



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم الفلاحية

Département des Sciences Agronomiques



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Protection des végétaux

Intitulé :

Extraction, analyses et essais biologiques des molécules volatiles de la flore sauvage : Huilles essentielles de *Juniperus phoenicea L.*

Présenté par :

Hamrani Chahinaz & Khouidem Asma

Soutenu le 11 / 06 / 2024, Devant le Jury :

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Président :	Mme. Salamani Amel	MCA	Univ. de B.B.A.
Encadrant :	M. Saifi Mounir	MCA	Université de B.B.A.
Examineur :	Mme. Tekkouk Fatiha	MCA	Université de B.B.A.

Année Universitaire 2023/2024

Dédicace

Je souhaite dédier ce travail à la personne qui est et sera toujours le pilier de ma vie, celle qui m'a soutenu dans les moments difficiles et m'a aidé à les surmonter. À celle qui a partagé mes joies, mes peines, mes succès et mes échecs. À celle que je tiens en très haute estime, juste après Dieu : à moi-même et à mes 23 autres facettes. Merci d'être là.

Je tiens également à dédier ce travail à ceux qui ont sacrifié leur temps et leur énergie pour mon bien-être, à mes piliers, à mes chers parents. Que Dieu les protège et leur accorde une longue vie, car je ne pourrais jamais oublier leur tendresse et leur amour dévoué depuis mon enfance.

À mes précieux frères Mouad et Khalil, à mes chères sœurs Sana et Israa, ainsi qu'à mon amie proche Rinad.

À mes chères amies, en particulier Oumaïma, Loubna et Kenza, ainsi qu'à mes chers collègues.

À mon binôme Chahinez, qui a partagé avec moi les moments bons et difficiles.

À toutes les personnes qui occupent une place dans mon cœur, que je connais, que j'apprécie et que j'aime.

ASMA

Dédicace

À ma mère bien-aimée, Malika,

Ton amour, ta gentillesse et ton soutien sans faille ont été ma lumière à travers les défis de la vie. Je te suis infiniment reconnaissant pour tes sacrifices et ta constante présence. Ce travail est dédié à toi, en témoignage de mon amour et de ma gratitude éternels. Que Dieu te protège et te comble de santé, de bonheur et de paix.

À mon père cher, Abd el rahmen,

Ta force, ton dévouement et ton amour inconditionnel ont façonné le chemin de ma vie. Je t'honore avec cette dédicace, en reconnaissance de tout ce que tu as fait pour moi. Tes efforts restent gravés dans mon cœur pour toujours.

À mes sœurs adorées, Khawla, Imen, Chaima, Fatima, et mon frère bien-aimé, Mohamed et Abd el rahim, Votre soutien et votre affection ont été un pilier dans ma vie. Cette dédicace est un témoignage de mon amour et de ma reconnaissance envers chacun de vous.

À ma grand-mère, Zahra,

Tes prières et ta sagesse ont été une source d'inspiration pour moi. Je te dédie ce travail avec amour et respect, en souvenir de tous les moments précieux que nous avons partagés.

À mon amie fidèle, Dounai,

Ta présence et ton soutien inconditionnel ont été un réconfort dans les moments de joie et de peine. Cette dédicace t'est adressée avec toute ma gratitude et mon affection.

À ma binôme dévouée, Asma,

Ta collaboration et ton soutien ont été précieux tout au long de ce parcours. Cette dédicace est une expression de ma reconnaissance pour notre partenariat fructueux.

À tous mes amis, Dlale, Fatifa, Fadoua et Nesrin,

Votre amitié et votre soutien ont enrichi ma vie de manière inestimable. Cette dédicace vous est adressée avec toute ma gratitude et mon affection.

À toute ma promotion d'Agronomie et spécialement à la promotion de 5ème année protection des végétaux,

Ce travail est dédié à notre parcours commun, marqué par l'apprentissage, la croissance et le partage. Puisseons-nous continuer à avancer ensemble vers un avenir radieux.

CHAHINAZ

REMERCIEMENTS

Nous exprimons nos sincères remerciements en premier lieu à Dieu le Tout-Puissant pour nous avoir accordé la force, le courage et la détermination nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous souhaitons également exprimer notre profonde gratitude envers notre directeur de thèse, le Dr. Saifi Mounir, pour son encadrement exemplaire et complet, ainsi que pour son soutien et son assistance tout au long de notre travail.

Nous sommes reconnaissants envers les membres du jury, le Dr. Salamani Amel et le Dr. Tekkouk Fatiha, pour avoir accepté de passer en revue et d'examiner notre travail.

Enfin, nos remerciements vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

Introduction	1
Chapitre I : materiel et methodes	3
1.1. Materiels biologiques.....	3
1.1.1. Materiel vegetale genevrier phenicie <i>juniperus phoenicea</i>	3
1.1.2. Materiel animale <i>tribolium confusum</i>	4
1.2. Methodes employees au laboratoire.....	5
1.2.1. Methode d'extraction de l'huile essentielle de <i>juniperus phoenicea</i>	5
1.2.2. Caracterisation de l'extrait de <i>juniperus phoenicea</i>	7
1.2.2.1. Determination du rendement de l'huile essentielle de <i>juniperus phoenicea</i>	7
1.2.2.2. Caracteristiques physicochimiques des HE.....	7
1.3. Etude de l'activite bio insecticide de l'huile essentielle de genevrier.....	9
1.3.1. Elevage des insectes ravageurs.....	9
1.3.2. Applications pratiques des traitements biologiques.....	10
1.3.2.1. Test de mortalite corrigee par contact direct de l'huile essentielle et de l'insecte: procedure experimentale.....	10
1.3.2.2. Preparation des doses pour les tests de toxicite par inhalation.....	11
1.3.3. Evaluation de la mortalite des coleopteres de la <i>tribolium confusum</i>	12
1.3.3.1. Calcul de la mortalite corrigee.....	12

1.3.3.3. Determination de la dl50 et la dl90 :	13
Chapitre II: resultats et discussion	14
2.1. Rendement en huile essentielle de <i>juniperus phoenicea</i>	14
2.2. Analyse physico chimiques de l'huile essentielle de <i>j. Phoenicea l.</i>	14
2.2.1. Caracteristiques physiques	15
2.2.2. Analyses chromatographique de l'huile essentielle de <i>j. Phoenicea l.</i> Par gcms	15
2.3. Evaluation de la toxicite de l'huile essentielle de genevrier phenicien sur la population de <i>tribolium confusum</i>	20
2.3.1. Evaluation de l'activite insecticide de l'huile essentielle de <i>juniperus phoenicea</i> sur les adultes de <i>tribolium confusum</i> par contact direct	21
2.3.1.1. Mortalite corrigee	21
2.3.1.2. Calcul du dl50 et dl90	22
2.3.2. Evaluation de l'activite insecticide de l'he de <i>j. Phoenicea l.</i> Vis-a-vis des adultes de <i>t. Confusum</i> par effet de inhalation	24
2.3.2.1 mortalite corrigee	24
2.3.2.2. Calcul du dl50 et dl90	25
CONCLUSION	28
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES	29
RESUME	

LISTE DES FIGURES

Figure 1- Genévrier Phénicie <i>Juniperus phoenicea</i> (Photographiées Originale)	4
Figure 2- <i>Tribolium confusum</i> (Photographiées Originale)	4
Figure 3- Vapeur d'eau produite par une chaudière(Photographiée Originale)	5
Figure 4- Alambic en acier inoxydable (Photographiée Originale) Figure 5- Essencier pour séparer les deux phases(Photographiées Originale)	6
Figure 6 - Distillation par entraînement à la vapeur d'eau (Bruneton, 2016)	6
Figure 7- Chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (LAURENT, 2017).....	9
Figure 8- Elevage de masse de <i>Tribolium confusum</i> (Photographiée Originale)	10
Figure 9 - Configuration Expérimentale du Test de Toxicité par Contact avec <i>Juniperus phoenicea</i> (Photographiée Originale)	11
Figure 10 - Disposition Expérimentale du Test de Toxicité par Inhalation(Photographiée Originale)	12
Figure 11 - Chromatogramme des composants volatiles identifiés dans les rameaux de Genévrier.	19
Figure 12- Evolution temporelles du taux de mortalité des adultes de <i>Tribolium confusum</i> traités avec l'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> par contact.	22
Figure 13- Droite de régression linéaire des probits à différentes doses de l'HE de <i>Juniperus phoenicea</i> L. sur <i>T. confusum</i> par contact.	23
Figure 14- Evolution temporelles du taux de mortalité des adultes de <i>Tribolium confusum</i> traités avec l'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> par inhalation.	25
Figure 15- Droite de régression linéaire des probits à différentes doses de l'HE de <i>Juniperus phoenicea</i> L. sur <i>T. confusum</i> par inhalation.	26

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 - Analyse physique de huile essentielle de <i>J. phoenicea</i>	15
Tableau 2 - Composants volatile de l'huile essentielle de Genévrier Phénicie issue de la GC MS. 16	
Tableau 3 - Mortalité enregistrée chez les individus de <i>T. confusum</i> traités par différents doses d'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> par contact.	21
Tableau 4 - Calcul du DL50 et DL90 exposé à huile essentielle de <i>J. phoenicea</i> de test contact Former un titre explicatif	23
Tableau 5 - Mortalité enregistrée chez les individus de <i>T. confusum</i> traités par différents doses d'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> par inhalation.	24
Tableau 6 - Calcul du DL50 et DL90 exposé à huile essentielle de <i>J. phoenicea</i> de test inhalation	26

LISTE DES ABREVIATIONS

% : Pourcentage

µm: Micromètre

cm : Centimètre

m : mètre

°C : Degré Celsius

µL : Microlitre

mL : Millilitre

h : Heure

Min : minutes

g : gramme

HE : Huile essentielle

T. Confusum: *Tribolium confusum*

J. phoenicea: *Juniperus phoenicea*

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction

Les céréales et leurs dérivés représentent un élément essentiel de l'alimentation dans de nombreux pays en développement, jouant un rôle crucial dans la sécurité alimentaire et l'économie nationale (Djermoun, 2009). En Algérie, par exemple, les produits céréaliers occupent une position stratégique dans le système alimentaire, tant pour la consommation humaine que pour l'alimentation animale, englobant des activités de production et de transformation importantes (Mohamed A, 2014, Djermoun, 2009).

Cependant, le stockage des denrées alimentaires est un processus critique et récurrent qui expose les produits agricoles à divers risques, notamment celui des ravageurs. En effet, les céréales entreposées sont souvent attaquées par une variété d'insectes, notamment les coléoptères et les lépidoptères, ce qui entraîne des pertes significatives tant en termes de quantité que de qualité (Foua-Bi, 1989).

Cette problématique n'est pas limitée à un seul pays, mais est devenue un défi mondial, exacerbé par les échanges commerciaux internationaux et la distribution des produits agricoles (Steffan, 1963; Golebiowska, 1969). Les insectes, en particulier les coléoptères comme *Tribolium confusum*, peuvent causer d'énormes dommages aux grains stockés, compromettant ainsi la sécurité alimentaire et les économies locales (Timofhy, 2009).

Traditionnellement, les pesticides chimiques ont été largement utilisés pour contrôler les ravageurs, mais leur utilisation comporte des risques pour la santé humaine, la résistance des ravageurs et l'environnement (Attia et Frecker, 1984 ; Georghion, 1990; Metcalf, 1994 ; Marion-Poll *et al.*, 2002 ; Papachristos et Stamopoulos, 2002). Face à ces défis, il est impératif d'explorer des alternatives plus durables et respectueuses de l'environnement pour protéger les stocks alimentaires (Ngamo et Hance, 2007).

Dans cette optique, la recherche se tourne de plus en plus vers les solutions basées sur des produits naturels, notamment les extraits de plantes. Les huiles essentielles, issues de plantes aromatiques et médicinales, présentent un intérêt particulier en raison de leurs propriétés insecticides potentielles et de leur origine naturelle (El Kalamouni, 2010). Ces substances, riches en composés volatils, sont connues pour leurs effets

bénéfiques dans divers domaines, y compris la protection contre les ravageurs et les maladies, et leur utilisation est prometteuse dans le contrôle des insectes nuisibles aux stocks alimentaires (el kalamouni, 2010; Noureddine, 2020)

Dans cette étude, nous nous concentrons sur l'évaluation de l'activité insecticide d'une plante aromatique indigène, *Juniperus phoenicea*, contre *Tribolium confusum*, un ravageur secondaire majeur des denrées stockées. À travers un protocole expérimental rigoureux, nous visons à explorer le potentiel de cette plante comme alternative naturelle et durable aux pesticides chimiques conventionnels.

Les résultats obtenus et leur discussion seront présentés dans la deuxième partie, suivis d'une conclusion mettant en lumière les implications et les perspectives futures de cette recherche.

Chapitre I :

Matériel & Méthodes

Chapitre I : Matériel et Méthodes

Après avoir présenté les matériaux biologiques utilisés, nous détaillons les méthodes expérimentales mises en œuvre au laboratoire. Ensuite, nous nous concentrons sur l'étude de l'activité bioinsecticide des huiles essentielles testées. Enfin, nous procédons à l'analyse statistique des résultats obtenus afin d'évaluer de manière rigoureuse l'efficacité des traitements.

1.1. Matériels biologiques

Nous avons recours à deux modèles biologiques distincts dans notre étude : d'une part, le Genévrier Phénicie, utilisé comme modèle végétal, et d'autre part, le *Tribolium confusum*, employé en tant que modèle animal. Ces deux modèles jouent des rôles complémentaires dans notre recherche. Le Genévrier Phénicie est étudié pour ses propriétés et ses composés, tandis que le *Tribolium confusum* est utilisé pour évaluer l'efficacité des traitements insecticides. Cette approche permet une analyse approfondie des interactions entre les composés des plantes et les ravageurs, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives dans le domaine de la lutte contre les insectes nuisibles aux stocks alimentaires.

1.1.1. Matériel Végétale Genévrier Phénicie *Juniperus phoenicea*

La récolte des rameaux et des feuilles du Genévrier Phénicie (*Juniperus phoenicea*) a été réalisée en janvier 2024 à El Ache, situé dans la région de Bordj Bou Arreridj. Les spécimens récoltés ont ensuite été transportés à l'unité d'extraction des huiles essentielles, également localisée dans la même région. Pour l'extraction, seules les parties aériennes, telles que les ramilles et les feuilles, ont été utilisées. Ces parties ont été prélevées en coupant environ 30% de la hauteur des touffes de Genévrier Phénicie (**Fig. 1**).



Figure 1- Genévrier Phénicie *Juniperus phoenicea* (Photographiées Originale)

1.1.2. Matériel animale *Tribolium confusum*

Après avoir procédé à leur identification minutieuse, nous avons initié la constitution d'une population de départ de *Tribolium confusum* en vue de leur élevage en masse en laboratoire (**Fig. 2**). Des individus adultes ont été soigneusement sélectionnés et placés dans des bocaux en verre spécialement aménagés, renfermant un substrat nutritif à base de farine commerciale. Pour assurer des conditions optimales, les bocaux ont été recouverts d'un tissu finement maillé afin de garantir une ventilation adéquate. L'élevage a été méticuleusement mené à bien dans l'obscurité, dans une étuve maintenue à une température constante de $30^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ et à une humidité relative de 60-65%.

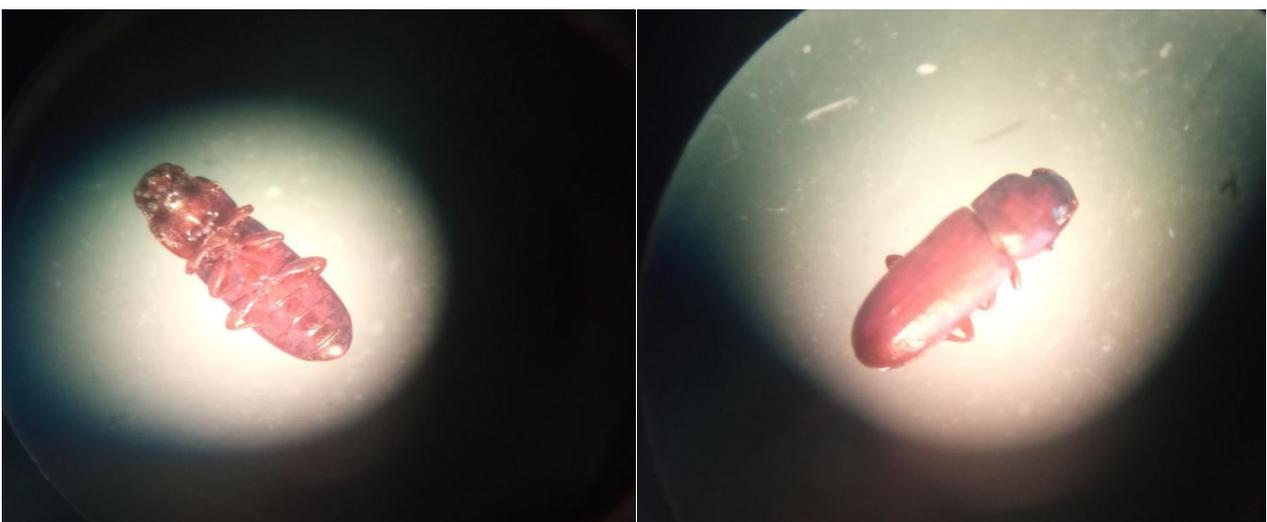


Figure 2- *Tribolium confusum* (Photographiées Originale)

1.2. Méthodes employées au laboratoire

1.2.1. Méthode d'extraction de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*

L'extraction des huiles essentielles à partir des parties aériennes du genévrier, incluant les rameaux et les feuilles, a été réalisée à la distillerie de Bordj Bou Arreridj en utilisant la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau. Cette technique, largement adoptée dans l'industrie, est réputée pour son efficacité dans l'extraction des molécules volatiles des plantes aromatiques. Contrairement à d'autres méthodes, telles que l'extraction par solvant, elle garantit que le matériel végétal ne soit pas directement en contact avec l'eau. Au lieu de cela, la vapeur d'eau, générée par une chaudière (**fig 3**), traverse la matière végétale de bas en haut, ce qui entraîne l'éclatement des cellules et la libération des molécules volatiles. Cette technique est largement documentée comme étant la méthode privilégiée pour la production d'huiles essentielles (Bruneton, 2016).

La vapeur d'eau, provenant de la chaudière, est introduite dans la cuve de l'alambic par le biais d'une conduite située sous la grille(**fig 4**). Le flux ascendant de vapeur traverse alors le lit de matière végétale, emportant avec lui l'huile essentielle. Ce processus est facilité par la destruction de la structure des cellules végétales par la vapeur, permettant ainsi la libération des molécules volatiles et leur séparation du substrat cellulosique (Duvillard, 2013). À la sortie de la cuve, la vapeur saturée en composés volatils passe dans un serpentin du condenseur où elle est refroidie et condensée (Rouxo, 2008).

Après refroidissement, l'eau liquide est recueillie surmontée d'une couche d'huile essentielle insoluble dans l'eau, formant ainsi le distillat. L'huile essentielle est ensuite séparée de l'eau à l'aide d'un essencier(**fig 5**), conformément aux protocoles établis (Bruneton, 2016).



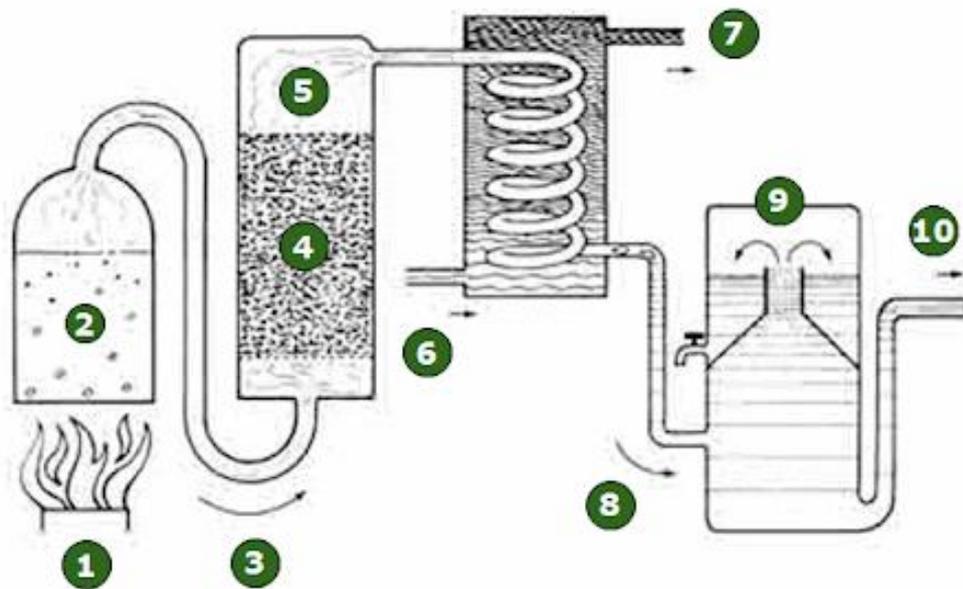
Figure 3- Vapeur d'eau produite par une chaudière (Photographiée Originale)



Figure 4- Alambic en acier inoxydable (Photographée Originale)



Figure 5- Essencier pour séparer les deux phases (Photographées Originale)



- 1: Feu
- 2: Eau
- 3: Vapeu
- 4: Plante aromatique
- 5: Vapeur + huile essentielle

- 6: Eau froide
- 7: Eau chaude
- 8: Eau + huile essentielle
- 9: Huile essentielle
- 10: Hydrolat

Figure 6- Distillation par entraînement à la vapeur d'eau (Bruneton, 2016)

1.2.2. Caractérisation de l'extrait de *Juniperus phoenicea*

Les propriétés physico-chimiques de l'extrait de *Juniperus phoenicea* et de son huile essentielle sont évaluées au moyen de méthodes analytiques précises. Ces méthodes permettent d'identifier et de quantifier les différents composés bioactifs présents dans ces extraits.

1.2.2.1. Détermination du rendement de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*

D'après la norme AFNOR (2000), le rendement en huile essentielle (RHE) se définit comme le ratio entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Cette grandeur est exprimée en pourcentage, conformément à la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = \text{M}'/\text{M} \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en %.

M' : Masse d'huile essentielle en gramme.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

Dans cette étude, l'extraction des huiles essentielles a été réalisée une seule fois à l'aide de cet appareil, et le rendement final représente la moyenne des extractions effectuées.

1.2.2.2. Caractéristiques physicochimiques des HE

Selon les référentiels classiques tels que la Pharmacopée Européenne, l'ISO et l'AFNOR, l'évaluation de la qualité des huiles essentielles (HE) passe par la mesure de plusieurs indices ainsi que par des analyses chromatographiques. La chromatographie en phase gazeuse sur phases stationnaires polaires, apolaires ou chirales, couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), est une technique largement utilisée pour l'analyse qualitative des composés organiques volatils et semi-volatils (Bruneton, 2016). Cette méthode combine la chromatographie en phase gazeuse, qui permet de séparer les différents constituants de l'HE grâce à une colonne capillaire à température contrôlée, avec la spectrométrie de masse, qui permet d'identifier les divers composés en fonction de leur spectre de masse unique.

Cette technique d'analyse permet d'identifier et/ou de quantifier de nombreuses substances, même présentes en très petites quantités ou à l'état de traces. La CPG constitue ainsi une véritable carte d'identité de l'HE, ce qui est particulièrement intéressant dans le cas des HE présentant plusieurs chimiotypes, où les propriétés peuvent varier considérablement (cf. partie : Intérêt du chimiotypage). Le profil chromatographique fournit une liste des constituants sélectionnés parmi ceux qui sont

représentatifs et caractéristiques d'une HE, accompagnée de limites de concentration pour chaque composé (Raynaud, 2006).

Les analyses chromatographiques des HE ont été réalisées sur un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (GC-MS). La fragmentation a été effectuée par impact électronique sous un champ de 70 eV. Le chromatographe est équipé d'une colonne capillaire HP-5MS (30 m × 0,25 mm), avec une épaisseur de film de 0,25 µm. La température de la colonne est programmée à 50°C pendant 8 minutes, puis elle est augmentée progressivement à raison de 4°C/min jusqu'à atteindre 250°C. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium pur, avec un débit fixé à 1,5 ml/min. Le mode d'injection est split (rapport de fuite : 1/70) avec une valeur d'injection de 1 µL. L'identification des constituants est basée sur la comparaison de leurs indices de rétention (IR) avec ceux des composés de référence de la littérature (Basketter et Allenby, 1991), ainsi que sur la comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des composés standard de la banque de données informatisées (NIST 98).

Dans le cadre de notre étude, après l'extraction du genévrier, les huiles essentielles obtenues ont été transportées et analysées au laboratoire d'analyse des huiles naturelles (LAHN) en France, à Gréoux-les-Bains. L'analyse des huiles essentielles a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) en utilisant une chromatographie Shimadzu GC/MS-QP2010 sur une colonne apolaire DB5 en silice fondue, identique à celle utilisée dans l'analyse par CPG/FID. La température du four a été programmée à 60°C pendant 10 minutes, puis elle a été augmentée progressivement à raison de 2°C/min jusqu'à atteindre 240°C, et enfin maintenue à cette température pendant 9-10 minutes. La température de l'injecteur était de 240°C, tandis que celle du détecteur était de 280°C (pour un rapport de division de 1/100). Les analyses ont été réalisées sur une colonne de 50 m de longueur, 0,25 mm de diamètre et 0,25 µm d'épaisseur de film, avec une injection split de 1/100 et une quantité d'échantillon de 0,3 µL. Les composés ont été identifiés en comparant les temps de rétention et les spectres de masse avec ceux des composés étalons injectés dans les mêmes conditions chromatographiques, ainsi qu'en comparant leurs indices de rétention. Pour la quantification des constituants majeurs, une courbe d'étalonnage a été établie en injectant sept concentrations connues de chaque type de composé. Les concentrations des étalons ont été choisies de manière à garantir la quantification de chaque composé dans les échantillons par interpolation de la courbe d'étalonnage. Les calculs ont été effectués selon le procédé de normalisation.



Figure 7- Chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (LAURENT, 2017)

1.3. Etude de l'activité bio insecticide de l'huile essentielle de Genévrier

L'objet de cette étude réside dans l'évaluation de l'activité bio-insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*, une espèce méditerranéenne endémique. Les propriétés répulsives et insecticides de cette huile essentielle pourraient constituer une solution durable et respectueuse de l'environnement pour la protection des cultures ainsi que des denrées stockées.

1.3.1. Elevage des insectes ravageurs

Nous avons entrepris notre étude sur du blé tendre infesté ainsi que de la farine infestée, prélevés auprès d'un grossiste en denrées alimentaires stockées. Après un processus de tamisage, les insectes récupérés ont été triés en fonction de leur ressemblance morphologique à l'aide d'une pince entomologique, puis identifiés sous loupe binoculaire. Cette identification a impliqué de classer chaque insecte rencontré en déterminant sa famille, son genre et, dans la mesure du possible, son espèce, en nous appuyant sur les travaux de Lepesme (1944), Weidner et Rack (1984) et Delobel et Tran (1993).

Dans le cadre de notre investigation sur les propriétés insecticides de l'huile essentielle de la plante sélectionnée, nous avons isolé l'espèce de coléoptères qui nous intéresse, à savoir *Tribolium confusum*, représentant la classe des ravageurs secondaires. Ce choix a été motivé par l'importance

des dommages qu'ils causent aux stocks, ainsi que par la facilité d'élevage et de manipulation de ces insectes en laboratoire.

Dans le processus d'élevage en masse, les insectes sont élevés dans un récipient en verre couvert d'une fine maille de tulle pour assurer la circulation de l'air, maintenue en place par un élastique (**Fig. 8**). Le récipient est approvisionné avec 150g de semoule, destinée à servir d'aliment pour les insectes. Il est ensuite placé dans une étuve où la température est maintenue à 28°C, avec un taux d'humidité de 75%.



Figure 8- Elevage de masse de *Tribolium confusum* (Photographiée Originale)

1.3.2. Applications Pratiques des Traitements Biologiques

Pour évaluer l'efficacité de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Juniperus phoenicea* L. dans la lutte contre les insectes, nous avons mené plusieurs tests de mortalité in vitro. Ces tests comprennent le test de contact direct, également connu sous le nom de test de mortalité corrigée, ainsi que le test de fumigation, également appelé test d'inhalation. Ces essais ont été essentiels pour déterminer l'efficacité potentielle de l'huile essentielle dans la gestion des populations d'insectes cibles.

1.3.2.1. Test de Mortalité Corrigée par Contact Direct de l'Huile Essentielle et de l'Insecte: Procédure Expérimentale

Pour réaliser ce test, nous avons préparé 25 boîtes de Petri en verre (**Fig.9**), remplies des différentes doses d'huile essentielle ont été ajoutées à chaque boîte : 5 μ l, 10 μ l, 15 μ l et 20 μ l. (chaque dose mélanger avec 10ml de l'acéton pour distribuer l'huile sur toute la surface des boîtes)

. Ensuite, après que le mélange ait séché on a ajoutées à chaque boîte : 20 adultes de *Tribolium confusum*. Nous avons répété cette procédure cinq fois pour chaque dose, avec cinq boîtes témoins. Enfin, nous avons observé le nombre d'insectes morts après des intervalles de temps de 24 heures, 48 heures, 72 heures , 96 heures et 120 heures.

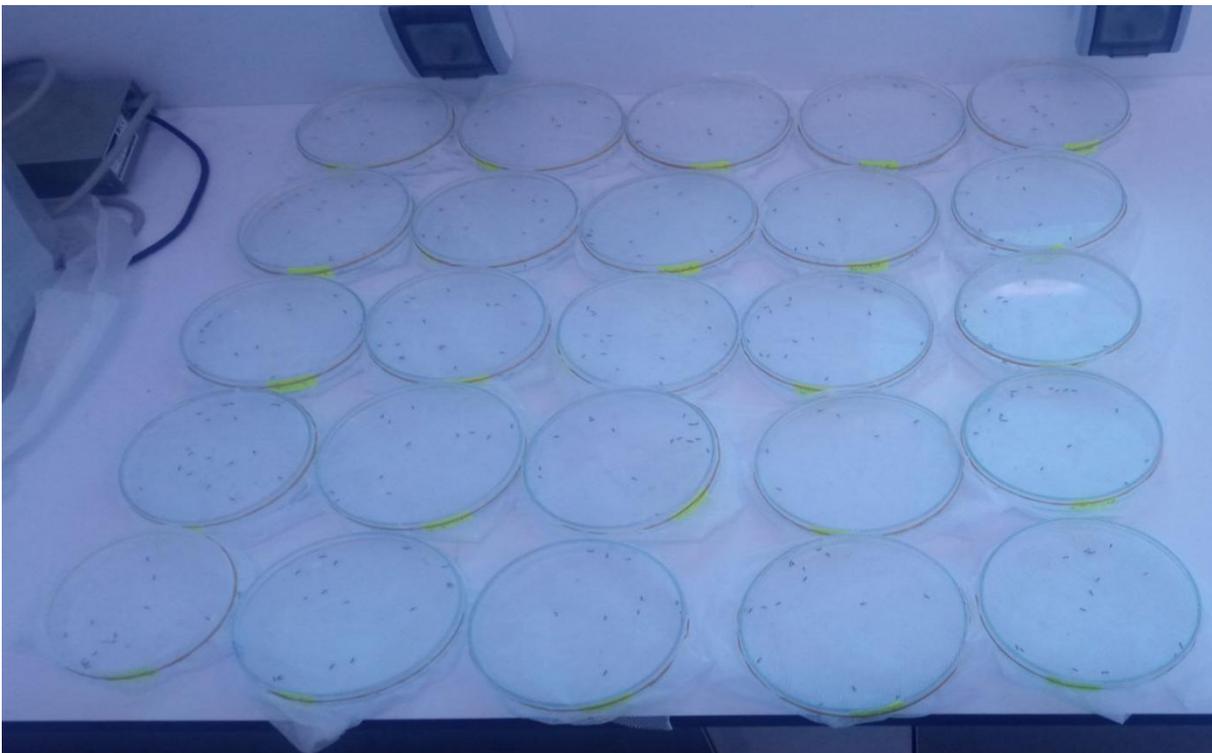


Figure 9 - Configuration Expérimentale du Test de Toxicité par Contact avec *Juniperus phoenicea* (Photographiée Originale)

1.3.2.2. Préparation des Doses pour les Tests de Toxicité par Inhalation

Dans cette étude, nous avons employé 13 boîtes stériles, chacune contenant 20 insectes adultes. À l'intérieur de chaque couvercle, nous avons disposé des disques de papier Wattman découpés à la taille des boîtes. Ensuite, différentes doses d'huile essentielle (HE) ont été ajoutées : 5 μ l, 10 μ l, 15 μ l et 20 μ l, avec trois essais réalisés pour chaque concentration. Un seul essai témoin a été effectué, où aucun traitement n'a été ajouté au papier Wattman placé dans les couvercles. Après

la fermeture des boîtes, nous avons procédé à l'observation et à l'enregistrement du nombre d'insectes décédés à des intervalles de 3 heures, 6 heures, 9 heures, 12 heures et 15 heures.



Figure 10 - Disposition Expérimentale du Test de Toxicité par Inhalation (Photographiée Originale)

1.3.3. Évaluation de la Mortalité des Coléoptères de la *Tribolium confusum*

L'évaluation de la mortalité corrigée est une méthode utilisée pour quantifier l'effet d'une substance sur les coléoptères de la *Tribolium confusum*, tout en prenant en compte la mortalité naturelle. Cela permet de distinguer l'impact réel de la substance étudiée sur la mortalité des coléoptères de celui qui serait survenu naturellement, sans l'intervention de la substance testée.

1.3.3.1. Calcul de la mortalité corrigée

Pour évaluer de manière précise l'efficacité des différentes doses d'huiles essentielles soumises à test, nous exprimons la mortalité en pourcentage, tout en reconnaissant que plusieurs facteurs peuvent influencer ce résultat, en plus de la seule toxicité du produit utilisé. Ainsi, afin de prendre en compte ces éventuels facteurs confondants, nous appliquons une correction des données à l'aide de la formule d'Abbott (1925). Cette correction nous permet d'obtenir le pourcentage de mortalité ajusté, assurant ainsi une évaluation plus précise de l'efficacité des huiles essentielles testées.

$$MC\% = (M0 - Me / 100 - Me) \times 100$$

Me : pourcentage de mortalité observé dans le témoin.

M0: pourcentage de mortalité observé dans la population traitée.

MC: pourcentage de mortalité corrigé.

1.3.3.3. Détermination de la DL50 et la DL90 :

La dose létale 50 (DL50) représente la quantité d'une huile essentielle spécifique administrée en une seule fois, conduisant à la mort de la moitié des insectes sujets à chaque essai. Cette mesure est une indication du potentiel toxique à court terme, ce qui signifie qu'elle évalue la toxicité aiguë d'une substance. En d'autres termes, elle établit la dose nécessaire pour que 50% des insectes exposés décèdent.

De manière similaire, la dose létale 90 (DL90) suit le même principe que la DL50, mais elle vise à déterminer la quantité de la substance qui entraîne la mort de 90% des insectes dans chaque essai. Cette mesure offre une évaluation plus sévère de la toxicité aiguë de la substance, car elle considère une proportion plus élevée de décès parmi les individus exposés. En résumé, la DL90 indique la dose nécessaire pour que 90% des insectes sujets à l'expérience succombent à l'effet toxique de la substance test

Chapitre II :

Résultats & Discussion

Chapitre II : Résultats et Discussion

Dans cette présentation, nous examinerons deux aspects essentiels : le rendement de l'huile essentielle et son analyse chromatographique. Nous explorerons ensuite l'évaluation de la toxicité de l'huile essentielle de genévrier phénicien sur l'insecte *Tribolium confusum*, en évaluant la mortalité corrigée par contact et inhalation. Nous calculerons également les valeurs de DL50 et DL90.

2.1. Rendement en huile essentielle de *Juniperus phoenicea*

Le rendement de l'huile essentielle de *juniperus phoenicea* extraite par entraînement à la vapeur d'eau à partir des rameaux et des feuilles de la plante est de 1.2%.

Une comparaison avec les résultats d'autres études révèle des différences significatives. D'après Bouzauia et Mazouz (2018), les huiles essentielles extraites des baies de *J. phoenicea* ont un rendement moyen de 2,47%, dépassant ainsi celui des feuilles qui se situe à une moyenne de 0,54%. Par ailleurs, la production de feuilles varie sensiblement selon les régions, avec des valeurs allant de 0,5% à 0,9% en Tunisie (Vitti et al., 2005; Wallace, 2004; Williams et al., 2009). D'autres variétés de *juniperus phoenicea*, telles que le Genévrier rouge de Grèce avec un rendement de 0,21%, la sous-espèce Turbinata d'Espagne avec 0,3% (Adams et al., 1996), et l'Égypte avec 0,36% (El-Sawi et al., 2007), présentent des rendements supérieurs. En revanche, la production de fruits est plus faible, notamment en Égypte avec un rendement de 0,96% (El-Sawi et al., 2007). Ces disparités entre les rendements sont attribuées à des facteurs environnementaux tels que la saison de récolte, les conditions climatiques et géographiques, ainsi que des facteurs génétiques. En effet, la littérature mentionne que les différences dans les rendements d'extraction des variétés de *juniperus phoenicea* dans différentes régions sont influencées par des éléments tels que le climat, la géographie et la génétique (Oukadir et al., 2021).

2.2. Analyse physico chimiques de l'huile essentielle de *J. phoenicea* L.

Cette présentation explore les analyses physico-chimiques de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*, mettant en lumière ses caractéristiques physiques et ses composants chimiques.

2.2.1. Caractéristiques physiques

Dans le(**tab 1**), les analyses physiques de l'huile essentielle seront examinées. Cette étude vise à évaluer des caractéristiques telles que la densité, l'indice de réfraction et le pouvoir rotatoire, cruciales pour déterminer la qualité et la pureté de l'huile. Les résultats obtenus permettront une meilleure compréhension des propriétés de l'huile essentielle et garantiront son utilisation optimale dans diverses applications.

Tableau 1 - Analyse physique de huile essentielle de *J. phoenicea*.

	Méthode de Référence	Valeurs
Densité à 20 °C	NF ISO 279	0.868
Densité à 15 °C	NF ISO 279	0.872
Indice de réfraction à 20°C	NF ISO 280	1.471 8
Pouvoir rotatoire à 20°C	NF ISO 592	+ 22.10 °

La densité à 20°C, évaluée à 0,868, se situe dans la plage de référence recommandée (0,850 - 0,880), ce qui confirme que l'huile présente une densité conforme aux normes pour les huiles essentielles standards. De même, l'indice de réfraction à 20°C, mesuré à 1,474, est également dans la plage de référence recommandée (1,470 - 1,483), suggérant une bonne pureté et une composition chimique conforme aux standards habituels des huiles essentielles. Enfin, le pouvoir rotatoire à 20°C, noté à +22,10°, est conforme à la plage de référence recommandée (16° à 30°), ce qui confirme la qualité et la pureté de l'huile essentielle.

2.2.2. Analyses chromatographique de L'huile essentielle de *J. phoenicea* L. par GCMS

L'analyse des compositions chimiques de l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles de *J. phoenicea* a été effectuée à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) et à la détection par flamme (GC-FID), comme présenté dans le (**tab 2**).

Tableau 2 - Composants volatile de l'huile essentielle de Genévrier Phénicie issue de la GC MS

Pics	TR (min)	Constituants	%
1	5.73	COMPOSE Mw=124	0.01
2	6.59	BORNYLENE	0.03
3	7.09	TRICYCLENE	0.23
4	7.46	alpha-PINENE	68.33
5		alpha-THUYENE	
6	8.10	alpha-FENCHENE	0.38
7	8.30	CAMPHENE	0.36
8	9.42	beta-PINENE	1.01
9	9.82	SABINENE	0.05
10	9.90	PINADIENE	0.14
11	10.14	delta2-CARENE	0.12
12	10.84	delta3-CARENE	5.77
13	11.26	beta-MYRCENE	2.56
14	11.41	alpha-PHELLANDRENE	0.73
15	11.81	o-CYMENE	0.05
16	11.95	alpha-TERPINENE	0.07
17	12.53	MENTHATRIENE ISOMERE	0.01
18	12.66	ISOSYLVESTRENE	0.04
19	12.80	LIMONENE	1.26
20	13.24	beta-PHELLANDRENE	4.77
21	13.44	1,3,8-p-MENTHATRIENE	0.05
22	14.32	cis-beta-OCIMENE	0.03
23	14.87	gamma-TERPINENE	0.22
24	15.15	trans-beta-OCIMENE	0.04
25	15.87	m-CYMENE	0.01
26	16.02	p-CYMENE	0.47
27	16.39	ISOTERPINOLENE	0.04
28	16.69	TERPINOLENE	0.50
29	18.87	PINOL	0.02
30	20.70	cis-OXYDE DE ROSE	0.02
31	21.47	trans-OXYDE DE ROSE	0.01
32	23.07	FENCHONE	0.02
33	25.76	alpha-p-DIMETHYLSTYRENE	0.03
34	25.78	cis-OXYDE DE LINALOL	0.03
35	26.53	COMPOSE Mw=150	0.01
36	-	FURFURAL	Nd
37	27.22	alpha-CUBEBENE	0.06
38	27.41	ACETATE DE FENCHYLE	0.07
39	27.81	delta-ELEMENE	0.09
40	28.90	alpha-CAMPHOLENAL	0.04
41	29.33	alpha-COPAENE	0.10
42	30.15	CAMPHE	0.08
43	30.39	alpha-PINOCAMPHONE	0.07
44	30.80	beta-BOURBONENE	0.08
45	31.15	COMPOSE Mw=152	0.01
46	32.09	beta-PINOCAMPHONE	0.04
47	32.11	beta1-CUBEBENE	0.06
48	32.38	LINALOL	0.50
49	32.59	PINOCARVONE	0.02
50	32.87	ACETATE DE LINALYLE	0.30
51	33.05	trans-p-MENTH-2-EN-1-OL	0.02

Pics	TR (min)	Constituants	%
52	33.36	ISOPULEGOL	0.07
53	33.82	epsilon-CADINENE	0.08
54	34.09	ALCOOL ALIPHATIQUE	0.03
55	34.17	ACETATE DE BORNYLE	0.08
56	34.19	ACETATE DE DIHYDROCARVYLE ISOMERE	0.12
57	34.38	FENCHOL	0.04
58	35.10	beta-ELEMENE	0.17
59	35.34	beta-CARYOPHYLLENE	0.71
60	35.59	SESQUITERPENE	0.01
61	35.74	TERPINENE-4-OL	0.06
62	35.85	METHYL CARVACROL ETHER	0.02
63	36.62	THUYOPSENE	0.07
64	37.12	MYRTENAL	0.03
65	37.26	cis-p-MENTH-2-EN-1-OL	0.01
66	37.59	CADINA-3,5-DIENE	0.28
67	37.87	ESTER ALIPHATIQUE	0.01
68	38.00	GERMACRENE A	0.15
69	38.48	trans-PINOCARVEOL	0.15
70	38.73	cis-VERBENOL	0.02
71	39.19	ZONARENE	0.41
72	39.49	SESQUITERPENE	0.01
73	-	ESTRAGOLE	Nd
74	39.65	alpha-HUMULENE	0.40
75	39.92	cis-4,5-MUROLADIENE	0.03
76	40.07	trans-VERBENOL	0.09
77	40.23	ESTER TERPENIQUE	0.04
78	40.81	gamma-MUROLENE	0.23
79	40.99	CALARENE	0.02
80	41.22	ACETATE DE TERPENYLE	1.26
81	41.43	alpha-TERPINEOL	0.44
82	41.92	SESQUITERPENE	0.06
83	42.11	GERMACRENE D	0.47
84	42.40	beta-SELINENE	0.03
85	42.48	MUROLADIENE ISOMERE	0.42
86	42.61	PIPERITONE	0.07
87	43.05	alpha-SELINENE	0.12
88	43.09	alpha-MUROLENE	0.23
89	43.27	CARVONE	0.14
90	43.51	ACETATE DE NERYLE	0.05
91	43.68	ACETATE DE cis-CARVYLE	0.09
92	44.14	trans-PIPERITOL	0.02
93	44.50	trans-ISOPIPERITENOL	0.02
94	44.73	delta-CADINENE	1.07
95	44.87	ACETATE DE GERANYLE	0.13
96	45.11	delta-SELINENE	0.01
97	45.31	CITRONELLOL	0.18
98	45.95	SESQUITERPENE	0.03
99	46.11	SELINADIENE ISOMERE	0.03
100	46.37	CADINA-1,4-DIENE	0.08
101	46.50	SESQUITERPENE	0.04
102	46.75	MYRTENOL	0.05

Pics	TR (min)	Constituants	%
103	46.95	CAMPHOLENOL	0.11
104	47.13	beta-DAMASCENONE	0.02
105	48.26	2,4-DECADIENAL	0.01
106	48.80	GERMACRENE B	0.45
107	49.02	CALAMENENE	0.27
108	49.15	ESTER CITRONELLIQUE	0.04
109	49.47	m-CYMENE-8-OL	0.02
110	49.78	p-CYMENE-8-OL	0.04
111	49.80	GERANIOL	0.02
112	50.36	trans-MYRTANOL	0.01
113	50.78	COMPOSE AROMATIQUE Mw=194	0.03
114	-	SAFROLE	Nd
115	52.47	Epi-CUBEBOL	0.03
116	52.58	SESQUITERPENOL	0.07
117	52.71	CALACORENE ISOMERE	0.01
118	53.49	alpha-CALACORENE	0.02
119	53.92	EPOXYDE SESQUITERPENIQUE	0.01
120	53.96	ESTER TERPENIQUE	0.03
121	54.57	EPOXYDE SESQUITERPENIQUE	0.01
122	55.25	CUBEBOL	0.04
123	55.85	beta-CALACORENE	0.01
124	57.17	OXYDE DE CARYOPHYLLENE	0.21
125	58.04	CHRYSANTHEMOL ISOMERE	0.02
126	-	METHYLEUGENOL	Nd
127	59.38	ISOVALERATE DE 2,4-DECADIENYLE	0.02
128	60.16	EPOXY-6,7-HUMULENE	0.04
129	60.26	COMPOSE AROMATIQUE Mw=222	0.02
130	60.79	NEROLIDOL	0.01
131	61.07	Epi-CUBENOL	0.06
132	61.48	CUBENOL	0.28
133	62.27	ELEMOL	0.10
134	62.97	ESTER TERPENIQUE	0.04
135	63.82	CEDROL	0.02
136	66.60	gamma-EUDESOL	0.02
137	66.62	T-CADINOL	0.02
138	67.47	alpha-MUUROLOL	0.04
139	67.99	2-ACETYLCYCLOPENTANONE	0.02
140	68.29	delta-CADINOL	0.06
141	69.24	CARVACROL	0.02
142	69.38	alpha-EUDESOL	0.01
143	69.54	beta-EUDESOL	0.02
144	69.55	alpha-CADINOL	0.05
145	70.10	EUDESMA-7(11)-EN-4-OL	0.01
146	70.55	COMPOSE Mw=202	0.02
147	70.70	beta-NOOTKATOL	0.05
148	72.40	EPOXYDE SESQUITERPENIQUE	0.02
149	75.08	OXYDE DE MANOYLE	0.11
150	76.08	EPOXYDE SESQUITERPENIQUE	0.01
		TOTAL	99.94

L'analyse par CG-MS a permis d'identifier 150 constituants dans les rameaux, représentant 99,94 % de l'huile essentielle. Les composants majeurs de cette huile essentielle sont principalement des monoterpènes et des hydrocarbures. Ils se composent principalement d' α -pinène, de delta-carène et de bêta-phellandrène, représentant respectivement 68,33 %, 5,77 % et 4,77 %. Parmi les autres composants notables figurent le bêta-myrcène à 2,56 %, le limonène à 1,26 %, l'acétate de terpényle à 1,26 %, le delta-cadinène à 1,07 %, ainsi que des composants mineurs.

La figure ci-dessous illustre un chromatogramme des composants volatils identifiés dans les rameaux de Genévrier.

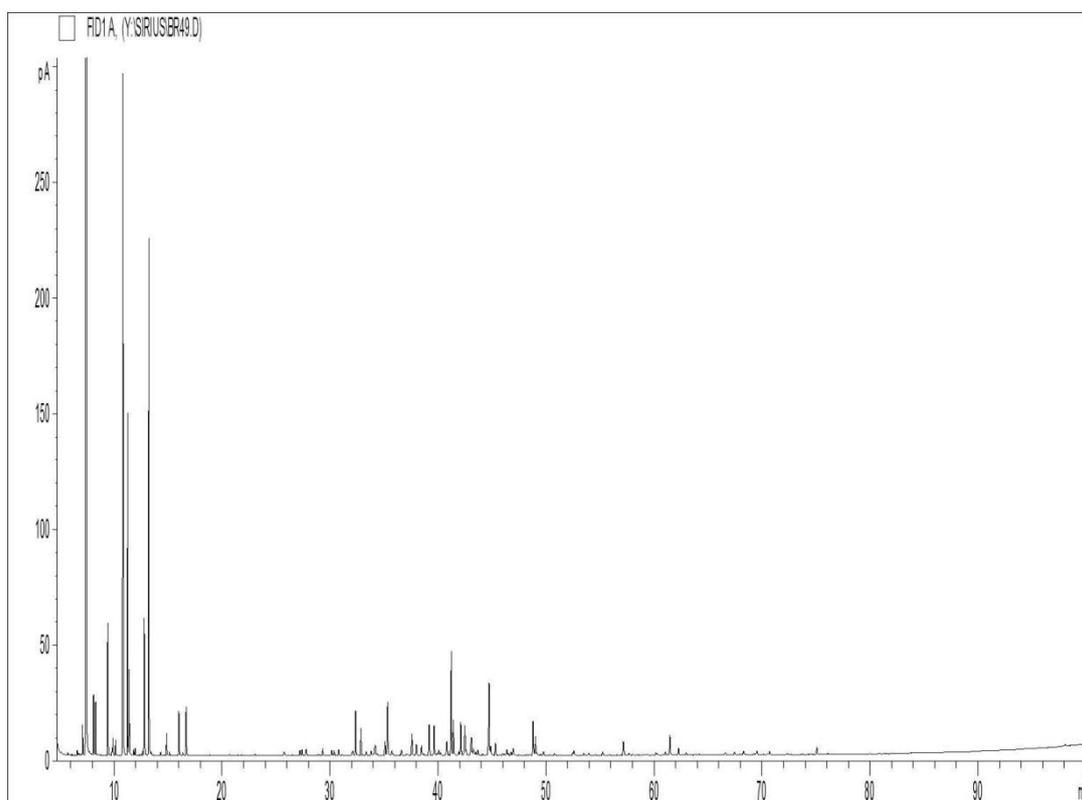


Figure 11 - Chromatogramme des composants volatils identifiés dans la partie aérienne de Genévrier.

L'étude menée par N. Bouzouita et ses collègues en 2008 a utilisé la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG et CPG/SM) pour analyser la composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles séchées de *Juniperus phoenicea*, prélevées dans la région de Medenine, dans le sud de la Tunisie. Cette analyse a révélé la présence de vingt-sept composants, représentant ensemble 84,63% de l'huile essentielle. Parmi ces composants, les principaux sont : l' α -pinène, qui constitue 59,11% de l'huile essentielle, le linalool avec une concentration de 3,3%, le germacrène D avec 1,55%, et le germacrène B avec 3,22%.

Des recherches récentes ont porté sur l'analyse des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*, obtenues par hydrodistillation à partir de branches. Selon N. Mansouri et al (2022), les composés les plus fréquemment identifiés varient en fonction de leur origine. Dans leurs analyses par GC et GC/MS, ils ont trouvé des concentrations variables d' α -pinène (entre 64,19% et 76,33%), de δ -3-carène (entre 0% et 14,84%), de germacrène B (entre 1,23% et 2,98%), de myrcène (entre 1,69% et 2,69%), d'E- β -caryophellène (entre 0,70% et 2,38%), et de fenchone (entre 0,42% et 2,12%).

D'autre part, des recherches menées par Al-khlifeh et al. (2021) ont révélé des composants différents dans les huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*. Ils ont identifié des substances telles que l' α -thujène, l' α -pinène (49,15% dans les feuilles et 71% dans les baies), le β -pinène, le p-cymène, le limonène, le β -phellandrène, le γ -terpinène, le terpinolène, le linalol, le bornéol, le terpinène-4-ol, l' α -terpinéol, le nérol, le géranial, le thymol, le carvacrol, l'eugénol, le β -caryophyllène, l'aromadendrène, l' α -humulène, l'oxyde de caryophyllène, le δ -cadinène et le γ -cadinène.

Dans une autre étude, W. Abdelli et al. (2017) ont réalisé une distillation à la vapeur d'eau des feuilles et des baies de *Juniperus phoenicea* en Algérie, permettant l'analyse des huiles essentielles et l'évaluation de leurs propriétés antimicrobiennes et anti-inflammatoires. Les analyses GC-FID et GC-MS ont permis d'identifier respectivement 63, 46 et 78 composés volatils à partir de feuilles fraîches, de feuilles séchées et de baies, représentant une grande proportion de l'huile totale. Les huiles de feuilles fraîches et séchées étaient principalement constituées de β -phellandrène, d' α -pinène, de myrcène, d' α -phellandrène, de p-cymène et de limonène, tandis que l'huile de baies était principalement composée d' α -pinène, de p-cymène, de β -phellandrène, d' α -terpinéol et d' α -campholénal.

Enfin, dans une analyse GC-MS de l'huile essentielle de genévrier rouge, A. Meriem et al. (2021) ont détecté 30 composés, parmi lesquels l' α -pinène, le Δ -cadinène, le linalol, le germacrène-B et d'autres composés mineurs étaient les plus importants en termes de concentration.

2.3. Évaluation de la toxicité de l'huile essentielle de genévrier phénicien sur la population de *Tribolium confusum*

Nous avons entrepris une étude visant à évaluer la toxicité de l'huile essentielle extraite de *Juniperus phoenicea* sur les adultes de *Tribolium confusum*. Cette évaluation a été réalisée à travers deux approches : un test de contact direct entre l'huile essentielle et les insectes, ainsi qu'un test de fumigation.

2.3.1. Évaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* sur les adultes de *Tribolium confusum* par contact direct

Cette étude cherche à évaluer l'efficacité de l'huile essentielle extraite de cette plante méditerranéenne, reconnue pour ses propriétés biocides, lorsqu'elle est directement appliquée sur les adultes de cet insecte nuisible

2.3.1.1. Mortalité corrigée

Dans le cadre de l'étude sur l'activité insecticide de l'huile essentielle, la mortalité corrigée des adultes de *Tribolium confusum* a été calculée pour déterminer précisément l'efficacité du traitement.

Tableau 3- Mortalité enregistrée chez les individus de *T. confusum* traités par différents doses d'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* par contact.

Doses ($\mu\text{l/ml}$)	Taux de mortalité corrigé (%)					Log dose
	24H	48H	72H	96H	120H	
(Dose 01) 5$\mu\text{L/ML}$	01	01	01	02	08	0.69
(Dose 02) 10$\mu\text{L/ML}$	01	01	03	05	16	1
(Dose 03) 15$\mu\text{L/ML}$	04	05	10	17	50	1.17
(Dose 04) 20$\mu\text{L/ML}$	29	38	42	46	75	1.30

Les données recueillies indiquent un taux de mortalité corrigé. L'efficacité de l'insecticide semble s'accroître avec la quantité appliquée. À 5 $\mu\text{l/ml}$, le taux de mortalité observé est de 08 %, et il atteint 50 % pour une concentration de 15 $\mu\text{l/ml}$. Pour ces doses initiales testées, la mortalité n'a pas excédé 50 %. Cependant, à la dose la plus élevée de 20 $\mu\text{l/ml}$, la mortalité a atteint 75 % au terme du cinquième jour d'exposition.

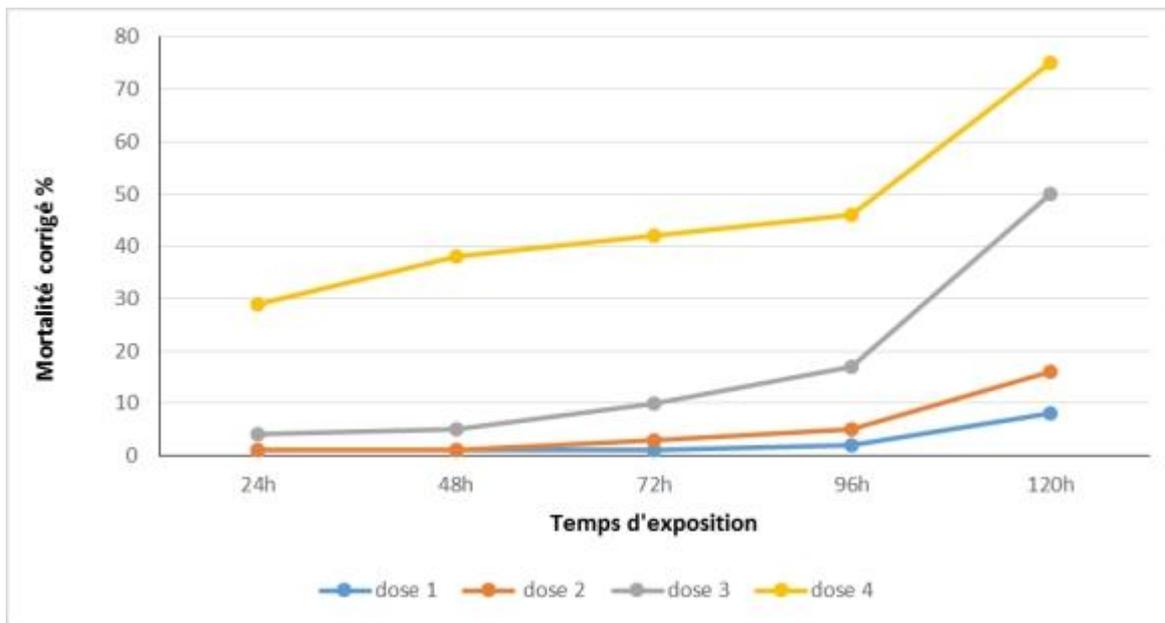


Figure 12 - Evolution temporelles du taux de mortalité des adultes de *Tribolium confusum* traités avec l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* par contact.

Il est notable que la mortalité des individus survient dès les premières heures suivant l'exposition. Le taux de mortalité chez les individus de l'espèce *T. confusum* varie en fonction des doses testées : plus la dose d'huile essentielle est élevée, plus le taux de mortalité augmente. Après 24 heures, le taux de mortalité est de 29 % pour une dose de 20 $\mu\text{l/ml}$.

Au fil du temps, le taux de mortalité associé aux différentes doses testées continue d'augmenter. Après une exposition de 96 heures aux doses de 15 $\mu\text{l/ml}$ et 20 $\mu\text{l/ml}$, on observe un taux de mortalité de 17% et 46% respectivement. Après 120 heures, le taux de mortalité atteint 50% pour une dose de 15 $\mu\text{l/ml}$ et 75% pour une dose de 20 $\mu\text{l/ml}$.

2.3.1.2. Calcul du DL50 et DL90

La dose létale 50 (DL50) et la DL90 sont des indicateurs quantitatifs de la toxicité d'une huile essentielle. Elles mesurent respectivement les doses de substance nécessaires pour entraîner la mort de 50 % et 90 % d'une population de *Tribolium confusum* dans des conditions expérimentales spécifiques, comme indiqué dans le (Tab 4).

La détermination de la dose létale causant la mort chez les adultes de *T. confusum* a été effectuée en se basant sur la ligne de régression établie d'après les probits des doses mortelles (Fig. 13).

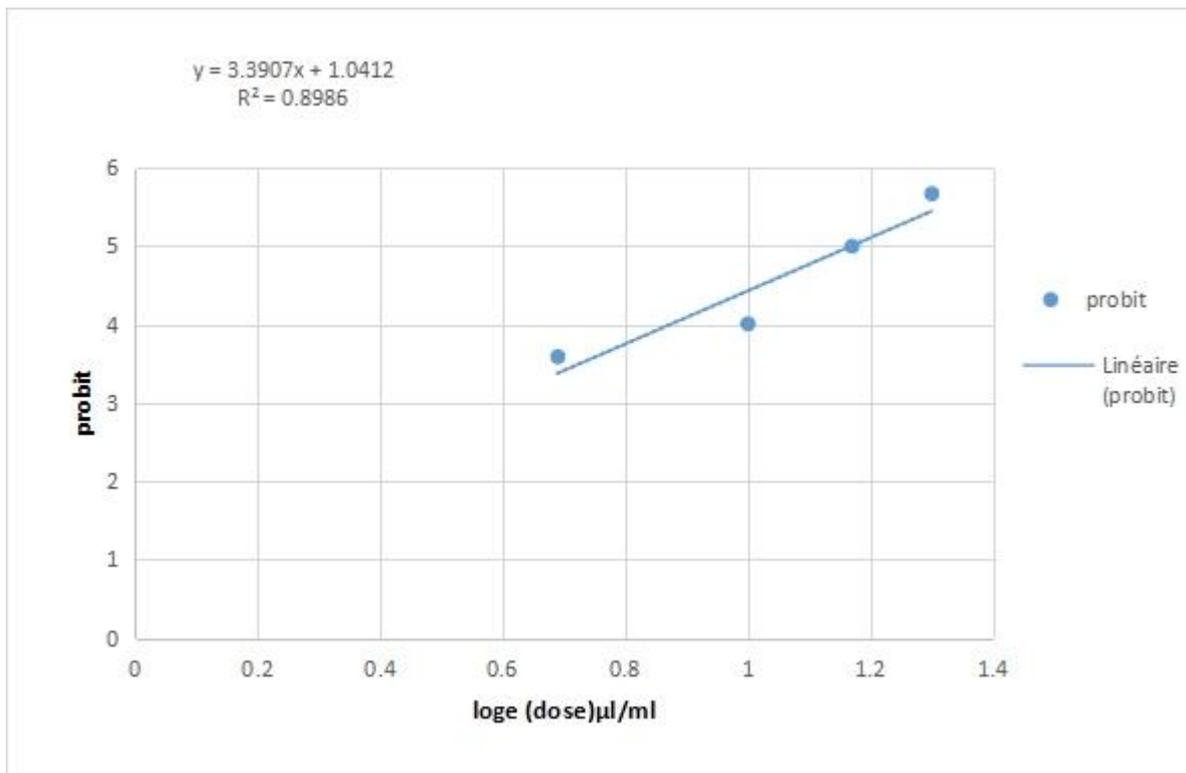


Figure 13- Droite de régression linéaire des probits à différentes doses de l'HE de *Juniperus phoenicea* L. sur *T. confusum* par contact.

Tableau 4 - Calcul du DL50 et DL90 exposé à huile essentielle de *J. phoenicea* de test contact

Equation	Probit		Dose létale (µl/ml)	
	50%	90%	DL50	DL90
$y = 3.3907x + 1.0412$	5	6.28	14.70 µl/ml	35.07µl/ml

Chez les individus de *Tribolium confusum*, cela signifie que lorsque exposés à une dose de 14 µl/ml d'huile essentielle, 50 % de ceux-ci mourront. Pour obtenir le même résultat pour 90 % de la population, une dose plus élevée de 35,07 µl/ml est nécessaire.

2.3.2. Evaluation de l'activité insecticide de l'HE de *J. phoenicea* L. vis-à-vis des adultes de *T. confusum* par effet de inhalation

Cette étude vise à déterminer l'efficacité de l'huile essentielle extraite de cette plante méditerranéenne, connue pour ses propriétés biocides, lorsqu'elle est appliquée par inhalation sur les adultes de cet insecte nuisible.

2.3.2.1 Mortalité corrigée

Pour évaluer l'efficacité de l'huile essentielle en tant qu'insecticide par voie d'inhalation, la formule de correction de la mortalité est appliquée, prenant en compte la mortalité naturelle des insectes en absence de l'huile essentielle (Tab.5). Cette méthode permet de déterminer la mortalité corrigée, reflétant ainsi la véritable toxicité de l'huile essentielle.

Tableau 5 - Mortalité enregistrée chez les individus de *T. confusum* traités par différents doses d'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* par inhalation.

Les Doses (μl /ml)	Taux de mortalité corrigé (%)					Log dose
	3H	6H	9H	12H	15H	
(Dose 01) 5 μL /ML	36.6	66.6	66.6	83.3	86.6	0.69
(Dose 02) 10 μL /ML	63.3	100	100	100	100	1
(Dose 03) 15 μL /ML	76.6	96.6	100	100	100	1.17
(Dose 04) 20 μL /ML	86.6	100	100	100	100	1.30

La mortalité se manifeste dès les premières heures après l'exposition. Le taux de décès chez les individus augmente progressivement avec le temps et varie également en fonction de la dose administrée. Une concentration de 5 μl /ml a entraîné une mortalité plus faible, atteignant un maximum de 86.6 % après 21 heures. En revanche, une dose de 20 μl /ml a eu un effet plus puissant et rapide, entraînant une mortalité de 100% après 6 heures. Ces résultats ont été comparés à un groupe témoin où la mortalité corrigée enregistrée était nulle.

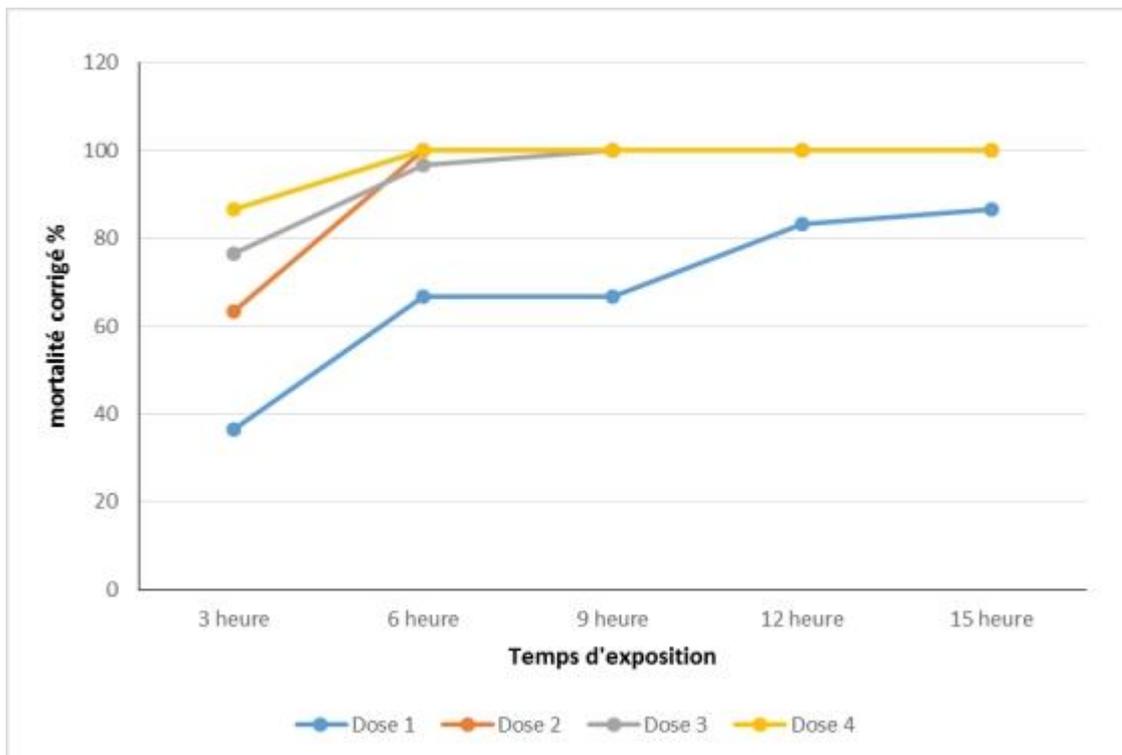


Figure 14- Evolution temporelles du taux de mortalité des adultes de *Tribolium confusum* traités avec l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* par inhalation.

Pour l'huile essentielle de *J. phoenicea*, un taux de mortalité de 100 % des adultes de *T. confusum* a été enregistré avec une dose de 20 µl après 6 heures d'exposition, comme illustré dans la(**Fig 14**). En revanche, un taux de mortalité faible a été observé pour la dose de 5 µl après 3 heures d'exposition. Pour le groupe témoin, aucun taux de mortalité n'a été enregistré.

2.3.2.2. Calcul du DL50 et DL90

La détermination de la dose létale causant la mort chez les adultes de *T.confusum* a été effectuée en se basant sur la ligne de régression établie d'après les probits des doses mortelles.

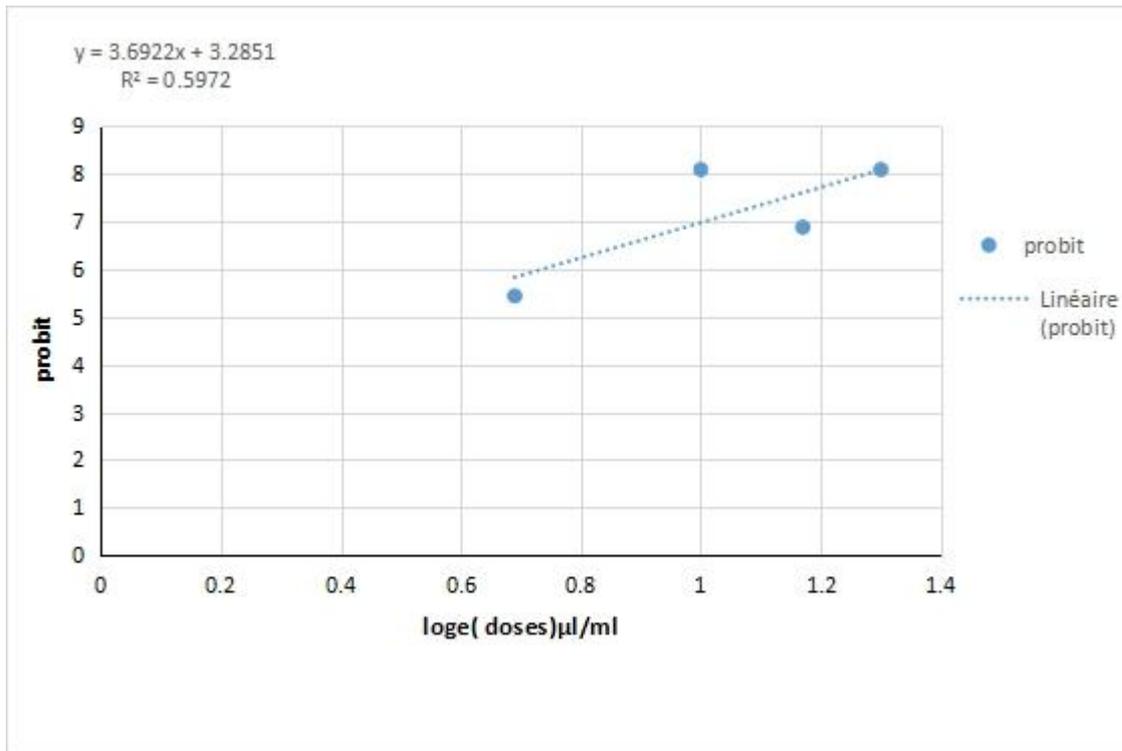


Figure 15. Droite de régression linéaire des probits à différentes doses de l'HE de *Juniperus phoenicea* L. sur *T. confusum* par inhalation.

Tableau 6- Calcul du DL50 et DL90 exposé à huile essentielle de *J. phoenicea* de test inhalation

L'équation	Probit		La dose létale (µl/ml)	
	50%	90%	DL50	DL90
$y = 3.6922x + 3.2851$	5	6.28	2.91 µl/ml	6.47µl/ml

Cela signifie que chez les individus de *Tribolium confusum*, 50 % de ceux exposés mourront lorsqu'ils reçoivent une dose de 2,91 µl/ml d'huile essentielle. Pour obtenir le même résultat pour 90 % de la population, une dose plus élevée de 6,47 µl/ml est nécessaire.

D'après les résultats obtenus lors des tests de fumigation, il a été observé que l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* a induit un taux de mortalité de 100 % chez les adultes de *Tribolium confusum* aux doses de 5 µl, 10 µl, 15 µl et 20 µl après une durée d'exposition de 24 heures. En revanche, le témoin n'a présenté aucun taux de mortalité.

Ces résultats témoignent d'une activité insecticide de l'huile essentielle appliquée, avec une relation dose-réponse. Il est à noter que l'huile essentielle s'est avérée toxique et efficace, avec une dose létale (DL50) de 14.70 µl/ml et une DL90 de 35.07 µl/ml dans le test de mortalité corrigée, et une DL50 de 2.91/ml et DL90 de 6.47 µl/ml dans le test de fumigation.

Une étude menée par A. Khani et al. (2017) portant sur la toxicité du fumigant et l'activité répulsive des huiles essentielles de *Juniperus polycarpus* et *Juniperus sabina* en présence de *Tribolium confusum* a révélé que des doses plus élevées et des durées d'exposition prolongées augmentaient le taux de mortalité des insectes. Les huiles essentielles de *J. polycarpus* et *J. sabina* ont démontré une activité répulsive significative contre les coléoptères.

Par ailleurs, d'autres recherches ont également souligné l'efficacité insecticide de différentes huiles essentielles sur *Tribolium confusum*. Par exemple, une étude de Russo et al. (2015) a montré que l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus a pu éliminer 90% des ravageurs après une exposition de 30 minutes.

La majorité des huiles essentielles agissent en altérant la structure de la membrane cellulaire des insectes, bien que certaines puissent également avoir des effets neurotoxiques en interagissant avec des neurotransmetteurs spécifiques ou en inhibant l'acétylcholinestérase.

Conclusion

Conclusion

Les plantes synthétisent diverses substances secondaires telles que les terpènes, les alcools et les polyphénols, souvent perçues comme des mécanismes de défense contre divers adversaires. Récemment, l'intérêt pour les insecticides d'origine naturelle a considérablement augmenté. Dans cette perspective, cette étude vise à évaluer l'efficacité de l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles du Genévrier de Phénicie comme insecticide.

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* a révélé l'identification de 150 composés, représentant 99,94% de l'huile totale. Les composés majoritaires incluent l' α -pinène (68,33%), le delta3-CARENE (5,77%), le bêta-PHELLANDRENE (4,77%), le bêta-MYRCENE (2,56%) et le bêta-PINENE (1,01%).

Une augmentation de la mortalité moyenne des individus a été observée en fonction de l'augmentation de la dose et de la durée d'exposition à l'huile essentielle de *J. phoenicea*. Un taux de mortalité maximal de 100 % a été enregistré chez les individus de *T. confusum* exposés au traitement par inhalation, à la dose 2 et 4 après 6 heures d'exposition. Notamment, l'huile essentielle de Genévrier de Phénicie a montré une action insecticide plus rapide par inhalation, tandis que son effet par contact est moins prononcé, atteignant 75 % à la dose 4 après 120 heures d'exposition.

La flore algérienne regorge de nombreuses plantes aromatiques et médicinales, constituant une ressource précieuse en matière de molécules bioactives.

Ces découvertes fournissent des bases scientifiques solides pour le développement futur et l'application des huiles essentielles dans la gestion des insectes. Elles soulignent l'importance de recherches approfondies et de discussions approfondies pour comprendre comment ces huiles agissent et mesurer leur efficacité en tant qu'agents naturels. Une compréhension approfondie de ces éléments contribuera à optimiser l'utilisation des huiles essentielles comme insecticides, garantissant leur sécurité et leur efficacité.

Références bibliographiques

Référence bibliographiques

Abdelli, W., Bahri, F., Höferl, M., Wanner, J., Schmidt, E., & Jirovetz, L. (2018). *Chemical composition, antimicrobial and anti-inflammatory activity of Algerian Juniperus phoenicea essential oils. Natural Product Communications*, 13(2) : 223 – 228.

Adams R P, Barrero A F, Lara A . 1996. Comparisons of the leaf essential oils of *Juniperus phoenicea*, *J. phoenicea* subsp. *Eu-mediterranea* Lebr. et Thiv. and *J. phoenicea* var. *turbinata* (Guss) Parl. *J. Essent. Oil Res.* 8: 367-371.6.

AFNOR, 2000 - Huiles essentielles, échantillonnage et méthode d'analyse. Ed. PARA Graphic , T.1, 471 p.

Aouadi Meriema,b, Kamel Msaada , Essia Sebaia,b, Wissem Aidi Wannesc, Mohamed Salah Abbassid,e and Hafidh Akkar .(2021). *Antioxidant, anthelmintic and antibacterial activities of red juniper (Juniperus phoenicea L.) essential oil. JOURNAL OF ESSENTIAL OIL RESEARCH,*

Attia F.I ., Frecker T., 1984. Cross resistance spectrum and synergism studies in organophosphorous-resistant strains of *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera, Cujidae) in Australia. *Journal of Economic Entomology* 77, 1367-1370.

BASKETTER DA, ALLENBY CF. Studies of the quenching phenomenon in delayed Contact hypersensitivity reactions. *Contact Derm.* Sept 1991; 25(3):160-71.

Bouzaouia, N et Mazouz, S. (2018). Évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* L sur quelques bactéries (Coliformesstaphylocoques) de contamination du lait cru (Vache-Chèvre). Mémoire de master. P64.

Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., & Chaabouni, M. M. (2008). *Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de Juniperus phoenicea. Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10 :119-125.

Bruneton J. 2016. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4^e Ed : Lavoisier ; Paris. .1269p.

Chachouay Noureddine ,2020. Etude floristique et ethomedicinale des plantes aromatique et médicinales dans le Rif (Nord du Maroc) .Université Ibn Tofail , Kénitra ,NP 190.

- Chakre EL kalamouni,2010.**Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées ,thèse de doctorat ,p263.
- Delobel A. et Trans, M., 1993.** Les coléoptères des denrées entreposées dans les régions chaudes .Ed ORSTOM, Paris, 424 p.
- Djermoun A., 2009.** .La production créraliaire en Algérie :les principales caractérisantes .Revu Nature et Technologie (1),45-35.
- DUVILLARD. Thèse:** Les parfums: utilisation thérapeutiques et reformulation. Université de Lyon; 2013.
- El-Sawi S.A, Motawae H.M, and Ali A.M. (2007).** Chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea* L. grown in Egypt. African journal of traditional, complementary and alternative medicines, 4(4), 417-426.
- Enas m al-khlifeh, khaled m khleifat, nafe al-tawarah, muhamad o. Al-limoun adel h. Abdelghani, khalid alsharafa, haitham qaralleh.(2021).** Genetic Diversity and Chemical Composition of *Juniperus phoenicea* L Reflect on Its Antimicrobial Activity,
- Foua-Bi K., (1989).** Céréales des Régions Chaudes Conservation et Transformation,Parmentier M, Fouad-bi K (Ed). AUPELF-UREF. Ads John Libbey Eurotext: Paris, 97-104.
- Georghion G.P., 1990.** Overview of insecticide resistance. In: Green M.B., Lebaron H.M.
- Hance Th et L.S.T. Ngamo., 2007.** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. revue Tropicultura ,215-220.
- Khani, A., Rashid, B., et Mirshekar, A. (2017).** Chemical composition and insecticidal efficacy of *Juniperus polycarpus* and *Juniperus sabina* essential oils against *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). International Journal of Food Properties, 20(S2), S1221-S1229.
- Lepesme P., 1944.** Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. Ed.P. Le chevalier, Paris. ..Weidner et Rack (1984)
- Marion-Poll F., Dinan L ., Laffont R., 2002.** Place des phytoecdysoides dans la lutte contre les insectes phytophages. In: Biopesticide d'origine végétale. Regnault-Roger C., Phillogène B.J.R. & Vincent C. Eds. Paris, 97-113

Metcalf R.L., 1994. Insecticides in pest management. *In*: Introduction to insect pest management 3rd Ed. Metcalf R.L. et Luckmann W.H., Wiley, New York, 245-314.

Moberg W.K. Eds. Managing resistance to agrochemicals: from fundamental research to practical strategies. American Chemical Society symposium, series 421. Washington DC, 18-41.

Mohamed A., 2014. Organisation de la chaîne logistique dans la filière céréales en Algérie .État des lieux et perspectives. Mémoire de fin d'étude. Institut Agronomiques Méditerranéen de Montpellier. 11p.

Nazik Mansouri, Badr Satrani, Mohamed Ghanmi, Lahsen EI Ghadraoui, Abdellatif Boukir & Abderrahman Aafi.(2022). Effet de la provenance sur le rendement, la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des rameaux de *Juniperus phoenicea L.* du Maroc ,

Oukadir, Z., Abdellaoui, A., Lyoussi, A., Senhaji rhazi, N., (2021). Phytochemical, antioxidant and antibacterial study of essential oils of the leaves and fruits of *Juniperus Phoenicea*. Laboratory of Physiology, Pharmacology and Environmental Health, Department of Biology, Faculty of Sciences Dhar El Mahraz, University Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fez – Morocco. P20.

Papachristos D.P ., Stamopoulos D.C., 2002. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oils vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research.* 38, 117-128

ROUXO, 2008 OLLIER C. Aromathérapie - Le bon usage. Le moniteur du Pharmacien, cahier II n°2767; 2009

Russo, S., Cabrera, N., Chludil, H., Yaber-Grass, M., et Leicach, S. (2015). Insecticidal activity of young and mature leaves essential oil from *Eucalyptus glo-bulus* Labill against *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Te-nebrionidae). *Chilean Journal of Agricultural Research,* 75(3), 375-379.

Steffan J.R., 1963. Tribu des calandrini. Les calandres des grains (*Sitophilus*). In: Balachowsky, A.S (Ed.), *Entomologie Appliquée à l'agriculture.* Tome I, Vol. 2. Masson et Cie, Paris, pp. 1070-1099.

Timothy D., 2009. Effects of crowding on the loss in weight of sorghum flour and the survival and development of adult confused flour beetle, *Tribolium Confusum* in sorghum flour . *New York Sci. J.*2(7), 56-61.

Vitti D.M.S.S, Abdalla A.L, Bueno I.C.S, Silva-Filho J.C, Costa C, Bueno M.S. and Al. (2005). Do all tannins have similar nutritional effects, a comparison of three Brazilian fodder legumes. *Animal Feed Science and Technology*, 119: 345–361.

Wallace R.J. (2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of Nutrition Society*, 63: 621–629.

Williams Y.J, Popovski .S, Rea S.M, Skillman L.C, Toovey A.F, Northwood K.S, and Al. (2009). A vaccine against rumen methanogens can alter the composition of archaeal populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 75: 1860–1866.

Résumé

Extraction, analyses et essais biologiques des molécules volatiles de la flore sauvage : Huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* L.

La quête de méthodes alternatives pour protéger les réserves de céréales contre les ravageurs, notamment *Tribolium confusum*, est en constante évolution afin de réduire les risques associés aux pesticides. Parmi ces alternatives, l'utilisation de bioinsecticides, tels que les huiles essentielles de plantes, suscite un intérêt grandissant. Notre étude s'est concentrée sur l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* L., extraite par distillation à la vapeur d'eau, pour évaluer son efficacité insecticide contre *Tribolium confusum*. L'analyse chimique GC MS a révélé une composition dominée par des composés tels que l' α -pinène (68,33%), le delta-carène (5,77%), et le bêta-phellandrène (4,77%), ainsi que des composants mineurs. Des tests de mortalité par contact et par inhalation ont démontré une efficacité de 100% pendant 6 heures par inhalation et un taux de mortalité de 75% après 120 heures par contact. Ces résultats soulignent le potentiel prometteur de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* L. comme alternative efficace dans la lutte contre les ravageurs des réserves alimentaires.

Mot clefs : , *Juniperus phoenicea* L, *Tribolium confusum*, huile essentielle, l' α -pinène

Abstract

Extraction, analysis, and biological testing of volatile molecules from wild flora: Essential oils of *Juniperus phoenicea* L.

The search for alternative methods to protect cereal reserves against pests, particularly the insect *Tribolium confusum*, is constantly evolving to reduce the risks associated with pesticides. Among these alternatives, the use of bioinsecticides, such as plant essential oils, is gaining increasing interest.

Our study focused on the essential oil of *Juniperus phoenicea* L., extracted by steam distillation, to evaluate its insecticidal effectiveness against *Tribolium confusum*. Chemical analysis GCMS revealed a composition dominated by compounds such as α -pinene (68.33%), delta-carene (5.77%), and beta phellandrene (4.77%), along with minor components. Contact and inhalation mortality tests

demonstrated 100% effectiveness for 6 hours by inhalation and a mortality rate of 75% after 120 hours by contact. These results highlight the promising potential of *Juniperus phoenicea* L. essential oil as an effective alternative in combating pests in food reserves.

Keywords: *Juniperus phoenicea* L, *Tribolium confusum*, essential oil. α -pinene.

الملخص

استخراج، تحليل واختبارات بيولوجية للجزيئات الطيارة من النباتات البرية الزيوت الأساسية لنبات العرعار الفينيقي

البحث عن الطرق البديلة لحماية مخزون الحبوب ضد الآفات، وخاصة حشرة تربوليوم، يتطور باستمرار للحد من المخاطر المرتبطة بالمبيدات الحشرية. من بين هذه البدائل، فإن استخدام المبيدات الحيوية، مثل الزيوت العطرية الطيارة، يثير اهتماماً متزايداً. ركزت دراستنا على الزيت الطيار لنبات العرعار، المستخلص بواسطة التقطير بالبخار، لتقييم فعاليته المبيدة ضد تربوليوم. كشف التحليل الكيميائي عن تركيب مسيطر يتكون من مركبات مثل الألفا بينين (68.33%)، الدلتا كارين (5.77%)، والبيتا فيلاندين (4.77%)، بالإضافة إلى مكونات ثانوية. أظهرت اختبارات الوفيات بالاتصال والاستنشاق فعالية بنسبة 100% لمدة 6 ساعات عن طريق الاستنشاق ومعدل وفيات بنسبة 75% بعد 120 ساعة عن طريق الاتصال. تسلط هذه النتائج الضوء على الإمكانيات الواعدة لزيت العرعار الطيار كبديل فعال في مكافحة الآفات في المخزونات الغذائية.

الكلمات المفتاحية

الزيت العطري ، تربوليوم، العرعار ، الألفا بينين