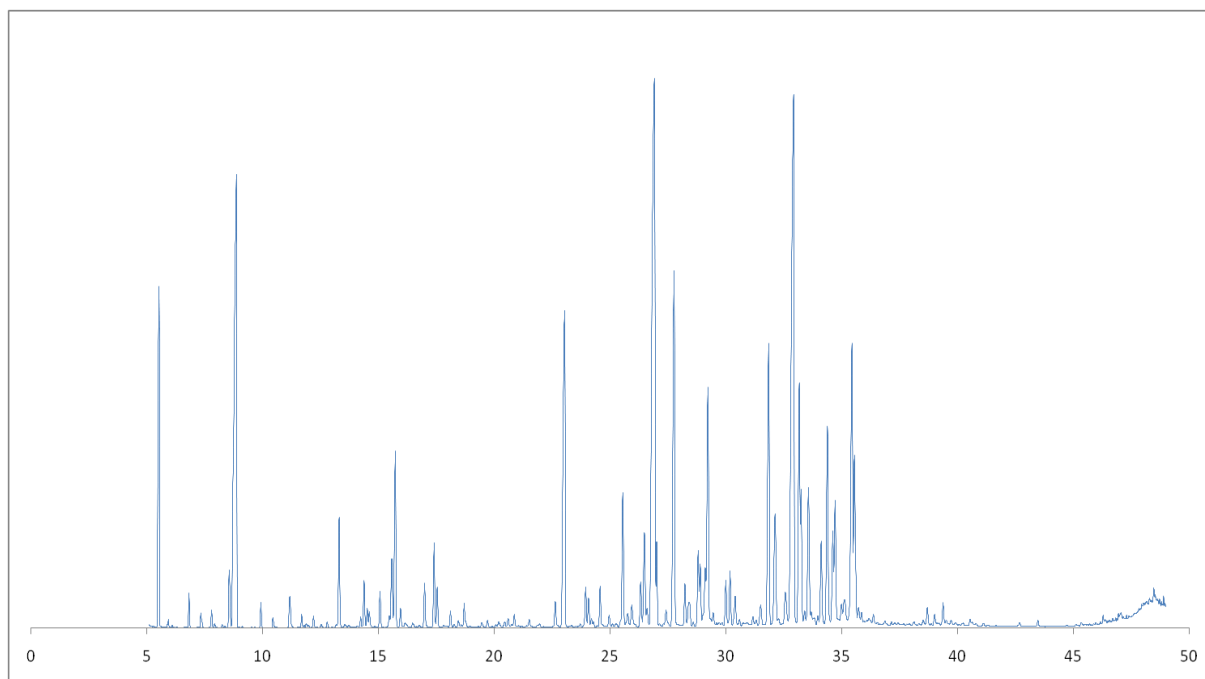


Figure 34. Profil chromatographique *Eucalyptus globulus*

Partie 2 : Les huiles essentielles (localisation, extraction et composition)

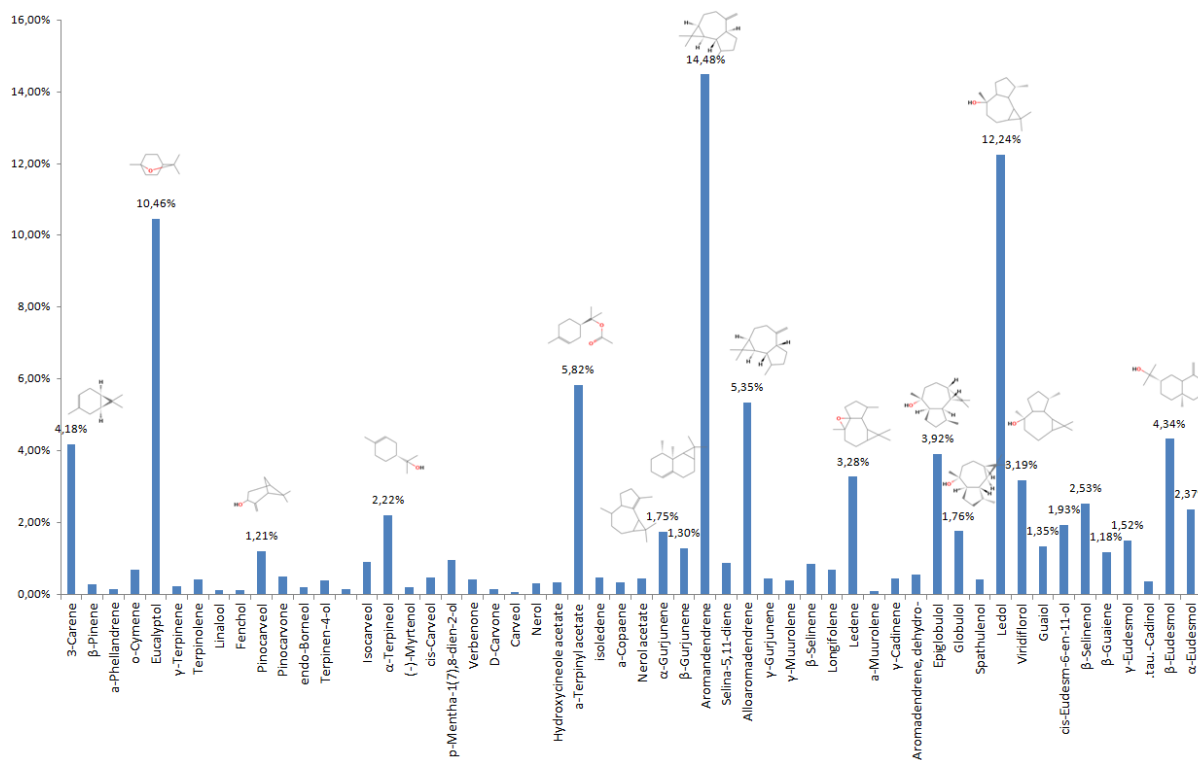


Figure 35. Correspondance du profil chromatographique *Eucalyptus globulus*

2.3.2 *Rosmarinus officinalis*

La composition chimique de l'HE de *Rosmarinus officinalis* est donnée sur le **Tableau XVIII**.

Tableau VII. Composition chimique relative de l'HE du *Rosmarinus officinalis*

N°	TR	Composés	Area %	N°	TR	Composés	Area %
Monoterpènes 19,41				Alcools Monoterpeniques 20,11			
01	5,503	3-Carene	8,22	18	6,906	1-Octen-3-ol	0,39
02	5,93	Camphene	2,97	19	11,678	Linalool	1,22
03	6,727	β -Phellandrene	0,13	20	12,192	Fenchol	0,18
04	6,82	β -Pinene	0,55	21	14,543	endo-Borneol	9,64
05	7,334	β -Myrcene	1,19	22	15,063	Terpinen-4-ol	1,71
06	7,79	α -Phellandrene	0,55	23	15,71	L- α -Terpineol	6,97
07	8,252	(+)-4-Carene	0,95	Phénol 1,11			
08	8,57	β -Cymene	4,09	24	20,152	Thymol	0,23
09	9,916	γ -Terpinene	0,46	25	20,544	Carvacrol	0,20
10	11,152	Terpinolene	0,30	26	25,431	Methyleugenol	0,67
Sesquiterpènes 4,63				Cétone 13,32			
11	24,432	(-)- β -Bourbonene	0,33	27	18,098	D-Carvone	1,62
12	24,802	β -Elemene	0,17	28	13,567	Camphor	11,70
13	25,928	Caryophyllene	2,43	Esters 2,37			
14	27,384	Humulene	0,22	29	20,064	Bornyl acetate	1,54
15	28,574	β -Copaene	0,86	30	22,942	α -Terpinyl acetate	0,83
16	29,232	Aromandendrene	0,29	Oxyde 38,11			
17	30,387	δ -Cadinene	0,33	31	8,888	Eucalyptol	38,11

Ci-dessous son profile chromatographique (**Figure 36** et **Figure 37**)

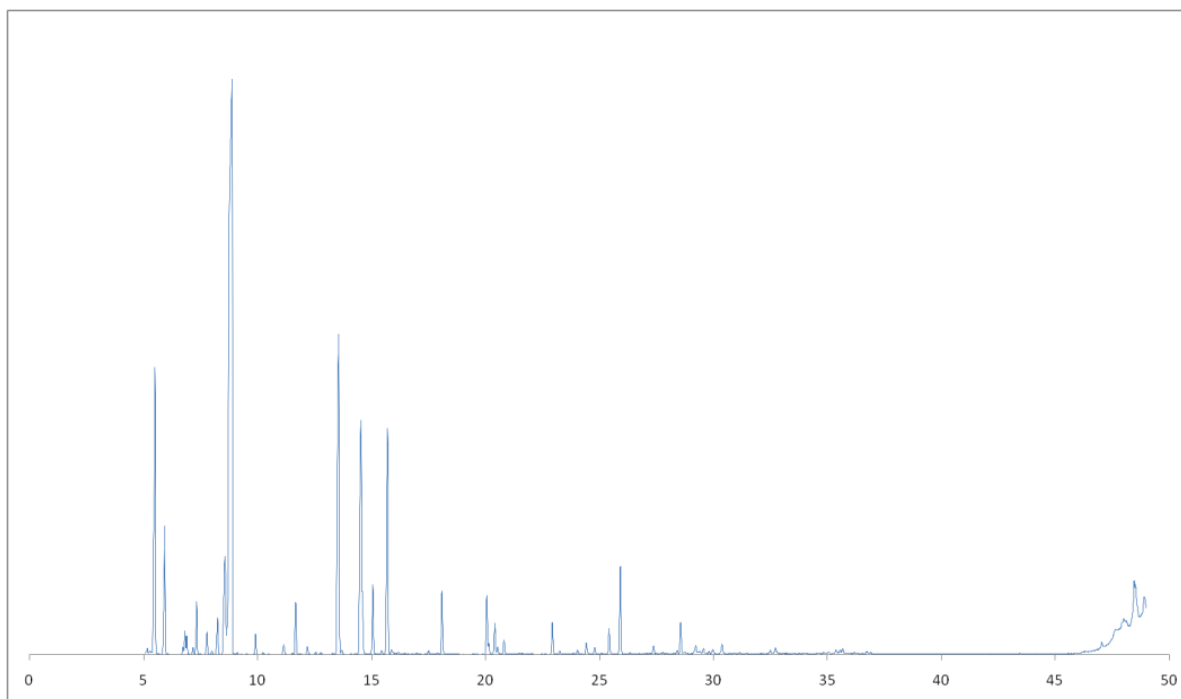


Figure 36. Profile chromatographique *Rosmarinus officinalis*

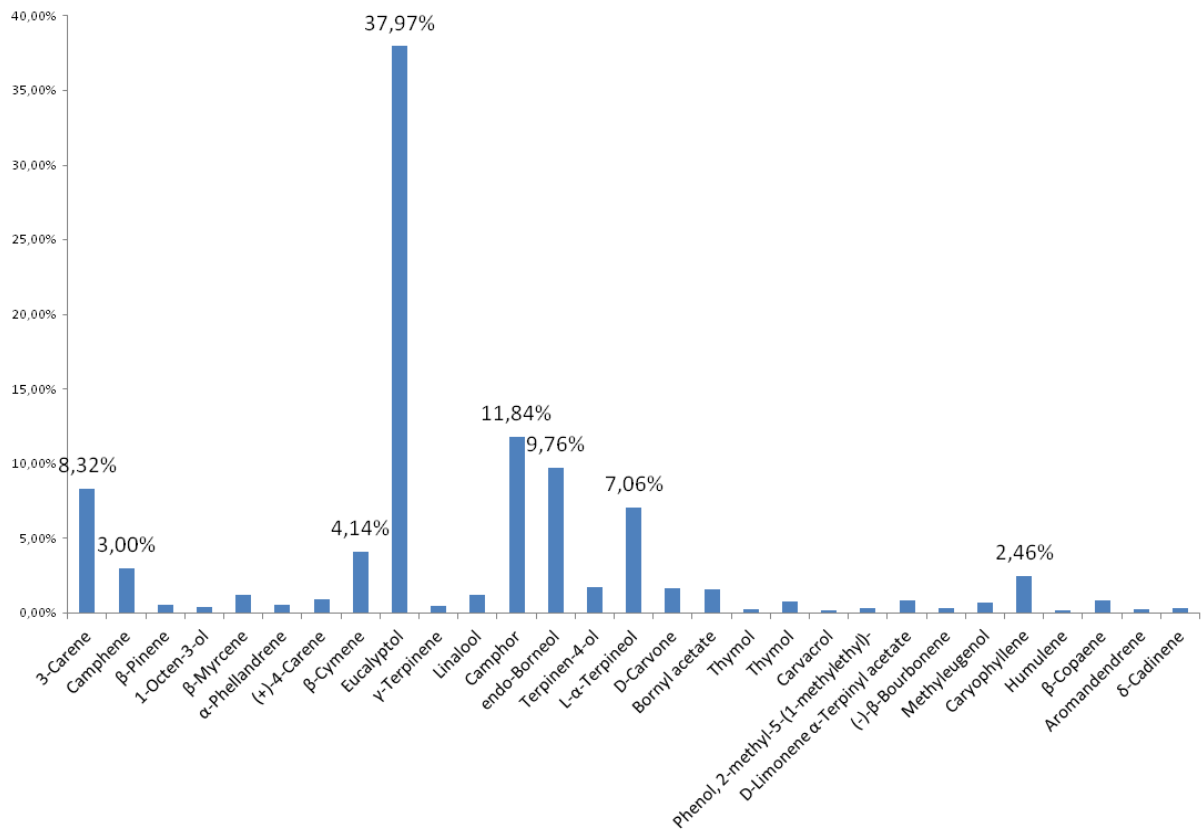


Figure 37. Correspondance du profil chromatographique *Rosmarinus officinalis*

2.4 Analyse de la composition des huiles essentielles

D'après les tableaux XVII et XVIII et la Figure 38 représentatifs des résultats du CPG/SM des HEs des deux espèces étudiées, on remarque que l'*Eucalyptus globulus* est riche avec 52 composés constitutifs alors qu'on peut compter jusqu'à 31 composés constitutifs chez le romarin *Rosmarinus officinalis* (Annexe 2).

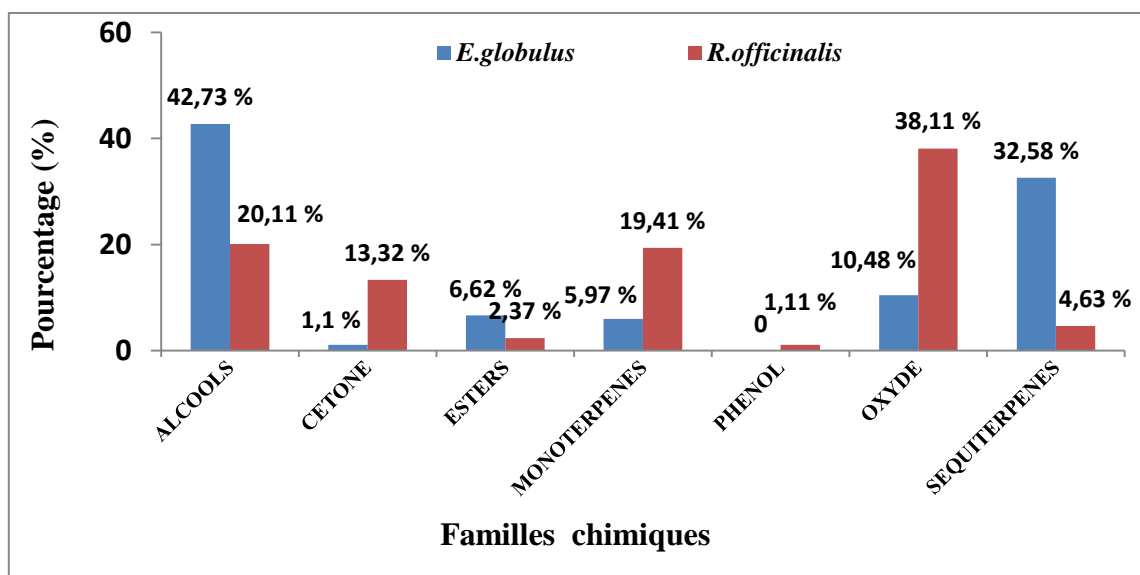


Figure 38. Familles chimiques relatives des HEs des deux espèces étudiées

D'après la **Figure 38**, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* se compose de monoterpéniques (42,73 %), sesquiterpènes (32,6 %) et oxydes (10,48 %). En parallèle, l'HE du *Rosmarinus officinalis* est composé d'Oxyde (38,11 %), de l'Alcools monoterpéniques (20,43 %), de monoterpènes (19,70%), de cétones (13,53 %) et caractérisée par la présence d'un faible taux de phénols (1,11 %).

3 Discussion de la deuxième partie

3.1 Coupes histologiques

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

- *Eucalyptus globulus*: Les observations effectuées au microscope optique, nous ont montré la richesse de feuilles d'*Eucalyptus globulus* en glandes sécrétrices qui recèlent des quantités considérables d'huiles essentielles, ce qui confirme le rendement obtenu dans la première partie de notre travail ce qui est confirmé par les résultats de Taleb-Toudert (2015).
- *Rosmarinus officinalis*: les observations microscopiques révèlent qu'aux surfaces adaxiale et abaxiale des feuilles, la présence de trois structures dont les poils sécréteurs (Types : peltés et capités) seules responsables du stockage de l'HE. Alors que, la troisième forme est des poils tecteurs plus abondantes des deux formes précédentes et leurs rôles c'est de protéger et diminuer l'évapotranspiration.
- A partir des coupes présentées, nous avons remarqué que la feuille d'*Eucalyptus globulus* est plus riche en poches sécrétrices que celle du *Rosmarinus officinalis* et d'après la double coloration, on peut expliquer que la réduction du rendement en HE du *Rosmarinus officinalis* est peut être justifiée par ses structures sécrétrices sensibles qui se situent à l'extérieurs de la feuille « poils sécrétrices » exposés aux facteurs abiotiques ou la mauvaise récolte qui peuvent entraîner la perte des HEs. Par contre, les poches sécrétrices des feuilles d'*Eucalyptus globulus* qui se pénètrent en profondeur des tissus constitutifs, conservent et protègent parfaitement l'HE.

3.2 Le rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne des deux espèces étudiées (RHEs, v/w).

- *Eucalyptus globulus* étudié a fourni un rendement de **1,65 %**, supérieur à celui obtenus (**0,17 %**) par Pino et al. (2020) et inférieur (**2,53 %**) aux résultats de Harkat-Madouri et al. (2015) de la même espèce de la région de Moyancón en Équateur et la région de Tizi Ouzou en Algérie.
- *Rosmarinus officinalis* a donné un rendement de **0,36 %** relativement faible comparativement à celui obtenu par Aouadi et al. (2021) et Rašković et al. (2014) estimé à **1,5 %** et **1,03 %** respectivement à partir de la même espèce en Tunisie et en Allemagne.
- Cette différence du rendement entre les mêmes espèces peut être attribuée à de nombreux facteurs biotiques : le cycle végétal, l'âge de la plante, stade de croissance et la partie soumise à la distillation.

3.3 Composition chimique des HEs

3.3.1 *Eucalyptus globulus*

L'HE d'*Eucalyptus globulus* analysée par CPG/SM enregistre une richesse de 52 éléments constitutifs, avec la dominance de : Aromandendrene (**14,48 %**), Ledol (**12,24 %**), Eucalyptol (**10,46 %**), α -Terpinylacetate (**5,82 %**) et Alloaromadendrene (**5,35 %**). Contrairement aux résultats enregistrés dans les recherches de **Ainane et al. (2018)** où ils trouvent que les constituants majeurs de l'HE d'*Eucalyptus globulus* sont l'Estragole (28,14%), le terpinolène (7,12%), le 1,4-hexadiène-méthyl-3- (1- méthyléthylidène) (7,01%), le linalol (5,54%) et le furfural (4,66%).

En se basant sur les définitions des familles chimiques et leurs propriétés thérapeutiques **Laurent (2017)**, nos résultats du chapitre précédant, confirment les pratiques thérapeutiques d'*Eucalyptus globulus*. Cette dernière est utilisée selon les habitants de la région pour soigner la grippe, les troubles respiratoire et en tant qu'antistress. Alors que la présence des alcools monoterpéniques ont un pouvoir : anti-infectieux, antiviraux, antibactériennes ; le sesquiterpènes ont pour propriétés principales: anti-inflammatoires, antiallergiques ; L'Oxyde Eucalyptol est un antiviral son action principale sur l'arbre respiratoire est renforcée par la présence des alcools monoterpéniques, ce qui est enregistré par les résultats de CPG/SM.

3.3.2 *Rosmarinus officinalis*

Les résultats d'analyse de l'HE du *Rosmarinus officinalis* contiennent 31 composants dont deux principaux majeurs qui sont : Eucalyptol (37,51%) et Camphor (11,70%). Ce qui est confirmé avec les résultats de **Taleb-Toudert (2015)**. Ces résultats révèlent que l'HE de *Rosmarinus officinalis* de la région de Kabylie été riche en eucalyptol avec un pourcentage de 41,70 % et en camphor (10,32%). Au Maroc les résultats d'**Ainane et al. (2018)**, démontrent la dominance du (-)-camphor (31.16 %) et le 2,4-Hexadiene, 3,4-dimethyl-, (Z,Z)- (9.08 %).

Nos résultats corroborent avec ceux de l'étude ethnobotanique, dont les habitants de la région d'El-Tarf, utilisent le romarin pour se soigner de la grippe, les troubles du tube digestif, l'antistress, sans oublier leur usage en gastronomie et cosmétique. Alors que, nous enregistrons la présence de :

- Les oxydes et les phénols connus pour leurs efficacités antivirales.
- Les alcools ont un pouvoir anti-infectieux polyvalent.
- Les monoterpènes eux sont des Immunostimulants, Neurotoniques, Antiseptique et sont efficaces pour les pathologies de l'O.R.L.
- Les cétones ont plusieurs pouvoir thérapeutiques que cosmétiques tels que : mucolytiques, lipolytiques (cellulite), cicatrisantes et régénératrices cutanées, anti-infectieuses (antiparasitaires et antivirales) (**Laurent, 2017**)

- On peut expliquer cette variété entre les espèces en composants chimiques des HEs :
 - La présence de substances volatiles est parmi les caractéristiques de la composition de l'huile essentielle, ce dernier peut subir quelques modifications lors de la distillation. La présence de terpinèn-4-ol, de l' α -terpinène, du γ -terpinène et du terpinolène n'est qu'un réarrangement de sabinène (**Pavela, 2004**). Donc, au cours de l'élaboration par hydrodistillation l'HE d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis* ont été exposés à certaines modifications qui ont entraîné la présence de divers dérivés du sabinène.
 - Plus aux facteurs biotiques, les facteurs abiotiques ont leurs propres impacts sur la composition chimique et la quantité finale des huiles essentielles des plantes spontanées que cultivées. Tels que, la température, l'altitude et l'ensoleillement
- Même les attaques des insectes, la plante a sa propre lutte qui influe sur les caractéristiques des huiles essentielles (**Perillaud, 2018**).

Conclusion de la deuxième partie

Dans ce deuxième chapitre, des coupes histologiques ont été réalisées pour localiser les HES au sein des feuilles elles-mêmes. Ensuite, nous avons procédé, par la technique conventionnelle d'hydrodistillation au Clevenger, à l'extraction des HES des deux espèces étudiées. Enfin, nous avons effectué une analyse de la composition chimique de ces HES par la CPG/SM. Le rendement (RHES, v/w) d'*Eucalyptus globulus* a donné un taux de 1,65 %. Cependant, on a enregistré pour le *Rosmarinus officinalis* la valeur de 0,36 %. Après comparaison de nos résultats avec des recherches antérieures, on peut justifier cette différence par le fait que:

- Nos espèces étudiées appartiennent à deux familles botaniques différentes.
- La période de récolte (*Eucalyptus globulus* récolté en Janvier 2017 alors que *Rosmarinus officinalis* a été récoltée en décembre 2016).
- Le cycle végétal et l'âge de la partie aérienne soumise à la distillation.

L'objectif de la réalisation des coupes histologiques des feuilles des espèces étudiées avait pour objectif d'identifier et de localiser les structures responsables de la production, du stockage et de la conservation des huiles essentielles. Dans la feuille d'*Eucalyptus globulus*, un nombre important de glandes à essence situées dans le parenchyme a été observé, où l'HE est bien stockée et protégée. En revanche, la feuille de *Rosmarinus officinalis* contient des poils sécréteurs à la surface exposés aux facteurs environnementaux.

L'exposition en permanence aux facteurs abiotiques (Écosystème) et face aux attaques des insectes, les plantes réagissent à ses facteurs pour résister et s'adapter aux changements afin d'assurer leur survie. Cela peut se répercuter par des perturbations en termes de qualité et de quantité des HES. Certains composés peuvent également être sensibles à la technique d'extraction, tels que le sabinène, et disparaître lors de leur extraction.

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles des deux espèces étudiées a été réalisée par GC/SM.

- Chez *Eucalyptus globulus*, nous avons identifié 52 composés dont : Aromandendrene (**14,48 %**), Ledol (**12,24 %**), Eucalyptol (**10,46 %**), α -Terpinylacetate (**5,82 %**) et Alloaromadendrene (**5,35 %**).
- Chez *Rosmarinus officinalis*, parmi les 31 composés identifiés, les composés majoritaires sont : Eucalyptol (**38,11 %**), Camphor (**11,70 %**), endo-Borneol (**9,64%**) et 3-Carene (**8,22 %**).

La détermination de la composition chimique des HEs, des deux espèces étudiées confirme les pratiques thérapeutiques et affirme la connaissance des habitants de la région d'El-Tarf des vertus thérapeutiques des espèces étudiées et leur bonne conservation du savoir-faire.

Partie 3 :
Etude de l'activité antibactérienne et antifongique

PARTIE 3 : ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE ET ANTIFONGIQUE

Introduction de la troisième partie

Notre organisme reste éveillé en permanence pour lutter contre toute agression venue de l'extérieure comme de l'intérieur et de trouver le moyen adéquat pour parvenir à bout. Dans certains cas, les agressions externes par des microorganismes nous imposent la prise d'antibiotiques. La résistance des microorganismes aux antibiotiques se manifeste de plus en plus et l'utilisation de produits chimiques comme agents antimicrobiens a donné naissance à des maladies infectieuses graves dues au phénomène de résistance de certaines bactéries **(Davis, 1994; Service, 1995)**. Il est devenu nécessaire de chercher une autre approche afin de diminuer ou d'éliminer les affections sans l'utilisation des produits synthétiques, par exemple en utilisant des molécules bioactives naturelles extraites de plantes. Les HEs possèdent ces propriétés antimicrobiennes et permettent d'aider à lutter contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne et fongique **(De Billerbeck, 2007)**. Elles permettent également la protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires **(Zambonelli et al., 2004 ; Mangena et Muyima, 1999)**. Les huiles essentielles des différentes familles botaniques présentent des actions antivirales, mais le degré d'efficacité varie selon la souche et la structure virale. C'est en raison de structures moléculaires particulières trouvées dans chaque type viral, que les huiles essentielles pénètrent dans les entités à des degrés divers **(Davidson et al., 2005)**.

Le but visé dans ce chapitre est d'exposer l'intérêt des substances extraites à partir de l'*Eucalyptus globulus* et le *Rosmarinus officinalis* et de les tester contre certaines bactéries et champignons principalement cliniques.

Notre exploration de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles a été réalisée par la méthode de diffusion des disques sur milieu solide, suivis par des évaluations des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et des Concentrations Minimales Bactéricides (CMB).

L'activité antifongique a été réalisée par la Méthode de Contact Direct (MCD) complétée par la détermination des paramètres antifongiques : Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Concentrations Minimales Fongicides (CMF).

1 Matériel et méthodes de la troisième partie

1.1 Etude de l'activité antimicrobienne

Le test d'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis* a été effectué au niveau du laboratoire de la faculté de médecine à l'université de Badji Mokhtar – Annaba et sous l'orientation du Professeur Djahoudi Abdelghani. Nous avons adopté la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé (l'aromatogramme). Puis, la détermination des paramètres antimicrobiens: la CMI et la CMB en milieu solide.

1.1.1 Les souches microbiennes testées

Cette étude a été réalisée sur **09** germes, dont **07** souches bactériennes à Gram négatif (-), 01 souche bactérienne Gram positif (+) et **01** champignon non filamenteux (**Tableau XIX**). Les souches bactériennes collectées ont été conservées à 5°C.

Tableau XIX. Présentation des souches microbiennes testées

N°	Souches		
	Gram	Familles	Bactéries
01	-	Entérobactéries	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
02			<i>Escherichia coli</i>
03			<i>Klebsiella pneumoniae</i>
04		Pseudomonaceae	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
05			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
06		Moraxellaceae	<i>Acinetobacter baumannii</i> 1
07			<i>Acinetobacter baumannii</i> 2
08	+	Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus aureus</i>
Levure			
01	Saccharomycetacées		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

1.1.2 Milieux de culture

Deux milieux de culture ont été utilisés :

- La gélose nutritive (GN) est le milieu le plus utilisé pour l'isolement (repiquage) et la conservation des bactéries. C'est un milieu qui convient aux souches bactériennes.
- La gélose Mueller Hinton (MH) est le milieu adéquat aux tests de sensibilité des bactéries aux extraits de plantes.

1.1.3 Dilutions des huiles essentielles

Deux séries de dilutions des HES ont été réalisées avec un solvant organique dont les proportions des dilutions sont exprimées en volume/volume (v/v) selon une suite décroissante. Le solvant organique utilisé est le diméthylsulfoxyde (DMSO = C₂H₆OS). Ce dernier n'a aucune influence sur le développement des souches.

1.2 L'aromatogramme ou la méthode de diffusion des disques sur gélose

L'aromatogramme, ou la méthode des disques, est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale "Antibiogramme". Cette technique est décrite par **Vincent (1991)** et a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des HE testées, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes et d'être largement évaluée sur 50 ans d'utilisation mondiale (**Boudjema et al., 2010**). L'aromatogramme est une évaluation qualitative qui consiste à tester la sensibilité des souches bactériennes par la diffusion de l'HE sur le milieu solide dans une boîte de Petri, avec la création d'un gradient de concentration entre le composé et le microorganisme cible. L'apparition et l'importance du diamètre de la zone d'inhibition reflète l'impact de l'HE sur les souches bactériennes. Ainsi, ces dernières seront qualifiées de sensibles ou très sensibles, ou résistantes (**Pibiri, 2006**).

1.2.1 Procédure d'évaluation

1.2.1.1 Repiquage et réactivation des souches bactériennes

Des colonies bien isolées des cultures pures ont été repiquées à la surface de la gélose nutritive pré coulée en boîte de Petri puis incubées à 37 °C pendant 24 h (**Figure 39**).

1.2.1.2 Suspensions bactériennes (inoculum)

A partir des cultures bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle sur GN, 3 à 5 colonies bien isolées et identiques sont prélevées dans 4 ml d'eau physiologique stérile (**Figure 39**), le tout sera agité au vortex pendant quelques secondes. Selon **Mc Ferland**, on admet une Densité Optique comprise entre 0,08 et 0,1 correspond à une concentration de 10⁷ à 10⁸ germes/ml.

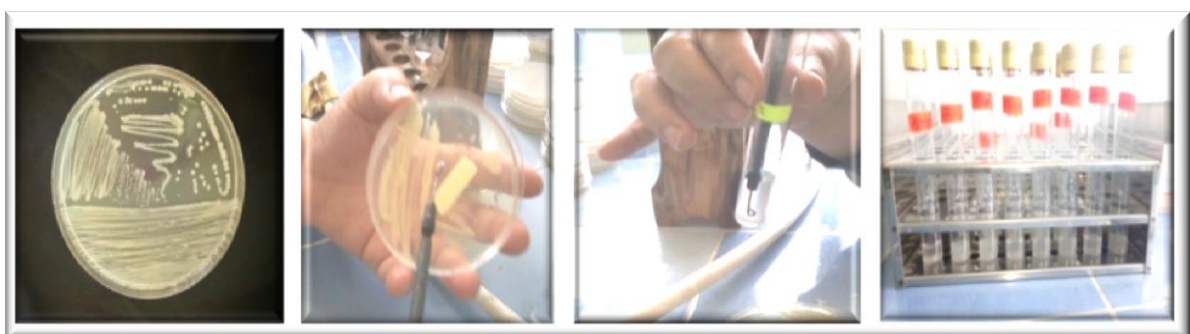


Figure 39. Souche repiquée et suspensions bactériennes

1.2.1.3 Ensemencement

Dans des boîtes de Petri, le milieu de culture gélosé MH en surfusion a été coulé aseptiquement à raison de 20 ml par boîte. Après la solidification, un écouvillon stérile a été imbibé dans la suspension bactérienne qui a été étalée à la surface de la gélose en stries serrées, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application (**Figure 40**).



Figure 40. Etapes de l'ensemencement

1.2.1.4 Application des disques et incubation

Les disques stériles imprégnés (20 μ l) de plusieurs concentrations des deux huiles essentielles (**Ngameni *et al.*, 2009**) dont 5 disques par boîte de Petri, ont été déposés à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose (**Figure 41**). Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h. Les diamètres des zones d'inhibition, lorsqu'elles existent, ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse (**Figure 42**). Chaque essai est répété trois fois.



Figure 41. Application des disques



Figure 42. Lecture des résultats à l'aide du pied à coulisse

1.2.1.5 Lecture

Une fois le diamètre de la zone inhibitrice déterminé, l'étude qualitative de la catégorie des huiles essentielles a été faite selon **Ponce et al. (2003)** comme le montre le **Tableau XX**.

Tableau XX. Catégories de sensibilité des bactéries à l'HE

Catégories	Diamètre de la zone inhibitrice (mm)	Présentation
résistante	≤ 8	-
Sensible	9 – 14	+
Très sensible	15 – 19	++
Extrêmement Sensible	≥ 20	+++

(Ponce et al., 2003).

1.2.2 Détermination des paramètres antimicrobiens CMI et CMB en milieu solide

1.2.2.1 La concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration pour laquelle, aucune croissance visible à l'œil nu n'est observée (**Skandamis et Nycha; 2001**). Selon la sensibilité des souches, les résultats de l'aromatogramme nous permettent de préciser la CMI.

1.2.2.2 La concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable de tuer plus de 99,9 %. La mise en évidence de l'effet bactéricide ou bien bactériostatique des HEs ne peut s'établir qu'après la réalisation de l'aromatogramme. On distingue que les HEs étudiées exercent deux effets sur les souches microbiennes testées:

- **Effet bactéricide (Effet léthal):** absence de croissance bactérienne correspondant à une mortalité totale des bactéries.
- **Effet bactériostatique:** La croissance bactérienne est inhibée suite à l'utilisation des HE.

1.3 Etude de l'activité antifongique

L'activité antifongique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis* a été effectuée au niveau du laboratoire de l'Institut National de Protection des Végétaux (INPV) El-Tarf. Nous avons adopté la méthode de contact direct qui vise à déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la capacité fongicide ou fongistatique des HEs testées ou CMF.

1.3.1 Souches testées

Pour mettre en évidence l'effet fongicide des HEs, les expériences réalisées lors de cette étude ont été conduites sur deux (02) espèces de champignons phytopathogènes (**Tableau XXI**). Les souches étudiées ont été isolées, identifiées puis conservées à 4°C dans des boîtes de Petri contenant de la PDA (**Potato Dextrose Agar**) jusqu'à utilisation.

Tableau XXI. Présentation du matériel fongique testé

N°	Familles	Champignons Filamenteux	Provenance
1	Nectriacées	<i>Fusarium solani</i>	Pomme de terre
2		<i>Fusarium tricinctum</i>	Agrumes

1.3.2 Méthode de contact direct

C'est la méthode de **Soylu et al. (2010)** légèrement modifiée comme suit :

- Les huiles essentielles ont été diluées dans le DMSO (dose $\mu\text{l HE} / 500 \mu\text{l DMSO}$)
- Les dilutions sont ajoutées aux 20 ml de la gélose du PDA immédiatement avant qu'elle ne soit vidée dans les boîtes de Petri de 90 mm à une température de 40 à 45 °C.
- Un disque de 6 mm de diamètre contenant le champignon (d'une culture âgée de 7 jours) est déposé au centre de chaque boîte de Petri (**Figure 43**),
- Les boîtes de Petri sont incubées à l'obscurité pendant 7 jours à 25 °C. trois essais sont réalisés pour chaque dose testée.

1.3.2.1 Lecture

La croissance mycélienne est mesurée toute les 24 heures pendant 7 jours, par la moyenne de deux valeurs de diamètres perpendiculaires. Les moyennes de croissance obtenues sont converties en % de croissance mycélienne inhibitrice en utilisant la formule suivante :

$$MGI \% = \frac{Dc - Dt}{Dc} \times 100$$

- **MGI (%)** : pourcentage d'inhibition de la Croissance mycélienne
- **Dc** : diamètre de croissance mycélienne du témoin.
- **Dt** : diamètre de croissance mycélienne dans la présence de l'HE testée.

Selon **Laib (2011)**, selon le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne, l'huile essentielle est considérée comme:

- **Très active** lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 75 et 100 % ; la souche fongique est dite **très sensible**.
- **Active** lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 50 et 75 % ; la souche fongique est dite **sensible**.
- **Moyennement active** lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 25 et 50% ; la souche est dite **limitée**.
- **Peu ou Pas active** lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 0 et 25% ; la souche est dite **peu sensible** ou **résistante**.

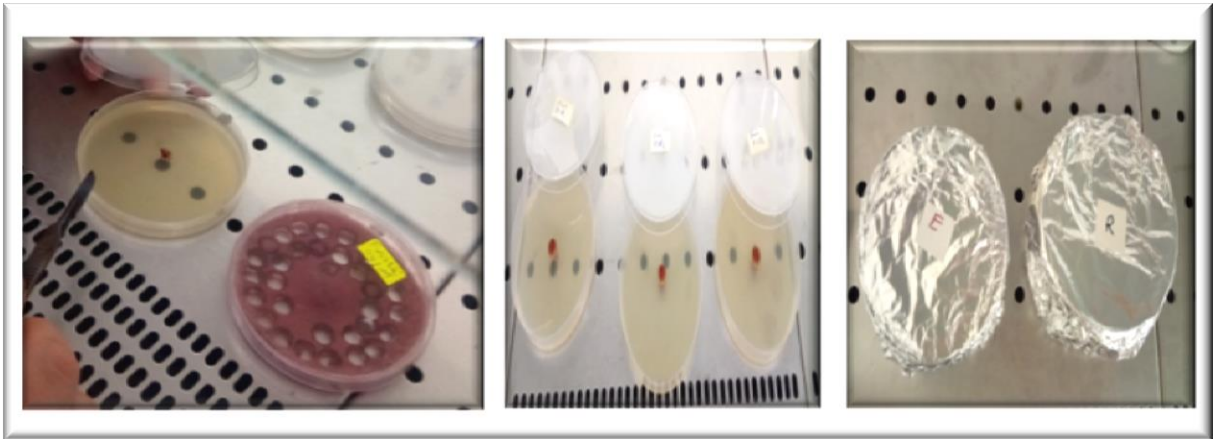


Figure 43. Méthode de contact direct

1.3.3 Détermination des paramètres antifongiques CMI et CMF en milieu solide

1.3.3.1 La concentration minimale inhibitrice

La plus faible concentration testée où la croissance mycélienne est dépourvue, correspond à la CMI.

1.3.3.2 La concentration minimale inhibitrice fongicide ou fongistatique

La nature fongistatique ou fongicide des huiles essentielles a été testée en observant la reprise de la croissance du disque mycélien inhibé, résultante de la CMI, suite à son transfert vers un milieu de culture (PDA) non traité.

1.3.3.2.1 Lecture

- Un effet fongicide est établi là où il n'y avait pas de croissance,
- Un effet fongistatique est avéré là où une inhibition temporaire de la croissance mycélienne se produit.

1.4 Etude statistique

Une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA à deux facteurs et ANOVA à un facteur) a été réalisée sur les données collectées. Un test de Tukey a été appliqué aux moyennes en admettant un niveau de 0,05% pour les différences significatives. L'analyse est réalisée avec le logiciel **IBM SPSS, Statistics 25**. Les données sont présentées dans des tableaux comme des moyennes \pm erreur standard ($M \pm SE$).

- NS: Différence non-significative $p > 0,05$
- *: Différence significative $p < 0,05$
- **: Différence hautement significative $p < 0,01$
- ***: Différence très hautement significative $p < 0,001$

2 Résultats de la troisième partie

L'effet antimicrobien des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis* a été évalué sur neuf (09) micro-organismes pathogènes alors que l'effet antifongique a été réalisé sur deux (02) champignons phytopatogènes.

2.1 Activité antimicrobienne

La diffusion des huiles essentielles étudiées sur milieu gélose solide nous a permis d'évaluer leur efficacité par le comportement des souches testées. Elle s'interprète un classement en catégories décrites par **Ponce et al. (2003)**. Cette méthode permet aussi la mesure des diamètres des zones d'inhibition en plus de l'estimation de la CMI et une évaluation du type d'activité des huiles essentielles étudiées.

2.1.1 Résultats d'analyse qualitative et de catégorisation des souches testées

Le **tableau XXII** révèle qu'à l'état brut de HE d'*Eucalyptus globulus*, les souches testées varient leurs comportements de **résistante** (*Pseudomonas aeruginosa*), à **sensible** (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 53, *Acinetobacter baumannii* 1, *Acinetobacter baumannii* 2), à **très sensible** (*Escherichia coli* ATCC 22, *Staphylococcus aureus*) voire **extrêmement sensible** (*Saccharomyces cerevisiae*). De même avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, les souches testées varient leurs comportements de **Résistante** (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 53 et *Pseudomonas aeruginosa*) à **sensible** (*Escherichia coli*, *Escherichia coli* ATCC 22).

Tableau XXII. Sensibilité bactérienne vis-à-vis de différentes concentrations des deux huiles essentielles étudiées

N°	Souches	<i>Eucalyptus globulus</i>						<i>Rosmarinus officinalis</i>				
		Brut	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	Brut	1/2	¼	1/8	1/16
01	<i>Escherichia coli</i> ATCC 22	++	+	+	-	-	-	++	+	-	-	-
02	<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
03	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
04	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 53	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
05	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
06	<i>Acinetobacter baumannii</i> 1	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
07	<i>Acinetobacter baumannii</i> 2	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
08	<i>Staphylococcus aureus</i>	++	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
09	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	+++	+++	++	+	+	+	+++	+++	++	+	+

2.1.2 Résultats d'analyse quantitative et des paramètres antimicrobiens

Le **tableau XXIII**, révèle que :

➤ L'HE d'*Eucalyptus globulus* semble plus efficace contre *Saccharomyces cerevisiae* avec un intervalle de diamètre d'inhibition de **26,70** mm et une CMI de **0,68 mg/ml**.

➤ De plus, l'HE d'*Eucalyptus globulus* agit sur la bactérie à **Gram +**, *Staphylococcus aureus*, avec un diamètre d'inhibition de **17,34** mm et une CMI de **5,49** mg/ml.

➤ De même sur les bactéries à **Gram -** où nous avons enregistré avec *Escherichia coli* ATCC 25922 (**14,90** mm et CMI = **5,49** mg/ml), *Klebsiella pneumoniae* (**14,00** mm et CMI = **5,49** mg/ml), *Escherichia coli* (**11,93** mm et CMI = **5,49** mg/ml), *Acinetobacter baumannii* 1 (**11,67** mm et CMI = **10,97** mg/ml), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (**10,07** mm et CMI = **10,97** mg/ml) et *Acinetobacter baumannii* 2 (**09,70** mm et CMI = **10,97** mg/ml).

Tableau VIII. Diamètres des zones d'inhibitions en mm (moyenne ± se), la concentration minimale inhibitrice et le type d'activité de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*

N°	Souches	20 µl HE	CMI (mg/ml)	Type d'activité
01	<i>Escherichia coli</i> ATCC 22	14,90 ± 0,06	5,49	Bactériostatique
02	<i>Escherichia coli</i>	11,93 ± 0,09	5,49	
03	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14,00 ± 0,05	5,49	
04	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 53	10,07 ± 0,09	10,97	
05	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	/
06	<i>Acinetobacter baumannii</i> 1	11,67 ± 0,38	10,97	Bactériostatique
07	<i>Acinetobacter baumannii</i> 2	9,70 ± 0,21	10,97	
08	<i>Staphylococcus aureus</i>	17,43 ± 0,09	5,49	
09	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	26,70 ± 0,21	0,68	

- : aucune inhibition

Mais, nous avons noté que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* ne provoque aucune inhibition sur le *Pseudomonas aeruginosa*.

Nous pouvons déduire, que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* prouve une activité bactériostatique.

A partir du **tableau XXIV**, nous pouvons conclure que:

➤ L'HE de *Rosmarinus officinalis* a une bonne activité sur *Saccharomyces cerevisiae* avec un intervalle de diamètre d'inhibition qui varie de **25,37** à **09,11** mm et avec une CMI de **0,91** mg/ml.

➤ Les bactéries à **Gram⁻** ont enregistré plusieurs variations de diamètre et des différentes de CMI sous l'effet de l'HE de *Rosmarinus officinalis*: *Escherichia coli* ATCC 25922 (**15,66** mm et CMI = **3,66** mg/ml), *Acinetobacter baumannii* 2 (**14,00** mm et CMI = **3,66** mg/ml), *Escherichia coli* (**14,00** mm et CMI = **3,66** mg/ml) et *Acinetobacter baumannii* 1 (**11,83** mm et CMI = **3,66** mg/ml).

➤ L'HE de *Rosmarinus officinalis* agit relativement moins sur la bactérie à Gram + : *Staphylococcus aureus*. Ceci se traduit par le diamètre de la zone d'inhibition de **12,93** mm et une CMI de **7,32** mg/ml.

➤ L'HE de *Rosmarinus officinalis* n'a aucune influence sur *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Pseudomonas aeruginosa*.

Nous pouvons noter que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* possède également une activité **bactériostatique**.

Tableau XXIV. Diamètres des zones d'inhibitions en mm (moyenne ± se), la concentration minimale inhibitrice et le type d'activité de l'huile essentielle *Rosmarinus officinalis*

N°	Souches	20 µl HE	CMI (mg/ml)	Type d'activité
01	<i>Escherichia coli</i> ATCC 22	15,66 ± 0,06	3,66	Bactériostatique
02	<i>Escherichia coli</i>	14,00 ± 0,06	3,66	
03	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	/	/
04	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 53	-	/	
05	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	/	
06	<i>Acinetobacter baumannii</i> 1	11,83 ± 0,09	3,66	Bactériostatique
07	<i>Acinetobacter baumannii</i> 2	14,00 ± 0,06	3,66	
08	<i>Staphylococcus aureus</i>	12,93 ± 0,15	7,32	
09	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	25,37 ± 0,32	0,91	

- : aucune inhibition

2.2 Activité antifongique

Le pouvoir antifongique des HEs étudiées a été révélé par la présence ou l'absence de la croissance mycélienne après 7 jours d'incubation à 27 °C. Les doses appliquées (24, 32, 40, 48 et 56 µl HE/ 20 ml PDA) étaient retenues après plusieurs essais.

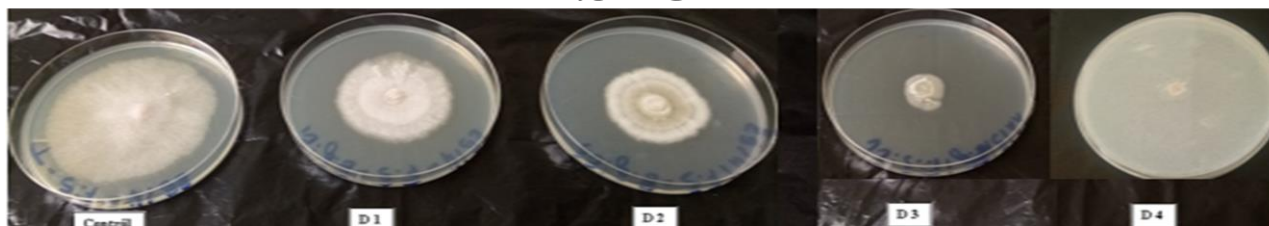
2.2.1 Résultats de contact direct du test antifongique

Les résultats reportés dans les tableaux **XXV** et **XXVI** ainsi que par les figures **44** et **45** montrent que les deux champignons étudiés révèlent une sensibilité aux différentes doses des huiles essentielles testées. De plus, la croissance mycélienne diminue avec l'augmentation des doses des huiles essentielles testées (relation inversement proportionnelle).

Tableau XXV. Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (MGI %) in-vitro du *Fusarium solani* (moyenne ± se)

Huiles essentielles	Doses (µl HE/ 20 ml PDA)					CMI mg/ml
	24	32	40	48	56	
<i>Eucalyptus globulus</i>	38,31± 0,56	51,67 ± 0,43	85,47 ± 0,33	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	2,16
<i>Rosmarinus officinalis</i>	32,93± 0,22	44,69 ± 0,26	69,29 ± 0,22	82,17 ± 0,22	100,00 ± 0,00	1,68

Eucalyptus globulus



Rosmarinus officinalis

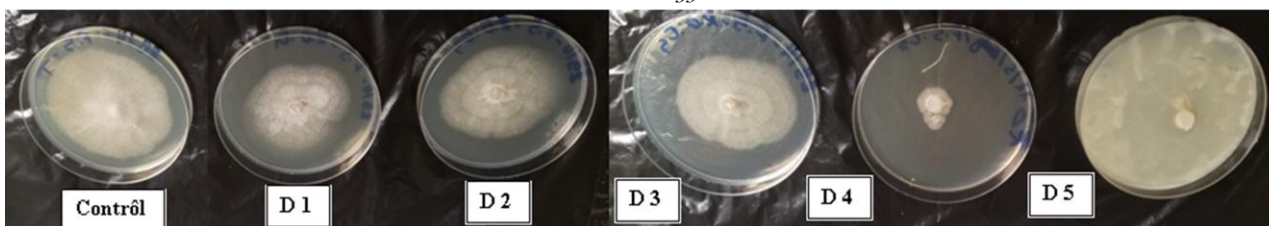
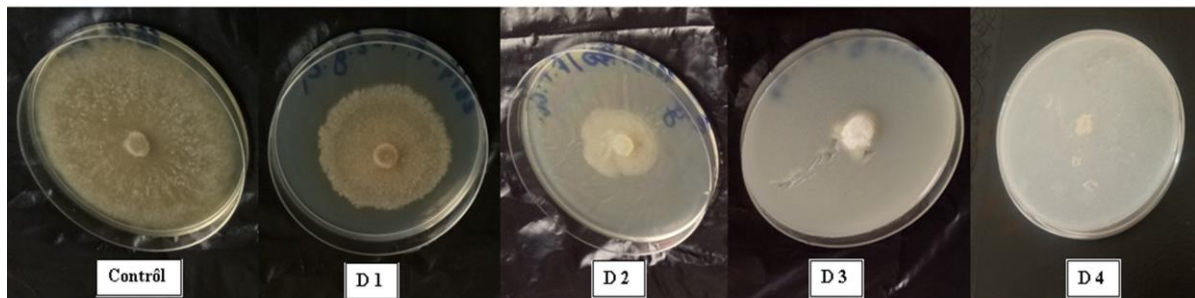


Figure 44. Croissance mycélienne du *Fusarium solani* exposé aux concentrations croissantes de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis*

Tableau IXVI. Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (MGI %) in-vitro du *Fusarium tricinctum* (moyenne ± se)

Huiles essentielles	Doses (µl HE/ 20 ml PDA)					CMI mg/ml
	24	32	40	48	56	
<i>Eucalyptus globulus</i>	43,47 ± 0,83	65,66 ± 0,41	90,46± 0,39	100,00 ±0,00	100,00 ± 0,00	2,16
<i>Rosmarinus officinalis</i>	20,54 ± 0,40	33,56 ± 0,75	68,47± 0,59	80,72 ± 0,27	100,00 ± 0,00	1,68

Eucalyptus globulus



Rosmarinus officinalis.

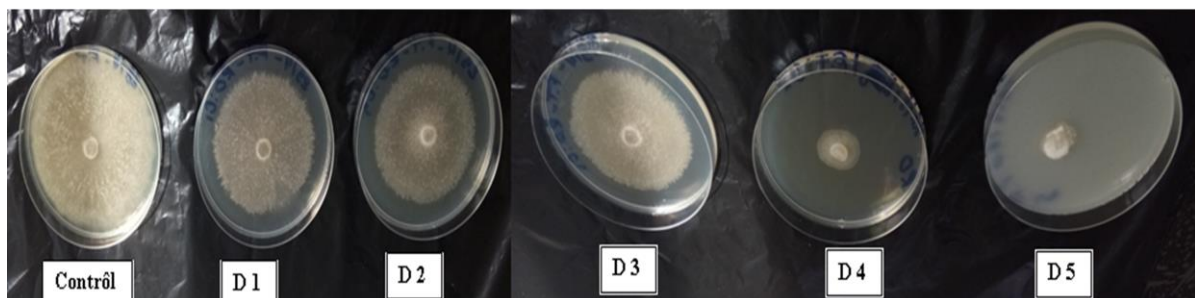


Figure 45. Croissance mycélienne du *Fusarium tricinctum* exposé aux concentrations croissantes de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis*

Cependant, nous remarquons une inhibition totale de la croissance mycélienne des deux champignons avec la dose 48 μ l de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et 56 μ l pour l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* et avec une CMI de **2,16** et **1,68 mg/ml** respectivement. Le pourcentage d'inhibition de croissance de *Fusarium tricinctum* pour les doses 24, 32 et 40 μ l d'HE d'*Eucalyptus globulus* varie entre 43.47, 65.66 et 90.46 %. Cette valeur est supérieure à celle observée chez *Fusarium solani* (38.31, 51.67 et 85.47 %). Tandis que, pour les doses 24, 32, 40 et 48 μ l d'HE de *Rosmarinus officinalis*, le pourcentage d'inhibition de croissance de *Fusarium tricinctum* s'étale de 20.54, 33.56, 68.47 et 80.72 % et il est inférieur à celui observé chez *Fusarium solani* 32.93, 44.69, 69.29 et 82.17 %.

2.2.2 Résultats du type d'activité des HEs étudiées *in vitro*

Nous commençons par la **Figure 46**, où les résultats relatifs à l'examen du type d'activité des HEs étudiées *in vitro* révèlent une activité fongistatique, puisque la croissance des champignons phytopathogènes testés a repris sur le milieu PDA sans huile essentielle.

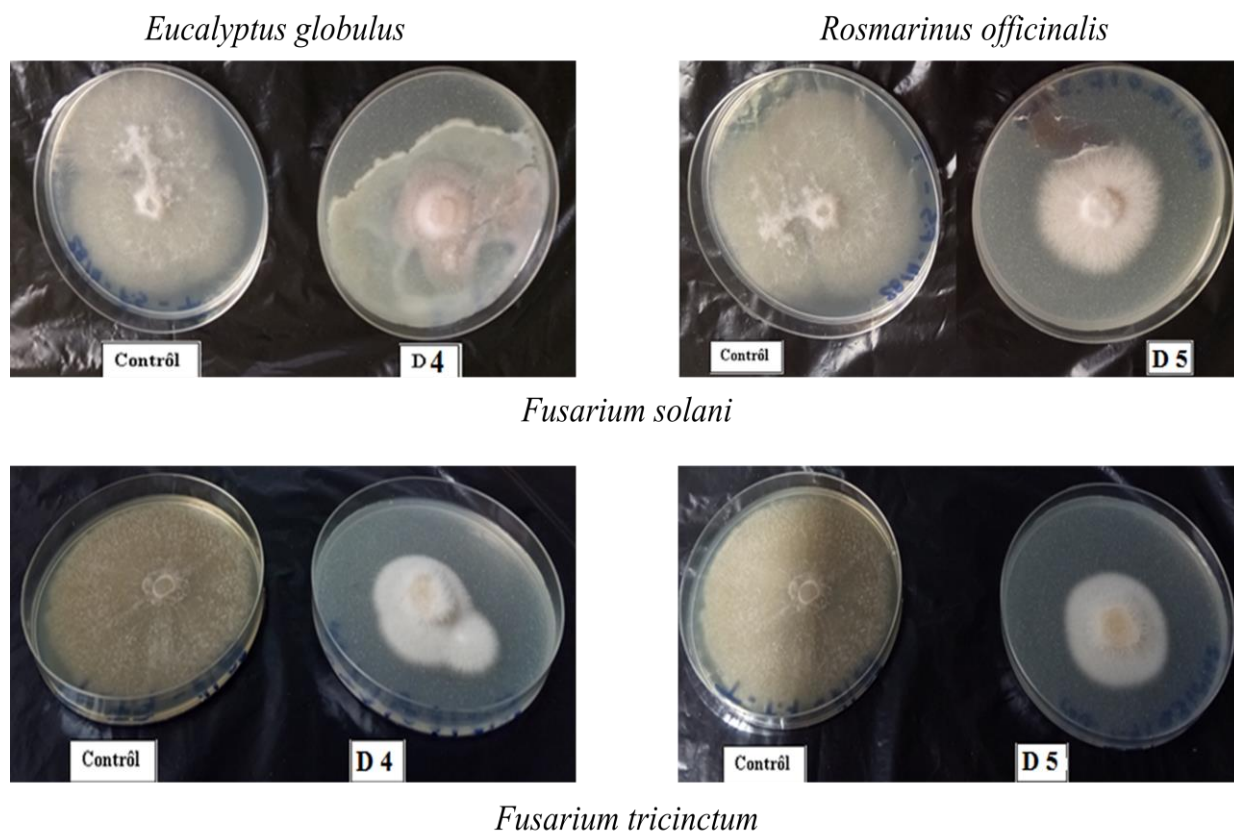


Figure 46. Effet fongistatique des HEs d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis*
Le tableau XXVII, met en évidence le classement du pouvoir anti fongique des deux HEs selon les données obtenues.

Tableau XVII. Classement et nature des HEs d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis*

Huiles essentielles	Doses (μ l HE/20 ml PDA)					Type d'activité
	24	32	40	48	56	
<i>Fusarium solani</i>						Fongistatique
<i>Eucalyptus globulus</i>	+	++	+++	+++	+++	
<i>Rosmarinus officinalis</i>	+	+	++	+++	+++	
<i>Fusarium tricinctum</i>						
<i>Eucalyptus globulus</i>	+	++	+++	+++	+++	
<i>Rosmarinus officinalis</i>	-	+	++	+++	+++	

- Pas active
- + Moyennement active
- ++ Active
- +++ Très active

On suggère que, plus la dose en HEs augmente plus la croissance mycélienne décroît. Ceci expliquerait la variété de comportements des deux champignons à l'égard des deux huiles essentielles testées.

L'HE d'*Eucalyptus globulus* testée avec les trois premières doses contre les deux champignons passe d'une huile **Moyennement active** à une huile **Très active**, contrairement

à l'utilisation de l'HE de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Fusarium tricinctum* à la dose 24 μ l où elle semble être **non-active**. Elle devient **active** à la troisième dose (40 μ l) et **Très active** avec la quatrième dose (48 μ l). A l'égard de *Fusarium solani*, elle semble être une huile **Moyennement active** à une huile **Très active** exercée avec la première dose (24 μ l) jusqu'à la troisième dose (40 μ l).

Il est donc clairement retenu que l'HE d'*Eucalyptus globulus* exerce un très bon pouvoir antifongique vis-à-vis des champignons testés par rapport à l'HE de *Rosmarinus officinalis*.

3 Discussion de la troisième partie

3.1 Activité antimicrobienne

Au cours de notre étude, tous les microorganismes testés présentent une sensibilité décroissante vis-à-vis des dilutions des huiles essentielles utilisées. Plus la concentration de l'HE diminue, plus les souches perdent leur sensibilité. C'est l'effet d'inhibition **dose-dépendant**. Aussi, il a été observé que les huiles testées étaient efficaces contre l'ensemble des bactéries Gram positif et Gram négatif ce qui corrobore avec les résultats de **Dulal et al. (2021)** et **Boukhatem et al. (2020)**. Les huiles essentielles sont dotées d'une grande activité antibactérienne contre les bactéries Gram⁻ et Gram⁺ et ne possèdent pas la même sensibilité vis-à-vis de tout agent antimicrobien (**Kalembe et Kunicka, 2003; Oyedeji et al., 2005**). Une observation générale dérivée de plusieurs études faites sur beaucoup d'autres espèces végétales, indique que la résistance est généralement plus élevée chez les bactéries Gram⁻ que celle observée chez les bactéries Gram⁺ (**Nostro et al., 2000; Turkmen et al., 2007**). Cela pourrait être attribué à la présence de leurs membranes phospholipidique externe pratiquement imperméable aux composés hydrophobes (**Georgantelis et al., 2007**), ce qui n'est pas en accord avec nos résultats qui montrent que même les souches de Gram⁻ sont sensibles devant les deux huiles essentielles utilisées.

- La souche de référence *Escherichia coli* ATCC 22 était **très sensible** à l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* (14,90 mm) et de *Rosmarinus officinalis* (15,66 mm), récoltée dans la région d'El Tarf. Les résultats obtenus avec l'HE d'*Eucalyptus globulus* étaient inférieurs à ceux calculés par **Samoussa et al. (2018)** après l'application de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* du Maroc. Cependant, en testant l'HE de *Rosmarinus officinalis*, les résultats étaient supérieurs à 13,5mm enregistrés par **Ouibrahim (2015)**. Par contre, la souche de référence *Escherichia coli* ATCC 22 a été notée résistante à l'HE d'*Helichrysum italicum* (**Bouزيد, 2018**).

- Les résultats obtenus avec la souche **résistante** *Escherichia coli* semblent être supérieurs à ceux enregistrés par **Boukhatem et al. (2020)** (11 mm avec *Eucalyptus globulus*) et par **Mouas et al. (2017)** (9,5 mm avec *Rosmarinus officinalis*). Par contre, **Dulal et al. (2021)** notent un diamètre de 12 mm pour l'HE de gingembre, ce qui est proche des résultats trouvés avec l'HE *Eucalyptus globulus* (11,93 mm) et inférieurs à ceux trouvés avec l'HE de *Rosmarinus officinalis* (14,00 mm).

- La **sensibilité** de *Klebsiella pneumoniae* (**14 mm**) à l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* semble être modérée, ce qui ne corrobore pas avec les résultats de **Bouras (2019)** qui montrent que la souche était **extrêmement sensible (21,5mm)** avec la même plante du Maroc et également avec l'huile de gingembre (16 mm) (**Dulal et al., 2021**). Par contre, avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, nous avons noté une **résistance** enregistrée avec

Klebsiella pneumoniae ATCC 4352. Ces mêmes résultats ont été notés en traitant cette même bactérie avec l'HE d'*Helichrysum italicum* (Bouزيد, 2018).

- Les diamètres d'inhibition qui varient entre 9.70, 11.67, 11.83 et 14.00 mm. Interprètent la sensibilité des deux souches d'*Acinetobacter baumannii* 1 et 2, vis-à-vis des HEs étudiées. Damjanović-Vratnica et al. (2011) ont enregistré 36mm de diamètre d'inhibition en testant l'HE d'*Eucalyptus globulus* de Montenegro. Ouibrahim (2015) a noté 9,2 mm comme zone d'inhibition avec l'HE de *Rosmarinus officinalis* ce qui est inférieur par rapport à nos résultats (11.83 et 14.00mm). De même, chez Chahboun et al. (2015), *Acinetobacter baumannii* se comportent différemment avec l'HE de *Lavandula Officinalis* (20mm).

- La souche de référence *Pseudomonas aureus* ATCC 27853 montre une sensibilité au brute de l'HE d'*Eucalyptus globulus* avec une zone d'inhibition de 10,07 mm qui est inférieure aux résultats évalués avec Bouras (2019) en testant la même espèce végétale récoltée à la même zone d'étude que la notre. Mais *Pseudomonas aureus* ATCC 27853 agit avec une résistance au brute de l'HE de *Rosmarinus officinalis* étudiée, ce qui corrobore avec les travaux de Dulal et al. (2021) (HE de gingembre) et sensible avec HE de *Rosmarinus officinalis* (9,8 mm) Ouibrahim (2018).

- La souche résistante *Pseudomonas aureus* s'avère être résistante, ce qui est en accord avec les travaux de Boukhatem et al. (2020) en testant l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. Ouibrahim (2018) avec HE de *R.officinalis*.

- L'HE d'*Eucalyptus globulus* s'est avérée active contre la bactérie *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de 17,43 mm, supérieur à celui mesuré avec la même espèce bactérienne ramenée de la même région d'étude (Bouras, 2019). Cependant, cette bactérie est sensible vis-à-vis l'HE de *Rosmarinus officinalis* avec un diamètre d'inhibition de 12,93 mm, inférieur à celui mesuré par Mehalaïne (2018) en testant l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de Ain Beida et les travaux de Dulal et al. (2021) en testant l'huile essentielle du gingembre. Ceci pourrait être dû à la période de notre échantillonnage qui nous paraît un peu précoce par rapport à celle décrite par ces auteurs.

- Pour la levure *Saccharomyces cerevisiae*, peu de travaux peuvent confirmer nos résultats qui révèlent l'efficacité des deux huiles essentielles étudiées. La composition chimique des huiles essentielles peut varier selon plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques (Lahlou, 2004). Selon Wang et al. (2012), l'impact des composés mineurs n'est pas à négliger. Ce qui suggère que les composants mineurs peuvent avoir un effet synergique. Les différents composants des huiles essentielles montrent différents degrés d'activité contre des bactéries Gram- et Gram+ (Dorman & Deans, 2000). Ce comportement à l'égard des microorganismes peut dépendre d'un ou de deux de leurs principaux constituants. Comme il

peut être dû à la combinaison entre les constituants majeurs et les mineurs des huiles essentielles.

L'activité antimicrobienne semble être due à plusieurs molécules présentes dans les huiles essentielles. Ceci a été annoncé par plusieurs auteurs, tels que:

Hassani et al. (2017): montrant que l'effet antimicrobien est dû essentiellement aux alcools terpéniques des huiles essentielles qui sont particulièrement actifs contre les cellules microbiennes, car solubles dans les milieux aqueux.

Laurent (2017) : révèle que le 1,8-cinéol (eucalyptol) est actif sur *Staphylococcus aureus*.

Chahboun et al. (2015): dévoilent que l'activité antimicrobienne révélée par leurs résultats est due essentiellement à la richesse de l'huile essentielle en α -pinène, camphre, bornéol et différents esters présents.

Oussou (2009): montre que les fractions des essences riches en alcools tels que le thymol, le terpinéol-4 ou le géraniol présentent une très bonne activité antibactérienne.

Viljoen et al. (2005) : révèlent que l'HE riche en carvone est une huile efficace contre des bactéries pathogènes de l'Homme.

3.2 Activité antifongique

Le test antifongique révèle une relation inversement proportionnelle entre la dose et l'activité antifongique. Plus la dose augmente, plus le taux d'inhibition augmente. Ceci est prouvé dans les résultats des travaux *in vivo* de **Bouzidi (2016)** et **Andrianjafinandrasana (2018)**. De plus, le genre *Fusarium*, semble sensible aux huiles essentielles telles que les deux huiles essentielles testées dans cette étude, en plus des résultats dévoilés par l'HE de menthe (**Garcia et al., 2008**), l'HE de girofle (**Andrianjafinandrasana, 2018**) et l'HE de géranium (**Giuliani, 2015**).

Plusieurs molécules composantes de plusieurs huiles essentielles sont responsables de l'inhibition de la progression des champignons, parmi lesquelles:

- L'eugénol : inhibe totalement et irréversiblement la croissance mycélienne du genre *Fusarium* (**Andrianjafinandrasana, 2018**).
- Le carvone : molécule reconnue pour sa toxicité contre des champignons phytopathogènes du genre *Fusarium* (**Garcia et al., 2008**).
- L'estragole : molécule ayant des propriétés antifongiques (**Kocić-Tanackov et al., 2011**) et phytotoxiques avérées (**Ahamrouni et al., 2012**).
- caryophyllène : molécule reconnue antifongiques par **Boulogne et al. (2012)**.

- limonène : possède des propriétés antifongiques et phytotoxiques (**Andrianjafinandrasana et al., 2013**),

A partir de cette étude, nous avons pu démontrer que les huiles essentielles étudiées ont la capacité de bloquer le développement et la croissance momentanée des micro-pathogènes (bactéries, levures et champignons). Cette propriété les rend utiles pour la conservation des aliments et pourquoi pas le stockage des denrées alimentaires en post-récoltes. De même, elles peuvent s'avérer utiles dans la formulation des biopesticides.

Conclusion de la troisième partie

L'étude a été menée pour déterminer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles contre neuf (09) microorganismes pathogènes et l'activité antifongique contre deux (02) champignons phytopathogènes.

Les souches étudiées semblent être sensibles à l'état brute des huiles essentielle et changent de comportement une fois l'huile est diluée. Les huiles essentielles étudiées ont montré un effet d'inhibition dose-dépendant.

Les résultats de l'aromatogramme révèlent une variété du comportement des souches testées l'état brut de l'HE d'*Eucalyptus globulus*. Elles sont **résistantes** (*Pseudomonas aeruginosa*), **sensibles** (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonie*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Acinetobacter baumannii* 1, *Acinetobacter baumannii* 2), **très sensibles** (*Escherichia coli* ATCC 22, *Staphylococcus aureus*) et **extrêmement sensibles** (*Saccharomyces cerevisiae*). De même avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, les souches testées changent leurs comportement du **résistantes** (KP, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa*), **sensibles** (*Escherichia coli* ATCC 22, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* 1, *Acinetobacter baumannii* 2, *Staphylococcus aureus*) ou **extrêmement sensibles** (*Saccharomyces cerevisiae*).

- Sur les bactéries **Gram⁻**, l'aromatogramme avec l'HE d'*Eucalyptus globulus*, révèle des diamètres d'inhibition et une CMI différents. Ils sont évalués respectivement sur *Escherichia coli* ATCC 22 (**14,90** mm; CMI= **5,49** mg/ml), sur *Klebsiella pneumonie* (**14.00** mm et CMI = **5.49 mg/ml**), sur *Escherichia coli* (**11,93** mm et CMI = **5.49** mg/ml), sur *Acinetobacter baumannii* 1 (**11,67** mm et CMI = **10,97** mg/ml), sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (**10,07** mm et CMI = **10,97** mg/ml) et sur *Acinetobacter baumannii* 2 (**09,70** mm et CMI = **10,97** mg/ml).

- Cependant, sous l'effet de l'HE de *Rosmarinus officinalis*, nous avons noté sur *Escherichia coli* ATCC 22 (diamètre d'inhibition=**15,66** mm et CMI = **3,66** mg/ml), sur *Acinetobacter baumannii* 2 (**14.00** mm et CMI = **3,66** mg/ml), sur *Escherichia coli* (**14,00** mm et CMI = **3,66** mg/ml) et sur *Acinetobacter baumannii* 1 (**11,83** mm et CMI = **3,66** mg/ml). Par contre, l'HE de *Rosmarinus officinalis* n'a aucune influence sur *Klebsiella pneumonie* et *Pseudomonas aeruginosa*.

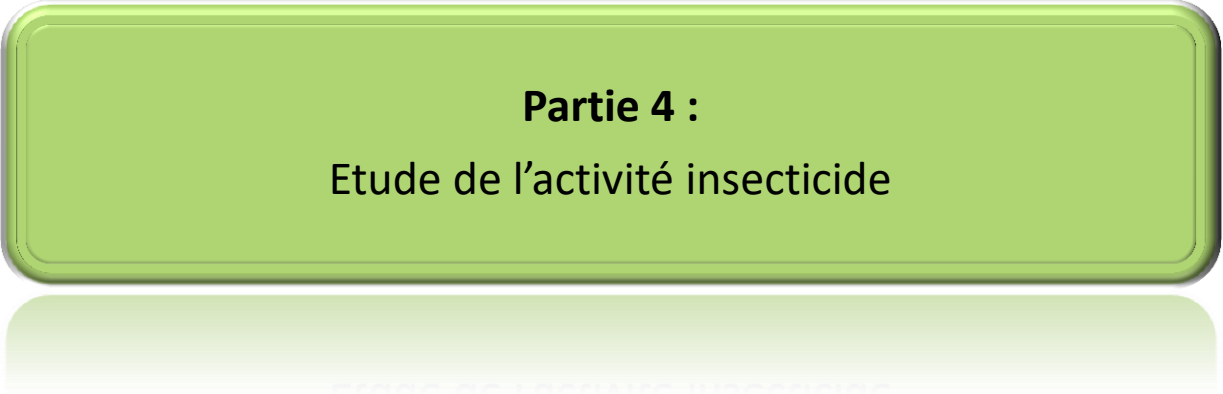
De plus, les deux HEs ne provoquent aucune inhibition sur le *Pseudomonas aeruginosa*. L'HE d'*Eucalyptus globulus* décroît parfaitement le développement des bactéries étudiées à **Gram +** que l'HE de *Rosmarinus officinalis*. Nos résultats montrent que l'HE d'*Eucalyptus globulus* agit mieux que l'HE de *Rosmarinus officinalis* sur la bactérie à **Gram +**, *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibition de **17,34** mm et **12,93** m respectivement. Ce qui est confirmé par la CMI : **5.49** mg/ml et **7,32** mg/ml respectivement pour chaque huile testée.

L'HE d'*Eucalyptus globulus* semble plus efficace contre *Saccharomyces cerevisiae* que l'HE de *Rosmarinus officinalis* avec un diamètre d'inhibition qui est de **26,70** mm et de **25,37** mm. Ainsi, la CMI = **0,68** mg/ml et **0,91** mg/ml respectivement. Nous pouvons donc noter que les deux HEs étudiées possèdent une activité **bactériostatique**.

Les deux champignons phytopathogènes étudiés montrent une sensibilité aux différentes doses des huiles essentielles testées. La croissance mycélienne diminue par l'effet de l'augmentation des doses d'huiles essentielles d'où une **relation inversement proportionnelle**. Le pourcentage d'inhibition de croissance de *Fusarium tricinctum* pour les doses 24, 32 et 40 µl d'HE d'*Eucalyptus globulus* varie entre 43.47, 65.66 et 90.46 %. Il était supérieur à celui observé chez *Fusarium solani* (38.31, 51.67 et 85.47 %). Tandis que, pour les doses 24, 32, 40 et 48 µl d'HE de *Rosmarinus officinalis*, le pourcentage d'inhibition de croissance de *Fusarium tricinctum* s'étale de 20.54, 33.56, 68.47 et 80.72 %. Il était inférieur à celui observé chez *Fusarium solani* 32.93, 44.69, 69.29 et 82.17%.

Ainsi, nous marquons que l'HE d'*Eucalyptus globulus* (de la première dose jusqu'à la troisième dose), passe d'une huile **Moyennement active** à une huile **Très active avec les** deux champignons. Contrairement avec l'HE de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Fusarium tricinctum* qui semble passer d'une huile **pas active** avec la première dose (24µl), puis **active** à la troisième dose (40 µl) et **Très active** à la quatrième dose (48 µl). Mais à l'égard de *Fusarium solani*, elle semble passer d'une huile **Moyennement active** à une huile **Très active** exercée avec la première dose (24 µl) jusqu'à la troisième dose (40 µl).

L'inhibition totale de la croissance mycélienne des deux champignons à la dose 48 µl de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et 56 µl pour l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Avec une CMI de **2,16** et **1,68** mg/ml respectivement. Les deux HEs étudiées *in vitro* possèdent un effet fongistatique. Il est clairement retenu que l'HE d'*Eucalyptus globulus* a exercé un très bon pouvoir antifongique vis-à-vis des espèces fongiques testées par apport à l'HE de *Rosmarinus officinalis*.



Partie 4 :
Etude de l'activité insecticide

PARTIE 4 : ETUDE DE L'ACTIVITE INSECTICIDE

Introduction de la quatrième partie

La wilaya d'El-Tarf dispose d'une biodiversité floristique intéressante en matière de plantes médicinales et aromatiques spontanées et cultivées. Depuis l'existence de l'Homme sur Terre, les plantes demeurent son premier refuge pour survivre. Il lutte contre les animaux sauvages avec les coupeaux de bois en faisant de la fumée et se servira des odeurs pour éloigner les insectes ou les attaques des animaux sauvages. De même, il s'en sert pour protéger sa nourriture, post-récolte, de toutes attaques des micro-organismes ou insectes nuisibles pour les denrées stockées. Les progrès de la physiologie, puis de la pharmacologie, ont permis de comprendre les mécanismes d'action de ces substances naturelles. Depuis quelques décennies, la compréhension des relations qui existent entre la structure d'une molécule et son activité biologique permet la conception et la fabrication de médicaments synthétiques aux performances améliorées ou aux effets indésirables mieux contrôlés **(Iserin, 1996)**.

Les insecticides chimiques de synthèses peuvent infecter et causer la toxicité des denrées stockées, l'alimentation post récolte de l'Homme et provoquer aussi la pollution de notre environnement. Ainsi, la recherche de nouveaux pesticides biologiques devient une nécessité et les insecticides à base d'huiles essentielles, afin de réduire l'utilisation des insecticides chimiquement synthétisés. D'après **Harouna et al. (2019)** et **Boné et al. (2020)**, les huiles essentielles font partie des biopesticides les plus efficaces, grâce à leur composition et leur richesse en molécules bioactives. Dans ce contexte, des techniques ont été mises en évidence pour évaluer la toxicité des huiles essentielles, telles que la toxicité par contact, la toxicité gastrique, les effets répulsifs et l'interférence dans le développement des insectes **(Castillo et al., 2017; Ling et al., 2018)**.

L'objectif de ce chapitre s'intègre dans la recherche de nouvelles molécules bioactives naturelles issues de plantes médicinales ou aromatiques, soit les huiles essentielles, pour une approche intégrée de lutte (Bio-insecticides) contre *Ephestia kuehniella*, un des ravageurs des denrées stockées. Le but ultime étant une bonne gestion des stocks, voire la préservation de notre environnement. Le potentiel toxique des huiles essentielles des deux espèces étudiées à l'égard des adultes d'*Ephestia kuehniella*, a été évalué par trois méthodes: effet toxique par fumigation ; effet toxique par contact ; et effet toxique par répulsion.

1 Matériel et méthodes de la quatrième partie

Cette partie d'étude a été exécutée à l'institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie (INRAT) au sein de laboratoire de Biotechnologie Appliquée à l'Agriculture (Section Entomologie) sous les orientations du professeur **Mediouni Ben Jemaa**. L'activité insecticide a été définie par les tests de toxicités adoptées: l'effet fumigène ; l'effet par contact ; et l'effet répulsif des huiles essentielles extraites à partir de deux plantes, *Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis*, sur les adultes d'*Ephestia kuehniella*.

1.1 Matériel biologique animal

1.1.1 Présentation d'*Ephestia kuehniella*

Ephestia kuehniella (Zeller, 1879) est connue sous plusieurs noms dont la mite méditerranéenne ou la pyrale de la farine, car elle s'alimente de la farine. Cet insecte est très répandu dans minoteries et s'attaque aux denrées stockées. C'est un lépidoptère de la famille des Pyralidées (**Figure 47**).



Figure 47. *Ephestia kuehniella* ou la pyrale de la farine⁵

Sa position systématique est la suivante:

Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda
Sous embranchement	Hexapoda
Classe	Insecta
Super classe	Endoptera
Ordre	Lepidoptera
Famille	Pyralidae
Genre	<i>Ephestia</i>
Espèce	<i>Ephestia kuehniella</i>

⁵ <https://www.flickr.com/photos/12639178@N07/8063231222>

1.1.2 Cycle de vie

Chez *Ephestia kuehniella*, la durée totale du cycle varie de 200 à 250 jours et le passage d'un stade à un autre constitue la métamorphose (Jean-Lou, 1978). D'après Blachowsky (1972), le cycle complet du développement d'*Ephestia kuehniella* comprend quatre stades : œuf, larve, chrysalide et adulte.

1.1.2.1 Les Œufs

L'œuf est petit (Figure 48), de couleur gris blanchâtre et de forme elliptique. Sa durée d'incubation varie de 3 à 4 jours (Balachowsky, 1972). Selon Brindley (1930), dès leur dépôt, les œufs forment un amas au fond et sur les parois des sacs de farine. L'œuf mesure environ 460 µm et environ 660 µm de largeur (Taibi, 2007; Papas, 2008).



Figure 48. Les œufs déposés par une femelle d'*Ephestia kuehniella*

1.1.2.2 La larve

La larve consomme plusieurs fois son propre poids de nourriture. À son premier stade, la larve, blanche tirant sur le rosé, mesure 1 à 1,5mm. Après six mues larvaires, elle atteint 15 à 20 mm au stade final et peut parcourir jusqu'à 400 m (Figure 49). Le mâle se différencie de la femelle par la présence de deux tâches noires à la face dorsale de l'abdomen, qui correspondent aux testicules (Hami, 2004; Taibi, 2007).

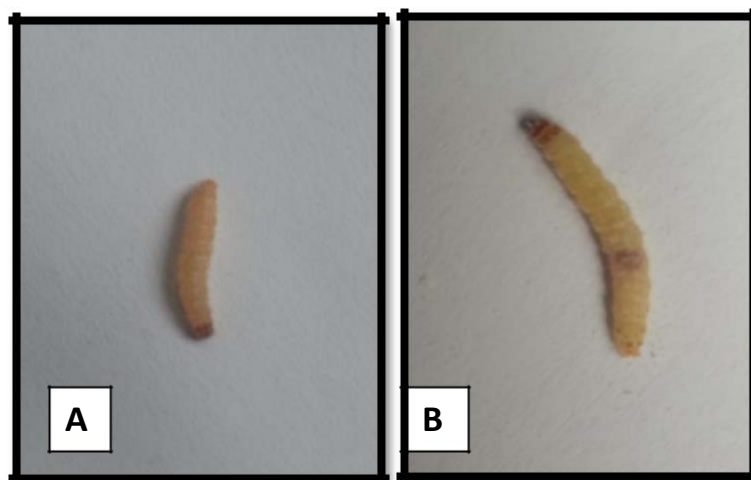


Figure 49. Dimorphisme sexuel des larves d'*Ephestia kuehniella*

(A: larve femelle, B: larve mâle)

1.1.2.3 La chrysalide ou nymphe

Formée après la dernière mue larvaire, elle ne se nourrit pas. De profonds remaniements se manifestent et consistent en la destruction des organes larvaires et à l'édification de ceux de l'adulte, notamment la maturation sexuelle (Cassier, 1996). La nymphe est de couleur blanchâtre et devient de plus en plus foncée avec l'âge (Figure 50). Entourée d'un cocon de soie blanche contenant des substances nutritives, la chrysalide aboutit à un adulte après une durée du développement nymphale variant de 8 à 12 jours (Hami, 2004).



Figure 50. Chrysalide d'*Ephestia kuehniella*

1.1.2.4 L'adulte

L'insecte adulte a une petite tête globuleuse et fait 20 à 25 mm d'envergure, les ailes antérieures sont grisâtres et satinées, avec des points noirs, les ailes postérieures, finement frangées, sont blanchâtres (Jean-Lou, 1978). Le corps est pourvu de trois paires de pattes et se divise en trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen. Chez la femelle, la ponte débute juste après l'accouplement. La femelle peut mettre de 200 à 300 œufs blancs en amas au fond et sur les parois des sacs de farine (Balachowsky, 1972). Les mâles meurent en général quelques jours après l'accouplement, les femelles après la ponte. Le cycle développement de l'insecte est représenté par la figure 51 ci-dessous.

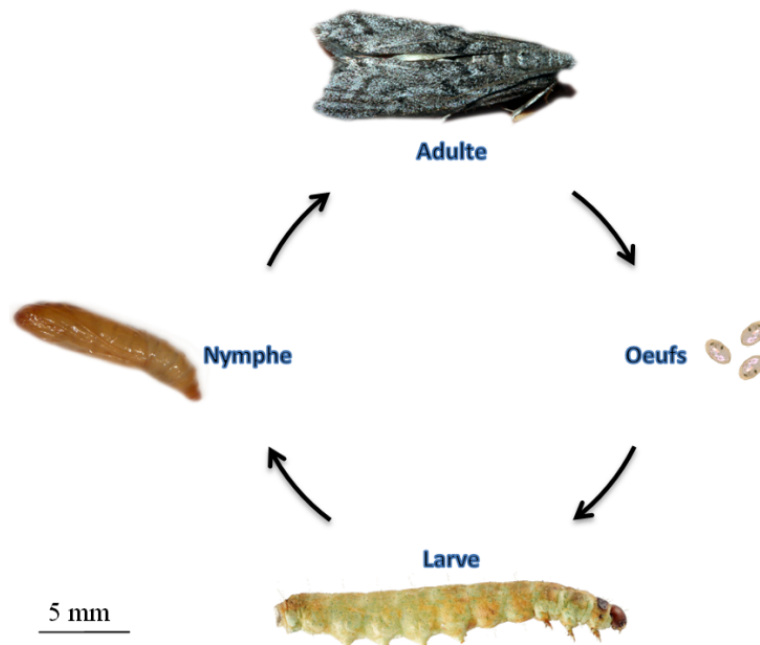


Figure 51. Cycle biologique d'*Ephestia kuehniella*

1.2 Méthodes d'élevage

Les mâles et les femelles sont élevés dans des bacs en plastique de 1 L contenant de la farine. L'élevage de masse a été conduit dans une étuve sous des conditions optimales de développement (température 27°C, humidité relative voisine à 70% et dans l'obscurité) correspondant aux conditions de vie de l'espèce (**Figure 52**). La datation des insectes se fait en jours après leur exuviation. On récupère les adultes à l'issue du premier adulte de 0 à 24h pour réaliser les tests biologiques.



Figure 52. Mode d'élevage d'*Ephestia kuehniella* au laboratoire

1.3 Méthode d'étude de la toxicité

1.3.1.1 Paramètres mesurés

L'étude de toxicité des huiles essentielle est réalisée par la détermination des paramètres suivants :

1.3.1.1.1 La Dose Létale DL_{50} et Concentration Létale CL_{50}

La Dose Létale et Concentration Létale à 50% (DL_{50} , CL_{50}): c'est la dose et la concentration qui causent la mortalité de 50% des insectes testés durant le traitement à différentes intervalles de temps.

1.3.1.1.2 La Dose Létale DL_{95} et Concentration Létale CL_{95}

La Dose Létale et Concentration Létale à 95% (DL_{95} , CL_{95}) : c'est la dose et la concentration qui causent la mortalité de 95% des insectes testés durant le traitement à différentes intervalles de temps.

1.3.1.1.3 Le Temps Létal TL_{50}

- Le Temps Létal à 50% (TL_{50}) : le temps nécessaire pour tuer 50% des insectes étudiées sous l'exposition des doses ou bien les concentrations testées.

1.3.2 Effet toxique des HEs étudiées sur la longévité des insectes par contact

Un lot de dix (10) insectes adultes âgés de 0 à 24h ont été déposés dans une boîte de Petri. Un disque de papier Wattman a été imbibé avec l'une des trois doses (0,25 μ l; 0,5 μ l et 2 μ l) des huiles essentielles et administré dans chaque boîte. Les concentrations obtenues sont comme suit : 0,005 μ l/cm² ; 0,01 μ l/cm² et 0,04 μ l/cm². Trois (03) essais sont nécessaires pour l'étude statistique. L'enregistrement de la mortalité des insectes été fait chaque heure jusqu'à la mort de la totalité des insectes. L'insecte est considéré mort lorsqu'aucun mouvement de pattes ou d'antenne n'est plus détecté.

1.3.3 Effet toxique des HEs étudiées sur la longévité des insectes par fumigation

Cinq (05) insectes adultes nouvellement exuviés ont été déposés dans un flacon à vis en plexiglas de 44 ml de volume, contenant de la farine et un papier plissé. La surface intérieure des bouchons est tapissée avec un disque en papier Wattman n°1 imbibé de l'huile essentielle étudiée avant la fermeture du flacon (**Figure 53**). Pour ce test, trois concentrations différentes ont été administrées (5,68 μ l/l d'air; 11,36 μ l/l d'air et 45,45 μ l/l d'air). Trois répétitions sont nécessaires pour les tests statistiques en comparaison avec les témoins. Le taux de mortalité des adultes par inhalation de l'huile essentielle a été enregistré chaque heure d'exposition jusqu'à la mort de la totalité des insectes traités. L'insecte est considéré mort lorsqu'aucun mouvement de pattes ou d'antenne n'est plus détecté.

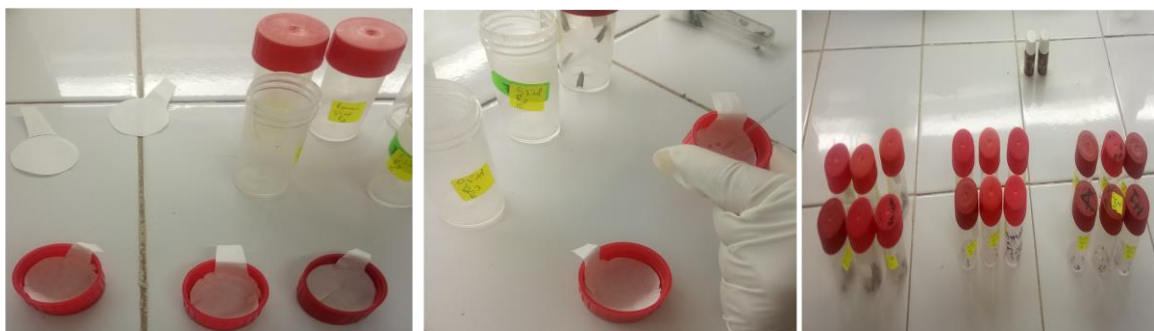


Figure 53. Test sur les adultes d'*E. kuehniella* par fumigation des huiles essentielles

1.3.4 Effet toxique des HEs par répulsion

Ce paramètre repose sur la méthode de la zone préférentielle décrite par **Mc Donald et al. (1970)**. Un papier est divisé en deux parties : La première moitié est imbibée avec l'une des concentrations testées (0,01 μ l/cm²; 0,02 μ l/cm² et 0,08 μ l/cm²) ; la deuxième moitié du papier sera imbibée avec de l'acétone et qui servira de partie neutre. Après évaporation du solvant, le papier sera reconstitué et placé dans le fond d'une boîte de 9 cm de longueur (**Figure 54**). Dix (10) insectes adultes d'*Ephestia kuehniella*, âgés de 0 à 24h, ont été déposés

au milieu de la boîte. Cette procédure est répétée trois fois pour chaque concentration comme le montre la figure ci-dessous.



Figure 54. Protocol du test répulsif appliqué sur les adultes d'*E. Kuehniella* par les deux huiles essentielles

Un dénombrement des insectes présents sur chacune des deux parties du disque placé dans la boîte de Petri est effectué au bout d'une heure, de trois heures, de cinq heures et de vingt quatre heures d'exposition à chaque concentration.

Le pouvoir répulsif obtenu est calculé en pourcentage par la formule suivante :

$$\text{Pouvoir répulsif \%} = \frac{NC - NT}{NC + NT} \times 100$$

NC : nombre d'insectes présents sur la partie du disque imbibé uniquement par l'acétone

NT : nombre d'insectes présents sur la partie du disque imbibé par la solution HE-Acétone.

Ensuite et selon **MC Donald et al. (1970)**, le pouvoir répulsif sera classé et attribué à l'une des différentes classes qui sont présentées dans le tableau **XXVIII** :

Tableau XI. Pourcentage de répulsion selon le classement de MC Donald et al. (1970)

Classes	Intervalle de répulsion	Propriétés
Classe 0	0% < PR ≤ 0,1 %	N'est pas répulsive
Classe I	0,1% < PR ≤ 20%	Très faiblement répulsive
Classe II	20 % < PR ≤ 40%	Faiblement répulsive
Classe III	40 % < PR ≤ 60%	Modérément répulsive
Classe IV	60 % < PR ≤ 80%	Répulsive
Classe V	80% < PR ≤ 100%	Très répulsive

1.4 Présentation des observations de tests toxicologiques

Les observations enregistrées sous formes de mortalité lors des tests toxicologiques des huiles essentielles à l'égard des adultes du model biologique choisi: l'effet toxique par contact, par fumigation et l'effet toxique par répulsion sur les adultes d'*Ephestia kuehniella*. Leurs présentation subit quelque transformation, afin d'écarter toute hypothèse de mortalité naturelle et d'évaluer l'efficacité toxique des huiles essentielles testées.

1.4.1 Mortalité observée

Elle se détermine en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée \%} = \frac{\text{Nombre d'insects morts}}{\text{Nombre d'insects traités}} \times 100$$

1.4.2 Mortalité corrigée

Afin d'apprécier l'effet toxique des huiles essentielles de nos plantes d'étude sur les adultes d'*Ephestia kuehniella* et d'écarter toute mortalité naturelle, la mortalité observée subit une correction suivant la formule d'**Abbott (1925)**.

$$\text{Mortalité corrigée \%} = \frac{\text{Mortalité observée chez les traités} - \text{Mortalité observée chez les témoins}}{100 - \text{Mortalité observée chez les témoins}} \times 100$$

1.5 Traitement des résultats

1.5.1 Analyse des probits

Les résultats obtenus en pourcentages des mortalités corrigées subissent une transformation logarithme décimal en fonction du probit selon la recommandation du (**Ficher & Yates, 1957**). Ce qui nous permet la détermination des CL₅₀, CL₉₅, DL₅₀, DL₉₅, DR₅₀ et DR₉₅, ainsi que les TL₅₀ et TR₅₀ selon **Finney (1971)**.

1.5.2 Analyse statistique

Une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) a été réalisée sur les données. Un test de Tukey a été appliqué aux moyens au niveau de 0,05% afin de détecter les différences significatives, par le **logiciel IBM SPSS, Statistics 25**. Les données sont présentées dans des tableaux comme des moyennes ± standard erreurs (M±SE).

- NS Différence non significative P > 0,05
- * Différence significative P < 0,05
- ** Différence hautement significative P < 0,01
- *** Différence très hautement significative P < 0,001

2 Résultats de la quatrième partie

2.1 Toxicité des HEs par contact

Après la mise en contact des adultes d'*Ephestia kuehniella* aux différentes concentrations des huiles essentielles et l'enregistrement du taux de mortalité (Figure 55), le traitement statistique (Tableau XXIX) révèle l'impacte des concentrations sur l'augmentation du taux de mortalité des adultes d'*Ephestia kuehniella*, à 48 h ($F_{1, 12} = 33.25$, $p \leq 0.001$) et à 72h d'exposition ($F_{1, 12} = 7.58$, $p \leq 0.01$). Alors que la variété en huile essentielle ne montre aucune différence significative à 48 h du test ($F_{1,12} = 0,083$, $p \geq 0,05$). En revanche, l'étude statistique des résultats à 72 h du test, montre une puissance significative de la variété en HE sur la progression des taux de mortalité des adultes d'*Ephestia kuehniella* ($F_{1,12} = 5.33$, $p \leq 0.05$).

Tableau XXIX. Analyse de la variance (ANOVA) unidirectionnelle de l'effet par contact des deux HEs sur les adultes d'*Ephestia kuehniella*

Source	SC	ddl	CM	F. Obs	P
à 48h					
HEs	5,556	1	5,556	0,083	0,778
Doses	4433,333	2	2216,667	33,250	0,000
HEs * Doses	11,111	2	5,556	0,083	0,921
Erreur	800,000	12	66,667		
Total	59700,000	18			
à 72h					
HEs	355,556	1	355,556	5,333	0,040
Doses	1011,111	2	505,556	7,583	0,007
HEs * Doses	77,778	2	38,889	0,583	0,573
Erreur	800,000	12	66,667		
Total	130600,000	18			

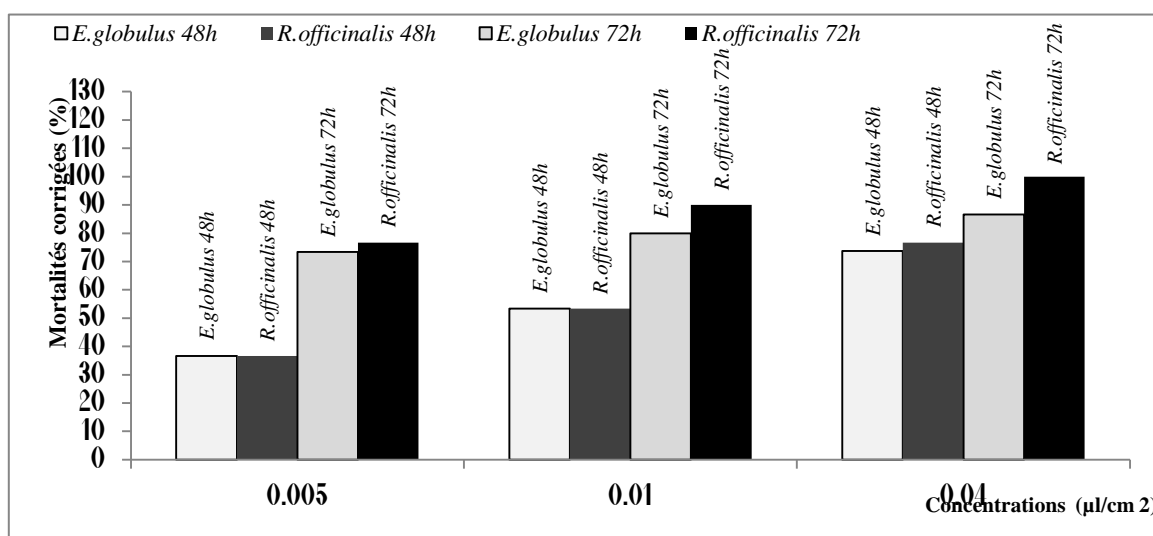


Figure 55. Taux de mortalité (%) des adultes d'*Ephestia kuehniella* à 48h et à 72 h d'exposition par contact aux huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis*

Pour chaque concentration, les mêmes lettres en minuscules ne sont pas différentes significativement ($p > 0,05$) entre les moyennes des deux HEs, selon le test de Tukey.

L'effet toxique des différentes concentrations des HE étudiées sur la mortalité des adultes d'*Ephestia kuehniella* est enregistré sur le **tableau XXX**.

Tableau XXX. Effet toxique de différentes concentrations d'huiles essentielles étudiées sur la mortalité des adultes d'*Ephestia kuehniella* après 48h et 72h de contact. (M ± Es, n = 3)

Concentrations ($\mu\text{l}/\text{cm}^2$)	Mortalités corrigées (%)			
	à 48 h		à 72 h	
	<i>Eucalyptus globulus</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
0,005	36,67 ± 6,67 A a	36,67 ± 6,67 C a	73,67 ± 8,82 Ed	76,67 ± 3,33 F d
0,01	53,33 ± 3,33 A Bb	53,33 ± 3,33 Cb	80 ± 5,77 E e	90 ± 0,00 G e
0,04	73,33 ± 3,33 B c	76,33 ± 3,33 Dc	86,67 ± 3,33 Ef	100 ± 0,00 H g

➤ Les mêmes lettres en majuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les différentes moyennes de la même HE, selon le test de Tukey.

➤ Les mêmes lettres en minuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les moyennes des deux HEs (pour chaque concentration et durée), selon le test de Tukey.

2.2 Efficacité de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis* sur les adultes d'*Ephestia kuehniella*

Les concentrations létales CL_{50} qui causent la mortalité de 50% d'adultes d'*Ephestia kuehniella*, sont proches et sont 0,013 et 0,011 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$. De même les valeurs du temps létales TL_{50} :

- Chez *Eucalyptus globulus*, on note pour la concentration 0,005 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$, le temps létales $TL_{50}=56,2$ h. Pour la concentration 0,01 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$, le temps létales $TL_{50}=49,53$ h et pour la concentration 0,04 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$, le temps létales est $TL_{50}=20,93$ h).

- Chez *Rosmarinus officinalis*, on enregistre un $TL_{50}= 55,7$ h avec la concentration 0,005 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$. Un $TL_{50}=54,99$ h avec la concentration 0,01 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ et ; $TL_{50}=29,13$ h avec la concentration : 0,04 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$. Ce qui confirme que les deux espèces étudiées ont le même pouvoir sur la mortalité des insectes testées (**Tableaux XXXI et XXXII**).

Tableau XXXI. Détermination de la CL_{50} et CL_{95} du l'Effet Toxique par contact

HE	CL_{50} ($\mu\text{l} / \text{cm}^2$)	CL_{95} ($\mu\text{l} / \text{cm}^2$)	χ^2	Slope ± SE	Sig	Ddl
<i>Eucalyptus globulus</i>	0,013 (0,06 - 0,019)	0,081 (0,062 - 0,124)	2,91	24,22 ± 4,93	0,08	1
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,011 (0,006 - 0,016)	0,059 (0,048 - 0,078)	1,99	34,78 ± 5,31	0,15	1

Tableau XXXII. Temps létale (TL_{50}) du l'Effet Toxique par contact

HE	Concentration ($\mu\text{l} / \text{cm}^2$)	TL_{50} (Heures)	χ^2	Slope ± SE	Sig	ddl
<i>Eucalyptus globulus</i>	0,005	56,21 (53,35-58,96)	0,18	0,03 ± 0,005	0,99	4
	0,01	49,53 (46,08-52,14)	5,05	0,04 ± 0,005	0,28	4
	0,04	20,93 (16,46-33,46)	0,12	0,02 ± 0,006	0,99	4

<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,005	55,7 (52,22- 57,69)	1,004	0,04 ± 0,005	0,90	4
	0,01	45,99 (41,94-48,87)	2,58	0,04 ± 0,006	0,63	4
	0,04	29,13 (17,89-35,17)	2,90	0,051 ± 0,008	0,57	4

2.3 Effet toxique des HEs par fumigation

L'analyse de la variance unidirectionnelle montre l'influence significative des huiles essentielles ($F_{1, 36} = 33,88 ; p \leq 0,001$), le temps d'inhalation ($F_{2, 36} = 63,77 ; p \leq 0,001$) et les doses testées ($F_{2, 36} = 7,47, p \leq 0,01$) sur la progression de la mortalité des adultes d'*Ephestia kuehniella* (Tableau XXXIII).

L'exposition des adultes d'*Ephestia kuehniella* à différentes doses des huiles essentielles a provoqué leur mortalité qui a été échelonnée dans la Figure 56. Le taux de mortalité des adultes d'*Ephestia kuehniella* augmente avec le temps en fonction de la dose et la qualité de l'huile essentielle. A la plus faible dose (5,68 µl/l d'aire), l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* provoque la mortalité de la totalité des adultes à 66h alors qu'avec l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* la mortalité de la totalité d'insecte n'est obtenue qu'à 78h. Les résultats de la deuxième dose (11,36 µl/l d'aire) montrent que 60h d'inhalation l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* provoque la mort de la totalité des adultes d'*Ephestia kuehniella*. Ce même phénomène s'enregistre avec l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à 72h. Au bout de 54h d'exposition à la troisième dose (45,45 µl/l d'aire) de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, nous constatons la mort de la totalité des adultes d'*Ephestia kuehniella*, alors qu'avec l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, nous enregistrons ce pourcentage à 60h.

Tableau XII. Analyse de la variance (ANOVA à trois facteurs) unidirectionnelle de l'effet fumigène des deux HEs sur les adultes d'*Ephestia kuehniella*

Source	SC	ddl	CM	F. Obs	P
HEs	4266,67	1	4266,67	33,88	0,000
Temps	16059,26	2	8029,63	63,76	0,000
Doses	1881,48	2	940,74	7,47	0,002
HEs * Temps * Doses	785,19	12	65,43	0,52	0,888
Erreur	4533,33	36	125,93		
Total	203200,00	54			

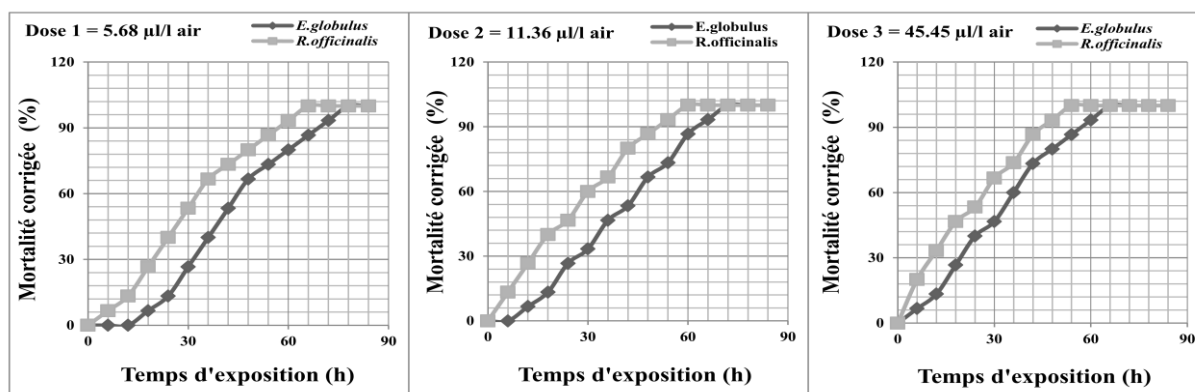


Figure 56. Progression de la mortalité (%) des adultes d'*Ephestia kuehniella* après inhalation des différentes doses d'huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis*

2.3.1 Efficacité de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis* sur les adultes d'*Ephestia kuehniella*

D'après les tableaux XXXIV et XXXV, l'HE de *Rosmarinus officinalis* semble plus efficace que l'HE d'*Eucalyptus globulus* avec les doses létales respectives de 4,032 µl / l d'air et 7,756 / l d'air. De même pour le temps léta l'HE de *Rosmarinus officinalis* qui provoque la mortalité des adultes d'*Ephestia kuehniella* en un intervalle de temps moins de celui provoqué par l'HE essentielle d'*Eucalyptus globulus*.

Tableau XXXIV. Détermination des DL₅₀ et DL₉₅ de l'effet Toxique par fumigation des HEs d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis* sur les adultes d'*Ephestia kuehniella*

HE	DL ₅₀ (µl / l d'air)	DL ₉₅ (µl / l d'air)	χ ²	Slope ± SE	Sig	ddl
<i>Eucalyptus globulus</i>	7,756 (5,746 - 9,271)	21,228 (16,746 - 34,754)	0,000	0,122 ± 0,032	0,988	1
<i>Rosmarinus officinalis</i>	4,032 (0,377 - 5,656)	14,733 (12,340 - 20,731)	0,000	0,154 ± ,036	1,000	1

Tableau XXXV. Détermination du temps léta (TL₅₀) du l'Effet Toxique par fumigation des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis* sur les adultes d'*Ephestia kuehniella*

HE	Concentration (µl / l air)	TL ₅₀ ^(a,b) (Heures)	χ ²	Slope ± SE	Sig	ddl
<i>Eucalyptus globulus</i>	5,68	42,486 (36,979 - 53,244)	58,228	0,056 ± 0,005	0,000	7
	11,36	38,088 (32,353 - 45,408)	36,358	0,044 ± 0,004	0,000	7
	45,45	29,857 (27,435 - 31,853)	0,198	0,045 ± 0,005	1,000	7
<i>Rosmarinus officinalis</i>	5,68	28,573 (17,069 - 35,575)	66,689	0,046 ± 0,005	0,000	7
	11,36	26,526 (13,598 - 31,986)	64,382	0, ,062 ± 0,005	0, 000	7
	45,45	19,149 (5,085 - 24,545)	34,503	0,067 ± 0,007	0,000	7

2.4 Effet du pouvoir répulsif des HEs

L'étude statistique des résultats révèle que le pouvoir répulsif obtenu, met en évidence la dépendance de la variété des huiles essentielles ($F_{1,24} = 5,44, p \leq 0,05$), les concentrations testées ($F_{2,24} = 61,00, p \leq 0,001$) et la durée d'exposition aux différentes concentrations des

huiles essentielles ($F_{3,24} = 51,07, p \leq 0,001$) à faire éloigner les adultes d'*Ephestia kuehniella* après 24h d'exposition (Tableau XXXVI, Figure 57). Le coefficient de détermination ($R^2 = 0,927$) montre une corrélation forte et positive entre les facteurs étudiés, qui prouve leur influence insectifuge sur les adultes d'*Ephestia kuehniella* à 24h du traitement.

Tableau XXXVI. Analyse de la variance (ANOVA a trois facteurs) unidirectionnelle de l'effet répulsif des deux HEs sur les adultes d'*Ephestia kuehniella*

Source	SC	ddl	CM	F. Obs	P	R ²
DOSES	9150,000	2	4575,000	61,000	0,000	0,927
TEMPS	11491,667	3	3830,556	51,074	0,000	
HEs	408,333	1	408,333	5,444	0,028	
DOSES * TEMPS * HEs	1675,000	17	98,529	1,314	0,264	
Erreur	1800,000	24	75,000			
Total	87600,000	48				

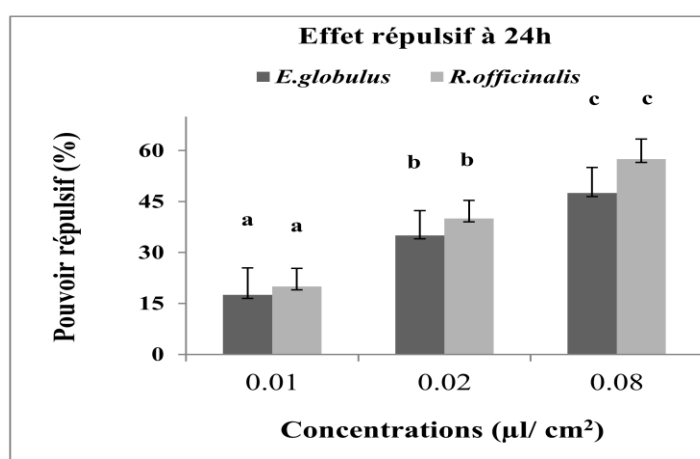


Figure 57. Pouvoir répulsif de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis* sur les adultes d'*Ephestia kuehniella* après 24 heures d'exposition

Pour chaque concentration, les mêmes lettres en minuscules ne sont pas différentes significativement ($p > 0,05$) entre les moyennes des deux HEs, selon le test de Tukey. Les résultats du test répulsif sont récapitulés dans les tableaux XXXVII, XXXVIII et XXXIX. Le taux du pouvoir répulsif augmente en fonction de la concentration et la qualité de l'HE testées. L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* présente un pouvoir modérément répulsif. Cependant, l'HE de *Rosmarinus officinalis* présente un pouvoir répulsif.

Tableau XIIIIVII. Pourcentage de répulsion (moyenne ± se) des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis* (%) sur les adultes d'*Ephestia kuehniella* pendant 24h d'exposition

	Concentrations (µl / cm ²)			Pourcentage de répulsion moyen (%)
	0,01	0,02	0,08	
<i>Eucalyptus globulus</i>	26,67 ± 6,67 a	46,67 ± 6,67 b	53,33 ± 6,67 c	42,22
Classe de répulsion	Classe III : Huile Modérément répulsive			
<i>Rosmarinus officinalis</i>	33,33 ± 6,67 a	66,67 ± 6,67 b	80 ± 0,00 c	60,00
Classe de répulsion	Classe IV : Huile Répulsive			

Pour chaque concentration, les mêmes lettres en minuscules ne sont pas différentes significativement ($p > 0,05$) entre les moyennes des deux HEs, selon le test de Tukey.

Le comportement des insectes, représenté sur la **Figure 58**, indique que les huiles essentielles étudiées semblent repousser les adultes d'*Ephestia kuehniella* de la zone différentielle. Le calcul du pourcentage de répulsion nous a permis de classer l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* comme huile **Modérément répulsive** (42,22%) appartenant à la **classe III** et l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* comme huile **Répulsive** (60,00%) appartenant à la **classe IV**, par rapport aux adultes du coléoptère étudié.



Figure 58. Effet répulsif des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* (à gauche) et de *Rosmarinus Officinalis* (à droite) sur les adultes d'*Ephestia kuehniella*

Ci-dessous, les tableaux présentant les calculs ayant permis de classer ces huiles essentielles.

Tableau XIV. Les concentrations de répulsion à 50% et à 95% (CR₅₀ - CR₉₅) de HE d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis* contre les adultes d'*Ephestia kuehniella* après 24 h d'exposition

HE	CR ₅₀ ^(a,b) (µl / cm ²)	CR ₉₅ ^(a,b) (µl / cm ²)	χ ²	Slope ± SE	Sig	ddl
<i>Eucalyptus globulus</i>	0,09 (0,07 - 0,13)	0,24 (0,18 - 0,42)	0,35	10,44 ± 2,44	0,56	1
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,06 (0,04 - 0,18)	0,35 (0,21 - 1,70)	2,64	5,70 ± 2,36	0,10	1

Tableau XXXIX. Le temps létal de répulsion à 50% (TL₅₀) de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis* contre les adultes d'*Ephestia kuehniella* après 24 h d'exposition

HE	Concentration (µl / cm ²)	TL ₅₀ (Heure)	χ ²	Slope ± SE	Sig	ddl
<i>Eucalyptus globulus</i>	0,01	42,07 (31,22 - 74,88)	1,702	0,03 ± 0,01	0,19	1
	0,02	27,41 (19,00 - 63,35)	0,62	0,02 ± 0,008	0,43	1
	0,08	18,52 (10,57 - 62,84)	3,01	0,02 ± 0,008	0,08	1
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,01	34,12 (23,95 - 76,35)	0,76	0,02 ± 0,008	0,38	1
	0,02	9,62 (3,83 - 14,87)	0,37	0,03 ± 0,008	0,54	1
	0,08	7,39 (1,08 - 12,94)	2,54	0,03 ± 0,008	0,11	1

3 Discussion de la quatrième partie

Certaines huiles essentielles des PAM peuvent jouer le rôle d'insecticide, larvicides ou ovicide sur quelques insectes ravageurs, mais leurs effets diffèrent selon le type d'insecte et la plante utilisée (Ischaaya et al., 1997; El Idrissi et al., 2014).

3.1 Toxicité par contact

Les concentrations létales consignées étaient respectivement pour *Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis*: $CL_{50}=0,013 \mu\text{l}/\text{cm}^2$, $CL_{95}=0,081 \mu\text{l}/\text{cm}^2$, $CL_{50}=0,011 \mu\text{l}/\text{cm}^2$, $CL_{95}=0,059 \mu\text{l}/\text{cm}^2$. De même pour les valeurs du temps létaux, les résultats obtenus sur l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* montrent la mortalité de la totalité des adultes d'*Ephestia kuehniella* en utilisant l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, à l'exception de la troisième concentration ($0,04 \mu\text{l}/\text{cm}^2$) où l'*Eucalyptus globulus* a été notée plus forte que *Rosmarinus officinalis* ($CL_{50} : 20,93 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ et $CL_{50} : 29,13 \mu\text{l}/\text{cm}^2$). Des résultats, sur le même modèle de ravageurs des denrées stockées, *Ephestia kuehniella*, montrent une variabilité de manifestation de cet insecte aux espèces végétales. Emamjomeh et al. (2014) obtiennent une CL_{50} estimée à $0,61 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ avec l'huile essentielle de *Zataria*. En revanche, Aouadi et al. (2020) ont testé l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* sur les adultes d'*Ephestia kuehniella*, ils ont noté une efficacité qui dépasse celle des huiles testées, avec une CL_{50} estimée à $0,004 \mu\text{l}/\text{cm}^2$.

3.2 Toxicité par fumigation

La toxicité a été évaluée en se basant sur les valeurs de DL_{50} obtenus à partir de nos résultats. Des études antérieures affirment la perturbation du taux de longévité des adultes d'*Ephestia kuehniella* après inhalation de différentes huiles essentielles de plusieurs variétés de plantes aromatiques ou médicinales. Plusieurs valeurs de DL_{50} ont été enregistrées et expliquées par les caractéristiques chimiques des huiles essentielles testées. Ce qui est prouvé par Bachrouch et al. (2010) avec l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* ($DL_{50}= 1,84 \mu\text{l}/\text{l}$ d'air) et l'huile essentielle d'*Ziziphora clinopodioides* où la DL_{50} a été estimée à $1,39 \mu\text{l}/\text{l}$ air (Kheirhah et al., 2015). De plus, Aouadi et al. (2020) enregistrent des DL_{50} estimées à $0,54 \mu\text{l}/\text{l}$ air et $2,91 \mu\text{l}/\text{l}$ air pour *M. rotundifolia* et *M. communis* respectivement. Les travaux d'Ainane et al. (2018), montrent que les huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis* ont une toxicité élevée vis-à-vis aux *Tribolium confusum*.

3.3 Toxicité par répulsion

De nombreuses études sur l'effet répulsif de différentes huiles essentielles et extraits naturels à l'égard du Lépidoptère *Ephestia kuehniella*, confirment leur efficacité. Le comportement d'*Ephestia kuehniella* diffère selon la variété des substances chimiques

constitutives extraites. Selon le protocole de **Mc Donald (1970)**, l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* a été considérée comme huile modérément répulsive contre les adultes du même insecte (**Taibi et al., 2018**). Cependant, l'huile essentielle de l'Armoise blanche *Artemisia herba alba* testée par **Delimi et al. (2017)** sur les larves et adultes d'*Ephestia kuehniella*, a été classée dans la catégorie 4 comme huile répulsive. Pour les adultes d'*Ephestia kuehniella*, les tests de **Lahcene et al. (2018)** permettent de classer l'extrait obtenu à partir de l'olivier de Laperrine *Olea europea* dans la classe 4 pour laquelle, la substance testée se caractérise par la propriété répulsive à l'égard des adultes et modérément répulsive contre les larves du même insecte.

Conclusion de la quatrième partie

L'utilisation d'insecticides synthétiques pollue l'environnement et la santé humaine. En plus, la résistance des ravageurs nous mènent à s'intéresser à une lutte intégrée en utilisant des composés naturels telles que les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales.

- **Toxicité par contact** : La variété en huile essentielle ne montre aucune différence significative à **48h** du test. En revanche, les résultats à **72h** du test, dévoile une puissance significative de la variété en huile essentielle sur la progression des taux de mortalité des adultes d'*Ephestia kuehniella*. Nous avons obtenus des concentrations létales CL₅₀ des deux huiles testées qui sont proches (0,013 et 0,011 µl/cm²). Ces dernières, causent la mortalité de 50% d'adultes. De même pour les valeurs du temps létales TL₅₀. Ce qui confirme que les deux espèces étudiées ont le même pouvoir sur la mortalité des insectes testées.

- **Toxicité par fumigation** : L'exposition des adultes d'*Ephestia kuehniella* à différentes doses des huiles essentielles a provoqué leur mortalité. Le taux de mortalité des adultes d'*Ephestia kuehniella* augmente avec le temps en fonction de la dose et la qualité de l'huile essentielle. A la plus faible dose (5,68 µl/l d'aire), l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* provoque la mortalité de la totalité des adultes à **66h** alors qu'avec l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* la mortalité de la totalité d'insecte n'est obtenue qu'à **78h**. Les résultats de la deuxième dose (11,36 µl/l d'aire) montrent que **60h** d'inhalation l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* provoque la mort de la totalité des adultes d'*Ephestia kuehniella*. Ce même phénomène s'enregistre avec l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à **72h**. Au bout de **54h** d'exposition à la troisième dose (45,45 µl/l d'aire) de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, nous constatons la mort de la totalité des adultes d'*Ephestia kuehniella*, alors qu'avec l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, nous enregistrons ce pourcentage à **60h**. L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* semble être plus efficace que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* avec les doses létales respectives de 4,032 µl / l d'air et 7,756/l d'air. De même, pour le temps létales, l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* provoque la mortalité des adultes d'*Ephestia kuehniella* en un intervalle de temps moindre de celui provoqué par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*.

- **Toxicité par répulsion**: La variété des huiles essentielles, les concentrations testées et la durée d'exposition aux différentes concentrations des huiles essentielles prouvent leur influence insectifuge sur les adultes d'*Ephestia kuehniella* à **24h** du traitement.

Le taux du pouvoir répulsif augmente en fonction de la concentration et la qualité de l'huile essentielle testée. Celle d'*Eucalyptus globulus* présente un pouvoir modérément répulsif (PR = 42,22 %). Celle de *Rosmarinus officinalis* présente un pouvoir répulsif avec un PR = 60,00%.

Conclusion générale

Conclusion générale

Après investigation des données issues des indigènes de 13 communes de la wilaya d'El-Tarf, nos résultats révèlent une dominance féminine, qui s'intéresse à la phytothérapie traditionnelle et détiennent plus les informations du savoir-faire transmis des ancêtres. En plus, la phytothérapie traditionnelle est le moyen le moins coûteux du côté économique. Selon les habitants de la région, le feuillage est la partie la plus riche en éléments thérapeutiques. La population sondée montre une grande affinité aux feuilles fraîches que sèches pour la préparation des remèdes. Les habitants de la région d'El-Tarf connaissent les espèces étudiées, *Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis* ainsi que leurs formes thérapeutiques et font confiance aux savoirs prés-requis en utilisant les deux plantes étudiées. Les habitants connaissent parfaitement les propriétés thérapeutiques puisqu'ils les utilisent pour les mêmes fins. Les bains de vapeurs étaient les préparations les plus familières d'*Eucalyptus globulus* par les habitants de la région alors que l'infusion était le mode d'emploi le plus fréquent d'*Rosmarinus officinalis*. Les maladies traitées par l'*Eucalyptus globulus* sont la grippe et les maladies respiratoires. D'autre part, le *Rosmarinus officinalis* est utilisé pour traiter les troubles liés aux tubes digestifs.

Le rendement (RHEs, v/w) d'*Eucalyptus globulus* a donné un taux de 1,65 %. Cependant, on a enregistré pour le *Rosmarinus officinalis* la valeur 0,36 %. De plus, les espèces étudiées montrent une variété importante en qualité d'huile essentielle. D'après les résultats du CPG/SM en analysant HE d'*Eucalyptus globulus* on remarque une dominance des alcools représentés par les monoterpéniques (42,73 %), sesquiterpènes (32,6 %) et oxyde (10,48 %). En parallèle, l'HE du *Rosmarinus officinalis* se constitue d'Oxyde (38,11 %), de l'Alcools monoterpénique (20,43 %) et du Monoterpène (19,70%), suivie par la présence du Cétone (13,53 %) et caractérisé par la présence du phénol (1,11 %). La détermination de la composition chimique des HEs, des deux espèces étudiées confirment les pratiques thérapeutiques et affirment la connaissance des habitants de la région d'El-Tarf des vertus thérapeutiques des espèces étudiées et leur bonne conservation du savoir-faire.

La réalisation des coupes histologiques des feuilles d'*Eucalyptus globulus*, montre un nombre important de glandes à essence qui sont situées dans le parenchyme et ont été observées, dont l'HE est bien stockée et protégée. En revanche, les feuilles de *Rosmarinus officinalis* contiennent des poils sécréteurs à la surface, exposés aux facteurs environnementaux.

Au cours de l'étude de l'effet antimicrobien des huiles essentielles, les souches bactériennes testées semblent être sensibles à l'état brut des huiles essentielles. Les HEs ont montré un effet d'inhibition dose-dépendant. Les résultats de l'aromatogramme révèlent une variété du comportement des souches testées à l'état brut de HE d'*Eucalyptus globulus* : **Résistante**

(*Pseudomonas aeruginosa*), **sensible** (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Acinetobacter baumannii* 2, *Acinetobacter baumannii* 1), **très sensible** (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus*) et **extrêmement sensible** (*Saccharomyces cerevisiae*). De même, avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, les souches testées changent leurs comportements de **Résistante** (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa*), **sensible** (*Escherichia coli*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Acinetobacter baumannii* 2, *Acinetobacter baumannii* 1, *Staphylococcus aureus*) au **extrêmement sensible** (*Saccharomyces cerevisiae*).

En testant l'HE d'*Eucalyptus globulus* sur des bactéries **Gram⁻**, l'aromatogramme révèle les résultats de la zone d'inhibition et la CMI suivants chez *Escherichia coli* ATCC 25922 (**14,90–9,90** mm et CMI= **5,49 mg/ml**), chez *Klebsiella pneumoniae* (**14,00 – 9,00** mm et CMI = **5,49 mg/ml**), chez *Escherichia coli* (**11,93 – 9,80** mm et CMI = **5,49 mg/ml**), chez *Acinetobacter baumannii* 1 (**11,67** mm et CMI = **10,97 mg/ml**), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (**10,07** mm et CMI = **10,97 mg/ml**) et *Acinetobacter baumannii* 2 (**09,70** mm et CMI = **10,97 mg/ml**).

Mais, sous l'effet de l'HE de *Rosmarinus officinalis*, nous avons noté chez *Escherichia coli* ATCC 25922 (**15,66 – 8,87** mm et CMI = **3,66 mg/ml**), chez *Acinetobacter baumannii* 2 (**14,00 - 8,80** mm et CMI = **3,66 mg/ml**), chez *Escherichia coli* (**14,00 – 8,87** mm et CMI = **3,66 mg/ml**) et chez *Acinetobacter baumannii* 1 (**11,83 – 8,90** mm et CMI = **3,66 mg/ml**). Par contre, l'HE de *Rosmarinus officinalis* n'a aucune influence sur *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. De plus, les deux HES ne provoquent aucune inhibition sur le *Pseudomonas aeruginosa*. L'HE d'*Eucalyptus globulus* décroît parfaitement le développement des bactéries étudiées à **Gram +** que l'HE de *Rosmarinus officinalis*. L'Huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* agit mieux que l'HE de *Rosmarinus officinalis* sur la bactérie à **Gram +**, *Staphylococcus aureus*, avec un intervalle de diamètre d'inhibition de **17,34 à 10,00** mm et de **12,93 – 09,77** mm et CMI égale à **5,49 mg/ml** et **7,32 mg/ml** respectivement. De plus, l'HE d'*Eucalyptus globulus* semble plus efficace contre *Saccharomyces cerevisiae* que l'HE de *Rosmarinus officinalis* avec un intervalle de diamètre d'inhibition qui varie de **26,70 à 08,93** mm et de **25,37 à 09,11** mm. Ainsi, la CMI est égale à **0,68 mg/ml** et **0,91 mg/ml** respectivement. Nous pouvons noter, en outre, que les deux HES étudiées possèdent une activité **bactériostatique**.

D'autres expérimentations sur deux champignons phytopathogènes étudiés, *Fusarium solani* et *Fusarium tricinctum*, montrent une sensibilité aux différentes doses des huiles essentielles testées. La croissance mycélienne diminue avec l'augmentation des doses d'huiles essentielles (**relation inversement proportionnelle**). Le pourcentage d'inhibition de croissance de *Fusarium tricinctum* pour les doses 24, 32 et 40 µl d'HE d'*Eucalyptus globulus* varie entre 43.47, 65.66 et 90.46 %. Ces valeurs étaient supérieures à celles observées chez

Fusarium solani (38.31, 51.67 et 85.47 %). Tandis que, pour les doses 24, 32, 40 et 48 µl d'HE de *Rosmarinus officinalis*, le pourcentage d'inhibition de croissance de *Fusarium tricinctum* s'étale de 20.54, 33.56, 68.47 et 80.72 %. Ces résultats étaient inférieurs à ceux observés chez *Fusarium solani* 32.93, 44.69, 69.29 et 82.17 %.

En testant les deux champignons, l'HE d'*Eucalyptus globulus* passe d'une huile **moyennement active** à une huile **très active** avec les doses de 24 µl à 40 µl. Cependant, l'HE de *Rosmarinus officinalis* n'est **pas active** à l'égard de *Fusarium tricinctum* à la dose 24 µl, elle devient **active** à la troisième dose 40 µl et **très active** à la quatrième dose (48 µl). Mais à l'égard de *Fusarium solani*, c'est une huile **moyennement active** à une huile **très active**, exercée à la première dose (24 µl) jusqu'à la troisième dose (40 µl). D'autre part, une inhibition totale de la croissance mycélienne des deux champignons à la dose 48 µl de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et 56 µl pour l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* avec une CMI de **2,16** et **1,68 mg/ml** a été enregistrée respectivement. Les deux HEs étudiées *in vitro* possèdent un effet fongistatique. Il est clairement retenu que l'HE d'*Eucalyptus globulus* a exercé un très bon pouvoir antifongique vis-à-vis les espèces fongiques testées par rapport à l'HE de *Rosmarinus officinalis*.

Le potentiel insecticide des huiles essentielles des deux espèces étudiées à l'égard des adultes d'*Ephestia kuehniella*, a été évalué par trois méthodes: effet toxique par fumigation, effet toxique par contact et effet toxique par répulsion. La **toxicité par contacte** révèle que la variété en huile essentielle ne montre aucune différence significative à **48h** du test. En revanche, les résultats à **72h** du test, dévoile une puissance significative de la variété en huile essentielle sur la progression des taux de mortalité des adultes d'*Ephestia kuehniella*. Nous avons noté que les concentrations létales CL₅₀ des deux huiles appliquées à l'égard des adultes d'*Ephestia kuehniella* sont proches (0,013 et 0,011 µl/cm²). De même pour les valeurs du temps létales TL₅₀, qui changent en fonction de la dose utilisée et la plante testée. Ce qui confirme que les deux espèces étudiées ont le même pouvoir sur la mortalité des insectes testées. Cependant, l'exposition des adultes d'*Ephestia kuehniella* à différentes doses des huiles essentielles **par fumigation** a provoqué leur mortalité. Le taux de mortalité des adultes d'*Ephestia kuehniella* augmente avec le temps en fonction de la dose et la qualité de l'huile essentielle. A la plus faible dose (5,68 µl/l d'aire), l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* provoque la mortalité de la totalité des adultes à **66h**. Alors qu'avec l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, la mortalité de la totalité d'insecte n'est obtenue à **78h**. Les résultats de la deuxième dose (11,36 µl/l d'aire) montrent que **60h** d'inhalation l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* provoque la mort de la totalité des adultes d'*Ephestia kuehniella*. Ce même phénomène s'enregistre avec l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à **72h**. Au bout de **54h** d'exposition à la troisième dose (45,45 µl/l d'aire) de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, nous constatons la mort de la totalité

des adultes d'*Ephestia kuehniella*, alors qu'avec l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, nous enregistrons ce pourcentage à **60h**. L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* semble être plus efficace que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* avec les doses létales respectives de 4,032 µl / l d'air et 7,756/l d'air. De même pour le temps léthal, l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* provoque la mortalité des adultes d'*Ephestia kuehniella* en un intervalle de temps moindre de celui provoqué par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. D'autre part, Le taux du **pouvoir répulsif** augmente en fonction de la concentration et la qualité du l'huile essentielle testées. La variété des huiles essentielles, les concentrations testées et la durée d'exposition aux différentes concentrations des huiles essentielles prouvent leur influence insectifuge sur les adultes d'*Ephestia kuehniella* à **24h** du traitement. L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* présente un pouvoir modérément répulsif (PR = 42,22 %). Cependant, l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* présente un pouvoir répulsif avec un PR = 60,00 %.

Perspectives

Perspectives de recherche

Aux vues des résultats obtenus, il serait fort intéressant d'orienter les recherches futures vers :

- une valorisation rationnelle de la ressource végétale dans la région.
- une meilleure protection et sauvegarde de la biodiversité locale, notamment concernant les espèces endémiques.
- un élargissement rapide du spectre des études Ethnopharmacologiques dans la région afin de recenser les usages traditionnels des plantes aromatiques et médicinales encore connus afin d'éviter leur déperdition.
- une exploitation pratique des résultats pour la fabrication de nouveaux médicaments et biopesticides.
- une meilleure recherche verticale afin d'identifier, d'isoler et de purifier les métabolites secondaires présents dans les huiles essentielles des plantes
- une mise en évidence des mécanismes d'action de l'effet antimicrobien des biomolécules étudiées et une vérification *in silico* (par *docking* moléculaire) de ces dernières.
- Tester les combinaisons HE/antibiotique, HE/pesticide et HE/insecticide afin de dégager des solutions économiquement et écologiquement fiables en respectant la santé humaine et l'environnement.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [01]. **Abbot, W.S. (1925)**. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Ent.*, (18), pp. 265-267.
- [02]. **Abedini, A. (2013)**. Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes [Thèse de doctorat, Université de Lille nord de France]. p : 201.
- [03]. **Adouane, S. (2016)**. Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. [Thèse de Magistère, Université de Mohamed Khider]. p : 195. <http://thesis.univ-biskra.dz/id/eprint/2548>.
- [04]. **Agence du Médicament. (1998)**. Médicaments à base de plantes. Agence nationale du médicament- Paris. p : 81.
- [05]. Agence Nationale de Développement de l'Investissement. **(2013)**. *Rapport sur la wilaya d' El-tarf, Algerie*. Monographies des wilayas. p : 21. <https://www.andi.dz/>
- [06]. **Agence Nationale de Sécurité du Médicament. (2008)**. Définition présente dans l'introduction des recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles de l'Afssaps. http://www.anism.sante.fr/var/anism_site/storage/original/application/657257784ff10b16654e1ac94b60e3fb.pdf
- [07]. **Ainane, A., Benhima, R., Khammour, F., Elkouali, M.h., Talbi, M., Abba, E.H., Cherroud, S. & Ainane, T. (2018)**. Composition chimique et activité insecticide de cinq huiles essentielles: *Cedrus atlantica*, *Citrus limonum*, *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum*. *Proceedings BIOSUNE'1*, pp. 67-79.
- [08]. **Alaoui, A. & Laaribya, S. (2017)**. Etude ethnobotanique et floristique dans les communes rurales Sehoul et Sidi Abderrazak (cas de la Maamora-Maroc Septentrional) Algérienne. *Nature & Technology Journal : Agronomic & Biological Sciences*, (17), pp.15-24
- [09]. **Amri, I., Hamrouni, L., Hanana, M., & Jamoussi, B. (2012)**. Reviews On Phytotoxic Effects Of Essential Oils And Their Individual Components: News Approach For Weeds Management. *International Journal Of Applied Biology And Pharmaceutical Technology*, **44**, pp. 96 –114.
- [10]. **Andrianjafinandrasana, S. N. (2018)**. Potentialités fongitoxiques de dix huiles essentielles en traitements alternatifs post récoltes des bananes, papayes et mangues [Thèse de doctorat, Université d'Antananarivo]. p : 142.
- [11]. **Andrianjafinandrasana, S. N., Andrianoelisoa, H. S., Jeanson, M. L., Ratsimiala Ramonta, I. & Danthu, P. (2013)**. Allelopathic Effects Of Volatile Compounds Of Essential Oil From *Ravensara Aromatica* Sonnerat Chemotypes. *Allelopathy Journal*, **31**(2), 333 –344.
- [12]. **Aouadi, G., Haouel, S., Soltani, A., Ben Abada, M., Boushah, A., Elkahoul, S., Taibi, F., Mediouni Ben Djamaa, J. & Benaadja, S. (2020)**. Screening for insecticidal efficacy of two Algerian essential oils with special concern to their impact on biological parameters of *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, (127), pp. 471– 482.
- [13]. **Aouadi, M., Sebai, E., Saratsis, A., Kantzoura, V., Saratsi, K., Msaada, K., Sotiraki, S. & Akkari, H. (2021)**. Essential oil of *Rosmarinus officinalis* induces *in vitro* anthelmintic and anticoccidial effects against *Haemonchus contortus* and *Eimeria* spp. in small ruminants. *Vet Med-Czech*, (66), pp. 146–155.

- [14]. **Arfa, A. M. T., Benderradji, M. E.-H., Saint-Gerand, T. & Alatou, D. (2019).** Cartographie du risque feu de forêt dans le Nord-est algérien : cas de la wilaya d'El Tarf. *Cybergeo : European Journal of Geography , Environnement, Nature, Paysage*, (899), p. 28. <https://doi.org/10.4000/cybergeo.32304>
- [15]. **Arnold, N., Valentini, G., Bellomaria, B. & Laouer, H. (1997).** Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr. From Algeria and *R. officinalis* L. from other countries. *J.essent.Oil Res*, (9), pp. 167-175.
- [16]. **Aruoma, O. I., Spencer, J. P., Rossi, R., Aeschbach, R., Khan, A., Mahmood, N., Munoz, A., Murcia, A., Butler, J. & Halliwell, B. (1996).** An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosmariny and provençal herb. *Food Chem. Toxicol*, **34** (5), 449- 456.
- [17]. **Association Française de NORmalisation. (1986).** Recueil des normes françaises : Huiles essentielles. Ed.2 : Tour Europe. p : 474. <https://www.sudoc.fr/001149687>
- [18]. **Atik Bekkara, F., Bousmaha, L., Taleb Bendiab, S.A., Boti, J.B. & Casanova, J. (2007).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*, (7), pp. 6-11.
- [19]. **Attanasio, D. (2018).** Toxicité des huiles essentielles chez les enfants [Thèse de doctorat, Université de Toulouse III PAUL SABATIER]. p : 109.
- [20]. **Baba Aissa, F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb). , substances végétales d'Afrique, d'orient et d'occident. Ed. Edas, moderne. p : 178.
- [21]. **Babulka, P. (2007).** Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales. La médecine traditionnelle à la Phytothérapie. *Phytothérapie*, (5), pp. 137-145.
- [22]. **Bachrouch, O., Mediouni-Ben Jemâa, J., Wissem, A.W., Talou, T., Marzouk, B. & Abderraba, M. (2010).** Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Product Research*, **46**(4), 242–247.
- [23]. **Bajpai, V.K. & Kang S.C. (2010).** Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Mikiex. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, (87), pp. 327–336.
- [24]. **Balick, M.J. & Cox, P.A. (1996).** Plants, People, and Culture. The Science of Ethnobotany. Scientific American Library. p : 228.
- [25]. **Boissière, M. (2018).** Consommation des plantes médicinales par les patients suivis en cabinet de médecine générale à La Réunion - Expériences, représentations et ressentis des patients dans le cadre de la communication médecin-patient [Thèse de doctorat, Université de Bordeaux]. p : 86.
- [26]. **Boné, E., González-Audino, P. A. & Sfara, V. (2020).** Spatial Repellency Caused by Volatile Pyrethroids is Olfactory-Mediated in the German Cockroach *Blattella germanica* (Dictyoptera : Blattellidae). *Neotropical Entomology*, **49**(2), pp. 275-283.
- [27]. **Bonnafous, C. (2013).** Traité scientifique aromathérapie aromatologie et aromachologie. E d . Dangles. p : 522.
- [28]. **Bouayyadi, L., El Hafian, M. & Zidane, L. (2015).** Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale dans la région du Gharb, Maroc. *Journal of Applied Biosciences*, (93), pp. 8760 – 8769.
- [29]. **Bouchennet, S. (2009).** La spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse. Ed. Lavoisier : Tec & Doc. p : 194.

- [30]. **Boudy, P. (1955).** Description forestière de l'Algérie et de la Tunisie (Économie forestière nord-africaine). Larose V 4. p : 483.
- [31]. **Boukhatem, M. N., Boumaiza, A., Nada, H.G., Rajabi, M. & Mousa, S.A. (2020).** *Eucalyptus globulus* Essential Oil as a Natural Food Preservative: Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Properties In Vitro and in a Real Food Matrix (Orangina Fruit Juice). *Applied Sciences*, 10(16), 1-17. <https://doi.org/10.3390/app10165581>
- [32]. **Boullard, B. (2001).** Plantes médicinales du monde réalités et croyances. Ed. Estem. p : 636.
- [33]. **Boulogne, I., Petit, P., Ozier-Lafontaine, H., Desfontaines, L. & Loranger-Merciris, G. (2012).** Insecticidal And Antifungal Chemicals Produced By Plants: A Review. *Environmental Chemistry Letters*, 10(4), 325–347.
- [34]. **Boumediou, A. & Addoun, S., (2017).** étude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (ALGÉRIE) [Thèse de doctorat, Université de Abou Bekr Belk Aïd]. pp : 7-14.
- [35]. **Boumendjel, M. (2012).** Carte écotouristique de la région d'Annaba et d'El-Tarf. Carte 1/25000. Editée par la GIZ Algérie.
- [36]. **Bounoua-Fraoucene, S., Kellouche, A. & Debras, J.F. (2019).** Toxicity of four essential oils against two insect pests of stored grains, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *African Entomology*, 27(2), 344 – 359.
- [37]. **Bouras, M. (2019).** Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques [Thèse de doctorat, Université de Badji Mokhtar]. p : 144.
- [38]. **Boutabia, L., Telailia, S. & Mohcen, M. (2020).** Utilisations Thérapeutiques traditionnelles du *Marrubium vulgare* L. par les populations locales de la région de Haddada (Souk Ahras, Algérie) Traditional therapeutic uses of *Marrubium vulgare* L. by local populations in the Haddada region (Souk Ahras, Algeria). *Ethnobotany Research & Applications*, 19 (44), 1-11.
- [39]. **Bouزيد, A., Chadli, R. & Bouزيد, K. (2017).** Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie*, (15), pp. 373 –378.
- [40]. **Bouزيد, D. (2018).** Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. [Thèse de doctorat, Université de Ferhat Abbas]. p : 105.
- [41]. **Bouزيد, N. (2016).** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba Asso* » [Thèse de doctorat, Université de mustapha stambouli]. p : 133.
- [42]. **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed.Tec et Doc. p : 1120.
- [43]. **Burt, Sara. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*, (94), pp. 223-253.
- [44]. **Campos, M. & Lopez-Munoz, FJ. (2007).** Evalation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol*, (111), pp. 476-482.

- [45]. **Castillo, R.M., Stashenko, E. & Duque, J.E. (2017).** Activité insecticide et répulsive de plusieurs huiles essentielles d'origine végétale contre *Aedes aegypti*. Confiture. *Mosq. Control Assoc*, (33), pp. 25-35.
- [46]. **Cazau-Beyret, N. (2013).** Prise en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie. [Thèse de doctorat, Université de Toulouse III Paul Sabatier]. pp : 79-112.
- [47]. **Chahboun, N., Esmail, A., Abed, H., Barrahi, M., Amiyare, R., Berrabeh, M., Oudda, H. & Ouhssine, M. (2015).** Evaluation de l'activité bactériostatique d'huile essentielle de *la Lavandula Officinalis* vis-à-vis des souches d'origine clinique résistantes aux antibiotiques (Evaluation of the bacteriostatic activity of the essential oil of *Lavandula Officinalis* towards of the original strains resistant to antibiotics clinic). *J. Mater. Environ. Sci*, 6(4), 1186-1191.
- [48]. **Cheng, S.S., Liu, J.Y., Tsai, K.H., Chen, W.J. & Chang, S.T. (2004).** Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* provenances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (52), pp. 4395–4400.
- [49]. **Cheung, S. & Tai, J. (2007).** Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary *Rosmarinus officinalis*. *Oncology reports*, 17(6), 1525-1531.
- [50]. **Clevenger, J. (1928).** Apparatus for the Determination of Volatile Oil. *J. Am. Pharm. Assoc*, (17), pp. 345–349
- [51]. **Combrinck, S., Du ploy, G.W., Mc Crindle, R.T. & Botha, B.M. (2007).** Morphology and Histochemistry of the glandular trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae). *Annals of botany*, 99 (6), 1111 – 1119.
- [52]. **Constantin, E. (1996).** Spectrométrie de masse : Principes et applications Lavoisier Tec & Doc. p : 279.
- [53]. **Cruz-Vega, D., Verde-Star, M. J., Salinas-Gonzalez, N. R., Rosales-Hernandez, B., Estrada-Garcia, I., Mendez-Aragon, P. & Castro-Garza, J. (2009).** Review Of Pharmacological Effects Of *Glycyrrhiza Radix* And Its Bioactive Compounds. *Journal Of Chinese Materia Medica*, (22), pp. 557–559.
- [54]. **Damjanović-Vratnica, B., Đakov, T., Šuković, D. & Damjanović, J. (2011).** Antimicrobial effect of essential oil isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. From Montenegro. *Czech J. Food Sci*, (29), pp. 277–284.
- [55]. **Davidson, P. M., Sofos, J. N. & Branen, A. L. (2005).** Antimicrobials in Food. Ed. *Taylor & Francis Group*. p: 705.
- [56]. **Davis, J. (1994).** Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science*, (264), pp. 375–382.
- [57]. **De Billerbeck & V.G. (2007).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*. 5(4). 249-253.
- [58]. **De Martino, L., Mancini, E., De Almeida, L. F. R. & De Feo, V. (2010).** The Antigerminative Activity Of Twenty-Seven Monoterpenes. *Molecules*, 15(9), 6630–6637.
- [59]. **Delimi, A., Taibi, F., Bouchelaghem, S., Boumendjel, M., Hennouni-Siakhene, N. & Chefrou, A. (2017).** Chemical composition and insecticidal activity of essential oil of *Artemisia herba alba* (Asteraceae) against *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera:

Pyrilidae). *International Journal of Biosciences*, 10(2), 130-137.
<http://www.innspub.net>

- [60]. **Desseaux, A. (2018)**. Aromathérapie en cancérologie : rationnel, intérêt et limites. [Thèse de doctorat, Université de Rouen Normandie]. p : 382.
- [61]. **Djah, F. M. (1915)**. Ethnobotanique quantitative Eléments de réflexion [Polycopié de cours, Université de Nanguï Abrogoua]. p : 23.
- [62]. **Do Nascimento, L.D., De Moraes, A.A.B., Da Costa, K.S., Pereira Galúcio, J.M., Taube, P.S., Costa, C.M.L., Cruz, J.N., De Aguiar Andrade, E.H. & De Faria, L.J.G. (2020)**. Bioactive Natural Compounds and Antioxidant Activity of Essential Oils from Spice Plants: New Findings and Potential Applications. *Biomolecules*, 10 (988). 1-37.
- [63]. **Dorman, H.J.D. & Deans S.G. (2000)**. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol*, (88), pp. 308–316.
- [64]. **Dulal, S., Chaudhary, S., Dangi, C. & Sah Shiv, N. (2021)**. Antibacterial Effect of Essential Oils (Clove Oil, Castor Oil and Ginger Oil) Against Human Pathogenic Bacteria. *Int. J. Appl. Sci. Biotechnol*, 9(4), 250-255.
- [65]. **El idrissi, M., Elhourri, M., Amechrouq, A. & Boughdad, A. (2014)**. Étude de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Dysphania ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) sur *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of materials and environmental science*, 5(4), 989-994.
- [66]. **Elchahat, N.A. (2000)**. Les plantes aromatiques et ses produits pharmaceutiques et agricoles. Ed. la maison arabe. p: 283.
- [67]. **Emamjomeh, L., Imani, O., Talebi, K., Moharramipour, S. & Larijani, K. (2014)**. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. (Lamiaceae) against *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *European Journal of Experimental Biology*, 4(3), 253-257.
- [68]. **Escuder, O. (2007)**. Plantes médicinales mode d'emploi. Ulmer. p : 256.
- [69]. **Farland, M. (2003)**. Standardization Method of Turbidity. *Manual of Clinical laboratory method*, p. 119.
- [70]. **Finney, D.J. (1971)**. Probit Analysis. *Cambridge University Press*. p : 333.
- [71]. **Fisher, R.A. & Yates, F. (1957)**. Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical. Research. Olivier et Boyd.
- [72]. **Foudi-Cherif, Y. (1991)**. Etude comparative des huiles essentielles algériennes d'*Eucalyptus globulus* Labill. Et *Camaldu lensis* [Thèse de magister, Université de Houari Boumediene]. p : 159.
- [73]. **France-Ida, J. (1998)**. Comment s'assurer de la pureté d'une huile essentielle. *Info – essences*, (7), pp. 1-2.
- [74]. **Fraval, A. (2005)**. Le Longicorne de l'eucalyptus. *Insectes*, 7(4), 139.
- [75]. **Garcia, R., Alves, E. S. S., Santos, M. P., Aquije, G. M. F. V., Fernandes, A. A. R., Santos, R. B. Dos, Ventura, Jose A. & Fernandes, P. M. B. (2008)**. Antimicrobial Activity And Potential Use Of Monoterpenes As Tropical Fruits Preservatives. *Brazilian Journal Of Microbiology*, 39(1), 163–8.
- [76]. **Garnier, G., Bezanger-Beauquesne, L., & Debraux, G. (1961)**. Ressources médicinales de la flore française. Ed. Vigot Frères Editeurs. pp: 665-666.
- [77]. **Geedhu, D. & Krishnakumari, S. (2016)**. In vitro free radical scavenging activity of aqueous extract of *Eugenia uniflora* (L.) leaves. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 4(4), 25-29

- [78]. **Georgantelis, D., Ambrosiadis, I. & Katikou, P. (2007).** Effect of Rosemary extract, chitosan and tocopherol on microbiological parameters oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. *Meat Sei Elsevier*, 76, pp. 172-186.
- [79]. **Giuliani, F. (2015).** The Composition, Structure, Sources, And Applications Of Eugenol. *ESSAI*, 12(1), 63–66.
- [80]. **Goetz, P. & Ghedira, K. (2012).** Phytotherapie infectieuse. Springer-Verlag. p : 382.
- [81]. **Göger, G., Karaca, N., Altınbaşak, B., Demirci, B. & Demirci, F. (2020).** *In vitro* antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory evaluation of *Eucalyptus globulus* essential oil. *Natural Volatiles & Essential Oils*, 7(3), 1-11.
- [82]. **Gonzalez-Trujano, ME., Pena, EI., Martinez, AL., Moreno, J., Guevara-Fefer, P. & Deciga-Gregory, C. (1988).** Encyclopédia Universalis, Aolto Anabaptisme, Corpus 1, France S.A.
- [83]. **Hamel, T., Sadou, S., Seridi, R., Boukhdir, S. & Boulemtafes, A. (2018).** Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'Edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia*, (59), pp. 75-81.
- [84]. **Harkat-Madouri, L., Asma, B., Madani, K., Bey-Ould Si Said, Z., Rigou, P., Grenier, D., Allalou, H., Remini, H., Adjaoud, A. & Boulekbache-Makhlouf, L. (2015).** Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Ind. Crop. Prod.*, (78), pp. 148–153.
- [85]. **Harouna, M. A., Baoua, I., Lawali, S., Tamò, M., Amadou, L., Mahamane, S., & Pittendrigh, B. (2019).** Essai comparatif de l'utilisation des extraits du Neem et du virus entomopathogène Mavi NPV dans la gestion des insectes ravageurs du niébé en milieu paysan au Niger. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(2), 950-961.
- [86]. **Harshberger, J.W. (1896).** Purposes of ethnobotany. *Botanical Gazette*, (21), pp. 146-154.
- [87]. **Hassan, M.Y., Attitalla, I.H. & Bahnasy, H.B. (2021).** The importance of medicinal herbs and the effective substances they contain in facing the emerging coronavirus (COVID-19) and their uses in our daily life. *Int. J. Chem. and Lifesci*, 10(4), 3725-3741.
- [88]. **Hassani, A., Sehari, N., Sehari, M., Bouchenafa, N., Labdelli, F. & Kouadria, M. (2017).** Etude des propriétés insecticides et bactéricides de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. dans la lutte contre les ravageurs des semences et denrées stockées. *Revue Écologie-Environnement*, (13), pp. 5 – 11.
- [89]. **Heinrich, M., Kufer, J., Leonti, M. & Pardo-De-Santayana, M. (2006).** Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. *J Ethnopharmacol*, (107), pp. 157-160.
- [90]. **Hendel, N. (2017).** Etude phytochimique et activités biologiques de *Rosmarinus officinalis* L. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. de la région de M'sila : applications antifongiques [Thèse de doctorat, Université de Ferhat Abbas]. p : 137.
- [91]. **Huang, M. T., Ho, C. T., Wang, Z. Y., Ferraro, T., Lou, Y. R., Stanber, K., Maw., Hoffman, L., Besseau, S., Geoffroy, P., Rizenhaler, C., Meyer, D., Lepierre, C., Pollet, B. & Legrand, M. (1994).** Silencing of Hydroxycinnamoyl transferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell*, 16 (4), 1446-1465.
- [92]. **Ibañez, E., Cifuentes, A., Crego, A. L., Señorans, F. J., Cavero, S. & Reglero, G. (2000).** Combined use of supercritical fluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquid chromatography for the

- analysis of antioxidants from Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 48 (9), 4060- 4065.
- [93]. **Ischayaa, E., Kostjukovski, M., Eillerg, J. & Sukprakarm, C. (1997)**. Plant oils as fumigants and contact insecticide for the control of stored-product insects. *Journal of stored product research*, (33), pp. 7 - 15.
- [94]. **Iserin, P. (1996)**. Encyclopédie des plantes médicinales. *Larousse*. p : 335.
- [95]. **Kalemba, D. & Kunicka, A. (2003)**. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem*, (10), pp. 813-829.
- [96]. **Kheirkhah, M., Ghasemi, V., Yazdi, A.K. & Rahban, S. (2015)**. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil from *Ziziphora clinopodioides* Lam. used against the Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella* Zeller. *Journal of Plant Protection Research*, 55(3), 260-265.
- [97]. **Kim, Sl., Roh, JY., Kim, DH., Lee, HS. & Ahn, YJ. (2003)**. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *J Stored Products Res*, (39), pp. 293– 303.
- [98]. **Kocić-Tanackov, S., Dimić, G., Lević, J., Tanackov, I. & Tuco, D. (2011)**. Antifungal activities of basil (*Ocimum basilicum* L.) extract on *Fusarium* species. *African Journal of Biotechnology*, 10(50), 10188–10195.
- [99]. **Koedam, A. (1987)**. *Some Aspects of Essential Oils Preparation in Capillary Gas Chromatography in Essential Oils Analysis*. Ed. P. Sandra, C. Bicchi. pp: 13-28.
- [100]. **Lahcene, S., Taibi, F., Mestar, N., Ali Ahmed, S., Boumendjel, M., Ouafi, S. & Houali, K. (2018)**. Insecticidal effects of the *Olea europaea* subsp. *laperrinei* extract on the flour Pyralid *Ephesia kuehniella*. *Cellular and Molecular Biology*, 64(11), 06-12.
- [101]. **Lahlou, M. (2004)**. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy. Research*, (18), pp. 435- 448.
- [102]. **Lahsissene, H., Kahouadji, A., Tijane, M. & Hseini, S. (2009)**. catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de ZAËR (Maroc occidental). *Lejeunia, Revue de Botanique*, 186 (28), URL : <https://popups.uliege.be/0457-4184/index.php?id=701>.
- [103]. **Laib, I. (2011)**. Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs [Thèse de magister, Université de Constantine 1]. p : 94.
- [104]. **Lakhdar, L. (2015)**. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* : étude *in vitro* [Thèse de doctorat, Université de Mohamed Elkhames]. p : 183.
- [105]. **Lamamra, M. (2018)**. Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d'*Ammiopsis aristidis* Coss. (Syn. *Daucus aristidis* Coss.) et d'*Achillea santolinoides* Lag [Thèse de doctorat, Université de Ferhat Abbas]. p : 146.
- [106]. **Laurent, J. (2017)**. Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine [Thèse de doctorat, Université de Paul Sabatier Toulouse III]. p : 219.
- [107]. **Lavergne, R. (2001)**. *Le grand livre des tisaneurs et plantes médicinales indigènes: l'île de la Réunion*. Orphie. p : 521.
- [108]. **Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L. & Nouri, N. E-H. (2019)**. Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d'El Kala,- Nord-est algérien). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, (88), pp. 22 – 43.

- [109]. **Lee, B.H., Lee, S.E., Annis, P.C., Pratt, S.J., Park, B.S. & Tumaalii, F. (2002).** Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. *J Asia-Pacific Entomol*, 5(2), 237–240.
- [110]. **Lee, H. C., Cheng, S. S. & Chang, S. T. (2005).** Antifungal property of the essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum* leaf against tree pathogenic fungi. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(12), 2047–2053.
- [111]. **Lemonica, I. P., Damasceno, D. C. & Di-Stasi, L. C. (1996).** Study of the embryo toxic effects of an extract of Rosmary (*Rosmarinus officinalis*). *Brazilian journal of medical and biological research*, 29 (2), 223-227.
- [112]. **Ling, S. Q., Xu, Y. N., Gu, Y. P., Liu, S. Y. & Tang, W. W. (2018).** Toxicity and biochemical effects of itol A on the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (Hemiptera : Delphacidae). *Pesticide biochemistry and physiology*, (152), pp. 90-97.
- [113]. **Longevialle, P. (1981).** Principes de la spectrométrie de masse des substances organiques. Ed. Masson. pp : 3-14 et pp : 83-98.
- [114]. **Malu, T.J., banerjee, N., Singh, A.K., Kannadasan, S. & Rethiraj, K. (2017).** A study of antioxidant potential of Perilladehyde. *IOP Conf. Ser: Mater. Sci. Eng*, 263(2). DOI:10.1088/1757-899X/263/2/022014
- [115]. **Mangena, T. & Muyima, N.Y.O. (1999).** Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Letters in Applied Microbiology*, (28), pp. 291–296
- [116]. **Mayer, F. (2012).** Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite [Thèse de doctorat, Université de Lorraine]. p : 92.
- [117]. **Mc Donald, L.L., Guy, R.H. & Speirs, R.D. (1970).** Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. Marketing research report n° 882. Washington agriculture Research services. p: 183.
- [118]. **Meddour, R., Ouahiba, S. & Ouyessad, M. (2020).** Ethnobotanical survey on medicinal plants in the Djurdjura National Park and its influence area, Algeria. *Ethnobotany Research and Applications*, 20(46), 1-25
- [119]. **Mehalaine, S., Belfade, I.O., Menasria, T. & Messaili, A. (2018).** Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of Three Medicinal Plants from Algerian Semi-Arid Climatic Zone. *Phytothérapie*, (16), pp. 155–163
- [120]. **Metro, A. (1970).** Les eucalyptus dans le monde méditerranéen. Ed. Masson et Cie. p : 513.
- [121]. **Mikou, K., Rachiq, S., Oulidi, A.J. & Beniaich, G. (2015).** Étude ethnobotanique des plantes médicinales et aromatiques utilisées dans la ville de Fès au Maroc. *Phytothérapie*, 14(1), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0965-8>
- [122]. **Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. (2014).** 5^{ème} Rapport National sur la mise en œuvre de la convention sur la diversité biologique au niveau national. p : 128.
- [123]. **Moreau, B. (2003).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie [Thèse de doctorat, Université de Henri Poincaré-Nancy1]. p : 165.
- [124]. **Mostefa Sari, F. (2011).** Extraction et caractérisation de l'huile essentielle et de quelques métabolites secondaires actifs d'une plante à caractères thérapeutiques, *Thymus vulgaris* L., et étude de quelques activités pharmacologiques [Thèse de magistère, Université de Saad Dahlab]. p : 190.

- [125]. **Mouas, Y., Benrebiha, F. Z. & Chaouia, C. (2017).** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis* L. *Revue Agrobiologia*, **7**(1), 363-370.
- [126]. **Muther, L. (2015).** Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant [Thèse de doctorat, Université d'Auvergne]. p : 186.
- [127]. **Ngameni, B., Kuete, V., Simol, K., Mbaveng, AT., Awoussong, PK., Patnam, R., Roy, R. & Ngadjui, BT. (2009).** Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and compounds from *Dorstenia turbinata* (Moraceae). *S. Afr. J. Bot.*, (75), pp. 256–261.
- [128]. **Ngamo, TLS., Ngassoum, MB., Jirovets, L., Ousman, A., Nukenine, EC., Moukala, O. (2001).** Protection of stored maize against *Sitophilus zeamals* (Motsch.) by use of essential oils of spices from Cameroon. *Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwkd Toegep Biol Wet*, 66(2a), 473-478.
- [129]. **Ngassoum, M.B., Ngamo, T.L.S., Maponmetsem, P.M., Jirovertz, L. & Buchbauer, G., (2003).** Investigation of medicinal aromatic plants from Cameroon: GC/FID, 253 GC/MS and olfactoric analyses of essential oils *Ocimum suave* Willd (Lamiaceae). *Acta Pharmaceutica Turcica*, (45), pp. 69-75.
- [130]. **Nguefack, J., Tangue, O., Dongmo, J.B.L., Dakole, C.D., Leth, V., Vis-mer, H.F., Zollo, P.H. & Nkengfack, A.E. (2012).** Synergistic action between fractions of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against *Penicillium expansum*. *Food Control*, (23), pp. 377–383.
- [131]. **Nostro, A., Germano, M.P., D'Angelo, V., Marino, A. & Caunatelli, M.A., (2000).** Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters in Applied Microbiology*, (30), pp. 379-384.
- [132]. **Offord, E. A., Mace, K., Ruffieux, C., Malnoë, A. & Pfeifer, A. M. (1995).** Rosmary components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. *Carcinogenesis*, 16 (9), 2057-2062.
- [133]. **Organisation Mondiale de la Santé. (2003).** Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42869?locale-attribute=fr&>
- [134]. **Organisation Mondiale de la Santé. (2013).** Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Genève. p : 75.
- [135]. **Ouibrahim, A. (2015).** Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien [Thèse de doctorat, Université de Badji Mokhtar]. p : 95.
- [136]. **Oussou, K.R., Angaman, D.M., Ackah, J., Koffi, M., & Guessennd, N. (2017).** Composition chimique et effets antibactérien des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de cote d'IVOIRE. *Int. J. Adv. Res*, 5(11), 626-632
- [137]. **Oyedeji, O.A. & Afolayan, A.J. (2005).** Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Centella asiatica*. Growing in South Africa. *Pharmaceutical Biology*, (43), pp. 249-252.
- [138]. **Padrini, f. & Lucheroni, M. T. (1996).** Le grand livre des huiles essentielles. Ed. De Vecchi. p : 211.
- [139]. **Paolini, J. (2005).** Caractérisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/SM (IE et IC) et RMN du carbone-13 de *Cistus albidus* et de deux Asteraceae endémiques de Corse : *Eupatorium cannabinum subsp. corsicum* et *Doronicum corsicum* [Thèse de doctorat, Université de Corse Pascal Paoli]. p : 333.

- [140]. **Paris, A., Strukelj, B., Renko, M., Turk, V., Pukl, M., Umek, A. & Korant, B. D. (1993).** Inhibition effects of carnosic acid on HIV-I protease in cell free assays. *Journal of natural products*, 56 (8), 1426-1430.
- [141]. **Pavela, R. (2004).** Insecticidal activity of certain medicinal plants. *Fitoterapia*, (75), pp. 745-749. DOI: [10.1016/j.fitote.2004.08.005](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2004.08.005)
- [142]. **Perillaud, M. (2018).** propriétés thérapeutiques des huiles essentielles de plantes aromatiques du maquis corse [Thèse de doctorat, Université de Lille]. p : 96. <https://pepite-depot.univlille2.fr/nuxeo/site/esupversions/005fd9d2-e1f8-4ff2-bc56acc40a8a5e5b>
- [143]. **Pibiri, M.C. (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles [Thèse de doctorat, Université de Lausanne, EPFL]. p : 19-55 <https://doi.org/10.5075/epfl-thesis-3311>
- [144]. **Pino, JA., Moncayo-Molina, L., Spengler, I. & Pérez, JC. (2021).** Chemical composition and antibacterial activity of the leaf essential oil of *Eucalyptus globulus* Labill. from two highs of the canton Cañar, Ecuador. *CENIC Cienc. Quím*, 52 (1), 026-033.
- [145]. **Ponce, A.G., Fritz, R., Delvalle, C. & Roura, S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologic*, (36), pp. 679-684.
- [146]. **Prieto, P., Pineda, M. & Aguilar, M. (1999).** Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, (269), pp. 337-341. <http://dx.doi.org/10.1006/abio.1999.4019>
- [147]. **Quezel, P. & Santa, S. (1963).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. C.N.R.S. p: 238.
- [148]. **Rajadurai, A. (2018).** Phytotherapy is definitely the best approach in health medicine focused as much on prevention as to treatment. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 12.
- [149]. **Rana, I. S., Rana, A. S. & Rajak, R. C. (2011).** Evaluation of antifungal activity in essential oil of the *Syzygium aromaticum* (L.) By extraction, purification and analysis of its main component eugenol. *Brazilian Journal of Microbiology*, (42), pp. 1269–1277.
- [150]. **Rašković, A., Milanović, I., Pavlović, N., Čebović, T., Vukmirović, S. & Mikov, M. (2014).** Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(225).
- [151]. **Rhattas, M, Douira, A. & Zidane, L. (2016).** Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Parc National de Talassemtane (Rif occidental du Maroc). *Journal of Applied Biosciences*, (97), pp. 9187 – 9211.
- [152]. **Rombi, M. & Robert, D. (2015).** Le dictionnaire des plantes médicinales. Alpen. p : 824.
- [153]. **Roux-Sitruk, D. (2008).** Conseil en aromathérapie. Ed. Groupe liaisons. p : 187.
- [154]. **Ruch, R. J., Cheng, S. J. & Klaunig, J. E. (1989).** Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogen*, (10), pp. 1003–1008.
- [155]. **Saint Girons, B. (2014).** Le choix des huiles essentielles. Ed. Jouvence : Maxi-pratiques. p : 190.

- [156]. **Samoussa, M. O., Abdellaoui, A., Kettani, A., Saile, R. & Bennani, H. (2018).** Étude de la Sensibilité Aux Huiles Essentielles de *Cinnamomum verum*, *Eucalyptus globulus* et *Glycyrrhiza glabra* L Ainsi qu'aux Antibiotiques de Certains Germes Issus de la Restaura. *esj.v*, 14(3), 584- 601.
- [157]. **Sanago, R. (2006, 06 – 10 juin).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle [Conférence] 10^{ème} école d'été de l'IEPF et du SIFEE. Développement, Environnement et Santé. p : 53.
- [158]. **Sarri, D. (2017).** Développement durable au sein des aires protégés algériennes, cas du parc National d'El-Kala et des sites d'intérêts biologiques et écologiques de la région d'El-Tarf [Thèse de doctorat, Université de Ferhat Abbas]. p : 532.
- [159]. **Sékou, M.K., Sidibe, L., Figueredo, G. & Chalchat, J.C. (2001).** Chemical composition of the essential oil of *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Ch. From Mali. *Journal of Essential Oil Research*, 15 (4), 267-269.
- [160]. **Sékou, M.K., Vincent, C., Schmit, J-P., Ramaswamy, S. & Belanger, A. (2000).** Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Products Research*, (36), pp. 355-364.
- [161]. **Service, RF. (1995).** Antibiotics that resist resistance. *Science*, (270), pp. 724–727.
- [162]. **Singleton, K. W. & Nelshoppen, J. M. (1991).** Inhibition of 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) induced mammary tumorigenesis and of in vivo formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract. *Cancer letters*, 60 (2), 169-175.
- [163]. **Skandamis, PN. & Nychas, GJ. (2001).** Effect of oregano essential oil on microbiological and physicochemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of Applied Microbiology*, (91), pp. 1011-1022.
- [164]. **Smirnoff, N. & Cumbes, QJ. (1989).** Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, (28), pp. 1057-1060.
- [165]. **Soylu, E. M., Kurt, Ş. & Soyly, S. (2010).** *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *Int. J. Food Microbiol*, (143), pp. 83-189.
- [166]. **Srimathi Priyanga, K. & Vijayalakshmi, K. (2017).** Investigation of antioxidant potential of quercetin and hesperidin: an in vitro approach. *Asian J Pharm Clin Res*, (10), pp. 83-86.
- [167]. **Svoboda, K.P. & Deans, S.G. (1992).** A study of the variability of rosemary and sage and their volatile oils on the British market: their antioxidative properties. *Flavour and Fragrance Journal*, 7 (2), pp. 81-87.
- [168]. **Taibi, F., Boumendjel, M., Zaafour, M., Sekiou, O., Khaldi, T., Delimi, A., Abdessmad, S, Rebani, H., Chnouga, H., Siakhene, N., Boumendjel, A. & Messarah, M. (2018).** Conservation of stored food using plant's extracts. Effect of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil on the reproduction and development of flour moth (*Ephestia kuehniella*). *Cellular and Molecular Biology*, 64(10), 05-11. <https://doi.org/10.14715/cmb/2018.64.10.2>
- [169]. **Taleb-Toudert, K. (2015).** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) [Thèse de doctorat, Université de Tizi-Ouzou] p : 160.

- [170]. **Tesche, S. & Metternich, F. (2008).** The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis. Results of a double-blind, randomised, controlled trial. *Arch. Otorhinolaryngo*, 265 (11), 1355-1359.
- [171]. **Traore, N., Sidibe, L., Bouare, S., Harama, D., Somboro, A., Fofana, B., Diallo, D., Figueredo, G. & Chalchat, J-C. (2013).** Activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Eucalyptus citriodora* Hook et *Eucalyptus houseana* W. Fitzg. ex Maiden. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 7(2), 800-804. <http://indexmedicus.afro.who.int>
- [172]. **Turkmen, N., Velioglu, Y.S., Sari, F. & Polat, G. (2007).** Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, (12), pp. 484-96.
- [173]. **Valnet, J., (1983).** Phytothérapie : traitement des maladies par les plantes. Edition Maloine S.A. p : 942.
- [174]. **Viljoen, A. M., Subramoney, S., Vuuren, S. F. Van, Başer, K. H. C. & Demirci, B. (2005).** The composition, geographical variation and antimicrobial activity of *Lippia javanica* (Verbenaceae) leaf essential oils. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1–2), 271–277.
- [175]. **Vincent, M.C. (1991).** L'aromatogramme. Encyclopédie de médecine naturelle, phytothérapie, aromathérapie. 4 (9), p : 6.
- [176]. **Wallach, O. (1907).** Contributions to our Knowledge Terpenes and Ethereal Oils. *Ber.Dtsch. Chem. KGes*, (80), pp. 585-591.
- [177]. **Walters, C. (2006).** Aromathérapie. Ed. Végat. p: 144.
- [178]. **Wang, W., Li, N., Luo, M. & Zu, Y. (2012).** Efferth T: Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. *Molecules*, (17), pp. 2704–2713.
- [179]. **Zambonelli, A., D'Aurelio, A.Z., Severi, A., Benvenuti, E., Maggi, L. & Bianchi, A. (2004).** Chemical composition and fungicidal activity of commercial oils of *Thymus vulgaris* L. *J. Essent. Oil Res*, 16(1), 69 - 74.

Annexes

Exemple de plantes médicinales locales

Appellation locale de la plante _____

Nom vernaculaire (français) _____

Nom Scientifique (à compléter après vérification de la position systématique) _____

Synonymes _____

1 Parties utilisées

Feuilles Fleurs Graines Racines Tige Plante entière Fruit

Autres parties _____

2 Mode de conservation

Fraîche Séchée au soleil Séchée à l'ombre Dans l'huile Dans l'alcool

Autre (veuillez expliquer en détail le mode de conservation) : _____

3 Façon de préparation :

Bain de vapeurs Cataplasme Infusion Poudre Teinture

Autre (veuillez expliquer en détail le mode de préparation) : _____

4 Mode de consommation

Seule Associée

Autre (veuillez expliquer en détail le mode de consommation) : _____

5 Mode d'administration

Interne Externe

Autre (veuillez expliquer en détail le mode d'administration) : _____

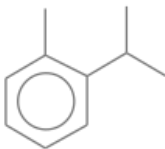
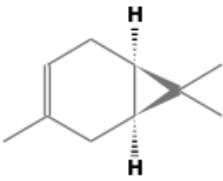
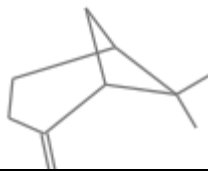
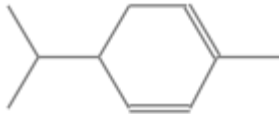
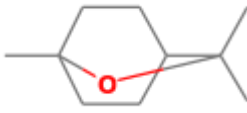
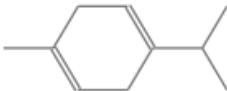
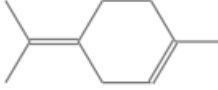
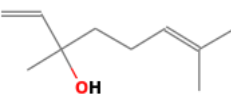
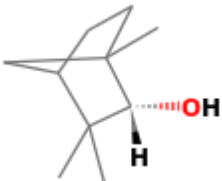
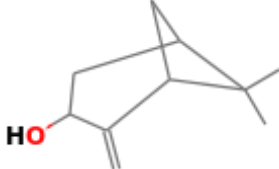
6 Remède

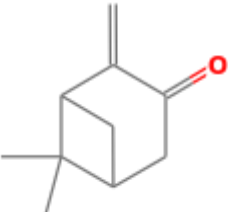
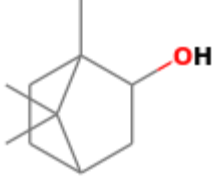
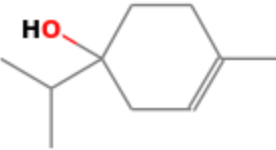
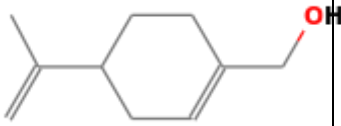
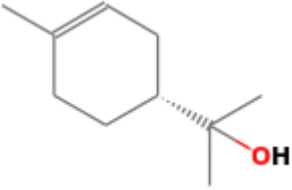
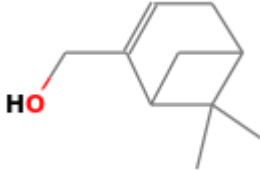
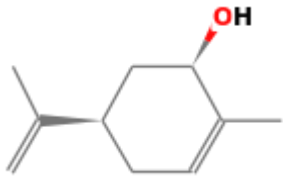
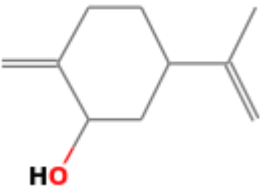
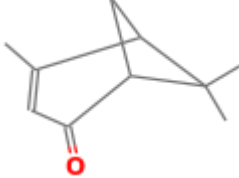
Indiquée dans les soins de quelle maladie ou pathologie ?

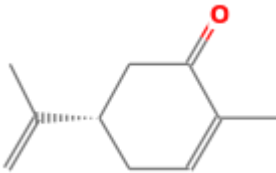
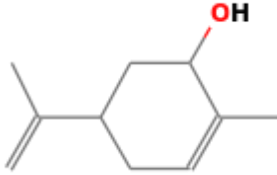
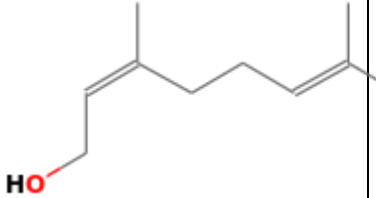
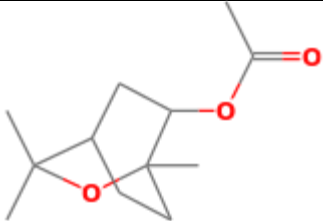
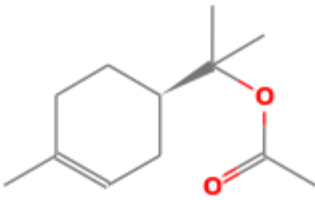
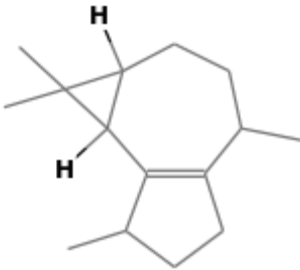

7 Effets indésirables observés

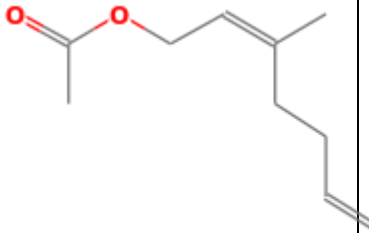
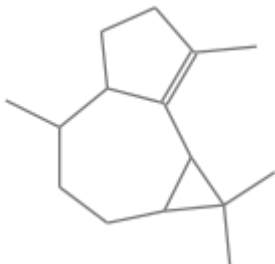
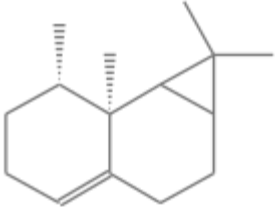
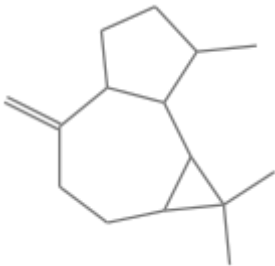
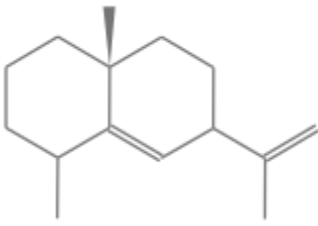
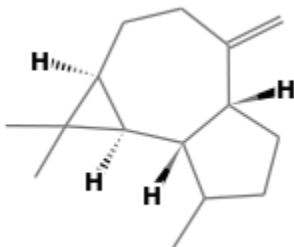
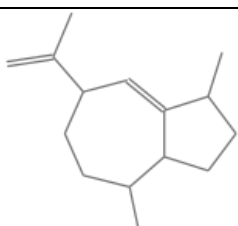
Elle est déconseillée pour Nouveau-nés Enfants Femme Enceinte autre _____

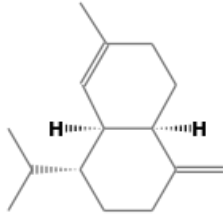
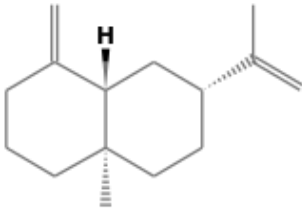

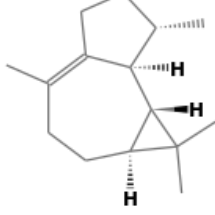
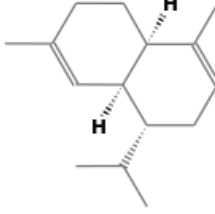
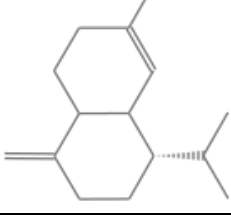
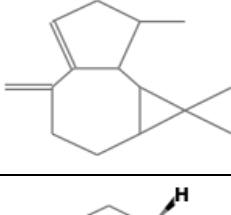
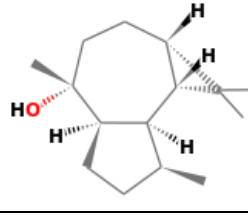
Annexe 2. Composition chimique relative de l'HE d'*Eucalyptus globulus*


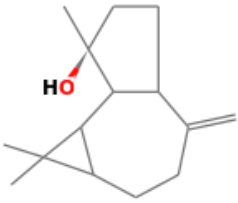
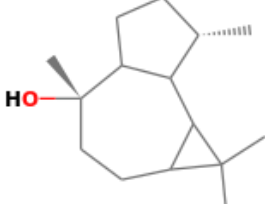
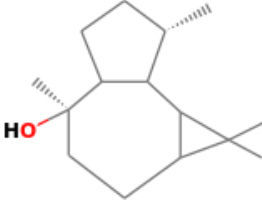
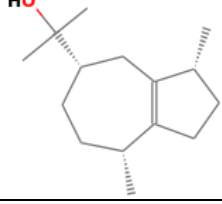
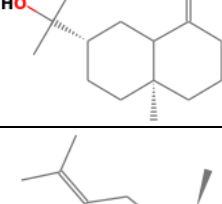
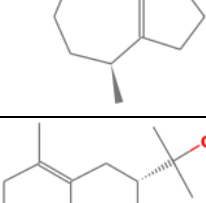
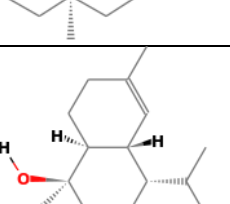
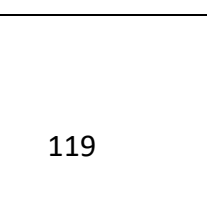
Composant	Formule	Molécule	Temps de rétention	%
o-Cymene	$C_{10}H_{14}$		8,553	0,69
3-Carene	$C_{10}H_{16}$		5,52	4,18
β -Pinene	$C_{10}H_{16}$		6,808	0,28
α -Phellandrene	$C_{10}H_{16}$		7,784	0,17
Eucalyptol	$C_{10}H_{18}O$		8,859	10,46
γ -Terpinene	$C_{10}H_{16}$		9,916	0,22
Terpinolene	$C_{10}H_{16}$		11,165	0,43
Linalool	$C_{10}H_{18}O$		11,678	0,13
Fenchol	$C_{10}H_{18}O$		12,186	0,12
Pinocarveol	$C_{10}H_{16}O$		13,295	1,21

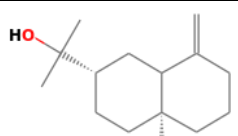
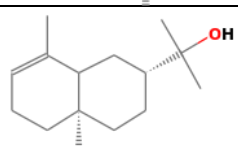
Pinocarvone	$C_{10}H_{14}O$		14,369	0,51
endo-Borneol	$C_{10}H_{18}O$		14,506	0,21
Terpinen-4-ol	$C_{10}H_{18}O$		15,059	0,39
ND			15,455	0,14
Isocarveol	$C_{10}H_{16}O$		15,565	0,90
α -Terpineol	$C_{10}H_{18}O$		15,721	2,22
(-)-Myrtenol	$C_{10}H_{16}O$		15,941	0,20
cis-Carveol	$C_{10}H_{16}O$		16,986	0,48
p-Mentha-1(7),8-dien-2-ol	$C_{10}H_{16}O$		17,396	0,97
Verbenone	$C_{10}H_{14}O$		17,529	0,43

D-Carvone	$C_{10}H_{14}O$		18,101	0,16
Carveol	$C_{10}H_{16}O$		18,442	0,08
Nerol	$C_{10}H_{18}O$		18,69	0,32
Hydroxycineole acetate	$C_{12}H_{20}O_3$		22,63	0,34
α -Terpinyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$		23,028	5,82
isolekene	$C_{15}H_{24}$		23,941	0,48
α -Copaene	$C_{15}H_{24}$		24,062	0,34

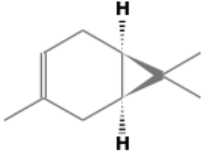
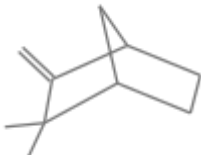
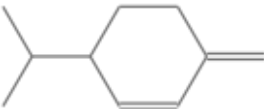
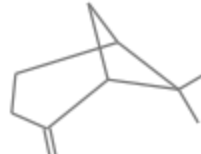
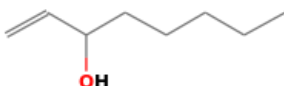
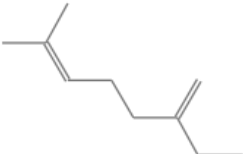
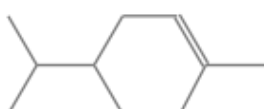
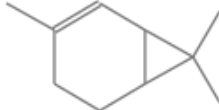
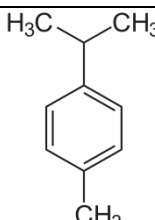
Nerol acetate	$C_{12}H_{20}O_2$		24,565	0,45
α -Gurjunene	$C_{15}H_{24}$		25,541	1,75
β -Gurjunene	$C_{15}H_{24}$		26,475	1,30
Aromandendrene	$C_{15}H_{24}$		26,904	14,48
Selina-5,11-diene	$C_{15}H_{24}$		27,008	0,88
Alloaromadendrene	$C_{15}H_{24}$		27,759	5,35
γ -Gurjunene	$C_{15}H_{24}$		28,221	0,45

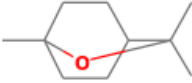
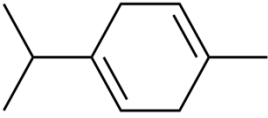
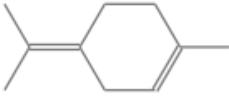
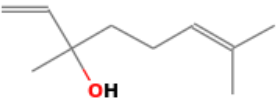

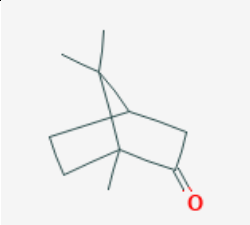
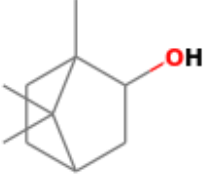
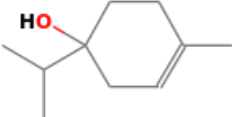
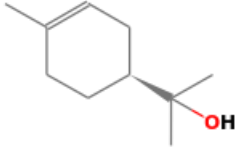
γ -Muurolene	$C_{15}H_{24}$		28,412	0,39
β -Selinene	$C_{15}H_{24}$		28,793	0,87
Longifolene	$C_{15}H_{24}$		28,885	0,70
Ledene	$C_{15}H_{24}$		29,215	3,28
α -Muurolene	$C_{15}H_{24}$		29,44	0,10
γ -Cadinene	$C_{15}H_{24}$		29,989	0,45
Aromadendrene, dehydro-	$C_{15}H_{22}$		30,174	0,55
Epiglobulol	$C_{15}H_{26}O$		31,837	3,92

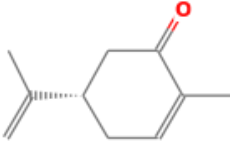
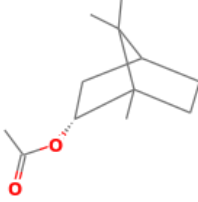
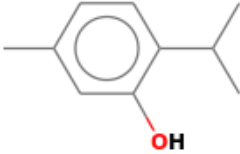
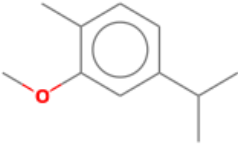
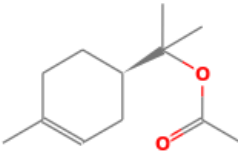
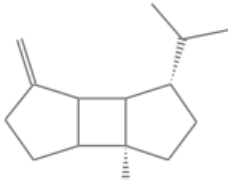
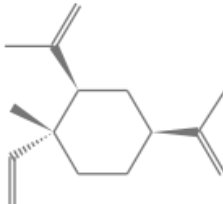
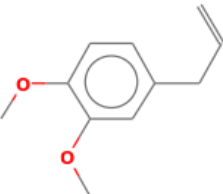
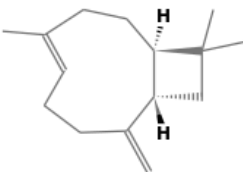
Globulol	$C_{15}H_{26}O$		32,12	1,76
Spathulenol	$C_{15}H_{24}O$		32,559	0,43
Ledol	$C_{15}H_{26}O$		32,917	12,24
Viridiflorol	$C_{15}H_{26}O$		33,16	3,19
Guaiol	$C_{15}H_{26}O$		33,235	1,35
β -Selinenol	$C_{15}H_{26}O$		34,373	2,53
β -Guaiene	$C_{15}H_{24}$		34,61	1,18
γ -Eudesmol	$C_{15}H_{26}O$		34,708	1,52
t-Cadinol	$C_{15}H_{26}O$		35,101	0,36


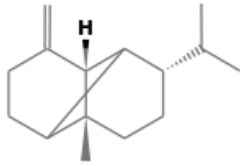
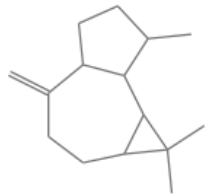
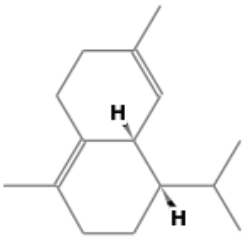
β -Eudesmol	$C_{15}H_{26}O$		35,436	4,34
α -Eudesmol	$C_{15}H_{26}O$		35,543	2,37

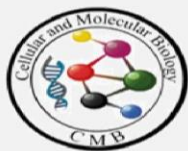
Annexe 3. Composition chimique relative de l'HE du *Rosmarinus officinalis*

Composant	Formule	Molécule	Temps de rétention	%
3-Carene	$C_{10}H_{16}$		5,503	8,22
Camphene	$C_{10}H_{16}$		5,93	2,97
β -Phellandrene	$C_{10}H_{16}$		6,727	0,13
β -Pinene	$C_{10}H_{16}$		6,82	0,55
3-Octenol	$C_8H_{16}O$		6,906	0,39
β -Myrcene	$C_{10}H_{16}$		7,334	1,19
α -Phellandrene	$C_{10}H_{16}$		7,79	0,55
(+)-4-Carene	$C_{10}H_{16}$		8,252	0,95
β -Cymene	$C_{10}H_{14}$		8,57	4,09

Eucalyptol	$C_{10}H_{18}O$		8,888	37,51
γ -terpinène	$C_{10}H_{16}$		9,916	0,46
Terpinolene	$C_{10}H_{16}$		11,152	0,30
Linalool	$C_{10}H_{18}O$		11,678	1,22
Fenchol	$C_{10}H_{18}O$		12,192	0,18
Camphor	$C_{10}H_{16}O$		13,567	11,70
endo-Borneol	$C_{10}H_{18}O$		14,543	9,64
Terpinen-4-ol	$C_{10}H_{18}O$		15,063	1,71
L- α -Terpineol	$C_{10}H_{18}O$		15,71	6,97

D-Carvone	$C_{10}H_{14}O$		18,098	1,62
Bornyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$		20,064	1,54
Thymol	$C_{10}H_{14}O$		20,152	0,23
Carvacrol	$C_{10}H_{14}O$		20,544	0,20
α -Terpinyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$		22,942	0,83
(-)- β -Bourbonene	$C_{15}H_{24}$		24,432	0,33
β -Elemene	$C_{15}H_{24}$		24,802	0,17
Methyleugenol	$C_{11}H_{14}O_2$		25,431	0,67
Caryophyllene	$C_{15}H_{24}$		25,928	2,43

Humulene	$C_{15}H_{24}$		27,384	0,22
β -Copaene	$C_{15}H_{24}$		28,574	0,86
Aromandendrene	$C_{15}H_{24}$		29,232	0,29
δ -Cadinene	$C_{15}H_{24}$		30,387	0,33



Insecticidal effect of *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* essential oils on a stored food pest *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidea)

Naouel Rekioua¹, Mahieddine Boumendjel^{2*}, Faiza Taibi³, Mohamed Faouzi Samar¹, Jouda Mediouni Ben Jemaa⁴, Fouzia Benaliouch⁵, Carmine Negro⁶, Francesca Nicoli⁶, Luigi De Bellis⁶, Emna Boushah⁴, Soumaya Haouel⁴

¹Research Laboratory of Biodiversity and Ecosystems Pollution, Chadli Bendjedid El-Tarf University, Algeria

²Research Laboratory on Biochemistry and Environmental Toxicology, Badji Mokhtar Annaba University, Algeria

³Research Laboratory on Applied Animal Biology, Badji Mokhtar Annaba University, Algeria

⁴Research Laboratory on Agriculture Applied Biotechnology, Carthage University, Tunisia

⁵National Institute for Plant Protection, El-Tarf, Algeria

⁶Department of Biological and Environmental Sciences and Technologies, University of Salento, 73100 Lecce, Italy

ARTICLE INFO

Original paper

Article history:

Received: January 13, 2022

Accepted: April 07, 2022

Published: April 30, 2022

Keywords:

Insecticide, essential oil, ethnobotanical survey, *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis*, *Ephestia kuehniella*

ABSTRACT

For the purpose of evaluating the local heritage of eastern Numidia, an ethnobotanical survey was conducted on a population located in the province (department) of El-Tarf (North-East of Algeria) on a frequency of use of two plants known in traditional health; *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) and *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). After processing data, our results show a female dominance when using these plants on a fairly advanced age group (40 to 60 years old). These plants are used by the people at their fresh state and deem the leaf as the most used part for therapeutic and cosmetic purposes. Furthermore, steam baths and infusion remain the most widespread preparation methods. Most consumers use these plants to treat influenza, respiratory illnesses as well as diseases of the digestive tract. GC-MS of essential oils extracted from the plants studied disclose a dominance of the alcohols portrayed by the monoterpenes (42.73%), sesquiterpenes (32.6%) and oxides (10.48%) in *E. globulus*. Data also indicate a high content of oxides (38.11%) monoterpene alcohols (20.43%) and monoterpenes (19.70%) in *R. officinalis*. Toxicological contact tests were achieved on a store-products pest *Ephestia kuehniella*. The test results were assessed with *E. globulus* ($LC_{50}=0.013$; $LC_{95}=0.081 \mu\text{l}/\text{cm}^2$) and *R. officinalis* ($LC_{50}=0.011$; $LC_{95}=0.059 \mu\text{l}/\text{cm}^2$). The lethal time changes according to the dose used and the tested plant. In *E. globulus*, we observe (concentration: $0.005 \mu\text{l}/\text{cm}^2$; $LT_{50}=56.2$ h), (Concentration: $0.01 \mu\text{l}/\text{cm}^2$; $LT_{50}=49.53$ h) and (Concentration: $0.04 \mu\text{l}/\text{cm}^2$; $LT_{50}=20.93$ h). Whereas in *R. officinalis*, we recorded (Concentration: $0.005 \mu\text{l}/\text{cm}^2$; $LT_{50}=55.7$ h), (Concentration: $0.01 \mu\text{l}/\text{cm}^2$; $LT_{50}=54.99$ h) and (Concentration: $0.04 \mu\text{l}/\text{cm}^2$; $LT_{50}=29.13$ h). The bioinsecticide has also been administered by fumigation and underpins toxicity by the reduction of adults longevity in *E. kuehniella* with *R. officinalis* ($LC_{50}=4.03 \mu\text{l}/\text{l air}$; $LC_{95}=14.73 \mu\text{l}/\text{l air}$) and *E. globulus* ($LC_{50}=7.76 \mu\text{l}/\text{l air}$; $LC_{95}=21.23 \mu\text{l}/\text{l air}$). In addition, the tested plants show an outstanding repellent effect as long as *E. globulus* and *R. officinalis* essential oils respectively demonstrate a slightly repellent power at 42.22% ($RD_{50}=0.09 \mu\text{l}/\text{cm}^2$; $RD_{95}=0.24 \mu\text{l}/\text{cm}^2$) and repellent at 60.00% ($RD_{50}=0.06 \mu\text{l}/\text{cm}^2$; $RD_{95}=0.35 \mu\text{l}/\text{cm}^2$) towards *E. kuehniella* adults. The plant resources represent a genuine reserve of bioactive molecules, which can create solutions to sustainable development issues. These plants might be the source of new molecules of combat against some pests in order to protect human health and safeguard the environment.

DOI: <http://dx.doi.org/10.14715/cmb/2022.68.4.18>

Copyright: © 2022 by the C.M.B. Association. All rights reserved.



Introduction

The province (department) of El-Tarf (North East of Algeria) runs along the Mediterranean over 90km. This coastline teems with wild medicinal and aromatic plants (1-15). This harmonious greenery contains ecosystem variables and maintains the ecological stability of the region, which led to several inventories and researches on the vegetation of this region like the

works of (16) as well as (17). The empirical knowledge gained by the indigenous people on the use of aromatic and medicinal plants was mostly passed on orally from generation to generation, thereby preserving the heritage knowledge (16, 18, 19). These plants are rich in active ingredients playing a key role in many biological activities and are studied for therapeutic purposes (20, 21). Traditional medicine in

*Corresponding author. E-mail: mahieddine@yahoo.com
Cellular and Molecular Biology, 2022, 68(4): 144-157

the region of El-Tarf relies on plants unpromptedly cultivated. In this study, an ethnobotanical survey was carried out on a population from this region to take part in determining and valorizing the local know-how, which focuses on preserving the traditional craft practices while aiming at the potential therapeutic and culinary use of the plants under study. Determining the chemical composition of essential oils from leaves by steam distillation was achieved by GC-MS. Essential oils were also employed to test their compounds that are able to inhibit attacks from insect pests on stored food via the study of the bioinsecticide activity and that on a model of pests *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidea). These molecules, naturally synthesized by plants, play roles in down-regulating insects' populations through plants, somewhat of a natural regulator of food insect pests (22). For a brighter future, plant production products also referred to as 'green products' and plant-based biopesticides, are recommended and qualified for their low persistence. Likewise, those made with essential oils can serve as tools in management programs pertaining to pests' resistance to pesticides (23, 24). The aim of this present work is to evaluate the therapeutic and insecticidal usage of two plant from the folk medicinal heritage of eastern Numidia.

Materials and methods

Ethnobotanical survey

A direct face-to-face and individual conversation were conducted with people taken randomly from both sexes and from various socio-economic strata. This work covered 13 municipalities of the department of El-Tarf and after four successive years (2017, 2018, 2019 and 2020); so as to identify the several forms and ways to use these two plants *E. globulus* and *R. officinalis* in traditional herbal medicine. The replies received from conversations were recorded by means of an index card prepared according to the objectives of our research.

Plant material

Eucalyptus globulus was harvested at the region of Ramel Essouk (Altitude 157 m – Latitude 36°47'10" N – Longitude 8°32'8" E), whereas *Rosmarinus officinalis* was picked in December at the region of Bougous (Altitude 183 mm – Latitude 36°39'34" N – Longitude 8°22'10" E).

Extracting the essential oil

A quantity of 100 g of leaves dried in the shade of each plant has been hydro-distilled using a Clevenger apparatus for 03 hours. The yield rate was estimated according to (25) using the formula: % oil extraction (p/p) = ((Essential oil weight (g) /plant material weight (g)) x 100. The essential oil obtained was stored at 04°C in opaque glass vials.

Gas Chromatography of essential oils

GC/mass spectrometry (GC/MS) was carried out following the method described (5).

Biological material

Ephestia kuehniella's breeding was taken into an oven under optimum conditions of development (27° C temperature, relative humidity near 70% and in the dark). Males and females, in equal numbers, are grown in 01 L plastic containers containing flour. Dating of insects is achieved in days after their ecdysis.

Effect on adults' longevity through contact

A batch of 10 adult insects aged 0 to 24 h was placed in a Petri dish. A Whatman paper disc was soaked with one of the three essential oils doses (0.25µl; 0.5µl and 2µl) and dispensed in each box. The concentrations obtained are as follows: 0.005 µl/cm²; 0.01 µl/cm² and 0.04 µl/cm². Three attempts shall be carried out for the statistical survey. The insect is considered dead when there is no more leg or antenna movement.

Toxicity on adults' longevity by fumigation

Five (05) adult insects freshly exuviated were placed in a 44ml Plexiglas screw-top container in which there is flour and Whatman paper N°1 soaked with an essential oil that has been studied before the closure of the bottle. For this test, three different concentrations were dispensed (5.68 µl/l air, 11.36 µl/l air and 45.45 µl/l air). Three replications are necessary for the statistical surveys in comparison with the control samples.

Toxicity by repulsion

This parameter relies on the preferred area method (26). A piece of paper is split into two parts. The first

half will be soaked in one of the tested concentrations (0.01 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$; 0.02 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ and 0.08 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$) and the paper's second half will be soaked in acetone that will serve as a neutral party. After evaporation of the solvent, the piece of paper will be pieced together and placed at the bottom of a box of 09 cm long. 10 adult *E.kuehniella* insects, aged 0 to 24 h, were put in the middle of the box. This procedure is repeated three times for each concentration.

Ethnobotanical survey

The logged data on the survey sheets have been entered and processed by IBM SPSS, Statistics 25 software (System Package for Social Sciences, version 25). Reporting our results relied on frequencies and percentages.

Toxicological tests

During toxicological tests, the insects' mortality results are further processed according to Abbot, 1925 (27) to rule out any hypothesis of natural mortality and assess the toxic effects of the tested essential oils.

Insecticidal data analysis

- Analysis of variance was carried out on the data. Turkey's test was applied at 0.05% to pinpoint the significant differences by way of the IBM SPSS, Statistics 25 software. The data are broken down into tables as averages \pm standard errors ($m \pm s e$).

- Identifying LC_{50} , LC_{95} , RD_{50} and RD_{95} as well as TL_{50} , based on Finney et al 1971 (28) was achieved depending on the probit as per the recommendation of Fisher and Yates 1957 (29).

Results

Results of the ethnobotanical survey

Based on the statistical treatment of data in the 400 survey sheets, the results are broken down in Tables 1 and 2.

Table 1 shows female dominance (60.25%) compared to men (39.75%). The highest rate (38%) is that of the users aged between 20 and 40. The 40-60 age group displays the highest percentage of users (45.5%). The surveyed population provided us with this information inherited from their loved ones, ancestral know-how (48.0%), families (39.2%) or acquired from personal experiences (9.64%) or out of studies (2.54%).

Table 1. Survey main results

Queries	Repartition	Percentage (%)
Gender	Females	60.25
	Males	39.75
Ages	20 – 40	38
	40 – 60	45.5
	> 60	16.5
Information inheritance	Ancestral know-how	48.0
	Studies	2.54
	Personal experience	9.64
	Family	39.82

Table 2. Uses of different parts of the plant

Queries	Repartition	<i>E.globulus</i> <i>R.officinalis</i>	
		Percentage (%)	
Used parts of the plant	Leaf	73.2	53.3
	Flowers	13.2	28.3
	Entire plant	13.2	15.9
	Rod	00.5	01.3
	Grains	00.0	01.2
Fresh/dried plants	Fresh	75.8	61.8
	Dry	24.2	38.2
Manner of use	Steam baths	69.2	07.4
	Cataplasms	00.4	00.0
	Decoctions	00.0	29.7
	Infusions	27.9	46.6
	Powders	02.5	16.3
Manners of consumption	Associated	10.7	31.6
	Alone	89.3	68.4
Treated pathologies	Cardiovascular treatment	00.0	05.8
	Cosmetic use	00.0	8.6
	Food use	00.0	21.0
	Against influenza	56.5	28.2
	Breath and respiratory treatment	38.2	00.0
	Stress treatment	05.3	11.2
	Digestive treatment	00.0	25.2
	High doses	14.6	13.9
	Allergies	02.1	06.1
	Asthma	08.1	00.0
Banning uses	Children	07.1	07.7
	Pregnant	29.0	27.9
	Blood pressure	09.0	08.0
	New born	30.2	28.6
	Any adverse effect	00.0	07.9

Table 2 discloses the leaf remains the most used part with a rate of 73.2 % for *E.globulus* and 53.3% for *R.officinalis*. These findings are followed by the use of flowers with 13.2% for *E.globulus* and 28.3% for *R.officinalis*. The whole *E.globulus* plant is used at a 13.2% rate while 15.9% for *R.officinalis*. The citizens of El-Tarf use *E.globulus* and *R.officinalis* fresh rather than dry, with a rate ranging between 75.8% and 61.8%. According to the proportions recorded, 24.2% arises for *E.globulus* while 38.2% for *R.officinalis*. Steam baths are the most used preparation mode for *E.globulus* (69.2%). As for *E.globulus*, the most widely used preparation way is an infusion (46.6%) followed by decoction (29.7%).

Both of these plants are mostly used singly, with a rate of 89.3% for *E.globulus* and 68.4 % for *R.officinalis*. Utilization of these plants together is less common, with 10.7% for *E.globulus* and 31.6% for *R.officinalis*. We can see that *E.globulus* is used to treat influenza (56.5%), respiratory illnesses (38.2%) and stress (5.3%). The most treated diseases by *R.officinalis* are influenza (28.2%) and digestive tract diseases (25.2%). This plant is also known for its use in the kitchen with 21.0%. This plant is little used in cosmetics (8.6%) or treating stress (11.2%) along with cardiovascular diseases (5.8%). The surveyed population agrees with banning using both plants at a high dose for newborns, pregnant women, children, people with high blood pressure and allergy sufferers. Moreover, 8.1% forbid giving *E.globulus* to people with asthma, whereas 7.9% did not notice any adverse effects after using *R.officinalis*.

Yield of obtained essential oils

A significant variety in terms of quantity of oil derived from the plants studied, of which the *E.globulus* produced a yield of 1.65% while *R.officinalis* produced a yield of 0.36%.

Chromatographic profile of essential oils

According to Figures 1 and 2, *E.globulus* essential oil is made up of monoterpenes (42.73%), sesquiterpenes (32.6%) and oxides (10.48%. Parallel to this, *R.officinalis* essential oil is made up of oxide (38.11%), monoterpenes alcohols (20.43%), monoterpenes (19.70%), ketones (13.53%) and characterized by the presence of low phenols levels (1.11%).

Insecticide activity of essential oils

Contact Toxicity test

After contact of *E.kuehniella* adults with different essential oils concentrations (Fig. 3) and recording the mortality rate, the statistical processing shows the impact of concentrations on the increase of the mortality rate of 48h insects ($F_{1,12} = 33.25, p \leq 0.001$) and at 72h of exposure ($F_{1,12} = 7.58, p \leq 0,01$). The variety in essential oil shows no major difference at 48h of test ($F_{1,12} = 0.083, p \geq 0.05$). On the other hand, results of 72h test reveal a significant influence of essential oil variety on the rise of mortality rates of *E.kuehniella* adults ($F_{1,12} = 5.33, p \leq 0.05$).

Table 3. Chemical composition of *Eucalyptus globulus* essential oil

RT	Name	Rekioua (present work)	(30)	(31)	(32)
5.520	3-Carene	4.18%			
6.808	β -Pinene	0.28%		0.217	0.400
7.784	α -Phellandrene	0.17%			
8.553	o-Cymene	0.69%			6.60
8.859	Eucalyptol	10.46%		51.083	80.20
9.916	γ -Terpinene	0.22%			
11.165	Terpinolene	0.43%	7.12		
11.678	Linalool	0.13%	5.54		
12.186	Fenchol	0.12%		0.179	
13.295	Pinocarveol	1.21%		9.987	
14.369	Pinocarvone	0.51%			
14.506	endo-Borneol	0.21%		0.346	
15.059	Terpinen-4-ol	0.39%	2.07	0.178	0.10
15.455	ND	0.14%			
15.565	Isocarveol	0.90%			
15.721	α -Terpineol	2.22%		0.486	0.40
15.941	(-)-Myrtenol	0.20%	1.50	0.202	
16.986	cis-Carveol	0.48%		0.187	
17.396	p-Mentha-1(7).8-dien-2-ol	0.97%	2.36		
17.529	Verbenone	0.43%			
18.101	D-Carvone	0.16%	1.59		
18.442	Carveol	0.08%			
18.69	Nerol	0.32%			
22.63	Hydroxycineole acetate	0.34%			
23.028	α -Terpinyl acetate	5.82%			
23.941	Isoledene	0.48%			
24.062	α -Copaene	0.34%			
24.565	Nerol acetate	0.45%			
25.541	α -Gurjunene	1.75%			
26.475	β -Gurjunene	1.30%			
26.904	Aromandendrene	14.48%			
27.008	Selina-5.11-diene	0.88%			
27.759	Alloaromandendrene	5.35%			
28.221	γ -Gurjunene	0.45%			
28.412	γ -Muuroleone	0.39%			
28.793	β -Selinene	0.87%			
28.885	Longifolene	0.70%			
29.215	Ledene	3.28%			
29.44	α -Muuroleone	0.10%			
29.989	γ -Cadinene	0.45%			
30.174	Aromadendrene. dehydro-	0.55%			
31.837	Epiglobulol	3.92%			
32.12	Globulol	1.76%		2.817	
32.559	Spathulenol	0.43%			
32.917	Ledol	12.24%			
33.16	Viridiflorol	3.19%			
33.235	Guaiol	1.35%			
33.558	cis-Eudesm-6-en-11-ol	1.93%			
34.373	β -Selinenol	2.53%			
34.61	β -Guaiene	1.18%			
34.708	γ -Eudesmol	1.52%			
35.101	.tau.-Cadinol	0.36%			
35.436	β -Eudesmol	4.34%			
35.543	α -Eudesmol	2.37%			

GC-MS *Eucalyptus globulus*

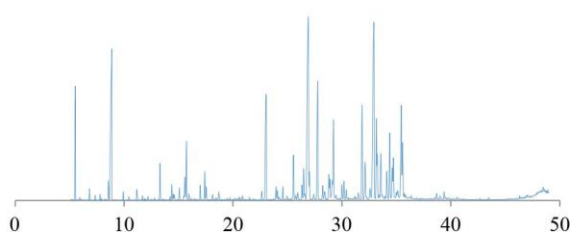


Figure 1. GC-MS profile of *Eucalyptus globulus* essential oil.

GC-MS *Rosmarinus officinalis*

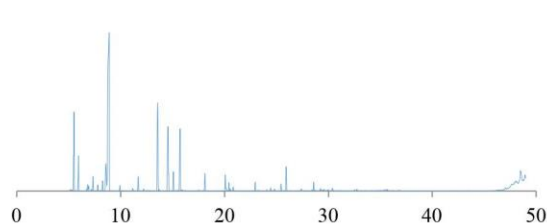


Figure 3. GC-MS profile of *Rosmarinus officinalis* essential oil.

Table 4. Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* essential oil

RT	Name	Rekioua (present work)	(30)	(33)	(34)
5.503	3-Carene	8.22%	0.07		0.18
5.93	Camphene	2.97%	0.02	9.18	5.34
6.727	β-Phellandrene	0.13%			
6.82	β-Pinene	0.55%		5.53	5.74
6.906	1-Octen-3-ol	0.39%			
7.172	ND	0.15%			
7.334	β-Myrcene	1.19%		1.27	1.48
7.79	α-Phellandrene	0.55%			0.19
8.252	(+)-4-Carene	0.95%			
8.57	β-Cymene	4.09%		2.76	1.27
8.888	Eucalyptol	37.51%		21.53	52.06
9.916	γ-Terpinene	0.46%			0.65
11.152	Terpinolene	0.30%			0.26
11.678	Linalool	1.22%		0.87	0.64
12.192	Fenchol	0.18%			
13.567	Camphor	11.70%	31.16	21.84	7.69
14.543	endo-Borneol	9.64%		2.15	2.28
15.063	Terpinen-4-ol	1.71%			0.59
15.71	L-α-Terpineol	6.97%		1.92	1.92
18.098	D-Carvone	1.62%	0.06		
20.064	Bornyl acetate	1.54%	3.44	2.45	0.25
20.152	Thymol	0.23%			
20.417	ND	0.77%			
20.544	Carvacrol	0.20%			
20.822	ND	0.37%			
22.942	α-Terpinyl acetate	0.83%		0.40	
24.432	(-)-β-Bourbonene	0.33%			
24.802	β-Elemene	0.17%			
25.431	Methyleugenol	0.67%			
25.928	Caryophyllene	2.43%		1.32	
27.384	Humulene	0.22%		0.07	0.22
28.574	β-Copaene	0.86%			0.17
29.232	Aromandendrene	0.30%	0.09		
29.573	ND	0.15%			
29.983	ND	0.13%			
30.387	δ-Cadinene	0.33%	0.24		0.19

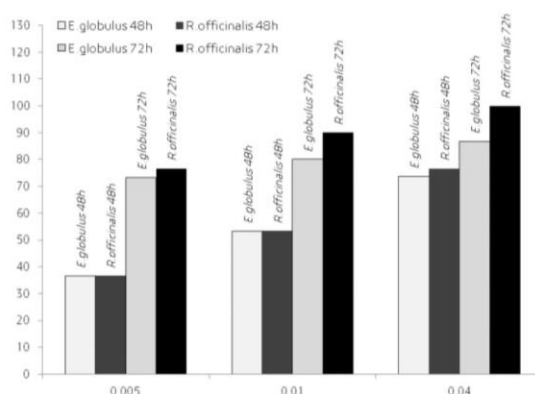


Figure 3. Mortality progression (%) of *E. kuehniella* adults at 48h and 72h. For each concentration, the same lowercase letters are not significantly different ($p > 0.05$) between the means of the two essential oils, according to Tukey's test.

Table 5. Determination of LC 50 and LC 95 of the Toxic Effect by contact of *E. globulus* and *R. officinalis* essential oils on *E. kuehniella* adults.

Oils essential	LC ₅₀ (μl / cm ²)	LC ₉₅ (μl / cm ²)	χ ²	Slope ± SE	Sig	Degrees of freedom
<i>E. globulus</i>	0.013 (0.06 - 0.019)	0.081 (0.062 - 0.124)	2.91	24.22 ± 4.93	0.08	1
<i>R. officinalis</i>	0.011 (0.006 - 0.016)	0.059 (0.048 - 0.078)	1.99	34.78 ± 5.31	0.15	1

Table 6. Lethal time (LT50) of the Toxic Effect by contact of essential oils of *E. globulus* and *R. officinalis* on adults of *Ephestia kuehniella*.

Oils essential	Concentration (μl / cm ²)	LT ₅₀ (hours)	χ ²	Slope ± SE	Sig	Degrees of freedom
<i>E. globulus</i>	0.005	56.21 (53.35-58.96)	0.18	0.03 ± 0.005	0.99	4
	0.01	49.53 (46.08-52.14)	5.05	0.04 ± 0.005	0.28	4
	0.04	20.93 (16.46-33.46)	0.12	0.02 ± 0.006	0.99	4
<i>R. officinalis</i>	0.005	55.7 (52.22-57.69)	1.00	0.04 ± 0.005	0.90	4
	0.01	45.99 (41.94-48.87)	2.58	0.04 ± 0.006	0.63	4
	0.04	29.13 (17.89-35.17)	2.90	0.05 ± 0.008	0.57	4

Based on Tables 5 and 6, we notice that LC₅₀ lethal concentrations causing mortality of 50% *Ephestia kuehniella* adults are close: 0.013 and 0.011 μl/cm². Likewise, for LT₅₀ lethal times values. This confirms that both plants have the same influence on the mortality of the insects tested.

Toxicity test by fumigation

The unidirectional ANOVA shows the major influence of essential oils ($F_{1,36} = 33.88 ; p \leq 0.001$), inhalation time ($F_{2,36} = 63.77 ; p \leq 0.001$) and tested

doses ($F_{2,36} = 7.47, p \leq 0.01$) on the increase of mortality of *E.kuehniella* adults.

Exposure of *E.kuehniella* adults to various essential oils doses caused their mortality which was phased in Figure 4. The mortality rate of *E.kuehniella* adults increases over time depending on the dose and the quality of the essential oil. At the lowest dose (5.68 $\mu\text{l/l}$ air), *R.officinalis* essential oil causes all adults at 66h, whereas *E.globulus* essential oil mortality of all

insects is achieved only at 78h. The results of the second dose (11.36 $\mu\text{l/l}$ air) show that inhaling *R.officinalis* essential oil for 60h leads to the death of all *E.kuehniella* adults. This same phenomenon occurs with *E.globulus* essential oil at 72h. After 54h of exposure to the third dose (45.45 $\mu\text{l/l}$ air) of *R.officinalis* essential oil, we noticed the death of all *E.kuehniella* adults, when in *E.globulus* we recorded this rate at 60h (Fig.4).

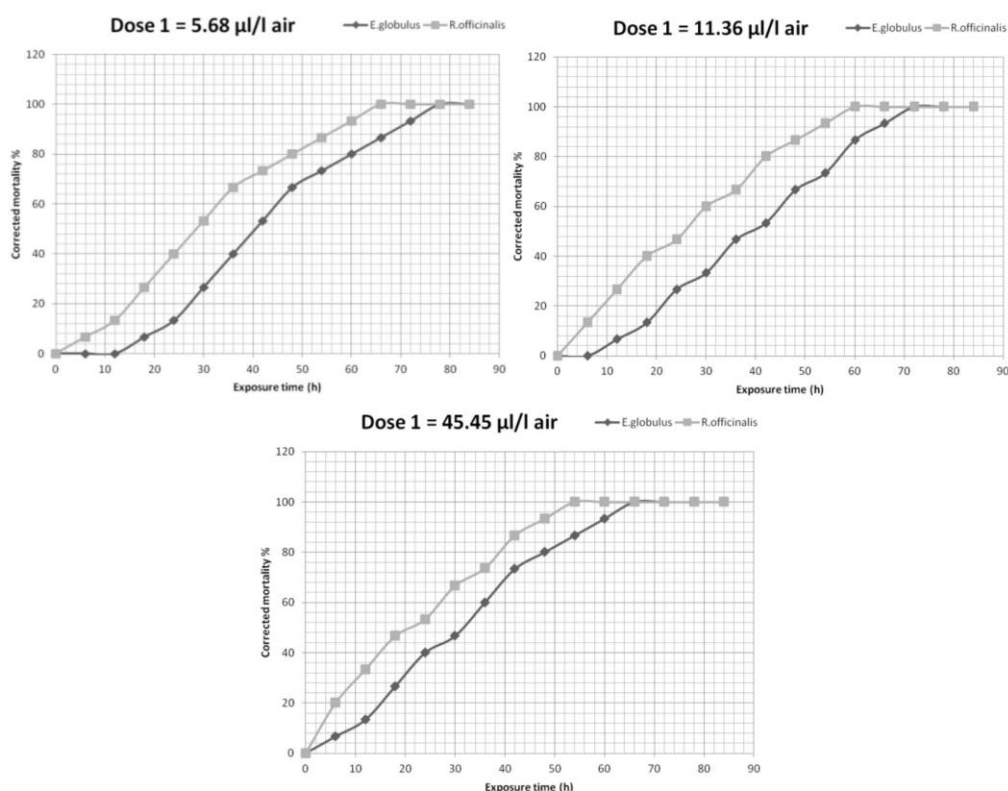


Figure 4. Mortality (%) of *Ephestia kuehniella* adults after inhalation of different doses of *E. globulus* and *R.officinalis* essential oils.

Based on Tables 7 and 8, *R.officinalis* essential oil seems to be more effective than *E.globulus* essential oil using the following lethal doses of 4.032 $\mu\text{l/l}$ air and 7.756 $\mu\text{l/l}$ air, respectively. The same goes for the lethal time, *R.officinalis* essential oil provokes mortality of *E.kuehniella* adults in a shorter time interval than that caused by *E.globulus* essential oil.

Toxicity Test by repellency

The statistical survey brings out that the repellent properties obtained underscore the dependency of essential oils variety ($F_{1,24} = 5.44, p \leq 0.05$). The tested concentrations ($F_{2,24} = 61.00, p \leq 0.001$) and

the duration of exposure various essential oils concentrations ($F_{2,12} = 51.00, p \leq 0.001$) to keep *E.kuehniella* adults away. The coefficient of determination ($R^2 = 0.927$) indicates a high and positive correlation between the studied factors, proving their insect-repellent effect on *E.kuehniella* adults at 24 h of the treatment.

The repellent test results are summarized in Table 9 and Figure 5. The repellent effect rate increases according to the concentration and quality and of the tested essential oil. *Eucalyptus globulus* essential oil has a relatively repellent power PR=43.22). However,

Rosmarinus officinalis essential oil has a repellent power with PR=60.00%.

Table 7. Determination of the LC50 and LC95 of the toxic effect by fumigation of *E.globulus* and *R.officinalis* essential oils on *E.kuehniella* adults.

Oils essential	LC ₅₀ (µl / 1 air)	LC ₉₅ (µl / 1 air)	χ ²	Slope ± SE	Sig	Degrees of freedom
<i>E.globulus</i>	7.756 (5.746 - 9.271)	21.228 (16.746 - 34.754)	0.000	0.122 ± 0.032	0.988	1
<i>R.officinalis</i>	4.032 (0.377 - 5.656)	14.733 (12.340 - 20.731)	0.000	0.154 ± 0.036	1.000	1

Table 8. Determination of the lethal time (LT50) of the toxic effect by fumigation of *E.globulus* and *R.officinalis* essential oils on *E.kuehniella* adults.

Oils essential	Concentration (µl / 1 air)	LT ₅₀ (hours)	χ ²	Slope ± SE	Sig	Degrees of freedom
<i>E.globulus</i>	5.68	42.486 (36.979 - 53.244)	58.228	0.056 ± 0.005	0.000	7
	11.36	38.088 (32.353 - 45.408)	36.358	0.044 ± 0.004	0.000	7
	45.45	29.857 (27.435 - 31.853)	0.198	0.045 ± 0.005	1.000	7
<i>R.officinalis</i>	5.68	28.573 (17.069 - 35.575)	66.689	0.046 ± 0.005	0.000	7
	11.36	26.526 (13.598 - 31.986)	64.382	0.062 ± 0.005	0.000	7
	45.45	19.149 (5.085 - 24.545)	34.503	0.067 ± 0.007	0.000	7

Table 9. Repellency (mean ± se) of essential oils of *E.globulus* and *R.officinalis* on adults of *E.kuehniella* during 24 hours of exposure.

	Concentration (µl / cm ²)			Average repulsion
	0.01	0.02	0.08	
<i>E.globulus</i>	26.67 ± 6.67 a	46.67 ± 6.67 b	53.33 ± 6.67 c	42.22
Repellency classes	III : Moderately repellent			
<i>R.officinalis</i>	33.33 ± 6.67 a	66.67 ± 6.67 b	80 ± 0.00 c	60.00
Repellency classes	IV : Repellent			

For each concentration, the same lower case letters are not significantly different (p> 0.05) between the means of the two essential oils, according to Tukey's test.

Table 10. Repellency doses RD50 and RD95 of the essential oil of *E.globulus* and *R.officinalis* against adults of *E. kuehniella* after 24 h of exposure.

Oils essential	RD ₅₀ (a,b) (µl / cm ²)	RD ₉₅ (a,b) (µl / cm ²)	χ ²	Slope ± SE	Sig	Degrees of freedom
<i>E.globulus</i>	0.09 (0.07 - 0.13)	0.24 (0.18 - 0.42)	0.35	10.44 ± 2.44	0.56	1

<i>R.officinalis</i>	0.06 (0.04 - 0.18)	0.35 (0.21 - 1.70)	2.64	5.70 ± 2.36	0.10	1
----------------------	-----------------------	-----------------------	------	-------------	------	---

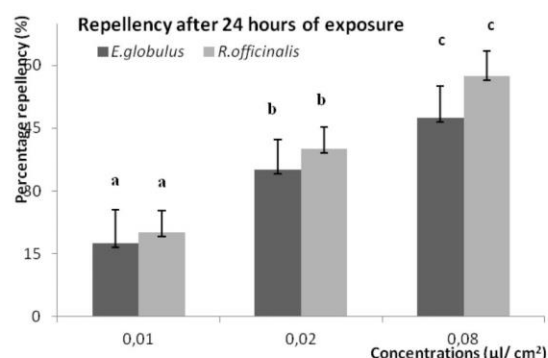


Figure 5. Repellency of *E.globulus* and *R.officinalis* essential oil on *E. kuehniella* adults after 24 hours of exposure. For each concentration, the same lowercase letters are not significantly different (p> 0.05) between the means of the two HEs, according to Tukey's test.

Table 11. Lethal time repellent TL50 of the essential oil of *E.globulus* and *R.officinalis* against adults of *E. kuehniella* after 24 h of exposure.

Oils essential	Concentration (µl / cm ²)	TL ₅₀ (hours)	χ ²	Slope ± SE	Sig	Degrees of freedom
<i>E.globulus</i>	0.01	42.07 (31.22 - 74.88)	1.702	0.03 ± 0.01	0.19	1
	0.02	27.41 (19.00 - 63.35)	0.62	0.02 ± 0.008	0.43	1
	0.08	18.52 (10.57 - 62.84)	3.01	0.02 ± 0.008	0.08	1
<i>R.officinalis</i>	0.01	34.12 (23.95 - 76.35)	0.76	0.02 ± 0.008	0.38	1
	0.02	9.62 (3.83 - 14.87)	0.37	0.03 ± 0.008	0.54	1
	0.08	7.39 (1.08 - 12.94)	2.54	0.03 ± 0.008	0.11	1

Discussion

Survey discussion

The surveyed population throughout 13 municipalities of the province (department) of El-Tarf tells us that ladies (60.25%) are most interested in using the two studied plants compared to men (39.75%). The inventory undertaken by (16) in the same area under study also reveals that ladies (71.8%) are more interested in traditional medicine than men (28.2%). Furthermore, an ethnobotanical survey conducted by (35) at El-Tarf in four (04) medicinal plant families pointed out that ladies (62%) hold the information and phytotherapeutic know-how. Other ethnobotanical works also corroborate this (18; 37). The same investigation shows that it is people aged 40 to 60 who use the two plants studied (45.5%) relative to the age group 20 to 40 (38%). Our results are

confirmed by the work of (9) and (36). Although (16) in their study employed divergent age groups yet results are closer to ours, where people aged 50 to 75 are represented by a rate of 48.7% and those of age group 30 to 50 representing 32.5% of the surveyed ones. The most used part of the plant as a herbal remedy is the leaf for *E.globulus* (73.2 %) and *R.officinalis* (53.3 %). According to (37), the predominance of the use of an organ in relation to another in the therapeutic field comes from the concentration of its active ingredients. This is corroborated by the inventory of (16) as well as the results of (18). Leaves are the most commonly used because they serve at the same time as the location of photochemical reactions as well as a reservoir of organic matter derived there from (38). They supply most alkaloids, heterosides and essential oils (39). These findings are consistent with the work of (40) as in which they point out that those local populations in the regions of Aguelmous and Kénitra in Morocco mainly use leaves of medicinal plants in the traditional phytotherapy of that region. Using fresh plants substantiates the findings of (16). This can be explained by the annual availability of plants. Broadly speaking, fresh or dry plant usage hinges majorly on their availability in the environment of the surveyed people (34-35).

The most familiar mode of preparation to speed up the therapeutic action of *E.globulus*, is a steam bath (69.2%) followed by infusion (27.9%). An ethnobotanical survey carried out in Fès by (42) on four medical and aromatic plant's families' show that infusion is the most widely used preparation method by the surveyed persons. Regarding *R.officinalis*, infusion (46.6%) is the most widely used preparation mode, followed by decoction (29.7%). (16) along with (43) reported similar results.

Phytotherapy is definitely the best approach in health medicine focused as much on prevention as to treatment (44). The most treated diseases by *Eucalyptus* are influenza (56.5%), followed by respiratory illnesses (38.2%). Most rosemary usages treat influenza (28.2%) and disorders of the digestive duct (25.2%). However, the research of (16) report that rosemary is very valuable to respectively treat liver problems, digestive and abdominal disorders together with blood circulation (43).

The data of the interviewees are based on the knowledge of ancestors (48.0%) and their families or their entourage (39.82%), which is consistent with other researches (36).

The plant's most used part as a remedy is the leaf; (73.2%) for the *E.globulus* and (53.3 %) for *R.officinalis*. According to (37), the predominance of using an organ versus another in the therapeutic field is due to its concentration in active ingredients. That is confirmed in the inventory of (16) together with the results of (18). Leaves are the most often used as they are at the same time the location of phytochemical reactions and a reservoir or organic matter derived there from (38). They supply the largest part of alkaloids, heterosides and essential oils (39). These findings are in line with the works of (40) along with (41) where they tell that the local populations in of Aguelmous et Kenitra in Morocco use chiefly leaves of medicinal plants in traditional phytotherapy in that region.

Using fresh plants corroborates with the results of (16). The annual availability of plants can explain this. In general, the usage of fresh or dry plants primarily depends on their availability in the environment of the interviewees (35).

The most familiar mode of preparation to speed up the therapeutic action of *E.globulus*, is the steam bath (69.2%), followed by infusion (27.9%). An ethnobotanical survey conducted in Fez by (42) on four MAP families shows that infusion is the most practiced by the interviewees. As for *R. officinalis*, infusion (46.6%) is the most practiced preparation method, followed by decoction (29.7%). (16) together with (43) pointed out these same results. Phytotherapy is definitely the best approach in health medicine, focused as much on prevention as treatment (44). The most treated diseases by *Eucalyptus* are influenza (56.5%), followed by respiratory diseases (38.2%). Most rosemary usages treat influenza (28.2%) and disorders of the digestive duct (25.2%). However, the research (16) reports that rosemary is very valuable to respectively treat liver problems and digestive and abdominal disorders together with blood circulation (43). The data of the interviewees are based on the knowledge of ancestors (48.0%) and their families or their entourage (39.82%), which is consistent with other researches (36).

The yield and chromatographic profile

The *E. globulus* looked into provided a yield of 1.65 %, higher than that obtained (0.17%) by (45) and lower (2.53 %) than the results of (46) of the same species in the region of Moyancón in Ecuador and the region de Tizi Ouzou in Algeria. In parallel, *R. officinalis* has given a yield of 0.36 % rather low in comparison with when compared to that obtained by (35) as well as (47) valued respectively at 1.5 % and 1.03 % for the same species in Tunisia and Germany. This yield variance between the same species might be due to multiple biotic factors (the vegetation cycle, plant age, the growth stage and the part that is subjected to distillation). The analyzed *E. globulus* essential oil by CPG/SM reports a dominance of Aromandendrene (14.48 %), Ledol (12.24 %), Eucalyptol (10.46 %), α -Terpinylacetate (5.82 %) and Aromadendrene (5.35 %). Nonetheless, (30), who analyzed the essential oil of a similar species in Morocco observed an ascendancy of Estragole (28.14%), terpinolene (7.12%), the 1,4-hexadiene-methyl-3-(1-methylethylidene) (7.01%), linalool (5.54%) and furfural (4.66%). *Eucalyptus globulus* essential oil is best known for its expectorant and mucolytic properties associated with its high content of 1,8-cineole. Though it also has antiviral, antifungal, insecticidal and painkiller properties. Besides, the researched *R. officinalis* essential oil contains Eucalyptol (37.51%) and Camphor (11.70%). That is confirmed by (34). The *R. officinalis* of Tunisia was rich in eucalyptol (52.06 %) and camphor (7.67%). In Morocco, results of (30), illustrate the dominance of Camphor (31.16 %) and 2,4-Hexadiene, 3,4-dimethyl (9.08 %). Variety in the chemical composition of essential oils of the same plant species could be explained by the presence of volatile substances. The latter could undergo some modifications during distillation. The presence of Terpinen-4-ol, γ -Terpinene and terpinolene is not but a rearrangement of sabinene (48). During hydro-distillation, *E. globulus* and *R. officinalis* essential oils have been exposed to some modifications, which lead to the existence of multiple sabinene derivatives (48). In addition, the biotic factors have their own impacts on the chemical composition and final amount of essential oils from wild and cultivated plants such as temperature, altitude and sunshine.

Toxicity of essential oils

Some MAP essential oils can play the role of insecticide, larvicides or ovicide on some pest insects, though their different effects according to the type of insect or used plant (49-56).

Contact toxicity

Recorded lethal concentrations for *E. globulus* and *R. officinalis* were respectively $LC_{50} = 0,013 \mu\text{l}/\text{cm}^2$; $LC_{95} = 0,081 \mu\text{l}/\text{cm}^2$; $LC_{50} = 0,011 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ and $LC_{95} = 0,059 \mu\text{l}/\text{cm}^2$. Similarly, the lethal times values as the obtained results on *R. officinalis* essential oils indicate mortality of all *E. kuehniella* adults in relation to *E. globulus* essential oil, apart from the third concentration ($0,04 \mu\text{l}/\text{cm}^2$) where *E. globulus* was rated stronger than *R. officinalis* ($LC_{50} : 20,93 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ and $LC_{50} : 29,13 \mu\text{l}/\text{cm}^2$). Some findings on the same type of stored food pest *E. kuehniella* show a varied performance of this insect to plant species. (58) found an LC_{50} estimated at $0,61 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ using *Zataria* essential oil. Conversely, (58) tested *Mentha rotundifolia* essential oil on *E. kuehniella* adults and figured out an efficiency that exceeds that of the other analyzed essential oils, with an LC_{50} estimated at $0.004 \mu\text{l}/\text{cm}^2$.

Toxicity by fumigation

Toxicity was measured based on the LC_{50} obtained in our findings. Previous studies state that the adult longevity rate of *E. kuehniella* is disrupted after inhaling several varieties of essential oils of MAP. Several LC_{50} values were recorded and explained through the chemical characteristics of the tested essential oils. That is proved by (59) with *Pistacia lentiscus* essential oil ($LC_{50} = 1,84 \mu\text{l}/\text{l air}$) as well as *Ziziphora clinopodioides* essential oil where LC_{50} was around $1,39 \mu\text{l}/\text{l air}$ (60). Besides, (58) recorded some LC_{50} at $0,54 \mu\text{l}/\text{l air}$ and $2,91 \mu\text{l}/\text{l air}$ for *M. rotundifolia* et *M. communis* respectively. The work of (30) shows that *E. globulus* and *R. officinalis* essential oils are highly toxic compared with *Tribolium confusum* essential oils.

Toxicity by repulsion

Many studies on the repellent effect of different essential oils and natural extracts with respect to the lepidopteran *E. kuehniella*, confirm their efficiency. The behavior of *E. kuehniella* diverges according to

the extracted chemical component substances. In line with the protocol of (26), *Origanum vulgare* essential oil was considered as a reasonably repellent essential oil against adults of the same insect (15). Nevertheless, white *Artemisia herba alba* EO tested by (37) on larvae and *E.kuehniella* adults was classified in category 4 as repellent oil. As for *E.kuehniella* adults, the tests of (22) enable to classify the extract derived from the Laperrine's olive tree *Olea europea* in class 4 in respect of which the analyzed substance distinguishes itself by the repellent property towards adults and reasonably repellent against larvae of the same insect.

Conclusions

After investigating the data from the native people of 13 municipalities in El-Tarf, our findings show a female dominance interested in traditional phytotherapy and holds more information and knowledge passed on from ancestors. Moreover, traditional phytotherapy is the cheapest means money-wise. According to the citizens of this region, foliage is the richest part in therapy elements. The survey population shows a great affinity to both fresh and dry leaves for the preparation of remedies. The residents of the region of El-Tarf know the explored plants and their therapeutic modalities and trust the prerequisite knowledge using the two plants studied. People are thoroughly familiar with the healing properties since they use them for the same purposes. Steam baths were the most familiar preparations of *E.globulus* by the local inhabitants, whereas infusion was the most prevalent *modus operandi* for *R.officinalis*. The diseases treated by *E.globulus* are influenza and respiratory illnesses. On the other hand, *R.officinalis* is used to treat digestive duct disorders. The plants surveyed show a significant variation in essential oil quality. Based on CPG/SM results through the analysis of *E. globulus* essential oil, we figured out that alcohols are dominant throughout monoterpenes (42.73 %), sesquiterpenes (32.6 %) and oxide (10.48 %). Concurrently, *R.officinalis* essential oil is made up of oxides (38.11 %), monoterpene alcohols (20.43 %) and Monoterpenes (19.70%), followed by the existence of Ketones (13.53 %) and marked by the presence of phenols (1.11 %). The Insecticidal activity confirms to us that by further exposing *E.kuehniella* adults to different concentrations either by contact,

fumigation or repulsion, the statistic processing reveals the impact of essential oils of *E.globulus* and *R.officinalis*. The tested concentrations or doses, along with the exposure period, affect the increasing rate of insects' mortality. Contact toxicity brings out that at 48 hours from the test, no difference was reported in the mortality rise of *E.kuehniella* adults. Nevertheless, at 72 hours from the test, we have observed a major power in the rise in the mortality rate of the other *E.kuehniella* adults. Hence, the essential oils studied have the same efficiency in protecting the stored food from pests like *E.kuehniella*. In fine, our results indicate that the repellent properties increase in proportion to the concentration, exposure time and chemical characteristics of the tested natural substances. *E.globulus* essential oil has a moderately repellent property of 42.22% ($DR_{50}=0.09 \mu\text{l}/\text{cm}^2$; $DR_{95}=0.24 \mu\text{l}/\text{cm}^2$). On the other hand, *R.officinalis* essential oil has a repellent property of 60.00% ($DR_{50}=0.06 \mu\text{l}/\text{cm}^2$. $DR_{95}=0.35 \mu\text{l}/\text{cm}^2$). These findings open a new research track to explore in an effort to upgrade the mechanisms of molecular actions of these extracts. The plants studied may be a source of new molecules to safeguard human health, protect the environment and post-harvest food products.

Acknowledgments

We would like to thank Professor Alberto Basset for the access to the laboratory and research facilities at the Department of Biological and Environmental Sciences and Technologies (DiSTeBA) at Salento University.

We pay special regard to Dr. Zaafour Moncef for his help in confirming species.

The present work was supported by the General Directorate of Scientific Research and Technological Development-Algeria, from the Ministry of Higher Education and Scientific Research.

Interest conflict

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

1. Abidi J, Occhiuto C, Cimino F, Speciale A, Ruberto G, Siracusa L, Bouaziz M, Boumendjel M, Muscara C, Saija A, Cristani M. Phytochemical and biological characterization of

- methanolic extracts from *Rumex algeriensis* and *Rumex tunetanus*. Chemistry and Biodiversity. 2020; 17(8): e2000345. doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000345>
2. Ammar S, Abidi J, Vlad Luca S, Boumendjel M, Skalicka-Woźniak K, Bouaziz M. Untargeted metabolic analytical strategy based on RP-UHPLC–DAD-QTOF-MS and MS/MS for discovering new bioactive compounds in *Rumex algeriensis* flowers and stems. Phytochemical Analysis. 2020; 31(3): 01-20. doi: <https://doi.org/10.1002/pca.2928>
 3. Benabdallah A, Rahmoune M, Boumendjel M, Chokri M. Total phenolic content and antioxidant activity of six wild Mentha species (Lamiaceae) from Northeast of Algeria. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2016; 6(9): 930-935. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apitb.2016.06.016>
 4. Benabdallah A, Boumendjel M, Aissi O, Rahmoune M, Boussaid M, Chokri M. Chemical composition, antioxidant activity and acetylcholinesterase inhibitory of wild Mentha species from Northeastern Algeria. South African Journal of Botany. 2018; 116(C): 131-139. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.03.002>
 5. Benabdallah A, Betina S, Bouchentouf S, Boumendjel M, Bechkri S, Nicoli F, Vergine M, Negro C, De Bellis L. Chemical profiling, antioxidant, enzyme inhibitory and *in silico* modeling of *Rosmarinus officinalis* L. and *Artemisia herba alba* Asso. essential oils from Algeria. South African Journal of Botany. 2022; 147: 501-510. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.02.012>
 6. Berrouague S, Rouag M, Khaldi T, Boumendjel A, Boumendjel M, Taibi F, Messarah M. Efficacy of *Allium sativum* oil to alleviate tebuconazol-induced oxidative stress in the liver of adult rats. Cellular and Molecular Biology. 2019; 65(8): doi: <http://dx.doi.org/10.14715/cmb/2019.65.8.5>
 7. Boumendjel M, Bouchecker A, Feknous S, Taibi F, Rekioua N, Bouzeraa N, Chibi A, Feknous N, Baraoui A, N'har S, Toubal A, Taguida A, Zaidi H, Sekiou O, Bouziane I, Metai A, Bouaziz M, Benselhoub A, Boumendjel A, Messarah M. Adaptogenic activity of *Cinnamomum camphora*, *Eucalyptus globulus*, *Lavandula stoechas* and *Rosmarinus officinalis* essential oil used in North-African folk medicine. Cellular and Molecular Biology, 2021; 67(2):83-88. doi: <https://dx.doi.org/10.14715/cmb/2021.67.2.12>
 8. Djaber N, Ounaceur L.S, Moubine B.N, Khaldi T, Rouag M, Berrouague S, Amara H, Taibi F, Boumendjel M, Boumendjel A, Messarah M. Roundup-induced biochemical and histopathological changes in the liver and kidney of rats: ameliorative effects of *Linum usitatissimum* oil. Acta Biochimica Polonica. 2020; 67(01): 52-64. doi: https://doi.org/10.18388/abp.2020_2898
 9. Hamel T, Saadou S, Seridi R, Boukhdiri S, Boulemtafes A. Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'Edough (Nord-est algérien). Ethnopharmacologia, 2018 ; 59: 75-81.
 10. Khaldi T, Chekchaki N, Boumendjel M, Taibi F, Abdellaoui M, Messarah M, Boumendjel A. Ameliorating effects of *Nigella sativa* oil on aggravation of inflammation, oxidative stress and cytotoxicity induced by smokeless tobacco extract in an allergic asthma model in Wistar rats. Allergologia et Immunopathologia. 2018 ; doi: <https://doi.org/10.1016/j.aller.2018.02.005>
 11. Rouag M, Berrouague S, Djaber N, Taha K, Boumendjel M, Taibi F, Cherif A, Boumendjel A, Messarah M. Pumpkin seed oil alleviates oxidative stress and liver damage induced by sodium nitrate in adult rats: Biochemical and histological approach. African Health Sciences. 2020; 20(1): 413-425. doi: <https://dx.doi.org/10.4314/ahs.v20i1.48>
 12. Rouibah Z, Ben Mensour A, Rekik O, Boumendjel M, Taibi F, Bouaziz M, El Feki A, Messarah M, Boumendjel A. Chemical composition, antioxidant activities, in an allergic asthma model, of *Olea europaea* L. leaf extracts from Collo (Skikda, Algeria). Drug and Chemical Toxicology. 2019; 42(6): 559-664. doi: <https://doi.org/10.1080/01480545.2019.1679827>
 13. Slama K, Boumendjel M, Taibi F, Boumendjel A, Messarah M. *Atriplex halimus* aqueous extract abrogates carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity by modulating biochemical and histological changes in rats. Archives of Physiology and Biochemistry. 2018; 126(1):49-60. doi: <https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1489852>
 14. Slama K, Rouag M, Tichati L, Taibi F, Boumendjel M, Boumendjel A, Messarah M. Nephroprotective role and antioxidant capacity of *Atriplex halimus* on carbon tetrachloride-induced kidney damage in rats. Comparative Clinical Pathology. 2021; 30:75–87. doi: <https://doi.org/10.1007/s00580-021-03195-3>
 15. Taibi F, Boumendjel M, Zaafour M, Sekiou O, Khaldi T, Delimi A, Abdessmad S, Rebani H, Chnougga H, Siakhene N, Boumendjel A, Messarah M. Conservation of stored food using plant's extracts. Effect of oregano (*Origanum*

- vulgaris*) essential oil on the reproduction and development of flour moth (*Ephestia kuehniella*). Cellular and Molecular Biology. 2018; 64(10): 05-11. doi: <https://doi.org/10.14715/cmb/2018.64.10.2>
16. Lazli A, Beldi M, Ghouri L, Nouri N.H. Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d'El Kala,- Nord-est algérien). Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. 2019; 88: 22–43.
 17. Arfa AMT, Benderradji MEH, Saint-Gerand T, Alatou D. Cartographie du risque feu de forêt dans le Nord-est algérien : cas de la wilaya d'El Tarf. Cybergeo: European Journal of Geography , Environnement, Nature, Paysage. 2019; 28:01-08.
 18. Hamel T, Zaafour M, Boumendjel M. Ethnomedical Knowledge and Traditional Uses of Aromatic and Medicinal Plants of the Wetlands Complex of the Guerbes-Sanhadja Plain (Wilaya of Skikda in Northeastern Algeria). Herbal Medicine. 2018; 4(1):01-09. doi: <https://doi.org/10.21767/2472-0151.100035>
 19. Meddour R, Ouahiba S, Ouyessad M. Ethnobotanical survey on medicinal plants in the Djurdjura National Park and its influence area, Algeria. Ethnobotany Research and Applications. 2020; 46:1-25
 20. Rajadurai A. Phytotherapy is definitely the best approach in health medicine focused as much on prevention as to treatment. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2018; 12.
 21. Hassan M.Y, Attitalla I.H, Bahnasy H.B. The importance of medicinal herbs and the effective substances they contain in facing the emerging coronavirus (COVID-19) and their uses in our daily life. Int. J. Chem. and Lifesci. 2021; 10(4): 3725-3741.
 22. Lahcene S, Taibi F, Mestar N, Ali Ahmed S, Boumendjel M, Ouafi S, Houali K. Insecticidal effects of the *Olea europaea* subsp. *laperrinei* extract on the flour Pyralid *Ephestia kuehniella*. Cellular and Molecular Biology. 2018; 64(11): 06-12.
 23. Ismahane L, Khaoula BA, Rahim AA, Ibrahim M, Seghir MM, Ayoub H, Laid OM. Effect of two essential oils from the asteraceae family against ectomyelois ceratoniae zell. (lepidoptera, pyralidae): case of *Artemisia herba-alba* asso. and *Artemisia campestris* l. J. Bio-Sci. 2021; 29(2): 09-17.
 24. Isman M. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection, 2000; 19: 603-608.
 25. AFNOR. Recueil des normes françaises « Huiles essentielles ». 1986 ; Paris, AFNOR NFT75-006.
 26. Mc Donald L, Gyr H, Speire RD. Preliminary evaluation of new condiolate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. Agricultural Research Service. 1970; United State. Department of Agriculture, Washington. 183 p.
 27. Abbot WW. A method for computing the effectiveness of an insecticide. J. econ. Entomol. 1925; 18: 265-267.
 28. Finney DJ. Probit Analysis: 3d Ed. 1971; Cambridge University Press, London, p.38.
 29. Fisher RA, Yates F. Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical. Research. 5th edition, Olivier et Boyd. London, 1957; pp. 64-66.
 30. Ainane A, Benhima R, Khammour F, Elkouali M, Talbi M, Abba E.H, Cherroud S, Ainane T. Composition chimique et activité insecticide de cinq huiles essentielles: *Cedrus atlantica*, *Citrus limonum*, *Eucalyptus globules*, *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum*. Proceedings BIOSUNE'1. 2018 ; 67-79.
 31. Boukhatem MN, Boumaiza A, Mehdi Rajabi HN, Moussa S. *Eucalyptus globulus* essential oil as a natural food preservative: antioxidant, antibacterial and antifungal properties *in vitro* and in a Real Food Matrix (Orangina fruit juice). MDPI. Applied Sciences. 2020 ; 10: 5581
 32. Göger G, Karaca N, Altınbaşak B, Demirci B, Demirci F. *In vitro* antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory evaluation of *Eucalyptus globulus* essential oil. Natural Volatiles, Essential Oils. 2020; 7(3): 01-11.
 33. Krzyzowski M, Baran B, Łozowski B, Francikowski J. The Effect of *Rosmarinus officinalis* essential oil fumigation on biochemical, behavioral, and physiological parameters of *Callosobruchus maculatus*. MDPI. Insects. 2020; 111:344.
 34. Aouadi M, Sebai E, Saratsis A, Kantzoura V, Saratsi K, Msaada K, Sotiraki S, Akkari H. Essential oil of *Rosmarinus officinalis* induces *in vitro* anthelmintic and anticoccidial effects against *Haemonchus contortus* and *Eimeria* spp. in small ruminants. Vet Med-Czech. 2021 ; (66): 146–155.
 35. Aouadi G. Etude Ethnobotanique et Screening Phytochimique en vue d'une recherche antimicrobienne et antioxydante de quatre plantes médicinales de la flore Algérienne (La Ronce, le Myrte, l'arbousier et la Menthe à feuille ronde) dans la région d'Annaba et d'El Tarf. Doctorat es-Science. Département

- d'agronomie. 2021 ; Université Chadli Bendjedid, El Tarf. 188p.
36. Alaoui A, Laaribya S. Etude ethnobotanique et floristique dans les communes rurales Sehoul et Sidi Abderrazak (cas de la Maamora-Maroc Septentrional) algérienne. *Nature, Technology Journal*. Vol. B : Agronomic, Biological Sciences, 2017 ; 17:15-24.
 37. Delimi A, Taibi F, Bouchelaghem S, Boumendjel M, Hennouni-Siakhehene N, Chefrou A. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil of *Artemisia herba alba* (Asteraceae) against *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *International Journal of Biosciences*. 2017; Online: <http://www.innspub.net>
 38. Baba Aissa F. Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb). Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed. Edas. 1999 ; Alger. 368 p.
 39. Hachi M, Hachi T, Belahbib N, Dahmani J, Zidane L. Contribution to the study and floristic ethnobotany flora medicinal use at the city of Khenifra (Morocco). *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 2015 ; 11(3): 754-770.
 40. Daoudi A, Bammou M, Zarkani S, Slimani I, Ibijbijen J, Nassiri L. *Phytothérapie*. 2016; 14: 220–228.
 41. Salhi S, Fadli M, Zidane L, Douira A. Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*. 2010 ; 31: 133-146.
 42. Mikou K, Rachiq S, Oulidi A.J, Beniaich G. Étude ethnobotanique des plantes médicinales et aromatiques utilisées dans la ville de Fès au Maroc. *Phytothérapie*. 2015; 1-9. doi : <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0965-8>
 43. Bouayyadi L, El Hafian M, Zidane L. Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale dans la région du Gharb, Maroc. *Journal of Applied Biosciences*. 2015 ; 93: 8760–8769.
 44. Rombi M, Robert D. Le dictionnaire des plantes médicinales. Alpen Ed. Monaco. 2015 ; 824 p.
 45. Pino JA, Moncayo-Molina L, Spengler I, Pérez JC. Chemical composition and antibacterial activity of the leaf essential oil of *Eucalyptus globulus* Labill. from two highs of the canton Cañar, Ecuador. *CENIC Cienc. Quím*. 2021; 52 (1): 026-033.
 46. Harkat-Madouri L, Asma B, Madani K, Bey-Ould Si Said Z, Rigou P, Grenier D, Allalou H, Remini H, Adjaoud A, Boulekbache-Makhlouf L. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Ind. Crop. Prod*. 2015; 78: 148–153.
 47. Rašković A, Milanović I, Pavlović N, Čebović T, Vukmirović S, Mikov M. Antioxidant activity of rosemary *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2014; 14:225.
 48. Keszei A, Brubaker C.L, Carter R, Kollner T, Degenhardt J. Functional and evolutionary relationships between terpene synthetases from Australian Myrtaceae. *Phytochemistry* 2010; 71: 844–852.
 49. Ischayaa E, Kostjukovski M, Eillerg J, Sukprakarm, C. Plant oils as fumigants and contact insecticide for the control of stored-product insects. *Journal of stored product research*. 1997 ; 4: 01-08.
 50. Sekou M.K, Vincent C, Schmit J-P, Ramaswamy S, Belanger A. Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Products Research*, 2000; 36: 355-364.
 51. Ngassoum MB, Ngamo TLS, Maponmetsem PM, Jirovertz L, Buchbauer G. Investigation of medicinal aromatic plants from Cameroon: GC/FID, 253 GC/MS and olfactoric analyses of essential oils *Ocimum suave* Willd. (Lamiaceae). *Acta Pharmaceutica Turcica*. 2003; 45:69-75.
 52. Sékou MK, Sidibe L, Figueredo G, Chalchat JC. Chemical composition of the essential oil of *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Ch. From Mali. *Journal of Essential Oil Research*, 2001; 15 (4): 267-269
 53. Ngamo TLS, Ngassoum MB, Jirovertz L, Ousman A, Nukenine EC, Moukala O. Protection of stored maize against *Sitophilus zeamals* (Motsch.) by use of essential oils of spices from Cameroon. *Medlinden Faculteit Landbouww Universiteit Gent*, 2001; 6612a: 473-478.
 54. Kim SI, Roh JY, Kim DH, Lee HS, Ahn YJ. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *J Stored Products Res*. 2003; 39: 293–303.
 55. Lee BH, Lee SE, Annis PC, Pratt SJ, Park BS, Tumaalii F. Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. *J Asia-Pacific Entomol*. 2002; 5(2): 237–240.
 56. El idrissi M, Elhourri M, Amechrouq A, Boughdad A. Étude de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Dysphania ambrosioïdes* L. (Chenopodiaceae) sur *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of materials and environmental science*. 2014 ; 5(4): 989-994.

57. Emamjomeh L, Imani O, Talebi K, Moharramipour S, Larijani K. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. (Lamiaceae) against *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). European Journal of Experimental Biology. 2014; 4(3):253-257.
58. Aouadi G, Haouel S, Soltani A, Ben Abada M, Boushah A, Elkahoul S, Taibi F, Mediouni Ben Djamaa J, Benaadja S. Screening for insecticidal efficacy of two Algerian essential oils with special concern to their impact on biological parameters of *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Plant Diseases and Protection. 2020 ; 127: 471–482.
59. Bachrouch O, Mediouni-Ben Jemâa J, Wissem A.W, Talou T, Marzouk B, Abderraba M. Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Stored Product Research, 2010; 46(4): 242–247.
60. Kheirkhah M, Ghasemi V, Yazdi A.K, Rahban S. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil from *Ziziphora clinopodioides* Lam. used against the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. Journal of Plant Protection Research. 2015; 55(3): 260-265.