



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 Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

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

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème

Evaluation des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, et insecticides de quelques huiles essentielles

Présenté par : Benaissa Amira & Chebiri Fatima

Devant le Jury :

| | | |
|--|-----|----------------------------|
| Président : M ^r Amara Korba Raouf | MCB | (Univ. Bordj Bou Arreridj) |
| Examineur : M ^{me} Boumaiza Souad | MAA | (Univ. Bordj Bou Arreridj) |
| Encadrant : M ^r Bellik Yuva | MCA | (Univ. Bordj Bou Arreridj) |
| Co-Encadrant : M ^r Moutassem Dahou | MCA | (Univ. Bordj Bou Arreridj) |

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Nous tenons à saisir cette occasion et adresser nos profonds remerciements et gratitude à :

Mr Bellik Yuva, notre encadrant de mémoire de fin d'étude, pour ses précieux conseils et son orientation tout au long de notre recherche.

Mr Dahou Moutassem, pour sa patience, son soutien, son accompagnement, sa présence dans les moments difficiles et les excellents moments, son aide et ses encouragements qui nous ont permis de poursuivre notre travail.

Mr Amara Korba Raouf, d'avoir accepté de présider le jury.

Mme Boumaiza Souad, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Tous ceux qui ont contribué de prêt ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie entièrement ce travail à mon père et à ma mère, les plus grandes sources de mon bonheur, pour leur amour inestimable, leur présence, leur sacrifice, leur confiance, leur soutien et toutes les valeurs qu'ils m'ont inculquées.

Je souhaite que vous restiez toujours près de moi et que Dieu vous protège et vous donne bonne santé.

A ma chère sœur Raihana mon bon exemple dans la vie et mes chers frères Ayoub et Abdelrazak pour leurs mots d'encouragement et leur soutien moral.

A mon binôme Fatima, je suis heureuse de vous avoir rencontré, ces moments resteront toujours gravé dans mes meilleurs souvenirs, Tu as été la meilleure des binômes.

A mes amies pour les bons moments que nous avons passés ensemble.

A toute personne qui me connaît.

Benaiissa Amira

Dédicaces

Je dédie entièrement ce travail à mon père et à ma mère, les plus grandes sources de mon bonheur, pour leur amour inestimable, leur présence, leur sacrifice, leur confiance, leur soutien et toutes les valeurs qu'ils m'ont inculquées.

Je souhaite que vous restiez toujours près de moi et que Dieu vous protège et vous donne bonne santé.

A mes chères sœurs Kaoutar, Lina et Amina et mon cher frère Abd el salam pour leurs mots d'encouragement et leur soutien moral.

A mon binôme Amira, je suis heureuse de vous avoir rencontré, ces moments resteront toujours gravés dans mes meilleurs souvenirs, Tu as été la meilleur des binômes.

A mes amies pour les bons moments que nous avons passés ensemble.

A toute personne qui me connaît.

Chebiri Fatima

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

| | |
|---|-----------|
| I. Introduction..... | 1 |
| II. Matériel et méthodes..... | 4 |
| II.1. Matériel biologique | 4 |
| II.1.1. Matériel végétal | 4 |
| II.1.1.1 Description des plantes et de leurs huiles essentielles | 4 |
| II.1.2. Matériel animale | 9 |
| II.1.3. Microorganismes | 9 |
| II.2. Les tests biologiques..... | 10 |
| II.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante | 10 |
| II.2.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne | 10 |
| II.2.2.1. Activité antibactérienne | 10 |
| II.2.2.2. Activité antifongique..... | 11 |
| II.2.3. Evaluation de l'activité insecticide..... | 11 |
| II.2.3.1. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par ingestion | 11 |
| II.2.3.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par inhalation..... | 12 |
| II.2.3.3. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles <i>in vivo</i> | 13 |
| II.2.4. Effet des huiles essentielles sur le profil métabolique des chenilles traitées..... | 13 |
| II.2.4.1. Préparation des homogénats des insectes..... | 13 |
| II.2.4.2. Dosage des protéines..... | 14 |
| II.2.4.3. Dosage des glucides | 14 |
| II.2.4.4. Dosage des lipides..... | 14 |
| II.3. Expression des résultats..... | 17 |
| II.3.1. Calcul de la mortalité corrigée | 17 |
| II.3.2. Détermination de la DL ₅₀ | 17 |
| II.3.3. Analyse statistique | 17 |
| III. Résultats et discussion | 18 |
| III.1. Résultats de l'activité antioxydante | 18 |
| III.2. Résultats de l'activité antimicrobienne..... | 19 |
| III.2.1. Activité antibactérienne..... | 19 |
| III.2.2. Activité antifongique..... | 21 |

| | |
|--|-----------|
| III.3. Résultats de l'activité insecticide..... | 24 |
| III.3.1. Effet toxique des huiles essentielles par ingestion | 24 |
| III.3.2. Effet toxique des huiles essentielles par inhalation..... | 27 |
| III.3.3. Effet toxique des huiles essentielles <i>in vivo</i> | 29 |
| III.4. Effet des HEs sur les variations quantitatives des réserves énergétiques | 31 |
| III.4.1. Effet sur les protéines..... | 31 |
| III.4.2. Effet sur les glucides | 32 |
| III.4.3. Effet sur les lipides | 33 |
| IV. Discussion | 34 |
| V. Conclusion..... | 38 |
| Références bibliographiques | 39 |

Annexes

Résumé

LISTE DES ABREVIATIONS

ANOVA : Analyse de la variance

CL50 : Concentration létale

Cm : Centimètre

C° : Celsius

DL50 : Dose létale

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

DPPH : 2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyl

g: Gramme

G.L.M : Modèle général linéaire

h : Heure

H₂SO₄ : Acide sulfurique

HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 %

IgG : Immunoglobuline G bovine

LT₅₀ : Temps de survie moyens

min : Minute

mg : Milligramme

ml : Millilitre

µg : Microgramme

µl : Microlitre

M : mole

nm : Nanomètre

p : poids

pH : potentiel hydrogène

PDA : Potato Dextrose Agar

v : Volume

ZI : Zone d'inhibition

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| Figure 1 : La plante et l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> | 4 |
| Figure 2 : La plante et l'huile essentielle de <i>Lavandula latifolia</i> | 5 |
| Figure 3 : La plante et l'huile essentielle de <i>Cupressus sempervirens</i> | 6 |
| Figure 4 : La plante et l'huile essentielle de <i>Pinus halepensis</i> | 7 |
| Figure 5 : La plante et l'huile essentielle de <i>Cymbopogon winterianus</i> | 8 |
| Figure 6 : Un nid d'hiver de la chenille processionnaire (<i>Thaumetopoea pityocampa</i> Schiff) sur un arbre de Pin d'Alep (<i>Pinus halepensis</i> Mill) | 9 |
| Figure 7 : Modalités de traitement de la chenille processionnaire par les huiles essentielles par ingestion. a : des feuilles de pin d'Alep pulvérisée avec les différentes concentrations d'huiles. b : l'ajout de dix chenilles dans chaque boîte | 12 |
| Figure 8 : Modalités de traitement de la chenille processionnaire par les huiles essentielles par inhalation..... | 13 |
| Figure 9 : Schéma récapitulatif des étapes du dosage des protéines, des glucides et des lipides | 16 |
| Figure 10 : Histogrammes montrant les valeurs des IC ₅₀ des différentes huiles essentielles .. | 18 |
| Figure 11 : Effet des huiles essentielles de <i>C. winterianus</i> (a), <i>A. herba alba</i> (b), <i>L. latifolia</i> sur (c), <i>P. halepensis</i> (d), et de <i>C. sempervirens</i> (e) à une concentration de 0,25% sur la croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> par rapport au témoin (f) | 23 |
| Figure 12 : Effet comparé de l'efficacité des huiles essentielles de <i>L. latifolia</i> , <i>C. winterianus</i> et <i>P. halepensis</i> et leurs doses sur les larves de <i>T. pityocampa</i> par digestion..... | 24 |
| Figure 13 : Effet comparé de l'efficacité des huiles essentielles de <i>L. latifolia</i> , <i>C. winterianus</i> et <i>P. halepensis</i> sur les larves de <i>T. pityocampa</i> par inhalation..... | 27 |
| Figure 14 : Volumes des huiles évaporés pour des taux de mortalité de 25%, 50%, 75% et 100% des larves de <i>T. pityocampa</i> sous l'effet des trois huiles essentielles par inhalation. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres indiquent la différence significative à une probabilité $p \leq 0.05$ | 28 |
| Figure 15 : Courbes de la probabilité de survie des larves de <i>T. pityocampa</i> exposés aux huiles essentielles de <i>L. latifolia</i> , <i>C. winterianus</i> et <i>P. halepensis</i> estimées à l'aide du test du log-rank de Kaplan-Meier..... | 29 |
| Figure 16 : Courbes de la probabilité de survie des larves de <i>T. pityocampa</i> exposés à l'effet des huiles essentielles de <i>L. latifolia</i> , <i>C. winterianus</i> et <i>P. halepensis</i> <i>in vivo</i> estimées à l'aide du test du log-rank de Kaplan-Meier..... | 30 |

| | |
|--|----|
| Figure 17 : Évolution du nombre d'individus ayant formé des cocons en fonction des huiles essentielles de <i>L. latifolia</i> , <i>C. winterianus</i> et <i>P. halpensis</i> . Les résultats représentent la moyenne± erreur standard. Les lettres a et b indiquent la différence significative à une probabilité de $p \leq 0.05$ | 31 |
| Figure 18 : Variation des taux de protéines chez les larves <i>T. pityocampa</i> en fonction des différents traitements. Les résultats représentent la moyenne± erreur standard. Les lettres indiquent une différence significative à $P \leq 0.05$ | 32 |
| Figure 19 : Variation des taux de glucides chez les larves <i>T. pityocampa</i> en fonction des différents traitements. Les résultats représentent la moyenne± erreur standard. Les lettres indiquent la différence significative à $P \leq 0.05$ | 33 |
| Figure 20 : Variation des taux de lipides chez les larves <i>T. pityocampa</i> en fonction des différents traitements. Les résultats représentent la moyenne± erreur standard. Les lettres indiquent la différence significative à $P \leq 0.05$ | 34 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau I : Diamètres des zones d'inhibition (mm) d' <i>E. coli</i> , et de <i>P. aeruginosa</i> sous l'action de différentes concentrations d'huiles essentielles testées, du DMSO et de gentamicine | 20 |
| Tableau II : Résultats des diamètres de croissance (cm) de <i>Fusarium oxysporum</i> en présence de différentes concentrations d'huiles essentielles..... | 21 |
| Tableau III : Indice antifongique des différentes concentrations des huiles essentielles testées vis-vis le <i>Fusarium oxysporum</i> | 22 |
| Tableau IV : Variation des taux de mortalité chez les larves de <i>T. pityocampa</i> exposés aux différentes doses d'huiles essentielles étudiées par ingestion. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$) | 25 |
| Tableau V : Résultats de la DL ₅₀ et DL ₉₀ des huiles essentielles de <i>L. latifolia</i> , <i>C. winterianus</i> et <i>P. halpensis</i> par ingestion sur les larves de <i>T. pityocampa</i> après 24h, 48h et 72h de contact. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard | 26 |

Introduction

I. Introduction

Depuis les temps les plus anciens, le règne végétal a fourni des extraits et des composés rares et puissants qui ont longtemps été prisés par l'homme pour leur valeur médicinale, spirituelle et aromatique. Les plantes aromatiques ont été utilisées traditionnellement dans les cérémonies religieuses, les soins de beauté, la préparation et la conservation des aliments, l'encens et le parfum. Récemment, les scientifiques du monde entier ont réorienté leur attention vers la phytothérapie comme forme de thérapie complémentaire et alternative. On estime jusqu'à quatre milliards de personnes (représentant 80 % de la population mondiale) qui dépendent principalement des plantes médicinales comme principale source de médicaments (**Ekor, 2014**).

L'Algérie est reconnue pour sa richesse taxonomique vu sa localisation biogéographique privilégiée et son étendu entre la Méditerranée et l'Afrique sub-saharienne. Un grand nombre de plantes aromatiques y pousse spontanément. L'exploitation et la valorisation de ces ressources végétales naturelles reposent principalement sur l'extraction de leurs huiles essentielles, qui sont connues pour être des produits à haute valeur ajoutée, et sont utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques ou encore agro-alimentaires (**Messai et Belkacemi, 2011**).

Les huiles essentielles, également appelées « huiles volatiles », sont des mélanges complexes de composés volatils qui sont produits par les plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires. Elles sont responsables des propriétés de la plante aromatique, et pour cette raison, elles se caractérisent par leurs fortes odeurs. En général, les huiles essentielles sont liquides, volatiles et solubles dans les lipides et les solvants organiques, Elles peuvent être présents dans tous les organes de la plante (**Valdivieso-Ugarte et al., 2019**).

Elles sont généralement obtenues par hydrodistillation, distillation à la vapeur, distillation sèche ou pressage mécanique à froid des plantes. A l'échelle du laboratoire, la méthode classique est basée sur l'utilisation de l'appareil de distillation à la vapeur de type Clevenger. Bien qu'elles contiennent deux ou trois composants majeurs à un taux de 20 à 70 %, les huiles essentielles sont des mélanges très complexes composés principalement de terpènes, de terpénoïdes et de phénylpropanoïdes, et peuvent également contenir de nombreux autres composés, tels que des oxydes et des dérivés soufrés (**Wińska et al., 2019**).

Introduction

La combinaison de tous ces composants bioactifs a donné aux huiles essentielles leurs multiples propriétés et activités biologiques. Dans la nature, les huiles essentielles jouent un rôle écologique important pour les plantes, y compris la communication végétale intra- et inter-espèces, l'inhibition de la germination des graines, les activités répulsives et dissuasives contre les insectes et les prédateurs et l'attraction des pollinisateurs. D'autre part, les activités biologiques des huiles essentielles ont été démontrées à de nombreuses reprises, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. De plus en plus de recherches ont mis en évidence leurs effets bénéfiques sur la santé avec peu ou pas d'effets secondaires, et ils sont rentables et respectueux de l'environnement par rapport aux composés synthétiques non organiques (**D'Aquila et al., 2022**).

Les huiles essentielles représentent une source de molécules bioactives et font l'objet de nombreuses études pour leur utilisation en tant qu'additifs naturels et faire face au phénomène d'oxydation (**Ismaili et al., 2017**). Le pouvoir antioxydant de certaines huiles a été démontré comme substitut dans la conservation alimentaire ou approuvé comme additif alimentaire (**Angane et al., 2022**). Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables du pouvoir antioxydant (**Haddouchi et Benmansour, 2008**). Plusieurs huiles essentielles ont démontré une activité antimicrobienne contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, de plus, certaines huiles essentielles sont également actives contre d'autres micro-organismes, tels que les virus et les levures (**Sakkas et Papadopoulou, 2017**).

En dehors de leurs effets antioxydants et antimicrobiens, les huiles essentielles font l'objet d'autres études biologiques. Ces études ont montré leurs activités insecticides. La sensibilité de nombreux insectes et acariens aux huiles essentielles extraites de différentes familles de plantes a été documentée. Elles sont considérées comme des solutions plus écologiques et alternatives par rapport aux pesticides de synthèse qui présentent des risques environnementaux et sanitaires plus importants (**Raveau et al., 2020**).

Du fait de l'origine naturelle de ces métabolites secondaires, les huiles essentielles sont facilement dégradées par les mécanismes de dégradation naturelle (**Ebadollahi et al., 2020**). De plus, à quelques exceptions près, les huiles essentielles n'ont montré aucune toxicité pour les animaux homéothermes et elles sont généralement reconnues comme sûres par « Environmental Protection Agency and Food and Drug Administration » aux États-Unis. D'un autre part, la résistance que développent les insectes représente un défi majeur pour les insecticides chimiques. Les huiles essentielles peuvent être une excellente alternative (**Baghouz et al., 2022**).

Introduction

Le présent travail s'intéresse essentiellement à l'étude des propriétés insecticides, antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles de cinq plantes médicinales, à savoir l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*), le cyprès (*Cupressus sempervirens*), la grande lavande (*Lavandula latifolia*), la citronnelle (*Cymbopogon winterianus*) et le pin d'Alep (*Pinus halpensis*).

Les objectifs de la présente étude sont ;

- Evaluation des propriétés antioxydantes *in vitro* à travers le test de piégeage du radical DPPH.
- Evaluation de l'activité antimicrobienne vis-à-vis de deux souches bactériennes (*Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*) et une souche fongique (*Fusarium oxysporum*).
- Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles sur le stade larvaire L4 de la chenille processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa Schiff*).

Ce document est organisé comme suit :

Premièrement, une introduction générale qui présente un aperçu sur les plantes médicinales, les huiles essentielles et leurs activités biologiques, et se termine par la présentation des objectifs de l'étude.

Ensuite, une présentation des matériels utilisés à savoir le matériel végétal, animal et les micro-organismes, puis les méthodes et les différents protocoles réalisés. Suivi des différents résultats obtenus à partir de l'évaluation des activités biologiques concernées et la discussion de chacun de ces résultats.

Enfin, une conclusion qui représente un résumé du travail effectué et des principaux résultats obtenus, avec quelques suggestions et perspectives pour compléter et développer ce travail.

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel biologique

II.1.1. Matériel végétale

Cinq échantillons d'huiles essentielles ont été utilisés dans cette étude : *Artemisia herba-alba*, *Lavandula latifolia*, *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis*, et *Cymbopogon winterianus* Jowitt. Les échantillons d'huiles essentielles ont été procurés durant la période du mois de Mars 2022 par l'entreprise AROMABIOIL sise au village Bouarousse, El Hammadia, wilaya de Bordj Bou Arreridj.

II.1.1.1. Description des plantes et de leurs huiles essentielles

➤ *Artemisia herba-alba*

Artemisia herba-alba, "Chih" en arabe, est une espèce de la famille des Asteraceae qui peut pousser généralement dans des climats arides et semi-arides dans les déserts d'Espagne, d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient, s'étendant jusqu'au nord-ouest de l'Himalaya. Il s'agit d'un arbuste nain vivace, de couleur vert argenté, qui mesure de 20 à 50 cm de long et dont les feuilles sont petites et velues. Cette plante est largement utilisée en médecine traditionnelle contre plusieurs pathologies, notamment le diabète, le rhume, la toux, les troubles intestinaux, et dans le traitement des blessures humaines et animales (El Ouahdani et al., 2021 ; Mohammed et al., 2021).

L'huile essentielle de cette plante est bien étudiée pour ses activités antimicrobiennes, antioxydantes, insecticides et antispasmodiques (Amor et al., 2019). Les propriétés médicinales et les activités biologiques de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* sont dues à ses composants chimiques actifs, qui sont principalement des monoterpènes oxygénés tels que les α - et β -thuyones, le camphre, le bornéol, 1,8-cinéole et la chrysanthénone. On trouve également dans une moindre proportion des hydrocarbures sesquiterpéniques tels que l' α -Pinène, le Camphène et le Germacrène D (Younsi et al., 2016).



Figure 1. La plante et l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*.

➤ *Lavandula latifolia*

La lavande (*Lavandula latifolia*, lavande aspic) appartient à la famille des Lamiacées. C'est l'espèce la plus importante et répandue dans les régions méditerranéennes, l'Iran, les îles Canaries, l'Australie et est actuellement cultivée dans différentes régions du monde (**Alatrache et al., 2007**). Il s'agit d'un sous-arbrisseau de 35-80 cm, tomenteux-blanchâtre, à tige ligneuse très courte et branches divisées en ramuscules étalés, feuilles blanc-tomenteux, et des fleurs violettes, difficiles à arracher, avec une forte odeur de camphre, bractées linéaires, verdâtres, accompagnées de petites persistantes bractéoles (**Préservons la nature, 2022**). Plusieurs effets bénéfiques ont été associés à la lavande aspic, elle est utilisée dans diverses préparations pharmaceutiques, notamment pour ses effets sédatifs (**Rodrigues et al., 2012**).

L'huile essentielle de lavande aspic est dotée de diverses activités biologiques telles que l'activité antifongique, antibactérienne, antidépressive et s'est révélée très efficace contre les piqûres d'insectes. Ces activités biologiques sont basées sur la composition chimique de l'huile essentielle qui contient comme composants principaux le gamma-terpinene, camphor, 1,8-cineole, lavandulol, terpinen-4-ol, et le linalool. On trouve également dans une moindre proportion le b-elemene, b-pinene, 1,4-cineole, camphene, et a-terpineol (**Al-Ansari et al., 2021**).



Figure 2. La plante et l'huile essentielle de *Lavandula latifolia*.

➤ *Cupressus sempervirens*

Il s'agit d'une espèce d'arbre ornemental à feuilles persistantes, connue commercialement sous le nom de cyprès, de la famille des Cupressaceae. Il pousse dans différents endroits du monde, comme l'Amérique du Nord, la région méditerranéenne et l'Asie subtropicale à haute altitude.

C'est un arbre conique à feuilles persistantes de taille moyenne, de 35 m de hauteur, avec une couronne conique de branches et des ramifications plus ou moins lâches. Ses feuilles sont de couleur vert foncé. Les graines des cônes sont ovoïdes ou oblongues. Les espèces de *C. sempervirens* L. sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des rhumes, de la grippe, des maux de gorge et de l'arthrite. Le fruit de cette espèce est connu pour sa capacité à soigner le diabète et être un antiseptique (Patgar *et al.*, 2021 ; Argui *et al.*, 2021).

Les huiles essentielles obtenues à partir de *C. sempervirens* ont été signalées comme ayant des activités antiseptiques, astringentes, antispasmodiques, déodorantes, balsamiques, sédatives, vasoconstrictives, anti-inflammatoires, antioxydantes, antimicrobiennes et antivirales (Anka *et al.*, 2020).

L'activité biologique de cette huile essentielle dépend de sa composition chimique riche en substances biologiquement actives, qui sont principalement représentées par l' α -pinène et le δ -3-carène, ainsi que d'autres composants en proportion plus faible comme le β -caryophyllène, le D-germacrène, le D-limonène et le Citronellal (Akermi *et al.*, 2022).



Figure 3. La plante et l'huile essentielle de *Cupressus sempervirens*.

➤ *Pinus halepensis*

Le Pin d'Alep "*Pinus halepensis* Mill.", en arabe Sanawbar el halabi, est l'essence caractéristique de l'étage bioclimatique méditerranéen semi- aride de la famille des Pinacées. *P. halepensis*, occupe la zone la plus méridionale des pins méditerranéens et il est très répandu dans la partie occidentale du bassin méditerranéen, y compris en Afrique du Nord, au sud de la France, Italie, Espagne, Grèce et Malte.

Il est également présent dans les zones côtières de la Croatie et de l'Albanie. Le pin d'Alep est un arbre toujours vert, vivace, de taille pouvant atteindre une hauteur totale de 25 à 27 m, sa longévité ne dépasse pas 150 ans. Au tronc tortueux, à écorce épaisse et crevassée tournant au rouge-brun avec l'âge. Aiguilles très fines et souples de couleur vert jaunâtre. Les fruits sont des cônes verticillés (**Jaouadi *et al.*, 2019 ; Ghougali, 2011**).

Les pins sont largement utilisés en médecine traditionnelle pour traiter les rhumatismes ou comme antiseptique pour accélérer la cicatrisation des plaies, la décoction est utilisée contre les rhumes, le traitement de la diarrhée et les ulcères gastro-duodénaux.

Par ailleurs, il a été rapporté que les huiles essentielles ont des propriétés analgésiques, antibactériennes, antifongiques, antioxydantes, antiinflammatoires et anticancéreuses (**Gdoura *et al.*, 2015**). Ces activités biologiques sont sans doute associées à la richesse de l'huile en composants chimiques biologiquement actives tels que: l' α -pinène, myrcène et le β -caryophyllène essentiellement et le β - pinène, Myrcène, α -humulène, butanoate... (**Ramdani *et al.*, 2020**).



Figure 4. La plante et l'huile essentielle de *Pinus halepensis*.

➤ *Cymbopogon winterianus* Jowitt

La citronnelle de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor.) est une graminée aromatique appartenant à la famille des Poacées à large aire de répartition, elle est principalement cultivée dans les régions tropicales et subtropicales d'Amérique, d'Asie et d'Afrique. *C. winterianus* est une graminée robuste, aromatique, à feuilles persistantes, formant des touffes avec de nombreux chaumes dressés pouvant atteindre 2,5 m de hauteur et 1,5 cm de largeur (Pereira *et al.*, 2022 ; Sedikelo *et al.*, 2022).

Une récente étude a démontré que cette espèce a une forte activité larvicide et fongicide. En Indonésie, cette espèce a été utilisée à de nombreuses fins, comme le traitement de diverses maladies, l'éloignement des moustiques et comme agent aromatisant (Andila *et al.*, 2018).

L'huile de citronnelle, est l'une des huiles essentielles industriellement importantes, utilisées comme source dans la parfumerie, le savon, les cosmétiques, les détergents, les pols industriels, et est connue pour son action répulsive contre les insectes et les moustiques. Des études ont montré que l'huile possède un mélange de composés bioactifs tels que des monoterpènes (dont les principaux composants sont des aldéhydes et des alcools) et les composés prédominants sont l'acétate de citronellol, l'acétate de géranyle, l'élémol, le bornéol et le néral (Kakaraparthi *et al.*, 2014).



Figure 5. La plante et l'huile essentielle de *Cymbopogon winterianus*.

II.1.2. Matériel animal

L'étude de l'effet insecticide des huiles essentielles a portée sur la chenille processionnaire (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff) au quatrième stade larvaire (L4). A ce stade, elle forme des nids volumineux sur les arbres de pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.). Ces chenilles ont été prélevées à partir des arbres de pin d'Alep localisés dans la forêt d'El Achir Bordj Bou Arreridj (36° 04' 00" Nord, 4° 38' 00" Est). Les échantillons sont ensuite transportés au laboratoire dans leur forme naturelle, hébergés dans des boîtes en plastiques, et conservés dans les conditions ambiantes de température et d'humidité (25±3°C/ 75%HR).



Figure 6. Un nid d'hiver de la chenille processionnaire (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff) sur un arbre de Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill).

II.1.3. Microorganismes

L'espèce fongique pathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Foc) utilisée dans ce travail a été isolée à partir des tiges de pois chiche malades présentant des symptômes de jaunissement vasculaire, originaires de la région de Mascaraissue de la collection établie par Moutassem (2020).

Quant aux souches bactériennes utilisées dans cette étude (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*), elles ont été fournies par le Laboratoire de microbiologie (UBBA).

II.2. Les tests biologiques

II.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité anti-radicalaire des différentes huiles a été déterminée en utilisant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) comme radical libre relativement stable selon le protocole décrit par **Burits et Bucar, (2000)** avec quelques modifications. Le DPPH est dissout dans 100 ml de méthanol pour préparer une solution mère qui ensuite diluée pour obtenir une absorbance de $(0,98 \pm 0,02)$ à 517 nm. Un volume de 200 μ l de chaque huile à différentes concentrations ou standards est ajouté à 2,5ml DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant 2.5ml de la solution de DPPH et 200 μ l de méthanol est mesurée à 517 nm. Un blanc pour chaque huile est préparé en mélangeant 1,25 ml de méthanol avec 50 μ l de solution d'extrait. Toutes les opérations sont réalisées en triplicata. L'activité anti-radicalaire est calculée selon l'équation suivante:

$$\text{Le pourcentage d'activité anti-radicalaire\%} = \frac{[(\text{Abs}_{517} \text{ contrôle} - \text{Abs}_{517} \text{ échantillon}) / \text{Abs}_{517} \text{ contrôle}] \times 100\%}{}$$

II.2.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

II.2.2.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque. Cette méthode repose sur le dépôt d'un disque stérile, préalablement imbibé d'huile essentielle, sur un tapis bactérien au début de la croissance et la mesure de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne (**Jaber et al., 2021**). Cette technique consiste à préparer des suspensions bactériennes avec une densité équivalente à 0,5 standards McFarland (10^8 UFC/mL) à partir des cultures bactériennes jeunes, ensemencées aseptiquement et de manière homogène sur la surface des boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller Hinton. Après 5 minutes d'imprégnation, on dépose 5 disques de papier filtre (Whatman) stériles de 6 mm de diamètre à la surface de la gélose nutritive. Ces disques ont été imbibés au préalable par 10 μ l de chaque huile pure et de différentes concentrations en huiles solubilisées dans le DMSO (900, 600, 500, 300, 100 μ l/ml). Un disque contenant 10 μ L de la DMSO et un disque de gentamicine ont été utilisés comme témoins négatifs et positifs. Par la suite, les boîtes de Pétri traitées ont été scellées avec le parafilm et incubées à 37°C. Le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré en millimètres, y compris la surface du disque après 24h d'incubation. Trois répétitions ont été retenues et les expériences ont été reproduites trois fois successives.

II.2.2.2. Activité antifongique

L'activité antifongique des huiles essentielles a été évaluée par la méthode d'incorporation dans un milieu PDA solide selon la technique de **Solyou *et al.* (2006)**. Pour la préparation des différentes concentrations en huile essentielle à tester, des volumes d'huile essentielle (0.15, 0.3, 0.6, 0.9 et 1.2 ml) ont été mélangés avec 1.8 ml de tween à 3% pour obtenir des dilutions, puis versés dans des flacons contenant un milieu PDA maintenu en surfusion dans un bain marie à une température de 55°C. Après une bonne agitation, les milieux PDA traités par les huiles sont versés dans des boîtes de pétri (9 cm) à la base de 20 ml par boîte. Un disque mycélien issu d'une culture jeune âgée de 8 jours découpé à l'aide d'un emporte-pièce de 6 mm de diamètre est disposé au centre de la boîte. Les boîtes de Pétri sont scellées avec du parafilm et incubées à 25±3°C pendant 8 jours.

Le témoin consiste en un disque mycélien disposé dans des boîtes de pétri contenant un milieu PDA traité avec le même volume d'eau distillée et de Tween 80 (3%). La croissance mycélienne radiale du *Foc* a été déterminée par la mesure de deux diamètres perpendiculaires de chaque colonie pendant 8 jours après l'inoculation.

Quatre répétitions ont été effectuées pour chaque concentration et les expériences ont été menées deux fois. La croissance radiale est exprimée en pourcentage d'inhibition en utilisant la formule suivante :

$$ZI(\%) = 100 \times (DC-DE) / DC$$

I(%) = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage, **DC** = Diamètre des colonies dans les boîtes (témoins positifs), **DE** = Diamètre des colonies dans les boîtes contenant l'huile essentielle.

II.2.3. Evaluation de l'activité insecticide

II.2.3.1. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par ingestion

La toxicité par ingestion a été effectuée selon le protocole décrit par **Slimane *et al.* (2014)** avec des modifications mineures. La formulation des huiles essentielles a été effectuée par l'acétone, et six concentrations ont été utilisées à savoir 25, 30, 35, 40, 45 et 50 µL/mL. Des boîtes en plastique transparent ont été préparées, contenant chacune des feuilles de pin d'Alep. Les feuilles ont été ensuite pulvérisées par les différentes concentrations d'huiles essentielles, laissées à l'air libre pendant deux minutes afin d'évaporer le solvant utilisée (Figure 7.a).

Matériel et méthodes

Dix chenilles aux stades larvaires L4, ont été placées dans les boîtes contenant les feuilles traitées (Figure 7.b). Ces boîtes ont été bien fermées avec leurs couvercles pour éviter l'évaporation de l'huile essentielle. Le témoin est représenté par la pulvérisation des feuilles avec un mélange d'acétone et de l'eau distille. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque formulation et chaque dose. L'ensemble des boîtes contenant les chenilles traitées ont été placées dans les conditions ambiantes de température moyenne de 28°C, avec une alternance lumière /obscurité 12h/12h.

La lecture des résultats a été effectuée après 24h, 48h et 72h de traitement, dont le nombre des larves mortes a été déterminé et comparé avec le témoin non traité. Les résultats obtenus concernant la sensibilité larvaire envers ces traitements ont été exprimés en pourcentage de mortalité en fonction des concentrations d'huile essentielle utilisée.



Figure 7. Modalités de traitement de la chenille processionnaire par les huiles essentielles par ingestion. a : des feuilles de pin d'Alep pulvérisées avec les différentes concentrations d'huiles. b : l'ajout de dix chenilles dans chaque boîte.

II.2.3.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par inhalation

Elle consiste à étudier la toxicité des huiles essentielles par inhalation en utilisant l'huile essentielle brute. Ce test a été réalisé selon le protocole décrit par **Moutassem *et al.* (2021)**. Un volume de 2 ml de chaque huile essentielle brute a été placé dans des tubes à essai en verre gradués. Ces tubes ont été enfermés avec des bouchons contenant des pores fins qui permettent une évaporation lente et continue des huiles. Chacun de ces tubes est fixé au bord de boîtes en plastique avec des couvercles étanches pour empêcher l'évaporation de l'huile essentielle (Figure 8).

Pour le témoin, l'huile essentielle a été remplacée par l'acétone. Vingt chenilles, au stade larvaire L4, ont été placées dans des boîtes bien fermées. Trois répétitions sont réalisées pour chaque traitement.



Figure 8. Modalités de traitement de la chenille processionnaire par les huiles essentielles par inhalation.

L'ensemble des boîtes contenant les chenilles ont été placées dans des conditions de température du laboratoire (28°C), avec une alternance lumière /obscurité 12h/12h. Les volumes évaporés des huiles essentielles ont été enregistrés après la mort de 25, 50, 75 et 100 % des larves. D'autre part, le nombre des larves mort dans chaque boîte a été évalué quotidiennement pendant 15j d'exposition.

II.2.3.3. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles *in vivo*

Elle consiste à étudier la toxicité des trois huiles essentielles dans leur état brut sur les chenilles dans des conditions aussi proches que possible de leur habitat naturel selon le protocole décrit par **Moutassem *et al.* (2021)**. Un volume de 2 ml de chaque huile à l'état brut ont été soigneusement pulvérisés sur les nids hivernants un nombre important de chenilles. Les nids ont été placés dans des boîtes, recouvertes de toile perforée. Les témoins sont représentés par des nids pulvérisés avec de l'acétone. La lecture des résultats a été effectuée pendant 15 jours, les nids ont été ouverts quotidiennement et le nombre des larves mortes a été enregistré.

II.2.4. Effet des huiles essentielles sur le profil métabolique des chenilles traitées

A la fin de chaque test, les larves testées vivantes et mortes ont été placées dans un congélateur à 4°C pour l'évaluation de la teneur totale en protéines, lipides et glucides. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque analyse.

II.2.4.1. Préparation des homogénats des insectes

La préparation des homogénats des insectes a été réalisée selon le protocole décrit précédemment par **Božek *et al.* (2017)** avec quelques modifications. Les homogénats ont été

Matériel et méthodes

préparés en mélangeant 0,1 gramme d'insecte dans 10 ml de tampon phosphate 0,1 M glacé pH 7,4 en utilisant un mortier et un pilon à froid. L'homogénat a été centrifugé à 6 000 tr/min pendant 15 min à l'aide d'une centrifugeuse. Le surnageant a été collecté et utilisé comme source tissulaire pour les différentes caractérisations biochimiques (Figure 9).

II.2.4.2. Dosage des protéines

Pour l'extraction et la quantification des réserves de protéine des insectes traités avec les huiles essentielles, la technique de **Bradford (1976)** a été utilisée. Une quantité de 0.05 g de bleu de Coomassie a été dissoute dans 25 ml d'éthanol (95 %), et 50 ml de l'acide phosphorique à 85 % (p/v). La solution résultante a été diluée à un volume final de 500 ml. Une filtration a été effectuée deux à trois fois à l'aide d'un papier filtre Whatmann N°1 juste avant son utilisation. Un volume de 0,1 ml de chaque homogénat a été transférée dans un tube à essai de 12 × 100 mm, ensuite, 2.5 ml de réactif de Bradford ont été ajoutés au tube à essai et le contenu a été mélangé par vortex. La concentration en protéines a été déterminée par spectrophotométrie à 595 nm (Figure 9). Les concentrations de protéines de chaque échantillon ont été déterminées par rapport à une courbe standard construite en utilisant 80, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800, 900 et 1 000 µg d'immunoglobuline G bovine (IgG) dissous dans l'eau distillée.

II.2.4.3. Dosage des glucides

Pour l'extraction et la quantification des glucides totaux, la méthode, utilisant la solution d'anthrone, décrite précédemment par **Van Handel (1985a)** a été utilisée. La solution d'anthrone a été préparée par dissolution de 750 mg d'anthrone dans 150 ml d'eau distillée et 380 ml d'acide sulfurique H₂SO₄ concentré. Un volume de 0,1 ml de chaque homogénat a été transférée dans un nouveau tube de 12 × 75 mm, puis amendés par 2 ml de réactif anthrone, suivis d'une incubation dans un bain-marie à 95°C pendant 17 min. Les tubes sont ensuite placés dans un bain de glace pendant 10 min et la densité optique a été mesurée à 625 nm (Figure 9). Pour les glucides, une courbe d'étalonnage a été générée à l'aide d'une solution d'étalon de glucose (1 g/L). Le blanc était une solution de glucose à 0,5 mg/ml (5 mg de glucose dans 10 ml d'eau distillée). Une série de dilutions a été effectuée pour obtenir les concentrations de glucose suivantes : 10, 20, 40, 60, 80, 100 et 200 µg/ml.

II.2.4.4. Dosage des lipides

L'effet des huiles essentielles sur les teneurs en lipides des insectes a été déterminé à l'aide des méthodes décrites par **Van Handel (1985b)** et **Plaistow et al. (2003)**. La préparation de la solution de la Vanilline-acide phosphorique : 600 mg de vanilline ont été dissous dans 100 ml d'eau chaude et 400 ml de 85 % d'acide phosphorique bien agité et conservé à l'obscurité. La

Matériel et méthodes

solution d'attaque composée de mélange Chloroforme/Méthanol (1/2) a été préparée en mélangeant 10mL de chloroforme avec 20 ml de méthanol. Un volume de 0,1 ml de chaque homogénat a été transféré dans un nouveau tube de 12 × 75 mm, suivi par l'addition de 400 µl de la solution chloroforme/méthanol. Les tubes sont ensuite placés au bain-marie à l'intérieur d'une hotte à 95°C pour permettre au solvant restant de s'évaporer. 200 µL d'acide sulfurique concentré (95 %) ont été ajoutés et le solvant a été laissé s'évaporer à 90 °C pendant environ 10 min. L'échantillon a été retiré du bain marie, laissé refroidir, et 5 ml de réactif vanilline ont été ajoutés. Les échantillons ont été vortexés puis exposés à l'air libre pendant 5 minutes pour permettre à la coloration de se développer. La densité optique de chaque échantillon a été mesurée après 25 minutes à 525 nm (Figure 9). La concentration en lipides pour chaque échantillon a été déterminée par rapport à une courbe standard construite en utilisant 25, 50, 100, 200, 400, 800 et 1200 µg d'huile végétale commerciale.

Matériel et méthodes

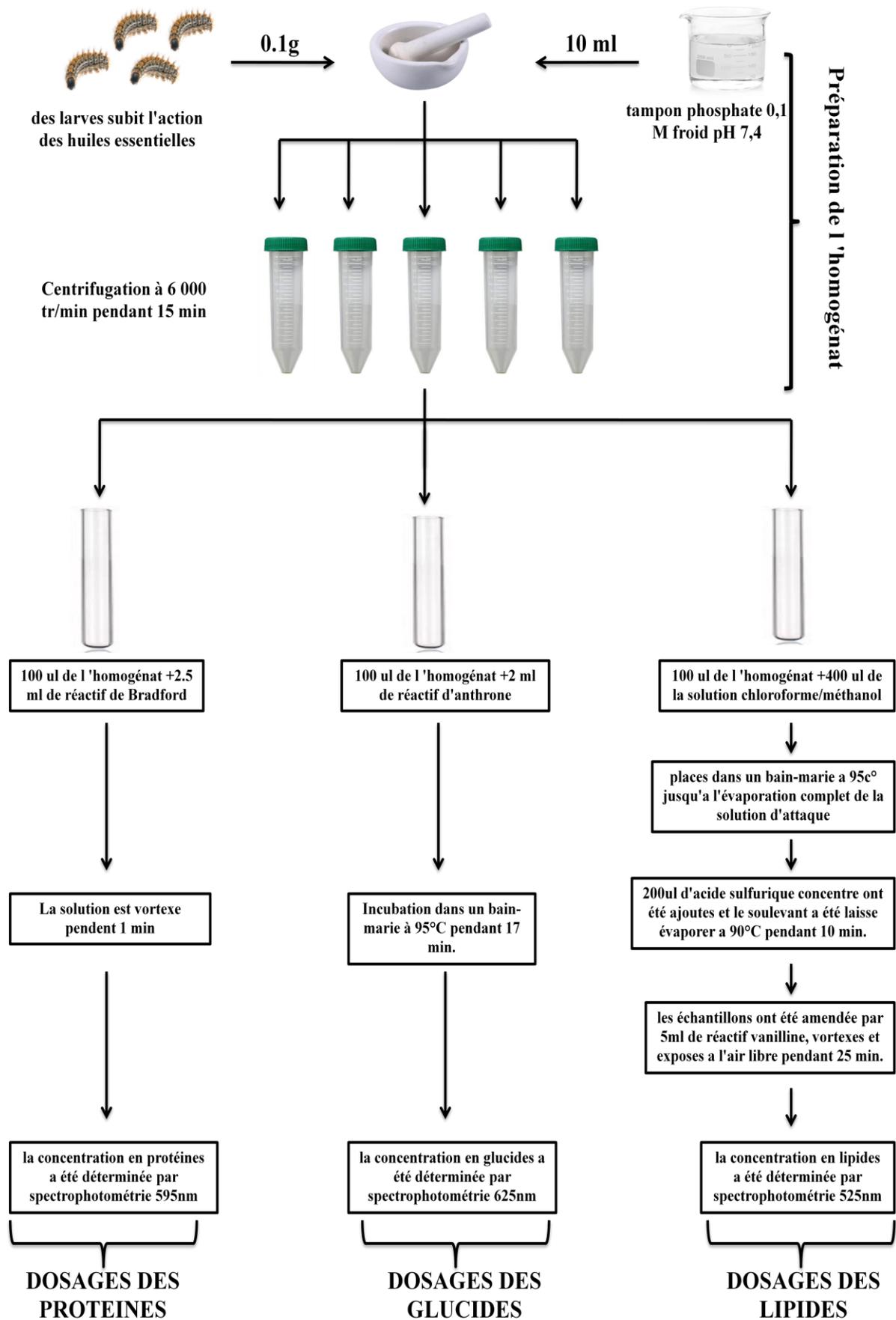


Figure 9. Schéma récapitulatif des étapes du dosage des protéines, des glucides et des lipides.

II.3. Expression des résultats

II.3.1. Calcul de la mortalité corrigée

Les taux de mortalités (TM) ont été exprimés selon la formule **d'Abbott (1925)** en mortalités corrigées (MC%) tenant compte des mortalités naturelles observées dans les boîtes témoins (Mt) selon la formule suivante :

$$MC\% = ((M - Mt) * 100) / (100 - Mt)$$

Mc: la mortalité corrigée.

M: pourcentage de morts dans la population traitée.

Mt : pourcentage de morts dans la population témoin.

II.3.2. Détermination de la DL₅₀

L'efficacité d'un toxique se mesure par sa DL₅₀ qui représente la dose conduisant à la mort de 50% des individus d'un même lot. La méthode de **Finney (2009)** et **Ndomo (1971)** basée sur la régression des probités des mortalités en fonction des logarithmes des doses d'huile essentielle a permis de déterminer la DL₅₀.

II.3.3. Analyse statistiques

Les expériences ont été analysées en utilisant une analyse standard de la variance (ANOVA) effectuée par le logiciel STATITICA 8. Pour tous les tests, le niveau de la signification a été évalué au seuil 5%. Le cas échéant, la comparaison des moyennes est faite par le test de Tukey afin de distinguer des groupes selon les valeurs des moyennes des variables testées.

Le modèle Général linéaire (G.L.M) a été utilisé pour analyser les valeurs de la mortalité corrigées (MC%) et la quantification des biomarqueurs énergétiques. Le MC% a été soumis à une analyse de probité pour obtenir des valeurs de DL₅₀ avec leurs limites de confiance. Les données corrigées de la mortalité et des biomarqueurs énergétiques des insectes pour les tests de contact et de fumigation ont été soumises séparément à une analyse factorielle de la variance (ANOVA). La comparaison des moyennes a été effectuée à l'aide du test post hoc de Tukey au niveau de probabilité de 5 %.

Les données des essais biologiques temps-mortalité (survie) ont été soumises à une analyse de survie non paramétrique à l'aide d'estimateurs de Kaplan-Meier pour obtenir les courbes de survie et les estimations du temps de survie médiane (LT₅₀). Toutes les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel statistique R Studio 1.2.5019-R version 3.6.1.

Résultats et Discussion

III. Résultats

III.1. Résultats de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des différentes huiles essentielles a été évaluée en utilisant le test de piégeage du radical DPPH. La capacité des composés testés (huiles essentielles et leurs principaux composants) à transférer des atomes d'hydrogène ou des électrons est responsable de la réduction du DPPH (couleur violette) en un produit de couleur jaune (la diphénylpicryl hydrazine) (Jahani *et al.*, 2019).

A partir des résultats obtenus, nous avons calculé graphiquement les valeurs des concentrations inhibitrices (IC_{50}) en utilisant les courbes linéaires des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huiles essentielles (Annexe 1, 2, 3, 4, 5). Les valeurs représentées dans la figure 10, montrent que l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* exerce la plus forte activité antioxydante reflétée par une IC_{50} de 28,78 mg/ml, suivi de l'huile essentielle de *C. semperviens* et de *P. halpensis* avec des valeurs d' IC_{50} de 41,15 mg/ml, et 45,14 mg/ml, respectivement. L'huile essentielle de *L. latifolia* a montré la plus faible activité anti-radicalaire ($IC_{50} = 152,8$ mg/ml). La capacité antioxydante des huiles essentielles étudiées reste inférieure par rapport à l'antioxydant synthétique de référence, la vitamine C ($IC_{50} = 0,57$ mg/ml).

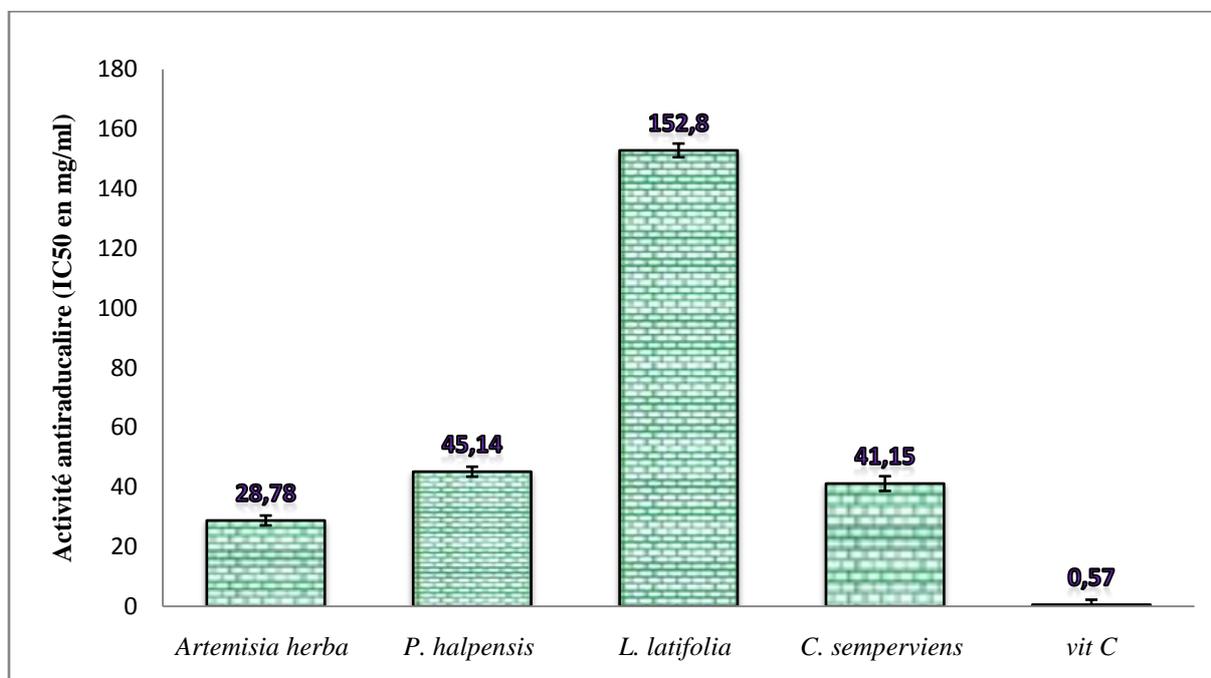


Figure 10. Histogrammes montrant les valeurs des IC_{50} des différentes huiles essentielles.

L'activité antioxydante d'un composé reflète sa capacité à surmonter l'oxydation induite par les radicaux libres. De nombreuses études ont démontré les propriétés antioxydantes des huiles essentielles, qui dépendent principalement de leur composition. Les huiles essentielles étudiées ont montré des capacités antioxydantes avec des différences d'efficacité d'une huile à l'autre, et cela est certainement dû aux différences inhérentes dans la composition chimique de chaque huile. Il semble que la tendance générale soit que les huiles essentielles qui contiennent des monoterpènes et/ou sesquiterpènes oxygénés ont des propriétés antioxydantes plus importantes (**Zouari et al., 2010 ; Younsi et al., 2016**).

Jahani et al. (2019) ont suggéré que l'activité antioxydante des huiles essentielles de cyprès est due à la présence de monoterpènes oxygénés en plus de la présence de δ -3-carène ainsi que d' α -terpinolène.

D'autre part, Il est bien établi que les composés phénoliques présentent généralement des propriétés antioxydantes substantielles (**Dhifi et al, 2016**). **Bouyahya et al. (2019)** ont attribué les propriétés antioxydantes des huiles essentielles de *P. halpensis* aux composés phénoliques présents dans cette huile, et qui sont capables de neutraliser les radicaux libres via divers mécanismes. **Wells et al. (2018)** ont ajouté que l'activité antioxydante de l'huile de *L. latifolia* est due à l'acide rosmarinique et à l'apigénine.

III.2. Résultats de l'activité antimicrobienne

III.2.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des cinq huiles essentielles a été évaluée selon la technique de diffusion sur milieu solide, par la mesure du diamètre des zones d'inhibitions autour des disques à l'égard de deux germes pathogènes soit : *E. coli*, *P. aeruginosa*, après 24 heures d'incubation à une température de 37 °C.

La sensibilité de la souche à l'action des huiles essentielles est déterminée comme suit :

- $D < 8\text{mm}$: Souche résistante (-).
- $8\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$: Souche sensible (+).
- $15\text{mm} \leq D \leq 19\text{mm}$: Souche très sensible (++).
- $D > 20\text{ mm}$: Souche extrêmement sensible (+++).

Les résultats des zones d'inhibition des différentes huiles essentielles testées sont donnés dans le tableau I et dans l'annexe 6.

Résultats et Discussion

Tableau I. Diamètres des zones d'inhibition (mm) d'*E. coli*, et de *P. aeruginosa* sous l'action de différentes concentrations d'huiles essentielles testées, du DMSO et de gentamicine.

| Huiles essentielles | Bactéries | Gentamicine | DMSO | 10% | 30% | 50% | 90% | 100% |
|--------------------------------------|----------------------|------------------|------|-------------------------------|---------------|-----------------|-----------------|------------------|
| <i>Artemisia herba-alba</i> | <i>P. aeruginosa</i> | 24,03±0,2 +++ | -- | -- | 9,09±0,2 + | 15,77±0,2 ++ | 18,87±0,1 ++ | 23,72±0,1 +++ |
| | <i>E. coli</i> | 25,37±0,1 +++ | -- | 7,06±0,2 - | 8,57±0,2 + | 09,35±0,1 + | 10,08±0,2 + | 11,92±0,2 + |
| <i>Lavandula latifolia</i> | <i>P. aeruginosa</i> | 24,03±0,2 +++ | -- | -- | -- | 7,06±0,1 | 9,01±0,3 | 9,95±0,2 + |
| | <i>E. coli</i> | 25,37±0,1 +++ | -- | 7,84±0,3 - | 9,79±0,7 + | 9,15±0,2 + | 15,95±0,1 ++ | 19,77±0,2 ++ |
| <i>Pinus halpensis</i> | <i>P. aeruginosa</i> | 24,03±0,2 +++ | -- | -- | 7,35±0,2 - | 8,19±0,4 + | 10,57±0,3 + | 12,3±0,4 + |
| | <i>E. coli</i> | 25,37±0,1 +++ | -- | -- | -- | 8,54±0,3 + | 9,45±0,3 + | 10,68±0,4 + |
| <i>Cupressus semperviens</i> | <i>P. aeruginosa</i> | 24,03±0,2 +++ | -- | -- | -- | -- | -- | 7,44±0,7 - |
| | <i>E. coli</i> | 25,37±0,1 +++ | -- | -- | -- | -- | -- | 8,34±0,9 + |
| <i>Cymbopogon winterianus jawitt</i> | <i>P. aeruginosa</i> | 24,03±0,2 +++ | -- | aucune croissance bactérienne | | | | |
| | <i>E. coli</i> | 25,37±0,1 +++ | -- | aucune croissance bactérienne | | | | |

(+++): Extrêmement sensible, (-): résistante, (- -): pas d'inhibition.

Chaque valeur dans le tableau est la moyenne de trois essais, unité de calcul en mm.

Résultats et Discussion

Les huiles essentielles testées ont montré une activité antibactérienne importante vis-à-vis de la croissance d'*E. coli* et de *P. aeruginosa*. La plus grande activité inhibitrice a été enregistrée avec les huiles essentielles brutes. Les deux bactéries étaient sensibles à l'action des huiles testées, néanmoins leur sensibilité à l'huile de *C. winterianus* était extrêmement importante puisqu'aucune croissance bactérienne n'a été observée. L'HE d'*A. herba alba* a montré également une forte activité, notamment contre *P. aeruginosa*, avec une zone d'inhibition de 23,72 mm. Alors que l'HE de *L. latifolia* était plus efficace sur *E. coli* avec une zone d'inhibition de 19,77 mm. En revanche, l'HE de *C. semperviens* a été la moins efficace par rapport aux autres huiles et a montré des zones d'inhibition très faibles.

III.2.2. Activité antifongique

L'activité antifongique des cinq huiles essentielles vis-à-vis de la souche fongique *F. oxysporum* a été réalisée par la méthode de contact direct. Après 7 jours d'incubation à 28 °C, les résultats obtenus montrent que les diamètres de croissance varient significativement en fonction des concentrations des huiles essentielles testées (Tableau II).

Tableau II. Résultats des diamètres de croissance (cm) de *Fusarium oxysporum* en présence de différentes concentrations d'huiles essentielles :

| concentration | 2% | 1,50% | 1% | 0,50% | 0,25% | témoin |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <i>C. semperviens</i> | 1,27±0,15 | 3,37±0,21 | 4,2±0,1 | 6,2±0,1 | 7,67±0,25 | 8,63±0,21 |
| <i>P. halpensis</i> | 2,97±0,12 | 3,63±0,31 | 4,2±0,1 | 4,3±0,1 | 4,43±0,15 | |
| <i>L. latifoliasur</i> | 0±0 | 1,13±0,25 | 1,77±0,06 | 2,37±0,15 | 2,97±0,32 | |
| <i>A. herba alba</i> | 0±0 | 0±0 | 0±0 | 0±0 | 0,43±0,15 | |
| <i>C. winterianus</i> | 0±0 | 0±0 | 0±0 | 0±0 | 0±0 | |

D'après ces résultats, il apparaît clairement que la croissance de *F. oxysporum* est influencée par la présence des différentes concentrations d'huiles essentielles testées, par rapport au témoin (en présence de tween), où la croissance fongique a atteint 8,63 cm. L'huile essentielle de *C. winterianus* inhibe complètement la croissance du champignon à toutes les concentrations utilisées. Ces résultats sont presque similaires à ceux obtenus avec l'huile essentielle d'*A. herba alba* où une croissance très réduite n'est observée qu'avec la plus faible concentration (0,25%), contrairement aux résultats obtenus avec *L. latifolia* où la croissance de *F. oxysporum* est observée pour toutes les concentrations utilisées sauf la plus élevée (2%). Une croissance remarquable est observée en présence des deux autres huiles (*C. semperviens* et *P. halpensis*) et ce avec toutes les concentrations.

Résultats et Discussion

Indice antifongique (IA)

L'indice antifongique est un moyen d'exprimer l'inhibition de la croissance microbienne en termes de pourcentage. D'après le tableau III, il apparaît que la croissance de *Fusarium oxysporum* est inhibée, partiellement ou totalement sous l'action des différentes concentrations des huiles essentielles testées.

L'huile essentielle est dite :

- très active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 75 et 100 % ; la souche est dite très sensible,
- active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 50 et 75 % ; la souche est dite sensible,
- moyennement active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 25 et 50% ; la souche est dite limitée,
- Peu ou pas active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 0 et 25% ; la souche est dite peu sensible ou résistante.

Tableau III. Indice antifongique des différentes concentrations des huiles essentielles testées vis-vis le *Fusarium oxysporum* :

| concentration | 2% | 1,50% | 1% | 0,50% | 0,25% |
|------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <i>C. semperviens</i> | 85,31±2,01 | 61,02±1,67 | 51,31±2,33 | 28,16±1,86 | 11,20±1,76 |
| <i>P. halpensis</i> | 65,60±2,18 | 57,86±4,25 | 51,34±1,45 | 50,17±1,85 | 48,65±1,44 |
| <i>L. latifoliasur</i> | 100±0 | 86,91±2,63 | 79,52±1,07 | 72,60±1,28 | 65,60±4,17 |
| <i>A. herba alba</i> | 100±0 | 100±0 | 100±0 | 100±0 | 94,97±4,38 |
| <i>C. winterianus</i> | 100±0 | 100±0 | 100±0 | 100±0 | 100±0 |

Les résultats du tableau III montrent que l'huile essentielle de *C. winterianus* est très active sur *F. oxysporum* pour toutes les concentrations utilisées. De même pour l'huile essentielle d'*A. herba alba* pour les concentrations de 2%, 1,5%, 1% et 0,5%, avec un pourcentage d'inhibition de 100%. Pour *L. latifolia*, cette valeur a été atteinte lorsque l'huile est à une concentration de 2%, puis diminue avec la diminution des concentrations. Ceci a été observé de la même manière pour les deux autres huiles avec des pourcentages d'inhibition allant de 65,60% à 48,65% et de 85,31% à 11,20% pour *P. halpensis* et *C. semperviens* respectivement.

La figure ci-après montre les résultats de l'effet des huiles essentielles testées sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* pour la plus faible concentration (0.25%). Les résultats de l'effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* pour les autres concentrations sont présentés dans l'annexe 7.

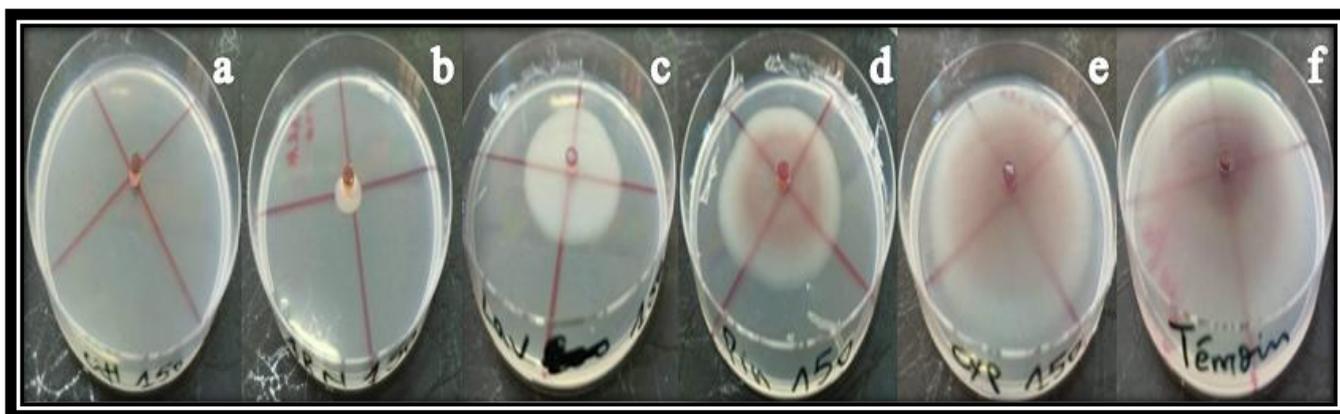


Figure 11. Effet des huiles essentielles de *C. winterianus* (a), *A. herbaalba* (b), *L. latifoliasur* (c), *P. halpensis* (d), et de *C. semperviens* (e) à une concentration de 0,25% sur la croissance de *Fusarium oxysporum* par rapport au témoin (f).

L'action des huiles essentielles en général et des huiles étudiées en particulier comme agents antimicrobiens a été démontrée dans de nombreuses études, cet effet est lié à l'action de leurs différents composés chimiques d'une part et à leur action synergique ou antagoniste d'autre part (**Boukhennoufa et al., 2021**).

Sreepian et al. (2022) ont suggéré que le mode d'action des huiles essentielles contre les bactéries pourrait être dû à la diffusion de l'huile, son accumulation dans la membrane cellulaire et l'augmentation de sa perméabilité, ce qui conduit à la lyse des cellules et à la fuite des composants intracellulaires. Cela entraîne une perturbation de divers processus vitaux tels que la conversion d'énergie, le traitement des nutriments, la synthèse de grandes molécules structurales et la sécrétion de régulateurs de croissance. D'autre part, **D'agostino et al. (2019)** ont mis en évidence trois effets principaux des huiles essentielles sur les champignons, un cytotoxique, un anti-biofilm, et le troisième sur les mycotoxines.

Nos résultats sont cohérents avec de nombreuses études antérieures qui ont démontré l'efficacité des huiles essentielles étudiées contre divers micro-organismes. Cette efficacité serait liée à leurs richesses en principes actifs tels que le citral, le citronellal et le géraniol pour *C. winterianus* (**Deviet et al., 2021 ; Timung et al., 2016**), le camphre, le 1, 8-cinéole et la thuyone pour *A. herba halba* (**Amor et al., 2019**), et le linalol pour *L. Latifolia* (**Riyad et Elkholany, 2020**). L' α -pinène, qui est l'un des principaux composés de l'huile essentielle de *P. halpensis* et de *C. sempervirens* est responsable de l'activité de ces deux huiles contre les microorganismes (**Ismail et al., 2017 ; Anka et al., 2020 ; Ramdani et al., 2020**).

III.3. Résultats de l'activité insecticide

III.3.1. Effet toxique des huiles essentielles par ingestion

L'analyse de la variance ANOVA affectée par G.L.M montre un effet très hautement significatif des huiles essentielles de *L. latifolia*, *C. winterianus* et *P. halpensis* ($F=73.22$; $P=0,000$), la dose ($F=2019,1$; $P=0,000$) et le temps d'exposition ($F= 14.89$; $P=0,000$) sur le taux de mortalité des larves de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff (Figure 12). L'huile de la lavande est la plus efficace contrairement à celle de *P. halpensis* qui a présenté l'efficacité la plus faible. Les variations de l'efficacité est progressif, elle augmente avec l'augmentation du temps d'exposition. Cet effet s'étale sur une période de 24 jusqu'à 72 heures (tableau IV, Figure 12). Par ailleurs, l'efficacité est dose dépendante, elle augmente aussi avec l'augmentation de la dose, ainsi, la dose la plus efficace est $50\mu\text{L}/\text{mL}$.

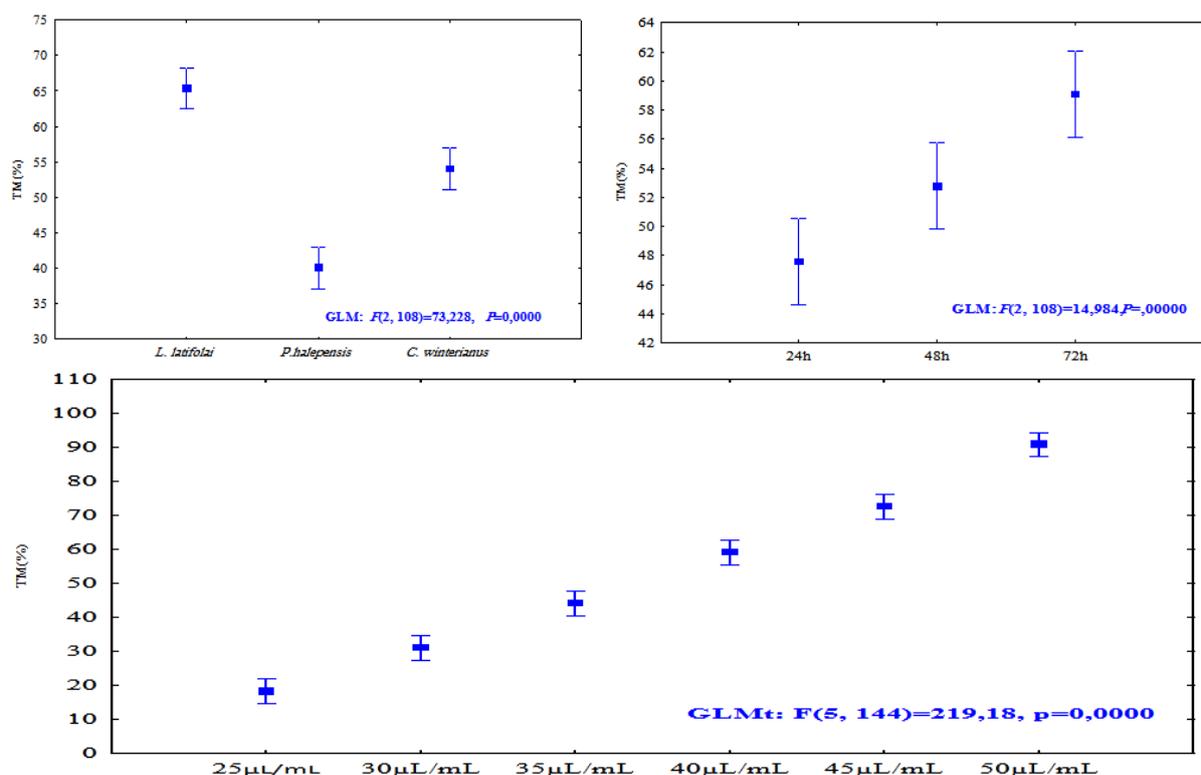


Figure12. Effet comparé de l'efficacité des huiles essentielles de *L. latifolia*, *C. winterianus* et *P. halpensis* et leurs doses sur les larves de *T. pityocampa* par digestion.

Les résultats obtenus montrent que les trois huiles essentielles ont un effet toxique très prononcé sur les larves de la chenille processionnaire, néanmoins, l'huile essentielle de *L. latifolia* était plus efficace en comparaison avec les autres huiles essentielles, et atteint une efficacité maximale (100%) avec une dose de $45\mu\text{L}/\text{mL}$ après 72h d'exposition, alors que la dose $50\mu\text{L}/\text{mL}$ a exposé une efficacité après 24h d'exposition.

Résultats et Discussion

Tableau IV. Variation des taux de mortalité chez les larves *T. pityocampa* exposés aux différentes doses d'huiles essentielles étudiées par ingestion. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

| concentration | $\mu\text{L/mL}$ | 25 | 30 | 35 | 40 | 45 | 50 |
|-----------------------|------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|
| <i>P. halpensis</i> | 24h | 0 \pm 0 ⁿ | 16,6 \pm 6,6 ^{lmn} | 23,3 \pm 8,8 ^{ijklmn} | 40 \pm 10 ^{fghijklm} | 56,6 \pm 6,6 ^{bcdefghijk} | 76,6 \pm 3,3 ^{abcdef} |
| | 48h | 0 \pm 0 ⁿ | 20 \pm 10 ^{klmn} | 26,6 \pm 12 ^{ijklmn} | 43,3 \pm 8,8 ^{efghijkl} | 60 \pm 10 ^{bcdefghij} | 80 \pm 5,77 ^{abcde} |
| | 72h | 3,3 \pm 3,3 ^{mn} | 23,3 \pm 3,3 ^{ijklmn} | 36,66 \pm 6,66 ^{ghijklmn} | 53,3 \pm 6,6 ^{cdefghijkl} | 70 \pm 5,77 ^{abcdefg} | 90 \pm 5,77 ^{abc} |
| <i>C. winterianus</i> | 24h | 20 \pm 5,77 ^{klmn} | 33,3 \pm 3,3 ^{ghijklmn} | 40 \pm 5,77 ^{fghijklm} | 50 \pm 5,77 ^{defghijkl} | 63,3 \pm 6,6 ^{abcdefghi} | 90 \pm 5,77 ^{abc} |
| | 48h | 23,3 \pm 3,3 ^{ijklmn} | 43,3 \pm 3,3 ^{efghijkl} | 46,6 \pm 3,3 ^{defghijkl} | 56,6 \pm 3,3 ^{bcdefghijk} | 66,6 \pm 8,8 ^{abcdefgh} | 90 \pm 5,77 ^{abc} |
| | 72h | 30 \pm 5,77 ^{hijklmn} | 46,6 \pm 3,3 ^{defghijkl} | 50 \pm 5,77 ^{defghijkl} | 60 \pm 5,77 ^{bcdefghij} | 70 \pm 11,5 ^{abcdefg} | 93,3 \pm 3,3 ^{ab} |
| <i>L. latifolia</i> | 24h | 20 \pm 5,77 ^{klmn} | 23,3 \pm 8,8 ^{ijklmn} | 53,3 \pm 3,3 ^{cdefghijkl} | 66,6 \pm 6,6 ^{abcdefgh} | 83,3 \pm 8,8 ^{abcd} | 100 \pm 0 ^a |
| | 48h | 30 \pm 5,77 ^{hijklmn} | 33,3 \pm 8,8 ^{ghijklmn} | 60 \pm 5,77 ^{bcdefghij} | 80 \pm 5,77 ^{abcde} | 90 \pm 5,77 ^{abc} | 100 \pm 0 ^a |
| | 72h | 40 \pm 5,77 ^{fghijklm} | 40 \pm 5,77 ^{fghijklm} | 66,6 \pm 8,8 ^{abcdefgh} | 90 \pm 5,77 ^{abc} | 100 \pm 0 ^a | 100 \pm 0 ^a |

Résultats et Discussion

Les huiles essentielles de *C. winterianus* et *P. halpensis* ont enregistré un taux de mortalité variable en fonction des doses et du temps d'exposition. Après 24 heures d'exposition, l'huile essentielle de *C. winterianus* a montré une efficacité de 90% avec la dose de 50µL/mL, alors que l'huile essentielle de pin d'Alep a enregistré une efficacité de l'ordre de 76,6% et elle augmente à 90% qu'après 72 heures d'exposition à cette même dose (50µL/mL).

Les valeurs des LD₅₀ et des LD₉₀ ont montré une diminution simultanée avec l'augmentation du temps d'exposition pour toutes les huiles testées. Ce constat reflète une augmentation de l'efficacité avec l'augmentation du temps d'exposition des larves de *T. pityocampa* à l'action des huiles (Tableau V).

D'autre part, ces valeurs ont démontré à nouveau un gradient dans l'efficacité suivant le type de l'huile essentielle. Après 24 heures d'exposition, l'huile essentielle de *L. latifolia* a enregistré des valeurs de DL₅₀ et DL₉₀ avec environ 36,11 et 45.25µL/mL, respectivement, ce qui est inférieure aux valeurs enregistrées pour les huiles de *C. winterianus* et de *P. halpensis* après 72 h d'exposition. Ces deux huiles essentielles ont montré des DL₅₀ dans l'ordre de 37,75 et 38,11 µL/mL ainsi que des DL₉₀ dans l'ordre de 49.28et 52.45µL/mL, respectivement. Ces résultats prouvent que l'huile essentielle de *L. latifolia* est la plus efficace, suivi de l'huile essentielle de *C. winterianus* et enfin, l'huile essentielle de *P. halpensis*.

Tableau V. Résultats de la DL₅₀ et DL₉₀ des huiles essentielles de *L. latifolia*, *C. winterianus* et *P. halpensis* par ingestion sur les larves de *T. pityocampa* après 24h, 48h et 72h de contact. Les résultats représentent la moyenne± erreur standard.

| | | DL50 (ul/ml) | DL90 (ul/ml) | Pr > Chi ² |
|-----------------------|-----|--------------|--------------|-----------------------|
| <i>L. latifolia</i> | 24h | 36,11±1,6 | 45,25±3 | 0,0339±0,1 |
| | 48h | 32,78±3,2 | 43,15±2,2 | 0,0133±0,1 |
| | 72h | 31,71±0,4 | 39,49±3,3 | 0,5154±0,5 |
| <i>C. winterianus</i> | 24h | 41,25±3,6 | 52,16±5,6 | 0,5053±0,3 |
| | 48h | 39,48±4,1 | 52,66±6,6 | 0,1789±0,1 |
| | 72h | 37,75±5,1 | 49,28±3,8 | 0,2556±0,1 |
| <i>P. halpensis</i> | 24h | 41,86±3 | 59,11±3,5 | 0,0197±0,1 |
| | 48h | 40,88±4 | 57,23±5,5 | 0,0072±0,1 |
| | 72h | 38,11±1,8 | 52,45±3,7 | 0,0093±0,1 |

III.3.2. Effet toxique des huiles essentielles par inhalation

L'analyse de la variance ANOVA a montré un effet très hautement significatif de l'huile essentielle et du temps d'exposition sur le taux de mortalité des larves de *T.pityocampa*. L'analyse de G.L.M a mis en évidence que l'huile essentielle de *C. winterianus* est la plus efficace, bien que l'augmentation de l'efficacité est temps dépendant.

Les variations temporelles des taux de mortalité des larves de *T.pityocampa* Schiff exposées à l'effet des huiles essentielles de *L. latifolia*, *C. winterianus* et *P. halpensis* montrent un effet toxique graduel. Cet effet s'étale sur une période de 15 jours (Figure 13).

L'évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *L. latifolia*, *C. winterianus* et *P. halpensis* par inhalation a été réalisée à l'aide d'une nouvelle technique composée de deux étapes qui sont exécutées simultanément. La première étape consiste à enregistrer les volumes des huiles essentielles évaporées en relation avec le taux de mortalité, tandis que la seconde étape consiste à suivre la mortalité des larves en fonction du temps.

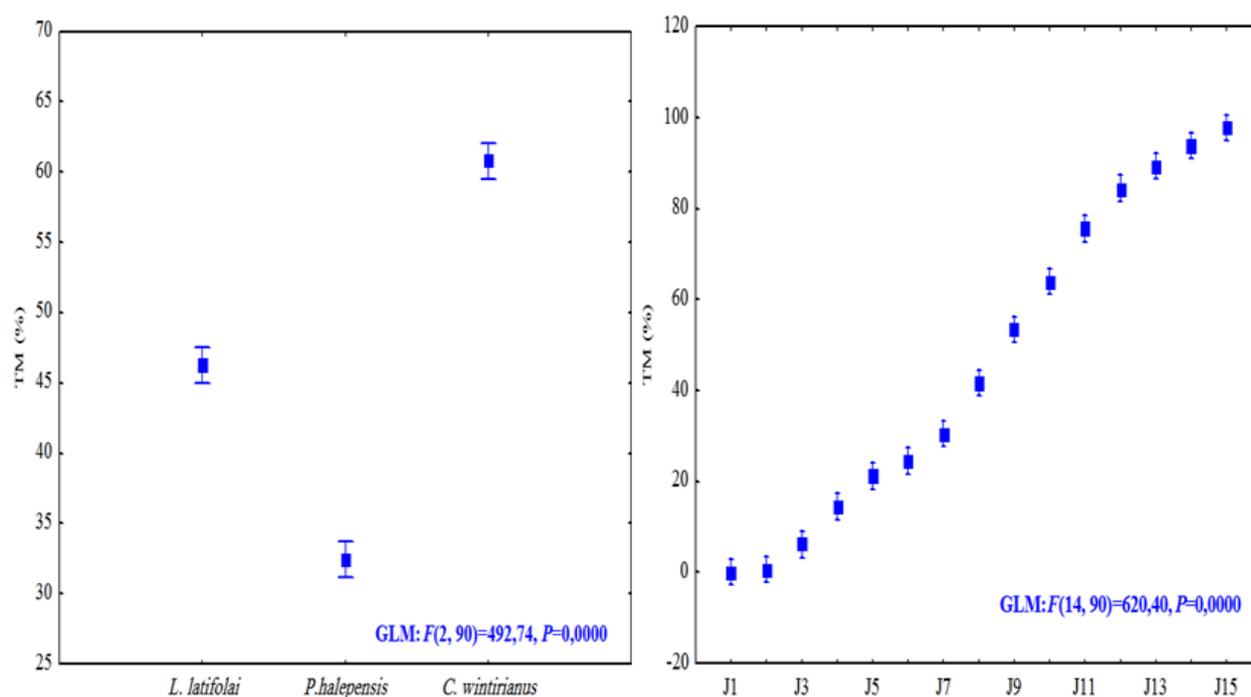


Figure 13. Effet comparé de l'efficacité des huiles essentielles de *L. latifolia*, *C. winterianus* et *P. halpensis* sur les larves *T. pityocampa* par inhalation.

Résultats et Discussion

Les résultats obtenus ont montré que l'évaporation d'un volume de 200 μL d'huile de *L. latifolia* a conduit à un taux de mortalité maximal de 100%. La même mortalité a été rapportée après l'évaporation d'un volume plus important des huiles de *C. winterianus* et *P. halpensis* avec des quantités de 230 et 300 μL , respectivement. De ce fait et en termes des volumes d'huiles évaporées, l'huile essentielle de *L. latifolia* s'est révélée le plus efficace, suivie de l'huile essentielle de *C. winterianus* et enfin, l'huile essentielle de *P. halpensis* (Figure 14).

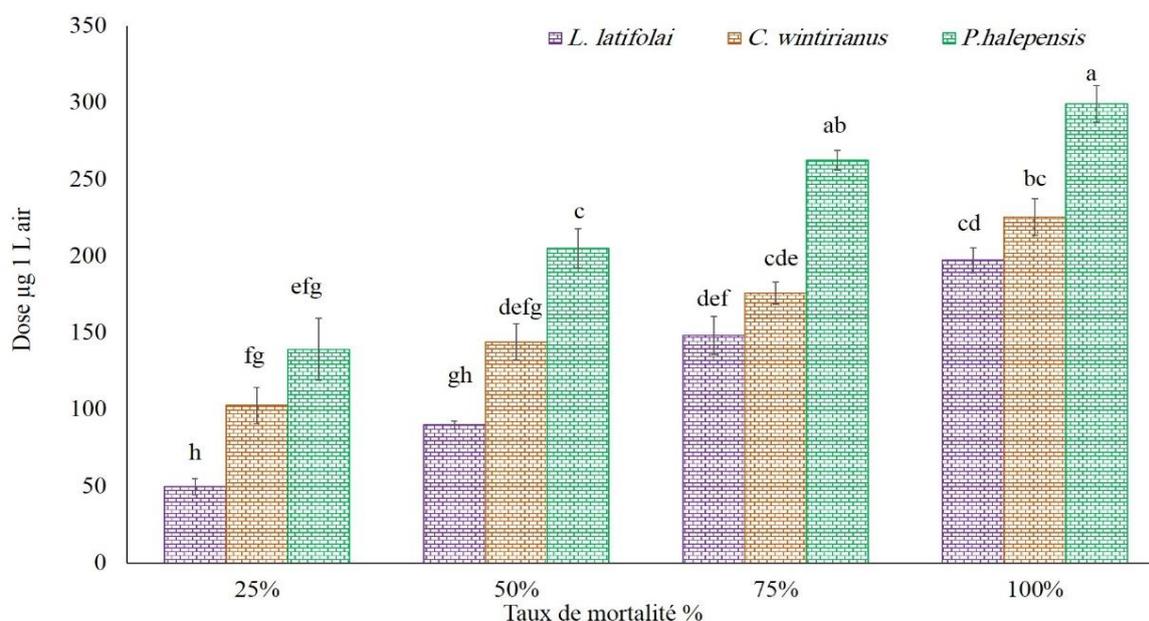


Figure 14. Volumes des huiles évaporées pour des taux de mortalité de 25%, 50%, 75% et 100% des larves de *T. pityocampa* sous l'effet des trois huiles essentielles par inhalation. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres indiquent la différence significative à une probabilité $p \leq 0.05$.

Par ailleurs, la même expérience a donné des résultats différents lorsque nous avons suivi la mortalité des larves en fonction du temps (Figure 15). Un taux de mortalité de 100% a été enregistré le 13^{ème} jour après l'exposition à l'huile essentielle de *C. winterianus*. En revanche, pour atteindre ce taux avec l'huile de *L. latifolia*, il a fallu un jour de plus. Cependant, pour l'huile essentielle de *P. halpensis*, un taux de mortalité de 93,33% a été enregistré le 15^{ème} jour de l'expérience.

L'huile essentielle de *L. latifolia* s'est révélée moins efficace que l'huile essentielle de *C. winterianus*, qui a montré la plus grande efficacité, tandis que l'huile de *P. halpensis* est restée toujours la moins efficace.

Résultats et Discussion

Dans les tests par inhalation, le taux de survie a été déterminé pendant 15 jours après l'exposition des individus de *T. pityocampa* aux trois huiles essentielles. La probabilité de survie avarié significativement avec l'huile essentielle (test du log-rank, $\chi^2 = 132.9$, $df = 2$; $P < 0,001^*$). Les résultats obtenus exposent que la probabilité de survie de *T. pityocampa* a diminué de 99.9 % jusqu'à 4.5 % sous l'effet de l'huile essentielle de *C. winterianus* et de 6.2 % et 8.5 % en présence de celle de *L. latifolia* et *P. halpensis*, respectivement. Bien que, les temps de survie moyens (LT₅₀) de la population de *T. pityocampa* traitée avec les huiles essentielles de *C. winterianus*, *L. latifolia*, et de *P. halpensis* étaient de 6.6, 8.9 et 10.8 jours, respectivement.

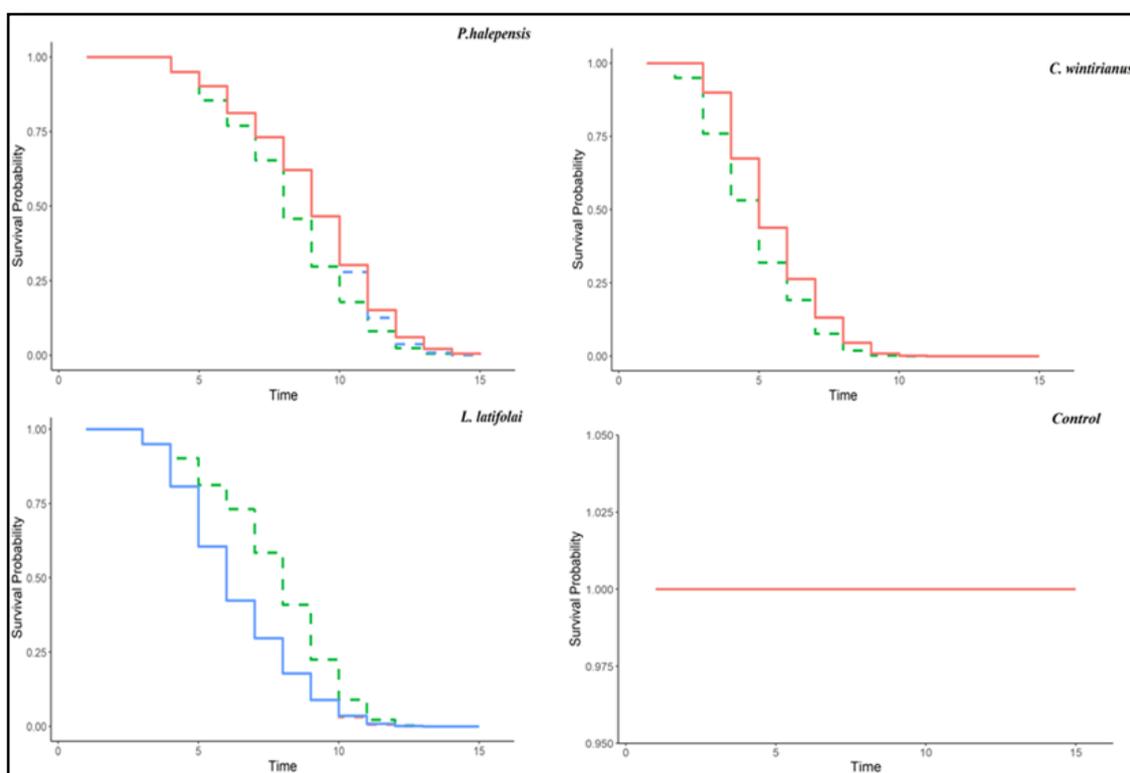


Figure 15. Courbes de la probabilité de survie des larves de *T. pityocampa* exposés aux huiles essentielles de *L. latifolia*, *C. winterianus* et *P. halpensis* estimées à l'aide du test du log-rank de Kaplan-Meier.

III.3.3. Effet toxique des huiles essentielles *in vivo*

Pour les tests *in vivo*, l'ANOVA a montré un effet très hautement significatif de l'huile essentielle et le temps d'exposition sur le taux de mortalité des larves de *T. pityocampa*. L'analyse de G.L.M a mis en évidence que l'huile essentielle de *L. latifolia* est le plus efficace, bien que l'augmentation de l'efficacité est temps dépendante ; elle augmente avec l'augmentation du temps d'exposition (Figure 16).

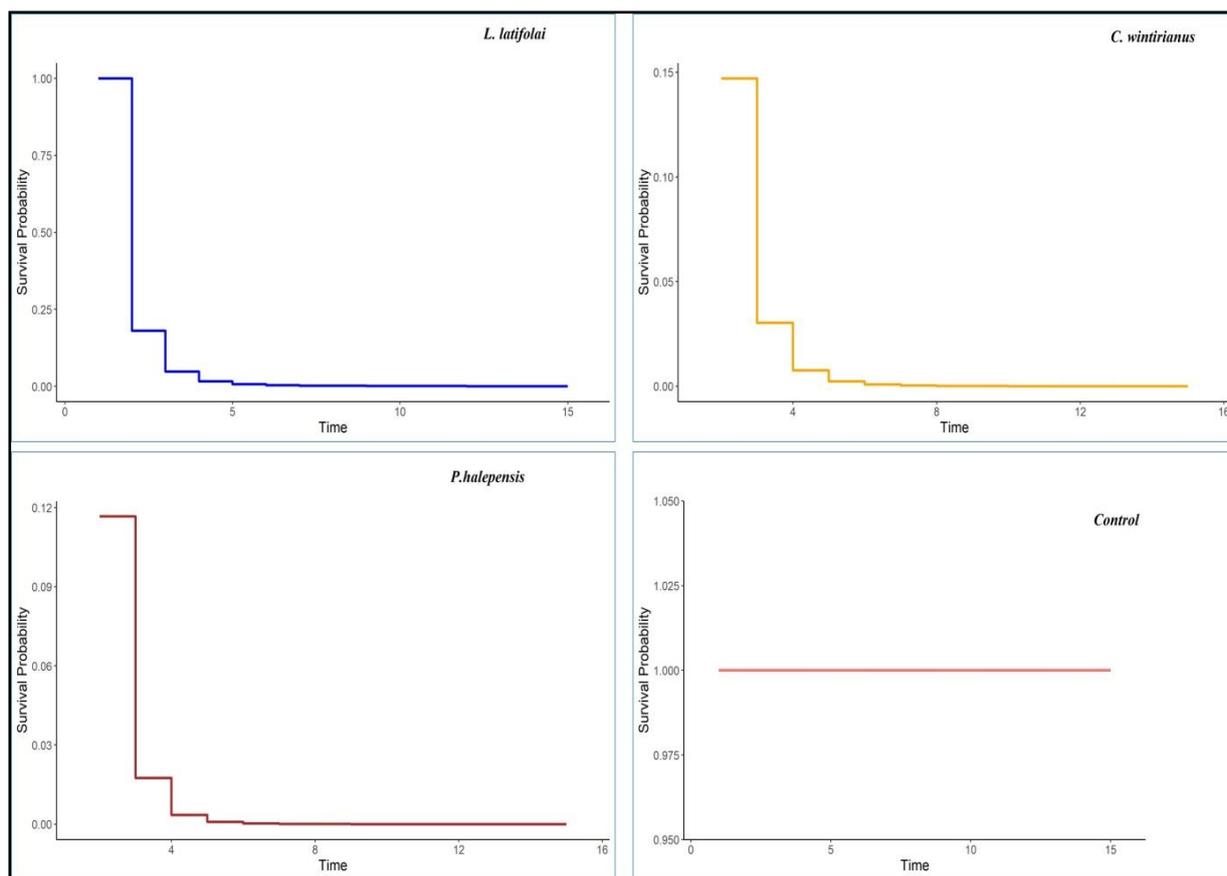


Figure 16. Courbes de la probabilité de survie des larves de *T. pityocampa* exposés à l'effet des huiles essentielles de *L. latifolia*, *C. winterianus* et *P. halepensis* *in vivo* estimées à l'aide du test du log-rank de Kaplan-Meier.

Les variations temporelles des taux de mortalité des larves de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff ont été exprimées avec les tests de probabilité de survie pendant une période de 15 jours et représenté par la Figure 16.

La probabilité de survie varie significativement avec l'huile essentielle (test du log-rank, $\chi^2 = 192.9$, $df = 2$; $P < 0,0001^*$). Les résultats obtenus montrent que la probabilité de survie des larves de *T. pityocampa* a diminué de 99,9 % jusqu'à 2.3% sous l'action de l'huile essentielle de *L. latifolia* et de 4.2% en présence de celle *C. winterianus*.

En parallèle, la probabilité de survie des larves de *T. pityocampa* a été diminuée de 99.3% jusqu'à 10.95 % avec l'huile essentielle de *P. halepensis*. Les temps de survie moyens (LT_{50}) des larves de *T. pityocampa* sont de l'ordre de 5.4, 10.8 et 10.95, respectivement.

Au cours des derniers jours de l'expérience *in vivo*, nous avons remarqué le phénomène de formation de cocons par les larves de *Thaumetopoea pityocampa*. Nous avons donc compté le nombre d'individus qui formaient des cocons dans les nids traités aux huiles essentielles et dans le témoin.

Le phénomène de formation de cocons a été observé dans tous les nids traités et même ceux témoins. Le nombre d'individus qui ont formé des cocons dans les nids traités aux huiles essentielles est significativement supérieur par rapport au témoin (Figure 17). L'huile essentielle de *L. latifolia* a provoqué un taux de 22 individus, en comparaison avec 24 et 19 chez les populations traitées avec l'huile essentielle de *C. winterianus* et de *P. halpensis*, respectivement. Alors que, le taux le plus faible a été enregistré chez la population témoin, non traitée, avec un taux de 2 individus seulement.

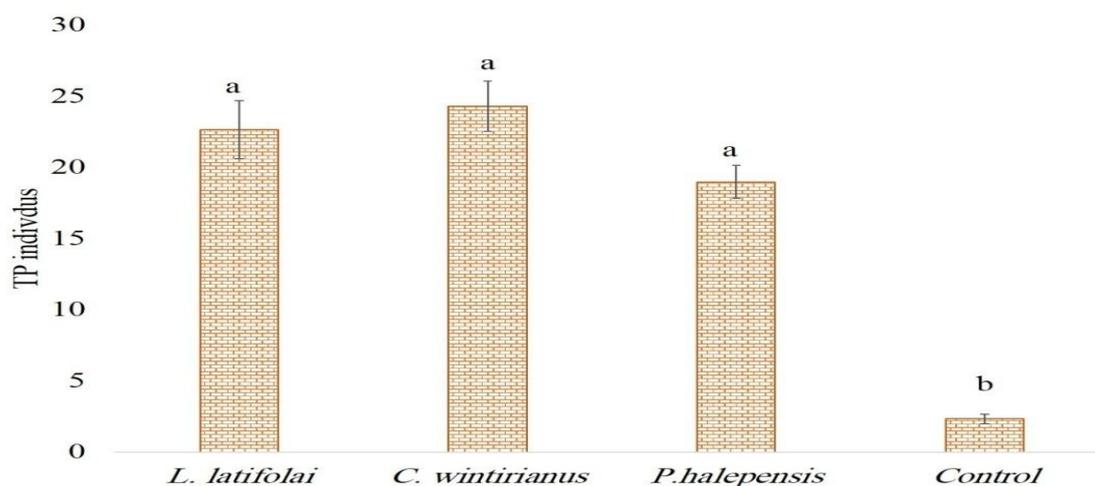


Figure 17. Évolution du nombre d'individus ayant formé des cocons en fonction des huiles essentielles de *L. latifolia*, *C. winterianus* et *P. halpensis*. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres a et b indiquent la différence significative à une probabilité de $p \leq 0.05$.

III.4. Effet des huiles essentielles sur les variations quantitatives des réserves énergétiques

Les gammes d'étalonnages des protéines, des glucides et des lipides sont présentés dans la partie annexe (annexe 8, 9, 10).

III.4.1. Effet sur les protéines

Les résultats obtenus montrent que les teneurs protéiques ont nettement diminué chez les individus de *T. pityocampa* traités par l'huile essentielle de *L. latifolia*, *C. winterianus* et *P. halpensis* soit par ingestion, soit par inhalation ou encore testés *in vivo*. Les résultats de l'analyse de la variance ANOVA a montré l'existence d'une différence très hautement significative ($P=0,0000$) des huiles essentielles, la dose et l'interaction entre les facteurs huiles essentielle*dose sur le taux des protéines. Par ailleurs, les valeurs de diminution les plus élevées sont observées chez la population traitée *in vivo* avec l'huile essentielle de *L. latifolia* (Figure 18). Dans le test par ingestion, le taux de diminution augmente significativement avec l'augmentation de la concentration.

Résultats et Discussion

Les résultats présentés sur la figure 18 montrent une diminution des taux des protéines allant jusqu'à 48,59% pour la population de *T. pityocampa* traitée avec l'huile essentielle de *L. latifolia*, 28.13% pour la population traitée avec l'huile essentielle de *C. winterianus* et 21.88% pour la population traitée avec l'huile essentielle de *P. halpensis*.

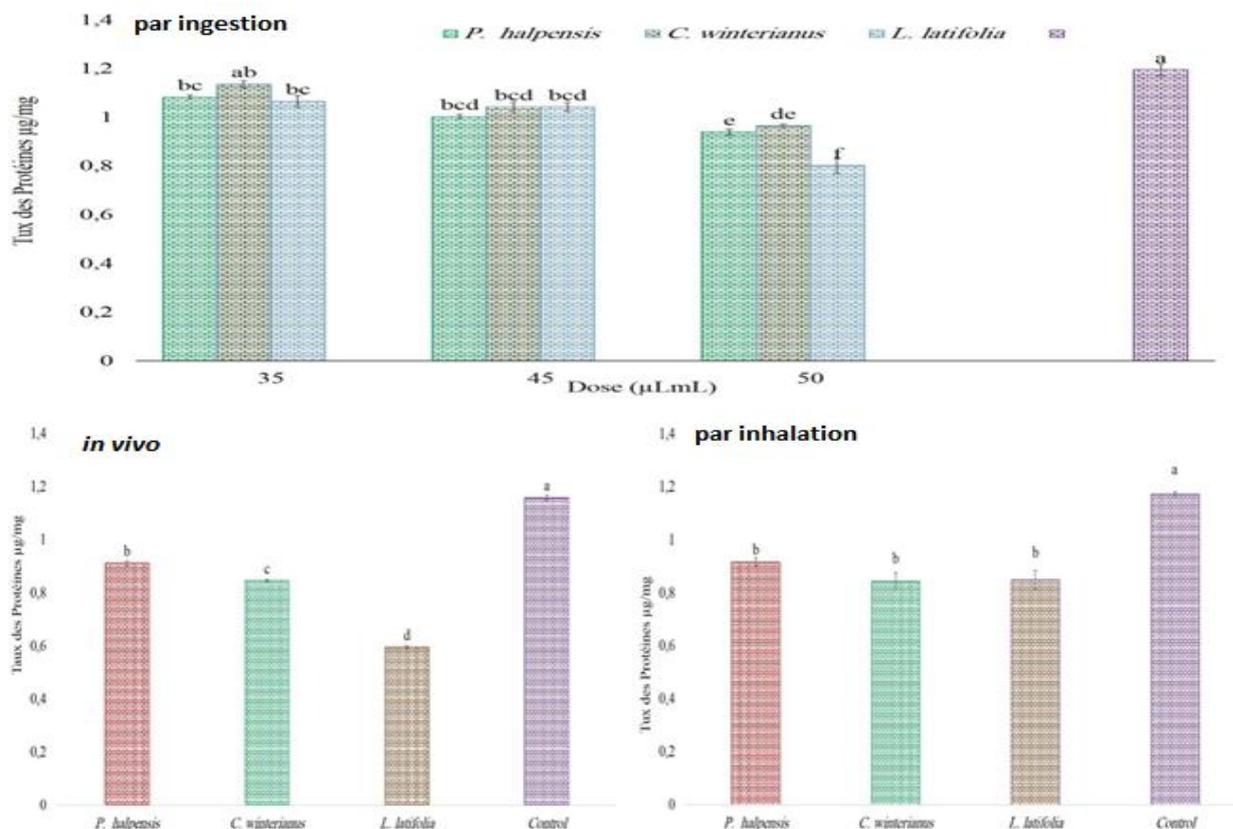


Figure 18. Variation des taux de protéines chez les larves *T. pityocampa* en fonction des différents traitements. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres indiquent une différence significative à $P \leq 0.05$.

III.4.2. Effet sur les glucides

Les teneurs en glucides ont diminués significativement chez les individus de *T. pityocampa* traités par ingestion, par inhalation et *in vivo* sous l'action des trois huiles essentielles. Les G.L.M ont indiqué que les huiles essentielles, la dose ainsi que l'interaction entre les facteurs huiles essentielle*dose affectent significativement ($P=0,0000$) le taux des glucides chez la population de *T. pityocampa* traitée avec les trois huiles essentielles. Les résultats représentés sur les graphes de la figure 19 indiquent une diminution significative chez la population traitée par inhalation avec l'huile essentielle de *L. latifolia*. Dans le test par ingestion, la diminution de la population est significativement affectée par de la concentration de l'huile.

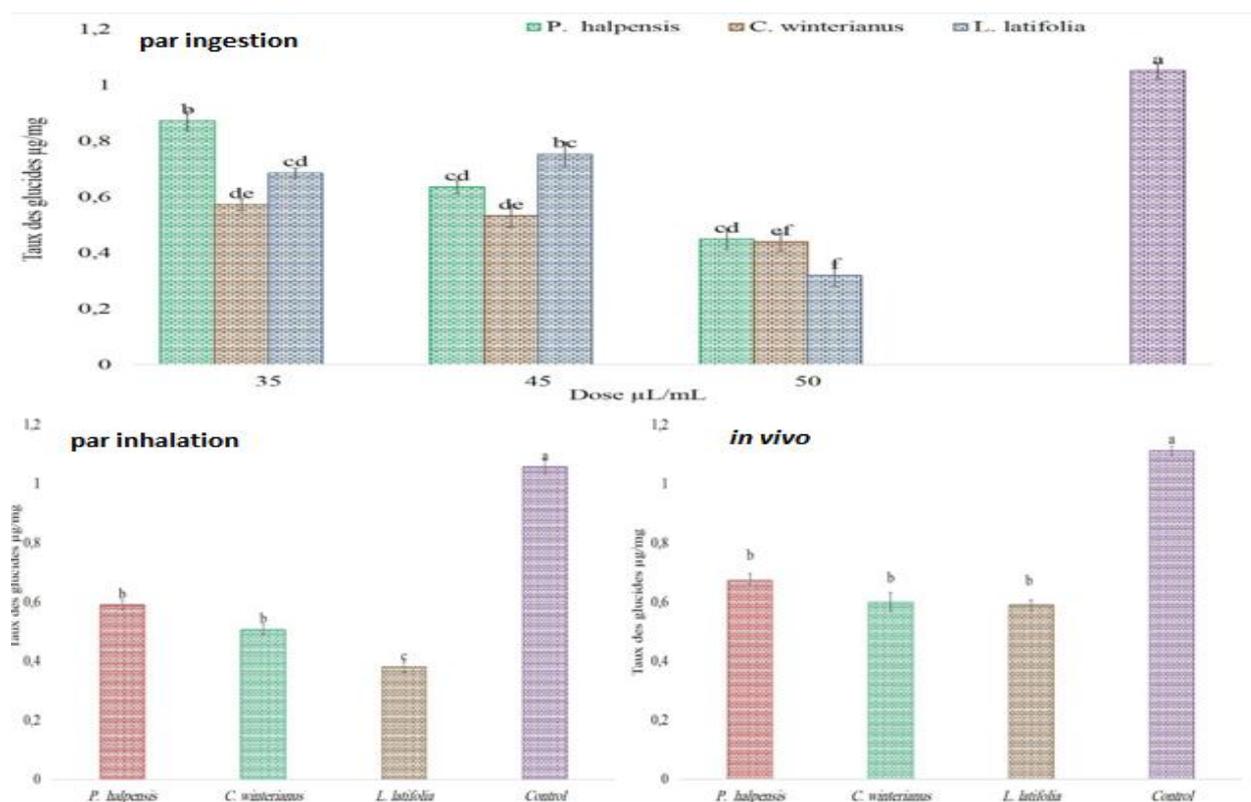


Figure 19. Variation des taux de glucides chez les larves *T. pityocampa* en fonction des différents traitements. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres indiquent la différence significative à $P \leq 0.05$.

L'analyse des résultats de la figure 19 indique une diminution des taux des glucides estimée à 69.62%, 62.02% et 57.27% pour les populations traitées avec les huiles essentielles de *L. latifolia*, *C. winterianus* et *P. halpensis*, respectivement.

III.4.3. Effet sur les lipides

Les analyses ANOVA indiquent un effet très hautement significatif ($P=0,0000$) de l'huile essentielle et de la dose sur les teneurs en lipides ainsi que l'interaction entre les facteurs huiles essentielle*dose chez les larves de *T. pityocampa* traités avec les trois huiles essentielles. Les résultats obtenus montrent que les teneurs lipidiques ont nettement augmenté chez les individus de *T. pityocampa* traités par l'huile essentielle de *L. latifolia*, *C. winterianus* et *P. halpensis* soit par ingestion, soit par inhalation ou bien *in vivo*. Dans le cas des teneurs lipidiques, la valeur la plus élevée est observée chez la population traitée par inhalation avec l'huile essentielle de *L. latifolia*.

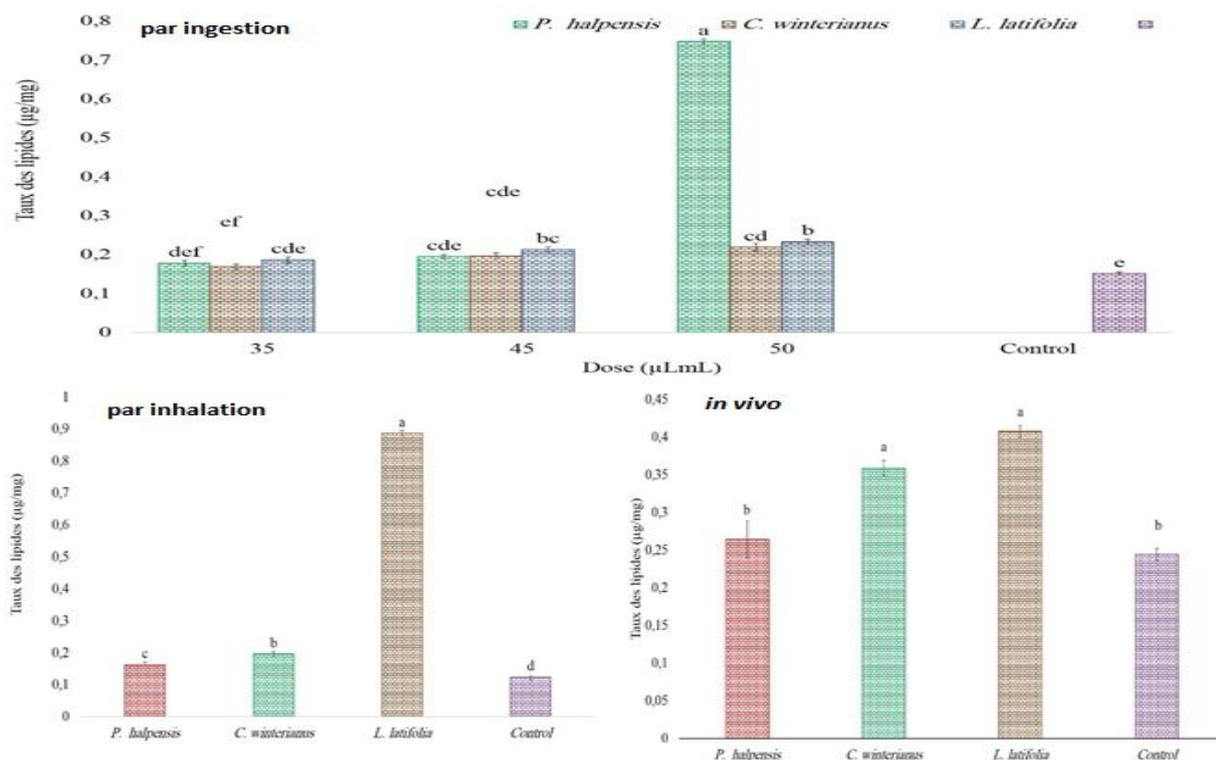


Figure 20. Variation des taux de lipides chez les larves *T. pityocampa* en fonction des différents traitements. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres indiquent la différence significative à $P \leq 0.05$.

Les résultats des traitements illustrés sur la figure 20 indiquent une augmentation significative allant jusqu'à 85.99% chez les individus traités avec l'huile essentielle de *L. latifolia*, 28.18% pour la population traitée avec l'huile essentielle de *C. winterianus* et 79.75% pour la population traitée avec l'huile essentielle de *P. halpensis*.

IV. Discussion

Dans cette étude, nous avons tenté de mettre en évidence l'efficacité des huiles essentielles formulées de trois plantes aromatiques à savoir : *Lavandula latifolia*, *Pinus halpensis* et *Cymbopogon winterianus* sur les populations de la chenille processionnaire du pin. Toutes les huiles essentielles testées ont révélé un effet très hautement significatif sur le taux de mortalité des larves de *Thaumetopoea pityocampa*. Cependant, ces effets sont très variables selon l'huile essentielle, la dose, la durée de traitement et le mode d'application. L'huile essentielle de *L. latifolia* s'est avérée plus efficace que *C. winterianus* et *P. halpensis*.

Cette différence d'efficacité est sans doute due à la différence quantitative et qualitative des principes actifs qui entrent dans la composition de chaque huile. En revanche, une efficacité

Résultats et Discussion

supérieure de l'huile de *C. winterianus* a été enregistrée dans un seul cas où la toxicité des huiles essentielles a été évaluée par inhalation. Cet effet serait lié au fait que l'huile essentielle de *C. winterianus* a un taux d'évaporation plus rapide que l'huile de *L. latifolia* et de *P. halpensis*, elle a donc montré sa dominance sur le niveau de mortalité larvaire en termes de temps, bien que dans la deuxième étape de la même expérience, l'huile de lavande était la plus efficace. La différence dans le taux d'évaporation des huiles essentielles peut être liée à des différences dans la composition de l'huile d'une plante à l'autre, d'une part, et à des différences dans les propriétés physiques et chimiques de ses composants, ce qui conduit à différents niveaux de volatilité, d'autre part (**Salim, 2017**).

Le pouvoir insecticide et les différences observées dans la toxicité des huiles essentielles sont attribuées à leur composition et richesse en composés bioactifs et leurs variabilités en fonction des espèces végétales.

Selon **Said-Al Ahl et al. (2017)**, le linalol, le camphre, le 1,8-cinéole et le terpinen-4-ol ont prouvé leur efficacité contre un large spectre d'insectes. La richesse de l'huile de lavande en ces principes actifs pourrait expliquer son efficacité observée dans cette étude.

L'huile essentielle de *C. winterianus* a montré un pouvoir répulsif et une capacité de contrôle substantielle contre de nombreuses espèces de différents ordres d'insectes, comme par exemple, *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera : Noctuidae), *Anopheles gambiae* Giles (Diptera : Culicidae) et *C. maculatus*. Ces activités sont dues au fait que sa composition chimique contient du citronellol, du géraniol, du citral et du limonène, qui sont connus pour leur efficacité contre les insectes (**Rodríguez-González et al., 2020**).

Dans le cas de *P. halepensis*, la littérature concernant l'activité insecticide de l'huile essentielle est rare, mais plusieurs études ont démontré l'activité insecticide des composants individuels pure de l'huile contre différents stades de développement de divers insectes et ont montré les effets insecticides potentiels de l' α -pinène et du B-caryophyllène, qui sont ses principaux composants (**Amri et al., 2014**).

En plus, les activités insecticides d'une huile essentielle n'est pas liée uniquement à ses constituants majeurs. Selon **Manh et al. (2020)**, l'effet synergique des composants de l'huile essentielle est susceptible d'augmenter son activité larvicide car au moment où le composant principal du mélange est ciblé par le système de détoxification de l'insecte, le composant secondaire provoque l'empoisonnement de l'insecte.

Les résultats que nous avons obtenu sont en accord avec ceux de plusieurs chercheurs sur *Thaumetopoea pityocampa* (Kesdek *et al.*, 2013 ; Yigitet *et al.*, 2019 ; Kesdek *et al.*, 2020 ; Hasnaoui *et al.*, 2020 ; Zahed *et al.*, 2021) et même sur d'autres espèces appartenant au même ordre de Lepidoptera (Abd El-Aziz, 2011 ; Nasr *et al.*, 2015 ; Shahriari *et al.*, 2017 ; Bouguerraet *et al.*, 2018 ; Abdel-Hakim *et al.*, 2021). Ces recherches ont prouvé l'efficacité et la capacité des huiles essentielles extraites d'un grand éventail d'espèces végétales comme insecticides. De même, d'autres études ont rapporté les modes d'action de ces huiles et de leurs composants actifs.

La plupart des huiles essentielles agissent en perturbant la structure des membranes cellulaires. Cependant, pour certains, des effets neurotoxiques ont été mis en évidence, dus à des interactions avec des neurotransmetteurs tels que l'acide gamma-aminobutyrique et l'octopamine ou par inhibition de l'acétylcholinestérase. Certaines huiles essentielles peuvent potentialiser l'action d'autres molécules en inhibant les cytochromes P450. Du fait de leur volatilité et de leur petite taille, de nombreux constituants des huiles essentielles interagissent avec les récepteurs olfactifs des insectes, déclenchant divers comportements : vol, attraction, ponte... (Hasnaoui *et al.*, 2020).

D'un autre côté, les cocons observés lors de la vérification de la toxicité des huiles essentielles *in vivo* peuvent s'expliquer par le fait que les larves de la pyrale du pin, en particulier celles qui ont pu survivre après avoir été exposées aux effets des huiles essentielles pendant plusieurs jours, ont eu recours à cette stratégie comme moyen de protection.

Selon Gai *et al.* (2020), la construction de cocons est l'une des stratégies de protection efficaces de certains insectes contre les dommages mécaniques, les prédateurs naturels, les parasites et autres facteurs nuisibles.

Dans les études biochimiques, la détermination des taux de protéines, de lipides et de glucides est très importante. Ils sont considérés comme des composants majeurs nécessaires aux organismes pour leur développement, leur reproduction et pour l'accomplissement des différentes activités vitales (Abdel-Hakim *et al.*, 2021).

A cet effet, nous avons étudié la toxicité de trois huiles essentielles (*L. latifolia*, *P. halpensis* et *C. winterianus*) sur la réponse des réserves énergétiques de la chenille processionnaire. Nous avons constaté que le traitement avec les huiles essentielles a entraîné une diminution significative des niveaux de protéines et de glucides et, à l'inverse, une augmentation des niveaux de lipides par rapport aux témoins non traités.

Cette diminution de la teneur en protéines pourrait être attribuée à un ou plusieurs facteurs, tels qu'une dégradation des protéines en leurs acides aminés correspondants, ce qui pourrait fournir à l'insecte l'énergie nécessaire à sa survie, ou une diminution de la synthèse des protéines qui peut être le résultat de l'interaction des molécules bioactives présents dans les huiles essentielles avec les hormones qui régulent la synthèse des protéines (**Yazdani et al., 2014 ; Dos Santos Silva et al., 2016**). Des résultats similaires ont été obtenus après avoir utilisé l'huile essentielle d'*Origanum vulgare L* contre les larves de *Plutella xylostella L* (**Nasr et al., 2015**). De la même manière, une diminution du taux de protéines et de glucides a été observée lors de l'utilisation de certains extraits de plantes contre les larves de *Plodia interpunctella* (**Bouayad et al., 2013**). Les hydrates de carbone jouent un rôle crucial dans la physiologie des insectes, car ils servent de source d'énergie, en plus d'être responsables d'innombrables fonctions métaboliques et structurelles. Ils peuvent être convertis en lipides ce qui pourrait expliquer la réduction observée des taux de glucides et l'augmentation des taux de lipides chez les insectes traités, (**Guedes et al., 2018**). Une autre raison qui peut conduire à l'épuisement du niveau de glucides est que dans des conditions de stress, une plus grande quantité de glucides peut être métabolisée pour répondre aux dépenses énergétiques (**Mojarab-Mahboubkar et al., 2015**). **Abd al-Hakim et al. (2021)** ont obtenu des résultats similaires lorsqu'ils ont traité les larves de *Sesamia cretica* avec les huiles essentielles d'ail et de citron. De même, **Dos Santos Silva et al. (2016)** ont observé une diminution des niveaux de glucides lorsqu'ils ont appliqué l'huile essentielle de citronnelle contre les larves de *Spodoptera frugiperda*.

Dans notre étude, la teneur en lipides de l'insecte ravageur testé était significativement augmentée sous le stress biologique exécuté par les huiles essentielles. Cette augmentation pourrait s'expliquer soit par l'initiation de mécanismes de résistance au stress des huiles essentielles ou par un gain d'énergie soit pour la croissance des larves, soit pour une accumulation de ces réserves chez les femelles aptères hivernantes au niveau de la plante hôte (**Dajoz, 1985**). Nos résultats sont en accord avec les observations précédentes montrant que les traitements avec des extraits de plantes de *Lantana camara* ont permis d'augmenter significativement les teneurs en lipides de la processionnaire du pin (**Bouzar-Essaidi et al., 2014**).

Conclusion

V. Conclusion

A l'heure actuelle, les huiles essentielles font l'objet de plusieurs recherches scientifiques à travers le monde. L'objectif principal de cette étude a été d'évaluer les propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et insecticides de cinq huiles essentielles.

L'étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles par la méthode de réduction du radical libre DPPH a montré l'efficacité de l'huile essentielle d'*A. herba alba* par rapport aux autres huiles, qui ont montré une activité antioxydante plus ou moins importante *in vitro*, en fonction de la concentration et de l'espèce.

L'étude de l'activité antimicrobienne de ces huiles essentielles sur les souches bactériennes *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* est mise en évidence par la technique de Vincent (Aromatogramme), alors que la méthode de contact direct a été utilisée pour l'étude de la souche fongique *Fusarium oxysporum*. Les huiles essentielles ont montré une activité inhibitrice vis-à-vis les trois souches microbiennes testées. L'huile essentielle de *C. winterianus* a montré la plus forte activité inhibitrice sur les souches testées par rapport autres huiles.

L'évaluation de la toxicité des huiles essentielles de *C. winterianus*, *P. halpensis* et *L. latifolia* vis-à-vis des larves de stade L4 de *Thaumetopoea pityocampa* *in vitro* et *in vivo* a révélé un effet insecticide significatif contre ces larves et l'huile essentielle de *Lavandula latifolia* a montré la toxicité la plus élevée.

Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes vers des études plus approfondies: la séparation et l'identification des composés actifs des huiles par des techniques d'analyse avancées (HPLC) et l'évaluation de leur toxicité. Il serait également important de suivre cette étude par des applications *in vivo*, compléter ces activités par d'autres tests afin de mettre en évidence les mécanismes moléculaires à l'origine des effets observés et d'envisager l'étude d'autres activités biologiques telles que les activités anti-inflammatoires et anticancéreuses, de mener des essais d'incorporation qui permettant d'améliorer et de préserver les propriétés de ces huiles, comme par exemple la nanoencapsulation polymérique.

Référence bibliographiques

Abbott W.S., (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.

Abd El-Aziz M. F. (2011). Bioactivities and biochemical effects of marjoram essential oil used against potato tuber moth *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). *Life Science Journal*, 8(1), 288-297.

Abdel-Hakim E. A., Ibrahim S. S., & Salem N. Y. (2021). Effect of Garlic and Lemongrass Essential Oils on Some Biological and Biochemical Aspects of Corn Stem Borer *Sesamia cretica* Larvae (Lepidoptera: Noctuidae) During Diapausing Phase. In *Proceedings of the Zoological Society* (Vol. 74, No. 1, pp. 73-82). Springer India.

Akermi S., Smaoui S., Elhadef K., Fourati M., Louhichi N., Chaari M., ... & Mellouli L. (2022). *Cupressus sempervirens* Essential Oil: Exploring the Antibacterial Multitarget Mechanisms, Chemcomputational Toxicity Prediction, and Safety Assessment in Zebrafish Embryos. *Molecules*, 27(9), 2630.

Al-Ansari M. M., Andeejani A. M., Alnahmi E., AlMalki R. H., Masood A., Vijayaraghavan P., ... & Choi K. C. (2021). Insecticidal, antimicrobial and antioxidant activities of essential oil from *Lavandula latifolia* L. and its deterrent effects on *Euphoria leucographa*. *Industrial Crops and Products*, 170, 113740.

Alatrache A., Jamoussi B., Tarhouni R., & Abdrabba M. (2007). Analysis of the essential oil of *Lavandula latifolia* from Tunisia. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 10(6), 446-452.

Amor G., Caputo L., La Storia A., De Feo V., Mauriello G., & Fechtali T. (2019). Chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia herba-alba* and *Origanum majorana* essential oils from Morocco. *Molecules*, 24(22), 4021.

Amri I., Hamrouni L., Hanana M., Gargouri S., & Jamoussi B. (2013). Chemical composition, bio-herbicide and antifungal activities of essential oils isolated from Tunisian common cypress (*Cupressus sempervirens* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(16), 1070-1080.

Amri I., Hamrouni L., Hanana M., Jamoussi B., & Lebdi K. (2014). Essential oils as biological alternatives to protect date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Chilean journal of agricultural research*, 74(3), 273-279.

Andila P. S., Hendra I. P. A., Waddani P. K., Tirta I. G., Sutomo S., & Fardenan D. (2018). The phytochemistry of *Cymbopogon winterianus* essential oil from Lombok Island, Indonesia and its antifungal activity against phytopathogenic fungi. *Nusantara Bioscience*, 10(4), 232-239.

Angane M., Swift, S., Huang K., Butts C. A., & Quek S. Y. (2022). Essential Oils and Their Major Components: An Updated Review on Antimicrobial Activities, Mechanism of Action and Their Potential Application in the Food Industry. *Foods*, 11(3), 464.

Anka L., Rammal H., Kobeissi A., & Saab H. B. (2020). Chemical composition and biological potentials of Lebanese *Cupressus sempervirens* L. leaves extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 14(6), 292-299.

- Argui H., Youchret-Zalleza O. B., Suner S. C., Periz Ç. D., Türker G., Ulusoy S., ... & Said H. (2021).** Isolation, Chemical Composition, Physicochemical Properties, and Antibacterial Activity of *Cupressus sempervirens* L. Essential Oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24(3), 439-452.
- Baghouz A., Bouchelta Y., Es-safi I., Bourhia M., Abdelfattah E. M., Alarfaj A. A., ... & Guemmouh R. (2022).** Identification of Volatile Compounds and Insecticidal Activity of Essential Oils from *Origanum compactum* Benth. and *Rosmarinus officinalis* L. against *Callosobruchus maculatus* (Fab.). *Journal of Chemistry*, 9p.
- Bouayad N., Rharrabe K., Ghailani N. N., Jbilou R., Castañera P., & Ortego F. (2013).** Insecticidal effects of Moroccan plant extracts on development, energy reserves and enzymatic activities of *Plodia interpunctella*. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11(1), 189-198.
- Bouguerra N., Tine-Djebbar F., & Soltani N. (2018).** Effect of *Thymus vulgaris* L. (Lamiales: Lamiaceae) essential oil on energy reserves and biomarkers in *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) from Tebessa (Algeria). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(4), 1082-1095.
- Boukhenoufa A., Benmagnia S., Maizi Y., Touil A. M. T., & Meddah B. (2021).** Antifungal and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* Asso. *European Journal of Biological Research*, 11(4), 493-500.
- Bouyahya A., Belmehdi O., Abrini J., Dakka N., & Bakri Y. (2019).** Chemical composition of *Mentha suaveolens* and *Pinus halepensis* essential oils and their antibacterial and antioxidant activities. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 12(3), 117.
- Bouzar Essaidi K., Allal-Benfekih L., & Djazouli Z. E. (2014).** Comparative effects of biological treatments alone or in combination on the energy reserve contents of caterpillars of the pine processionary *Thaumetopea pytiocampa* schiff (Lepidoptera, Notodontidae). *Revue Agrobiologia*, 6, 47-52.
- Božek M., Hanus-Lorenz B., & Rybak J. (2017).** The studies on waste biodegradation by *Tenebrio molitor*. In *E3S web of conferences* (Vol. 17, p. 00011). EDP Sciences.
- Bradford MM. (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.
- Burits M., & Bucar F. (2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*, 14(5), 323-328.
- D'agostino M., Tesse N., Frippiat J. P., Machouart M., & Debourgogne A. (2019).** Essential oils and their natural active compounds presenting antifungal properties. *Molecules*, 24(20), 3713.
- Dajoz R. (1985).** Précis d'écologie. Ed. Bordas, Paris, 505 p.
- D'Aquila P., Papparazzo E., Crudo M., Bonacci S., Procopio A., Passarino G., & Bellizzi D. (2022).** Antibacterial Activity and *Epigenetic Remodeling* of Essential Oils from Calabrian Aromatic Plants. *Nutrients*, 14(2), 391.

- Devi M. A., Sahoo D., Singh T. B., & Rajashekar Y. (2021).** Antifungal activity and volatile organic compounds analysis of essential oils from *Cymbopogon* species using solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agriculture and Food Research*, 3, 100110.
- Dhifi W., Bellili S., Jazi S., Bahloul N., & Mnif W. (2016).** Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*, 3(4), 25.
- Dos Santos Silva C. T., Wanderley-Teixeira V., da Cunha F. M., de Oliveira J. V., de Andrade Dutra K., Navarro D. M. D. A. F., & Teixeira Á. A. C. (2016).** Biochemical parameters of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) treated with citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) and its influence on reproduction. *Acta Histochemica*, 118(4), 347-352.
- Ebadollahi A., Ziaee M., & Palla F. (2020).** Essential oils extracted from different species of the Lamiaceae plant family as prospective bioagents against several detrimental pests. *Molecules*, 25(7), 1556.
- Ekor, M. (2014).** The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Frontiers in pharmacology*, 4, 177.
- El Ouahdani K., Es-Safi I., Mechchate H., Al-Zahrani M., Qurtam A. A., Aleissa M., ... & Bousta D. (2021).** Thymus algeriensis and *Artemisia herba-alba* essential oils: chemical analysis, antioxidant potential and *in vivo* anti-inflammatory, analgesic activities, and acute toxicity. *Molecules*, 26(22), 6780.
- Finney D.J., (1971).** Statistical Methods in Biological Assay, 2nd edition. London: Griffin, 333 p. In: Ndomo A.F., Tapondjou A.L., Tendonkeng F., Tchouanguiep F.M., (2009). Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera; Bruchidae). *Tropiculture*, 27(3), 137-143.
- Gai T., Tong X., Han M., Li C., Fang C., Zou Y., ... & Dai F. (2020).** Cocoonase is indispensable for Lepidoptera insects breaking the sealed cocoon. *PLoS genetics*, 16(9), e1009004.
- Gdoura N., Murat J. C., Chaabouni K., Ayadi F. M., & Elfeki A. (2015).** Effets de l'huile de sur l'hyperuricémie, la peroxydation lipidique et les activités des enzymes antioxydantes chez le rat, 4(1), 27-34.
- Ghougali F. (2011).** Contribution à l'évaluation de la diversité et du contrôle génétique de la croissance et de la fructification chez les pins de types halepensis (*Pinus brutia*-*Pinus halepensis*) (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- Guedes, L. M., Aguilera, N., Ferreira, B. G., Becerra, J., Hernández, V., & Isaias, R. M. S. (2018).** Anatomical and phenological implications of the relationship between *Schinus polygama* (Cav.)(Cabrera) and the galling insect *Calophya rubra* (Blanchard). *Plant Biology*, 20(3), 507-515.
- Haddouchi F., Benmansour A. (2008).** Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. Les technologies de laboratoire, 3(8), 8.

Hasnaoui F., Zouaoui I., Dallali S., & Dibouba F (2020).Insecticidal effects of essential oils from six aromatic and medicinal plants on the pine processionary caterpillar (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff). *Advancement in Medicinal Plant Research*, 8(4), 81-88.

Ismaili R., Houbairi S., Sanâa L., Khadija M., Abdeslam L. (2017).Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales marocaines. *European Scientific Journal*, 13(12), 323.

Jaber, H., Oubihi, A., Ouryemchi, I., Boulamtat, R., Oubayoucef, A., Bourkhiss, B., & Ouhssine, M. (2021). Chemical composition and antibacterial activities of eight plant essential oils from Morocco against *Escherichia coli* strains isolated from different Turkey organs. *Biochemistry research international*, 9p.

Jahani M., Akaberi M., Khayyat M. H., & Emami S. A. (2019). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from *Cupressus sempervirens*. var. *sempervirens*, *C. sempervirens*. cv. *Cereiformis* and *C. sempervirens* var. *horizontalis*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(4), 917-931.

Jaouadi W., Naghmouchi S., & Alsubeie M. (2019). Should the silviculture of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) stands in northern Africa be oriented towards wood or seed and cone production? Diagnosis and current potentiality. *iForest-Biogeosciences and Forestry*, 12(3), 297.

Kakaraparthi P. S., Srinivas K. V. N. S., Kumar J. K., Kumar A. N., Rajput D. K., & Sarma V. U. M. (2014).Variation in the essential oil content and composition of Citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) in relation to time of harvest and weather conditions. *Industrial Crops and Products*, 61, 240-248.

Kesdek M., Bayrak N., Kordali S., Usanmaz A., Contuk G., & Ercisli S. (2013). Larvicidal Effects of some Essential Oils against Larvae of the Pine Processionary Moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Denis Schiffermüller) (Lepidoptera:Thaumetopoeidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 23(2).

Kesdek M., KORDALI Ş., BOZHÜYÜK A. U., & GÜDEK M. (2020). Larvicidal effect of *Achillea biebersteinii* Afan.(Asteraceae) essential oil against larvae of pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermüller, 1775)(Lepidoptera: Notodontidae). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44(5), 451-460.

Manh H. D., Hue D. T., Hieu N. T. T., Tuyen D. T. T., & Tuyet O. T. (2020). The Mosquito larvicidal activity of essential oils from *Cymbopogon* and *Eucalyptus* Species in Vietnam. *Insects*, 11(2), 128.

Messai L., & Belkacemi D. (2011). Etude phytochimique d'une plante medicinale de l'est Algerien.

Mohammed M. J., Anand U., Altemimi A. B., Tripathi V., Guo Y., & Pratap-Singh A. (2021). Phenolic composition, antioxidant capacity and antibacterial activity of white wormwood (*Artemisia herba-alba*). *Plants*, 10(1), 164.

Mojarab-Mahboubkar M., Sendi J. J., & Aliakbar A. (2015). Effect of *Artemisia annua* L. essential oil on toxicity, enzyme activities, and energy reserves of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner)(Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Plant Protection Research*, 55(4).

Moutassem D., Bellik Y., & Sannef M. E. H. (2021). Toxicity and repellent activities of *Thymus pallescens* and *Cymbopogon citratus* essential oils against *Sitophilus granarius*. *Plant Protection Science*, 57(4), 297-309.

Nasr M., Sendi J. J., Moharramipour S., & Zibae A. (2015). Evaluation of *Origanum vulgare* L. essential oil as. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 7p.

Ndomo AF., Ngamo LT. (2008). Insecticidal effects of the powdery formulation based on clay and essential oil from the leaves of *Clausena anisata* (W.) J.D.Hooks ex. Benth. (Rutaceae) against *Acanthoscelides obtectus* (say) (Coleoptera: Bruchidae). *J Pest Sci*, 81(4), 227-231.

Patgar B. G., Sathish S., Shabaraya A. R. (2021). ESSENTIAL OIL OF *CUPRESSUS SEMPERVIRENS*: A BRIEF REVIEW. *World journal of pharmacy and pharmaceutical science*, 10(4), 864-872.

Pereira P. S., Oliveira C. V. B., Maia A. J., Vega-Gomez M. C., Rolón M., Coronel C., & Silva T. G. (2022). Evaluation of the In Vitro Antiparasitic Effect of the Essential Oil of *Cymbopogon winterianus* and Its Chemical Composition Analysis. *Molecules*, 27(9), 2753.

Plaistow S. J., Bollache L., Cézilly F. (2003). Energetically costly precopulatory mate guarding in the amphipod *Gammarus pulex*: Causes and consequences. *Animal Behaviour*, 65 (4): 683–691.

Préservons la nature., (2022). *Lavandula latifolia* Medik. / Lavande à larges feuilles. [Consulte le 10 juin 2022]. URL : <https://www.preservons-la-nature.fr/flore/taxon/2761.html>.

Ramdani M., Haichour R., Lograda T., Chalard P., & Figueredo G. (2020). Chemical composition and antimicrobial activity of *Pinus halepensis* from Algeria. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(9), 4345-4360.

Raveau R., Fontaine J., & Lounès-Hadj Sahraoui A. (2020). Essential oils as potential alternative biocontrol products against plant pathogens and weeds: A review. *Foods*, 9(3), 365.

Riyad Y. M., & Elkholy E. A. (2020). Efficacy Bioactive Components of Lavender (*Lavandula latifolia*) Leaves as a Natural Antioxidant, Antibacterial, and its Uses as a Cake Preserving Agent. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 11(5), 113-120.

Rodrigues N., Malheiro R., Casal S., Manzanera M. C. A. S., Bento A., & Pereira J. A. (2012). Influence of spike lavender (*Lavandula latifolia* Med.) essential oil in the quality, stability and composition of soybean oil during microwave heating. *Food and chemical Toxicology*, 50(8), 2894-2901.

Rodríguez-González, Á., Porteous-Álvarez, A. J., Del Val, M., Casquero, P. A., & Escriche, B. (2020). Toxicity of five Cry proteins against the insect pest *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Curculionidae: Bruchinae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 169, 107295.

Sedikelo G. K., Lenetha G. G., & Malebo N. J. (2022). Chromatography-mass spectrometry and chemical characteristics of *Thymus zygis* and *Cymbopogon winterianus* essential oils: Possible insect repellents. *Scientific African*, 15, e01095.

- Said-Al Ahl H. A., Hikal W. M., & Tkachenko K. G. (2017).** Essential oils with potential as insecticidal agents: A review. *Int. J. Environ. Plan. Manag*, 3, 23-33.
- Sakkas, H., & Papadopoulou, C. (2017).** Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. *Journal of microbiology and biotechnology*, 27(3), 429-438.
- Salim E. R. A. (2017).** Salim-Eisa Method for Modification of Evaporation Test (British Pharmacopeia) by Sudanese Essential Oils. *J Appl Biotechnol Bioeng*, 3(2), 00064.
- Shahriari M., Sahebzadeh N., & Zibae A. (2017).** Effect of *Teucrium polium* (Lamiaceae) essential oil on digestive enzyme activities and energy reserves of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Invertebrate survival journal*, 14(1), 182-189.
- Slimane B. B., Ezzine O., Dhahri S., Jamaa M. L. B. (2014).** Essential oils from two Eucalyptus from Tunisia and their insecticidal action on *Orgyia trigotephras* (Lepidoptera, Lymantriidae). *Biological research*, 47(1), 1-8.
- Sreepian A., Popruk S., Nutalai D., Phutthanu C., & Sreepian P. M. (2022).** Antibacterial activities and synergistic interaction of citrus essential oils and limonene with gentamicin against clinically isolated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *The Scientific World Journal*, 12 p.
- Timung R., Barik C. R., Purohit S., & Goud V. V. (2016).** Composition and anti-bacterial activity analysis of citronella oil obtained by hydrodistillation: Process optimization study. *Industrial Crops and Products*, 94, 178-188.
- Valdivieso-Ugarte M., Gomez-Llorente C., Plaza-Díaz J., & Gil Á. (2019).** Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: A systematic review. *Nutrients*, 11(11), 2786.
- Van Handel E. (1985a).** Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1 (3): 299–301.
- Van Handel E. (1985b).** Rapid determination of total lipids in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1 (3): 302–304.
- Wells R., Truong F., Adal A. M., Sarker L. S., & Mahmoud S. S. (2018).** Lavandula essential oils: A current review of applications in medicinal, food, and cosmetic industries of lavender. *Natural Product Communications*, 13(10), 1403 - 1417.
- Wińska K., Mączka W., Łyczko J., Grabarczyk M., Czubaszek A., & Szumny A. (2019).** Essential oils as antimicrobial agents—myth or real alternative?. *Molecules*, 24(11), 2130.
- Yazdani E., Sendi J. J., & Hajizadeh J. (2014).** Effect of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*, 54(1).
- Yigit s., İzzet A. K. Ç. A., Bayhan E., Bayhan S., Tekin F., & Saruhan İ. (2019).** Determining the toxicity of some thyme essential oils against the Pine Processionary [*Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Notodontidae)]. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50(3), 226-230.

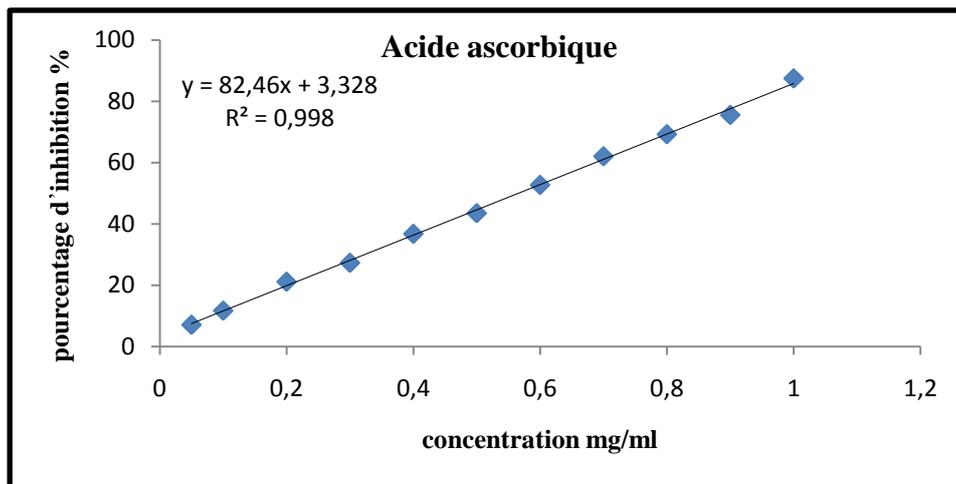
Younsi F., Trimech R., Boulila A., Ezzine O., Dhahri S., Boussaid M., & Messaoud C. (2016). Essential oil and phenolic compounds of *Artemisia herba-alba* (Asso.): Composition, antioxidant, antiacetylcholinesterase, and antibacterial activities. *International journal of food properties*, 19(7), 1425-1438.

Zahed K., Souttou K., Hamza F., & Zamoum M. (2021). Chemical composition and larvicidal activities in vitro and in vivo of essential oils of *Thymus vulgaris* (L) and *Lavandula angustifolia* (Mill) against pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* Den. & Schiff. in Ain Defla (Algeria). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128(1), 121-137.

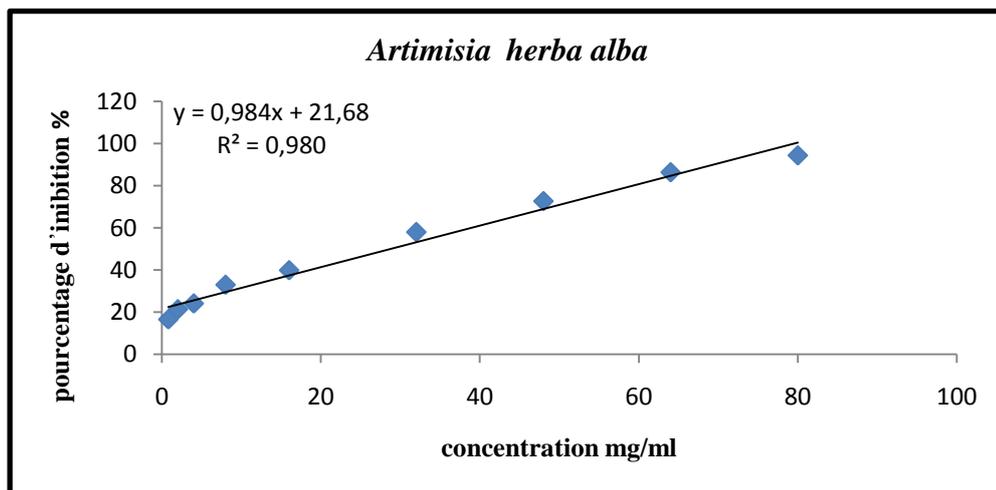
Zouari S., Zouar N., Fakhfakh N., Bougatef A., Ayadi M.A., & Neffati M. (2010). Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba alba* Asso. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(10), 871-880.

Annexes

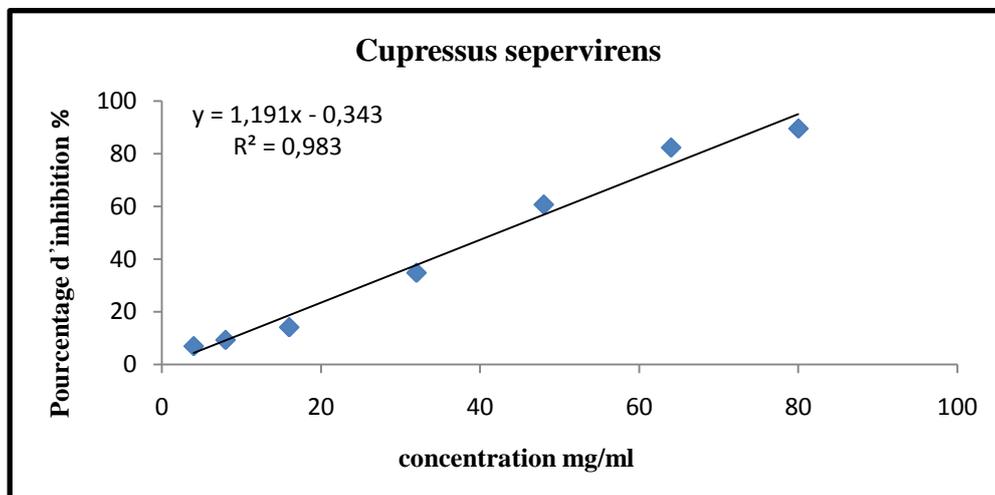
Annexe 1 : courbe standard de l'acide ascorbique.



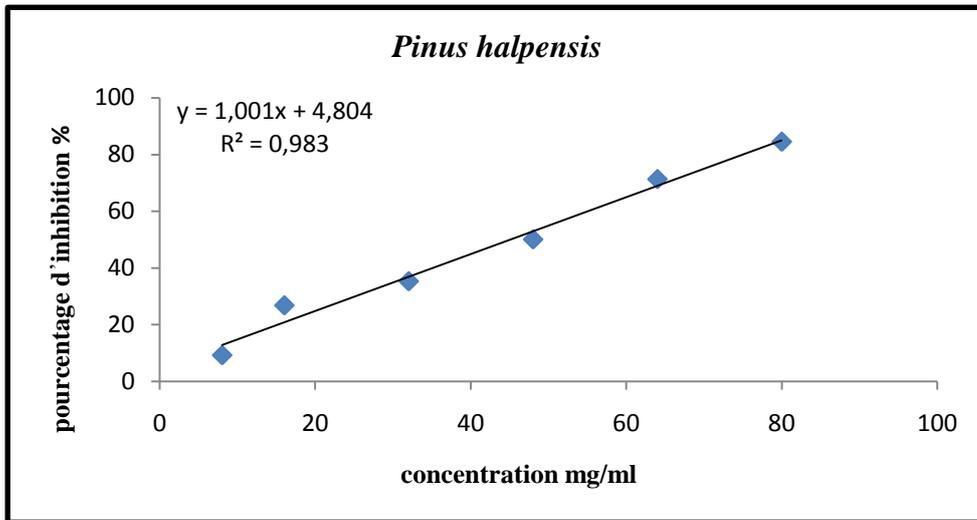
Annexe 2 : courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.



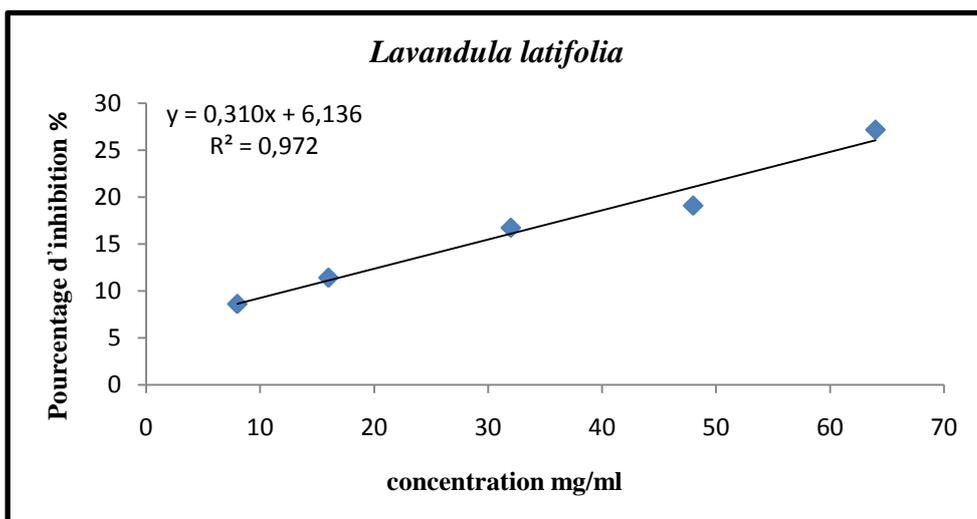
Annexe 3 : courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Cupressus sempervirens*.



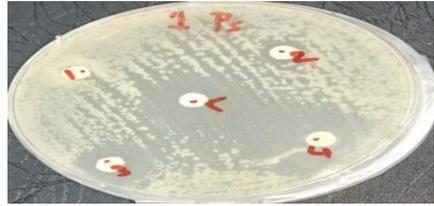
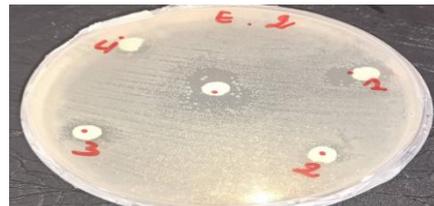
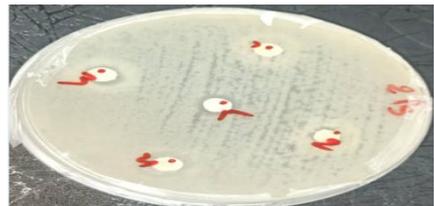
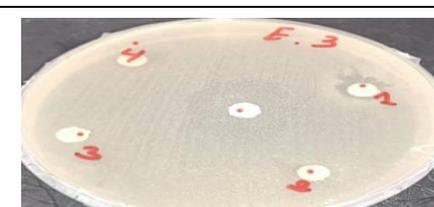
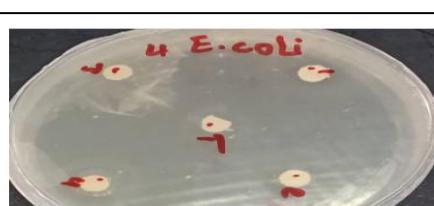
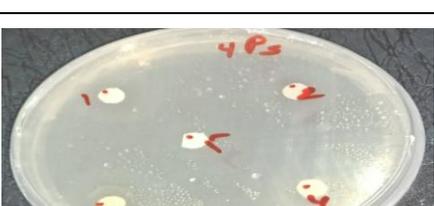
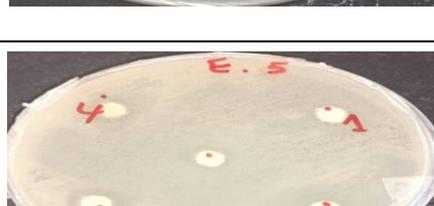
Annexe 4 : courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Pinus halpensis*.



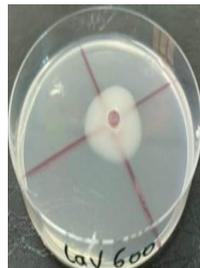
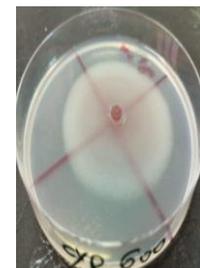
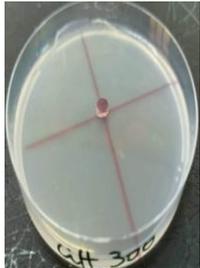
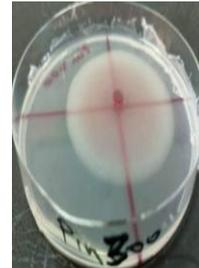
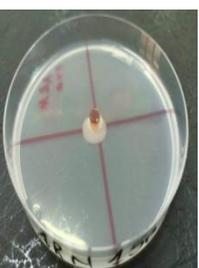
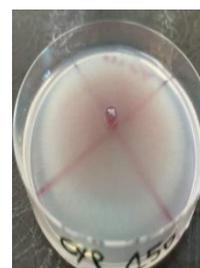
Annexe 5 : courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Lavandula latifolia*.



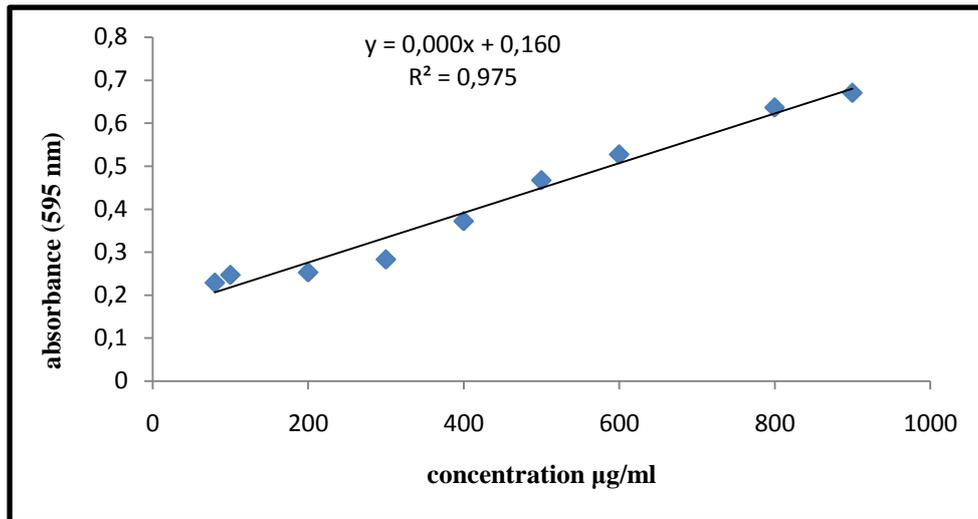
Annexe 6 : Photos des résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.

| [C] | <i>E. coli</i> | <i>P. aeruginosa</i> |
|-----------------------|---|--|
| <i>A. herba alba</i> |  |  |
| <i>L. latifolia</i> |  |  |
| <i>C. semperviens</i> |  |  |
| <i>C. winterianus</i> |  |  |
| <i>P. halpensis</i> |  |  |
| Témoin |  |  |

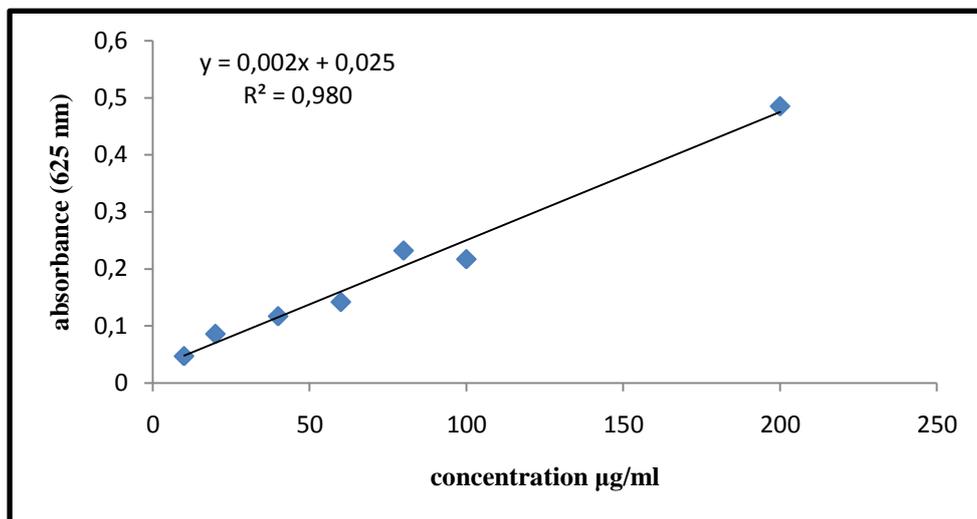
Annexe 7 : Photos des résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles.

| [C] | <i>C. winterianus</i> | <i>A. herba alba</i> | <i>L. latifolia</i> | <i>P. halpensis</i> | <i>C. semperviens</i> |
|--------|---|---|---|--|---|
| 2% |  |  |  |  |  |
| 1,50 % |  |  |  |  |  |
| 1% |  |  |  |  |  |
| 0,50 % |  |  |  |  |  |
| 0,25 % |  |  |  |  |  |

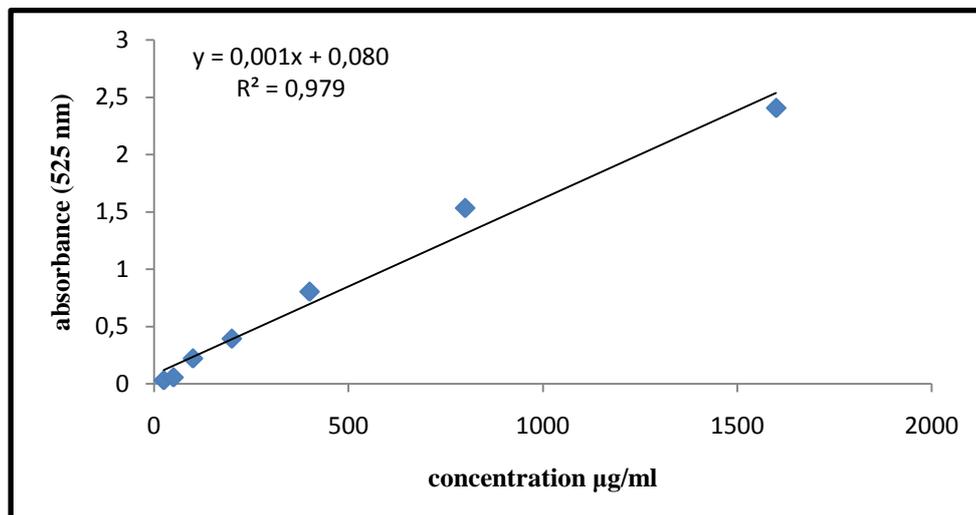
Annexe 8: Gamme d'étalonnage des protéines.



Annexe 9: Gamme d'étalonnage des glucides.



Annexe 10: Gamme d'étalonnage des lipides.



Résumé :

De nos jours, la tendance à utiliser des produits naturels issus de plantes se développe face aux effets secondaires des composés synthétiques qui peuvent être nocifs pour la santé humaine et l'environnement. Les huiles essentielles sont des composés naturels qui sont aujourd'hui de plus en plus utilisés dans différents domaines. L'objectif principal de cette étude a été d'évaluer les propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et insecticides des cinq huiles essentielles.

L'étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles a été évaluée par la méthode de réduction du DPPH. L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été examinée par la méthode de diffusion sur disque contre deux souches bactériennes soit *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et la méthode de diffusion en milieu solide contre *Fusarium oxysporum*. Le potentiel insecticide des différentes huiles a été évalué contre les larves de *Thaumetopoea pityocampa* *in vivo* et *in vitro*.

Les résultats ont montré que *Artemisia Herba Alba* exprime un pouvoir antioxydant plus important que les autres huiles ($IC_{50} = 28,78 \mu\text{g/ml}$). D'autre part, ces huiles présentent une importante activité vis-à-vis des micro-organismes testés, avec un excellent effet de l'huile de *Cymbopogon winterianus*. Quant aux tests de toxicité, les trois huiles ont exprimé des effets insecticides très remarquables, mais l'huile de *Lavandula latifolia* a exprimé un effet supérieur à celui des autres huiles. Ces données montrent que les huiles essentielles constitueraient une solution alternative saine et efficace aux produits chimiques et se prêtent bien aux investigations dans le domaine de la lutte biologique.

Mots clé: Huiles essentielles, activité antioxydante, activité antimicrobienne, potentiel insecticide.

Abstract:

In recent modern times, the resort to use natural products derived from plants is growing due to the side effects of synthetic compounds on human health and environment. Essential oils are natural compounds that are increasingly used in different fields. The main goal of this study was to evaluate the antioxidant, antimicrobial and insecticidal properties of five essential oils.

The antioxidant activity of the essential oils was evaluated by the DPPH free radical reduction method. The antimicrobial activity was performed by the disc diffusion method against two bacterial strains i.e. *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, while, the solid medium diffusion method was used to study *Fusarium oxysporum*. The *in vivo* and *in vitro* insecticidal potency of the different oils was evaluated against *Thaumetopoea pityocampa* larvae.

The results showed that the essential oils have notable antioxidant properties and that *Artemisia herba alba* oil expressed the highest antioxidant power with IC_{50} of $28.78 \mu\text{g/ml}$. In addition, these essential oils presented a significant activity against the tested microorganisms, with an efficiency effect of *Cymbopogon winterianus* oil. As for toxicity tests, all three oils expressed very remarkable insecticidal effects, but *Lavandula latifolia* oil expressed the best activity.

These data showed that the studied essential oils would be a useful and effective alternative to chemicals and are excellent candidates for investigations in the field of biological control.

Key words: Essential oils, antioxidant activity, antimicrobial activity, insecticidal potency.

ملخص :

في الآونة الأخيرة ، يتزايد اللجوء إلى استخدام المنتجات الطبيعية المشتقة من النباتات بسبب الآثار الجانبية للمركبات الاصطناعية على صحة الإنسان والبيئة. الزيوت الأساسية هي عبارة عن مركبات طبيعية يتم استخدامها بشكل متزايد في مختلف المجالات. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم الخصائص المضادة للأكسدة، المضادة للميكروبات والمضادة للحشرات لخمس زيوت أساسية.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية باستخدام تقنية اختبار جذر DPPH. تم إجراء النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة الانتشار على القرص ضد سلالتين بكتيريتين : *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* بينما تم الاعتماد على تقنية الانتشار في الوسط الصلب ضد *Fusarium oxysporum*. تم تقييم الخصائص المضادة للحشرات للزيوت المختلفة ضد يرقات *Thaumetopoea pityocampa* في الجسم الحي وفي المختبر.

كشفت النتائج أن الزيت الأساسي من *Artemisia Herba Alba* يعبر عن قوة مضادة للأكسدة أكبر من الزيوت الأخرى ($IC_{50} = 28.78 \text{ mg/ml}$). أما بالنسبة من ناحية أخرى، أظهرت الزيوت المختبرة نشاطاً معنوياً ضد الكائنات الحية الدقيقة المختبرة ، مع تأثير ممتاز لزيت *Cymbopogon winterianus*. أما بالنسبة للاختبارات السمية، فقد تم تسجيل تأثيرات مضادة للحشرات ملحوظة للغاية، مع تفوق في الفعالية للزيت الأساسي من *Lavandula latifolia* مقارنة بالزيوت الأخرى.

تُظهر هذه البيانات أن الزيوت الأساسية من شأنها أن تشكل حلاً بديلاً صحياً وفعالاً للمنتجات الكيميائية وتفسح المجال بشكل جيد للتحقيقات في مجال مكافحة البيولوجية.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للميكروبات ، نشاط مضاد للحشرات.