

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR-
ANNABA

جامعة باجي مختار -
عنابة



FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE D'EXCELLENCE DE BIOLOGIE ANIMALE
APPLIQUÉE

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat LMD
Domaine : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES
Spécialité : BIOLOGIE ANIMALE
Intitulé

**Efficacité des huiles essentielles de quelques plantes
aromatiques et médicinales utilisées pour des activités
biologiques, physiologiques et médicales : extraction, analyse et
valorisation.**

Présentée par : M^{me} GRINE Sara

Directrice de thèse : Pr TAIBI F Université Badji Mokhtar- Annaba

Co-Directrice de thèse : Pr BERREDJEM M Université Badji Mokhtar Annaba

Devant un jury composé de :

Pr DAAS T	Président	Université Badji Mokhtar Annaba
Pr AKKAL S	Examineur	Université Mentouri Constantine 1
Pr BERGHICHE H	Examinatrice	Université Badji Mokhtar Annaba
Pr HAMAIDIA K	Examinatrice	Université Cherif Messaidia Souk-Ahras

Année universitaire : 2023-2024

Remerciements

Mes premiers remerciements vont à **Allah**, le majestueux, le tout puissant et le très miséricordieux, qui m'a octroyé la force, la puissance et beaucoup de courage pour accomplir cette thèse.

Mes sincères remerciements vont à l'Ex-Directeur du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, **Pr SOLTANI Nouredine**, de nous avoir accueillis dans son laboratoire d'excellence avant de passer la main au **Pr BOUDJELIDA Hamid**, que je remercie de nous avoir accompagnés jusqu'à l'accomplissement de notre formation doctorale.

À mes chères Directrices de thèse **M^{me} TAIBI Faiza** (Professeur en Biologie, Université Badji Mokhtar, Annaba) et **M^{me} BERREDJEM Malika** (Professeur en chimie, Université Badji Mokhtar, Annaba), je ne vous remercierai jamais assez. Vous étiez toujours à mes côtés. Vos conseils, vôtres aides et surtout vos encouragements ont été le flambeau qui a éclairé mon chemin vers la recherche.

J'adresse toute ma reconnaissance à **M. DAAS Tarek** (Professeur en Biologie, Université Badji Mokhtar, Annaba) pour l'honneur qu'il nous a fait de présider le jury.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude envers les examinateurs, **M^{me} HAMAIDIA Kaouther** (Professeur en Biologie, Université Mohamed Cherif Messaidia, Souk-Ahras), **M. AKKAL Salah** (Professeur en Phytochimie, Université Frère Mentouri Constantine 1), et **M^{me} BERGHICHE Hinda** (Professeur en Biologie, Université Badji Mokhtar, Annaba). Merci d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Une pensée très spéciale à l'équipe de Phytochimie, **M^{me} ACIDI Anissa**, **M^{me} RIZI Aicha**, **M^{me} BOUASLA Radia** (MCA, Université Badji Mokhtar, Annaba) et **M^{me} OTMANE-RACHEDI Khadidja** (MCB, Université Chadli Ben-Djedid, El Tarf), Qu'elles veuillent acceptées toute ma gratitude.

Je tiens également à remercier toutes personnes qui m'ont ouvert leur porte pour accomplir mon travail. En tête de liste **M^{me} MEDIOUNI BEN-JEMAA Jouda** (Professeur à l'Institut National de la Recherche Agronomique, Tunisie); **M^{me} BENALIOUCHE Fouzia** (Docteur en Biologie et Directrice de l'Institut National de la Protection des Végétaux); **M^{me} KIRKIN Celale** (Professeur, Université Technique d'Istanbul-Turquie); **M^{me} SERIDI Ratiba** (Professeur en Biologie et Directrice du Laboratoire de Biologie Végétale et Environnement); **M. BOUMENDJEL Mahieddine** (Professeur en Biochimie, Laboratoire de Biochimie et Toxicologie Environnementale); **M^{me} HAMI Manel** (MCB en Biologie, Université 8-mai-1945, Guelma) **M^{me} BENZAID Chahrazed** (MCA en Biologie, Université Badji Mokhtar, Annaba); **M^{me} BOUKHEDIR Sameh** (MAA, Université Badji Mokhtar, Annaba) et **M^{me} SAADOU** (MCA, Université Badji Mokhtar, Annaba).

J'adresse également mes remerciements à l'équipe du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, Enseignants, Doctorants ou Ingénieurs.

Enfin, un merci tout particulier à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail, de près ou de loin sans oublier ma chère **M^{lle} DJENDI Manel-Lina**.

Dédicaces

Ma mère chérie, votre vœu est exaucé! Dieu sait combien vous avez prié pour nous, pour que vos enfants grandissent et atteignent leur objectif. J'ai grandi maman et j'ai réalisé mon rêve qui était essentiellement le vôtre! Merci maman chérie.

À mon père, vous avez tellement rêvé que votre fille devienne Docteur, vous avez cru en moi, vous le dites et le redites, Sara est capable, je n'ai pas peur pour elle ! Merci Papa, Merci pour votre confiance, votre soutien et surtout vos prières.

À mon mari chéri, rien au monde ne vaut votre soutien et aucun mot n'exprime ma gratitude.

Vous étiez le pilier sur lequel je m'appuyais! Merci chéri.

À ma sœur, ma chérie, ma meilleure moitié, t'es le soleil de ma vie !.

À mon frère, mon bonheur, merci d'être toujours à mes côtés.

À mes chers Dana & Akram, vous êtes ma force. Je vous aime jusq'à lune et aux étoiles!

À mon beau père, vous ne cessez jamais de me motiver! Un grand Merci pour votre soutien.

Et enfin, à tous ce que j'aime et qui m'aiment! C'est à vous que je dédie ce travail.

Sommaire

Introduction générale	1
------------------------------------	----------

Chapitre 1. Monographie des plantes étudiées.

1. Introduction	5
2. Matériel et méthodes	7
2.1. Présentation des plantes étudiées.....	7
2.1.1. <i>Pelargonium graveolens</i>	7
2.1.2. <i>Salvia officinalis</i>	8
2.2. Site de récolte.....	9
2.3. Histologie végétale.....	10
2.4. Extraction des huiles essentielles et calcul du rendement.....	12
2.5. Analyse physico-chimique et organoleptique.....	13
2.6. Analyse phytochimique.....	13
2.7. Analyse chromatographique.....	14
2.7.1. Chromatographie sur couche mince.....	14
2.7.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	15
2.8. Analyse statistique.....	16
3. Résultats et interprétation	17
3.1. Détermination des structures anatomiques des plantes.....	17
3.1.1. Structure anatomique de <i>Pelargonium graveolens</i>	17
3.1.2. Structure anatomique de <i>Salvia officinalis</i>	19
3.2. Détermination du rendement d'extraction des huiles essentielles.....	23
3.3. Détermination des caractéristiques organoleptiques et physico-chimique des HE.....	24
3.4. Détermination des familles phytochimiques par screening	25
3.5. Détermination de la composition chimique des huiles essentielles.....	26
3.5.1. Par chromatographie sur couche mince.....	26
3.5.2. Par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse.....	26
4. Conclusion	31

Chapitre 2. Évaluation du potentiel insecticide.

1. Introduction	32
2. Matériel et méthodes	35
2.1. Présentation du matériel biologique.....	35
2.1.1. <i>Tribolium castaneum</i>	35
2.1.2. <i>Ephestia kuehniella</i>	38
2.2. Lutte contre <i>Tribolium castaneum</i> avec l'HE de <i>Salvia officinalis</i>	41
2.2.1. Lutte avec l'huile essentielle brute.....	41
2.2.1.1. Toxicité par fumigation	41
2.2.1.2. Test de répulsion.....	42
2.2.1.3. Test anti-appétant.....	43
2.2.2. Lutte avec l'HE en formulation.....	44
2.2.2.1. Préparation de la formulation argile-huile essentielle.....	44
2.2.2.2. Toxicité par fumigation de l'HE en formulation.....	45
2.2.2.3. Test de répulsion par l'HE en formulation.....	45
2.3. Lutte contre <i>Ephestia kuehniella</i> avec l'huile essentielle de <i>Pelargonium graveolens</i>	45
2.3.1. Potentiel reproducteur.....	46
2.3.2. Morphométrie des ovaires	46
2.3.3. Extraction et dosage des vitellines	47
3. Résultats	48
3.1. Effet toxique de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> par fumigation sur des adultes de <i>Tribolium castaneum</i>	48
3.2. Effet répulsif de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> contre <i>Tribolium castaneum</i>	49
3.2.1. Détermination des pourcentages de répulsion.....	49
3.2.2. Détermination de la dose répulsive médiane DR ₅₀	50
3.3. Effet anti-appétant de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> contre des adultes de <i>Tribolium castaneum</i>	51
3.3.1. Effet sur les indices de nutrition et de dissuasion alimentaire.....	51
3.3.2. Effet sur la perte de poids.....	51
3.4. Effet de la formulation Argile-HE sur des adultes de <i>Tribolium castaneum</i>	52
3.4.1. Effet fumigant de la formulation.....	52
3.4.2. Effet répulsif de la formulation.....	53

3.5. Effet de l'HE de <i>P. graveolens</i> sur le potentiel reproducteur d' <i>Ephestia kuehniella</i>	53
3.5.1. Effet sur le développement nymphal.....	53
3.5.2. Effet sur les périodes de pré-oviposition et d'oviposition.....	54
3.5.3. Effet sur la fécondité des femelles.....	55
3.6. Effet de l'HE de <i>P. graveolens</i> sur la morphométrie.....	55
3.6.1. Effet sur le poids des ovaires.....	56
3.6.2. Effet sur le nombre d'ovocytes.....	56
3.6.3. Effet sur la longueur et la largeur de l'ovocyte basal.....	57
3.6.4. Effet sur le volume de l'ovocyte basal.....	57
3.7. Effet de l'HE de <i>P. graveolens</i> sur la teneur en vitellines dans les ovaires.....	57
4. Discussion.....	59
5. Conclusion.....	67

Chapitre 3. Évaluation du potentiel antimicrobien.

1. Introduction.....	68
I. Activité antifongique	
I.2. Matériel et méthodes.....	70
I.2.1. Présentation du matériel biologique.....	70
I.2.2. Présentation du fongicide chimique.....	70
I.2.3. Présentation du milieu de cultures.....	71
I.2.4. Évaluation du pouvoir antifongique des huiles essentielles.....	71
I.2.4.1. Détermination du taux d'inhibition de la croissance mycélienne.....	71
I.2.4.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	72
I.3. Résultats.....	74
I.3.1. Effet antifongique des HE's sur la croissance mycélienne.....	74
I.3.1.1. Détermination des taux d'inhibition.....	76
I.3.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	77
I.4. Discussion.....	78

II. Activité antibactérienne

II.2. Matériel et méthodes	80
II.2.1. Présentation du matériel biologique.....	80
II.2.1.1. Prélèvement, purification et identification.....	80
II.2.1.2. Préparation de l'inoculum.....	80
II.2.1.3. Ensemencement des bactéries.....	81
II.2.2. Matériel chimique.....	81
II.2.2.1. Milieux de cultures utilisés.....	81
II.2.2.2. Antibiotiques testés.....	82
II.2.2.3. Solvant utilisé pour l'étude antibactérienne.....	82
II.2.3. Évaluation de la sensibilité des microorganismes.....	82
II.2.3.1. Évaluation de la sensibilité des microorganismes vis-à-vis les antibiotiques, Antibiogramme.....	82
II.2.3.2. Évaluation de la sensibilité des microorganismes vis-à-vis les essences naturelles, Aromatogramme.....	82
II.2.3.3. Évaluation de la sensibilité des microorganismes complexes par inhibition de la formation du biofilm.....	83
II.3. Résultats	85
II.3.1. Détermination de la sensibilité bactérienne au antibiogramme.....	85
II.3.2. Détermination de la sensibilité bactérienne à l'aromatogramme.....	86
II.3.2.1. Détermination des diamètres d'inhibition.....	86
II.3.2.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices.....	87
II.3.3. Inhibition du Biofilm.....	88
II.4. Discussion	89
5. Conclusion	92

Chapitre 4 : Étude *in silico*, Docking & Dynamique moléculaires, ADMET

Introduction	93
1. Docking moléculaire	94

2. Dynamique moléculaire.....	98
3. ADME-T.....	102
Conclusion.....	106
Conclusion générale.....	107
Références bibliographiques	109
Résumés.....	135

Table des matières

LISTE DES FIGURES

Figure 1. <i>Pelargonium graveolens</i> (L'hér, 1789).....	8
Figure 2. <i>Salvia officinalis</i> L.....	9
Figure 3. Sites de récolte des plantes étudiées.....	10
Figure 4. Réalisation des coupes histologiques.....	11
Figure 5. Préparation des colorants.....	11
Figure 6. Extraction par hydrodistillation à l'aide d'un appareil Clevenger.....	13
Figure 7. Chromatographie sur couche mince.....	15
Figure 8. Principe du fonctionnement de la CPG-SM.....	16
Figure 9. Observation microscopique (×10) de poils tecteurs et sécréteurs insérés sur l'épiderme de <i>P. graveolens</i>	17
Figure 10. Observation microscopique (×40) d'une stomate anomocytique.....	17
Figure 11. Coupe transversale de la feuille de <i>P. graveolens</i> (×10)	18
Figure 12. Coupe transversale de la tige de <i>P. graveolens</i> (×10)	19
Figure 13. Coupe transversale au niveau de la nervure principale de la feuille de <i>S. officinalis</i> (×10).....	19
Figure 14. Coupe transversale de la tige de <i>S. officinalis</i> (×10).....	20
Figure 15. Structures 2D des composés majoritaires des huiles essentielles de <i>P. graveolens</i> et de <i>S. officinalis</i>	28
Figure 16. Chambre d'élevage d'insectes (T= 27°C et une humidité relative de 70%).....	35
Figure 17. <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst, 1797).....	36
Figure 18. Morphologie d'un adulte de <i>T. castaneum</i>	37
Figure 19. Cycle de vie de <i>Tribolium castaneum</i>	37
Figure 20. Nymphe de <i>Tribolium castaneum</i>	38

Figure 21. Papilles génitales chez la femelle de <i>T. castaneum</i>	38
Figure 22. Semoule infestée par <i>Ephestia kuehniella</i>	39
Figure 23. <i>Ephestia kuehniella</i>	40
Figure 24. Cycle de vie de l'espèce <i>Ephestia kuehniella</i>	40
Figure 25. Distinction des mâles et femelles au stade larvaire d' <i>Ephestia kuehniella</i>	41
Figure 26. Test de fumigation à l'HE brute contre les adultes de <i>Tribolium castaneum</i>	42
Figure 27. Accouplement des adultes de l'espèce <i>Ephestia kuehniella</i>	46
Figure 28. Pourcentage de mortalité des adultes de <i>Tribolium castaneum</i> exposés à différentes doses de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> au cours du temps (h).....	48
Figure 29. Pourcentage de répulsion (%) de l'insecte <i>T. castaneum</i> au cours du temps (h), attribué à la classe répulsive correspondante.....	50
Figure 30. Pourcentage de perte et/ou de prise de poids chez les adultes de <i>T. castaneum</i>	52
Figure 31. Pourcentage de mortalité des adultes de <i>T. castaneum</i> exposés à différentes concentrations de la formulation Argile-HE.....	52
Figure 32. Effet répulsif de la formulation argile-HE contre des adultes de <i>T. castaneum</i>	53
Figure 33. Effet de l'HE de <i>P. graveolens</i> administrée par application topique sur des chrysalides d' <i>E. kuehniella</i> nouvellement exuvies, sur la période de développement nymphal.....	54
Figure 34. Effet de l'HE de <i>P. graveolens</i> administrée par application topique sur des chrysalides d' <i>E. kuehniella</i> nouvellement exuvies, sur les périodes de pré-oviposition et d'oviposition.....	54
Figure 35. Effet de l'HE de <i>P. graveolens</i> administrée par application topique sur des chrysalides d' <i>E. kuehniella</i> nouvellement exuvies, sur la fécondité des femelles.....	55
Figure 36. Étude morphométrique. A : Dissection. B : Extraction de l'ovaire. C : Détermination du N° d'ovocytes. D : détermination des dimensions de l'ovocyte basal.....	56

Figure 37. Souche fongique, <i>Fusarium solani</i> , isolée des agrumes.....	70
Figure 38. Fongicide chimique AGRICONAZOLE 25% EC.....	70
Figure 39. Milieu de culture Gélose Sabouraud.....	71
Figure 40. Ensemencement des boites de Pétri.....	72
Figure 41. Détermination de la CMI en milieu liquide.....	73
Figure 42. Croissance mycélienne pour les différentes concentrations de l'HE de <i>P. graveolens</i>	74
Figure 43. Croissance mycélienne pour les différentes concentrations de l'HE de <i>S. officinalis</i>	75
Figure 44. Croissance mycélienne dans les boites témoins (T- : sans traitement ; T+ : traitement chimique).....	75
Figure 45. Effet des huiles essentielles de <i>P. graveolens</i> et de <i>S. officinalis</i> sur la croissance mycélienne (cm) du <i>F. solani</i>	76
Figure 46. Effet des huiles essentielles de <i>P. graveolens</i> et de <i>S. officinalis</i> sur le taux d'inhibition (%) du champignon <i>F. solani</i>	77
Figure 47. Mesure de l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre.....	81
Figure 48. Ensemencement des bactéries à l'aide d'un écouvillon.....	81
Figure 49. Diamètres de zones d'inhibition.....	86
Figure 50. Taux d'inhibition de la formation du biofilm.....	88
Figure 51. Principe du docking moléculaire.....	94
Figure 52. Interface de la base de donnée Protein Data Bank.....	95
Figure 53. Interactions et sites de liaisons des composés de l'HE avec la cible biologique. (A: citronellol, B: citronellyl formate, C: isomenthone, D: geranyl formate, E: phenyl-ethyl tiglate).....	96
Figure 54. Écart quadratique moyen (RMSD) des atomes de la protéine et du ligand (protéine-citronellol) en fonction du temps.....	99

Figure 55. Écart quadratique moyen (RMSD) des atomes de la protéine et du ligand (protéine-isomenthone) en fonction du temps.....	100
Figure 56. Fluctuation quadratique moyenne des résidus (RMSF) de la protéine-citronellol.....	100
Figure 57. Fluctuation quadratique moyenne des résidus (RMSF) de la protéine-isomenthone.....	101
Figure 58. Boiled Egg des molécules majoritaires des HE étudiées.....	105

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Pourcentage du rendement des huiles essentielles extraites.....	23
Tableau 2. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles étudiées.....	24
Tableau 3. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles étudiées.....	25
Tableau 4. Screening phytochimique des extraits de <i>P. graveolens</i> et <i>S. officinalis</i>	25
Tableau 5. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>P. graveolens</i>	26
Tableau 6. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i>	27
Tableau 7. Les différentes classes répulsives selon McDonald <i>et al.</i> (1970).....	43
Tableau 8. Valeurs des concentrations létales (CL ₅₀ , CL ₉₀) de l'HE de <i>S. officinalis</i> contre des adultes de <i>T. castaneum</i> exposés par fumigation.....	49
Tableau 9. Valeurs des temps létaux (TL ₅₀ , TL ₉₀) de l'HE de <i>S. officinalis</i> contre des adultes de <i>T. castaneum</i> exposés par fumigation.....	49
Tableau 10. Dose répulsive médiane DR ₅₀	50
Tableau 11. Indices de nutriments pour les adultes de <i>T. castaneum</i> traités avec différentes concentrations de l'HE de <i>S. officinalis</i>	51
Tableau 12. Effet de l'HE de <i>P. graveolens</i> administré par application topique sur des chrysalides femelles nouvellement exuvies sur le poids de leurs ovaires.....	56
Tableau 13. Effet de l'HE de <i>P. graveolens</i> administré par application topique sur des chrysalides femelles nouvellement exuvies sur le nombre d'ovocytes.....	57
Tableau 14. Effet de l'HE de <i>P. graveolens</i> administré par application topique sur des chrysalides femelles nouvellement exuvies sur la longueur et la largeur de l'ovocyte basal.....	57
Tableau 15. Effet de l'HE de <i>P. graveolens</i> administré par application topique sur des chrysalides femelles nouvellement exuvies sur le volume de l'ovocyte basal.....	57
Tableau 16. Effet de l'HE de <i>P. graveolens</i> sur la teneur en vitellines dans les ovaires d' <i>E. kuehniella</i>	58

Tableau 17. Effet des concentrations des huiles essentielles de <i>P. graveolens</i> et de <i>S. officinalis</i> sur la croissance mycélienne (cm) du <i>F. solani</i> (n=3, m±sd).....	75
Tableau 18. Effet des huiles essentielles de <i>P. graveolens</i> et de <i>S. officinalis</i> sur le taux d'inhibition (%) du champignon <i>F. solani</i>	76
Tableau 19. Concentration Minimale Inhibitrice (µl/ml).....	77
Tableau 20. Microorganismes utilisés pour l'étude antibactérienne.....	80
Tableau 21. Catégorie de sensibilité des microorganismes vis-à-vis des huiles essentielles.....	83
Tableau 22. Sensibilité des souches bactériennes à l'antibiogramme.....	85
Tableau 23. Résultats en diamètres d'inhibition de l'aromatogramme de <i>P. graveolens</i> et <i>S. officinalis</i>	86
Tableau 24. Valeurs des concentrations minimales inhibitrices pour les huiles essentielles de <i>P. graveolens</i> et <i>S. officinalis</i>	87
Tableau 25. Valeurs des docking scores (Kcal/mol) des différents composés ainsi que de la référence.....	97
Tableau 26. Propriétés ADME-T des molécules majoritaires des huiles essentielles.....	102

LISTE DES ABRÉVIATIONS

INPV: institut national de la protection des végétaux

INRAT: institut national de la recherche agronomiques, Tunisie

DL: dose létale

CL: concentration létale

TL: temps léthal

OMS: organisation mondiale de la santé

FAO: food and agriculture organization

CCM : chromatographie sur couche mince

CPG-SM : chromatographie sur phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

HE : huile essentielle

AFNOR : association française de normalisation

UV : ultra-violet

CRAPC : centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimique

CCG : Commission canadienne des graines

NCBI : Centre National d'Information sur la Biotechnologie

PR : pourcentage de répulsion

DR : dose répulsive

RGR: relative growth rate

RCR: relative consumption rate

ECI: effeciency of conversion of ingested food

FDI : feeding deterrence index

WL : weight loss

BBC : bleu brillant de coomassie

DMSO : diméthylsulfoxyde

CLSI: clinical and laboratory standars institute

AMC: amoxicilline + acide clavulanique

CIP: ciprofloxacine

CTX: céfotaxime

SXT: triméthoprimé-sulfaméthoxazole

IPM: imipénème

GM: Gentamicine

ATM: aztréonam

CAZ: ceftazidime

E: érythromycine

P: benzylpénicilline

VA: vancomycine

AMP: ampicilline

AX: amoxicilline

ADMET : Absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité

RMSD: Root mean square deviation

RMSF: root mean square fluctuation

Introduction générale

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Depuis l'aube de l'humanité, des remèdes traditionnels à base de produits naturels ont été développés à partir des plantes médicinales, principalement à des fins thérapeutiques. En effet, le terme "plante médicinale" désigne toute plante contenant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, d'atténuer ou de guérir une maladie (Schauenberg & Paris, 2006). Cette coutume s'est transmise de génération en génération et de nombreuses plantes sont utilisées jusqu'à présent compte tenu de leur efficacité et de leur disponibilité dans différentes régions du monde (Farrag *et al.*, 2019 ; El Newary *et al.*, 2021). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) environ 80 % de la population mondiale dépend des plantes médicinales pour satisfaire les besoins en matière de soins et de santé (OMS, 2019). Le nombre de plantes utilisées, est estimé entre 40 000 à 70 000 (Verpoorte *et al.*, 2006; Jütte *et al.*, 2017; Anand *et al.*, 2022), ce qui en fait une source majeure de biomolécules utilisées dans le domaine médical (Halder *et al.*, 2021 ; Khare *et al.*, 2021 ; Tandon *et al.*, 2021 ; Anand *et al.*, 2022). Ainsi, 25 % de produits pharmaceutiques sont issus de plantes, ce qui souligne l'importance des dérivés végétaux (Anand *et al.*, 2019 ; Anand *et al.*, 2022).

Plus récemment, l'utilisation des plantes, notamment les plantes aromatiques, s'est développée pour lutter contre tout agent nocif, présentant un risque pour la sécurité humaine. De plus, outre la fabrication des produits pharmaceutiques biomédicaux à base d'extraits de plantes, ces derniers sont également exploités en agriculture, dans le cadre de la préservation de la sécurité alimentaire. En effet, l'utilisation de bio-pesticides ou de pesticides verts à base de plantes a connu un essor remarquable ces derniers temps. En tant qu'un produit thérapeutique, antimicrobien ou pesticide, les plantes garantissent toujours leurs efficacités, en répondant à une variété de besoin avec plusieurs sortes de produits extraits. Par ailleurs, de nouvelles techniques d'extraction ont révolutionné le criblage des plantes (Uysal *et al.*, 2018) et ont offert la possibilité d'obtenir des extraits de plantes potentiellement riches en composés actifs. Ces derniers, interagissent plus efficacement contre le nuisible à une période plus longue qu'un composé unique et avec un large éventail de mécanismes d'action en raison de leurs complexités structurales (Das *et al.*, 2021 ; Anand *et al.*, 2022).

À cet égard, la demande de produits naturels s'est intensifiée, non seulement pour leur efficacité et leur biodégradabilité, mais aussi pour remplacer les produits chimiques qui affectent tous les écosystèmes sans exception et donc même les organismes non-ciblés (Anguiano-Cabello *et al.*, 2023). À cette fin, la valorisation des plantes et l'exploitation de

nouvelles molécules végétales dans un contexte holistique, sont devenues une nécessité primordiale pour faire face aux différents agents nuisibles.

L'Algérie, avec sa grande biodiversité floristique, est l'un des rares pays à posséder une telle richesse végétale. De la Méditerranée au désert, elle possède une variété considérable d'espèces végétales. En 1963, [Quézel](#) et [Santa](#) recensaient plus de 3000 espèces, tandis que [Dobignard](#) et [Chatelain](#) en ont récemment dénombré plus de 4 500, réparties entre taxons endémiques et taxons introduits ([Dobignard & Chatelain, 2013](#)). L'une des familles bien représentées dans la flore algérienne est celle des Lamiacées, qui occupe la cinquième place en terme de nombre d'espèces (184 espèces, dont 19 endémiques). Cette famille présente également un grand intérêt économique pour la production d'huiles essentielles, qui jouent un rôle crucial en aromathérapie. Outre les propriétés pharmacologiques, ces plantes sont également utilisées comme arbustes ornementales, grâce à leurs belles feuilles oblongues et veloutées. En ce qui concerne les plantes ornementales, la famille des Geraniaceae figure en tête de liste, avec ses différentes espèces de fleurs multicolores. Les espèces de ces deux familles sont hautement considérées comme des plantes aromatiques et médicinales, qui ont attiré l'attention des chercheurs, non seulement au niveau national, mais aussi au niveau mondial, afin de les valoriser et de déterminer leurs diverses propriétés. Cependant, la plupart des recherches se sont concentrées sur l'étude des effets des plantes et de leurs extraits à différentes échelles, mais le mécanisme d'action reste ambigu. C'est à ce niveau, qu'intervient la chimie computationnelle.

Au cours des deux dernières décennies, le développement de la chimie computationnelle a été façonné par l'innovation technologique. L'intérêt porté pour ses méthodes a considérablement explosé, apportant des avantages à de nombreux domaines, en particulier le trio biologie-médecine-pharmacie. En outre, la chimie computationnelle a introduit un nouveau terme, le criblage virtuel, qui a été définie en premier temps comme une évaluation automatique d'un très grand nombre de composés à l'aide des programmes informatiques ([Walters et al., 1998](#)). Par ailleurs, il a été désormais, une méthode d'identification de nouveaux produits ayant une activité biologique, conduisant finalement à la conception d'un médicament ([Ekins et al., 2007](#) ; [Adeosun et al., 2022](#)). Ainsi, le succès du criblage virtuel se définit en terme de découverte de nouvelles molécules intéressantes, plutôt qu'en terme d'un grand nombre de résultats ([Muegge & Oloff, 2006](#)).

Actuellement, de nombreuses méthodes sont dénombrées parmi celles du criblage virtuel. Ainsi, elles peuvent être divisées en deux grandes catégories, l'une regroupant les méthodes basées sur les structures et l'autre regroupe celles qui sont basées sur les ligands (Sunseri & Koes, 2024). Le principe des approches basées sur les structures, repose sur la reconnaissance de la structure de la cible protéique (biologique) afin de prédire les interactions possibles avec les ligands (molécules à tester) et de sélectionner ainsi les molécules ayant la capacité de se lier à cette cible. Les approches basées sur les ligands, quant à elles, reposent sur la modélisation des interactions entre les ligands et les cibles biologiques. En conclusion, les approches computationnelles déterminent tout éventuel mécanisme d'action entre une cible biologique et un xénobiotique.

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude, qui vise à valoriser deux espèces végétales, *Pelargonium graveolens* (Geraniaceae) et *Salvia officinalis* (Lamiaceae) de la région Nord-Est de l'Algérie, en faisant intervenir deux disciplines majeures, la biologie et la chimie. Ainsi, le manuscrit comporte une introduction générale avec quatre chapitres, chacun traitant un objectif bien précis :

Le premier chapitre est destiné à présenter les plantes choisies pour l'étude, en donnant une description générale, le lieu et la période de la collecte. Suivi d'une étude histologique, réalisée au niveau des parties aériennes végétatives des plantes, pour localiser les organites responsables de la sécrétion des métabolites secondaires. Ce chapitre aborde également l'extraction des huiles essentielles et les différentes analyses auxquelles elles sont soumises, à savoir, une analyse physico-chimique pour confirmer la pureté des HE, un screening phytochimique pour identifier les principaux groupes chimiques et une analyse chromatographique sur couche mince (CCM) et sur phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (CPG/SM) pour déterminer les composants chimiques.

Le deuxième chapitre, évalue le pouvoir insecticide des huiles essentielles extraites des deux plantes contre deux ravageurs des denrées stockées, à savoir le coléoptère *Tribolium castaneum* de la famille des ténébrionidés et le lépidoptère *Ephestia kuehniella* de la famille des pyralidés. Le pouvoir insecticide de l'HE de *S. officinalis*, administrée seule ou formulée avec l'argile, a été évalué par différents tests en termes d'effets létaux, comportementaux et anti-appétant contre le coléoptère. Par ailleurs, l'effet de l'HE de *P. graveolens* a été enregistré sur le développement et la reproduction d'*E. kuehniella*, avec une étude

morphométrique pour évaluer son effet sur la morphométrie des ovaires chez les femelles adultes.

Le troisième chapitre traite, en deux parties, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. La première partie examine le pouvoir antifongique contre un champignon ascomycète du genre *Fusarium*, isolé des agrumes d'un champ de culture. La deuxième partie étudie l'activité antibactérienne contre une collection de souches cliniques et référencées, prélevées sur différents sites d'infections chez des patients hospitalisés.

En plus, le quatrième chapitre aborde les principales méthodes utilisées en chimie computationnelle, à savoir le docking moléculaire, la simulation de dynamique moléculaire et une étude ADME-T. Chaque section couvre le principe de la méthode étudiée, son application et un exemple avec des résultats interprétés.

En dernier, une conclusion générale rappelle les principaux objectifs de l'étude et présente les principaux résultats obtenus, avec d'éventuelles perspectives.

Chapitre 1 :

Monographie des plantes étudiées

1. INTRODUCTION

La diversité du règne végétal, Plantae, avec sa multitude d'espèces allant du plus primitifs, les cyanobactéries, jusqu'aux angiospermes les plus évoluées, joue un rôle crucial dans le maintien de l'équilibre écologique. Ces dernières dominent les flores terrestres avec un nombre d'espèces compris entre 270 000 et 350 000, réparties entre 300 familles différentes (Aouadi, 2020). Par ailleurs, en se limitant aux plantes supérieures en raison de leur importance majeure sur terre, en enrichissant l'atmosphère en oxygène et en élaborant la matière organique indispensable à la survie des autres organismes vivants; leur classification se base sur des caractères morphologiques, biochimiques, cytologiques et moléculaires (El Alami, 2018).

L'étude cytologique fait appel à l'histologie végétale, une des études botaniques permettant la différenciation des différentes structures fondatrices d'une espèce végétale. Il s'agit de différents types de tissus, ayant chacun une fonction bien déterminée : les tissus méristématiques sont responsables de la croissance, tandis que les tissus de soutien, de conduction, de protection, de remplissage et/ou de sécrétion sont également impliqués. La diversité tissulaire diffère d'une plante à l'autre, voire au sein d'une même espèce, en fonction d'un certain nombre de facteurs abiotiques.

L'intérêt pharmacologique des plantes aromatiques et leurs efficacités thérapeutiques, ont mis l'accent sur leurs compositions chimiques. En outre, sa détermination implique souvent l'analyse des profils chimiques des extraits de plantes, en fait intervenant de nombreuses techniques, notamment la chromatographie. Les analyses chromatographiques, bien que leur mode de fonctionnement change, ont pour objectif commun la séparation et l'identification des composés.

Les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpènes et autres, parmi les familles phytochimiques, présentent l'actualité des recherches sur le monde végétal. Ils se produisent naturellement dans des cellules et des tissus différenciés et spécialisés pour répondre à des besoins physiologiques ou pour se défendre. Par ailleurs, ces différentes familles acquièrent des propriétés pharmacologiques très intéressantes, souvent liée à leurs structures chimiques. Du quel, la présence de quelques groupes fonctionnels spécifiques dans la structure des composés, leur confère des propriétés particulières, influençant leurs interactions avec les cibles biologiques.

A ce propos, ce chapitre vise à étudier d'une façon exhaustive les deux plantes sélectionnées. Ainsi, une étude histologique de leurs parties aériennes va permettre d'identifier les structures sécrétrices des huiles essentielles. D'autre part, les huiles essentielles extraites par hydrodistillation feront l'objet d'une série d'analyses afin de déterminer leurs différentes caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques ainsi que leurs compositions chimiques.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Présentation du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est représenté par deux plantes aromatiques et médicinales, largement répandue en Algérie. Il s'agit de *Pelargonium graveolens* (L'Her) et *Salvia officinalis* L.

Le choix de plantes s'est basé sur plusieurs critères, notamment :

- Fréquence d'utilisation en médecine populaire.
- Valorisation des espèces végétales locales.
- Disponibilité dans la région d'étude.

2.1.1. *Pelargonium graveolens*

Pelargonium, du grec "Pelargos" signifiant "cigogne" en raison de la forme du fruit, qui ressemble à un bec de cigogne. Ce genre, est l'un de six genres de la famille des Géraniacées, qui a été différencié pour la première fois par le botaniste Charles Louis L'héritier en 1789. La grande diversité des caractéristiques climatiques de sa région d'origine, l'Afrique du Sud, a conduit à l'émergence de nombreuses espèces, actuellement au nombre de 280.

L'espèce *Pelargonium graveolens* (L'hér, 1789) communément appelée Géranium rosat, a été introduite en Algérie en 1847. C'est une espèce odorante, caractérisée par des feuilles pétiolées et des fleurs zygomorphes de couleur rose pâle avec des tâches plus foncées (Fig.1). Cette plante est un sous-arbrisseau vivace, qui s'étend de 60 à 100 cm de hauteur et s'épanouit du mois de Mai au mois de Septembre.



Figure 1. *Pelargonium graveolens* (L'hér, 1789) (photo personnelle, 2024).

La classification systématique du Géranium rosat, se présente comme suit :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Geraniales

Famille : Geraniaceae

Genre : *Pelargonium*

Espèce : *Pelargonium graveolens* (L'hér, 1789)

Pelargonium graveolens, est fortement apprécié par son huile essentielle qui, grâce à son parfum unique, est considérée comme l'une des 20 huiles les plus importantes au monde. Elle est utilisée principalement en parfumerie, en production des arômes alimentaires et en cosmétiques. Elle est également connue pour ses propriétés pharmacologiques, notamment, antiparasitaires, antituberculeuses, anti-inflammatoires, spasmodiques et antimicrobiennes.

2.1.2. *Salvia officinalis*

Salvia officinalis vernaculairement dite, sauge officinale, est un sous-arbrisseau vivace, au feuillage gris-verdâtre caractéristique, de forme oblongue, pétiolée, rugueuse et finement crénelée (**Fig. 2**). Elle fleurit en bleu-lilas de Mars à Juillet et fait partie de la famille des Lamiacées, qui regroupe d'environ 500 espèces de *Salvia*. A son tour, *Salvia officinalis* comprend trois sous-espèce, *Salvia officinalis* subsp. *officinalis* (**Espèce CD_NOM = 140519**), *Salvia officinalis* subsp. *gallica* (**Espèce CD_NOM = 718283**) et *Salvia officinalis* subsp. *Lavandulifolia* (**Espèce CD_NOM = 718284**).



Figure 2. *Salvia officinalis* subsp. *officinalis* (photo personnelle, 2024).

La sauge officinale présente la classification systématique suivante :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacea

Genre : *Salvia*

Espèce : *Salvia officinalis* L., 1753.

Comme l'indique son nom latin "Salvare" qui signifie "sauver" ou "guérir", la sauge est l'une des principales plantes médicinales utilisées depuis l'Antiquité. Elle est utilisée en usage interne et locale pour traiter diverses affections, essentiellement les maux de gorges, les fébrifuges, l'hypo/hyper tension, les problèmes gastro-intestinaux et même les morsures des serpents. Elle aide également à résoudre les problèmes hormonaux.

2.2. Site de récolte

Bien que les deux plantes étudiées sont actuellement cultivées dans différentes régions du monde, leurs origines sont bien distinctes. *Pelargonium graveolens* provienne de l'Afrique du Sud, tandis que *Salvia officinalis* est originaire de la région méditerranéenne.

La récolte des deux plantes a été faite dans deux régions voisines de la Wilaya d'Annaba (36° 53' 60 " N 7 °,46'0.001" E), pendant la période de floraison (**Fig. 3**). La récolte de *P. graveolens* provient de la commune d'El Bouni, située à la périphérie sud-ouest d'Annaba (36°51'55"N 7°46'07"E), tandis que la récolte de *S. officinalis* provient de la commune de Sidi-Amar (36°48'49"N 7°43'00"E). Le climat des deux régions est méditerranéen avec deux tendances bioclimatiques liées à la topographie, à la mer et à la végétation.



Figure 3. Sites de récolte des plantes étudiées (photos personnelles).

2.3. Étude histologique

L'étude histologique des deux plantes étudiées, a été effectuée sur les parties aériennes végétatives (feuilles et tiges), qui ont été collectées puis conservées dans une solution éthanolique à 70° pendant au moins 48h.

L'expérimentation est basée sur la réalisation de coupes très fines dans les organes des plantes étudiées. L'opération est réalisée à l'aide d'une lame bien aiguisée et les meilleures coupes sont immédiatement placées dans l'eau distillée (**Fig. 4**).



Figure 4. Réalisation des coupes histologiques (photo personnelle, 2023).

La technique adoptée pour cette étude, est celle de double coloration qui permet de distinguer les différents composants d'une espèce végétale, dont les parois celluliques se colorent en rose et les parois lignifiées se colorent en vert (Paris & Hurabielle, 1981). La coloration se fait par les colorants, rouge Congo et vert de méthyle (**Fig. 5**).



Figure 5. Préparation des colorants (photos personnelles, 2023).

Les étapes de la technique se découlent comme suit :

- Traitement par l'hypochlorite de sodium dilué au ½ pendant quelques minutes, afin d'éliminer le contenu des cellules.
- Rinçage avec l'eau distillée.
- Rinçage avec une solution d'hydroxyde de sodium à 5%.
- Rinçage avec l'eau distillée.
- Traitement par l'acide acétique dilué (1%) pendant une 1 min pour faciliter la fixation ultérieure des colorants.
- Traitement avec le vert de méthyl pendant 2 à 3 min.

- Rinçage avec l'eau distillée.
- Traitement avec le rouge Congo pendant 15 min.
- Rinçage encore une fois avec l'eau distillée.
- Montage entre lame et lamelle

Les coupes histologiques sont observées sous microscope à différents grossissements ($\times 10$, $\times 20$, $\times 40$) à l'aide d'un microscope optique modèle Leica®DM500.

2.4. Extraction des huiles essentielles et calcul du rendement

L'extraction des huiles essentielles fait appel à plusieurs techniques qui diffèrent expérimentalement en termes d'appareillage et du protocole utilisé. De même, en termes de résultats, la méthode utilisée peut influencer sur la qualité des huiles essentielles.

L'hydrodistillation, l'expression à froid, et l'entraînement à la vapeur, sont les méthodes les plus reconnues, et entre avantages et inconvénients, notre étude s'est orientée vers la méthode d'hydrodistillation qui s'est faite à l'aide d'un appareil de type Clevenger.

En premier temps, les parties aériennes des deux plantes ont été séchées à l'ombre et à une température ambiante pendant 15 jours. Une fois séché, le matériel végétal a été placé dans un ballon en verre après avoir été légèrement écrasé à la main afin d'éviter toute perte de composants volatils. Le ballon est ensuite placé avec le dispositif Clevenger sous un chauffe-ballon (**Fig.6**).



Figure 6. Extraction par hydrodistillation à l'aide d'un appareil Clevenger (photo personnelle, 2023).

L'extraction doit avoir lieu pendant 3 heures, pour obtenir le maximum en principes actifs et ne pas risquer d'altérer la composition chimique de l'HE extraite. L'HE séparée de l'hydrolat par décantation est ensuite conservée dans un Vial en verre, hermétiquement fermé au réfrigérateur à 4 C°.

▪ **Calcul du rendement en huile essentielle**

Le rendement en huile essentielle est un paramètre important à prendre en compte lors de l'extraction. Il est généralement mesuré en pourcentage en HE par unité de matière végétale utilisée, selon la formule suivante :

$$R = P_{HE} / P_{MV} \times 100$$

R : Rendement en huile essentielle extraite (%).

P_{MV} : Poids de la matière végétale en g.

P_{HE} : Poids de l'huile essentielle extraite en g.

2.5. Analyse physico-chimique et organoleptique

La qualité des huiles essentielles peut être déterminée par un certain nombre de facteurs, notamment leurs caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques, qui déterminent leur pureté, leur hydrophobicité et leur densité ; ainsi que leur couleur, leur odeur et leur aspect.

Ces différentes caractéristiques font l'objet de normes internationales, recommandées par l'Association Française de Normalisation (AFNOR) qui visent à garantir la qualité et la sécurité des huiles essentielles pour leur large éventail d'utilisations. À cette fin, les huiles essentielles extraites des plantes étudiées, ont été soumises à différents tests afin de déterminer leurs caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques.

2.6. Analyse phytochimique

Le screening ou le criblage phytochimique est un ensemble de tests qualitatifs réalisés dans le but de mettre en évidence la présence de différentes familles chimiques composant un extrait végétal, permettant ainsi d'identifier d'un point de vue général, la composition chimique du produit. Chaque test est conçu pour détecter une famille cible et spécifique. Pour

cela, plusieurs protocoles ont été appliqués dans cette étude ciblant les terpènes, les alcaloïdes, les coumarines, les flavonoïdes et les tanins.

La détection des différentes familles phytochimiques repose sur l'interprétation des réactions chimiques, qui sont interprétées par des changements colorimétriques et/ou de précipitation.

2.7. Analyse chromatographique

La chromatographie, est une technique physico-chimique qui sert à séparer, quantifier et à identifier les composants d'un mélange complexe donné. Le principe de la chromatographie repose sur l'équilibre de partage et/ou le déplacement des composants du produit à travers une phase stationnaire et une phase mobile. En fonction de la nature de cette dernière, qui représente l'échantillon à analyser, il existe plusieurs types de chromatographie.

Pour cette étude, en fonction des produits étudiés (huiles essentielles), nous nous sommes intéressés par deux types de chromatographie, qui sont complémentaires l'une à l'autre : la chromatographie sur couche mince (CCM) et la chromatographie en phase gazeuse (CPG). La CCM est une technique simple, rapide et facile à manipuler, moins coûteuse mais moins précise. La CPG, en revanche, est beaucoup plus précise, plus sensible et plus coûteuse.

2.7.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince a été appliquée pour les huiles essentielles comme étant un test préliminaire, afin de quantifier leurs composés majoritaires, qui apparaissent sous forme de tâches bien distinctes sous lumière ultra-violette (UV). Également, la densité des tâches reflète la concentration relative des composés présents dans l'HE.

Expérimentalement, les HE ont été déposées séparément sur une plaque CCM en aluminium, qui sert de support, et sur laquelle est déposé le gel de silice (absorbant) comme une phase stationnaire. Par la suite, la partie basse de la plaque est immergée dans un solvant organique, qui constitue la phase mobile (**Fig.7**). À ce niveau, le solvant remonte par capillarité tout au long de la plaque, induisant l'immigration des composés à différentes vitesses. L'interprétation de la plaque se fait sous une lampe UV, après séchage.



Figure 7. Chromatographie sur couche mince (photo personnelle).

2.7.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode analytique permettant de séparer des composés qui se trouvent à l'état gazeux ou bien vaporisables. Cependant, l'identification de ces composés nécessite une combinaison avec une autre technique, la spectrométrie de masse (SM).

L'analyse CPG-SM de nos échantillons, a été effectuée au niveau du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) (Bou Ismail, Tipaza, Algérie) à l'aide d'un équipement chromatographe 'H-P-Agilent 6890' couplé à un spectromètre de masse 'H-P-Agilent 5973'.

Une quantité de 0,2 µl d'HE a été introduite dans l'injecteur, qui a été réglé à une température de 250 C° pour permettre l'évaporation du produit. Les composés vont être transportés à l'aide d'un gaz vecteur, l'hélium pure 6.0, à travers une colonne de type HP-5MS ayant des dimensions de 30m de long, 0,25 µm d'épaisseur et un diamètre interne de 0,25mm. La phase stationnaire constituant la colonne est représentée par 5% de Phényle et 95% de diméthyle-poly-siloxane. L'analyse a duré 113 min à une température de four égale à 45 C° pendant les 8 premières minutes, puis augmentée à un taux de 2 C°/min jusqu'à atteindre 250 C°.

À la sortie de la colonne, les différents composés rencontrent un détecteur couplé à un spectromètre de masse, équipé d'un analyseur de masse de type quadripôles. À ce niveau, les différents composés séparés par CPG sont ionisés, en mode ionisation à impact électronique à une intensité de 70év. En fonction du rapport masse/charge (m/z) des ions obtenus, ceux-ci sont séparés par l'analyseur et détectés après conversion du signal ionique en signal

électrique. Le signal électrique est converti en données numériques, représentées par un spectre de masse, le chromatogramme (**Fig. 8**).

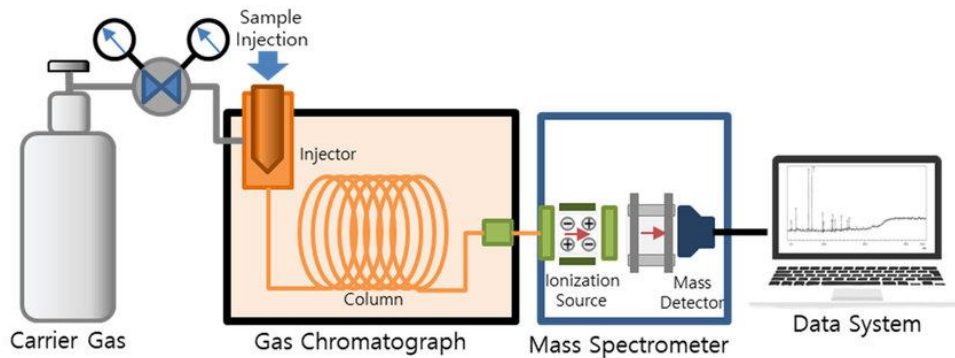


Figure 8. Principe du fonctionnement de la CPG-SM (www.jardins-liorzou.fr).

L'interprétation des résultats fait recours à deux bases de données, la bibliothèque NIST 02 et la bibliothèque WILEY 7N (Jennings & Shibamoto, 1980), qui permettent d'identifier les composants des échantillons analysés, détectés sur le spectre de masse en comparant les temps de rétention des pic avec ceux des étalons de référence.

2.8. Analyse statistique

Les traitements statistiques effectués pour l'ensemble des paramètres étudiés dans ce travail, ont été analysés à l'aide d'un logiciel SPSS V.26. Chaque résultat obtenu est exprimé par la moyenne et le standard de déviation ($m \pm SD$). Différents tests paramétriques (test 't' de student, ANOVA) et non paramétriques (Mann-Withney, Kruskal-Walis) ont été appliqués pour pouvoir comparer les moyennes entre les groupes, en fonction des conditions bien déterminées. Le niveau de signification est représenté par la valeur $p < 0,05$.

3. RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

3.1. Détermination des structures anatomiques des plantes

3.1.1. Caractéristiques anatomiques de *Pelargonium graveolens*

L'étude histologique de la feuille et de la tige de l'espèce *Pelargonium graveolens* montre qu'elles se caractérisent par un tissu de revêtement, l'épiderme, composé d'une seule assise cellulaire et sur lequel s'insèrent deux types de poils ; poils tecteurs pluricellulaires à fonction protectrice et poils sécréteurs des métabolites secondaires, à tête capitatae (**Fig.9**).



Figure 9. Poils tecteurs et sécréteurs insérés sur l'épiderme de *P. graveolens* (photo personnelle, 2023).

Ainsi, l'observation microscopique de l'épiderme de la feuille à un grossissement ($\times 40$) montre qu'il est parsemé de stomates anomocytiques permettant les échanges gazeux (**Fig.10**).



Figure 10. Stomate anomocytique (photo personnelle, 2023).

La position sous-épidermique est occupée par un collenchyme de type angulaire, suivi par un ensemble de cellules jointives de forme polyédriques, assurant le remplissage et formant le parenchyme cortical.

Juste après le parenchyme cortical la distinction entre la feuille et la tige devient apparente, dont :

Comme le montre la **figure 11**, le centre de la nervure de la feuille est occupé par un phloème et un xylème, formant des faisceaux conducteurs libéroligneux. Ces derniers, sont associés à un sclérenchyme qui assure le soutien. La coupe histologique montre également la présence des agrégats de cristaux d'oxalate de calcium insérés en joints à des cellules parenchymateuses.

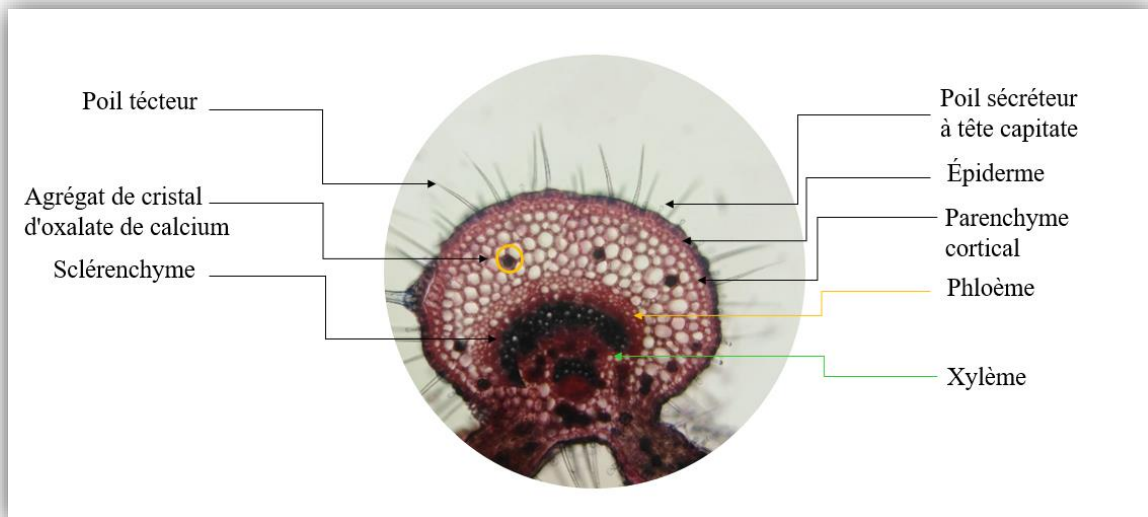


Figure 11. Coupe transversale (x10) au niveau de la nervure de la feuille de *P. graveolens* (photo personnelle, 2023).

La tige, en vue transversale, montre une symétrie axiale et un centre occupé par une moelle épinière (**Fig.12**). Elle se distingue de la feuille par la présence du sclérenchyme sous forme d'un cercle qui se colore en vert.

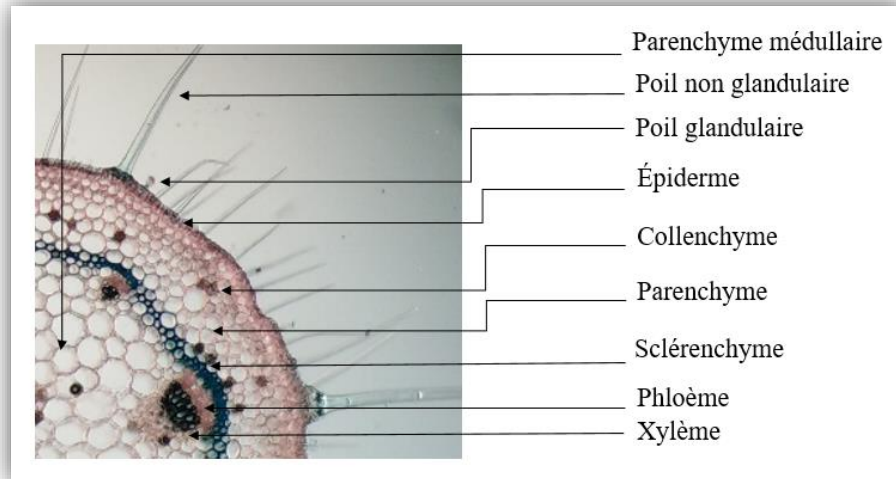


Figure 12. Coupe transversale ($\times 10$) d'une tige de *P. graveolens* (photo personnelle, 2023).

3.1.2. Caractéristiques anatomiques de *Salvia officinalis*

Les coupes histologiques au niveau des parties aériennes végétatives (feuille, tige principale) de l'espèce *S. officinalis* montrent des caractéristiques anatomiques différentes à celle de *P. graveolens*.

La coupe transversale au niveau de la feuille montre la présence de deux nervures, principale et secondaire relié par un tissu spongieux. Le centre des nervures, est occupé par des faisceaux libéroligneux qui sont formés par un phloème et un xylème superposés et séparés par une assise génératrice de cambium. En périphérie, on distingue deux types de poils glandulaires et non glandulaires insérés sur le tissu de revêtement (**Fig. 13**).

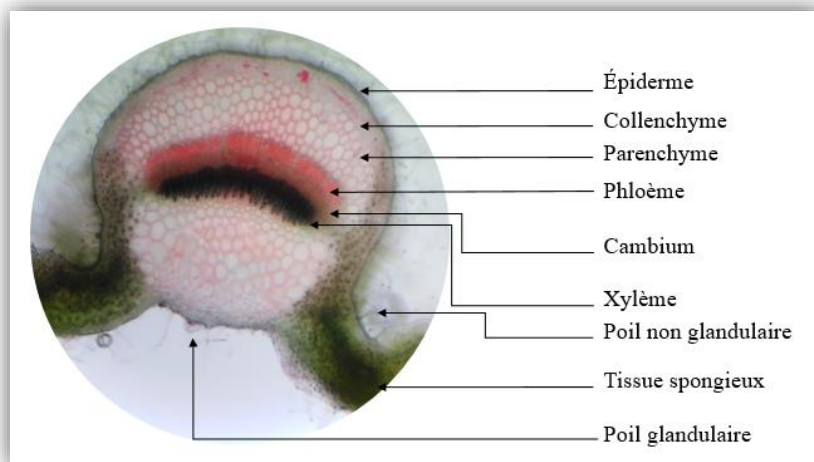


Figure 13. Coupe transversale au niveau de la nervure principale de la feuille de *S. officinalis* ($\times 10$) (photo personnelle, 2023).

La coupe histologique au niveau de la tige principale de *S. officinalis* (**Fig. 14**), montre de l'extérieur vers l'intérieur :

- Un tissu de revêtement tapissé de poils tecteurs et sécréteurs.
- Un collenchyme angulaire présent sur les quatre côtés de la tige, responsable de la forme carrée, spécifique aux lamiacées.
- Un parenchyme cortical, qui remplit plusieurs fonctions.
- Des phellodermes, assurant le maintien du parenchyme cortical.
- Un phloème secondaire (liber).
- Un cambium situé entre le phloème et le xylème.
- Un xylème secondaire (bois).
- Une moelle remplissant le centre.

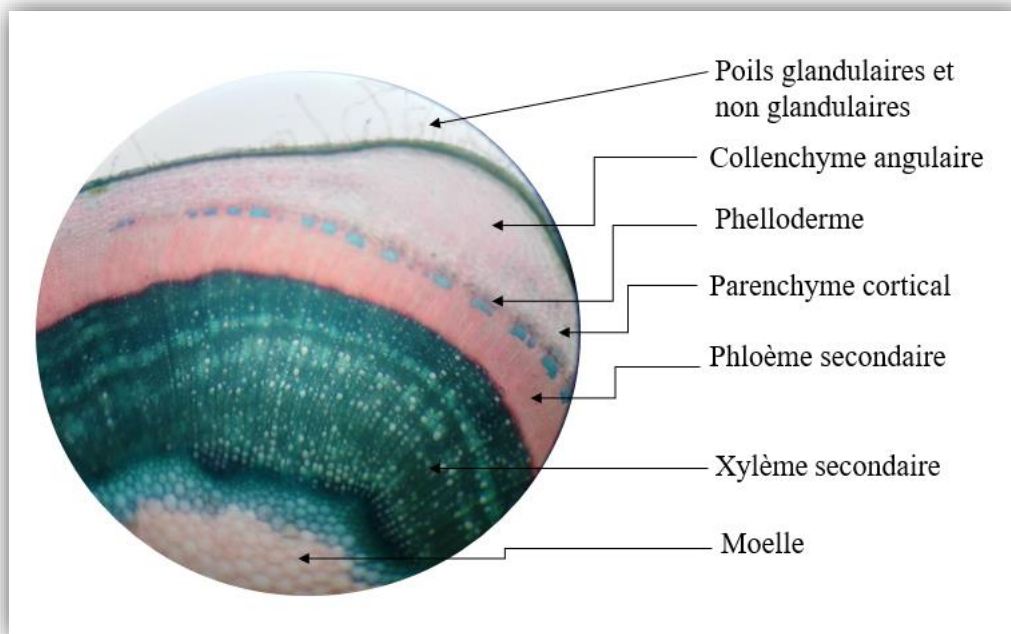


Figure 14. Coupe transversale au niveau de la tige de *S. officinalis* ($\times 10$) (photo personnelle, 2023).

L'étude histologique réalisée sur les parties aériennes végétatives des deux plantes étudiées montre la caractérisation anatomique des dicotylédones. L'épiderme représenté par le revêtement qui recouvre la surface des organes des plantes, il remplit divers rôles importants :

Protection contre la perte d'eau : l'épiderme est généralement recouvert d'une cuticule cireuse, appelée cuticule, qui limite l'eau perdue par évaporation. La cuticule agit

comme une barrière physique contre les conditions environnementales défavorables, à savoir la sécheresse (Riederrer & Schreiber, 2001).

Régulation des échanges gazeux : les stomates, structures présentes dans l'épiderme des feuilles, contrôlent les échanges gazeux (photosynthèse et respiration) entre la plante et l'atmosphère ; lorsqu'ils se referment, ils permettent la rétention de l'eau protégeant la plante contre le dessèchement (Zeiger *et al.*, 1987).

Sécrétion de substances protectrices : des cellules épidermiques spécifiques ont la capacité de synthétiser des substances protectrices, telles que les trichomes glandulaires, qui produisent des composés phénoliques protégeant contre la prédation des herbivores, les agents pathogènes et les conditions environnementales défavorables (Wanger, 1991).

Réflexion de la lumière et protection contre les rayonnements UV : la surface de l'épiderme peut refléter certaines longueurs d'onde de la lumière. Ce faisant, elle contribue à réguler la température de la plante. De plus, elle peut protéger contre les rayonnements ultraviolets (UV) du rayonnement solaire (Caldwell & Flint, 1994).

Ainsi, l'expansion des cellules épidermiques forme une sorte de poils, représentés par des poils tecteurs assurant le rôle de protection de la plante contre la dessiccation. Les plantes peuvent réduire l'évaporation en créant une couche d'air adhérente sur les feuilles et les tiges à l'aide de poils protecteurs. Cette couche d'air limite le courant et devient un obstacle pour la transpiration (Riederrer & Schreiber, 2001).

Les dicotylédones se distinguent également par leur organisation tissulaire complexe, qui contribue à leur croissance, leur structure et leur fonctionnement. Il en existe :

Le **sclérenchyme** qui est un tissu de soutien présent dans de nombreux organes végétaux âgés, tels que les tiges, les feuilles, les racines et les fruits. Il est composé de cellules spécialisées qui ont des parois cellulaires épaissies et renforcées grâce à la présence de lignine. Le rôle principal du sclérenchyme est de fournir un support mécanique et de renforcer la structure des organes végétaux (Taiz *et al.*, 2018). Dans cette étude, le sclérenchyme a été observé uniquement chez *Pelargonium graveolens*, ce qui indique que l'espèce étudiée présente des organes plus âgés en comparant avec ceux de la sauge, *Salvia officinalis* L.

Le **parenchyme** est un tissu végétal qui se divise en deux types en fonction de son emplacement. Le **parenchyme cortical** est présent dans la partie externe des tiges et des racines des plantes, tandis que le **parenchyme médullaire** se situe au centre de la tige et de la racine des plantes. Bien qu'il puissent se différencier en fonction des espèces et des organes, les tissus parenchymateux remplissent un certain rôle clé :

- ✓ **Stockage des nutriments** dans les cellules, y compris les glucides, les lipides et les protéines. Ces nutriments peuvent être utilisés ultérieurement pour la croissance et le développement de la plante (Taiz & Zeiger, 2010).
- ✓ **Transport des nutriments** : Les parenchymes médullaire et corticales facilitent le mouvement des nutriments dans la plante (Raven *et al.*, 2005).
- ✓ **Soutien mécanique** : Ils peuvent également contribuer au soutien mécanique de la plante en comblant l'espace entre les tissus vasculaires, les fibres, ou toute autre structure. Ils offrent également une certaine résistance à la flexion et à la compression (Esau, 1965).
- ✓ **Stockage d'eau** : Certaines cellules de ces parenchymes peuvent stocker de l'eau. Il s'agit en quelque sorte d'une réserve d'eau interne pour la plante. Cela est particulièrement important dans les milieux désertiques ou lorsque la plante subit des périodes de sécheresse (Salisbury *et al.*, 1992).
- ✓ **Protection contre des pathogènes et des facteurs environnementaux** : Ils peuvent également contenir des cellules spécialisées pour lutter contre des pathogènes, insectes ou autres agressions de l'environnement (Bolin & Kosh, 1993).

Il existe également chez les dicotylédones, les **tissus conducteurs** qui sont essentiels pour véhiculer des substances vitales telles que l'eau, les nutriments et les molécules organiques à travers les plantes. Ces tissus se présentent généralement sous forme de faisceaux vasculaires distincts, constituant le xylème et le phloème (Evert & Esau, 2006).

✚ Le **Xylème** assure deux fonctions distinctes :

- ✓ **Transport de l'eau et des minéraux** : au sein de la plante, le xylème permet une circulation ascendante et descendante de l'eau et des sels minéraux. Ainsi, la circulation de la sève brute s'effectue grâce à ses vaisseaux.

- ✓ **Soutien mécanique** : outre sa capacité à transporter la sève brute, le xylème contribue également au soutien mécanique de la plante en fournissant de la rigidité et de la résistance aux tiges et aux racines (Taiz, 2010).

✚ Le **Phloème** assure :

- ✓ **Translocation des sucres et des molécules organiques** : le phloème est responsable de la translocation des sucres, hormones et autres molécules organiques produites dans les parties sources de la plante (les feuilles) et leur exportation vers les organes de stockage ou de croissance (les fruits, les racines).
- ✓ **Signalisation et communication** : Le phloème joue aussi un rôle dans la signalisation et la communication à longue distance, pour obtenir une coordination entre les différentes parties de la plante (Raven *et al.*, 2005).

3.2. Détermination du rendement d'extraction des huiles essentielles

La procédure d'extraction réalisée par hydrodistillation des deux plantes étudiées a permis d'obtenir des huiles essentielles avec des pourcentages de rendement variables. Cette variation, dépend principalement de l'espèce végétale. Néanmoins, même au sein d'une même espèce, le rendement peut varier d'une extraction à l'autre (**Tab. 1**).

Tableau 1. Pourcentage du rendement des huiles essentielles extraites.

	<i>Pelargonium graveolens</i>	<i>Salvia officinalis</i>
Rendement (%)	0,43 ± 0,25	1,10 ± 0,10

La différence en rendement enregistrée pour les deux plantes étudiées peut s'expliquer par la différence en structure anatomique entre les deux espèces. Du quel, l'étude anatomique présentée auparavant montre que la plante *S. officinalis* possède deux structures différentes sécrétrices des métabolites secondaires : les poches et les poils sécréteurs. En revanche, *P. graveolens* présente que des structures sécrétrices en forme de poils, ce qui réduit le rendement.

Dans la littérature, des résultats plus inférieurs qu'aux nôtres ont été enregistrés pour *P. graveolens*. Boukhatem *et al.* (2013) ont obtenu un pourcentage égale à 0,15%. Boukhris *et al.* (2015) bien qu'ils ont étudié le rendement durant les quatre stades végétatifs de la

plante, le plafond a été estimé à 0,16%. Cependant, des pourcentages variables ont été enregistrés pour *S. officinalis* où le plus faible pourcentage a été estimé à 0,30% (Sellami *et al.*, 2012). D'autre étude ont marqué autres pourcentages variables, 0,66% (Ben-Kheder *et al.*, 2017), 1% (Arraiza *et al.*, 2012) et 1,49% (Ben Farhat *et al.*, 2016).

Plusieurs facteurs à savoir intrinsèques et/ou extrinsèques influencent le rendement en huiles essentielles. Il s'agit notamment des conditions climatiques, géologiques, génétiques et/ou techniques. En ce qui concerne les facteurs climatiques, la température et la pluviométrie, jouent un rôle très important, duquel les température extrêmes (sécheresse/humidité) et le déficit hydrique, peuvent réduire le rendement jusqu'à 50% (Bettaib *et al.*, 2009 ; Corell *et al.*, 2012 ; Ferrante *et al.*, 2018 ; Valkovszki *et al.*, 2023). Ceci a été confirmé par Abu-El-Wafa *et al.* (2012), qui ont étudié le rendement du *P. graveolens* pendant plusieurs périodes de l'année et ont enregistré le pourcentage le plus élevé en automne, lorsque le climat est modéré. En outre, l'altitude et la nature du sol sont aussi impliqués. Cependant, les espèces végétales d'une même région bioclimatique sont influencés par la pluviométrie que par l'altitude (Kharoubi, 2021). De plus, la technique de récolte, la période de récolte et le cycle phénologique au moment de la récolte, sont également mis en jeu. L'étude de Hazrati *et al.* (2022) a montré l'influence de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle chez la sauge. Les résultats obtenus ont montré une réduction de 50% sur une période de quelques heures au cours d'une même journée (1,14% : récolte entre 4 :00 et 6 : 00 p.m. ; 0,59% récolte entre 4 :00 et 6 : 00 a.m.).

3.3. Détermination des caractéristiques organoleptiques et physico-chimique des HE

La détermination des caractéristiques organoleptiques des deux huiles essentielles s'est basée sur des tests sensoriels. Une observation visuelle a permis de déterminer la couleur et l'aspect. Tandis qu'une évaluation olfactive a permis d'identifier les arômes des deux types (Tab.2).

Tableau 2. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles étudiées.

	<i>Pelargonium graveolens</i> (L'Her.)	<i>Salvia officinalis</i> . L
Couleur	Jaune ambré	Jaune pâle
Odeur	Aromatique prononcée ; fortement citronnée	Camphrée

Aspect	Liquide	Liquide
--------	---------	---------

La qualité des huiles essentielles peut également être examinée par des tests physiques (densité, indices de réfraction) et/ou chimiques (indice d'acide, pH). Le **Tableau 3** montre que les paramètres étudiés respectent les valeurs spécifiées dans les normes AFNOR qui exigent des intervalles bien précis.

Tableau 3. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles étudiées.

	<i>Pelargonium graveolens</i> [norme AFNOR]	<i>Salvia officinalis</i> [norme AFNOR]
Densité	0,890 [0,884]	0.896 [0,890 à 0,908]
Indice de réfraction	1,465 [1,461-1,470]	1.460 [1,455 à 1,470]
Indice d'acide	5.3 [<10]	1.683 [<10]
pH	5 [<7]	5 [<7]

3.4. Screening phytochimique

Le screening phytochimique des deux huiles essentielles a révélé la présence de quelques composés bioactifs. Comme le présente le **tableau 4**, les tests effectués montrent que l'HE de *P. graveolens* est riche en terpènes, en flavonoïdes, en coumarines et en tanins mais pauvre en alcaloïdes. L'HE de *S. officinalis*, quant à elle, est riche en terpènes, alcaloïdes, flavonoïdes et tanins, mais pauvre en coumarines.

Tableau 4. Screening phytochimique des huiles essentielles de *P. graveolens* et *S. officinalis*.

Groupes phytochimiques	<i>P. graveolens</i>	<i>S. officinalis</i>
Terpènes	+	+
Alcaloïdes	-	+
Tanins	+	+
Flavonoïdes	+	+

Coumarines	+	-
------------	---	---

3.5. Détermination de la composition chimique des huiles essentielles

3.5.1. Par chromatographie sur couche mince (CCM)

L'analyse chromatographique réalisée sur couche mince pour les deux huiles essentielles a permis de révéler la présence de deux spots bien distinctes. Cela pourrait s'expliquer par l'abondance de deux groupes phytochimiques dans les HE.

3.5.2. Par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse

L'analyse chromatographique sur phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse, a permis d'identifier sur une colonne HP-5, cinquante-sept composés pour l'HE de *P. graveolens* (Tab. 5) et quarante-deux composés pour l'HE de *S. officinalis* (Tab. 6).

Tableau 5. Composition chimique de l'huile essentielle de *P. graveolens*.

Terpènes							
Monoterpènes hydrocarbonés				Monoterpènes oxygénés			
Composé	IK _{exp}	IK _{Lit}	%	Composé	IK _{ex} p	IK _{Lit}	%
α -Pinene	929	932	0,47	<i>Trans</i> -Rose oxide	1026	1025	0,72
β -Myrcene	991	990	0,19	<i>Trans</i> -Linalool oxide	1087	1088	0,24
<i>P</i> -Cymene	1023	1024	0,33	Linalool	1109	1100	6,09
Limonene	1027	1029	0,48	Menthone	1150	1148	0,27
Cis- β -ocimene	1044	1038	1,53	Iso-menthone	1163	1162	4,04
Trans- β -ocimene	1054	1048	0,14	α -Terpineol	1187	1185	0,55
Sesquiterpènes hydrocarbonés				β-citronellol	1235	1232	23,67
α -Cubebene	1341	1345	0,65	Geraniol	1266	1250	14,57
α -copaene	1363	1365	0,81	Nerol	1757	-	0,15
β -bourbonene	1370	1373	0,94	Citronellyl formate	1287	1286	3,29
β -cubebene	1377	1392	0,07	Geranyl formate	1312	1320	4,22
β -Elemene	1380	1382	0,18	Geranyl acetate	1387	1390	1,12
β -Caryophyllene	1401	1419	1,05	Neryl propionate	1516	-	0,45
(<i>E,Z</i>)- α -Farnesene	1427	1487	0,19	Citronellyl propionate	1530	1445	0,47
α -Caryophyllene	1437	1422	0,32	Geranyl tiglate	1706	1701	3,09
Aromadendrene	1444	1441	0,69	Geranyl isovalerate	1912	1887	0,05
Dehydro-Aromadendrene	1458	1442	0,33	Sesquiterpènes oxygénés			
Germacrene-D	1475	1479	3,59	(-)-Nerolidol	1480	1564	1,10
δ -gurjunene	1478	1473	0,54	Isoaromadendrene epoxide	1537	1580	0,47
Ledene	1482	1491	0,99	β -Eudesmol	1636	1651	0,83
α -Amorphene	1489	1484	0,43	β -Neoclovene	1609	1556	2,62
α -Muurolene	1492	1496	0,42	Guaiol	1641	1600	1,39
Zingibrene	1495	1494	0,10	Alloaromadendrene oxide-	1729	1749	0,04

				(1)			
γ-Cadinene	1508	1509	0,72	Ester			
δ-Cadinene	1514	1516	2,24	phenethyl isobutyrate	1353	1401	0,16
Isoledene	1530	1528	1,47	Phenethyl propionate	1585	-	2,47
α-Elemene	1616	-	0,89	Totale identifiés = 91,40% Totale monoterpènes = 72,35% Totale sesquiterpènes = 28,78% Esters=2,63%			
β-Gurjunene	1624	1439	0,91				
valencene	1632	1628	0,92				
E,E-α-Farnesene	1654		0,16				
Cycloisolongifolene, 8,9-dehydro-	1662	-	0,60				
Trans-carane	1667	-	0,44				
trans-Caryophyllene	1696	1600	0,13				
FARNESYL ACETONE	1914	1921	0,08				
C							

Tableau 6. Composition chimique de l'huile essentielle de *S. officinalis*.

Terpènes							
Monoterpènes				Sesquiterpènes			
Monoterpènes hydrocarbonées				Sesquiterpènes hydrocarbonées			
Composé	%	IK _{exp}	IK _{LIT}	Composé	%	IK _{exp}	IK _{LIT}
Cis-salvene	0,04	860	852	trans-Caryophyllene	2,36	1401	1428
Sabinene	0,10	914	975	α-Humelene	2,26	1438	1449
α-Pinene	2,14	930	929	Valencene	0,09	1443	1490
Camphene	4,10	944	944	δ-Cadinene	0,04	1447	1519
β-Pinene	4,47	972	973	(+)-Aromadendrene	0,04	1468	1466
l-Phellandrene	0,43	999	1007	α-Muurolene	0,05	1489	1496
α-Terpinene	0,38	1014	1013	Germacrene-D	0,13	1498	1484
E-β-OCIMENE	0,09	1046	1049	L-calamenene	0,06	1507	-
γ-Terpinene	0,50	1060	1063	γ-Cadinene	0,45	1511	1514
α-Terpinolene	0,68	1085	1085	α-Calacorene	0,04	1528	1537
3-Pinanone	0,30	1157	1156	γ-Gurjunene	0,13	1587	1572
α-Longipinene	0,42	1317	1330	α-Elemene	0,21	1600	-
Monoterpènes oxygénés				α-Farnesene	0,52	1746	1743
cis-sabinene hydrate	0,23	1076	1050	Sesquiterpènes oxygénés			
Terpinene-4-ol	0,64	1175	1179	Caryophyllene oxide	1,49	1565	1580
Myrtenol	0,21	1193	1194	Veridiflorol	9,07	1583	1591
Carvacrol	0,11	1303	1304	β-Eudesmol	0,10	1633	1654
α-Cubebene	0,06	1340	1348	Totale identifiés= 91,29 Totale monoterpènes= 74,15 Totale sesquiterpènes=16,94			
α-Copaene	0,05	1362	1371				
β-Bourbonene	0,05	1369	1379				
Bornyl acetate	0,10	1279	1282				
1,8-Cineole	16,10	1032	1032				
α-Thujone	16,37	1104	1105				
β-Thujone	6,64	1119	1118				
Camphor	18,59	1145	1145				
Bornéol L	1,31	1166	1166				
Ledene	0,16	1479	1499				

IK_{exp}= valeurs des indices de kovats sur colonne HP-5.

IK_{Lit}= valeurs de littérature des indices de kovats

Comme indiqué aux **tableaux 5** et **6**, la fraction monoterpénique domine la composition chimique des deux HE. Cependant, les monoterpènes oxygénés représentent respectivement 88,69 % et 81,62 % de la fraction monoterpénique de l'HE de *P. graveolens* et de *S. officinalis*. Par ailleurs, les composants majoritaires des deux huiles appartiennent à cette classe. Le β -citronellol (23,67%), le géranol (14,57%) et le linalool (6,09%) constituent les composants majoritaires de l'HE de *P. graveolens* ; tandis que, le camphor (18,59%), l' α -thujone (16,37%) et le 1,8 cinéole (16,10%) constituent les composants majoritaires de l'HE de *S. officinalis* (**Fig.15**).

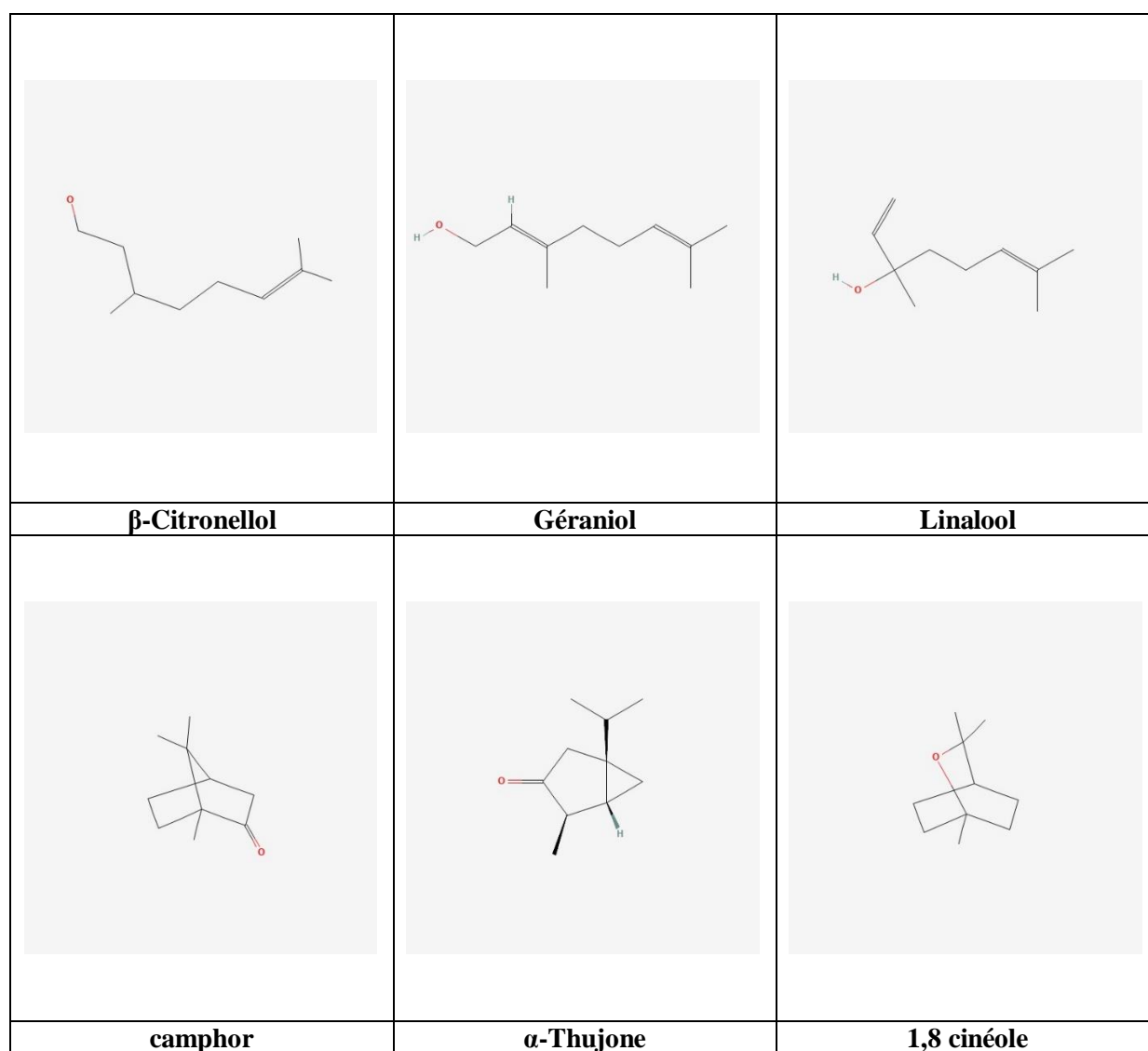


Figure 15. Structures 2D des composés majoritaires des huiles essentielles de *P. graveolens* et de *S. officinalis* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

En effet, la présence des atomes d'oxygène chez certains composés, leur confère une structure unique souvent associée à une grande labilité chimique (Volcho *et al.*, 2014). Cela donne lieu à des molécules qui peuvent subir différentes interactions et donc produire des propriétés biologiques distinctes (Klebe, 2013).

Par ailleurs, grâce à leur faible poids moléculaire, les monoterpènes constituent la principale et la plus grande classe des métabolites secondaires des plantes (Zielińska-Błajet & Feder-Kubis, 2020). Ils se distinguent des autres terpènes par la présence de 10 carbone dans leur structure, qui peut exister sous forme hydrocarbonée simple, acyclique (ocimène, myrcène...), monocyclique (*P*-Cymène, limonène...) ou bicyclique (camphène, α -Pinène...). De plus, diverses modifications réactionnelles post-synthétiques, (oxydation, réarrangement, conjugaison) permettent la formation d'une grande variété de composés plus complexes, à savoir les composés oxygénés. À leurs tours, les dérivés oxygénés peuvent être époxydes (*trans*-linalool oxide...), cétones (Menthone, isomenthone...), alcools (Geraniol, 1,8 cinéole...), ou encore des esters (citronellyl formate, Geranyl formate...). De même, les sesquiterpènes qui se composent de 15 carbones, forment un sous-groupe réparti de la même façon que les monoterpènes (Wink, 2003).

De nombreux facteurs se sont impliqués au processus de biosynthèse des différents composés des huiles essentielles. En effet, outre les facteurs génétiques de la plante (Bentaarit *et al.*, 2009; Valkovszki *et al.*, 2023), les facteurs externes dont ceux mentionnés ci-dessus qui influencent le rendement en huile essentielle (facteurs climatiques, géologiques, et/ou techniques) sont à l'origine de la variation de la composition chimique d'une famille à l'autre et même au sein d'une même espèce. Cependant, les composés majoritaires pour une même espèce sont souvent les mêmes avec des différences de pourcentage.

La présente étude, montre que les molécules majoritaires dominant l'HE de *P. graveolens* ont également été enregistré comme étant majoritaires dans la composition chimique de l'HE extraite des feuilles de la même plante avec des pourcentages de 33,6 %, 26,8% et 10,5 %, respectivement (Rana *et al.*, 2002). En outre, d'autres études ont rapporté des résultats proches aux nôtres, mais le linalool se classe à la quatrième position, précédé du citronellyl formate (Dzamic *et al.*, 2014 ; Gogoi *et al.*, 2024) et du menthol (Kačaniová *et al.*, 2023). De plus, le citronellol, le formiate de citronellyl et le géraniol dominent la composition chimique de l'HE de cette plante en provenance d'Algérie (Boukhris *et al.*, 2013; Boukhatem *et al.*, 2013; Boukhris *et al.*, 2015). En revanche, d'autres études ont montré une différence

significative. De l'Afrique de Sud, l'isomenthone et le decanoid acid, étaient les principaux composés avec des pourcentages de 65,8 % et 12,9%, respectivement; tandis que le citronellol et le citronellyl formate étaient présents à l'état de traces (Lalli, 2006).

Quant à la composition chimique de la deuxième huile étudiée de *S. officinalis*, de nombreux résultats ont été en accord avec les nôtres, dont le camphor, l' α - thujone et le 1,8 cinéole qui alternent majoritairement avec une différence de pourcentage (Arraiza *et al.*, 2012; Ben-farhat *et al.*, 2016 ; Ben-Khder *et al.*, 2017; Samani *et al.*, 2019). Les résultats obtenus dans l'étude de Russo *et al.* (2013) qui a étudié la composition chimique de différents HE de la sauge cultivée dans différentes conditions environnementales, montrent que les principaux composants sont l' α -thuyone, le camphre, le bornéol, le γ -muurolène et le sclaréol pour tous les échantillons ; mais que les pourcentages de ces composés varient en fonction de facteurs environnementaux.

4. CONCLUSION

Le présent chapitre vise à explorer les deux plantes choisies pour l'étude, *Pelargonium graveolens* et *Salvia officinalis*. Tout d'abord, une présentation des deux espèces a été faite, avec la localisation des sites de récolte. Une étude histologique a également été menée sur les parties aériennes végétatives, dans le but de localiser les sites sécréteurs des huiles essentielles, ciblés pour l'évaluation de leurs activités biologiques. De plus, les huiles essentielles extraites par hydrodistillation, ont fait l'objet de nombreux tests qualitatifs et quantitatifs, pour vérifier leur qualité et déterminer leur composition chimique.

L'étude histologique a montré une différence en structures entre les deux espèces étudiées. De plus, en ce qui concerne les structures sécrétrices des huiles essentielles, *P. graveolens* possède des sites sécréteurs superficiels, représentés par des poils à tête capitata. *S. officinalis*, en revanche, possède deux sortes de sites sécréteurs, externe superficiels représentés par des poils glandulaires et internes, représentés par des glandes spécialisées.

L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation, a permis d'extraire deux HE différentes, conformes aux normes AFNOR. Ainsi, le profil chimique réalisé, a déterminé leurs compositions chimiques : *P. graveolens* avec 57 composés et *S. officinalis* avec 42 composés, dont une fraction terpénique dominante dans les deux échantillons.

En conclusion, le travail réalisé dans ce chapitre nous a permis de déterminer les principaux paramètres des huiles essentielles, ce qui facilitera, d'une part, l'évaluation et l'interprétation de leurs activités biologiques et, d'autre part, évitera d'éventuel erreurs dans leur utilisation en tant que plantes médicinales.

Chapitre 2 :
Évaluation du potentiel insecticide des
huiles essentielles étudiées

1. INTRODUCTION

La croissance démographique augmente à un rythme alarmant, passant de deux milliards en 1950 à sept milliards en 2020. A ce rythme-là, la production alimentaire doit augmenter proportionnellement pour satisfaire les besoins et pour améliorer la nutrition. À ce propos, l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) indique que les approvisionnements alimentaires doivent dépasser la croissance de la population (FAO, 2001). D'autre part, la sécurité alimentaire englobe un large éventail d'activités liées à la production, à la transformation, à la commercialisation et à la consommation des produits alimentaires ainsi qu'à leurs méthodes de conservation. Cependant, plusieurs formes d'espèces nuisibles sont impliquées dans chaque étape. Néanmoins, l'infestation des stocks par les insectes reste le danger le plus préoccupant, en particulier, lorsqu'il s'agit d'attaques de ravageurs primaires à formes larvaires cachées à l'intérieur des grains.

Les insectes ravageurs sont à l'origine de nombreux dégâts. Ils peuvent causer de lourdes pertes qualitatives et quantitatives des produits stockés et peuvent atteindre des dommages plus importants au bout de six mois si aucune mesure n'est mise en place (Abouelatta *et al.*, 2016). En plus, l'infestation par les ravageurs des denrées stockées peut réduire la valeur nutritive des aliments et peut aussi induire la formation de moisissures ce qui augmente, de plus en plus, le taux de perte de la production mondiale, affectant ainsi la sécurité alimentaire (Ristaino *et al.*, 2021 ; Garcia *et al.*, 2023; Grine *et al.*, 2023). À la fin du dernier siècle, le taux de pertes des denrées alimentaires a été estimé statistiquement entre 5 à 10 % (Hill, 1990). Plus récemment, il a été estimé entre 20% et 9% dans les pays en développement et les pays développés respectivement (Aicha *et al.*, 2024). Par ailleurs, la FAO estime des pertes annuelles en terme de récolte d'environ 40% et en terme de pertes économiques d'environ 3,2 millions USD (FAO, 2020).

Cependant, le degré de dommage varie en fonction de plusieurs facteurs, notamment de la classification de l'espèce ravageur. En outre, les ordres des Coléoptères et des Lépidoptères sont désormais les plus importants avec environ 380.000 et 150.000 espèces, respectivement. Ainsi, le mode d'attaque de ces ravageurs dépend principalement et spécifiquement de l'espèce, duquel, une autre classification a été menée en fonction de la manière dont ils ciblent les aliments. Par conséquent, des ravageurs de type primaire et secondaire sont distingués. Les espèces de la première classe sont désormais les plus dangereuses parce

qu'elles sont susceptibles de détériorer les grains même autant rigides et faire place par la suite aux ravageurs secondaires.

À cet effet, plusieurs approches ont été développées en tant que stratégies primaires pour lutter contre les insectes nuisibles. Plusieurs molécules synthétiques ont été utilisées comme des pesticides contre pratiquement tous les ravageurs, ce qui a fait submerger le marché de produits chimiques (Elimem *et al.*, 2019). En outre, bien qu'ils aient prouvé leur efficacité contre les organismes ciblés (Ebadollahi *et al.*, 2017), ces molécules synthétiques ont créé de nouveaux problèmes plus compliqués, notamment, pour les organismes non-ciblés, avec des effets létaux et une toxicité remarquable (Novato *et al.*, 2015; Pagnakorn & Chuenhooklin, 2018; Taibi *et al.*, 2018; Abouelatta *et al.*, 2020).

En conséquence, la recherche de nouvelles méthodes efficaces contre les nuisibles avec moins d'effets néfastes s'est imposée et les recherches scientifiques se sont orientées vers des produits biologiques ou bio-pesticides. De surcroît, les pesticides d'origine végétale, font l'objet d'une attention et d'un intérêt accrus, d'une part, grâce à leur efficacité approuvée contre plusieurs ravageurs (Taibi *et al.*, 2018 ; Bendjedid *et al.*, 2021) ; d'autre part, grâce à leur capacité d'être biodégradables, respectueux de l'environnement et sans danger pour les organismes non ciblés (Regnault-Roger *et al.*, 2012; Isman & Grieneisen, 2014; Baldin *et al.*, 2015; Chabban *et al.*, 2022).

Cependant, bien que la volatilité des HE extraites de plantes soit avantageuse pour leurs applications de différentes manières en tant que bio-insecticides, elle présente également de sérieux inconvénients, notamment, la rapidité du processus d'évaporation et la sensibilité à la conservation. À noter que les HE sont très sensibles à la lumière, à la chaleur et à l'oxydation qui peuvent, par conséquent, altérer leur composition chimique et réduire leur efficacité. À cet égard, un intérêt particulier à développer des formulations à base de substances qui servent de support aux HE, ayant pour objectif de réduire leur volatilité et d'obtenir une stabilité et une efficacité à long terme, est imposé.

Les argiles connues pour leurs propriétés adsorbants, ont été couramment utilisées en formulations médico-pharmaceutiques et en cosmétiques. En outre, en plus d'être abondantes, non toxiques et peu coûteuses, les argiles présentent la capacité d'interagir avec des molécules organiques (de Oliveira *et al.*, 2022). À cet effet, les recherches scientifiques se sont orientées de nouveau vers la combinaison des argiles et d'HE pour lutter contre les différentes formes d'insectes nuisibles.

Les considérations ci-dessus nous ont incités à mener une étude visant à déterminer le pouvoir insecticide de deux plantes aromatiques, *Salvia officinalis* et *Pelargonium graveolens*, contre deux espèces ravageurs appartenant à deux ordres différents, *Tribolium castaneum* (Coléoptera : Tenebrionidea) et *Ephestia kuehniella* (Lépidoptera : Pyralidae). Le potentiel insecticide de l'HE de *S. officinalis* en étant brute ou formulé et combinée avec de l'argile a été évalué sur quelques paramètres toxicologiques, comportementaux (répulsif) et biologiques (anti-appétant) contre l'espèce *T. castaneum*. Tandis que le potentiel insecticide de l'HE de *P. graveolens* a été déterminé en évaluant son effet sur la reproduction de l'espèce *E. kuehniella*.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Présentation du matériel biologique

Le modèle biologique étudié dans ce chapitre est représenté par des ravageurs des denrées stockées de deux ordres différents. L'espèce *Tribolium castaneum* est choisie pour représenter l'ordre des Coléoptères, ainsi que *Ephestia kuehniella* pour représenter les Lépidoptères. Bien que morphologiquement différents, les espèces de ces deux ordres sont holométales et partagent le même cycle vital, de l'œuf à l'adulte passant par le stade larvaire et nymphal.

Entre ravageurs primaires et secondaires, ces insectes posent un réel danger pour la sécurité alimentaire. En revanche, ils constituent un bon modèle biologique pour réaliser des tests scientifiques grâce à la facilité des manipulations, le faible coût et à leur court cycle de vie qui facilite leur élevage au laboratoire.

L'élevage d'*E. kuehniella* a été mené dans une étuve (LBAA) tandis que, l'élevage de *T. castaneum* au niveau d'une chambre d'élevage (INRAT) sous des conditions optimales de température $27 \pm 2 \text{ C}^\circ$ et une humidité relative de 70% (**Fig.16**).



Figure 16. Chambre d'élevage d'insectes à l'INRAT ($T= 27^\circ\text{C}$ et une humidité relative de 70%)
(Photo personnelle, 2023).

2.1.1. *Tribolium castaneum*

▪ Présentation

Le *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) ou le Tribolium rouge de la farine (**Fig.17**) est un ravageur cosmopolite de la famille de Ténébrionidés, le plus commun dans les greniers que d'autres Coléoptères. La Commission Canadienne des Grains (CCG) classe cet insecte parmi les insectes ravageurs primaires, ayant la capacité d'endommager les grains pour se

nourrir ou bien pour pondre les œufs. Ainsi, sa nature polyphagie, son taux élevé de reproduction ainsi que sa longévité qui s'étend de 2 à 3 ans le rend le plus destructeur des ravageurs.



Figure 17. *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797).

▪ **Position systématique**

La position systématique de *T. castaneum* a été mise à jour la dernière fois en 1965 par l'entomologiste [Mallamaire, A](#); qui l'a énoncé comme suit :

Règne :	Animalia
Embranchement :	Arthropoda
Classe :	Insecta
Ordre :	Coleoptera
Famille :	Tenebrionidae
Genre :	Tribolium
Espèce :	<i>Tribolium castaneum</i> (Herbst, 1797)

▪ **Morphologie**

L'adulte de *T. castaneum* est de couleur brun rougeâtre et mesure environ 4 mm de longueur. Sa morphologie est bien distincte (**Fig.18**), avec deux segments et une tête clairement visible, pourvue de deux antennes qui se terminent par une massue brusquement élargie. Le corps est subdivisé en deux grandes parties, l'abdomen et le thorax, sur lesquelles s'insèrent des pattes thoraciques.

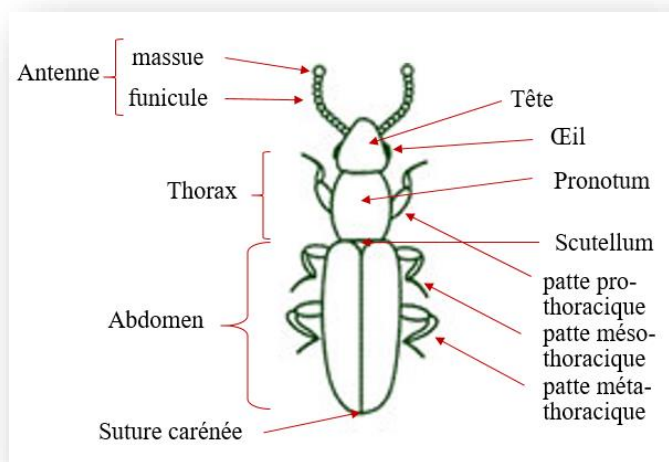


Figure 18. Morphologie d'un adulte de *T. castaneum* (photo personnelle).

▪ Cycle de vie

Le *T. castaneum* est un insecte holométabole (Fig.19). L'œuf de taille 0,5 mm environ, de couleur blanchâtre et d'une forme cylindrique donne naissance à une larve au bout de 16 jours. La larve mobile, de forme vermiforme et de couleur blanchâtre, passe par plusieurs stades larvaires, de 5 à 11 selon les conditions climatiques.

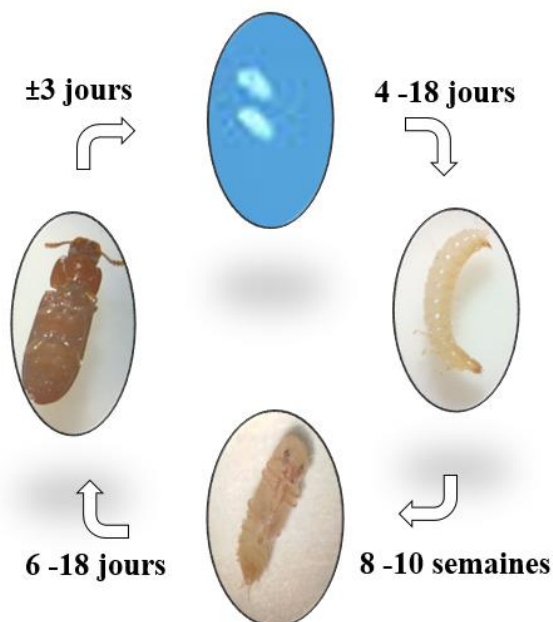


Figure 19. Cycle de vie de *Tribolium castaneum* (photos personnelle, 2023).

À la fin du stade Larvaire, la larve cesse de se nourrir, s'immobilise et se transforme en nymphe (**Fig.20**). Le stade nymphal dure en moyenne 10 jours.



Figure 20. Nymphe de *Tribolium castaneum* (photo personnelle, 2023).

▪ Distinction des sexes & reproduction

Les sexes se distinguent facilement au stade nymphal, au cours duquel, les femelles se distinguent des mâles par la présence des papilles génitales insérées sur la partie terminale de l'abdomen (**Fig.21**). Dès les trois premiers jours de la vie adulte, la femelle commence à pondre des œufs. Elle pond en moyenne deux à trois œufs quotidiennement, pendant les premiers six mois de sa vie.



Figure 21. Papilles génitales chez la femelle de *T. castaneum* (photo personnelle, 2023).

2.1.2. *Ephestia kuehniella*

▪ Présentation

La pyrale de la farine *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879), est un insecte ravageur de la famille des pyralidés. Ce ravageur originaire de l'Asie, bien qu'il apprécie les zones chaudes et humides, il se distribue actuellement dans le monde entier. Ainsi, il se classe parmi les

insectes ravageurs secondaires, qui se nourrit principalement de produits féculents (farine, blé, riz...).



Figure 22. Semoule infestée par *Ephestia kuehniella* (photo personnelle, 2023).

▪ **Position systématique**

Le **Centre National d'Information sur la Biotechnologie (NCBI, 2018)** a mis à jour la position systématique de l'espèce *E. kuehniella* comme suit :

Règne :	Animalia
Sous règne :	Metazoa
Embranchement :	Arthropoda
Classe :	Insecta
Ordre :	Lepidoptera
Famille :	Pyralidae
Genre :	Ephestia
Espèce :	<i>Ephestia kuehniella</i> (Zeller, 1879).

▪ **Morphologie**

L'adulte d'*E. kuehniella* mesure d'environ 20 mm d'envergure. Il possède deux paires d'ailes, les antérieures sont de couleur grise métallique avec des motifs en zigzag noirs. Tandis que les ailes postérieures sont de couleur blanchâtre et finement frangées. La tête est de forme globuleuse, sur laquelle s'insèrent deux antennes (**Fig.23**).



Figure 23. *Ephestia kuehniella* (www.insecta.pro.net).

▪ Cycle de vie

Le cycle de vie de l'insecte *E. kuehniella* est à métamorphose complète, passant de l'œuf à l'adulte par le stade larvaire et nymphal (Fig.24). Les œufs sont de forme ellipsoïdes, blanchâtres et éclosent quelques jours après la ponte. La larve mesure environ 10 mm et se caractérise par une couleur blanche rosée avec une tête brune, elle passe généralement par six à huit stades larvaires. La larve du dernier stade est succédée par le stade nymphal, où il y'aura plusieurs remaniements, notamment le développement sexuel (Cassier, 1996). La chrysalidation se fait dans un cocon de soie et la chrysalide (nymph) passe du blanc au brun au bout de quelques jours (8 à 12j). À ce niveau, l'adulte effectue un séchage et un redressement des ailes (Daumal & Boinel, 1994).

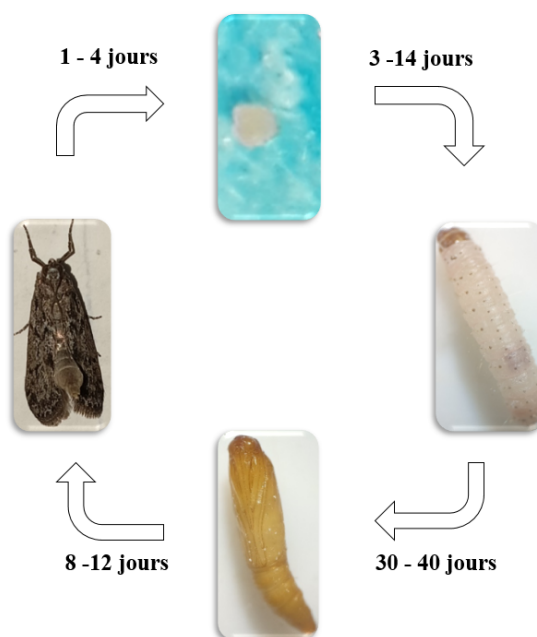


Figure 24. Cycle de vie de l'espèce *Ephestia kuehniella* (photos personnelles, 2023).

▪ Distinction des sexes & reproduction

La distinction des sexes chez l'insecte *E. kuehniella* se fait aisément au stade larvaire, d'où le mâle se distingue de la femelle par la présence des testicules sous forme d'une tache marronne sur la face dorsale (Fig. 25).

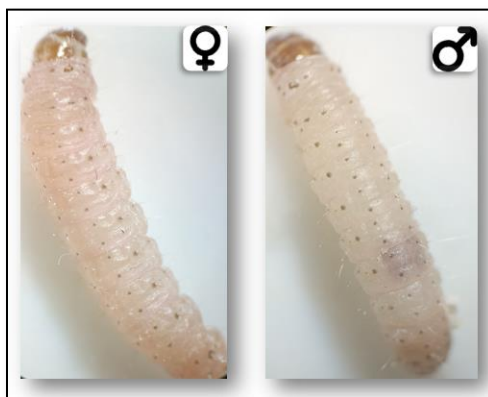


Figure 25. Distinction des mâles et femelles au stade larvaire d'*Ephestia kuehniella* (photos personnelles, 2023).

Juste après l'accouplement, les femelles commencent la ponte, avec une fécondité d'environ 200 œufs.

2.2. Lutte contre *Tribolium castaneum* avec l'huile essentielle de *Salvia officinalis*

2.2.1. Lutte avec l'huile essentielle

2.2.1.1. Toxicité par fumigation

L'effet toxique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* a été évalué par un test de fumigation sur des adultes du même âge (≤ 24 h) de *Tribolium castaneum*. Ce test consiste à saturer l'air avec différentes doses de l'HE, versées sur un papier whatman mis préalablement sur la face interne du couvercle des crachoirs (Fig.26). Différentes doses ont été utilisées dans cette étude (2, 4, 8 et 12,5 μ l), correspondaient à des concentrations de 50, 100, 200 et 312,5 μ l/L d'air, respectivement. Pour chaque concentration, le test a été répété 3 fois avec 10 adultes chacune. Une série témoin sans aucun traitement a été examinée de la même façon et dans les mêmes conditions. La mortalité a été déterminée chaque heure jusqu'à obtenir la mortalité totale. L'insecte est considéré mort si aucun mouvement des antennes ou des pattes n'est détecté.

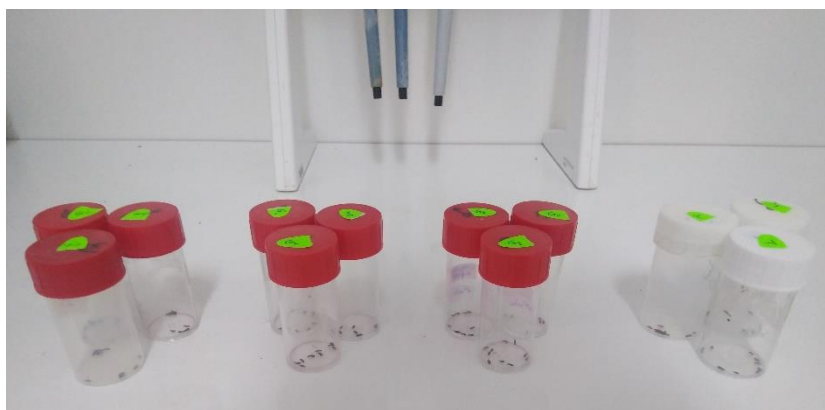


Figure 26. Test de fumigation à l'HE brute contre les adultes de *Tribolium castaneum* (photo personnelle).

2.2.1.2. Test de répulsion

Le test de répulsion a pour but d'estimer l'effet répulsif de l'huile essentielle de *S. officinalis* contre le Coléoptère, *T. castaneum*. Le protocole utilisé dans cette étude est celui proposé par McDonald *et al.* (1970) ; dans lequel dix adultes sont placés au centre d'une boîte Pétri tapissée du papier filtre, préalablement divisée en deux parties. La première partie est pulvérisée avec la dose sélectionnée de l'HE diluée dans l'acétone et la seconde partie est traitée avec l'acétone pure. Cinq doses de 2, 4, 8, 12,5 et 25 μl , correspondaient à des concentrations de 0,07 ; 0,15 ; 0,31 ; 0,49 et 0,99 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$, respectivement, ont été testées avec trois répétitions chacune.

Après une, trois, cinq et vingt-quatre heures d'exposition, les insectes trouvés sur chaque partie du papier sont comptés.

✚ Détermination du pourcentage de répulsion

Le pourcentage de répulsion (PR) est calculé par l'équation proposée par Nerio *et al.*, (2009) :

$$\text{PR} = [(\text{Nt}_1 - \text{Nt}_2) / (\text{Nt}_1 - \text{Nt}_2)] \times 100$$

Avec,

Nt_1 : nombre d'insectes sur la partie non traitée après la période d'exposition.

Nt_2 : nombre d'insectes sur la partie traitée après la période d'exposition.

Après avoir calculé le pourcentage de répulsion, il est attribué à l'une des différentes classes répulsives (**Tab.7**) qui se varie de 0 à V selon le classement de McDonald *et al.*, (1970).

Tableau 7. Les différentes classes répulsives, McDonald *et al.* (1970).

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

✚ Détermination de la dose répulsive médiane DR₅₀

La dose médiane répulsive est déterminée en étant la dose de l'huile essentielle qui fait repousser 50% des insectes exposés pendant 24h. Elle est déterminée par l'analyse de Probit selon la méthode de Finney (1971).

2.2.1.3. Test anti-appétant

Le pouvoir anti-appétant de l'huile essentielle de *S. officinalis* a été évalué par la méthode des disques de farine, conçue par Xie *et al.* (1996) et modifiée par Huang *et al.* (2002). Ce test consiste à introduire l'HE dans le régime alimentaire des adultes de *T. castaneum* et par rapport à une série témoin, plusieurs indices seront déterminés.

Les disques de farine sont préparés en mélangeant de la farine avec de l'eau ; le mélange est ensuite laissé à sécher pour pouvoir former des disques égaux. Une fois préparés, les disques ont été traités avec les différentes concentrations de l'HE (5 ; 10 et 15 µl) diluées dans l'acétone. Après traitement, les disques ont été pesés et placés dans des crachoirs avec 10 adultes de *T. castaneum* préalablement pesés. Les insectes ont été privés de nourriture pendant 48h avant le test. Trois répétitions ont été établies pour chaque traitement.

Après 72h, les disques et les insectes sont pesés encore une fois et les indices de nutrition sont calculés selon les formules suivantes :

- **Taux de croissance relatif** (Relative Growth Rate (RGR)) :

$$\text{RGR} = [(A - B) / B] \times J$$

A : poids des insectes vivants après le traitement (mg) / nombre d'insectes vivants.

B : poids initial des insectes (mg) / nombre d'insectes.

J : nombre de jours de traitement.

- **Taux de consommation relatif** (Relative Consumption Rate (RCR)) :

$$\text{RCR} = (\text{D/B}) \times \text{J}$$

D : biomasse ingérée (mg) / nombre d'insectes vivants après le traitement.

B : poids initial des insectes (mg) / nombre d'insectes.

J : nombre de jours de traitement.

- **Efficacité de conversion des aliments ingérés** (Efficiency of Conversion of Ingested food (ECI)) :

$$\text{ECI} (\%) = \text{RGR} / \text{RCR}$$

- **Indice de dissuasion alimentaire** (Feeding Deterrence Index (FDI)) :

$$\text{FDI} = [(C-T) / C] \times 100$$

C : consommation alimentaire pour les disques de témoin.

T : consommation alimentaire pour les disques traités.

- **Perte de poids** (Weight Loss) :

$$\text{WL} = [(PI - PF) / PI] \times 100$$

PI: poids initial

PF: poids final

2.2.2. Lutte avec l'huile essentielle en formulation

La lutte biologique contre le *T. castaneum* avec l'HE de *S. officinalis* en formulation a été faite en utilisant l'argile comme encapsulant. L'argile utilisée a été aimablement fournie par **Pr Mediouni Ben-Jemaa** (Professeur chercheur à l'INRAT), après avoir faire une chaîne de protocoles pour la purifier.

2.2.2.1. Préparation de la formulation argile-huile essentielle

La préparation de la formulation à base d'argile et d'huile essentielle de *S. officinalis* a été faite selon le protocole de [Keita et al. \(2001\)](#). Le protocole consiste à diluer une dose d'HE dans l'acétone et la mélanger avec une quantité d'argile. Le mélange subit une agitation manuelle pendant quelques minutes avant d'être mis dans un bain marie à 30C° afin

d'éliminer l'acétone. Ensuite, après l'évaporation complète du solvant, la formulation obtenue est conservée au 4°C dans un flacon hermétiquement fermé.

2.2.2.2. Toxicité par fumigation de l'HE en formulation

Afin d'évaluer l'effet fumigène de la formulation argile-HE, la valeur des concentrations létales (CL₅₀, CL₉₀) obtenues à partir du test de fumigation à l'HE incorporée seule, sont utilisées pour déterminer la quantité de la poudre de formulation à tester. De la même façon que le protocole du test de fumigation par l'HE administrée seule, le protocole du test de fumigation par l'HE formulée a été réalisé dans des crachoirs avec 10 adultes de *T. castaneum* pour chaque concentration, mais en utilisant un tissu de mousseline enveloppant la poudre formulée afin de ne pas la faire chuter et d'en assurer la diffusion. Une série témoin a été faite avec de l'argile pure.

2.2.2.3. Test de répulsion par l'HE en formulation

L'effet répulsif de la formulation argile-HE a également été testée contre *T. castaneum*. La quantité de la formulation utilisée était l'équivalent de la dose médiane répulsive (DR₅₀). Le protocole adopté pour le test est celui utilisé précédemment avec quelques modifications. Dans lequel, dans une boîte Pétri divisée en deux, une partie a été remplie d'une quantité de la poudre formulée et la deuxième partie est laissée vide. Dix (10) adultes seront par la suite mis au milieu de la boîte et le suivi ainsi que l'interprétation ont été faits comme proposé par [Mc Donald et al. \(1970\)](#).

2.3. Lutte contre *Ephestia kuehniella* avec l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens*

Le processus de reproduction de la pyrale *E. kuehniella* a été évalué dans le cadre d'une étude de lutte biologique avec l'HE de *P. graveolens*. La dose utilisée correspond à une dose létale (DL₅₀: 13,18 µl/ml) préalablement déterminée par **Dr HAMI** (Enseignante chercheur, Université 8 Mai 1954, Guelma). Ainsi, quelques paramètres du potentiel reproducteur et une étude morphométrique et biochimique des ovaires des femelles ont été déterminés.

Tout d'abord, la dose létale (DL₅₀) a été administrée, par application topique, à des chrysalides femelles nouvellement exuviées (0j), avec une quantité de 2 µl, sur la face ventrale postérieure. Aucun traitement n'est administré aux témoins.

2.3.1. Potentiel reproducteur

Les paramètres déterminant le potentiel reproducteur sont mesurés une fois que les adultes ont émergés. À ce stade, une femelle et un mâle du même âge sont mis en couple et le suivi du processus d'accouplement et de reproduction commence (**Fig.27**). Deux séries de couples sont distinguées avec 05 répétitions chacune:

- 1^{ère} série : femelle _{Témoin} × mâle _{Témoin}
- 2^{ème} série : femelle _{DL50} × mâle _{Témoin}



Figure 27. Accouplement des adultes de l'espèce *Ephestia kuehniella* (photo personnelle, 2024).

Le premier paramètre à mesurer, après accouplement, correspond à la période de pré-oviposition qui se détermine par le nombre de jours entre le processus d'émergence et le début de ponte. Une fois la ponte commencée, un autre paramètre est déterminé en comptant le nombre de jours dans lesquels la femelle a pondu : c'est la période d'oviposition. Ainsi, le nombre d'œufs pondus détermine la fécondité des femelles.

Ainsi, la durée séparant l'exuviation nymphale de l'exuviation adulte, qui permet d'évaluer la période du développement nymphal a été évaluée.

2.3.2. Morphométrie des ovaires

L'étude morphométrique des ovaires de la femelle *E. kuehniella* a été réalisée sur une série témoin et une série traitée avec la DL₅₀. Les ovaires ont été prélevés par dissection sous une loupe binoculaire dès l'émergence. En premier temps, le poids des ovaires a été déterminé, puis le nombre d'ovocytes de chaque paire d'ovaires ainsi que la longueur (L) et la largeur (l) de l'ovocyte basal sont mesurés par le biais d'un micromètre oculaire.

Ainsi, le volume qui s'exprime en mm³ est calculé par la formule proposée par [Lumbreras et al. \(1991\)](#) :

$$V = \frac{4}{3}\pi (L/2) (l/2)^2$$

2.3.3. Prélèvement des ovaires et dosage des vitellines

Les ovaires prélevés des femelles témoins et traitées ont été conservés dans 0,5 ml de tampon Tris-HCL-NaCl à pH égal à 7,4. L'extraction a été faite en suivant le protocole proposé par [Postlethwait *et al.* \(1980\)](#). Les échantillons sont homogénéisés par ultrason et l'homogénat obtenu est soumis à une centrifugation pendant 10 min à 5000 tours/min. Trois couches sont distinguées, la surnageante, le culot et l'intermédiaire qui renferme les vitellines. Cette dernière est récupérée et conservée à -20 C°.

Le dosage des vitellines est fait selon le protocole de [Bradford *et al.* \(1976\)](#) qui utilise le Bleu Brillant de Coomassie (BBC) comme réactif et l'albumine de sérum de Bœuf comme standard. La lecture des absorbances a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595nm et les résultats sont exprimés en µg/mg.

3. RÉSULTATS

3.1. Effet toxique de l'HE de *Salvia officinalis* par fumigation sur des adultes de *Tribolium castaneum*.

L'effet toxique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* par fumigation sur des adultes de *Tribolium castaneum* est présenté par le taux de mortalité des insectes en fonction du temps. L'analyse statistique de la variance, ANOVA, indique que la toxicité par fumigation dépend significativement des concentrations utilisées ($F= 4,3$; $P \leq 0,01$; $ddl= 4$) et dépend d'une manière très hautement significative en fonction du temps d'exposition ($F= 11,24$; $P \leq 0,001$; $ddl= 4$).

La **figure 28** montre que les pourcentages de mortalité augmentent proportionnellement avec l'augmentation des doses utilisées. En outre, on constate une mortalité totale après 60h d'exposition pour les concentrations les plus élevées (200 et 312,5 $\mu\text{l/L}$ d'air), tandis que la concentration 100 $\mu\text{l/L}$ d'air ne l'induit qu'après 132h. Le pourcentage de mortalité pour la série d'insectes traités avec la plus petite concentration utilisée (50 $\mu\text{l/L}$ d'air) a progressé rapidement au bout de 36h d'exposition, puis il a marqué une stabilité pendant les heures qui suivent; pour qu'il atteigne 90% à 132h. En revanche, aucune mortalité n'a été observée chez les témoins tout au long de l'expérimentation.

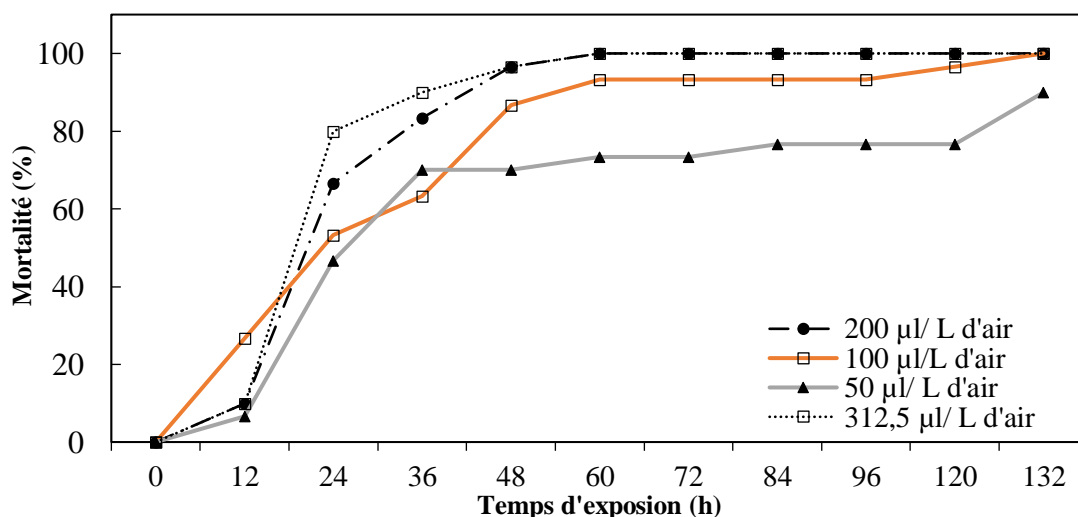


Figure 28. Pourcentage de mortalité des adultes de *Tribolium castaneum* exposés à différentes doses de l'HE de *Salvia officinalis* au cours du temps (h).

L'analyse de régression linéaire, Probit, a prouvé l'efficacité de l'HE de *S. officinalis* après 24h d'exposition contre les adultes de *T. castaneum* avec des concentrations létales

(CL₅₀, CL₉₀) égales à 75,41 et 438,63 µl/L d'air, correspondaient à des doses létales (DL₅₀, DL₉₀) de 3,01 et 17,54 µl, respectivement (**Tab.8**).

Tableau 8. Valeurs des concentrations létales (CL₅₀, CL₉₀) de l'HE de *S. officinalis* contre des adultes de *T. castaneum* exposés par fumigation.

	CL 50 (µl/L d'air)	CL90 (µl/L d'air)	χ 2	Sig	Ddl
<i>S. officinalis</i>	75,41 (-130,07 - 142,17)	438,63 (313,01 – 1051,14)	0,003	0,999 ^a	2

Le **tableau 9**, présente les temps létaux auxquels l'HE de *S. officinalis* peut tuer 50 % et 90 % de la totalité de la population, exposée à différentes concentrations. On remarque que les temps létaux (TL₅₀, TL₉₀) ont subi un décroissement en fonction de l'augmentation des concentrations. D'ailleurs, à la plus faible concentration (50 µl/L d'air) les TL_{50,90} étaient respectivement de l'ordre de 51,61 et 133,97 (h); pour qu'ils soient 19,50 et 32,79 (h) en s'exposant à la plus forte concentration (312,5 µl/L d'air).

Tableau 9. Valeurs des temps létaux (TL₅₀, TL₉₀) de l'HE de *S. officinalis* contre des adultes de *T. castaneum* exposés par fumigation.

Concentrations (µl/L d'air)	TL 50 (h)	TL90 (h)	χ 2	Sig	ddl
50	51,61	133,97	19,71	≤0,001 ^a	2
100	27,84	68,50	23,03	≤0,001	2
200	22,69	35,54	7,04	≤0,03	2
312,5	19,50	32,79	12,97	≤0,002	2

3.2.Effet répulsif de l'HE de *Salvia officinalis* contre *Tribolium castaneum*

3.2.1. Détermination des pourcentages de répulsion

Les résultats obtenus pour le test de répulsion de l'HE de *S. officinalis* contre le coléoptère *T. castaneum* dépendent principalement de la concentration à laquelle l'insecte est exposé et, également, de la durée d'exposition. La **figure 29** montre qu'à la plus faible concentration testée, le pourcentage de répulsion se décroît en fonction du temps. En allant de 80% à la première heure, jusqu'à 46% après 24 h d'exposition ; cela pourrait être dû à l'évaporation de l'HE, compte tenu de la faible dose utilisée.

En revanche, pour les concentrations 0,15 ; 0,31 et 0,49 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$, le pourcentage de répulsion augmente au cours du temps avec l'augmentation des concentrations utilisées, jusqu'à l'obtention d'un effet répulsif total (100%) après 24h d'exposition. Cependant, une perturbation du comportement des insectes a été observée, après traitement par la concentration la plus élevée (0,99 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$), à laquelle, les plus faibles pourcentages sont enregistrés. Ceci pourrait être expliqué par l'effet neuro-insecticide de l'HE exercé sur l'insecte, provoquant sa perte de conscience.

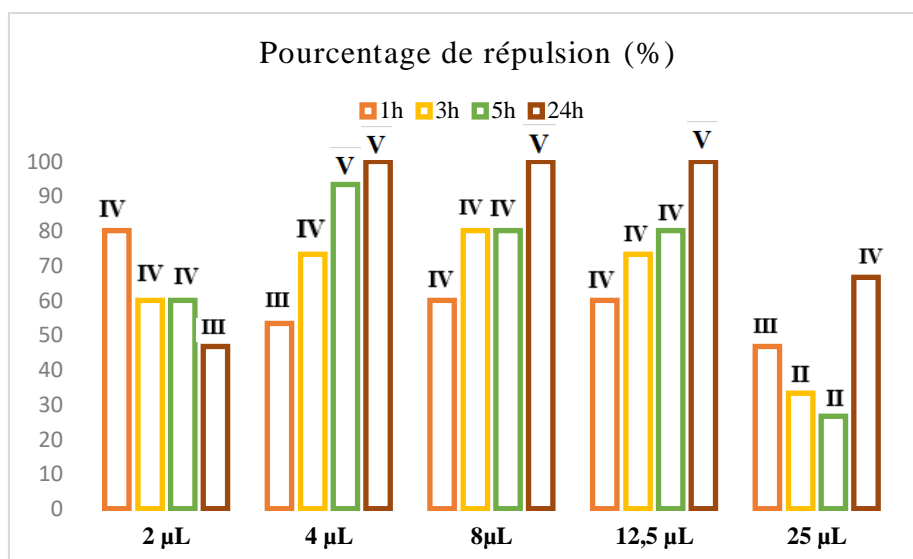


Figure 29. Pourcentage de répulsion (%) de l'insecte *T. castaneum* au cours du temps (h), attribué à la classe répulsive correspondante.

3.2.2. Détermination de la dose répulsive médiane DR_{50}

L'analyse statistique démontre la valeur de la dose répulsive médiane DR_{50} qui a fait repousser 50% des adultes de *T. castaneum* exposés aux différentes concentrations de l'HE de *S. officinalis* pendant 24h (**Tab.10**).

Tableau 10. Dose répulsive médiane DR_{50}

	DR_{50} ($\mu\text{L}/\text{cm}^2$)	Khi-deux	ddl	<i>P</i>
<i>Salvia officinalis</i>	8,14	175,065	3	$\leq 0,001$

3.3.Effet anti-appétant de l'HE de *Salvia officinalis* contre des adultes de *Tribolium castaneum*

3.3.1. Effet sur les indices de nutrition et de dissuasion alimentaire

Le pouvoir anti-appétant de l'HE de *S. officinalis* exercé contre des adultes de *T. castaneum* se traduit par les différentes valeurs d'indices de nutrition et de dissuasion alimentaire déterminées. Ainsi, le taux de croissance relative RGR, le taux de consommation relative RCR, l'efficacité de conversion des aliments ingérés ECI et l'indice de dissuasion alimentaire FDI, sont consignés dans le **Tableau 11**.

Tableau 11. Indices de nutrition pour les adultes de *T. castaneum* traités avec différentes concentrations de l'HE de *S. officinalis*.

	RGR	RCR	ECI (%)	FDI (%)
Témoin	0,216 ± 0,08	1,756 ± 0,02	13,53 ± 0,05	-
C1	-0,106 ± 0,02**	1,270 ± 0,07**	-08,41 ± 0,04	7,47 ± 0,07
C2	-0,187 ± 0,08**	0,943 ± 0,09***	-19,38 ± 0,08	25,85 ± 0,09
C3	-0,232 ± 0,03***	0,723 ± 0,09***	-30,97 ± 0,06	48,48 ± 0,09

L'analyse statistique montre qu'une différence très hautement significative existe entre les valeurs des séries traitées et celles des témoins pour les indices RGR, (ddl= 3 ; $P \leq 0,001$; $F = 15,62$) ; et RCR, (ddl= 3 ; $P \leq 0,001$; $F = 27,67$). Par ailleurs, à mesure que les concentrations de l'HE augmentaient, le taux de croissance des insectes et le taux de consommation relative décroît. De même, pour les trois concentrations testées, la conversion des aliments ingérée a diminué de manière dose-dépendante.

De plus, le traitement utilisé a montré une dissuasion alimentaire remarquable, qui augmentait avec la dose utilisée. D'ailleurs, les insectes qui s'étaient nourris avec la dose la plus élevée, présentaient un pourcentage FDI de plus de 48 %.

3.3.2. Effet sur la perte de poids.

Le test statistique appliqué pour comparer les moyennes entre les groupes des témoins et des traités avec les différentes concentrations, révèle que le traitement utilisé contre les adultes de *T. castaneum* a montré une différence hautement significative ($p \leq 0,001$) sur leur poids. En outre, au bout de trois jours le groupe traité par la dose la plus élevée a marqué une

perte de poids égale à 10 % en moyenne. En revanche, le groupe des témoins a montré une prise de poids considérable.

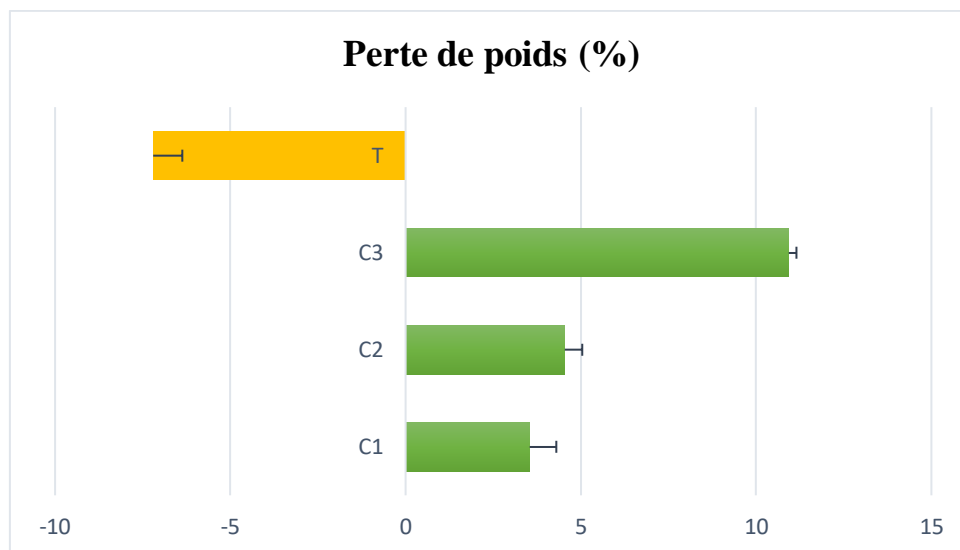


Figure 30. Pourcentage de perte et/ou de prise de poids chez les adultes de *T. castaneum*.

3.4.Effet de la formulation Argile-HE de *S. officinalis* sur des adultes de *Tribolium castaneum*

3.4.1. Effet fumigant de la formulation Argile-HE

L'effet fumigant de la formulation Argile-HE a été également déterminée contre des adultes de *T. castaneum*. La figure 31, montre le pourcentage de mortalité des insectes exposés à différentes quantité de la formulation (équivalente de la CL₅₀ et CL₉₀). On constate que la formulation avec la CL₉₀ a induit une mortalité à 100% après 36 heures d'exposition. En revanche la formulation avec la CL₅₀ ne l'a induit qu'après 60h.

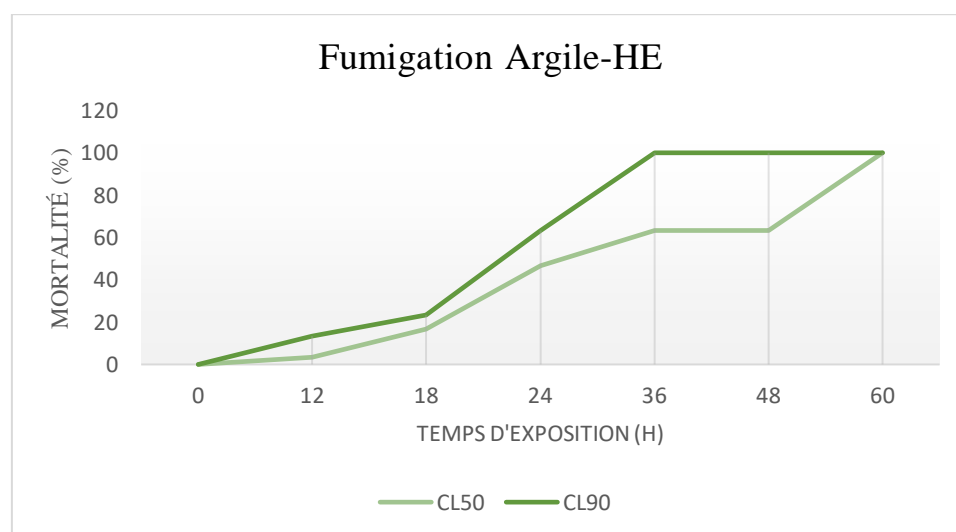


Figure 31. Pourcentage de mortalité des adultes de *T. castaneum* exposés à différentes concentrations de la formulation Argile-HE.

3.4.2. Effet répulsif de la formulation Argile-HE

L'effet répulsif de la formulation d'argile avec l'HE de *S. officinalis* a été testé contre les adultes de *T. castaneum*. Les résultats obtenus montrent que la formulation a exhibé un fort pouvoir répulsif contre l'insecte avec un pourcentage de répulsion égal à 100% pour les différents temps d'exposition (**Fig. 32**).



Figure 32. Effet répulsif de la formulation argile-HE contre des adultes de *T. castaneum* (photo personnelle, 2024).

3.5. Effet de l'HE de *P. graveolens* sur le potentiel reproducteur d'*Ephestia kuehniella*

3.5.1. Effet sur le développement nymphal

La période de développement nymphal, identifiée par le nombre de jours séparant l'exuviation nymphale de l'exuviation adulte a été déterminée. Le test 't' de student montre une différence significative ($p \leq 0,05$) entre les valeurs de la série traitée avec la DL₅₀ et la série des témoins. De plus, on constate une prolongation remarquable chez les traités avec une moyenne de 15 ± 1 jours, contrairement aux témoins qui ont pris $10 \pm 0,6$ jours en moyenne (**Fig.33**).

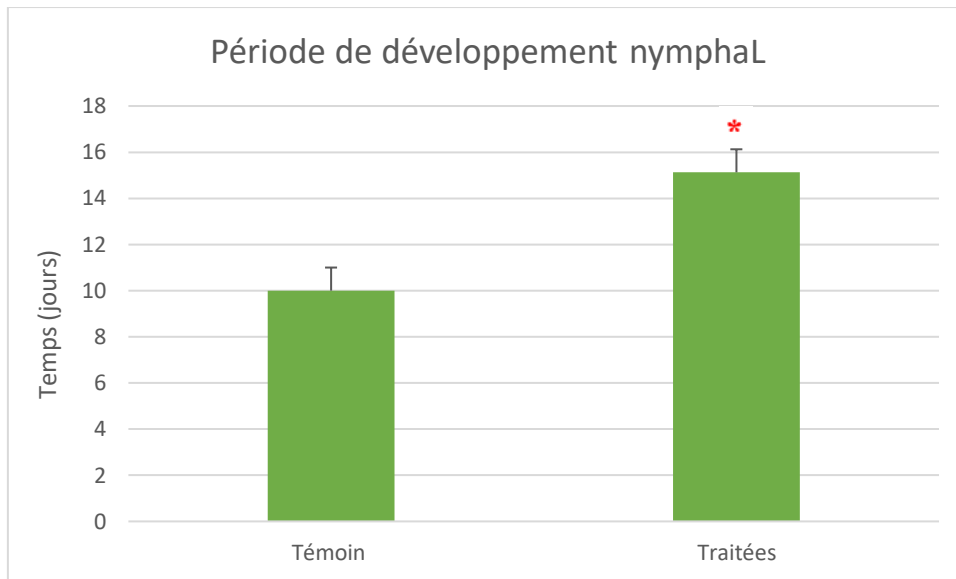


Figure 33. Effet de l’HE de *P. graveolens* administrée par application topique sur des chrysalides d’*E. kuehniella* nouvellement exuvies, sur la période de développement nymphal.

3.5.2. Effet sur les périodes de pré-oviposition et d’oviposition

Le test statistique effectué pour estimer la différence entre la durée des périodes de pré-oviposition et d’oviposition des adultes femelles d’*E. kuehniella*, révèle une différence hautement significative ($p \leq 0,01$) entre les valeurs enregistrées chez les traitées et les témoins. Comme montré sur la **figure 34**, la période de pré-oviposition chez les traitées a été prolongée avec 2 jours de plus en moyenne, par rapport aux témoins. Par contre, la période d’oviposition a marqué une réduction de 4 jours en moyenne.

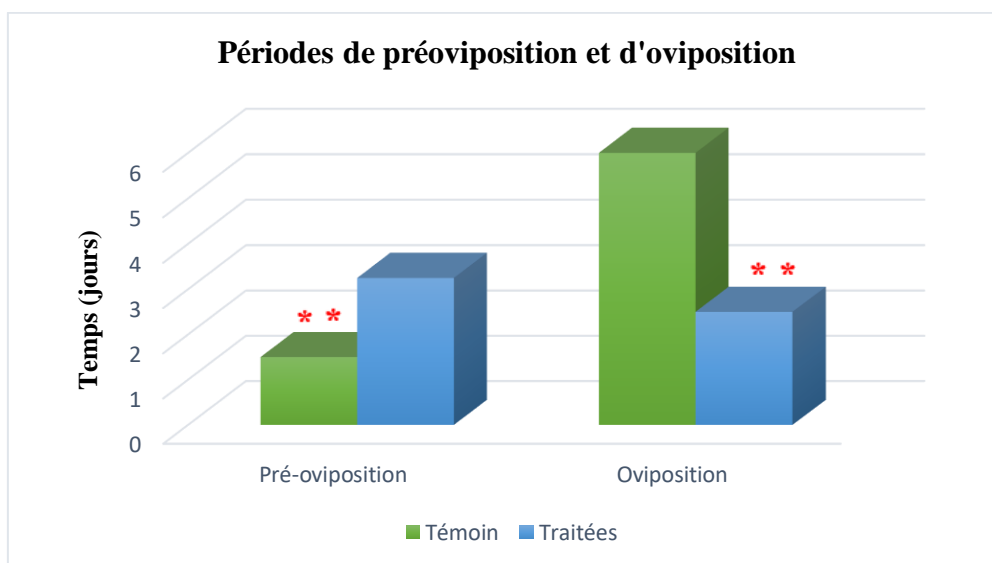


Figure 34. Effet de l’HE de *P. graveolens* administrée par application topique sur des chrysalides d’*E. kuehniella* nouvellement exuvies, sur les périodes de pré-oviposition et d’oviposition.

3.5.3. Effet sur la fécondité des femelles

La fécondité des femelles, déterminée par le nombre d'œufs pondus par les femelles tout au long de leur période d'oviposition, a été estimée avec une différence hautement significative ($p \leq 0,01$) entre les valeurs de la série témoin et celles de la série traitée. Le **figure 35** montre le nombre d'œufs comptés pour les deux séries. Les femelles témoins, ont pondu en moyenne 128 œufs, tandis que les femelles traitées ont pondu 40 œufs en moyenne.

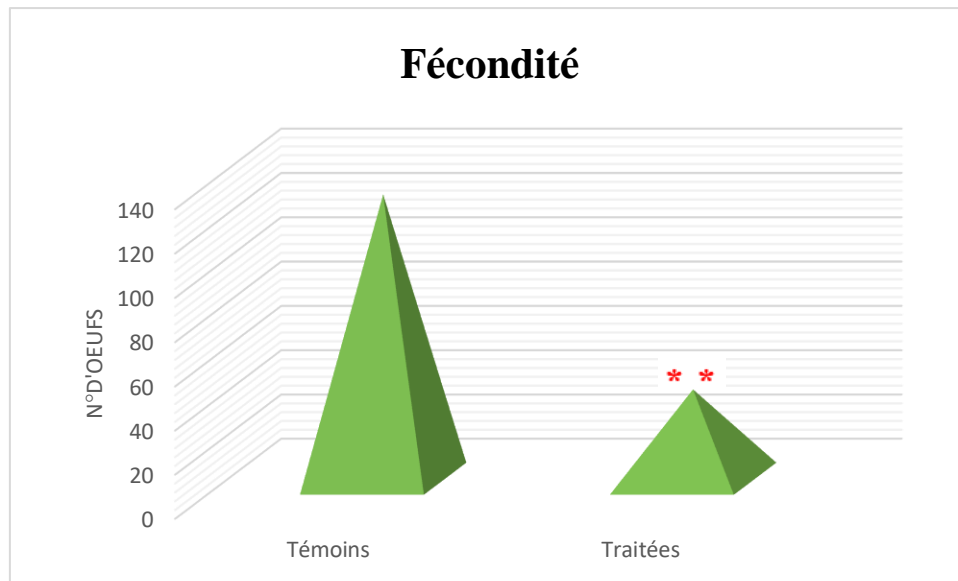


Figure 35. Effet de l'HE de *P. graveolens* administrée par application topique sur des chrysalides d'*E. kuehniella* nouvellement exuvies, sur la fécondité des femelles.

3.6. Effet de l'HE de *P. graveolens* sur la morphométrie des ovaires

L'étude morphométrique effectuée sur les ovaires des femelles adultes d'*E. kuehniella* a permis de déterminer les différents paramètres susceptibles d'être affectés par le traitement. Le **figure 36** montre les principales étapes réalisées, en commençant par la dissection sous-binoculaire, l'extraction des ovaires et enfin le dénombrement des ovocytes et la détermination de la biométrie de l'ovocyte basal.

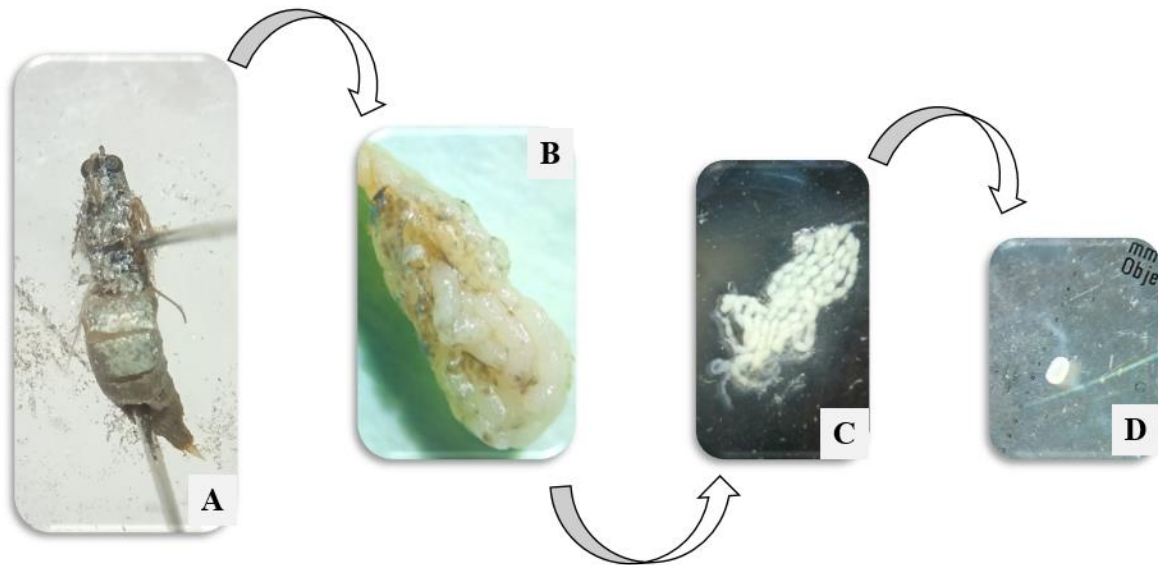


Figure 36. Étude morphométrique. **A** : dissection. **B** : extraction des ovaires. **C** : détermination du nombre d'ovocytes. **D** : détermination des dimensions de l'ovocyte basal.

3.6.1. Effet sur le poids des ovaires

Après dissection, les ovaires sont immédiatement prélevés et pesés à l'aide d'une balance de précision. Les résultats obtenus révèlent une différence significative ($p \leq 0,05$) entre le poids des ovaires chez les femelles témoins et traitée (**Tab.12**).

Tableau 12. Effet de l'HE de *P. graveolens* administrée par application topique sur des chrysalides femelles nouvellement exuvies sur le poids de leurs ovaires.

Traitement	Poids des ovaires (mg)
Témoins	$4,7 \pm 0,05$
DL ₅₀	$3,0 \pm 0,04^*$

3.6.2. Effet sur le nombre d'ovocytes

L'HE de *P. graveolens* appliquée sur des nymphes nouvellement exuvies a induit une réduction hautement significative ($P \leq 0,01$) du nombre d'ovocytes dans les ovaires. **Tableau 13** montre que le nombre d'ovocytes dans les ovaires des témoins était presque le double par rapport à celui dans les ovaires des traitées (**Tab 13**).

Tableau 13. Effet de l'HE de *P. graveolens* administrée par application topique sur des chrysalides femelles nouvellement exuvies sur le nombre d'ovocytes.

Traitement	Nombre d'ovocytes
Témoins	108,66 ± 2,08
DL ₅₀	64,00 ± 4,35**

3.6.3. Effet sur la longueur et la largeur de l'ovocyte basal

Les différentes dimensions prises sur les ovocytes des séries témoins et traitées ont marqué une différence significative ($P \leq 0,05$) (Tab. 14).

Tableau 14. Effet de l'HE de *P. graveolens* administrée par application topique sur des chrysalides femelles nouvellement exuvies sur la longueur et la largeur de l'ovocyte basal.

Traitement	Longueur (µm)	Largeur (µm)
Témoins	525,0 ± 25,0	260,6 ± 12,8
DL ₅₀	308,3 ± 14,4*	183,3 ± 14,4*

3.6.4. Effet sur le volume de l'ovocyte basal

De même, le traitement appliqué sur les nymphes femelles a induit une réduction significative ($P \leq 0,05$) sur le volume des ovocytes basaux (Tab.15).

Tableau 15. Effet de l'HE de *P. graveolens* administrée par application topique sur des chrysalides femelles nouvellement exuvies sur le volume de l'ovocyte basal.

Traitement	Volume de l'ovocyte basal (mm ³)
Témoin	0,0194 ± 0,0023
DL ₅₀	0,0054 ± 0,0007 *

3.7. Effet de l'HE de *P. graveolens* sur la teneur en vitellines dans les ovaires

Le test statistique, Mann-Whitney, révèle une différence significative ($p \leq 0,05$) entre la teneur en vitellines déterminé dans les ovaires des échantillons traités et témoins. Une valeur de $174,3 \pm 9,97 \mu\text{g}/\text{mg}$ a été enregistré pour les témoins et une valeur de $73,4 \pm 1,90$ pour les traités, soit une réduction de 42,11%.

Tableau 16. Effet de l'HE de *P. graveolens* sur la teneur en vitellines dans les ovaires d'*E. kuehniella*.

Traitement	Contenu en vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
Témoins	174,3 \pm 19,97
DL ₅₀	73,4 \pm 1,90 *

4. DISCUSSION

Depuis des années, la mise en place de stratégies efficaces de lutte contre les ravageurs des denrées stockées s'est imposée, afin d'assurer une sécurité alimentaire durable. Par ailleurs, diverses méthodes curatives et/ou préventives ont été impliquées. Les plus anciennes ont basé généralement sur des techniques physiques et biologiques (Aicha *et al.*, 2024); incluant le criblage, le tamisage, le tri manuel, ou même des pièges mécaniques, pour pouvoir séparer les insectes des aliments. De plus, des traitements thermiques basés sur l'emploi de sources de froid (congélation, réfrigération) ou de chaleur (air et eau chaude, vapeur, micro-ondes ou même des rayons infrarouges) ont été appliqués (Ben-Jemâa *et al.*, 2013). D'autre part, les méthodes biologiques, impliquant en particulier des espèces prédatrices ont garantis une efficacité considérable.

Par ailleurs, avec le développement de la chimie de synthèse, les méthodes traditionnelles ont été progressivement remplacées par des pesticides à base de molécules synthétiques, qui étaient efficaces, pratiques et à effet immédiat. Ceci a conduit à une dépendance d'usage totale. La phosphine, le fluorure de sulfuryle et le méthyl bromide ont été parmi les premiers pesticides utilisés, par contre le méthyl bromide a été retiré par l'organisation météorologique mondiale à cause de son potentiel à appauvrir la couche d'ozone (WHO, 1991).

D'autre part, de nombreuses familles chimiques telles que les organophosphorés et les carbamates étaient à l'origine de plusieurs formulations insecticides (Malathion, Chlorpyrifos, Actara...). Les organophosphorés (OP) sont apparus en premier et ils ont été utilisés contre une large gamme d'insectes nuisibles en tant qu'inhibiteurs d'acétylcholinestérase (Amira *et al.*, 2011; Amamra *et al.*, 2019; Belabed & Soltani, 2022). En outre, les carbamates ont été développés en tant qu'alternatives aux OP avec une grande spécificité (Vale & Lotti, 2015).

Parmi les sérieux problèmes traités par les pesticides chimiques figure l'infestation des aliments et des denrées stockées par les insectes nuisibles, appartenant aux différents ordres. Ainsi, un large éventail a prouvé son potentiel insecticide contre des Lépidoptères ravageurs (Sharifi *et al.*, 2013; Chandra & Tiwari, 2020; Asadi *et al.*, 2021) ; également contre des Coléoptères ravageurs (Elzen *et al.*, 2000; Ali *et al.*, 2013; Darvishzadeh &

Sharifian, 2015; Hasan & Ansari, 2017) et aussi contre des Hémiptères ravageurs (Kontsedalov *et al.*, 2009; Baldin *et al.*, 2015).

Cependant, malgré l'efficacité prouvées des insecticides chimiques, ceci ne leur fait pas exempts d'inconvénients. En effet, leur utilisation abusive a provoqué des effets néfastes qui se sont répercutés sur la biodiversité, l'équilibre des écosystèmes et sur la santé des êtres humains (Sambou, 2018; Gupta & Gupta, 2020). D'ailleurs, la FAO déclare que la majorité des produits synthétiques utilisés pour la gestion des insectes est devenue une sérieuse problématique (FAO, 2015). En outre, de nombreuses espèces non-ciblés sont affectées par voie directe ou indirecte. Par conséquent, divers degrés d'effets secondaires sont enregistrés, affectant le développement, la reproduction ou même induisant la mort.

Les considérations ci-dessus, ont orienté la recherche vers des alternatives efficaces, en tenant compte de leurs effets sur les espèces non-ciblés. Ces alternatives sont qualifiées de bio-pesticides, en raison de leur origine 100 % biologique. Les ressources végétales se considèrent comme la nouvelle génération des insecticides dotées de différentes propriétés, ovicide, larvicide, répulsif, fumigants, anti-appétant et même inhibiteur de croissance (Carroll *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2020; Visakh *et al.*, 2022). Ces diverses propriétés sont attribuables à la richesse des plantes en métabolites secondaires, qui se présentent sous forme d'huiles essentielles.

En outre, l'application des HE comme traitement insecticide implique différentes méthodes, dont l'efficacité varie en fonction de l'espèce ravageur et du champ de traitement. Ainsi, la méthode d'application des bio-insecticides détermine leur mode d'action en agissant sur l'insecte après avoir atteint la cible de plusieurs façons. Par ailleurs, certains traitements peuvent être très toxiques et conduire directement à la mort, tandis que d'autres interfèrent avec le cycle de reproduction, réduisant la fécondité et perturbant la croissance et le développement des générations suivantes.

La présente étude a mis en évidence le mode d'action des huiles essentielles étudiées, après les avoir appliqué par différentes méthodes contre les insectes ravageurs sélectionnés. Le chapitre est subdivisé en deux parties: la première couvre les paramètres étudiés avec l'HE de *S. officinalis* en termes d'effets létaux, comportementaux et biologiques contre le Coléoptère *T. castaneum*. Tandis que la deuxième partie se concentre sur la reproduction du Lépidoptère *E. kuehniella*, traité par application topique avec l'HE de *P. graveolens*.

I. Effet insecticide de l'HE de *S. officinalis* contre *T. castaneum*

➤ Effet fumigène

Le test de fumigation réalisé contre les adultes de *T. castaneum*, a permis de confirmer la viabilité de cette méthode qui est la plus connue et la plus adoptée depuis des années, quel que soit le traitement utilisé. Les résultats obtenus, ont dévoilé un pourcentage de mortalité très important juste après 24h d'exposition. En fait, un pourcentage de plus de 66 % et de 80 % a été enregistré pour les doses 8 et 12,5 µl, respectivement. Avec les mêmes doses de la même plante, [Alcala-Orozco et al. \(2019\)](#) ont marqué un taux de mortalité égale à 13%, ce qui est très loin des résultats obtenus au cours de notre étude. En revanche, un pourcentage proche au notre a été enregistré avec l'HE de *Artemisia herba-alba* contre le même insecte ([Badreddine et al., 2016](#)). En effet, l'effet fumigène de quelques huiles essentielles issues de différentes familles de plantes, a été testé contre des larves et des adultes du *T. castaneum* ([Abou-Taleb et al., 2016](#); [Boukraa et al., 2020](#); [Liang et al., 2020](#); [Alsudani et al., 2021](#); [Bano et al., 2022](#)). Les résultats montrent que les adultes semblent plus résistants au traitement que les larves; Cette résistance pourrait être expliquée par la présence d'une cuticule rigide chez les adultes, nécessitant des concentrations plus élevées et une période d'exposition plus longue pour la pénétration de l'HE ([Benzi et al., 2014](#); [Chaaban et al., 2024](#)).

La forte teneur en terpènes de l'HE de *S. officinalis* peut être la principale raison de sa toxicité, du fait que plusieurs études ont établi un lien entre l'activité insecticide et la présence des composés terpéniques ([Kim & Lee, 2014](#); [Rosa et al., 2020](#)). D'ailleurs, les monoterpènes qui dominent la composition chimique de l'HE de la sauge sont connus par leur toxicité contre *T. castaneum* ([Awoyinka et al., 2006](#); [Silva et al., 2008](#); [Khani et al., 2012](#)). De surcroît, le 1,8 Cinéole, une des terpènes majoritaires, a montré son fort potentiel insecticide contre une large gamme d'insectes ravageurs. En outre, cette molécule était un puissant fumigant contre *T. castaneum*, en induisant des effets létaux, des perturbations de croissance et des réductions de la progéniture ([Sener et al., 2009](#); [Liska et al., 2011](#); [2015](#); [Derbalah et al., 2024](#)).

D'autre part, l'efficacité approuvée par les bio-insecticides fumigants est due au fait que l'insecte est exposé au traitement par deux voies différentes, la voie cutanée par laquelle l'HE pénètre par la peau et la voie d'inhalation à travers le système respiratoire. Par

conséquent, l'HE agira à différents niveaux, à savoir moléculaire, cellulaire ou tissulaire (Fu *et al.*, 2023).

➤ Effet répulsif

Le comportement de l'insecte a été étudié dans ce travail en appliquant la méthode de la zone préférée, proposée par Mc Donald *et al.* (1970). En effet, l'insecte choisira l'une des deux zones définies pour la sélection. Le traitement utilisé peut être aussi bien répulsif qu'attractif, mais généralement la majorité des dérivés végétaux sont répulsifs. Par ailleurs, il a été démontré que plusieurs plantes aromatiques repoussent le coléoptère *T. castaneum* (Wang *et al.*, 2006; You *et al.*, 2015; Elnabawy *et al.*, 2022). De même, nos résultats montrent que l'HE de la sauge présente un fort potentiel répulsif contre le même insecte. En revanche, l'étude de Jerbi *et al.* (2021) a montré que cette HE présentait un faible effet répulsif, qui ne dépasse pas la classe II. En outre, un effet répulsif de l'HE de la même plante a été enregistré contre *Trogoderma granarium* (Rguez *et al.*, 2019).

En général, les composés végétaux qui agissent comme répulsifs se considèrent comme des substances sémio-chimiques qui seront captées par l'insecte *via* les sensilles olfactives de ses antennes (Ukeh & Umoetok, 2011). Ces dernières sont considérées comme le principal organe de perception de l'odorat chez les insectes (Haridasan *et al.*, 2017). De plus, le traitement répulsif crée une sorte de barrière qui empêche l'insecte de traverser ou d'entrer en contact avec la surface traitée (Nerio *et al.*, 2010). À cette fin, le comportement de l'insecte se modifie dépendamment de la composition et de la concentration du traitement utilisé.

Par ailleurs, les différentes caractéristiques qui confèrent aux molécules la capacité d'agir comme répulsives sont toujours mal connues. Cependant, quelques études ont permis de déterminer certains paramètres qui pourraient être de bons descripteurs du pouvoir répulsif, en donnant par exemple la pression, la lipophilie, et le point d'ébullition du produit (Katritzky *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2008; Caballero-Gallardo *et al.*, 2011).

En outre, quelques études ont dévoilé la corrélation entre la composition chimique et l'effet répulsif des huiles essentielles. Cependant, il a été révélé que leurs propriétés insecticides dépendent principalement de la teneur totale en monoterpènes, en raison de leur volatilité et de leur lipophilie élevée (Lee *et al.*, 2003; Stamopoulos *et al.*, 2007). Or, la

majorité des composés de l'HE de la sauge sont des monoterpènes, ce qui explique les résultats obtenus au cours de notre étude.

➤ Effet anti-appétant

L'effet anti-appétant de l'HE de *S. officinalis* contre le coléoptère *T. castaneum* a également été étudié. En effet, l'alimentation est un processus biologique fondamental pour la survie des êtres vivants, y compris les insectes. Ainsi, son inhibition altère leur développement et leur croissance. À cette fin, la méthode consistant à inhiber l'alimentation des insectes, s'est avérée très efficace pour lutter contre les ravageurs des denrées stockées (Khani *et al.*, 2012).

En outre, plusieurs indices biologiques ont été déterminés, y compris les indices de nutrition et de dissuasion alimentaire. Les résultats obtenus démontrent que le traitement utilisé a permis de réduire la consommation de nourriture et donc de perturber la croissance des insectes. Par ailleurs, l'HE de la sauge s'est également avérée dissuasive pour l'insecte étudié, avec une relation dose-dépendante.

De même, différents extraits de plantes ont montré un effet anti-appétant contre l'insecte *T. castaneum*. Dans l'étude de Haridasan *et al.* (2017), une réduction remarquable des indices RGR et RCR pour les deux extraits étudiés a été enregistrée. Également, les deux indices ont été inhibés après traitement avec de la noix de muscade (Huang *et al.*, 1997) et la molécule 1,8 Cinéole (Tripathi *et al.*, 2001). Cependant, des pourcentages très significatifs de dissuasion alimentaire ont été marqués dans l'étude de Brari & Kumar, (2019). En outre, il a été démontré que les HE's de *Cymbopogon martinii*, *Caesulia axillaris* et *Mentha arvensis* ont protégé des aliments pendant les 12 premiers mois de stockage contre plusieurs ravageurs y compris *T. castaneum* (Varma & Dubey, 2001 ; Kumar *et al.*, 2007).

L'effet anti-appétant peut-être interprété de différentes façons, notamment en fonction du mode de détection de la nourriture par l'insecte. En fait, il peut s'agir d'une simple dégustation, dans laquelle, l'insecte goûte directement la nourriture et, en fonction du goût, s'abstient de se nourrir, provoquant ainsi un effet anti-appétant. Toutefois, des études ont suggéré que les composés phytochimiques utilisés comme des anti-appétants, peuvent interférer avec la réception des signaux alimentaires. Cela peut se produire soit en inhibant les récepteur sensoriels phagostimulants qui stimulent l'appétit ; soit en modifiant les signaux

responsables de la régulation de l'appétit, qui s'interprètent comme des inhibiteurs au sein du système nerveux central (Chun, 1972 ; Haridasan *et al.*, 2017).

➤ **Effet insecticide de la formulation Argile-HE de *S. officinalis* contre *T. castaneum***

Les infestations d'insectes nuisibles sont de plus en plus en augmentation et la recherche développe constamment des insecticides efficaces pour les combattre. Comme mentionné ci-dessus, les HE sont perçues comme des alternatives plus sûres et plus efficaces aux insecticides de synthèse. Cependant, leur évaporation rapide est leur principal inconvénient. C'est pourquoi l'idée de formuler les HE avec d'autres produits s'est imposée. En outre, la formulation des HE préserve leur composition et renforce leurs activités biologiques (Shishido *et al.*, 2015 ; Ben-Abada *et al.*, 2019 ; Herrera *et al.*, 2019). Il existe plusieurs type de formulation, à savoir liquides à base de solvant ou d'émulsifiant, et/ou poudreuses (Nguemtchouin, 2012).

Les minéraux argileux figurent parmi les principaux produits utilisés dans les formulations médicales, cosmétiques et insecticides (Patel & Bajaj, 2010). Les smectites, les palygorskite et les talcs sont les principaux types d'argile utilisés grâce à leur forte capacité d'adsorption (Ben-Abada, 2020). En effet, l'argile libère progressivement les principes actifs, prolongeant ainsi leur efficacité. De plus, ça permet de réduire la sensibilité des HE à l'oxydation ainsi qu'à la lumière (Keita *et al.*, 2001 ; Turek & Stinzing, 2013). Par ailleurs, il a été démontré que l'argile en étant pure est doté d'un pouvoir insecticide. De nombreuses études ont dévoilé le fort pouvoir insecticide des formulations des HE avec l'argile. Keita *et al.* (2001) ont dévoilé que la formulation des HE d'*Ocimum gratissimum* et d'*Ocimum basilicum* avec la poudre d'argile a permis de lutter contre l'infestation de *C. maculatus* pendant 3 mois de stockage. De même, il a été rapporté que les formulations des extraits végétaux avec les argiles ont réduit les attaques des ravageurs, notamment *S. zeamais*, *A. obtectus*, *C. maculatus* et *C. subinnotatus* (Ngamo *et al.*, 2001; Ndomo *et al.*, 2008; Ndomo *et al.*, 2010; Nguemtchouin *et al.*, 2013; Noudem *et al.*, 2017).

II. Effet insecticide de l'HE de *P. graveolens* contre *E. kuehniella*

La reproduction est un paramètre fondamental qui assure la survie des êtres vivants quelle que soit leur division. Elle joue également un rôle crucial dans le maintien de

l'équilibre écologique et de la diversité des écosystèmes. Chez les insectes, notamment les ravageurs, la reproduction est un processus clé qui contribue à leur prolifération. Par ailleurs, la mise en place de nouvelles stratégies pour prévenir et contrôler leur infestation est d'un intérêt crucial. À cette fin, la présente étude vise à étudier l'impact d'un bio-insecticide représenté par l'HE de *P. graveolens*, contre la pyrale *E. kuehniella*.

À l'état normal, le développement sexuel, l'ovogénèse et la vitellogénèse en particulier, se déroulent pendant le stade nymphal chez les femelles d'*E. kuehniella*. De plus, l'accouplement aura lieu quelques heures après l'exuviation adulte et la ponte n'en tarde plus. De même, la période d'oviposition dure en moyenne 4 jours (Taïbi, 2007; Soltani-Mazouni *et al.*, 2011; Yezli-Touiker *et al.*, 2016; Taffar, 2022).

À cet égard, le traitement utilisé a été administré aux nymphes femelles, pendant les premières heures de leur exuviation nymphale. Les résultats obtenus montrent une différence remarquable entre les valeurs des séries traitées et témoins pour tous les paramètres étudiés. En outre, le développement nymphal s'est avéré le premier paramètre perturbé, avec une prolongation considérable; également, la période de pré-oviposition a été prolongé de 2 jours en moyenne. En revanche, la période d'oviposition a été réduite. De même, la morphométrie des ovaires a été significativement réduite, ce qui a été enregistré sur le nombre, le poids, la longueur, la largeur et le volume des ovocytes basaux.

Nos résultats sont en accord avec de nombreux autres travaux, qui ont mis en évidence l'effet insecticide de plusieurs extraits végétaux contre la même espèce. Delimi *et al.* (2013) ont révélé une perturbation du potentiel reproducteur d'*E. kuehniella* avec une réduction significative de sa fécondité, après traitement par application topique et/ou par inhalation en administrant l'HE de *Artemisia herba alba*. De même, le bio-insecticide, Azadirachtine, a induit une prolongation de la période de développement nymphal et de pré-oviposition, avec une réduction de la période d'oviposition et de la fécondité de la pyrale. Cet insecticide a également perturbé l'ovogénèse, en réduisant le poids des ovaires et le nombre d'ovocytes (Taffar, 2022). Des résultats semblables ont été enregistré avec l'HE de *T. munbyanus subsp. Coloratus*, testée contre deux générations successives de l'espèce *E. kuehniella* (Bendjedid, 2022). Taïbi *et al.* (2018) ainsi que Lahcene *et al.* (2018) ont rapporté, de même, une perturbation du potentiel reproducteur par l'HE de l'origan et de l'Olivier *Olea europaea*, respectivement.

En outre, il a été établi que la reproduction de la pyrale est optimale lorsque les adultes s'accouplent le jour de l'exuviation. Cependant la reproduction est réduite de moitié lorsque l'accouplement est retardé (Tortricidae, 1995). Cela peut expliquer le fait que si le traitement perturbe le caractère sexuel, il aurait suffi à perturber tous les paramètres déterminant le potentiel reproducteur. De plus, Bachrouche *et al.* (2010) démontrent que l'exposition d'*E. kuehniella* aux bio-insecticides peut même réduire le taux de copulation.

Notre étude a également révélé une réduction significative de la teneur en vitellines dans les ovaires des femelles. En effet, outre les glucides et les lipides, les vitellines constituent la réserve protéique nécessaire au bon déroulement de la vitellogenèse.

Plusieurs facteurs influencent la reproduction des insectes, à savoir, externe comme la température et/ou la photopériode, ou interne d'origine hormonale (Lafont *et al.*, 2005; Ou *et al.*, 2011; Garelli *et al.*, 2012; Hiruma & Kaneko, 2013). Dans notre étude, l'expérimentation a été faite dans des conditions optimales, ce qui explique l'origine neuro-hormonale de la perturbation des différents paramètres étudiés. En effet, deux hormones majeures représentées par l'hormone juvénile (HJ) et l'ecdystéroïde sont impliqués dans le processus de reproduction chez les insectes (Davis *et al.*, 1990; Gäde & Hoffmann, 2005). Ces deux hormones agissent en co-ordination et jouent un rôle très important dans la métamorphose comme dans la reproduction (Wu *et al.*, 2018). En outre, l'application de quelques agonistes des ecdystéroïdes chez *E. kuehniella* a perturbé le poids des ovaires ainsi que la taille et le nombre des ovocytes (Hami *et al.*, 2005 ; Bakli *et al.*, 2016). Par ailleurs, l'application de certains analogues de l'HJ a influencé négativement le potentiel reproducteur chez plusieurs espèces (Lakhbar, 1990 ; Tong-Xian *et al.*, 2004).

De plus, il a été démontré que ces deux hormones sont également impliquées dans l'ovogénèse, l'ovulation, le contrôle de la vitellogenèse et le développement ovarien (Hagedorn, 1985 ; Lanot *et al.*, 1987 ; Ruegg *et al.*, 1992 ; Hoffman *et al.*, 1999 ; Li *et al.*, 2003 ; Ganter *et al.*, 2007 ; Tufail *et al.*, 2014). Ce qui détermine leur rôle crucial et explique la perturbation du potentiel reproducteur, de la morphométrie des ovocytes et de la réduction des teneurs en vitellines par inhibition de l'activité de ces deux hormones induites par le bio-insecticide étudié.

5. CONCLUSION

Au cours de ce chapitre, nous avons évalué le potentiel insecticide des huiles essentielles des deux plantes sélectionnées, *Pelargonium graveolens* et *Salvia officinalis*, contre deux ravageurs des denrées stockées, le coléoptère *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae) et le lépidoptère *Ephestia kuehniella* (Pyralidae). L'huile essentielle extraite de *S. officinalis* en étant brute ou formulée avec l'argile a été testée contre le coléoptère en termes d'effets létaux, comportementaux et biologiques. Tandis que l'huile essentielle de *P. graveolens* a été testée contre le lépidoptère en estimant certains paramètres déterminant son potentiel reproducteur, la morphométrie des ovaires et la teneur en vitellines ovariens.

L'HE de *S. officinalis* a induit un effet toxique avec des doses létales (DL₅₀, DL₉₀), estimées de 3,01 et 17,54 µl, respectivement. De même, un effet répulsif contre les adultes a été enregistré avec une dose médiane repulsive estimée à 8,14 µl/ cm². Ainsi, plusieurs paramètres déterminant l'effet anti-appétant de l'HE contre l'insecte ont été marqués. D'autre part, l'HE formulée avec l'argile a provoqué une toxicité remarquable et un fort effet répulsif contre les adultes du coléoptère.

Les différents paramètres déterminant le potentiel reproducteur d'*E. kuehniella* à savoir, les périodes de développement nymphal, de pré-oviposition et d'oviposition, le nombre d'œufs pondus, la morphométrie des ovaires ainsi que la teneur en vitellines dans les ovaires, ont été perturbés avec des différences significatives.

À la lumière des résultats obtenus, il est à noter que les deux huiles essentielles ont exhibé un fort potentiel insecticide contre les insectes ravageurs sélectionnés, ce qui en fait de bonnes alternatives aux insecticides chimiques.

Chapitre 3:

Évaluation du potentiel antimicrobien des huiles essentielles étudiées

1. INTRODUCTION

Depuis l'antiquité, la virulence des agents pathogènes constitue une véritable menace pour la santé publique et également pour tous les écosystèmes de la planète (Grine *et al.*, 2023). Des études récentes estiment que d'ici 2050 plus de 400 millions de personnes seront infectées par des pathogènes résistants (Aslam *et al.*, 2018; Rolta *et al.*, 2020). En parallèle, les traitements antibiotiques et/ou antifongiques prescrits se sont avérés inefficaces avec l'apparition de la résistance de quelques souches (Hughes *et al.*, 2020). L'agressivité des infections provoquées par ces agents pathogènes, dépend principalement de la nature des souches microbiennes, qu'ils soient champignons, bactéries ou levures.

En ce qui concerne les infections fongiques, elles sont principalement dues à la contamination des produits alimentaires par des métabolites secondaires appelés mycotoxines, sécrétés par plusieurs genres de champignon. Bien que plus de 500 types de mycotoxines ont été identifiées (Liu *et al.*, 2022), une trentaine est considérée très dangereuse pour la santé publique (Khaneghah *et al.*, 2019). Les mycotoxines sécrétées par le *Fusarium* *sp.* comprenant le fumonisin B₁, deoxynivalenol et zearalenone (Kosco *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2021) sont connues par leurs effets néfastes sur la santé. De plus, leur capacité à ne pas induire une réponse immunitaire, a des répercussions directes sur les grandes fonctions de l'organisme, entraînant ainsi des troubles neurologiques, hépatiques, voir même des effets tératogène et mutagène (Sun *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2019; Mondani *et al.*, 2021).

Quant aux bactéries, bien qu'elles soient omniprésentes dans notre environnement et qu'un bon nombre soit inoffensif pour l'homme et à sa survie, d'autres font partie des agents pathogènes les plus redoutables au monde, souvent responsables des infections, notamment les infections nosocomiales. Par ailleurs, l'émergence de la multi résistance constitue un véritable sujet d'inquiétude en milieu médical. D'autant plus qu'elles agissent face aux antibiotiques selon de multiples mécanismes d'action, tels que, l'inactivation enzymatique, la modification de la cible d'antibiotique et l'imperméabilité cellulaire. En outre, la forte résistance des souches à de nombreuses classes d'antibiotiques, conduisait à l'émergence d'une autre forme de virulence bactérienne, c'est la forme complexe ou le biofilm (Adeosun *et al.*, 2022). Dans ce cas, les bactéries se présentent sous forme de communautés complexes qui s'adhèrent à des surfaces, formant ainsi un biofilm. En fait, les souches du biofilm peuvent être beaucoup plus résistantes que les souches à la forme libre ou planctoniques

(Olson *et al.*, 2002; Ceri *et al.*, 2010; Snchez *et al.*, 2016), ce qui pose un sérieux défi thérapeutique.

A cet égard, de nombreux produits chimiques synthétiques ont été utilisés comme moyen de lutte contre ces agents pathogènes (Tiwari *et al.*, 2022). Toutefois, leurs natures biodégradables et leur bioaccumulation ont créé de nouveaux problèmes plus compliqués (Grine *et al.*, 2023). De ce fait, la recherche scientifique s'est orientée vers des approches alternatives efficaces et sans effets secondaires sur les organismes ciblés et non ciblés, qui pourraient remplacer les antimicrobiens synthétiques qu'ils soient antibiotiques et/ou antifongiques. C'est l'une des approches de recours aux produits naturels, notamment d'origine végétale (Elkolly *et al.*, 2023).

C'est dans ce contexte, que la présente étude vise à évaluer le potentiel antimicrobien des huiles essentielles de *Pelargonium graveolens* et de *Salvia officinalis* contre une large gamme de microorganismes, à savoir champignons des vergers et des cultures (*Fusarium* sp.), bactéries cliniques (*Escherichia coli* ; *Klebsiella pneumoniae* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Serratia marcescens* ; *Staphylococcus aureus*), bactéries référencées (*E. coli* ATCC 25922 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ; *Staphylococcus aureus* ATCC 27923) et levure clinique (*Candida albicans*), dans le but de contribuer à la recherche de nouvelles alternatives antimicrobiennes efficaces contre certains agents testés et les infections causées ; ainsi, qu'à la prévention de leur résistance.

I. Activité antifongique

I.2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

I.2.1. Présentation du Matériel biologique

L'évaluation de l'activité antifongique repose sur le recours à une souche fongique représentée par *Fusarium proliferatum*, une sous espèce de l'espèce *Fusarium solani* (Nectriaceae) (**Fig.37**), isolé des agrumes. L'identification et l'isolement du champignon ont été faits au laboratoire de mycologie de l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV), sur la base des caractères cultureux (macroscopiques) et morphologiques (microscopiques)

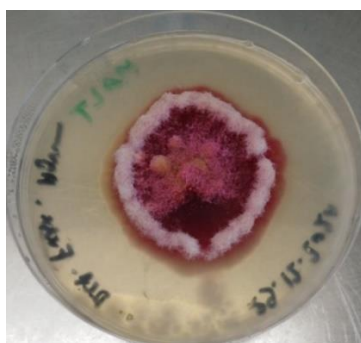


Figure 37. Souche fongique, *Fusarium solani*, isolée des agrumes (photo personnelle, 2022).

I.2.2. Présentation du fongicide chimique

L'Agriconazole 25% EC (**Fig. 38**), est un fongicide systémique commercialisé avec une concentration de 250 G/L, fabriqué par la firme AGRIMARE-GRANDE BRITAGNE à partir de la molécule active, Difenoconazole. Il se présente sous forme d'un liquide brunâtre de forte odeur. Ce traitement est utilisé par les agriculteurs pour lutter contre certaines maladies fongiques avérés sur les agrumes. Dans notre étude, cet antifongique chimique a été utilisé comme un témoin de référence et son activité antifongique a été comparée à celle des huiles essentielles testées.



Figure 38. Fongicide chimique AGRICONAZOLE 25% EC.

I.2.3. Milieu de culture

La souche *F. solani* est cultivée sur un milieu de culture gélosé de type Sabouraud (Fig. 39), qui est le plus recommandé et le plus approprié en vue de résistance des souches. Il a été développé par le dermatologue français Raymond J. A. Sabouraud en 1892.

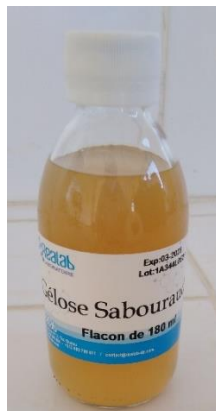


Figure 39. Milieu de culture Gélose Sabouraud (photo personnelle).

I.2.4. Evaluation du pouvoir antifongique des huiles essentielles

I.2.4.1. Détermination du taux d'inhibition de la croissance mycélienne

L'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de *P. graveolens* et de *S. officinalis* repose sur la détermination du taux d'inhibition de la croissance mycélienne du *F. solani*.

De ce fait, six concentrations de 2 ; 4 ; 8 ; 12,5 ; 25 et 50 $\mu\text{l/ml}$ DMSO sont choisies pour tester la capacité des huiles essentielles à inhiber le développement du champignon en milieu solide. Chaque concentration a été mélangée séparément avec le Sabouraud bouillant. Ensuite, 13 ml du mélange ont été distribués dans des boîtes de Pétri, qui sont laissées refroidir et solidifier. Des fragments de champignons de diamètre de 4 mm ont été ajoutés au centre de chaque boîte (Fig.40). Les boîtes de contrôle, représentant les témoins négatifs et positifs, sont inoculées de la même procédure. Les boîtes du témoin négatif ne contiennent aucun traitement, tandis que celles du témoin positif, sont traitées par le fongicide chimique (12 $\mu\text{l/ml}$). Une incubation de sept jours à 27C° est effectuée pour toutes les boîtes. L'expérimentation a été réalisée en triplicata.

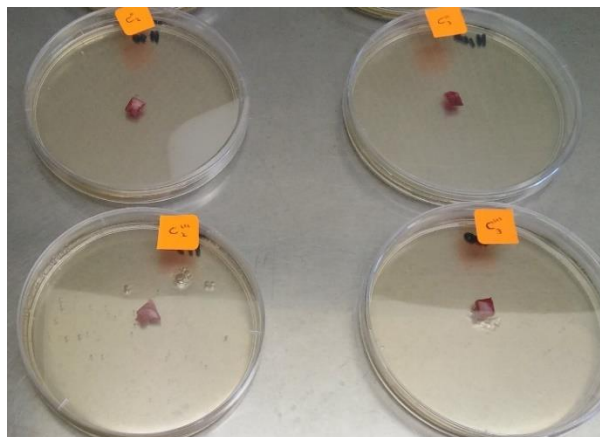


Figure 40. Ensemencement des boîtes de Pétri (photo personnelle).

✚ Calcul du pourcentage d'inhibition

Après incubation, l'observation et la mesure des diamètres de croissance mycélienne pour toutes les concentrations et les témoins a été effectuée. Le pourcentage d'inhibition est calculé par la formule proposée par Kumar *et al.*, (2007) :

$$I (\%) = [(dC-dE) / dC] \times 100$$

I (%) = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage

dC = Diamètre des colonies pour les boîtes de Pétri de contrôle

dE = Diamètre des colonies pour les boîtes de Pétri traitées avec HE ou fongicide

I.2.4.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Selon Alcamo (1984) et Rotimi *et al.* (1988), toutes concentrations ayant présentées un pourcentage d'inhibition supérieur à 50% sur une souche fongique, sont sélectionnées pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice. Pour ce faire, la méthode de dilution en milieu liquide est adoptée. Dans des tubes à essais contenant le milieu de culture (PDA liquide sans Agar), sont ajoutées les concentrations des huiles essentielles avec des fragments de champignon. Tandis que les témoins sont représentés par le milieu de culture et de l'eau distillée uniquement. Une incubation de sept jours à 27C° est nécessaire (Fig. 41).



Figure 41. Détermination de la CMI en milieu liquide (photo personnelle).

I.3. RÉSULTATS

I.3.1. Effet antifongique des HE's sur la croissance mycélienne

L'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de *P. graveolens* et de *S. officinalis* contre la souche *F. solani*, a été déterminée en fonction de la croissance mycélienne dans les boîtes traitées (**Fig. 42 et 43**) comparativement avec les boîtes témoins (**Fig. 44**).

Le test statistique Kruskal-Wallis, a montré qu'il existe une différence hautement significative ($p \leq 0,01$) sur le diamètre de la croissance mycélienne, en fonction du traitement utilisé. On constate que les huiles essentielles des deux plantes ont exercé un fort potentiel antifongique pour toutes les concentrations testées. Quant au traitement avec l'HE de *P. graveolens*, le diamètre de croissance mycélienne pour les trois premières concentrations testées (2 μ l; 4 μ l et 8 μ l) varie entre 0,53 à 0,16 cm, tandis que pour les trois dernières (12,5 μ l ; 25 μ l et 50 μ l), aucune croissance n'a été observée. Par ailleurs, un diamètre de croissance allant de 0,63 jusqu'à 0,13 cm, a été enregistré pour les cinq premières concentrations de l'HE de *S. officinalis* et une inhibition complète est enregistrée pour la dernière et la plus forte concentration (**Tab. 17**).

Comme le montre la **figure 45**, la croissance notée pour l'échantillon traité par la référence fongicide Agriconazole, est estimée à 0,23 cm, ce qui est presque l'équivalent de l'échantillon traité par la deuxième concentration (4 μ l) de l'HE de *P. graveolens*. En outre, le témoin négatif montre la zone de croissance la plus élevée avec un diamètre de 2,36 cm en moyenne.

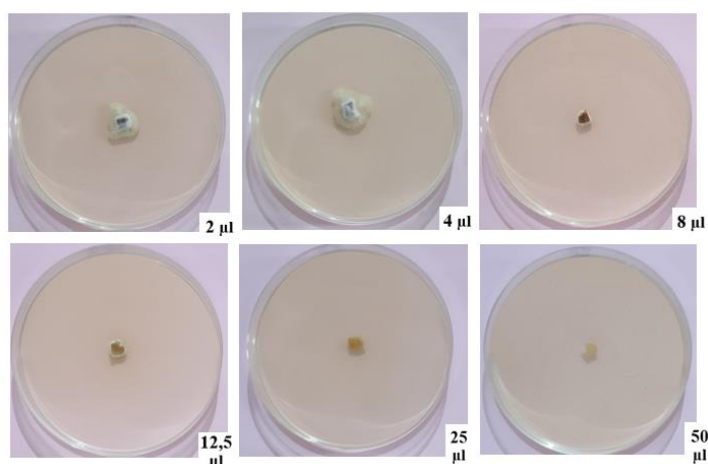


Figure 42. Croissance mycélienne pour les différentes concentrations de l'HE de *P. graveolens* (photos personnelles, 2022).

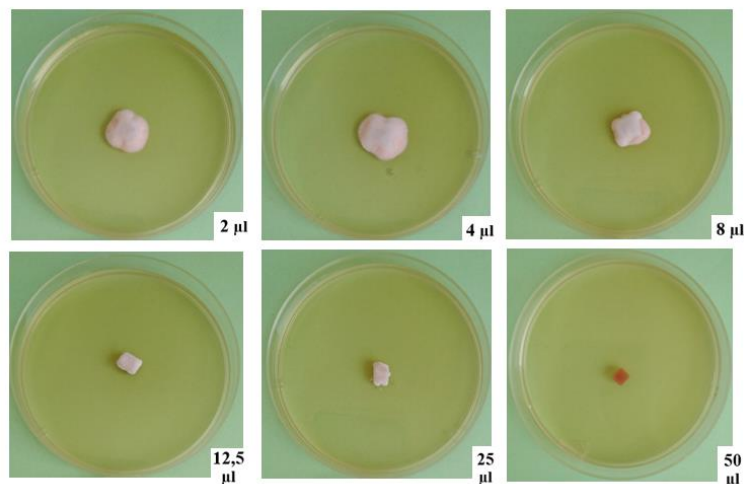


Figure 43. Croissance mycélienne pour les différentes concentrations de l'HE de *S. officinalis* (photos personnelles, 2022).

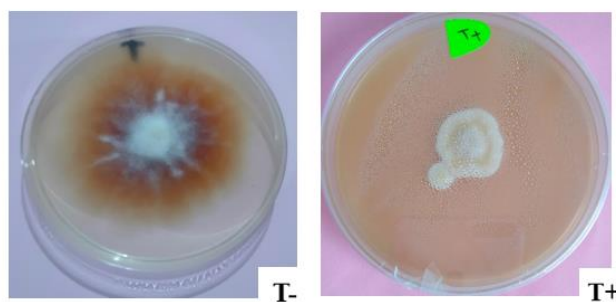


Figure 44. Croissance mycélienne dans les boîtes témoins (T- : sans traitement ; T+ : traitement chimique) (photos personnelles, 2022).

Tableau 17. Effet de plusieurs concentrations des huiles essentielles de *P. graveolens* et de *S. officinalis* sur la croissance mycélienne (cm) du *F. solani* (n=3, m±sd).

Traitement	Diamètres de croissance mycélienne (cm)	
	<i>Pelargonium graveolens</i>	<i>Salvia officinalis</i>
HE (2,0 µl)	0,53 ± 0,10	0,63 ± 0,23
HE (4,0 µl)	0,26 ± 0,16	0,60 ± 0,17
HE (8,0 µl)	0,16 ± 0,07	0,36 ± 0,05
HE (12,5 µl)	0,00 ± 0,00***	0,20 ± 0,10
HE (25,0 µl)	0,00 ± 0,00***	0,13 ± 0,05
HE (50,0 µl)	0,00 ± 0,00***	0,00 ± 0,00***
Témoin	2,36 ± 0,47	
Agriconazole	0,23 ± 0,05	

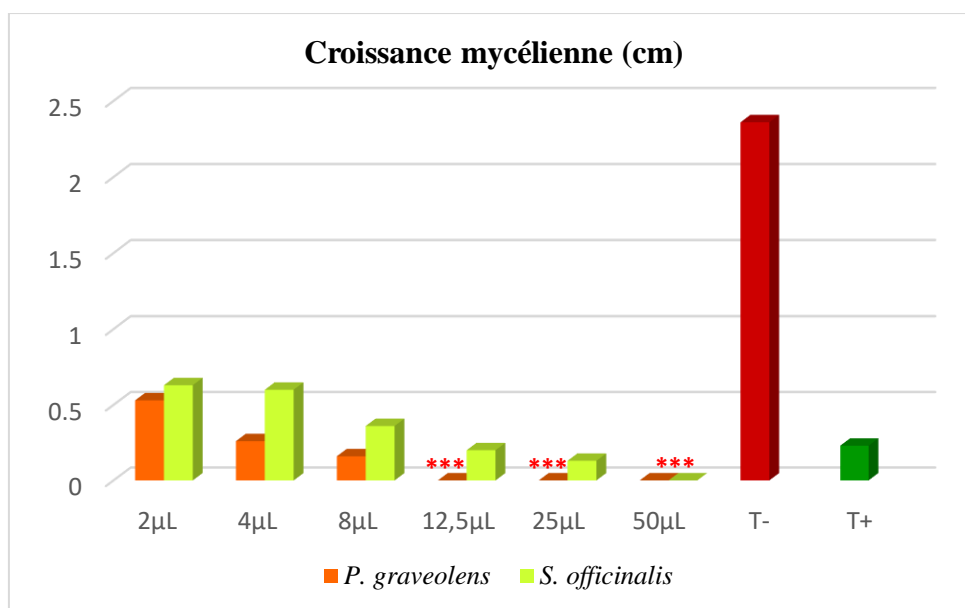


Figure 45. Effet des huiles essentielles de *P. graveolens* et de *S. officinalis* sur la croissance mycélienne (cm) du *F. solani*.

I.3.1.1. Détermination des taux d'inhibition

D'après le **tableau 2**, l'augmentation des concentrations des huiles essentielles testées a entraîné une augmentation du pourcentage d'inhibition selon une relation dose-réponse. Ainsi, toutes les concentrations testées montrent un taux d'inhibition supérieur à 60%. De plus, un taux d'inhibition égale à 100% a été enregistré avec les concentrations 12,5 µl; 25 µl et 50 µl pour le traitement avec l'HE de *P. graveolens* et seulement avec la concentration 50 µl de l'HE de *S. officinalis* (**Tab.18, Fig.46**). En outre, l'incorporation du fongicide chimique, Agriconazole, a entraîné une inhibition de 91,9% du champignon expérimenté.

Tableau 18. Effet des huiles essentielles de *P. graveolens* et de *S. officinalis* sur le taux d'inhibition (%) du champignon *F. solani*.

Traitement	Taux d'inhibition (%)	
	<i>P. graveolens</i>	<i>S. officinalis</i>
HE (2,0 µl)	78,3	68,5
HE (4,0 µl)	89,3	70,0
HE (8,0 µl)	93,4	82,0
HE (12,5 µl)	100,0	90,0
HE (25,0 µl)	100,0	93,5
HE (50,0 µl)	100,0	100,0
T+: Agriconazole	91,9	

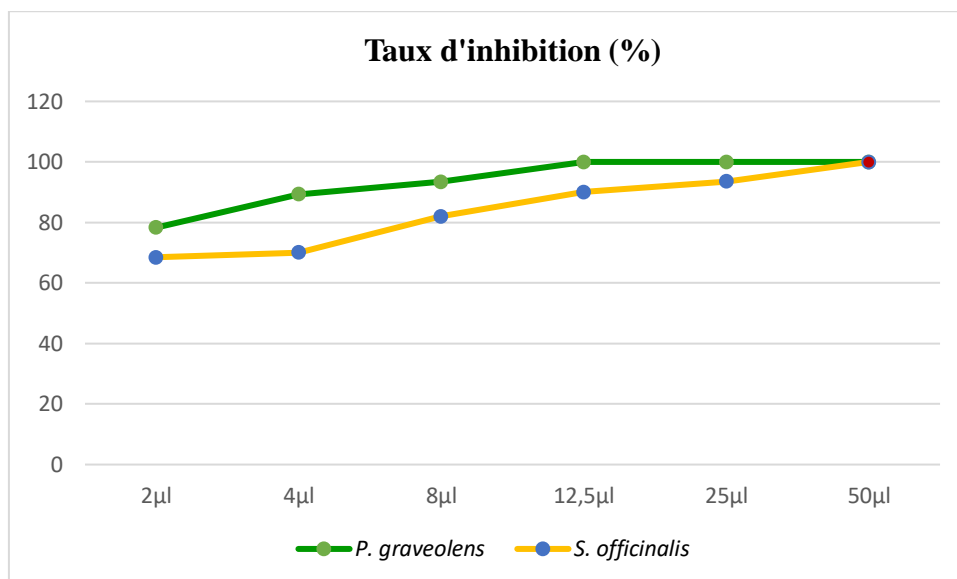


Figure 46. Effet des huiles essentielles de *P. graveolens* et de *S. officinalis* sur le taux d'inhibition (%) du champignon *F. solani*.

I.3.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

D'après les résultats obtenus dans cette étude et selon [Alcamo \(1984\)](#) et [Rotimi et al. \(1988\)](#), toutes les concentrations testées des deux HE's ont présenté un pourcentage d'inhibition supérieur à 50% et donc sont toutes soumises à la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI). La concentration la plus petite testée pour les deux huiles essentielles représente la CMI avec une valeur de 2 µl/ml (**Tab. 19**).

Tableau 19. Concentration Minimale Inhibitrice (µl/ml).

	CMI (µl/ml)
<i>P. graveolens</i>	2
<i>S. officinalis</i>	2

I.4. DISCUSSION

Les plantes aromatiques et leurs métabolites secondaires ont suscité un intérêt particulier en raison de leur teneur complexe de composés organiques volatils (Ghavam *et al.*, 2021). Leurs propriétés pharmacologiques peuvent traiter ou prévenir plusieurs maladies (Jaradat *et al.*, 2022) et peuvent exercer également des activités antiparasitaires, antivirales et antifongiques (Raut & Karuppayil, 2014).

L'évaluation de l'activité antifongique des deux plantes étudiées repose sur la détermination des taux d'inhibition de la croissance mycélienne du champignon testé, *F. solani*. Comme prévu, les deux essences ont montré un fort pouvoir antifongique, avec une inhibition remarquable dans les boîtes traitées avec les HE's comparativement aux boîtes témoins.

Nos résultats compromettent un effet inhibiteur contre l'agent fongique à la plus petite dose utilisée (2µl) avec un taux d'inhibition égale à 68,5% pour *S. officinalis* et de 78,3% pour *P. graveolens*. Ceci est différent des résultats rapportés par Bouzenna & Krichen. (2012) où presque le même pourcentage a été obtenue avec une dose de 12,5 µl de l'HE de *P. graveolens* contre le champignon *Rhizoctonia solani*.

L'étude de Badawy & Abdelgaleil. (2014) a montré un fort potentiel antifongique de l'HE de *P. graveolens* contre les champignons *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* avec une valeur EC₅₀ qui résulte en une inhibition de 50% de la croissance mycélienne égale à 148 mg/L contre *F. solani*. Également, l'HE a présenté un effet fongitoxique dans l'étude de Singh *et al.* (2008) contre tous les champignons testés y compris *F. oxysporum*. Dans la même étude, une inhibition à 100% de l'Aflatoxin B₁, une mycotoxine très toxique, a été enregistrée.

En outre, l'HE de *S. officinalis* a significativement réduit l'indice de pourriture de *F. solani* à 79% de la valeur de contrôle (Bang, 2007). De même, Benkhedher *et al.* (2017) ont montré son efficacité contre une autre espèce de *Fusarium*. Par ailleurs, des flavonoïdes extraits de la même plante ont exhibé une réduction significative de la croissance mycélienne de *F. oxysporum* avec un taux d'inhibition de 57,42% à la concentration 1,13 µg/ml (Bouderba *et al.*, 2022).

De même, la sauge a confirmé son potentiel antifongique même avec l'extrait aqueux contre les champignons *Fusarium oxysporum*, *Penicillium italicum* et *Aspergillus niger* avec

des taux d'inhibition de 35,15%; 43,79% et 53,71% respectivement (Yilar *et al.*, 2018; Bouderba *et al.*, 2022).

Plusieurs facteurs influencent la réponse de l'espèce fongique vis-à-vis des traitements par les essences végétales. Par ailleurs, différentes études effectuées au cours des dernières décennies ont montré la relation entre la composition chimique des molécules majoritaires et leurs caractéristiques biologiques y compris l'antimicrobiennes (Deans & Sbodova, 1990; Benkhedher *et al.*, 2017; Zorzi-Tamazoni *et al.*, 2018). D'autre part, la présence des dérivés terpéniques tels que les monoterpènes et les sesquiterpènes améliore l'activité biologique. Il a notamment été démontré que les huiles essentielles contenant des dérivés avec des atomes d'oxygène, leur confèrent une structure unique souvent associée à une grande labilité chimique et à une activité optique (Volcho & Anikeev, 2014). D'ailleurs, les huiles essentielles contenant des monoterpènes oxygénés, ont de fortes activités antifongiques par rapport aux huiles essentielles relativement riches en hydrocarbures monoterpéniques ou en sesquiterpènes (Kordali *et al.*, 2005; Klebe, 2013; Benkhedher *et al.*, 2017).

La différence en composition chimique ainsi que la synergie entre les composés majeurs et mineurs de ces essences constituent le principal avantage en terme de mécanisme d'action contre les agents fongiques. De plus, il a été démontré que la membrane cellulaire constitue la cible privilégiée des agents antifongiques (Trigos *et al.*, 2002). Ainsi, l'endommagement membranaire induit des fuites cytoplasmiques ce qui inhibe la biosynthèse de l'ADN, de l'ARN, des protéines et du peptidoglycane (Nazzaro *et al.*, 2017). De plus, les antifongiques peuvent interrompre le système enzymatique, en bloquant la biosynthèse de l'ergostérol, un composant principal de la membrane fongique (Muñoz Castellanos *et al.*, 2020). De ce fait, l'absence d'ergostérol entraîne une instabilité osmotique et métabolique dans la cellule fongique, compromettant la reproduction et l'activité infectieuse (Kerkes *et al.*, 2013 ; Freires de Almeida *et al.*, 2014 ; Nazzaro *et al.*, 2017).

D'autre part, de nombreuses études ont précisé le mode d'action de quelques familles phytochimiques. L'étude de Bhuiyan *et al.* (2010) a démontré que les composés phénoliques réagissent avec les phospholipides de la membrane cellulaire, dénaturant leurs protéines et altérant leur perméabilité. Tandis que, l'étude de Lagrouh *et al.* (2017) a supposé que le mécanisme d'action des composés terpéniques impliquerait la perturbation de la membrane et la destruction des mitochondries fongiques.

II. Activité Antibactérienne

II.2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.2.1. Présentation du matériel biologique

II.2.1.1. Prélèvement, purification et identification

Une collection de huit (8) souches bactériennes de Gram +/- et une levure, prélevée de différents sites d'infections a été aimablement fournies, après purification, identification et isolement au niveau du laboratoire de parasitologie de l'hôpital Amir Abdelkader, El-Besbes, El-Tarf.

Tableau 20. Microorganismes utilisés pour l'étude antibactérienne.

<i>Souche</i>	<i>Famille</i>	<i>Gram</i>	<i>Origine</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	-	Urine
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	-	Urine
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	-	Environnement hospitalier
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Yersiniaceae</i>	-	Pus
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	+	Pus
<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Enterobacteriaceae</i>	-	/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Pseudomonadaceae</i>	-	/
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27923	<i>Staphylococcaceae</i>	+	/
<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomycetaceae</i>	/	Condidose Vaginale

II.2.1.2. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir des cultures bactériennes jeunes en phase de croissance âgées de (18 à 24h). De ce fait, Trois à cinq colonies sont prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile. De l'eau physiologique a été rajoutée afin d'obtenir une suspension bactérienne avec une densité optique 'Do' variant entre 0,08 à 0,1 à 600 nm correspondant à 10⁸ UFC/mL selon Mc Farland (**Fig.47**).



Figure 47. Mesure de l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre (photo personnelle, 2024).

II.2.1.3. Ensemencement des bactéries

L'ensemencement des bactéries s'est fait à l'aide des écouvillons stériles qui servent à absorber un volume de l'inoculum préparé et de l'étaler par la suite sur les milieux de cultures préalablement coulés dans des boîtes de Pétri (**Fig.48**).



Figure 48. Ensemencement des bactéries à l'aide d'un écouvillon (photo personnelle, 2024).

II.2.2. Matériel chimique

II.2.2.1. Milieux de cultures utilisés

En microbiologie, un milieu de culture se définit comme un produit qui contient les éléments nécessaires à la croissance et au développement des souches. L'utilisation spécifique des milieux de culture pour les bactéries, levures ou moisissures repose principalement sur la recommandation de la pharmacopée européenne, dont le Sabouraud gélosé est utilisé pour les cultures des souches fongiques et les levures grâce à son pH légèrement acide, ce qui le rend le plus approprié en vue de résistance des souches. Tandis que le Muller-Hinton est le plus recommandé pour étudier la sensibilité des souches bactériennes.

II.2.2.2. Antibiotiques testés

Douze (12) antibiotiques synthétiques de différentes familles chimiques contre les huit (08) souches bactériennes en plus d'un (01) antifongique contre la levure clinique sont utilisés dans cette étude pour explorer l'état de développement de la résistance des bactéries utilisées (**Tab.3**).

II.2.2.3. Solvant utilisé pour l'étude antibactérienne

Le Diméthylsulfoxyde (DMSO) est le solvant recommandé par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) pour des études bactériologiques grâce à son incapacité à présenter des effets antibactériens.

II.2.3. Évaluation de la sensibilité des microorganismes

II.2.3.1. Évaluation de la sensibilité des microorganismes vis-à-vis les antibiotiques, Antibiogramme.

Les souches choisies pour l'étude ont été soumises à un test d'antibiogramme qui permet d'estimer leurs sensibilités vis-à-vis des antibiotiques de différentes familles chimiques et les considérés comme des témoins positifs. Le test s'est fait par la méthode de diffusion.

II.2.3.2. Évaluation de la sensibilité des microorganismes vis-à-vis les essences naturelles, Aromatogramme.

L'aromatogramme, décrite par [VINCENT. \(1991\)](#), est une méthode qualitative, inspirée de l'antibiogramme mais avec des essences aromatiques. Elle se dérive de la méthode des disques qui assurent la diffusion du principe actif en milieu solide.

L'évaluation de la sensibilité bactérienne consiste à utiliser des disques buvards stériles de diamètre de 6mm imprégnés de 15µl de différents produits à tester, incluant l'huile essentielle brute et le DMSO utilisé comme témoin négatif. Les disques sont par la suite placés en contact direct avec les milieux de cultures préalablement ensemencés. Une incubation à 37C° est faite pendant 24h pour les bactéries et 48h pour la levure.

L'expérience est faite en duplicata et la lecture des résultats s'est faite à l'aide d'un pied à coulisse afin de déterminer le diamètre des zones d'inhibition et d'estimer ainsi la catégorie de sensibilité des souches utilisées, de souches résistantes, sensibles, à très sensibles selon [Ponce et al., 2003 \(Tab. 21\)](#).

Tableau 21. Catégorie de sensibilité des microorganismes vis-à-vis des huiles essentielles.

Diamètre de zones d'inhibition (mm)	Catégorie	Signe
≤ 8	Résistante	-
9 à 14	Sensible	+
15 à 19	Très sensible	++
≥ 20	Extrêmement sensible	+++

▪ **Détermination de la concentration minimale inhibitrice**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) se définit comme la plus faible concentration à laquelle l'agent antibactérien ou l'huile essentielle a la capacité d'inhiber la croissance bactérienne. Elle est déterminée en utilisant plusieurs concentrations des HE, obtenues à partir d'une série de dilutions séquentielles, répétées sept fois en allant de 1/2 jusqu'à 1/128, afin d'obtenir la plus faible concentration en principe actif, depuis une solution mère très concentrée. À chaque dilution le même volume de l'aliquote est ajouté à un volume égal de DMSO (50/50 : v/v).

II.2.3.3. Évaluation de la sensibilité des microorganismes complexes par inhibition de la formation du biofilm

Afin de mettre en évidence la capacité des bactéries étudiées dans ce travail à former un biofilm, ainsi que son inhibition par les huiles essentielles, la méthode standard de coloration au Cristal Violet (CV) sur microplaque à 96 puits est employée.

En premier temps, des suspensions bactériennes sont préparées avec un bouillon cœur-cerveille (BHIB) pour les bactéries et un bouillon sabouraud pour les levures. Par la suite, une quantité des deux HE's est ajoutée à une quantité égale de chaque suspension microbienne afin d'évaluer l'inhibition de la formation du biofilm. D'autre part, une quantité pure de la suspension est considérée comme témoin positif pour pouvoir estimer la capacité de la souche à former un biofilm. Tandis que, un témoin négatif qui ne contenant que le bouillon est utilisé pour pouvoir comparer les résultats obtenus.

Après incubation de 24h pour les bactéries et 48h pour les levures à 37C°, les micro cupules de la microplaque sont vidés et lavés plusieurs fois avec de l'eau distillée, afin de se débarrasser des cultures bactériennes. Puis, le Crystal violet est versé dans chaque micro cupule et laisser agir pendant 45min. un deuxième rinçage est ensuite fait pour éliminer l'excès du colorant. Une solution alcoolique qui sert à solubiliser les traces du colorant (CV) fixées sur les parois des tubes est ajoutée. La mesure de l'absorbance de la solution de chaque micro cupule est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde égale à 570nm.

Le pourcentage d'inhibition du biofilm de chaque souche est ensuite calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(Do \text{ témoin} - Do \text{ test}) / Do \text{ témoin}] \times 100$$

II.3. RÉSULTATS

II.3.1. Détermination de la sensibilité bactérienne au antibiogramme

Les résultats de l'antibiogramme sont interprétés selon le catalogue du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie 'CASFM' (Tab. 22). On constate que les souches bactériennes ont acquis une résistance contre la majorité des antibiotiques des différentes familles chimiques utilisés; à l'exception de la levure *C. albicans* qui a montré une sensibilité aux traitements par les deux antifongiques utilisés.

Tableau 22. Sensibilité des souches bactériennes à l'antibiogramme.

Souche	Antibiotiques	Interprétation
<i>Escherichia coli</i>	AMC30	R
	CIP5	R
	CTX30	R
	GN10	S
	SXT25	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	AMC30	R
	CTX30	R
	GM10	R
	IPM10	R
	SXT25	S
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATM30	R
	CIP5	R
	GM10	S
	IPM10	R
<i>Serratia marcescens</i>	AMC30	R
	CAZ30	R
	GM10	S
	IPM10	R
	SXT25	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	AMC30	R
	E15	S
	GM10	R
	IPM10	S
	P10	R
	SXT25	S
	VA30	S
<i>E. coli ATCC 25922</i>	AMC30	R
	CTX30	R
	GM10	R
	IPM10	R
	SXT25	S
<i>Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853</i>	ATM30	S
	CTX30	R
	GM10	R
	IPM10	R
<i>Staphylococcus</i>	AMP	R

<i>aureus</i> ATCC 27923	AX25	R
	E15	R
	GM10	R
	IPM10	R
	P10	R
	SXT25	S
<i>Candida albicans</i>	Amphotéricine B	S
	Fluconazole	S

R= résistant, S= sensible

II.3.2. Détermination de la sensibilité bactérienne à l'aromatogramme

II.3.2.1. Détermination des diamètres d'inhibition

Les résultats de l'aromatogramme s'expriment en diamètres de zones d'inhibition qui se présentent sous forme d'un cercle bien clair autour des disques (**Fig. 49**).

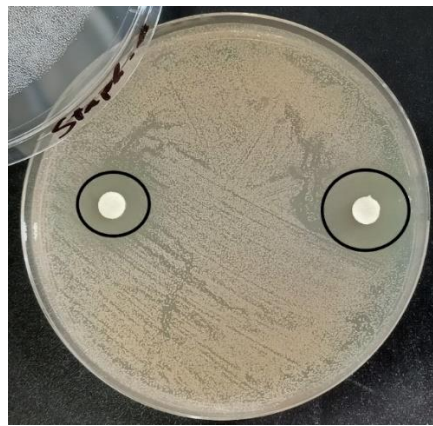


Figure 49. Diamètres de zones d'inhibition (photo personnelle, 2024).

Les données des diamètres des zones d'inhibition exprimés par la moyenne \pm écart type, ainsi que le type de sensibilité des bactéries vis-à-vis aux traitements par les huiles essentielles, sont regroupés dans le **tableau 23**.

Tableau 23. Résultats en diamètres d'inhibition de l'aromatogramme de *P. graveolens* et *S. officinalis*

Souches	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. Marcescens</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. aureus</i> ATCC 27923	<i>C. albicans</i>
Plantes (HE)									
<i>P. graveolens</i>	11,00 $\pm 00,00^+$	11,50 $\pm 00,70^+$	11,40 $\pm 01,27^+$	13,75 $\pm 01,06^+$	20,95 $\pm 00,77^{+++}$	14,50 $\pm 02,12^{++}$	09,00 $\pm 00,00^+$	12,15 $\pm 01,20^+$	53,00 $\pm 00,70^{+++}$
<i>S. officinalis</i>	11,50 $\pm 00,70^+$	15,00 $\pm 01,41^{++}$	09,00 $\pm 00,00^+$	13,25 $\pm 00,35^+$	12,50 $\pm 02,12^+$	13,25 $\pm 01,06^+$	11,25 $\pm 01,06^+$	10,50 $\pm 00,70^+$	11,50 $\pm 02,12^+$

+ : sensible ; ++ : très sensible ; +++: extrêmement sensible

D'après résultats obtenus, on constate que la sensibilité bactérienne varie en fonction de l'huile essentielle et de l'espèce bactérienne. Dans le cas de *P. graveolens*, on note que l'HE exerce un effet antibactérien très important contre les souches bactériennes. D'ailleurs, la souche *S. aureus* à gram positif se montre extrêmement sensible avec un diamètre d'inhibition qui dépasse 20mm. Quant à l'effet de l'HE de *S. officinalis*, il semble être considérable chez la plupart des souches étudiées, avec des zones d'inhibitions allant de 10,50±00,70mm jusqu'à 15,00±01,41mm. Ce dernier est représenté par la souche *K. pneumoniae* qui s'avère être la plus sensible au traitement.

La souche la plus invasive, *P. aeruginosa*, a montré une sensibilité aux deux huiles essentielles avec un diamètre d'inhibition de 09,00mm. Quant à la levure *C. albicans*, elle a marqué le plus fort diamètre d'inhibition de tous les traitements, avec l'HE de *P. graveolens*.

II.3.2.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices

L'ensemble des valeurs des concentrations minimales inhibitrices sont consignées dans le **tableau 24**. On constate des valeurs variables pour les deux huiles essentielles, en allant de 7,81 à 500 µl/ml pour l'HE de *P. graveolens* et de 62,5 à 500 µl/ml pour l'HE de *S. officinalis*. Cependant, la levure *C. albicans* a montré la plus petite valeur avec l'HE de *P. graveolens*.

Tableau 24. Valeurs des concentrations minimales inhibitrices pour les huiles essentielles de *P. graveolens* et *S. officinalis*.

Souches bactériennes	CMI (µl/ml)	
	<i>P. graveolens</i>	<i>S. officinalis</i>
<i>E. coli</i>	250	250
<i>K. pneumoniae</i>	62,5	125
<i>P. aeruginosa</i>	500	500
<i>S. marcescens</i>	500	125
<i>S. aureus</i>	62,5	125
<i>E. coli</i> ATCC 25922	125	125
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	62,5	125
<i>S. aureus</i> ATCC 27923	500	125
<i>C. albicans</i>	7,81	62,5

II.3.3. Inhibition du Biofilm

La **figure 50**, révèle le pourcentage d'inhibition du biofilm de chaque souche pour les deux plantes étudiées. D'une manière comparative, l'huile essentielle de *S. officinalis* semble être la plus forte en terme d'inhibition du biofilm par rapport à l'huile essentielle de *P. graveolens*. Par ailleurs, la plus forte inhibition a été enregistrée contre la souche *P. aeruginosa* ATCC 27853 avec un taux d'inhibition de 88,19 % ; tandis que la souche *K. pneumoniae* a montré le plus faible pourcentage d'inhibition avec l'HE de *P. graveolens*.

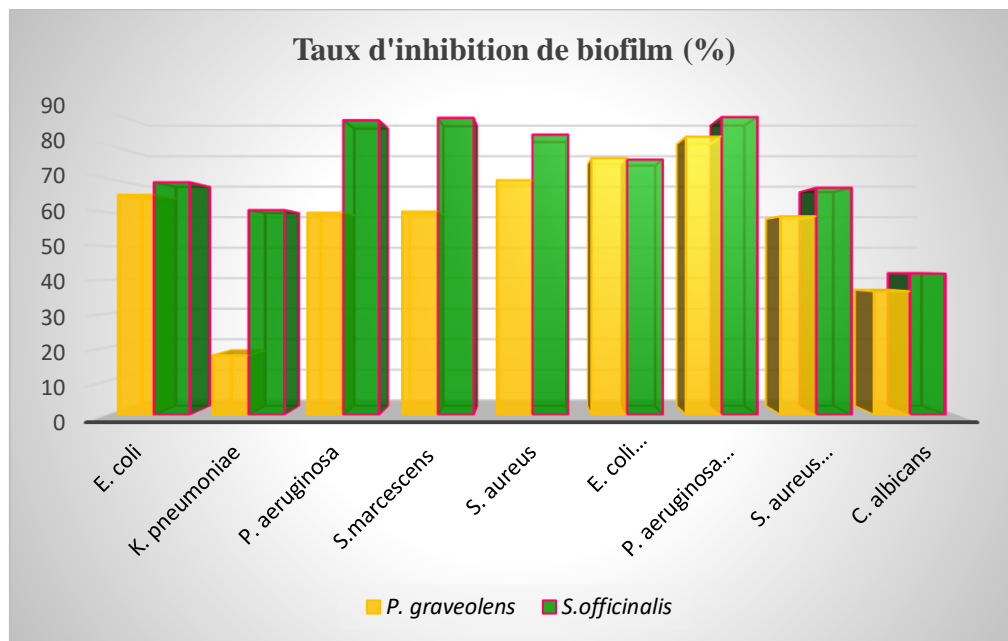


Figure 50. Taux d'inhibition de la formation du biofilm.

II.4. DISCUSSION

Les antibiotiques ne cessent de perdre leur efficacité vis-à-vis les bactéries et la résistance est de plus en plus grave. Néanmoins, la multi-résistance n'est pas encore bien définie. Certains microbiologistes considèrent une bactérie multi-résistante si elle résiste à une ou plusieurs familles d'antibiotiques (Siegel *et al.*, 2007), d'autres la considèrent ainsi, si elle résiste à trois antibiotiques ou plus (Schwarz *et al.*, 2010).

Plusieurs méthodes d'évaluation sont reconnues en microbiologie pour déterminer le degré de sensibilité des souches microbiennes. La méthode la plus adoptée est la méthode de diffusion en milieu solide ou plus précisément l'aromatogramme, quand il s'agit d'essences végétales, car elle permet le contact direct avec la cible biologique.

La sensibilité des souches bactériennes dépend du type de Gram, où dans la majorité des cas étudiés les souches à Gram (+) semblent être les plus sensibles au traitement par rapport à celles à Gram (-) (Cox *et al.*, 2000; Ramtin *et al.*, 2013; Tongnuanchan & Benjakul, 2014 ; Ouelhadj *et al.*, 2017). Toutefois, d'autres études montrent que les souches à Gram (-) présentent une sensibilité égale ou plus importante que celle des bactéries à Gram (+) (Sarter *et al.*, 2007). Nos résultats dévoilent les deux cas, où dans le cas du traitement par l'HE de *P. graveolens* la souche, *S. aureus* à Gram (+) était plus sensible que les souches à Gram (-). En revanche, la même souche était moins sensible au traitement par l'HE de *S. officinalis* par rapport aux autres à Gram (-).

Cette différence de sensibilité peut être expliquée d'un côté par la nature de la structure de la paroi cellulaire externe des bactéries. De sorte que, les souches à Gram (-) ont une paroi cellulaire solide à trois couches, avec une membrane plasmique à l'intérieur, suivie d'une fine couche de peptidoglycane et terminée par une couche externe de lipopolysaccharides et de protéines. Par conséquent, non seulement cette paroi forme une barrière imperméable aux substances hydrophobes, empêchant leur pénétration dans la cellule (Leclerc *et al.*, 1995), mais aussi, la présence de protéines qui agissent comme des pompes d'efflux, dégagent l'agent antimicrobien avant qu'il n'agisse dans la cellule (Cattoir, 2004). A l'inverse, les souches à Gram (+) possèdent une paroi composée uniquement de peptidoglycane ce qui facilite la pénétration des substances.

D'autre part, la composition chimique, la densité et la texture des HE's déterminent la pénétration cellulaire (Cal, 2006). De plus, le pouvoir antibactérien exercé par les deux

plantes contre les souches étudiées est dû probablement à la forte teneur en terpènes. D'ailleurs, d'après la littérature, ce pouvoir antibactérien est lié principalement à leurs composés majoritaires, tels que le limonène, le géraniol et le citronellol pour *P. graveolens* (Boukhatem *et al.*, 2013) ainsi que, le camphor, α -thujone et le 1,8-cineole pour *S. officinalis* (El Jery *et al.*, 2020; Christaki *et al.*, 2023). Cependant, il est important de souligner que les composants actifs mineurs interagissent en synergie avec les autres composants de l'HE, ce qui pourrait affecter l'activité biologique, notamment l'antimicrobienne, de sorte qu'il n'est pas évident de limiter l'activité uniquement aux composants majoritaires.

En outre, de nombreuses études antérieures ont dévoilé l'activité antimicrobienne des HE's de *P. graveolens* et de *S. officinalis* provenant de différentes régions du monde, contre une large gamme de microorganismes.

De l'Algérie, Boukhatem *et al.* (2013) ont évalué l'activité de l'HE de *P. graveolens* qui semble être efficace contre les souches étudiées, avec des résultats semblables aux nôtres contre les souches, *S. aureus*, *E. coli*, *E. coli* ATCC 25922 et *P. aeruginosa* ATCC 27853. De même, une étude plus récente a montré des diamètres d'inhibition similaires à ceux enregistrés dans notre étude sur les souches *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* (Ouelhadj *et al.*, 2017).

L'étude de Ben Elhadj *et al.* (2020) a démontré l'efficacité l'HE de *P. graveolens* de la Tunisie contre une collection de souches bactériennes. Notant, en particulier, son effet contre la souche *P. aeruginosa* avec un diamètre d'inhibition très important, dépassant de loin le résultat obtenu dans notre étude, d'autant plus que cette souche est bien connue pour sa résistance intrinsèque en raison de la faible perméabilité de sa paroi cellulaire (Slama, 2008).

Quant à *S. officinalis*, des résultats relativement différents de ceux obtenus dans notre étude ont été enregistrés dans l'étude de Alloun, (2013) où l'HE a exercé un effet antimicrobien modéré contre les souches *E. coli* et *C. albicans*, tandis qu'une résistance a été bien déterminée chez la *P. aeruginosa*. Par ailleurs, El jery *et al.* (2020) ont confirmé le pouvoir antimicrobien de l'HE de l'Arabie saoudite. En outre, celle de la Grèce a présenté une activité antibactérienne contre la souche *S. aureus* à Gram positif, mais s'est révélée inefficace contre *E. coli* à Gram négatif (Christaki *et al.*, 2023).

La détermination de la concentration minimale inhibitrice est un paramètre largement appliqué en microbiologie, dans le but de confirmer l'activité antibactérienne, en particulier

celle des extraits de plantes (Olmedo-Juarez *et al.*, 2019 ; Mendes *et al.*, 2022). En effet, Alves *et al.* (2008) ont suggéré que c'est la meilleure méthode parmi les méthodes utilisées. Par ailleurs, des valeurs différentes sont enregistrées dans notre étude dont la souche ayant présenté un diamètre d'inhibition plus important est celle qui présente une valeur de CMI la plus faible.

La présence de biofilm se considère avantageuse pour plusieurs raisons, notamment sa présence dans l'appareil gastro-intestinal qui joue un rôle protecteur et facilite la digestion (Macfarlane & Dillon, 2007). Son usage s'observe également dans de nombreux domaines, tels que l'agroalimentaire (production de l'éthanol). D'autres part, elle constitue un véritable sujet d'inquiétude en milieu médical, où de nombreuses maladies sont exclusivement induites par des infections à biofilm (Mishra *et al.*, 2023). Par ailleurs, le taux de mortalité s'est avéré plus important en raison des nouveaux mécanismes de résistance développés par les infections à biofilm (Jamal *et al.*, 2018).

5. CONCLUSION

Ce chapitre vise à évaluer le potentiel antimicrobien des huiles essentielles des plantes étudiées, *Pelargonium graveolens* (Geraniaceae) et *Salvia officinalis* (Lamiaceae), contre un large éventail de microorganismes à savoir un champignon des agrumes (*Fusarium sp.*), des bactéries cliniques (*Escherichia coli* ; *Klebsiella pneumoniae* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Serratia marcescens* ; *Staphylococcus aureus*), des bactéries référencées (*E. coli* ATCC 25922 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ; *Staphylococcus aureus* ATCC 27923) et une levure (*Candida albicans*).

L'étude de l'activité antifongique a révélé une sensibilité hautement significative de l'espèce fongique à différentes concentrations des huiles essentielles par rapport au fongicide chimique, Agriconazole, utilisé comme contrôle de référence.

D'autre part, les souches bactériennes testées ont présenté une résistance aux antibiotiques expérimentés à l'exception de quelques molécules; tandis que la levure étudiée a montré une sensibilité aux deux antifongiques cliniques utilisés (Amphotéricine B et Fluconazole). En revanche, les huiles essentielles ont exhibé un potentiel antibactérien très important contre les souches planctoniques ou complexes (biofilm).

En conclusion, les résultats obtenus prouvent l'efficacité des huiles essentielles contre les microorganismes étudiés, suggérant qu'elles devraient être considérées comme des antimicrobiennes naturelles alternatives aux produits chimiques. Toutefois, il est recommandé d'explorer la possibilité de fabriquer de nouveaux médicaments à base d'huiles essentielles de certaines plantes aromatiques et médicinales.

Chapitre 4 :
Étude in silico

INTRODUCTION

Depuis l'antiquité l'homme cherchait à améliorer sa vie et à satisfaire ses besoins fondamentaux pour répondre aux défis de son temps. La recherche de nouveaux produits à visé thérapeutiques constitue l'une de ces principaux intérêts. Cependant, des siècles se sont écoulés entre la recherche d'une molécule cible depuis la nature jusqu'à son application comme traitement. Ces dernières années, la chimie computationnelle a mis en œuvre de nouvelles approches théoriques basées sur des méthodes de calcul algorithmiques qui jouent un rôle crucial dans le processus de conception de médicaments. Ces approches ont gagné une immense popularité principalement en raison des économies d'effort, de temps et de coût engagé durant les expérimentations *in vitro* et *in vivo* (Raies & Bajic, 2016; Rahman *et al.*, 2021); également, ça réduit le nombre d'animaux utilisés pour les tests (Rai & Kaushik, 2018) et facilite la manipulation (Hagstrom *et al.*, 2015).

L'intérêt principal de ces approches est de fournir les informations nécessaires sur les structures des molécules d'intérêt et d'élucider, d'autre part, les phénomènes d'interaction. Le docking moléculaire, l'un de ces approches, s'emploi principalement pour étudier l'interaction moléculaire et d'estimer l'affinité entre les xénobiotiques et les cibles biologiques (da Silva *et al.*, 2018 ; Senol *et al.*, 2024). De plus, il permet de prédire la relation structure-activité formée entre deux ou plusieurs molécules (Vijesh *et al.*, 2013 ; Salaria *et al.*, 2021). En outre, cette approche est soutenue par une autre, appelée simulation de dynamique moléculaire, qui permet d'étudier l'évolution de la stabilité structurale du complexe formé, au cours du temps dans des conditions thermodynamiques prédéfinies, ce qui rend la modélisation plus réaliste.

Par ailleurs, de nombreux serveurs web tels que SwissADME, Molinspiration, ADMETlab et OSIRIS ont été développés pour évaluer d'une manière très rapide et précoce les propriétés pharmacocinétiques, physico-chimiques et toxicologiques des molécules destinées à devenir médicaments. Par conséquent, la chimie computationnelle tient une place de plus en plus importante non seulement dans l'industrie pharmaceutique, mais aussi en biologie et en médecine.

À cet égard, nous allons aborder dans ce chapitre le principe de quelques approches citées auparavant et qui sont couramment utilisées, notamment le docking et la dynamique moléculaire et l'étude ADME-T.

1. DOCKING MOLÉCULAIRE

▪ Principe

Le docking est une technique virtuelle de modélisation et d'amarrage moléculaire, qui permet de prédire et de visualiser les différentes possibilités de liaison et d'adaptation de deux structures moléculaires. Plus précisément, il étudie l'interaction entre une molécule dite 'ligand' avec une cible biologique, souvent de nature protéique jouant le rôle d'un récepteur.

Les résultats du docking s'expriment en score, qui se définit comme étant l'énergie résultante de la liaison des molécules (ligand-récepteur). Le score le plus faible reflète une affinité plus élevée entre les molécules et donc ça indique la position la plus favorable du complexe (**Fig. 51**).

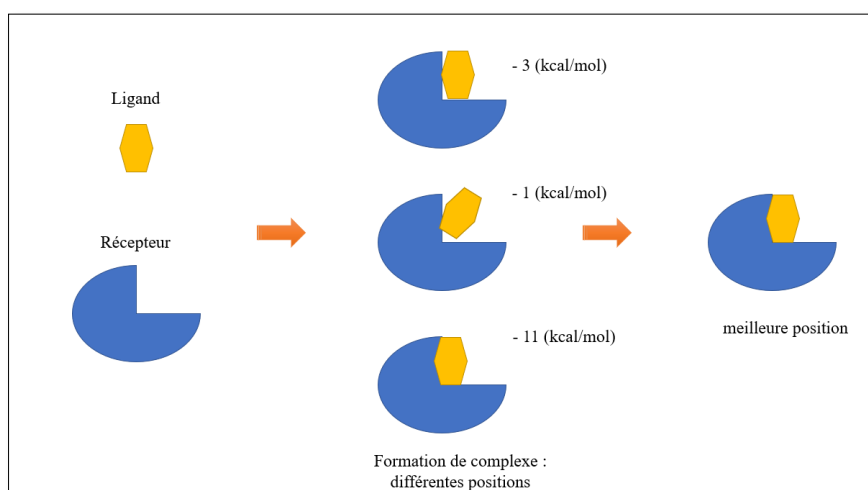


Figure 51. Principe du docking moléculaire.

▪ Application

Dans cette étude, le docking moléculaire a été effectué dans le but de confirmer l'activité biologique (*in vitro*) des huiles essentielles illustrée dans les chapitres antérieurs. Nous avons opté d'étudier l'interaction de quelques composants de l'HE de *P. graveolens* contre la souche fongique *Fusarium* sp.

La structure PDB [PDB ID : 2PS6] qui représente la cible biologique a été téléchargée de la base de données Protein data Bank (www.pdb.org) qui propose plusieurs structures provenant de différents organismes (**Fig. 52**). Tandis que les ligands sont représentés par la structure 3D des composants majoritaires des HE.

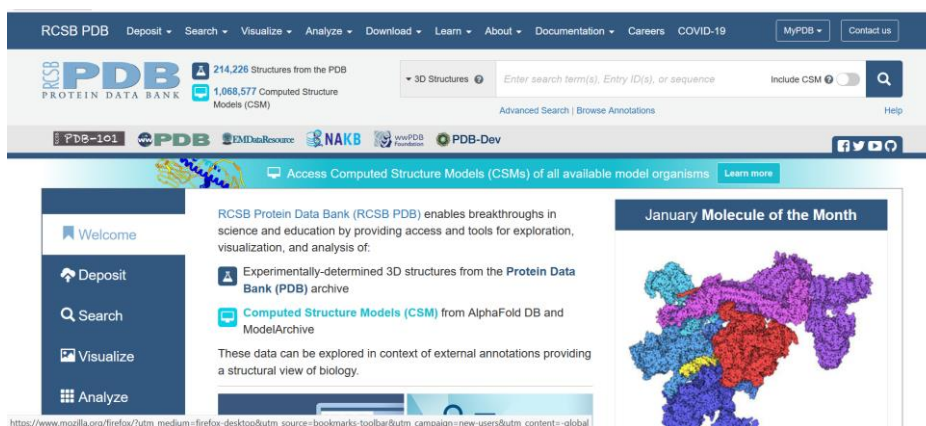


Figure 52. Interface de la base de donnée Protein Data Bank.

Une étape préliminaire avant de lancer le docking consiste à préparer le ligand en optimisant sa géométrie et en minimisant son énergie à l'aide du logiciel **LigPrep 3.8**. De même, la cible protéique a été soumise à un prétraitement, élimination des molécules d'eau et une minimisation de l'énergie à l'aide du protocole Protein Preparation Wizard de **Schrödinger Suite 2016-Update 2**. Par la suite, les atomes d'hydrogène ont été ajoutés aux structures et les ordres de liaison ont été attribués. Ainsi, le docking moléculaire est effectué par le logiciel **AutoDock VINA** et la pose ayant le meilleur score a été retenue. Pour mieux interpréter les résultats du docking, un re-docking du ligand proposé avec la protéine PDB est fait et est considéré comme référence.

▪ Résultats et interprétation

Le docking moléculaire de quelques composants de l'HE de *P. graveolens* (citronellol, citronellyl-formate, isomenthone, géranyle-formate et phenyl-ethyl tiglate) avec la cible biologique représentant le champignon *Fusarium* sp. a montré qu'ils interagissaient bien les uns avec les autres.

Le **Tableau 25** montre les valeurs de docking score résultantes des interactions des ligands (composants de l'HE) avec la protéine '**2PS6**' représentant la cible biologique. On peut constater que les composés sélectionnés ont montré un meilleur score par rapport à celui du ligand de référence.

Les composés citronellol et isomenthone montrent une stabilité importante dans le site actif de la protéine avec un score égale à -4.108 et -4.220 kcal/mol, respectivement. Les trois composés, citronellol, géranyle-formate et isomenthone ont formé chacun deux interactions hydrogènes de liaison en tant qu'accepteurs. Pour l'isomenthone et le géranyle-formate la

liaison a été faite par l'intermédiaire de l'atome d'oxygène du groupe carbonyle avec les acides aminés TYR111 et TRP126 (**Fig. 53C, 53D**); tandis que la liaison du citronellol a été faite par l'atome d'oxygène du groupe hydroxyle avec les mêmes acides aminés (**Fig. 53A**). Les deux autres composés, le citronellyl-formate et le phenyl-ethyl tiglate ont formé une seule interaction hydrogène de liaison en tant qu'accepteur, avec ASN130 par l'intermédiaire de l'atome d'oxygène du groupe carbonyle (**Fig. 53B, 53E**).

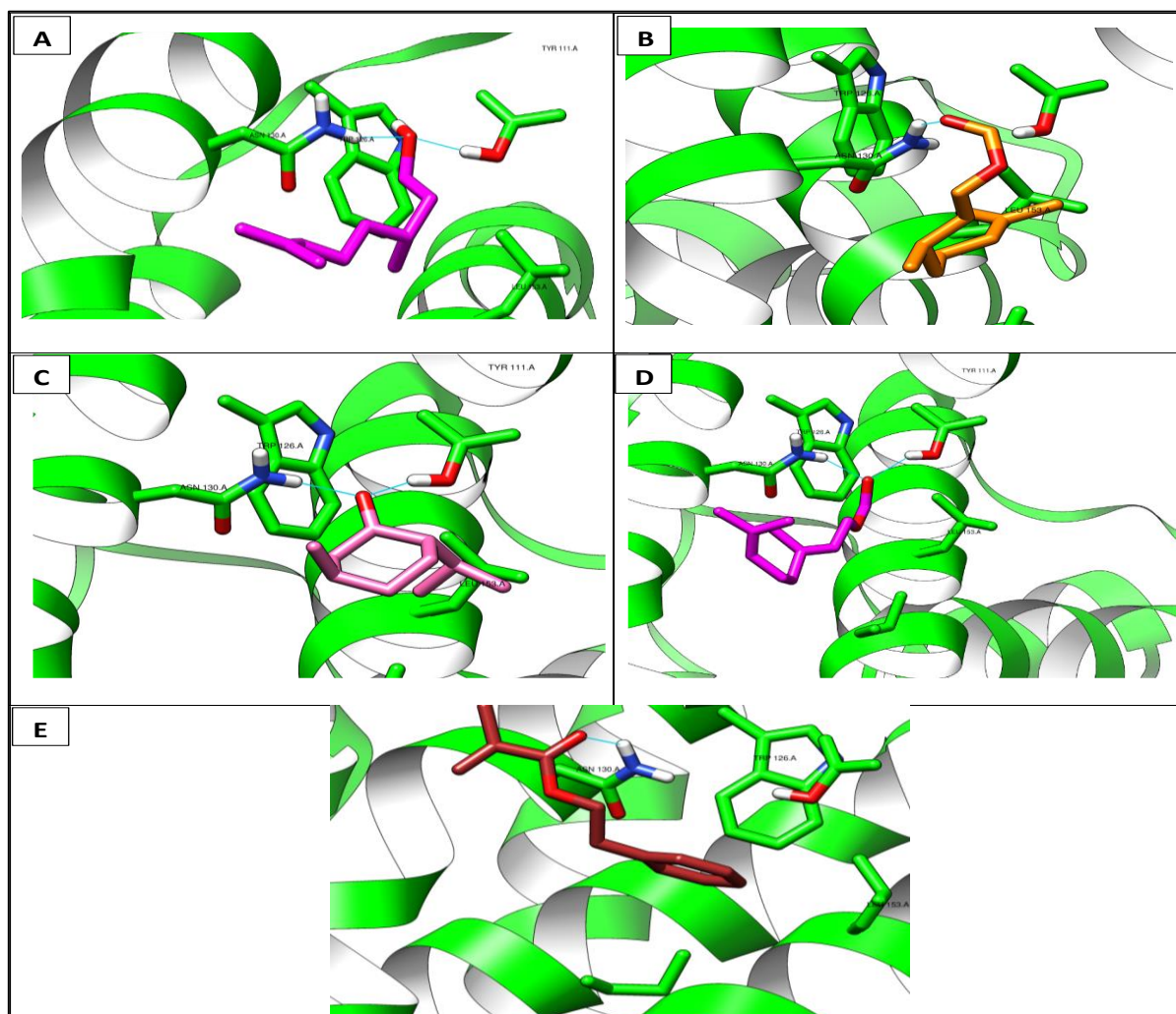


Figure 53. Interactions et sites de liaisons des composés de l'HE avec la cible biologique. (A: citronellol, B: citronellyl formate, C: isomenthone, D: geranyl formate, E: phenyl-ethyl tiglate).

Tableau 25. Valeurs des docking scores (Kcal/mol) des différents composés ainsi que de la référence.

Composés	Docking score, ΔG (kcal/mol)
Citronellol	-4.108
Citronellyl-formate	-3.825
Isomenthone	-4.220
Géranyle formate	-4.030
Phenyl-ethyl tiglate	-3.910
Référence	-3.520

2. DYNAMIQUE MOLÉCULAIRE

▪ Principe

La dynamique moléculaire est une approche utilisée en conjonction avec le docking moléculaire, qui permet de simuler l'évolution temporelle d'une espèce chimique, le plus souvent, des complexes ligand-protéine, en allant de femto-seconde (fs : 10^{-15} s) à la milliseconde (ms). Cette approche repose sur l'utilisation des équations classiques de mouvement notamment l'équation de Newton.

La dynamique moléculaire permet également de comprendre les interactions, les mouvements et les changements de conformation des molécules, tout en tenant compte des conditions thermodynamiques (Température, volume, pression).

▪ Application

La simulation a été faite à l'aide du logiciel Desmond Schrodinger afin de confirmer la stabilité des complexes résultants du docking moléculaire. Les complexes à étudier, ont été mis préalablement à un prétraitement, comprenant l'optimisation et la minimisation à l'aide de l'assistant de préparation des protéines de Maestro. Avant de lancer la simulation, un solvant de type TIP3P a été sélectionné avec une boîte orthorhombique, des contre-ions ont été introduits pour neutraliser les modèles et le chlorure de sodium (NaCl) 0,15M a été ajouté pour imiter les conditions physiologiques. Ainsi, une température de 300 K avec une pression de 1 atm ont été choisis. Le temps de simulation a été fixé à 100 ns, avec un intervalle d'enregistrement de 0,1 ns pour permettre une bonne visualisation.

L'évaluation de la stabilité a été basée sur la comparaison de l'écart quadratique moyen (RMSD) et les valeurs de la fluctuation quadratique moyenne (RMSF) de la protéine et du ligand, au cours du temps.

▪ Résultats et interprétation

Les résultats de la simulation dynamique moléculaire s'interprètent en fonction de l'évolution des valeurs de l'écart quadratique moyen [RMSD : Root Mean Square Deviation] qui permettent d'évaluer le comportement structural de la protéine et également des valeurs de la fluctuation quadratique moyenne [RMSF : Root Mean Square Fluctuation] qui démontrent la stabilité de la liaison du ligand à la protéine.

➤ Détermination des valeurs RMSD

Les **figures 54** et **55** illustrent l'évolution des valeurs RMSD pour les atomes des protéines liées au ligand (citronellol et isomenthone) au fil du temps. L'axe des ordonnées de gauche montre la variation de la RMSD de la protéine; tandis que l'axe des ordonnées de droite montre la variation de la RMSD du ligand, et ceci est en fonction du temps.

Pour le complexe protéine-citronellol, on constate que la protéine a atteint la stabilité à 40 ns et les fluctuations restent dans la limite de 0,8 Å pendant toute la durée de la simulation (**Fig. 54**), ce qui est parfaitement acceptable. Les valeurs RMSD des protéines adaptées au ligand ont fluctué dans les 2 angströms jusqu'à 100 ns, après avoir atteint l'équilibre et sont restées stables pendant toute la durée de la simulation.

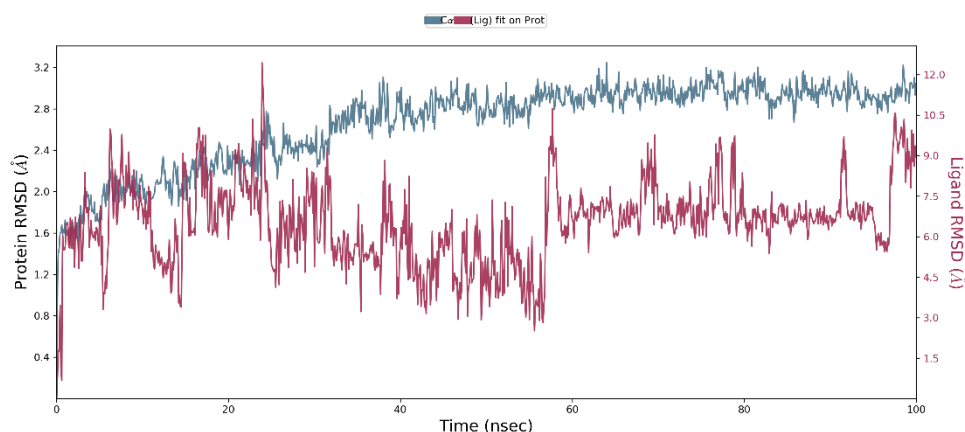


Figure 54. Écart quadratique moyen (RMSD) des atomes de la protéine et du ligand (protéine-citronellol) en fonction du temps.

Le tracé de la RMSD du complexe protéine-isomenthone (**Fig. 55**) montre que le complexe atteint la stabilité à 10 ns. Par la suite, les fluctuations des valeurs RMSD pour la protéine restent dans la limite de 1,0 Å pendant la durée de la simulation.

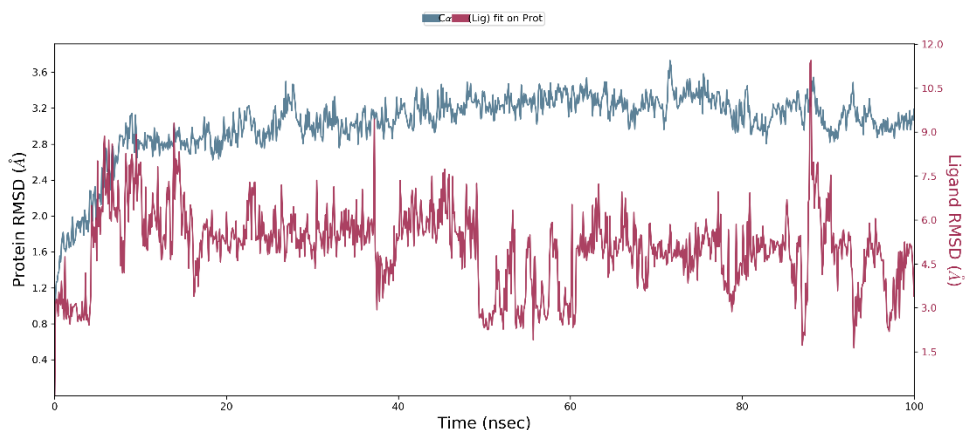


Figure 55. Écart quadratique moyen (RMSD) des atomes de la protéine et du ligand (protéine-isomenthone) en fonction du temps.

Les résultats obtenus montrent que les deux complexes sont stables et ne changent pas la conformation de la structure principale de la protéine avec les ligands respectifs.

➤ **Détermination des valeurs RMSF**

Les figures 56 et 57 illustrent les valeurs de la fluctuation quadratique moyenne (RMSF) des protéines liées aux ligands. Ces valeurs sont utiles pour indiquer les changements locaux tout au long de la chaîne protéique. Ainsi, les graphiques générés pour les deux complexes indiquent les fluctuations du comportement de la protéine au cours de la simulation au niveau de la zone de liaison. D’autres part, les pics les plus élevés indiquent les zones de la protéine qui fluctuent le plus au cours de la simulation et ils correspondent généralement aux régions N et C-terminales de la protéine.

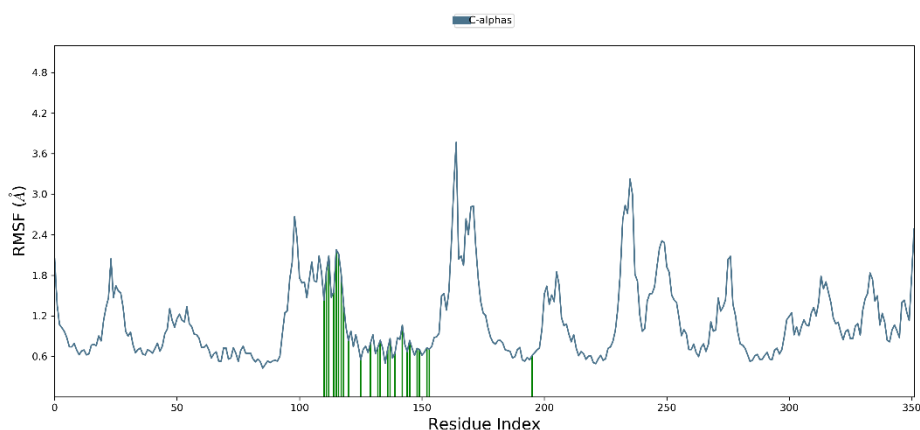


Figure 56. Fluctuation quadratique moyenne des résidus (RMSF) de la protéine- citronellol.

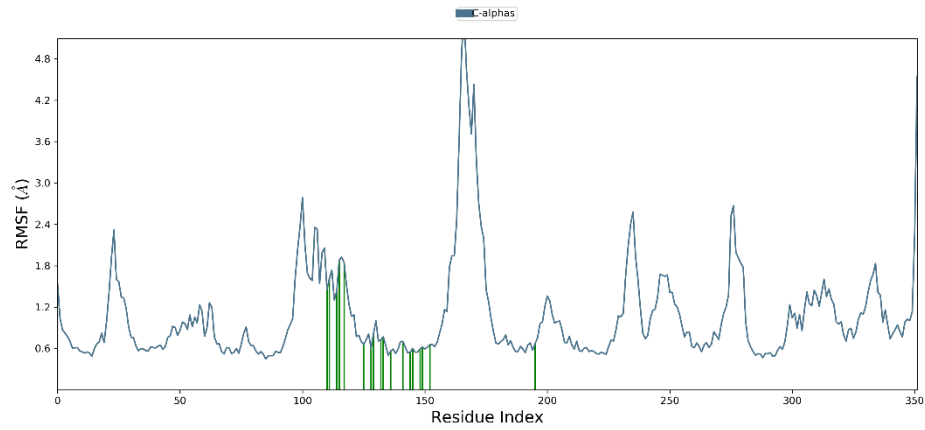


Figure 57. Fluctuation quadratique moyenne des résidus (RMSF) de la protéine-isomenthone.

Les valeurs RMSF pour les deux complexes isomenthone-protéine et citronello-protéine indiquent clairement que les résidus en contact avec l'isomenthone et le citronello sont stables et ne fluctuent pas sur les forces de liaison induites.

3. ADME-T

▪ Principe

L'étude des propriétés d'Absorption, de Distribution, de Métabolisme, d'Élimination, ainsi que les propriétés de Toxicité (ADME-T) se considère comme un point crucial pour prédire et comprendre la pharmacocinétique et les caractéristiques physico-chimiques d'une molécule ou d'un principe actif au sein d'un organisme.

▪ Application

Les web service **Swiss ADME** (<http://www.swissadme.ch/>), **Molinspiration** (www.molinspiration.com) et le logiciel **OSIRIS** ont été utilisés dans cette étude, pour déterminer les caractéristiques physico-chimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques de quelques molécules majoritaires (camphor, α -Thujone, 1,8 cinéole, citronellol, géraniol, linalool) des huiles essentielles étudiées. Les résultats obtenus seront par la suite interprétés selon la règle de 5 de Lipinski, dans laquelle, les paramètres physico-chimiques tels que les H- accepteurs ne doivent pas dépasser 10; H- donneurs pas plus de 5 et le log du coefficient de partage 'P' pas supérieur de 5. Quant aux propriétés pharmacocinétiques, les molécules doivent présenter une haute absorption orale et intestinale, également une bonne perméabilité de la barrière hémato-encéphalique. De plus, la règle de Lipinski incite sur les paramètres de ressemblance aux médicaments (Drug likeness), auquel l'intervalle de la violation doit être compris entre 0 à 7.

▪ Résultats et interprétation

Les valeurs déterminées à l'aide des différents web-service utilisés ont montré que les molécules majoritaires des HE étudiées respectent tous les exigences de la règle 5 de Lipinski (**Tab.26**) et présentent les meilleurs propriétés pharmacocinétiques et physico-chimiques.

Tableau 26. Propriétés ADME-T des molécules majoritaires des huiles essentielles.

Propriétés	Camphor	α -Thujone	1,8 Cinéole	Citronellol	Géraniol	Linalool
Propriétés physico-chimiques						
Poids moléculaire (g/mol)	152,23	152,23	154,25	156,27	154,25	154,25
Rotatable bonds	0	1	0	5	4	4
H donneur	0	0	0	1	1	1

H accepteur	1	1	1	1	1	1
TPSA (Å²)	17,07	17,07	9,23	20,23	20,23	20,23
Fraction Csp³	0,90	0,90	1,00	0,80	0,60	0,60
Drug likeness						
Violations	0	0	0	0	0	0
Score de biodisponibilité	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
Lipophilicité						
Log P_{O/W} iLog P	2.12	2.84	2.85	2,72	2,75	2,70
Solubilité dans l'eau						
Log S ESOL	-2.16	-2.15	-2.52	-2,94	-2,78	-2.40
Pharmacocinétique						
GI	Élevé	Élevé	Élevé	Élevé	Élevé	Élevé
BBB	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
CYP 1A2	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Log K_p cm/s	-5.67	-5.62	-5.30	-4,48	-4,71	-5,13
Risques de toxicité						
Mutagène	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Tumorigène	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Irritant	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Effet sur la reproduction	Non	Non	Non	Non	Non	Non

En ce qui concerne les paramètres physico-chimiques déterminés, le nombre des donneurs de liaisons hydrogène, leur faible poids moléculaire et le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène reflètent leur forte absorption par l'organisme et leur forte perméabilité dans les tissus. De plus, les valeurs de TPSA respectant l'intervalle, $17,07 \text{ \AA}^2 < \text{TPSA} < 26,30 \text{ \AA}^2$, caractérisent également la capacité des molécules à être mieux absorbé par l'organisme, que ce soit par les intestins ou à travers la barrière hémato-encéphalique. Quant aux paramètres de ressemblance avec les médicaments (drug-likeness), les six molécules ne présentent aucune violation, avec des scores de biodisponibilité qui les qualifient de molécules à potentiel médicamenteux. En outre, les paramètres pharmacocinétiques sont conformes aux résultats des paramètres physicochimiques, d'où il ressort que les molécules peuvent traverser le tractus gastro-intestinal (GI) et la barrière hémato-encéphalique (BHE) avec une grande capacité. Ces deux paramètres sont essentiels pour estimer les différentes étapes du processus de découverte d'un médicament (Daina & Zoete, 2016). Selon les

données fournies par le logiciel OSIRIS, les molécules en question ont été évaluées et ne présentent aucun signe de toxicité.

Un autre paramètre pour estimer l'accès des molécules au cerveau et leur capacité à traverser le tractus gastro-intestinal, c'est le Boiled Egg. Ce paramètre n'utilise que les valeurs TPSA et cLogP et repose sur des calculs de lipophilie et de polarité des molécules. Le Boiled Egg se présente sous forme de trois zones, une zone grise qui indique qu'il n'y a pas d'absorption intestinale, ni d'accès à la barrière hémato-encéphalique; l'autre zone est blanche présente l'espace où il y'a une forte probabilité que la molécule soit absorbée par le tractus gastro-intestinal; tandis que la zone jaune, c'est pour les molécules ayant une forte probabilité de traverser la barrière hémato-encéphalique. De plus, la couleur de point, qui peut être rouge ou bleu, indique si la molécule est susceptible d'être éliminée du système nerveux central par la glycoprotéine-P ou non.

La **figure 58** présente les Boiled Egg de chaque molécule étudiée et montre des points rouges qui s'insèrent dans la zone jaune. Cela signifie que les molécules ne seront pas éliminées du système nerveux central par la glycoprotéine P et qu'elles auront un accès facile au système nerveux.

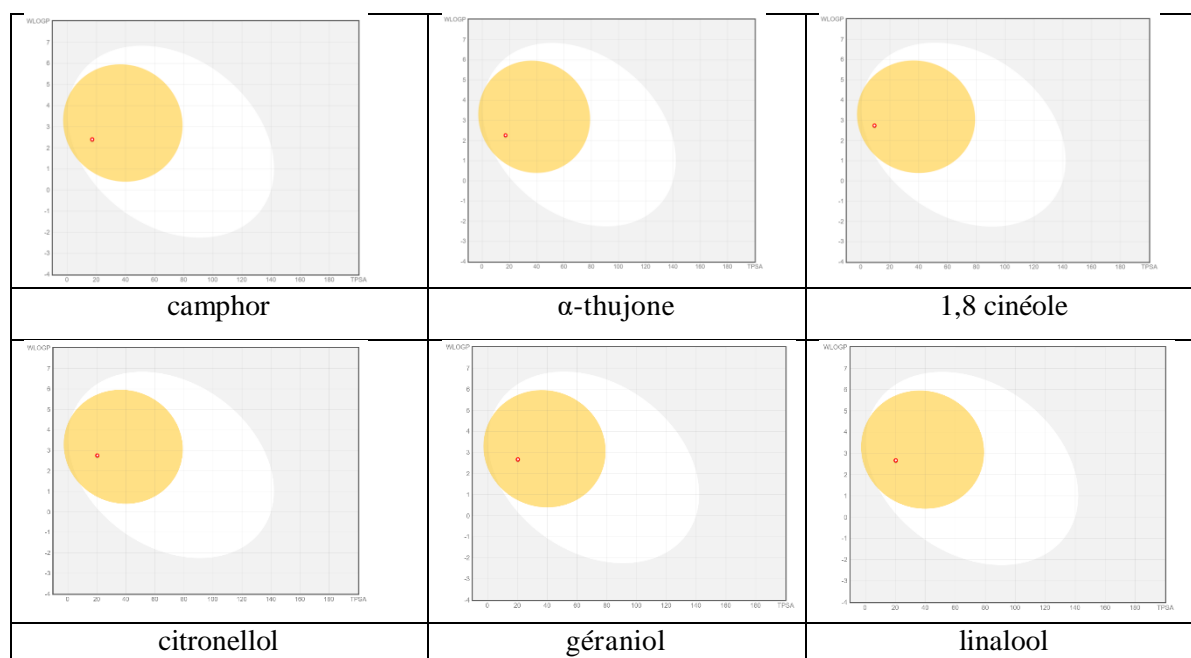


Figure 58. Boiled Egg des molécules majoritaires des HE étudiées.

Le profil déterminé par l'étude ADME-t reflète la capacité des molécules étudiées à franchir les différentes barrières d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion depuis leur site d'administratin jusqu'à atteindre la cible thérapeutique.

CONCLUSION

Ce chapitre vise à élucider le rôle de la chimie computationnelle, qui a fait des progrès considérables principalement dans le domaine de la conception de médicaments, en abordant les approches les plus connues et les plus couramment utilisées. Le docking moléculaire, la dynamique moléculaire et une étude ADME-T ont été sélectionnés pour l'étude *in silico*.

Le docking moléculaire vient de confirmer les résultats de l'étude *in vitro*, examinés dans les chapitres précédents; en étudiant l'interaction de quelques composants majoritaires des huiles essentielles avec des cibles biologiques. Une simulation de dynamique moléculaire vient par la suite élucider l'évolution de la stabilité structurelle des complexes formés, au cours du temps et dans des conditions thermodynamiques prédéfinies. De plus, les propriétés physico-chimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques des molécules, ont été déterminés.

Le docking moléculaire valide les résultats de l'étude *in vitro*, montrant que les molécules interagissent bien avec la cible biologique et se lient au site actif avec d'excellents scores de liaison. En outre, la simulation de dynamique moléculaire confirme la stabilité des complexes dans le temps. L'étude ADME-T prouve que les molécules étudiées ont de bonnes caractéristiques physicochimiques et de bonnes propriétés pharmacocinétiques, ce qui en fait de bonnes molécules d'intérêt médical.

En conclusion, l'étude *in silico* confirme l'étude *in vitro* et montre que les composés étudiés des HE possèdent les différentes propriétés requises pour être des molécules à visé thérapeutique.

Conclusion générale & perspectives

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Dans le cadre de notre travail relatif aux plantes médicinales et aromatiques, nous nous sommes intéressés à valoriser deux espèces de familles différentes à savoir *Pelargonium graveolens* (Geraniaceae) et *Salvia officinalis* (Lamiaceae). La recherche de nouvelles stratégies de lutte contre les différents risques menaçant la santé humaine, nous a amené à collaborer deux disciplines majeures, la biologie et la chimie. Ainsi, plusieurs paramètres ont été déterminés et de nombreuses activités ont été évaluées.

L'identification des espèces végétales, l'extraction de leurs huiles essentielles et la détermination de leurs compositions chimiques ont été les premiers points à aborder dans notre recherche. À ce propos, une étude histologique a été réalisée sur les parties aériennes des plantes, suivie d'une série d'analyses qualitatives et quantitatives afin de déterminer les sites sécréteurs des huiles essentielles, leurs caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques ainsi que leurs compositions biochimiques.

L'infestation des denrées alimentaires par les insectes ravageurs est l'un des principaux problèmes qui menace la sécurité alimentaire. À cet égard, nous nous sommes intéressés à évaluer le pouvoir insecticide des huiles essentielles des plantes étudiées contre deux ravageurs, à savoir le coléoptère *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae) et le lépidoptère *Ephestia kuehniella* (Pyrilidae). L'HE extraite de *S. officinalis* en étant seule ou formulée avec l'argile a été testée contre le coléoptère et l'HE de *P. graveolens* contre le lépidoptère. L'HE de *S. officinalis* a induit une forte toxicité par fumigation contre *T. castaneum* avec un effet répulsif et un fort pouvoir anti-appétant. De même, la formulation Argile-HE a provoqué un effet toxique et répulsif contre le même insecte. D'une autre part, l'HE de *P. graveolens*, a perturbé la reproduction de la pyrale *E. kuehniella* en prolongeant la période du développement nymphal et la période de pré-oviposition et en diminuant la durée de la période d'oviposition, affectant ainsi la fécondité des femelles. De plus, une étude morphométrique et une étude biochimique montrent que l'HE de *P. graveolens* réduit également la taille et le volume des ovaires chez les femelles adultes, ainsi que le contenu des vitellines dans les ovaires.

La contamination par les souches microbiennes quelle que soit leur origine, constitue également un grave danger pour la santé. Notre étude examine le potentiel antimicrobien des HE contre une collection de souches fongiques provenant de cultures d'agrumes, à savoir *Fusarium sp.*, et des souches prélevées d'infections chez des patients hospitalisés, à savoir

bactéries cliniques (*Escherichia coli* ; *Klebsiella pneumoniae* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Serratia marcescens* ; *Staphylococcus aureus*), bactéries référencées (*E. coli* ATCC 25922 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ; *Staphylococcus aureus* ATCC 27923) et une levure (*Candida albicans*). Le potentiel antimicrobien des HE a également été évalué contre la forme complexe des bactéries (biofilm). Les résultats obtenus démontrent l'efficacité des huiles essentielles contre tous les microorganismes testés.

Une étude *in silico* vient en dernier élucider le rôle de la chimie computationnelle et illustrer l'interaction des huiles essentielles avec les cibles biologiques. Le docking moléculaire qui étudie l'interaction des molécules avec les cibles, confirme les résultats de l'étude *in vitro* réalisée contre la souche fongique. D'autre part, une simulation de dynamique moléculaire a déterminé l'évolution de la stabilité structurelle des complexes formés par le docking au cours du temps. Ainsi, quelques composants majoritaires des deux huiles essentielles ont fait l'objet d'une étude ADME-T afin de déterminer leurs propriétés physico-chimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques.

En conclusion, les activités biologiques étudiées démontrent l'efficacité des huiles essentielles contre les insectes ravageurs et les microorganismes testés. De plus, l'étude *in silico* prouve que les composants majoritaires possèdent les différentes propriétés requises pour qu'elles soient des molécules à visé thérapeutique ; suggérant que les huiles essentielles de *P. graveolens* et de *S. officinalis* devraient donc être considérées comme des alternatives naturelles antimicrobiennes et insecticides aux produits chimiques.

Ainsi, à l'avenir il serait pertinent d'explorer d'autres paramètres à savoir:

- Confirmer notre recherche sur l'effet insecticide avec d'autres plantes aromatiques et médicinales de l'Algérie.
- Enrichir nos résultats sur le pouvoir antimicrobien avec une étude *in vivo*.
- Faire le docking et la dynamique moléculaire pour les composés mineurs des huiles essentielles.

Références bibliographiques

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abou-Taleb, H. K., Mohamed, M. I., Shawir, M. S., & Abdelgaleil, S. A. (2016).** Insecticidal properties of essential oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. *Natural Product Research*, 30(6), 710-714. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1038999>
- Abouelatta, A. M., Abou-Elghar, G. E., Elzun, H. M., & Rizk, A. M. (2016).** Insecticidal activity of crude essential oils of four aromatic plants against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Minufiya J Agric Res*, 41(2), 203-216.
- Abu El Wafa, S. S., El-Ashmawy, A. A., Kassem, H. A., Eissa, I. H., Abu-Elghait, M., Younis, N. A., & Younis, I. Y. (2023).** Optimization of oil yield of *Pelargonium graveolens* L'Hér using Box-Behnken design in relation to its antimicrobial activity and in silico study. *Scientific Reports*, 13(1), 19887. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-47170-0>
- Adeosun, I. J., Baloyi, I., Aljoundi, A. K., Salifu, E. Y., Ibrahim, M. A., & Cosa, S. (2023).** Molecular modelling of SdiA protein by selected flavonoid and terpenes compounds to attenuate virulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 41(19), 9938-9956. <https://doi.org/10.1080/07391102.2022.2148753>
- Aisha, K., Visakh, N. U., Pathrose, B., Mori, N., Baeshen, R. S., & Shower, R. (2024).** Extraction, chemical composition and insecticidal activities of *Lantana camara* Linn. leaf essential oils against *Tribolium castaneum*, *Lasioderma serricorne* and *Callosobruchus chinensis*. *Molecules*, 29(2), 344. <https://doi.org/10.3390/molecules29020344>
- Alcala-Orozco, M., Caballero-Gallardo, K., Stashenko, E. E., & Olivero-Verbel, J. (2019).** Repellent and fumigant actions of the essential oils from *Elettaria cardamomum* (L.) Maton, *Salvia officinalis* (L.) Linnaeus, and *Lippia origanoides* (V.) Kunth against *Tribolium castaneum* and *Ulomoides dermestoides*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(1), 18-30. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1585966>
- Alcamo, E.I. (1984).** *Fundamentals of Microbiology* (Ed.) Addison-Wesly publishing company, London, 1984, pp. 310–341. Ed.

Ali, N. S., Ali, S. S., & Shakoori, A. R. (2013). Effects of sublethal doses of malathion on biochemical components of malathion-resistant and-susceptible adults of *Rhyzopertha dominica*. *Pakistan Journal of Zoology*, 45(1).

Alloun, K. (2013). Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens* L.), de la sauge (*Salvia officinalis* L.) et de la rue des montagnes (*Ruta montana* L.) [Mémoire de Magister, École National Supérieure Agronomique]. <http://dspace.ensa.dz>.

Alsudani, A. A., Ismail, W. M., Al-Karhi, M. A., & Abbas, M. A. (2021). Evaluation of Botanical Oils against Red Flour Beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) Coleoptera: Tenebrionidae. *Indian Journal of Ecology*, 48(1), 72-74.

Alves, E. G., Vinholis, A. H. C., Casemiro, L. A., Furtado, N. A. J. C., Silva, M. L. A., Cunha, W. R., & Martins, C. H. G. (2008). Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade anti-bacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. *Química nova*, 31, 1224-1229. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000500052>

Amira, A., Sifi, K., & Soltani, N. (2011). Measure of environmental stress biomarkers in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *European Journal of Experimental Biology*, (2), 7-16.

Amamra, F., Sifi, K., Kaouachi, N., & Soltani, N. (2019). Evaluation of the impact of pollution in the gulf of Annaba (Algeria) by measurement of environmental stress biomarkers in an edible mollusk bivalve *Donax trunculus*. *Fresenius Environ Bull*, 28(2), 908-915.

Aouadi, Gh. (2021). Étude ethnobotanique et un screening phytochimique en vue d'une recherche antimicrobienne et anti-oxydante 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. [Thèse de doctorat, Université Chadli Bendjedid El-Tarf]

Aslam, B., Wang, W., Arshad, M. I., Khurshid, M., Muzammil, S., Rasool, M. H., Nisar, M. A., Alvi, R. F., Aslam, M. A., Qamar, M. U., Salamat, M. K. F., & Baloch, Z. (2018). Antibiotic resistance: A rundown of a global crisis. *Infection and Drug Resistance*, 11, 1645–1658. <https://doi.org/10.2147/IDR.S173867>

Arraiza, M. P., Arrabal, C., & López, J. V. (2012). Seasonal variation of essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) grown in Castilla-La Mancha (Central Spain).

Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 40(2), 106-108.

<https://doi.org/10.15835/nbha4028311>

Asadi, M., Nouri-Ganbalani, G., Raffiee-Dastjerdi, H., Hassanpour, M., & Naseri, B. (2021). Comparative study about the sublethal effects of chemical and botanical insecticides on the functional response of *Habrobracon hebetor* Say (Hym.: Braconidae) to larvae of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae). *International Journal of Pest Management*, 68(1), 80-88. <https://doi.org/10.1080/09670874.2020.1797231>

Awoyinka, O. A., Oyewole, I. O., Amos, B. M. W., & Onasoga, O. F. (2006). Comparative pesticidal activity of dichloromethane extracts of *Piper nigrum* against *Sitophilus zeamais* and *Callosobruchus maculatus*. *African Journal of Biotechnology*, 5(24).

B

Bachrouch, O., Jemâa, J. M. B., 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 products research*, 46(4), 242-247.

Badawy, M.E.I., & Abdelgaleil, S.A.M., (2014). Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. *Industrial Crops and Products*, 52, 776-782. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.003>

Badreddine, B. S., & Baouindi, M. (2016). Effects of *Artemisia herba-alba* essential oils on survival stored cereal pests: *Tribolium castaneum* (Herbst)(Coleoptera, Tenebrionidae) and *Trogoderma granarium* (Everst)(Coleoptera, Dermestidae). *Journal of Coastal Life Medicine*, 4(5), 390-394.

Bakli D., Kirane-Amrani L., Soltani-Mazouni N. & Soltani N. (2016). Methoxyfenozide, an ecdysteroid agonist insecticide, alters oocyte growth during metamorphosis of *Ephestia kuehniella* Zeller. *African Entomology*. 24 (2): 453–459.

Baldin, E. L., Aguiar, G. P., Fanela, T. L., Soares, M. C., Groppo, M., & Crotti, A. E. (2015). Bioactivity of *Pelargonium graveolens* essential oil and related monoterpenoids against sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* biotype B. *Journal of pest science*, 88, 191-199. <https://doi.org/10.1007/s10340-014-0580-8>

- Bano, P., Rather, M. A., Mukhtar, M., Sherwani, A., & Ganie, S. (2022).** Fumigant Toxicity of Artemisia absinthium Essential Oil to Common Stored Product Pests. *Indian Journal of Entomology*, 437-440. <https://doi.org/10.55446/IJE.2021.268>
- Bång, U. (2007).** Screening of natural plant volatiles to control the potato (*Solanum tuberosum*) pathogens *Helminthosporium solani*, *Fusarium solani*, *Phoma foveata* and *Rhizoctonia solani*. *Potato Research*, 50, 185-203. <https://doi.org/10.1007/s11540-008-9044-y>
- Belabed, S., & Soltani, N. (2022).** Cadmium exposure on *Donax trunculus* (Mollusca; Bivalvia) lethality parameters and biomarkers responses. *Fresenius Environmental Bulletin*, 231, 11715.
- Ben-Abada, M. B., Hamdi, S. H., Gharib, R., Messaoud, C., Fourmentin, S., Greige-Gerges, H., & Jemâa, J. M. B. (2019).** Post-harvest management control of *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller)(Lepidoptera: Pyralidae): new insights through essential oil encapsulation in cyclodextrin. *Pest management science*, 75(7), 2000-2008. <https://doi.org/10.1002/ps.5315>
- Ben-Abada, M. (2020).** Nouvelles approches de lutte post-récolte contre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* par micro-encapsulations des huiles essentielles. [Thèse de doctorat, Université de Carthage, Tunisie].
- Bendjedid, H., Yezli-Touiker, S., Taffar, A., Hamel, T., Soltani, N. (2021).** Phytochemical Composition and nsecticidal Activities of Essential oil of *Thymus munbyanus* (Lamiaceae) Aerial Parts and Its Properties Against Biomarkers of *Epehestia kuehniella* zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24(4), 792-807. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1984315>
- Bendjedid, H. (2022).** Etude in vivo de l'efficacité des huiles essentielles d'une plante *Thymus munbyanus* (Boiss & Reut.) à l'égard d'un ravageur a intérêt agronomique *Epehestia Kuehniella* (Lepidoptera Pyralidae) : impact biochimique et physiologie. [Thèse de Doctorat en sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba].
- Ben Elhadj, A.I., Tajini, F., Boulila, A., Jebri, M. A., Boussaid, M., Messaoud, C., & Sebaï, H. (2020).** Bioactive compounds from Tunisian *Pelargonium graveolens* (L'Hér.) essential oils and extracts: α -amylase and acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant, antibacterial and phytotoxic activities. *Industrial Crops and Products*, 158, 112951. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112951>.

- Ben-Farhat, M., Jordán, M. J., Chaouch-Hamada, R., Landoulsi, A., & Sotomayor, J. A. (2016).** Phenophase effects on sage (*Salvia officinalis* L.) yield and composition of essential oil. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 3(3), 87-93. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2016.02.001>
- Ben-Jemaa, J. M., Tersim, N., Boushah, E., Taleb-Toudert, K., & Khouja, M. L. (2013).** Fumigant control of the Mediterranean flour moth *Ephesia kuehniella* with the noble laurel *Laurus nobilis* essential oils. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 8(33), e44.
- Ben Khedher, M. R., Ben Khedher, S. B., Chaieb, I., Tounsi, S., & Hammami, M. (2017).** Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. *EXCLI journal*, 16, 160. <http://dx.doi.org/10.17179/excli2016-832>
- Ben-Taarit, M. B., Msaada, K., Hosni, K., Hammami, M., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009).** Plant growth, essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions. *Industrial Crops and Products*, 30(3), 333-337. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.06.001>
- Benzi, V., Stefanazzi, N., Murray, A. P., Werdin González, J. O., & Ferrero, A. (2014).** Composition, repellent, and insecticidal activities of two South American plants against the stored grain pests *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *International Scholarly Research Notices*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/175827>
- Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannas, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009).** Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Scientia horticulturae*, 120(2), 271-275. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.10.016>
- Bhuiyan, M. N. I., Begum, J., Nandi, N. C., & Akter, F. (2010).** Constituents of the essential oil from leaves and buds of clove (*Syzigium caryophyllatum* (L.) Alston). *African Journal of Plant Science*, 4(11), 451-454.
- Bouderba, N. N., Khalid, K. M., & Kadi, H. (2022).** In Vitro Inhibitory Effect of Some Secondary Metabolites Extract from *Ocimum basilicum* and *Salvia officinalis* Against *Fusarium oxysporum* f. sp. *albendinis* of *Phoenix dactylifera*. L. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(12), 5655-5665. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-04067-4>
- Boukhatem, M. N., Kameli, A., & Saidi, F. (2013).** Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against

food spoilage pathogens. *Food control*, 34(1), 208-213.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.03.045>

Boukhris, M., Simmonds, M. S., Sayadi, S., & Bouaziz, M. (2013). Chemical composition and biological activities of polar extracts and essential oil of rose-scented geranium, *Pelargonium graveolens*. *Phytotherapy research*, 27(8), 1206-1213.
<https://doi.org/10.1002/ptr.4853>

Boukhris, M., Hadrich, F., Chtourou, H., Dhouib, A., Bouaziz, M., & Sayadi, S. (2015). Chemical composition, biological activities and DNA damage protective effect of *Pelargonium graveolens* L'Hér. essential oils at different phenological stages. *Industrial Crops and Products*, 74, 600-606. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.051>

Boukraa, N., Ladjel, S., Goudjil, M. B., Eddoud, A., & Sanori, K. W. M. (2020). Chemical compositions, Fumigant and Repellent Activities, of Essential oils from three Indigenous medicinal plants and their mixture, against stored grain pest, *Tribolium castaneum* (Herbst)(Coleoptera: Tenebrionidae). <https://doi.org/10.5958/0974-4150.2020.00081.4>

Bouzenna, H., & Krichen, L. (2013). *Pelargonium graveolens* L'Her. and *Artemisia arborescens* L. essential oils: chemical composition, antifungal activity against *Rhizoctonia solani* and insecticidal activity against *Rhyssopertha dominica*. *Natural Product Research*, 27(9), 841-846. <https://doi.org/10.1080/14786419.2012.711325>

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

Brari, J., & Kumar, V. (2019). Antifeedant activity of four plant essential oils against major stored product insect pests. *Int. J. Pure Appl. Zool*, 7(3), 41-45.

e

Caballero-Gallardo, K., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E. E. (2011). Repellent activity of essential oils and some of their individual constituents against *Tribolium castaneum* Herbst. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 59(5), 1690-1696.
<https://doi.org/10.1021/jf103937p>

Cal, K. (2006). Skin penetration of terpenes from essential oils and topical vehicles. *Planta medica*, 72(04), 311-316. <http://doi.org/10.1055/s-2005-916230>

Carroll, J. F., Tabanca, N., Kramer, M., Elejalde, N. M., Wedge, D. E., Bernier, U. R., ... & Zhang, S. (2011). Essential oils of *Cupressus funebris*, *Juniperus communis*, and *J. chinensis* (Cupressaceae) as repellents against ticks (Acari: Ixodidae) and mosquitoes (Diptera: Culicidae) and as toxicants against mosquitoes. *Journal of Vector Ecology*, 36(2), 258-268.

CASSIER, P. (1996). L'exploitation de deux milieux: Le passage de la vie larvaire à la vie imaginaire chez les insectes. Le contrôle endocrine. *Bulletin de la Société zoologique de France*, 121(2), 187-197.

Cattoir, V. (2004). Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie biologique*, 52(10), 607-616. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2004.09.001>

Ceri, H., Olson, M. E., & Turner, R. J. (2010). Needed, new paradigms in antibiotic development. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 11(8), 1233-1237.

Christaki, S., Kelesidou, R., Pargana, V., Tzimopoulou, E., Hatzikamari, M., & Mourtzinis, I. (2023). Inclusion complexes of β -Cyclodextrin with *Salvia officinalis* bioactive compounds and their antibacterial activities. *Plants*, 12(13), 2518. <https://doi.org/10.3390/plants12132518>

Chandra, A., & Tiwari, S. K. (2020). BINARY ACTION OF CHLORPYRIFOS-METHYL AND METHOPRENE ON THE LARVAL BIOCHEMISTRY OF ALMOND MOTH, EPHESTIA CAUTELLA WALKER (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE). *Journal of Advanced Zoology*, 41(01-02), 117-131.

Chaaban, S. B., Haouel-Hamdi, S., Bachrouch, O., Mahjoubi, K., & Mediouni Ben Jemâa, J. (2024). Fumigant toxicity of four essential oils against the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and the Mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella*. *International Journal of Environmental Health Research*, 34(1), 419-431. <https://doi.org/10.1080/09603123.2022.2152431>

Chun, M. W. (1972). *Dynamics of feeding responses in Pieris brassicae Linn. as a function of chemosensory input: a behavioural, ultrastructural and electrophysiological study.* Wageningen University and Research.

Corell, M., Garcia, M. C., Contreras, J. I., Segura, M. L., & Cermeño, P. (2012). Effect of water stress on *Salvia officinalis* L. bioproductivity and its bioelement concentrations. *Communications in soil science and plant analysis*, 43(1-2), 419-425. <https://doi.org/10.1080/00103624.2012.641811>

Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., & Wyllie, S. G. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of applied microbiology*, 88(1), 170-175. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00943.x>

D

da Silva, F. D., Nogara, P. A., Braga, M. M., & da Rocha, J. B. T. (2018). Molecular docking analysis of acetylcholinesterase supports the protective effect of pralidoxime on toxic action of chlorpyrifos in behavior and neurochemistry of *Nauphoeta cinerea*. *Computational Toxicology*, <https://doi.org/10.1016/j.comtox.2018.07.003>

Daina, A., & Zoete, V. (2016). A boiled-egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. *ChemMedChem*, 11(11), 1117-1121. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201600182>

Delimi A., Taibi F., Fissah A., Gherib S., Bouhkari M. & Cheffrou A., (2013). Bioactivité des huiles essentielles de l'Armoise blanche *Artemessia herba alba*: effet sur la reproduction et la mortalité des adultes d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera). *Afrique science*, 9(3) : 82-90.

Davis R.E., Kelly T.J., Masler E.P., Fescemeyer H.W., Thyagaraja B.S. & Borkovec A.B. (1990). Hormonal control of vitellogenesis in the gypsy moth, *Lymantria dispar* (L.): suppression of hemolymph vitellogenin by the juvenile hormone analog, methoprene. *Journal of Insect Physiology*, 36, 231-238.

Daumal, J., & Boinel, H. (1994). Qualité trophique des pontes d'*Ephestia kuehniella* ZELL. traitées aux basses températures pour l'élevage des Trichogrammes. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, 67(3-4), 373-383. <https://doi.org/10.5169/seals-402567>

Darvishzadeh, A., & Sharifian, I. (2015). Effect of spinosad and malathion on esterase enzyme activities of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3(2), 351-354.

Deans, S. G., & Svoboda, K. P. (1990). The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.) volatile oil. *Flavour and fragrance journal*, 5(3), 187-190. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730050311>

de Oliveira, L. H., Trigueiro, P., Souza, J. S. N., de Carvalho, M. S., Osajima, J. A., da Silva-Filho, E. C., & Fonseca, M. G. (2022). Montmorillonite with essential oils as antimicrobial agents, packaging, repellents, and insecticides: An overview. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 209, 112186. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112186>

Derbalah, A., Keratum, A., Darwesh, M., Omar, A. F., Salama, A., & Hegazy, F. (2024). The efficacy of some synthetic monoterpenes and Yucca extract for controlling *Tribolium castaneum* (Herbst) in wheat grain. *Journal of Plant Protection Research*, 64(1), 2. <https://doi.org/10.24425/jppr.2024.149154>

Dobignard, A. & Chatelain, C. 2010-2013: Index synonymique de la flore de l'Afrique du Nord, 1-5. – Genève

Dzamic, A. M., Sokovic, M. D., Ristic, M. S., Grujic, S. M., Mileski, K. S., & Marin, P. D. (2014). Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* essential oil. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(3), 001-005. [10.7324/JAPS.2014.40301](https://doi.org/10.7324/JAPS.2014.40301)

F

Ebadollahi, A., Geranmayeh, J., & Kamrani, M. (2017). Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) control potential of essential oil isolated from Iranian *Cymbopogon citratus* Stapf. *Natural Product Sciences*, 23(4), 235-238. <https://doi.org/10.20307/nps.2017.23.4.235>

El-Alami, A. (2018). *Le règne végétal : Caractères des principaux groupes de plantes et systématique des angiospermes*. Les Éditions du Net.

Elkolli, M. Elkolli, H. Alam, M. Benguerba, Y. (2023). *In silico* study of antibacterial tyrosyl-tRNA synthetase and toxicity of main phytoconstituents from three active essential oils. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-13. [10.1080/07391102.2023.2199865](https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2199865)

El Jery, A., Hasan, M., Rashid, M. M., Al Mesfer, M. K., Danish, M., & Rebah, F. B. (2020). Phytochemical characterization, and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from leaves of the common sage L. from Abha, Saudi Arabia. *Asian Biomedicine*, 14(6), 261-270. <https://doi.org/10.1515/abm-2020-0035>

Elimem, M., Soltani, R., & Dhahri, W. (2019). Evaluation of insecticidal efficiency of essential oils from *Foeniculum vulgare* var. dulce waste to control *Tribolium castaneum* Herbst

1797 (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Trogoderma granarium* Everts 1898 (Coleoptera: Dermestidae) under laboratory conditions. *Journal of New Sciences*, 65, 4125-4135.

Elnabawy, E. S. M., Hassan, S., & Taha, E. K. A. (2021). Repellent and toxicant effects of eight essential oils against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). *Biology*, 11(1), 3. <https://doi.org/10.3390/biology11010003>

Elzen, G. W., Maldonado, S. N., & Rojas, M. G. (2000). Lethal and sublethal effects of selected insecticides and an insect growth regulator on the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) ectoparasitoid *Catolaccus grandis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Economic Entomology*, 93(2), 300-303.

f

Ferrante, A., & Mariani, L. (2018). Agronomic management for enhancing plant tolerance to abiotic stresses: High and low values of temperature, light intensity, and relative humidity. *Horticulturae*, 4(3), 21. <https://doi.org/10.3390/horticulturae4030021>

Finney, D. J. (1971). Probit analysis, Cambridge University Press. *Cambridge, UK*.

Freires, I. D. A., Murata, R. M., Furletti, V. F., Sartoratto, A., Alencar, S. M. D., Figueira, G. M., de Oliveira Rodrigues, J.A.; Duarte, M.C.T., & Rosalen, P. L. (2014). *Coriandrum sativum* L.(coriander) essential oil: antifungal activity and mode of action on *Candida* spp., and molecular targets affected in human whole-genome expression. *PLoS One*, 9(6), e99086. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099086>

Fu, J., Ma, Z., Wang, L., Zhang, Y., & Luo, Y. (2023). Fumigation Effects and Behavioral Responses of Red Imported Fire Ant (*Solenopsis invicta* Buren) to Six Plant Essential Oils. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2522192/v1>

g

Gäde G. & Hoffmann KH., (2005). Neuropeptides regulating development and reproduction in insects. *Physiol Entomol.* 30, 103-121.

Ganter GK., Walton KL., Merriman JO., Salmon MV., Brooks KM., Maddula S. & Kravitz EA. (2007). Increased male-male courtship in ecdysone receptor deficient adult flies. *Behav. Genet.* 37 (3): 507–512.

Garelli, A., Gontijo, A. M., Miguela, V., Caparros, E., & Dominguez, M. (2012). Imaginal discs secrete insulin-like peptide 8 to mediate plasticity of growth and maturation. *Science*, 336(6081), 579-582.

Garcia, K., Olimpí, E. M., M'Gonigle, L., Karp, D. S., Wilson-Rankin, E. E., Kremen, C., & Gonthier, D. J. (2023). Semi-natural habitats on organic strawberry farms and in surrounding landscapes promote bird biodiversity and pest control potential. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 347, 108353. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2023.108353>

Ghavam, M., Manconi, M., Manca, M. L., & Bacchetta, G. (2021). Extraction of essential oil from *Dracocephalum kotschyi* Boiss.(Lamiaceae), identification of two active compounds and evaluation of the antimicrobial properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 267, 113513. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113513>

Gogoi, R., Begum, T., Sarma, N., Tamang, R., Chanda, S. K., Lal, M., ... & Marinković, J. (2024). *Pelargonium graveolens* L.(Geranium) essential oil from Northeast India: chemical composition, pharmacology and genotoxicity study. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 1-17. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2024.2311825>

Grine, S., Taibi, F., Berredjem, M., Dekir, A., Benaliouche, F., Rachedi, K. O., Soltani, N. (2023). Antifungal activity of the essential oil of *Pelargonium graveolens*. Molecular docking, molecular dynamics, DFT, and *in silico* ADMET studies of five derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 1294, 136546. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136546>

Gupta, S., & Gupta, K. (2020). Bioaccumulation of pesticides and its impact on biological systems. *Pesticides in Crop Production: Physiological and Biochemical Action*, 55-67.

H

Hagedorn HH., (1985). The role of ecdysteroids in reproduction. Dans *Comprehensive insect physiology, Biochemistry and pharmacology*. Kerkut G. A. et Gilbert, L. I. (Eds), Pergamon, Oxford. 8: 205- 262.

Hagstrom, D., Cochet-Escartin, O., Zhang, S., Khuu, C., & Collins, E. M. S. (2015). Freshwater planarians as an alternative animal model for neurotoxicology. *Toxicological Sciences*, 147(1), 270-285. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfv129>

Hami M., Taibi F., Smaghe G. & Soltani-Mazouni N. (2005). Comparative toxicity of three ecdysone agonist insecticides against the Mediterranean flour moth. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 70 (4): 767-773

- Haridasan, P., Gokuldas, M., & Ajaykumar, A. P. (2017).** Antifeedant effects of *Vitex negundo* L. leaf extracts on the stored product pest, *Tribolium castaneum* H.(Coleoptera: Tenebrionidae). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9(3), 17-22. : <http://dx.doi.org/10.22159/ijpps.2017v9i3.15600>
- Hazrati, S., Beidaghi, P., Beyraghdar Kashkooli, A., Hosseini, S. J., & Nicola, S. (2022).** Effect of harvesting time variations on essential oil yield and composition of Sage (*Salvia officinalis*). *Horticulturae*, 8(2), 149. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8020149>
- Hasan, F., & Ansari, M. S. (2017).** Lethal and Sublethal Effects of Insecticides on the Biological Attributes of *Zygogramma bicolorata* Pallister (Coleoptera: Chrysomelidae): a Biocontrol Agent of *Parthenium hysterophorus* L. *Neotropical entomology*, 46, 473-486.
- Herrera, M. S., Hernández, M. F., Cipollone, M., Conconi, M. S., & Rendtorff, N. M. (2019).** Thermal behavior of samarium oxide–Ball clay mixtures for high macroscopic neutron capture cross section ceramic materials. *Applied Clay Science*, 168, 125-135. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2018.10.010>
- Hiruma K. & Kaneko Y., (2013).** Hormonal Regulation of Insect Metamorphosis with Special Reference to Juvenile Hormone Biosynthesis. *Current Topics in Developmental Biology*, 103, 73-100.
- Hill, D. S. (1990).** *Pests of stored products and their control*. Belhaven Press.
- Hoffmann KH., Meyering-Vos. & Lorenz WM. (1999).** Allatostatins and allatotropins : is the regulation of corpora allata activity their primary function. *Eur. J. Entomol.* 96: 255-266.
- Huang, Y., Ho, S. H., Lee, H. C., & Yap, Y. L. (2002).** Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch.(Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst)(Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, 38(5), 403-412. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(01\)00042-X](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(01)00042-X)
- Hughes, C. A., Gorabi, V., Escamilla, Y., Dean, F. B., & Bullard, J. M. (2020).** Two forms of tyrosyl-tRNA synthetase from *Pseudomonas aeruginosa*: characterization and discovery of inhibitory compounds. *SLAS DISCOVERY: Advancing the Science of Drug Discovery*, 25(9), 1072-1086. <https://doi.org/10.1177/2472555220934793>

Huang, Y., Tan, J. M. W. L., Kini, R. M., & Ho, S. H. (1997). Toxic and antifeedant action of nutmeg oil against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. *Journal of Stored Products Research*, 33(4), 289-298. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(97\)00009-X](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(97)00009-X)

¶

Isman, M. B., & Grieneisen, M. L. (2014). Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. *Trends in plant science*, 19(3), 140-145. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.11.005>

¶

Jaradat, N., Qneibi, M., Hawash, M., Al-Maharik, N., Qadi, M., Abualhasan, M. N., ... & Bdir, S. (2022). Assessing *Artemisia arborescens* essential oil compositions, antimicrobial, cytotoxic, anti-inflammatory, and neuroprotective effects gathered from two geographic locations in Palestine. *Industrial Crops and Products*, 176, 114360. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114360>

Jennings, W., & Shibamoto, T. (1980). Part A-analytical considerations. *Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography*, 1-27.

Jerbi, M., Hamouda, A. B., Hamdi, F., Laarif, A., & Chaieb, I. (2021). Evaluation of repellent activity and toxicity of three essential oils against *Tribolium castaneum* (Herbst)(Coleoptera: Tenebrionidae) using a mixture design. *International Journal of Entomology Research*, 3, 69.

¶

Kačániová, M., Vukic, M., Vukovic, N. L., Čmiková, N., Verešová, A., Schwarzová, M., ... & Garzoli, S. (2023). An In-Depth Study on the Chemical Composition and Biological Effects of *Pelargonium graveolens* Essential Oil. *Foods*, 13(1), 33. <https://doi.org/10.3390/foods13010033>

Katritzky, A. R., Dobchev, D. A., Tulp, I., Karelson, M., & Carlson, D. A. (2006). QSAR study of mosquito repellents using Codessa Pro. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 16(8), 2306-2311. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.11.113>

Kerekes, E. B., Deák, É., Takó, M., Tserennadmid, R., Petkovits, T., Vágvölgyi, C., & Krisch, J. (2013). Anti-biofilm forming and anti-quorum sensing activity of selected essential

oils and their main components on food-related micro-organisms. *Journal of Applied Microbiology*, 115(4), 933-942.

Kéita, S. M., Vincent, C., Schmit, J. P., Arnason, J. T., & Bélanger, A. (2001). Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) [Coleoptera: Bruchidae]. *Journal of Stored Products Research*, 37(4), 339-349. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00034-5](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00034-5)

Khani, A., & Asghari, J. (2012). Insecticide activity of essential oils of *Mentha longifolia*, *Pulicaria gnaphalodes* and *Achillea wilhelmsii* against two stored product pests, the flour beetle, *Tribolium castaneum*, and the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Insect Science*, 12(1), 73. <https://doi.org/10.1673/031.012.7301>

Khaneghah, A. M., Fakhri, Y., Gahruie, H. H., Niakousari, M., & Sant'Ana, A. S. (2019). Mycotoxins in cereal-based products during 24 years (1983–2017): A global systematic review. *Trends in food science & technology*, 91, 95-105. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.007>

Khani, M., Awang, R. M., Omar, D., & Rahmani, M. (2013). Toxicity, antifeedant, egg hatchability and adult emergence effect of *Piper nigrum* L. and *Jatropha curcas* L. extracts against rice moth, *Corcyra cephalonica* (Stainton). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(18), 1255-1262. <https://doi.org/10.5897/JMPR12.600>.

Kharoubi, R. (2021). *méthodes alternatives de lutte contre les moustiques : Efficacité des extraits d'une plante médicinale la menthe (Mentha sp) et effets secondaires sur Gambusia affinis*. [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba]. <https://biblio.univ-annaba.dz/wp-content/uploads/2023/04/These-Kharoubi-Rim.pdf>

Kim, S. I., & Lee, D. W. (2014). Toxicity of basil and orange essential oils and their components against two coleopteran stored products insect pests. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17(1), 13-17. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2013.09.002>

Klebe, G. (2013). Optical Activity and Biological Effect. In: Klebe, G. (eds) *Drug Design*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-17907-5_5

Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A., Cakir, A., Ala, A., & Yildirim, A. (2005). Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*,

A. dracunculus, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(24), 9452-9458.

Kontsedalov, S., Gottlieb, Y., Ishaaya, I., Nauen, R., Horowitz, R., & Ghanim, M. (2009). Toxicity of spiromesifen to the developmental stages of *Bemisia tabaci* biotype B. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 65(1), 5-13.

Kócsó, D. J., Ali, O., Kovács, M., Mézes, M., Balogh, K., Kachlek, M. L., Bota, B., Zeebone, Y.Y., Szabo, A., Szabó, A. (2021). A preliminary study on changes in heat shock protein 70 levels induced by *Fusarium* mycotoxins in rats: in vivo study. *Mycotoxin Research*, 37(2), 141-148. <https://doi.org/10.1007/s12550-021-00425-z>

Kumar, R., Mishra, A. K., Dubey, N. K., & Tripathi, Y. B. (2007). Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity. *International journal of food microbiology*, 115(2), 159-164. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.017>

Kumar, R., Srivastava, M., & Dubey, N. K. (2007). Evaluation of *Cymbopogon martinii* oil extract for control of postharvest insect deterioration in cereals and legumes. *Journal of food protection*, 70(1), 172-178. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.1.172>



Lafont R., Dauphin-Villemant C., Warren JT. & Rees H. (2005). Ecdysteroid chemistry and biochemistry. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). *Comprehensive molecular insect science*. Elsevier, Oxford, UK. 3: 125–195.

Lahcene, S., Taibi, F., Mestar, N., Ahmed, S. A., Boumendjel, M., Ouafi, S., & Houali, K. (2018). Insecticidal effects of the *Olea europaea* subsp. *laperrinei* extracts on the flour Pyralid *Ephestia kuehniella*. *Cellular and molecular biology*, 64(11), 6-12.

Lagrouh, F., Dakka, N., & Bakri, Y. (2017). The antifungal activity of Moroccan plants and the mechanism of action of secondary metabolites from plants. *Journal de mycologie medicale*, 27(3), 303-311. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.04.008>

Lakbar C., (1999). Effets de deux régulateurs de croissance, le RH-0345 et le pyriproxifene sur le développement de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Mag., Université d'Annaba, Algérie.

Lalli, J. Y., Viljoen, A. M., Başer, K. H. C., Demirci, B., & Özek, T. (2006). The essential oil composition and chemotaxonomical appraisal of South African Pelargoniums (Geraniaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 18(sup1), 89-105. <https://doi.org/10.1080/10412905.2006.12067128>

Li Y., Unnithan GC., Veenstara JA., Feyerisen R. & Noriega FG. (2003). Stimulation of JH biosynthesis by the corpora allata of adult female *Aedes aegypti* in vitro: Effect of fanesoic acid and *Aedes* allatotropin. *Journal of Experimental Biology*, 206(11), 1825-1832. <https://doi.org/10.1242/jeb.00371>

Liu, M., Zhao, L., Gong, G., Zhang, L., Shi, L., Dai, J., Han, Y., Wu, M.M., Khalil, L., Sun, L. (2022). Invited review: Remediation strategies for mycotoxin control in feed. *Journal of animal science and biotechnology*, 13(1), 1-16. , <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00661-4>.

Leclerc, H., Gaillard, J. L., & Simonet, M. (1995). *Microbiologie générale: la bactérie et le monde bactérien*. Doin.

Lee, S., Peterson, C. J., & Coats, J. R. (2003). Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. *Journal of Stored Products Research*, 39(1), 77-85. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(02\)00020-6](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(02)00020-6)

Liška, A., Rozman, V., Kalinović, I., Eđed, A., Mustač, S., & Perhoč, B. (2011). Bioactivity of 1, 8-cineole against red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst). *Poljoprivreda*, 17(1), 58-63.

Liška, A., Rozman, V., Brmež, M., Rebekić, A., & Lucić, P. (2015). Fumigant efficacy of 1, 8-cineole and eugenol on the pupal stage of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae). *Poljoprivreda*, 21(2), 23-29.

Liang, J. Y., Xu, J., Yang, Y. Y., Shao, Y. Z., Zhou, F., & Wang, J. L. (2020). Toxicity and synergistic effect of *Elsholtzia Ciliata* essential oil and its main components against the adult and larval stages of *Tribolium Castaneum*. *Foods*, 9(3), 345. <https://doi.org/10.3390/foods9030345>

Lumbreras, C. J., Galante, E., & Mena, J. (1991). Ovarian condition as an indicator of the phenology of *Bubas bubalus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 84(2), 190-194.

N

Macfarlane, S., & Dillon, J. F. (2007). Microbial biofilms in the human gastrointestinal tract. *Journal of applied microbiology*, 102(5), 1187-1196. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03287.x>

McDonald, L. L., Guy, R. H., & Speirs, R. D. (1970). *Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents, and attractants against stored-product insects* (No. 882). US Agricultural Research Service.

Mendes, F. S. F., Garcia, L. M., da Silva Moraes, T., Casemiro, L. A., de Alcantara, C. B., Ambrósio, S. R., Veneziani, R.C.S., Miranda, M.L.D., & Martins, C. H. G. (2020). Antibacterial activity of *salvia officinalis* L. against periodontopathogens: An *in vitro* study. *Anaerobe*, 63, 102194. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2020.102194>

Mondani, L., Chiusa, G., Pietri, A., & Battilani, P. (2021). Monitoring the incidence of dry rot caused by *Fusarium proliferatum* in garlic at harvest and during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 173, 111407. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111407>

Muñoz Castellanos, L., Amaya Olivas, N., Ayala-Soto, J., De La O Contreras, C. M., Zermeño Ortega, M., Sandoval Salas, F., & Hernández-Ochoa, L. (2020). In vitro and in vivo antifungal activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) and pepper (*Piper nigrum* L.) essential oils and functional extracts against *Fusarium oxysporum* and *Aspergillus niger* in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *International Journal of Microbiology*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/1702037>

N

National Center for Biotechnology Information (NCBI), 2018. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/taxonomyhome.html/>

Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & De Feo, V. (2017). Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*, 10(4), 86. <https://doi.org/10.3390/ph10040086>

Ndomo, A. F., Ngamo, L. T., Tapondjou, L. A., Tchouanguep, F. M., & Hance, T. (2008). Insecticidal effects of the powdery formulation based on clay and essential oil from the leaves of *Clausena anisata* (Willd.) JD Hook ex. Benth.(Rutaceae) against *Acanthoscelides obtectus*

(Say)(Coleoptera: Bruchidae). *Journal of pest science*, 81, 227-234.
<https://doi.org/10.1007/s10340-008-0211-3>

Ndomo, A. F., Tapondjou, L. A., Ngamo, L. T., & Hance, T. (2010). Insecticidal activities of essential oil of *Callistemon viminalis* applied as fumigant and powder against two bruchids. *Journal of Applied Entomology*, 134(4), 333-341. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2009.01475.x>

Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E. E. (2009). Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*, 45(3), 212-214.
<https://doi.org/10.1016/j.jspr.2009.01.002>

Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E. (2010). Repellent activity of essential oils: a review. *Bioresource technology*, 101(1), 372-378.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.048>

Ngamo, L. S., Ngassoum, M. B., Jirovetz, L., Ousman, A., Nukenine, E. C., & Mukala, O. E. (2001). Protection of stored maize against *Sitophilus zeamais* (Motsch.) by use of essential oils of spices from Cameroon. *Mededelingen (Rijksuniversiteit te Gent. Fakulteit van de Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen)*, 66(2a), 473-478.

Nguemtchouin, M. G., Ngassoum, M. B., Chaliér, P., Kamga, R., Ngamo, L. S., & Cretin, M. (2013). *Ocimum gratissimum* essential oil and modified montmorillonite clay, a means of controlling insect pests in stored products. *Journal of Stored Products Research*, 52, 57-62.
<https://doi.org/10.1016/j.jspr.2012.09.006>

Noudem, J. A., Nguemtchouin Mbouga, M. G., Kaptso, K. G., Khalfaoui, M., & Noumi, G. B. (2017). Saponins-clay modified materials: a new approach against *Callosobruchus subinnotatus* in stored products. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 6(6), 134-141.

Novato, T. P. L., Araújo, L. X., de Monteiro, C. M. O., Maturano, R., Senra, T. D. O. S., da Silva Matos, R., ... & Daemon, E. (2015). Evaluation of the combined effect of thymol, carvacrol and (E)-cinnamaldehyde on *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. *Veterinary parasitology*, 212(3-4), 331-335.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.08.021>

Ø

Olmedo-Juárez, A., Briones-Robles, T. I., Zaragoza-Bastida, A., Zamilpa, A., Ojeda-Ramírez, D., de Gives, P. M., ... & Rivero-Perez, N. (2019). Antibacterial activity of compounds isolated from *Caesalpinia coriaria* (Jacq) Willd against important bacteria in public health. *Microbial pathogenesis*, 136, 103660. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103660>

Olson M.E., Ceri, H., Morck, D.W., Buret, A.G., Read, R.R. (2002). Bactéries de biofilm : formation et sensibilité comparative aux antibiotiques. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 66(2),86-92.

Ouelhadj, A., Ait Salem, L., & Djenane, D. (2017). Antibacterial activity of *Pelargonium x asperum* essential oil and its potential synergy with nisin. *Phytothérapie*, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1164-6>

Ø

Pangnakorn, U., & Chuenhooklin, S. (2018). Toxicity of essential oils to stored product pest and application to extrusion coating film for extend rice storage life. *Int. J. of Environ. Monitor. Analysis*, 6(2), 65-70.

Patel, H. A., & Bajaj, H. C. (2010). Natural and synthetic layered materials as cosmetic ingredients. *Focus on Aminoacids, Peptides Hi-Tech Ingredients*, 4, 31-36.

Paris, M., Hurabielle, M., & Paris, R. R. (1981). *Abrégé de matière médicale: Monographies (2. partie): plantes actives sur le système nerveux, sur l'appareil digestif, plantes cardiotoniques, plantes antiparasitaires, plantes insecticides, antibiotiques et antitumoraux d'origine végétale.* Masson.

Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4)

Postlethwait, J. H., Bownes, M., & Jowett, T. (1980). Sexual phenotype and vitellogenin synthesis in *Drosophila melanogaster*. *Developmental biology*, 79(2), 379-387

Q

Quézel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.

R

Rahman, M. M., & Lamsal, B. P. (2021). Ultrasound-assisted extraction and modification of plant-based proteins: Impact on physicochemical, functional, and nutritional properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1457-1480. <https://doi.org/10.32604/cmc.2020.013910>

Raies, A. B., & Bajic, V. B. (2016). In silico toxicology: computational methods for the prediction of chemical toxicity. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 6(2), 147-172. <https://doi.org/10.1002/wcms.1240>

Rai, J., & Kaushik, K. (2018). Reduction of animal sacrifice in biomedical science & research through alternative design of animal experiments. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(6), 896-902. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.03.006>

Ramtin, M., Massiha, A., Khoshkholgh-Pahlavian, M. R. M., Issazadeh, K., Assmar, M., & Zarrabi, S. (2014). In vitro antimicrobial activity of *Iris pseudacorus* and *Urtica dioica*. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 16(3), 35-39.

Rana, V. S., Juyal, J. P., & Blazquez, M. A. (2002). Chemical constituents of essential oil of *Pelargonium graveolens* leaves. *International Journal of Aromatherapy*, 12(4), 216-218. [https://doi.org/10.1016/S0962-4562\(03\)00003-1](https://doi.org/10.1016/S0962-4562(03)00003-1)

Raut, J. S., & Karuppayil, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial crops and products*, 62, 250-264. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.055>

Ristaino, J. B., Anderson, P. K., Bebbler, D. P., Brauman, K. A., Cunniffe, N. J., Fedoroff, N. V., ... & Wei, Q. (2021). The persistent threat of emerging plant disease pandemics to global food security. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(23), e2022239118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2022239118>

Regnault-Roger, C., Vincent, C., & Arnason, J. T. (2012). Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annual review of entomology*, 57, 405-424. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120710-100554>

Rguez, S., Msaada, K., Daami-Remadi, M., Chayeb, I., Bettaieb Rebey, I., Hammami, M., ... & Hamrouni-Sellami, I. (2019). Chemical composition and biological activities of essential oils of *Salvia officinalis* aerial parts as affected by diurnal variations. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 153(2), 264-272. <https://doi.org/10.1080/11263504.2018.1473305>

Rolta, R., Salaria, D., Kumar, V., Patel, C. N., Sourirajan, A., Baumler, D. J., & Dev, K. (2022). Molecular docking studies of phytochemicals of *Rheum emodi* Wall with proteins responsible for antibiotic resistance in bacterial and fungal pathogens: in silico approach to enhance the bio-availability of antibiotics. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(8), 3789-3803. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1850364>

Rotimi, V. O., Laughon, B. E., Bartlett, J. G., & Mosadomi, H. A. (1988). Activities of Nigerian chewing stick extracts against *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides melaninogenicus*. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 32(4), 598-600. <https://doi.org/10.1128/aac.32.4.598>

Rosa, J. S., Oliveira, L., Sousa, R. M. O. F., Escobar, C. B., & Fernandes-Ferreira, M. (2020). Bioactivity of some Apiaceae essential oils and their constituents against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Bulletin of entomological research*, 110(3), 406-416. <https://doi.org/10.1017/S0007485319000774>

Ruegg RP., Orchard I. & Davey KG. (1992). 20-hydroxyecdysone as a modulator of activity in neurosecretory cells of *Rodnius prolixus*. *Journal of Insect Physiology*, 28, 243- 248.

Russo, A., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Delfino, S., Cardile, V., ... & Bruno, M. (2013). Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 42-47. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.12.036>



Salaria, D., Rolta, R., Patel, C. N., Dev, K., Sourirajan, A., & Kumar, V. (2022). *In vitro* and *in silico* analysis of *Thymus serpyllum* essential oil as bioactivity enhancer of antibacterial and antifungal agents. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(20), 10383-10402. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1943530>

Soltani-Mazouni N., Hami M. & Gramdi H. (2011). Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella* Zeller. *Invertebrate Reproduction and Development*. <https://doi.org/10.1080/07924259.582695>

Sambou, A. K. (2018). Pratiques agricoles et risques sanitaires associés à l'utilisation des produits phytosanitaires en milieu rural casamançais: cas des villages de Diannah et de Kabadio (district de santé de Diouloulou).

Samani, M. R., Pirbalouti, A. G., Moattar, F., & Golparvar, A. R. (2019). L-Phenylalanine and bio-fertilizers interaction effects on growth, yield and chemical compositions and content of essential oil from the sage (*Salvia officinalis* L.) leaves. *Industrial crops and Products*, 137, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.019>

Sánchez, E., Morales, C. R., Castillo, S., Leos-Rivas, C., García-Becerra, L., Martínez, D. M. O. (2016). Antibacterial and antibiofilm activity of methanolic plant extracts against nosocomial microorganisms. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/1572697>

Şenol, H., Ghaffari-Moghaddam, M., Toraman, G. Ö. A., & Güller, U. (2024). Novel chalcone derivatives of ursolic acid as acetylcholinesterase inhibitors: Synthesis, characterization, biological activity, ADME prediction, molecular docking and molecular dynamics studies. *Journal of Molecular Structure*, 1295, 136804. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136804>

Sarter, S., Nguyen, H. N. K., Lazard, J., & Montet, D. (2007). Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. *Food control*, 18(11), 1391-1396. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.10.003>

Schwarz, S., Silley, P., Simjee, S., Woodford, N., van Duijkeren, E., Johnson, A. P., & Gaastra, W. (2010). Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 65(4), 601-604. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq037>

Sener, O., Arslan, M., Demirel, N., & Uremis, I. (2009). Insecticidal effects of some essential oils against the confused flour beetle (*Tribolium confusum* du Val)(Col.: Tenebrinoidea) in stored wheat. *Asian Journal of Chemistry*, 21(5), 3995.

- Sellami, I. H., Bettaieb, I., Bourgou, S., Dahmani, R., Limam, F., & Marzouk, B. (2012).** Essential oil and aroma composition of leaves, stalks and roots of celery (*Apium graveolens* var. dulce) from Tunisia. *Journal of Essential Oil Research*, 24(6), 513-521. <https://doi.org/10.1080/10412905.2012.728093>
- Sharifi, M., Kosari, A. A., Zibae, A., & Jalali Sendi, J. (2013).** Effects of Pyriproxyfen on detoxifying and intermediary enzymes of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Plant Pests Research*, 3(1), 35-44.
- Singh, P., Srivastava, B., Kumar, A., Kumar, R., Dubey, N. K., & Gupta, R. (2008).** Assessment of *Pelargonium graveolens* oil as plant-based antimicrobial and aflatoxin suppressor in food preservation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(14), 2421-2425.
- Siegel, J. D., Rhinehart, E., Jackson, M., & Chiarello, L. (2007).** Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. *American journal of infection control*, 35(10), S165-S193. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2007.10.006>
- Silva, W. J., Dória, G. A. A., Maia, R. T., Nunes, R. S., Carvalho, G. A., Blank, A. F., ... & Cavalcanti, S. C. H. (2008).** Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: alternatives to environmentally safe insecticides. *Bioresource technology*, 99(8), 3251-3255. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.05.064>
- Slama, T. G. (2008).** Gram-negative antibiotic resistance: there is a price to pay. *Critical Care*, 12, 1-7. <https://doi.org/10.1186/cc6820>
- Stamopoulos, D. C., Damos, P., & Karagianidou, G. (2007).** Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val)(Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of stored products research*, 43(4), 571-577. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2007.03.007>
- Sun, L. H., Zhang, N. Y., Zhu, M. K., Zhao, L., Zhou, J. C., Qi, D. S. (2015).** Prevention of aflatoxin B1 hepatotoxicity by dietary selenium is associated with inhibition of cytochrome P450 isozymes and up-regulation of 6 selenoprotein genes in chick liver. *The journal of nutrition*, 146(4), 655-661. <https://doi.org/10.3945/jn.115.224626>

Taffar, A. (2022). Effets d'un biopesticide l'Azadirachtine, sur la reproduction d'un Lépidoptère ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella*. [Thèse de Doctorat en sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba]. 113 pages

Taïbi, F., Boumendjel, M., Moncef, Z., Omar, S., Taha, K., Amel, D., ... & Mahfoud, M. (2018). Conservation of stored food using plant's extracts. Effect of oregano (*Origanum vulgare*) essential oils on the reproduction and development of flour moth (*Ephestia kuehniella*). *Cellular and Molecular Biology*, 64(10), 5-11. <https://doi.org/10.14715/cmb/2018.64.10.2>

Taïbi F., (2007). Etude comparée du développement et de la reproduction chez deux ravageurs des denrées stockées *Ephestia kuehniella* et *Tenebrio molitor*: Aspect endocrinien en rapport avec l'impact d'un mimétique de l'hormone de mue, le RH0345. [Thèse de doctorat en Biologie et Physiologie Animale. Université Badji Mokhtar, Annaba].

Tiwari, S., & Dubey, N. K. (2022). Nanoencapsulated essential oils as novel green preservatives against fungal and mycotoxin contamination of food commodities. *Current Opinion in Food Science*, 45, 100831. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100831>.

Tong-Xian L. & Stansly A. (2004). Lethal and sublethal effects of two insect growth regulators on adult *Delphastus catalinae* (Coleoptera; Coccinellidae), a predator of whiteflies (homoptera: aleyrodidae). *Science Biological Control*. 30, 298-305.

Torticide, Y. (1995). Mating effect on moths' reproduction: correlation between reproduction success and calling activity in females *Ephestia kuehniella*, *Cydia pomonella*, *Yponomeuta cognagellus* (Lepidoptera: pyralidae). *Pheromones*, 5(3-4), 169-190.

Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12492>

Trigos, A., & Ortega-Regules, A. (2002). Selective destruction of microscopic fungi through photo-oxidation of ergosterol. *Mycologia*, 94(4), 563-568. <https://doi.org/10.1080/15572536.2003.11833184>

Tripathi, A. K., Prajapati, V., Aggarwal, K. K., & Kumar, S. (2001). Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1, 8-cineole from *Artemisia annua* on progeny production

of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of economic entomology*, 94(4), 979-983. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.4.979>

Tufail M., Nagaba Y., Elgendy AM. & Takeda M., (2014). Regulation of vitellogenin genes in insects. *Entomological Science*, 17 (3): 269–282.

Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013). Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 12(1), 40-53.

U

Ukeh, D. A., & Umoetok, S. B. (2011). Repellent effects of five monoterpenoid odours against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Rhyzopertha dominica* (F.) in Calabar, Nigeria. *Crop protection*, 30(10), 1351-1355. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.05.016>

V

Valkovszki, N. J., Szalóki, T., Székely, Á., Kun, Á., Kolozsvári, I., Szalókiné Zima, I., ... & Jancsó, M. (2023). Influence of Soil Types on the Morphology, Yield, and Essential Oil Composition of Common Sage (*Salvia officinalis* L.). *Horticulturae*, 9(9), 1037. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9091037>

Varma, J., & Dubey, N. K. (2001). Efficacy of essential oils of *Caesulia axillaris* and *Mentha arvensis* against some storage pests causing biodeterioration of food commodities. *International Journal of Food Microbiology*, 68(3), 207-210. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00506-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00506-2)

Vale, A., & Lotti, M. (2015). Organophosphorus and carbamate insecticide poisoning. *Handbook of clinical neurology*, 131, 149-168.

Vincent, M. C. (1991). L'aromatogramme, Encyclopédie de médecine naturelle (Paris, France). *Phytothérapie, aromathérapie. C*, 4(9), 6.

Vijesh, A. M., Isloor, A. M., Telkar, S., Arulmoli, T., & Fun, H. K. (2013). Molecular docking studies of some new imidazole derivatives for antimicrobial properties. *Arabian Journal of Chemistry*, 6(2), 197-204. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.10.007>

Visakh, N. U., Pathrose, B., Narayanankutty, A., Alfarhan, A., & Ramesh, V. (2022). Utilization of pomelo (*Citrus maxima*) peel waste into bioactive essential oils: Chemical composition and insecticidal properties. *Insects*, 13(5), 480.

Volcho, K. P., & Anikeev, V. I. (2014). Environmentally benign transformations of monoterpenes and monoterpenoids in supercritical fluids. In *Supercritical fluid technology for energy and environmental applications* (pp. 69-87). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62696-7.00003-4>

W

Wang, J., Zhu, F., Zhou, X. M., Niu, C. Y., & Lei, C. L. (2006). Repellent and fumigant activity of essential oil from *Artemisia vulgaris* to *Tribolium castaneum* (Herbst)(Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of stored products research*, 42(3), 339-347. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2005.06.001>

Wang, Z., Song, J., Chen, J., Song, Z., Shang, S., Jiang, Z., & Han, Z. (2008). QSAR study of mosquito repellents from terpenoid with a six-member-ring. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 18(9), 2854-2859. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.03.091>

Wink, M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64(1), 3-19. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00300-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00300-5)

World Health Organization. (1991). Scientific assessment of ozone depletion: 1991. World Meteorological Organization Report No. 25, World Meteorological Organization of the United Nations, Geneva.

Wu X., Chen Z., Gao Y., Wang L., Sun X., Jin Y. & Liu W., (2018). Le facteur de type krüppel Dar1 limite la prolifération des cellules souches intestinales de *Drosophila*. *FEBS J.* 285 (21): 3945-3958. <https://doi.org/10.1111/febs.14652>

X

Xie, Y. S., Bodnaryk, R. P., & Fields, P. G. (1996). A RAPID AND SIMPLE FLOUR-DISK BIOASSAY FOR TESTING SUBSTANCES ACTIVE AGAINST STORED-PRODUCT INSECTS1. *The Canadian Entomologist*, 128(5), 865-875.

Y

Yang, Y., Isman, M. B., & Tak, J. H. (2020). Insecticidal activity of 28 essential oils and a commercial product containing Cinnamomum cassia bark essential oil against Sitophilus zeamais Motschulsky. *Insects*, 11(8), 474. <https://doi.org/10.3390/insects11080474>

Yezli-Touiker S., Soltani-Mazouni N., Kirane-Amrani L. & Soltani N. (2016). Delayed effects of caproptil on the mediterranean flour moth: reproductive events, of ovaries. Biochemical composition and molting hormone contents of ovaries. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25 (4): 1190-1205.

Yilar, M., Kadioglu, I., & Telci, I. (2018). Chemical Composition And Antifungal Activity Of Salvia Officinalis (L.), S. Cryptantha (Montbret Et Aucher Ex Benth.), S. Tomentosa (Mill.) . *Plant Essential Oils And Extracts*, 3(27), 1695–1706.

You, C. X., Zhang, W. J., Guo, S. S., Wang, C. F., Yang, K., Liang, J. Y., ... & Deng, Z. W. (2015). Chemical composition of essential oils extracted from six Murraya species and their repellent activity against Tribolium castaneum. *Industrial Crops and Products*, 76, 681-687. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.044>

Z

Zhang, N. Y., Qi, M., Zhao, L., Zhu, M. K., Guo, J., Liu, J., Gu, C.Q., Rajbut, S.A., Krumm, C.S., Qi, D.S., Sun, L. H. (2016). Curcumin prevents aflatoxin B1 hepatotoxicity by inhibition of cytochrome P450 isozymes in chick liver. *Toxins*, 8(11), 327. <https://doi.org/10.3390/toxins8110327>

Zhao, L., Feng, Y., Deng, J., Zhang, N. Y., Zhang, W. P., Liu, X. L., Rajbut, S.A., C.S., Qi, D.S., Sun, L. H. (2019). Selenium deficiency aggravates aflatoxin B1–induced immunotoxicity in chick spleen by regulating 6 selenoprotein genes and redox/inflammation/apoptotic signaling. *The Journal of Nutrition*, 149(6), 894-901. <https://doi.org/10.1093/jn/nxz019>

Zhao, L., Zhang, L., Xu, Z., Liu, X., Chen, L., Dai, J., Karrow, N.A., Sun, L. (2021). Occurrence of Aflatoxin B 1, deoxynivalenol and zearalenone in feeds in China during 2018–2020. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12, 1-12. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00603-0>.

Zorzi-Tamazoni, E., Schiavo-Griggio, G., & Pessin-Broilo, E. (2018). Teresinha da silva Ribeiro R., Goncalvez-Soares GL, Schwambach J. Screening for inhibitory activity of essential

oils on fungal tomato pathogen *Stemphylium solani* Weber. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16, 364-372.

Résumés

RÉSUMÉ

Le présent travail s'inscrit dans le cadre d'une collaboration de recherche entre deux laboratoires d'excellence, le Laboratoire de Biologie Animale Appliquée (LBAA) et le Laboratoire de Chimie Organique Appliquée (LCOA), dans le but de valoriser deux plantes locales à savoir *Pelargonium graveolens* (Geraniaceae) et *Salvia officinalis* (Lamiaceae) et d'identifier de nouvelles molécules d'origine végétale à potentiel insecticide et thérapeutique.

Une étude histologique a été réalisée sur les parties aériennes des deux plantes étudiées pour localiser les structures sécrétrices des huiles essentielles. Ces dernières ont été extraites par hydrodistillation et ont fait l'objet de quelques analyses qualitatives et quantitatives. Une analyse physico-chimique a été réalisée pour confirmer la pureté des HE. Un screening phytochimique a été fait pour identifier les principaux groupes chimiques. Enfin, une analyse chromatographique sur couche mince et sur phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (CPG/SM) ont été effectuées pour déterminer les composants chimiques. Les résultats obtenus, démontrent que les deux plantes étudiées sont riches en terpènes. La CPG-SM nous a permis d'identifier, chez *P. graveolens*, 57 composés dont le β -citronellol (23,67%), le géraniol (14,57%) et le linalool (6,09%) comme composés majoritaires. De plus, chez *S. officinalis*, parmi les 42 composés identifiés, les composés majoritaires sont le camphor (18,59%), l' α -thujone (16,37%) et le 1,8 cinéole (16,10%).

Au cours de notre étude, plusieurs activités biologiques des HE ont été évaluées :

Le potentiel insecticide des HE contre deux insectes ravageurs de culture à savoir *Tribolium castaneum* (Ténébrionidés) et *Ephestia kuehniella* (Pyralidés) a été estimé. Les paramètres étudiés contre le *T. castaneum* ont noté une toxicité de l'HE de *S. officinalis*, administrée seule ou en formulation avec l'argile, un fort effet répulsif et un potentiel anti-appétant. Tandis que l'HE de *P. graveolens* administrée à *E. kuehniella* révèle que le potentiel reproducteur de l'insecte a été perturbé et que la fécondité des femelles a été affectée. De plus, l'étude morphométrique et l'étude biochimique montrent que l'HE réduit également la taille et le volume des ovaires chez les femelles adultes ainsi que la teneur en vitellines.

L'activité antifongique des huiles essentielles a été estimée contre un champignon des agrumes, *Fusarium sp.* et a montré une sensibilité hautement significative du champignon à l'égard de différentes concentrations des HE. Ces dernières ont montré un effet antibactérien très important contre plusieurs souches bactériennes testées, simples ou complexes (biofilm).

Une étude *in silico*, a ensuite été menée sur les molécules majoritaires afin de mieux comprendre leurs mécanismes d'action et de déterminer leurs propriétés pharmacocinétiques. Le docking moléculaire montre que les biomolécules interagissent bien avec la cible biologique et valide les résultats démontrés *in vitro*. La simulation de la dynamique moléculaire (MDS) soutient les résultats du docking moléculaire et montre la stabilité des complexes tout au long de la période de simulation. De plus, l'étude des paramètres d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité (ADMET) de ces molécules prouvent que les composants majeurs de *P. graveolens* et de *S. officinalis* pourraient être des molécules potentiellement thérapeutiques.

En conclusion, les huiles essentielles de *P. graveolens* et *S. officinalis* pourraient constituer une source très importante de molécules à pouvoir insecticide et thérapeutique.

Mots clés : *Pelargonium graveolens*, *Salvia officinalis*, huiles essentielles, effet insecticide, effet bactéricide, effet fongicide, étude *in silico*.

ABSTRACT

The present work is part of a research collaboration between two laboratories of excellence, the Laboratory of Applied Animal Biology (LAAB) and the Laboratory of Applied Organic Chemistry (LAOC), with the aim of valorizing two regional plants, namely *Pelargonium graveolens* (Geraniaceae) and *Salvia officinalis* (Lamiaceae), and identifying new molecules of plant origin with insecticidal and therapeutic potential.

A histological study was carried out on the aerial parts of the two plants to locate the structures secreting the essential oils. Essential oils were extracted by hydrodistillation and subjected to several qualitative and quantitative analyses. A physicochemical analysis was carried out to confirm the purity of the EOs. Phytochemical screening was carried out to identify the main chemical groups and, finally, thin layer chromatographic and gas chromatographic analysis coupled with mass spectrometry (GC/MS) were performed to determine the chemical components.

The results obtained show that the two plants studied are rich in terpenes. GC/MS enabled us to identify 57 compounds in *P. graveolens*, including β -citronellol (23.67%), geraniol (14.56%), and linalool (6.09%) as the majority compounds. Furthermore, in *S. officinalis*, of the 42 compounds identified, the majority are camphor (18.59%), α -thujone (16.37%), and 1,8 cineole (16.10%).

In our study, several biological activities of EOs were evaluated:

The insecticidal potential of EOs against two crop pests, *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae) and *Ephesia kuehniella* (Pyralidae), was estimated. The parameters studied against *T. castaneum* revealed the toxicity of *S. officinalis* EO against the insect, with a strong repellent effect and anti-feeding potential. Similarly, this EO formulated with clay showed a more toxic and repellent effect against this insect. While the EO of *P. graveolens* administered to *E. kuehniella* reveals that the reproductive potential of the insect was disrupted and that the fertility of females was affected. In addition, morphometric and biochemical studies show that *P. graveolens* EO also reduces ovary size and volume in adult females, as well as yolk content in the ovaries.

The antifungal activity of essential oils was assessed against a citrus fungus, *Fusarium* sp., and showed highly significant sensitivity of the fungus to different concentrations of EOs.

The latter showed a highly significant antibacterial effect against several bacterial strains tested, both simple and complex (biofilm).

An *in silico* study was then carried out on the majority of compounds to understand their mechanisms of action and determine their pharmacokinetic properties. Molecular docking shows that the biomolecules interact well with the biological target, validating the results demonstrated *in vitro*. Molecular dynamics simulation (MDS) supports the molecular docking results and shows the stability of the complexes throughout the simulation period. In addition, the study of the absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity (ADMET) parameters of these molecules proves that the major components of *P. graveolens* and *S. officinalis* could be potentially therapeutic molecules.

In conclusion, *P. graveolens* and *S. officinalis* essential oils could be very important sources of molecules with insecticidal and therapeutic properties.

Keywords: *Pelargonium graveolens*, *Salvia officinalis*, essential oils, insecticidal potential, bactericidal effect, fungicidal effect, *in silico* study.

ملخص

يعد هذا العمل جزءاً من التعاون البحثي بين مختبرين حاصلين على شهادة امتياز، مختبر البيولوجيا الحيوانية التطبيقية (LBAA) ومختبر الكيمياء العضوية التطبيقية (LCOA). بحيث يهدف العمل الى تثمين نوعين من النباتات المنتشرة في المنطقة، وهما *Pelargonium Graveolens* (Geraniaceae) و *Salvia officinalis* (Lamiaceae). كما يهدف أيضاً الى تحديد جزيئات جديدة من أصل نباتي ذات إمكانات علاجية ومبيدات حشرية.

أجريت دراسة تشريحية على الأجزاء العلوية للنباتين لتحديد التركيبات المفترزة للزيوت العطرية. تم استخلاص هذه الأخيرة عن طريق التقطير المائي وكانت موضوعاً لبعض التحليلات الكيميائية النوعية والكمية. بحيث تم إجراء تحليل فيزيائي-كيميائي للتأكد من نقاء الزيوت، وتم إجراء تحليل كيميائي اخر لتحديد المجموعات الرئيسية المتواجدة في هذه الزيوت، وأخيراً، تم إجراء تحليل كروماتوغرافي (GC/MS) لتحديد المكونات.

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن النباتين المدروستين غنيتان بالتربينات. كما سمح لنا CPG/SM بتحديد 57 مركباً في *P. graveolens* بما في ذلك β -citronellol (23,67%) و *géraniol* (14,56%) و *linalool* (6,09%) كمركبات أغلبية. علاوة على ذلك، في *S. officinalis*، من بين 42 مركباً تم تحديدها، فإن الغالبية هي *camphor* (18,59%) و *thujone* (16,37%) و *Cinéole* (16,10%).

خلال دراستنا، تم تقييم العديد من الأنشطة البيولوجية للزيوت العطرية:

تم تقدير إمكانات الزيوت على إيادة نوعين من الحشرات التي تغزو السلع والمواد المخزنة وهما *Tribolium castaneum* (Tenebroionidae) و *Ephestia kuehniella* (Pyralidae). كشفت الدراسة التي أجريت ضد *T. castaneum* عن سميت زيت *S. officinalis* ضد الحشرة، مع تأثير طارد قوي وإمكانية مضادة للشهية. وبالمثل، كان لهذا الزيت الممزوج مع الطين تأثير أكثر سمية وطارداً ضد هذه الحشرة. بالإضافة إلى ذلك، أثرت الزيت المستخلصة من *P. graveolens* على تطور ونمو *E. kuehniella*. وتعرضت القدرة الإنجابية للحشرة للاضطراب بسبب إطالة فترة نمو البويضات وفترة ما قبل التبويض مع تقليل مدة فترة التبويض، مما أثر على خصوبة الإناث. علاوة على ذلك، تكشف الدراسة المورفومترية أن زيت *P. graveolens* يقلل أيضاً من حجم المبايض.

تم تقدير النشاط المضاد للفطريات للزيوت الأساسية ضد فطر الحمضيات، *Fusarium sp*. وأظهر حساسية كبيرة للغاية للفطريات لتركيزات مختلفة من الزيوت الأساسية. أظهرت الأخيرة تأثيراً مهماً جداً مضاداً للبكتيريا ضد العديد من السلالات البكتيرية التي تم اختبارها، بسيطة أو معقدة (biofilm).

ثم أجريت دراسة *In silico* على غالبية الجزيئات لفهم آليات عملها بشكل أفضل وتحديد خصائصها الحركية الدوائية واستقرارها وتفاعلها الجزيئي. يُظهر الالتحام الجزيئي (docking moléculaire) أن الجزيئات الحيوية تتفاعل جيداً مع الهدف البيولوجي وتثبت صحة النتائج الموضحة في المختبر. تدعم محاكاة الديناميكيات الجزيئية (MDS) نتائج الالتحام الجزيئي وتظهر استقرار المجمعات طوال فترة المحاكاة. بالإضافة إلى ذلك، فإن دراسة معايير الامتصاص والتوزيع والتمثيل الغذائي والإفراز والسمية (ADMET) لهذه الجزيئات تثبت أن المكونات الرئيسية لـ *P. graveolens* و *S. officinalis* يمكن أن تكون جزيئات علاجية محتملة.

في الختام، يمكن أن تشكل الزيوت الأساسية لـ *P. graveolens* و *S. officinalis* مصدراً مهماً جداً للجزيئات ذات القدرة على مبيدات الحشرات والقدرة العلاجية.

الكلمات الرئيسية: *Salvia officinalis*، *Pelargonium graveolens*، الزيوت الأساسية، إمكانات المبيدات الحشرية، تأثير ضد الفطريات، تأثير ضد البكتيريا، دراسة *In silico*.