

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Akli Mohand Oulhadj-Bouira



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Science de la Terre  
Département Sciences Agronomiques  
Laboratoire de Gestion de et Valorisation des Ressources Naturelles et Assurance Qualité

**THÈSE**  
**EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE**  
**DOCTORAT**

Domaine : SNV      Filière : Sciences Agronomiques  
Spécialité : Protection des végétaux

Présentée par  
**M<sup>me</sup> SAADA Ilham**  
*Thème*

**Valorisation des ressources biologiques en lutte contre les déprédateurs et les  
maladies des céréales : cas des extraits de plantes autochtones**

**Soutenue le : 01-06-2023**

**Devant le Jury composé de :**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>		
<b>Pr MOUHOUB SAYAH Chafika</b>	Professeur	Univ. de Bouira	Président
<b>Dr MAHDI Khadidja</b>	MCA	Univ. de Bouira	Rapporteur
<b>Dr BOUBEKKA Nabila</b>	MCA	Univ. de Bouira	Co-rapporteur
<b>Dr MECELLEM Dalila</b>	MCA	Univ. de Bouira	Examineur
<b>Dr BERRAI RAHMOUNI Hassiba</b>	MCA	ENSA El Harrach	Examineur
<b>Dr RAHIM Nouredine</b>	MCA	ENSB Constantine	Examineur

**Année Universitaire : 2022/2023**

## **Remerciement**

*Ce travail est le fruit de collaborations forgées sur la sincère volonté d'offrir une contribution, qu'elle soit, à la recherche scientifique.*

*Avant tout, ma plus sincère gratitude à **Allah**, pour m'avoir donné l'opportunité d'entreprendre ce parcours et pour m'avoir donné la force de la mener à bien.*

*Je ne remercierai jamais assez Monsieur **SAADA Houcin** et Madame **AMROUCHE Yamna** pour leur soutien inconditionnel tout au long de mes études et pour la confiance qu'ils m'ont toujours témoignée et pour avoir pris soin de mon éducation. Leur fierté en moi est aujourd'hui la plus belle des récompenses. Un grand merci à ma très chère Yamna qui a su me redonner courage quand la motivation n'était plus au rendez-vous, cette thèse vous est dédiée.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Monsieur **DINE Houssam Elddine** pour son soutien, ses encouragements et sa compréhension qui ont été d'une importance capitale dans chaque étape de la réalisation de cette thèse, me donnant la force de surmonter les obstacles et les moments difficiles.*

*J'adresse mes sincères remerciements à **Dr MAHDI Khadidja** maitre de conférences A à l'université de Bouira, ma directrice de thèse, pour avoir généreusement accueilli les différentes parties de ce projet de thèse ; étant prompts à répondre à mes sollicitations, et ayant apporté le recul nécessaire sur certains problèmes qui me semblaient insolubles au premier abord, ce qui m'a aidé à avancer tout en me faire confiance et me donner une grande liberté.*

*Je tien à remercier également ma co-promotrice **Dr BOUBEKKA Nabila** Maitre de conférences A à l'université de Bouira pour son soutien moral et sa compréhension qui m'ont permis de rester concentrée sur mes recherches tout au long de ces années.*

*Mes plus sincères remerciements vont aussi à l'adresse de **M<sup>me</sup> MOUHOUB-SAYAH Chafika**, Professeur à l'Université de Bouira, pour l'honneur qu'elle me fait en présidant le jury de ma soutenance.*

*Je tiens à remercier intensément les membres de jury **M<sup>me</sup> BERRAI RAHMOUNI Hassiba**, Maitre de conférences A à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de El-Harrach, et **M. RAHIM Nouredine** Maitre de conférences A à l'Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie de Constantine, ainsi que **M<sup>me</sup> MECELLEM Dalila** Maitre de conférences A à l'université de Bouira, qui m'ont fait l'honneur de participer à l'examen de mon travail.*

*Mes chaleureux remerciements vont à Dr MEBDOUA Samina Maitre de conférences B à l'université de Bouira pour avoir participé à ce travail en offrant les mesures nécessaires pour que nous puissions comprendre les expériences effectuées pour les tests antifongiques.*

*Je remercie aussi les techniciennes de laboratoires M<sup>lle</sup> DJOUAHRA Mounia, M<sup>me</sup> HAMANI Siham et M<sup>me</sup> ROUANE Siham pour leur aide dans la réalisation de mes expériences, et leur bienveillance.*

*Un remerciement tout particulier à BENZITOUNE Nourelimane, qui m'a toujours accordé patience, me guidant constamment vers de nouvelles connaissances et formations enrichissantes en biochimie, et BOUTEMER Soumia pour sa disponibilité et son aide pour la récolte de mes plantes.*

*Je remercie également les membres de la salle d'Herbier de l'ENSA pour leur aide dans l'identification des plantes aromatiques récoltées dans la région de Bouira. Je leur adresse tout mon respect pour leur disponibilité.*

*Je tiens à remercier tous les doctorants biologistes de ma promo pour leur aide qui m'a permis de mener à bien cette recherche particulièrement. Que tous les étudiants que j'ai co-encadrés à la faculté SNV/ST, en particulier RAHMANI Ahlam et LARBI CHERIF Amina trouvent ici l'expression de mes remerciements pour leur contribution et leur sérieux.*

*Je remercie toute l'équipe de la faculté Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre. Je me dois de remercier également tous ceux et celles qui ont contribué, de près ou de loin, au bon déroulement de cette thèse.*

# *Table des matières*

**Remerciements**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction.....1**

## **Synthèses bibliographiques**

### **Chapitre I : Céréaliculture**

<b>I.1 Culture de blé.....</b>	<b>3</b>
<b>I.1.1 Origine de blé.....</b>	<b>3</b>
<b>I.1.2 Classification du blé.....</b>	<b>3</b>
<b>I.1.3 Différences entre blé tendre et le blé dur .....</b>	<b>4</b>
<b>I.1.4 Cycle biologique de blé .....</b>	<b>4</b>
<b>I.1.4.1 Période végétative .....</b>	<b>4</b>
<b>I.1.4.1.a Phase de germination .....</b>	<b>4</b>
<b>I.1.4.1.b Phase de tallage .....</b>	<b>5</b>
<b>I.1.4.2 Période reproductive .....</b>	<b>5</b>
<b>I.2 Stockage des produits céréaliers .....</b>	<b>6</b>
<b>I.2.1 Contraintes du stockage de céréales.....</b>	<b>6</b>
<b>I.2.1.1 Maladies fongiques des céréales stockées.....</b>	<b>7</b>
<b>I.2.1.2 Insectes ravageurs des céréales stockées.....</b>	<b>7</b>
<b>I.2.2 Gestion des silos de stockage .....</b>	<b>9</b>
<b>I.2.2.1 Prévention .....</b>	<b>9</b>
<b>I.2.2.2 Lutte chimique.....</b>	<b>9</b>
<b>I.2.2.3 Lutte biologique.....</b>	<b>10</b>

### **Chapitre II : Plantes médicinales et aromatiques**

<b>II.1 Plantes médicinales et aromatiques en Algérie.....</b>	<b>13</b>
<b>II.1.1 Récolte des plantes médicinales.....</b>	<b>13</b>
<b>II.1.2 Métabolites secondaires des plantes .....</b>	<b>13</b>
<b>II.1.2.1 Les polyphénols .....</b>	<b>14</b>
<b>II.1.2.2 Les flavonoides.....</b>	<b>14</b>
<b>II.1.2.3 Les tanins.....</b>	<b>14</b>

II.1.2.4 Les saponines.....	15
II.1.2.5 Les alcaloïdes.....	15
II.1.2.6 Les huiles essentielles.....	16
II.1.3 Procédés d'extraction.....	18
II.1.3.1 Méthodes de préparation des extraits végétaux.....	18
II.1.3.1.a Infusion.....	18
II. 1.3.1.b Macération.....	18
II.1.3.1.c Soxhelt.....	18
II.1.3.1.d Extraction assistée aux ultrasons .....	19
II.1.3.2 Techniques d'extraction des huiles essentielles .....	19
II.1.3.2.a Hydrodistillation.....	19
II.1.3.2.b Entraînement à la vapeur .....	20
II.1.3.2.c Expression à froid.....	21
II.1.3.2.d Hydrodistillation assistée par ultrasons.....	21
II.1.3.2.e Hydrodistillation assistée par micro-ondes.....	21
II.1.3.3 Comparaison entre les méthodes d'extraction conventionnelleset innovantes.....	22

## Partie Expérimentale

### Chapitre I : Préparation, extraction et analyses phytochimiques

I.1 Matériel et méthodes .....	24
I.1.1 Matériel végétal .....	24
I.1.1.1 Présentation des espèces végétales étudiées .....	24
I.1.1.1. a Menthe à feuilles rondes <i>M. rotundifolia</i> (L.) Huds.....	24
I.1.1.1. b Cyprès <i>Cupressus sempervirens</i> L.....	24
I.1.1.1. c Genévrier <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	25
I.1.1.1. d Asphodèle à fleurs blanches <i>Asphodelus microcarpus</i> Salzm& Viv.....	25
I.1.1.1. e Genet jaune <i>Cytisus scoparius</i> L.....	26
I.1.1.2 Préparation des poudres .....	26
I.1.2 Préparation, étude phytochimique qualitative et quantitative des extraits végétaux et des huiles essentielles.....	29
I.1.2.1 Extraction des huiles essentielles.....	29
I.1.2.2 Préparations des extraits phénoliques bruts.....	29
I.1.2.2.a Extraction par macération.....	29

I.1.2.2.b	Extraction assistée aux Ultrasons.....	30
I.1.2.3	Screening phytochimique qualitative des extraits végétaux.....	31
I.1.2.3.a	Caractérisation des alcaloïdes .....	31
I.1.2.3.b	Caractérisation des polyphénols .....	31
I.1.2.3.c	Caractérisation des flavonoïdes.....	32
I.1.2.3.d	Caractérisation des tanins .....	32
I.1.2.3.e	Caractérisation des saponines .....	32
I.1.2.3.f	Caractérisation des quinones libres .....	32
I.1.2.3.g	Caractérisation des anthraquinones .....	32
I.1.2.3.h	Caractérisation des stérols .....	33
I.1.2.3.i	Caractérisation des terpénoïdes.....	33
I.1.2.3.j	Sucres réducteurs.....	33
I.1.2.4	Analyse quantitative des extraits phénoliques.....	33
I.1.2.4.a	Dosage des polyphénols totaux .....	33
I.1.2.4.b	Dosage des flavonoïdes .....	34
I.1.2.4.c	Dosage des tanins .....	35
I.1.3	Méthodes d'analyse statistique.....	36
I.2	Résultats et discussion.....	36
I.2.1	Rendement en huile essentielle .....	36
I.2.2	Rendement sec d'extraction.....	37
I.2.3	Etude phytochimique qualitative des extraits végétaux.....	41
I.2.4	Etude phytochimique quantitative des extraits phénoliques.....	43
I.2.4.1	Dosage des polyphénols totaux.....	44
I.2.4.2	Dosage des flavonoïdes .....	46
		48

## **Chapitre II : Activités insecticides des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles**

II.1	Matériel et méthodes.....	51
II.1.1	Matériel biologique animal .....	51
II.1.3	Effet insecticide par contact des extraits bruts hydro-méthanolique, hydro-éthanolique, hydro-acétonique et aqueux.....	52
II.1.4	Effet insecticide des huiles essentielles de <i>C. sempervirens</i> , <i>J phoenicea</i> et <i>M. rotundifolia</i> .....	54
II.1.4.1	Toxicité par contact.....	54
II.1.4.2	Toxicité par inhalation.....	55
II.1.4.3	Test de répulsion .....	55

II.1.5 Analyse des résultats .....	56
II.2 Résultats et discussions .....	56
II.2.1 Effet insecticide par contact des extraits bruts vis-à-vis des adultes de <i>T. castaneum</i> Herbst.....	56
II.2.2 Toxicité par contact des extraits vis-à-vis des adultes de <i>R. dominica</i> (F.).....	61
II.2.3 Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielle de <i>C. sempervirens</i> et <i>J. phoenicea</i> et <i>M. rotundifolia</i> .....	66
II.2.3.1 Toxicité par contact.....	66
II.2.3.2 Toxicité par inhalation .....	68
II.2.3.3 Test de répulsion.....	71

### **Chapitre III : Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles**

III.1 Matériel et méthodes.....	77
III.1.1 Matériel fongique.....	77
III.1.1.1 Isolement et purification de la souche fongique phytopathogène « <i>Fusarium verticillioides</i> » .....	77
III.1.1.2 Identification de la souche fongique purifiée.....	77
III.1.2 Evaluation de l'activité antifongique des extraits bruts de <i>C. sempervirens</i> , <i>J. phoenicea</i> , <i>M. rotundifolia</i> , <i>C. scoparius</i> et <i>A. microcarpus</i> .....	79
III.1.3 Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de <i>C. sempervirens</i> , <i>J. phoenicea</i> , <i>M. rotundifolia</i> ,.....	79
III.1.4 Analyse statistique.....	80
III.2 Résultat et discussion.....	80
III.2.1 Effet des extraits bruts de <i>C. sempervirens</i> , <i>J. phoenicea</i> , <i>M. rotundifolia</i> , <i>C. scoparius</i> et <i>A. microcarpus</i> vis-à-vis de <i>F. verticillioides</i> .....	80
III.2.2 Evaluation de l'effet antifongique des huiles essentielles de <i>M. rotundifolia</i> , <i>C. sempervirens</i> et <i>J. phoenicea</i> sur la croissance mycélienne de <i>F. verticillioides</i> .....	86

### **Chapitre IV : Effet des traitements sur la germination des graines de blé et sur la croissance des plantules**

IV.1 Matériel et méthodes .....	90
IV.1.1 Echantillons de semences .....	90
IV.1.2 Préparation des extraits végétaux aqueux et des huiles essentielles.....	90
IV.1.3 Traitement des semences aux extraits aqueux, aux huiles essentielles et aux pesticides.....	90
IV.1.4 Test de germination des semences .....	91
IV.1.5 Influence des traitements sur la croissance des plantules .....	92
IV.1.6 Teneur moyenne en eau des parties aériennes et racinaires des plantules.....	92
IV.1.7 Analyse des résultats.....	93
IV.2 Résultats et discussion.....	93

<b>IV.2.1</b> Taux de germination.....	<b>93</b>
<b>IV.2.2</b> Influence des traitements sur la croissance des plantules .....	<b>95</b>
<b>IV.2.3</b> Teneur moyenne en eau des parties aériennes et racinaires des plantules.....	<b>97</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>103</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>106</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé</b>	

## *Liste des abréviations*

<b>CCLS</b>	Coopérative des céréales et des légumineuses
<b>DMSO</b>	Dimethylsulfoxyde
<b>EAU</b>	Extraction assistée aux Ultrasons
<b>EM</b>	Extraction par macération
<b>FCI</b>	Folin ciocalteu
<b>HE</b>	Huile essentielle
<b>LR</b>	Longueur des racines
<b>LT</b>	Longueur des tiges
<b>PDA</b>	Potato Dextrose Agar
<b>ppm</b>	Partie par million
<b>TG</b>	Taux de germination
<b>UV</b>	Ultraviolet

## Liste des figures

N°	Titre	Page
<b>Figure 1</b>	Cycle biologique de blé	6
<b>Figure 2</b>	Structures chimiques de principaux composés phénoliques	17
<b>Figure 3</b>	Montage de Soxhlet	19
<b>Figure 4</b>	Montage de l'hydrodistillation	20
<b>Figure 5</b>	Montage de l'entraînement à la vapeur	20
<b>Figure 6</b>	Schéma du procédé de l'extraction assistée aux Ultrasons	21
<b>Figure 7</b>	Schéma du procédé de l'extraction assistée par micro-ondes	22
<b>Figure 8</b>	Zones de récolte des espèces végétales	27
<b>Figure 9</b>	Parties de plantes utilisées	28
<b>Figure 10</b>	Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	29
<b>Figure 11</b>	Extraction par macération	30
<b>Figure 12</b>	Extraction dans un bain à Ultrasons	30
<b>Figure 13</b>	Courbe d'étalonnage acide gallique ( $\mu\text{g/ml}$ )	34
<b>Figure 14</b>	Courbe étalonnage quercétine ( $\mu\text{g/ml}$ )	34
<b>Figure 15</b>	Courbe d'étalonnage acide tannique ( $\mu\text{g/ml}$ )	35
<b>Figure 16</b>	Courbe d'étalonnage catéchine ( $\mu\text{g/ml}$ )	36
<b>Figure 17</b>	Rendement sec en % des extraits obtenus par extraction assistée aux Ultrasons	38
<b>Figure 18</b>	Rendement sec en % chez les extraits obtenus par macération 48h	38
<b>Figure 19</b>	Teneurs des extraits végétaux en polyphénols exprimées en mg EAG/g	45
<b>Figure 20</b>	Teneurs des extraits végétaux en flavonoïdes exprimées en mg EQ/g	47
<b>Figure 21</b>	Teneurs des extraits végétaux en tanins hydrolysables exprimées en $\mu\text{g}$ EAT/g	48
<b>Figure 22</b>	Teneurs des extraits végétaux en tanins condensés exprimées en mg EC/g	49
<b>Figure 23</b>	<i>Rhyzopertha dominica</i> (F.)	52
<b>Figure 24</b>	<i>Tribolium castaneum</i> Herbst	52
<b>Figure 25</b>	Distribution des insectes dans des boites en verre pour les tests	53
<b>Figure 26</b>	Lots des tests de contact	53
<b>Figure 27</b>	Vérification de la mortalité chez les adultes de <i>R. dominica</i> (F.)	54
<b>Figure 28</b>	Vérification de la mortalité chez les adultes <i>T. castaneum</i> Herbst	54
<b>Figure 29</b>	Application des huiles essentielles sur la surface dorsale des insectes	54
<b>Figure 30</b>	Test par inhalation des huiles essentielles	55
<b>Figure 31</b>	Test de répulsion	56
<b>Figure 32</b>	Taux de mortalité (%) chez les adultes de <i>T. castaneum</i> Herbst après cinq jours d'exposition	58
<b>Figure 33</b>	Taux de mortalité (%) chez les adultes de <i>T. castaneum</i> Herbst après dix jours d'exposition	59
<b>Figure 34</b>	Taux de mortalité (%) chez les adultes de <i>T. castaneum</i> Herbst après quinze jours d'exposition	60
<b>Figure 35</b>	Taux de mortalité (%) chez les adultes de <i>R. dominica</i> (F.) après cinq jours	62

	d'exposition	
<b>Figure 36</b>	Taux de mortalité (%) chez les adultes de <i>R. dominica</i> (F.) après dix jours d'exposition	<b>63</b>
<b>Figure 37</b>	Taux de mortalité (%) chez les adultes de <i>R. dominica</i> (F.) après quinze jours d'exposition	<b>64</b>
<b>Figure 38</b>	Taux de mortalité enregistré par le test de contact de l'huile essentielle de <i>C. sempervirens</i> chez les adultes de <i>T. castaneum</i> Herbst et <i>R. dominica</i> (F.)	<b>67</b>
<b>Figure 39</b>	Taux de mortalité enregistré par le test de contact de l'huile essentielle de <i>J. phoenicea</i> L chez les adultes de <i>T. castaneum</i> Herbst et <i>R. dominica</i> (F.)	<b>67</b>
<b>Figure 40</b>	Taux de mortalité enregistré par le test de contact de l'huile essentielle de <i>M. rotundifolia</i> chez les adultes de <i>T. castaneum</i> Herbst et <i>R. dominica</i> (F.)	<b>68</b>
<b>Figure 41</b>	Taux de mortalité enregistré par le test d'inhalation avec l'huile essentielle de <i>C. sempervirens</i> chez les adultes de <i>T. castaneum</i> Herbst et <i>R. dominica</i> (F.)	<b>69</b>
<b>Figure 42</b>	Taux de mortalité enregistré par le test d'inhalation avec l'huile essentielle de <i>J. phoenicea</i> chez les adultes de <i>T. castaneum</i> Herbst et <i>R. dominica</i> (F.)	<b>69</b>
<b>Figure 43</b>	Taux de mortalité enregistré par le test d'inhalation avec l'huile essentielle de <i>M. rotundifolia</i> (L.) chez les adultes de <i>T. castaneum</i> Herbst et <i>R. dominica</i> (F.)	<b>70</b>
<b>Figure 44</b>	Pourcentage de répulsion chez les adultes de <i>T. castaneum</i> Herbst et <i>R. dominica</i> (F.) par l'huile essentielle de <i>C. sempervirens</i>	<b>72</b>
<b>Figure 45</b>	Pourcentage de répulsion chez les adultes de <i>T. castaneum</i> Herbst et <i>R. dominica</i> (F.) par l'huile essentielle de <i>J. phoenicea</i>	<b>72</b>
<b>Figure 46</b>	Pourcentage de répulsion chez les adultes de <i>T. castaneum</i> Herbst et <i>R. dominica</i> (F.) par l'huile essentielle de <i>M. rotundifolia</i> .	<b>73</b>
<b>Figure 47</b>	Purification de la souche fongique	<b>77</b>
<b>Figure 48</b>	Caractères macroscopiques	<b>78</b>
<b>Figure 49</b>	Observation microscopique	<b>78</b>
<b>Figure 50</b>	Préparation des boîtes de Pétri avec différentes concentrations	<b>79</b>
<b>Figure 51</b>	Taux d'inhibition de la croissance mycélienne par les extraits bruts de <i>C. sempervirens</i>	<b>81</b>
<b>Figure 52</b>	Taux d'inhibition de la croissance mycélienne par les extraits bruts de <i>J. phoenicea</i>	<b>82</b>
<b>Figure 53</b>	Taux d'inhibition de la croissance mycélienne par les extraits bruts de <i>M. rotundifolia</i>	<b>83</b>
<b>Figure 54</b>	Taux d'inhibition de la croissance mycélienne par les extraits bruts de <i>C. scoparius</i>	<b>83</b>
<b>Figure 55</b>	Taux d'inhibition de la croissance mycélienne par les extraits bruts d' <i>A. microcarpus</i> .	<b>87</b>
<b>Figure 56</b>	Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne par l'huile essentielle <i>C. sempervirens</i>	<b>87</b>
<b>Figure 57</b>	Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne par l'huile essentielle <i>J. phoenicea</i>	<b>87</b>
<b>Figure 58</b>	Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne par l'huile essentielle de <i>M. rotundifolia</i> L. Huds	<b>90</b>
<b>Figure 59</b>	Semence de blé utilisé	<b>90</b>

<b>Figure 60</b>	Traitement des graines par extraits aqueux et huiles essentielles	<b>91</b>
<b>Figure 61</b>	Test de germination	<b>91</b>
<b>Figure 62</b>	Semence de graines de blé	<b>92</b>
<b>Figure 63</b>	Récupération des plantules	<b>92</b>
<b>Figure 64</b>	Taux de germination des quatre variétés de blé traitées aux extraits aqueux aqueux	<b>93</b>
<b>Figure 65</b>	Taux de germination des quatre variétés de blé traitées aux huiles essentielles	<b>94</b>
<b>Figure 66</b>	Taux de germination des quatre variétés de blé traitées aux Tébuconazole et Pirimiphos-methyl	<b>95</b>
<b>Figure 67</b>	Pourcentage d'inhibition de la longueur des tiges (ILT) et des racines (ILR) rapporté pour les semences traitées par extraits aqueux	<b>96</b>
<b>Figure 68</b>	Pourcentage d'inhibition de la longueur des tiges (ILT) et des racines (ILR) rapporté pour les semences traitées par les huiles essentielles	<b>96</b>
<b>Figure 69</b>	Pourcentage d'inhibition de la longueur des tiges (ILT) maximal rapporté pour les semences traitées par le Tébuconazole et le Pirimiphos-methyl	<b>97</b>
<b>Figure 70</b>	Teneur en eau des plantules de blé dur et blé tendre, témoin et traitées au extraits aqueux des plantes	<b>98</b>
<b>Figure 71</b>	Teneur en eau des plantules de blé dur et blé tendre, témoin et traitées au huiles essentielles des plantes	<b>99</b>
<b>Figure 72</b>	Teneur en eau des plantules de blé dur et blé tendre, témoin et traitées au Tébuconazole et au Pirimiphos-methyl	<b>99</b>

## *Liste des tableaux*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Classification du blé dur et blé tendre	<b>3</b>
<b>Tableau 2</b>	Critères de différences entre blé dur et blé tendre	<b>4</b>
<b>Tableau 3</b>	Insectes ravageurs les plus fréquents en silos de stockage	<b>8</b>
<b>Tableau 4</b>	Efficacité des plantes vis-à-vis des insectes ravageurs des denrées stockées	<b>11</b>
<b>Tableau 5</b>	Efficacité des plantes contre des champignons phytopathogènes	<b>12</b>
<b>Tableau 6</b>	Comparaison entre les méthodes d'extraction conventionnelles et celles assistées par micro-ondes	<b>23</b>
<b>Tableau 7</b>	Zones de la récolte des espèces végétales étudiées	<b>31</b>
<b>Tableau 8</b>	Rendement des huiles essentielles (%)	<b>36</b>
<b>Tableau 9</b>	Résultats du screening phytochimique des extraits de différentes espèces végétales	<b>41</b>
<b>Tableau 10</b>	Estimation des CL <sub>50</sub> (μ/l d'air) des huiles essentielles par contact	<b>70</b>
<b>Tableau 11</b>	Estimation des valeurs de CL <sub>50</sub> (μ/l d'air) des huiles essentielles par inhalation	<b>71</b>



# ***Introduction***

---

## **Introduction**

Les graminées furent, avec les légumes et les fruits, les aliments de base de tous les peuples depuis l'Antiquité, dans beaucoup de pays en développement particulièrement dans les pays Maghrébins. Les céréales, principalement les blés sont les premières plantes introduites en cultures, en raison de leurs nombreux caractères favorables pour l'alimentation humaine et animale ainsi que pour la facilité de leur stockage et de transport (**Djermoun, 2009 ; Moule, 1971 ; Yves et De buyser, 2001**).

Depuis l'indépendance, l'Algérie a mis en place différentes politiques et interventions étatiques visant à améliorer la production de céréales, en particulier le blé dur. Les céréales occupent près de 50% de la superficie agricole utile du pays et fournissent une part importante des apports énergétiques et protéiques de la population. Cependant, la production nationale était insuffisante pour couvrir les besoins du pays, ce qui conduit à des importations massives de céréales, principalement de blé dur (**Morsli, 2010**). Toutefois, en Algérie, selon **FAO (2020)** les estimations du stock de blé varient de 5.3 Millions de tonnes pour 2018 à 6.6 Millions de tonnes pour 2020.

Les récoltes agricoles destinées à la consommation humaine et animale peuvent être mises en péril en raison d'incidences causées par des ravageurs de tout genre. Ces derniers sont regroupés en différentes catégories : les macro-organismes tels que les acariens, les insectes, les limaces, les rongeurs, et les oiseaux, ainsi que les micro-organismes pathogènes comme les virus, les bactéries et les champignons (**Bettahar, 2016 ; Oerke, 2006**).

Généralement, l'utilisation des pesticides chimiques en agriculture a pour objectif de gérer les populations nuisibles des cultures, durant la période de production, de transformation, d'entreposage et de stockage des denrées alimentaires. Selon la cible à contrôler, la classification des pesticides repose sur trois grandes catégories, à savoir les herbicides qui servent à l'élimination des adventices de cultures, les insecticides pour contrôler et détruire les insectes ravageurs, et les fongicides qui permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques (**Hassen et al., 2020**).

Cependant, l'usage successif et irraisonnable de pesticides chimiques suscite de nombreuses inquiétudes liées notamment à leurs impacts nocifs sur l'être humain et sur les écosystèmes terrestres. Par ailleurs, la résistance des insectes aux pesticides de synthèse est l'un des principaux méfaits de l'application répétée de ces produits (**Guèye et al., 2011 ; Rani et al., 2021**).

Les troubles provoqués par l'utilisation de la lutte chimique sur les écosystèmes ont conduit les acteurs de l'agriculture à développer une lutte biologique utilisée notamment contre les ravageurs des

cultures. La lutte biologique est caractérisée par son innocuité, sa spécificité, son acceptabilité sociale potentielle, et l'absence de développement de résistance chez les nuisibles (Lambert, 2010). Récemment, les différentes applications des plantes médicinales prennent progressivement une place très importante dans les domaines agrobiologiques en raison de leur efficacité antibactérienne, antifongique, insecticide et antioxydante (Armengol, 2021 ; Kumar *et al.*, 2021 ; Tlak Gajger, 2021).

Cette thèse est une contribution à la valorisation des ressources naturelles, pour une meilleure connaissance de plusieurs plantes aromatiques en Algérie. Le travail est focalisé sur cinq espèces végétales autochtones de la région de Bouira, à savoir : le cyprès : *Cupressus sempervirens* L., le genévrier : *Juniperus phoenicea* L., la menthe à feuilles rondes : *Mentha rotundifolia* (L.) Huds, le genet jaune : *Cytisus scoparius* L. et l'asphodèle à fleurs blanches : *Asphodelus microcarpus* Salzm & Viv. Ce manuscrit est structuré en deux grandes parties :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique répartie en deux chapitres :

- Le premier chapitre traite les techniques de stockage de blé, les causes de ses altérations et les différents moyens de lutte.
- Le second chapitre est consacré à la présentation des plantes médicinales et aromatiques.

La deuxième partie est dédiée à l'expérimentation qui est dévisée en quatre chapitres :

- Le premier chapitre renferme la présentation du matériel végétal utilisé ainsi que la préparation des extraits phénoliques et des huiles essentielles, incluant l'étude phytochimique qualitative et quantitative de nos extraits.
- Le deuxième chapitre est consacré à l'évaluation de la toxicité des extraits et des huiles essentielles obtenus vis-à-vis de *Rhizopertha dominica* (F.) et *Tribolium castaneum* Herbst.
- Le troisième chapitre a traité l'isolement et la caractérisation microscopique de la souche fongique de *Fusarium verticillioides* et l'étude de l'activité antifongique *in vitro* des extraits et des huiles essentielles obtenus.
- Dans le quatrième chapitre, l'effet des extraits végétaux aqueux, des huiles essentielles, et de deux pesticides chimiques sur la germination des graines de blé dur et du blé tendre.

Cette thèse se termine par une conclusion générale et par des perspectives.



*Synthèses  
bibliographiques*

A decorative rectangular frame with a double-line border and ornate, curved corners. The text is centered within this frame.

*Chapitre I*  
*Céréaliculture*

## Chapitre I : Céréaliculture

### I.1 Culture de blé

#### I.1.1 Origine de blé

Les premières céréales cultivées dans le monde étaient originaires de la région sud-est de la Turquie, il s'agit des blés diploïdes et tétraploïdes ; la culture s'est propagée après au Proche-Orient lorsque le blé panifiable hexaploïde a fait sa première apparition. Ces variétés sont sélectionnées par les agriculteurs, essentiellement pour leur rendement supérieur et leur forme précoce (**Bonjean, 2001 ; Shewry, 2009**).

La date de l'initiation de la culture des blés se situerait, selon les archéologues, entre 8900 et 7000 avant *JC*. Ceci correspond au début de la période de Dryas qui fut localement un épisode climatique de sécheresse et de refroidissement, qui a pu aboutir à l'arrêt progressif du mode de vie. (**Bonjean, 2001 ; Hayden, 1990 ; Wadley et Martin, 1993**).

En Afrique, les blés se diffusaient par plusieurs vois, dont la route la plus ancienne gagna l'Égypte et se poursuivit après vers le Soudan et l'Éthiopie au sud, et vers la Libye à l'est. D'autres voies d'introduction furent maritimes, à partir de la Grèce, de la Crète et d'autres, en provenance du Sud de la péninsule italienne et de la Sicile, parvinrent aux côtes de la Tunisie, du Maroc et de l'Algérie (**Bonjean, 2001**).

#### I.1.2 Classification du blé

Selon **Feillet (2000)** et **Clech (2000)**, la taxonomie de blé (dur et tendre) est établie comme suit :

**Tableau 1** : Classification du blé dur et blé tendre

<b>Classe</b>	Angiospermes	
<b>Ordre</b>	Monocotylédones	
<b>Famille</b>	Poacées (Graminées)	
<b>Genre</b>	<i>Triticum</i>	
<b>Espèce</b>	<i>Triticum durum</i>	<i>Triticum aestivum</i>
<b>Nom commun</b>	Blé dur	Blé tendre

### I.1.3 Différences entre blé tendre et le blé dur

Les différences existantes entre un blé tendre et un blé dur sont résumées dans le tableau suivant :

**Tableau 2** : Critères de différences entre blé dur et blé tendre (Aidani, 2015)

Critères	Blé tendre	Blé dur
<b>Aspect Génétique</b>	3 génomes	2 génomes
<b>Prédominance</b>	Amidon	Protéine
<b>Aspect</b>	Feuilles très étroites Maturation très rapide	Feuilles larges Maturation très longue moisson tardive exigeante du point de vue sol et climat
<b>Morphologie</b>	Texture opaque	Texture vitreuse
<b>Utilisation</b>	Obtention de la farine Fabrication du pain et des biscuits.	Obtention de la semoule Fabrication de la galette, du couscous et des pâtes alimentaires

### I.1.4 Cycle biologique de blé

Le cycle biologique annuel du blé se compose de plusieurs phases au cours desquelles la plante passe par une série d'étapes séparées par des stades repères (**Fig. 1**). Ceux-ci permettent de diviser le cycle en deux périodes à savoir la période végétative et la période reproductive (**Ouanzar, 2012**).

#### I.1.4.1 Période végétative

##### I.1.4.1.a Phase de germination

Le stade végétatif de la levée est noté lorsque 50 % des plantes émergent de terre. Le blé passe par plusieurs étapes afin d'atteindre la phase de tallage (**Fig. 2**). La germination commence par la phase intermédiaire (Semis-levée) entre la date de semis et la date de levée ; elle comprend la germination, l'élongation de la coléoptile, et la croissance de la première feuille qui perce en sommet la coléoptile. La deuxième phase (Levée) est caractérisée par l'apparition de la 1ère feuille traversant la coléoptile, enveloppée par une gaine rigide et protectrice. Un nombre de feuilles définie entassées en position

alternée de la base jusqu'au tiers médian de l'apex croissent et émergent les unes après les autres selon un rythme régulier (Stade 2 – 3 feuilles) (**Gate, 1995 ; Henry et Buysen, 2000**).

#### **I.1.4.1.b Phase de tallage**

Une nouvelle tige apparaît sur le maître-brin à l'aisselle de la feuille la plus âgée. L'émergence de cette première talle hors de la gaine de la première feuille constitue le repère conventionnel du stade début tallage. Le nombre de talles émis par la plante est très variable : il dépend notamment de la densité de semis, des conditions climatiques et de la variété (**Gate, 1995 ; Ouanzar, 2012**).

#### **I.1.4.2 Période reproductive**

Le début de cette phase est marqué par une différenciation de l'ébauche d'épillet sur l'apex, ce stade marque la transformation du bourgeon végétatif en bourgeon floral. Le stade suivant est repéré par l'apparition de deux renflements latéraux qui apparaissent sur l'épillet, ce sont les ébauches des glumes. Dès le début de la montaison, une différenciation commence au niveau des pièces florales (glumelles et organes sexuels). Au stade gonflement, l'inflorescence monte en grossissement dans les gaines des différentes feuilles. La gaine de la dernière feuille s'allonge et se gonfle, ce qui conduit peu après à l'apparition de l'inflorescence en forme d'épi qui sort de cette gaine. La fécondation et l'anthèse ont lieu de quelques jours après l'épiaison (**Belaid, 1996 ; Boufenar et Zaghouane, 2006**).

Généralement, la production des céréales dépend des caractéristiques phénologiques, physiologiques. En très grande partie, des interactions des différents facteurs climatiques et nutritionnels du milieu qui agissent sur le développement et le potentiel de croissance. Certaines variétés de céréales accomplissent leur cycle de développement avant l'installation de la contrainte hydrique afin d'éviter les périodes difficiles pour la croissance. Il est donc noté que la précocité constitue un mécanisme important d'évitement de la sécheresse de fin de cycle (**Hsissou, 1994 ; Slama et al., 2005 ; Triboï et Ntonga, 1993**).

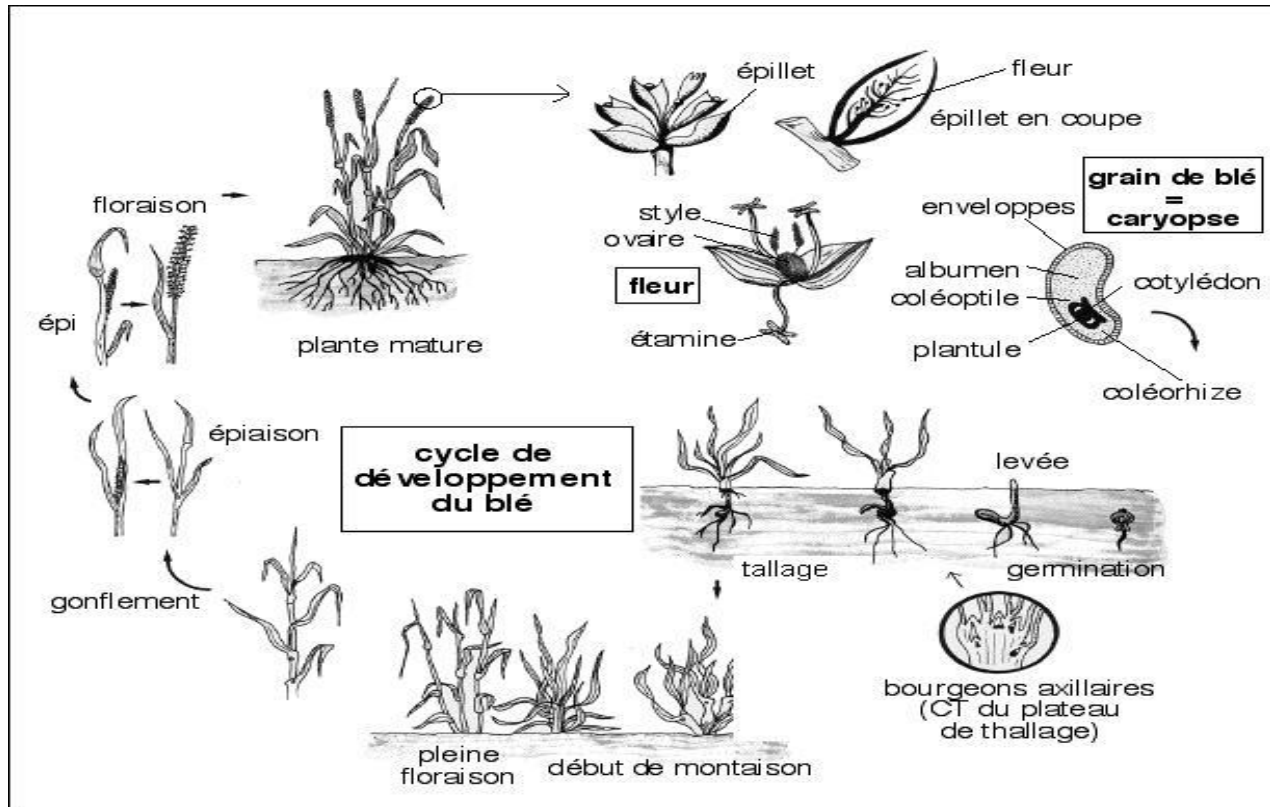


Figure 1 : Cycle biologique de blé

[http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/biodiversite/dossiers-thematiques/poacees/ressources-pour-le-dossier-ble/cycle-vie.jpg/image\\_view\\_fullscreen](http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/biodiversite/dossiers-thematiques/poacees/ressources-pour-le-dossier-ble/cycle-vie.jpg/image_view_fullscreen)

## I.2. Stockage des produits céréaliers

D'après **Dupré (1991)**, les silos sont considérés comme les meilleurs lieux de stockage des produits alimentaires solides tels que les céréales, pour une longue période de temps. En effet, ils sont reconnus pour leur praticité, leur facilité d'utilisation et d'entretien. Le stockage des grains est une opération complexe qui demande la prise en considération de tous les multiples paramètres de l'endroit tels que l'humidité, la température et l'aération. D'ailleurs, il s'avère que durant le stockage, ces denrées alimentaires peuvent subir des altérations plus au moins prononcées suite au métabolisme du grain et des déprédateurs (**Doukani, et al., 2013 ; Karima, et al., 2013**).

### I.2.1 Contraintes du stockage de céréales

Les altérations physiques des stocks de céréales peuvent résulter de la présence de diverses impuretés, de débris et de grains endommagés, ou plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de cette contamination (**Bettahar, 2016**).

**I.2.1.1 Maladies fongiques des céréales stockées**

En général, le développement des champignons phytopatogènes est favorisé dans les pays aux conditions climatiques chaudes et humides. Les moisissures causent à la fois des dégâts quantitatifs et qualitatifs en plein champ et dans les stocks, en développant des métabolites toxiques appelés des mycotoxines, provoquant des maladies connues sous le nom de mycotoxicose dues à l'accumulation de ces toxines dans les aliments. Les céréales sont les principaux vecteurs de mycotoxines car elles sont universellement consommées par l'homme et par les animaux (**Bettahar, 2016**).

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques sécrétés par des champignons filamenteux, appartenant essentiellement aux genres *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium*, dans les productions alimentaires d'origine végétale. Par exemple, le *Fusarium verticillioides*, est un champignon phytopathogène et mycotoxinogène qui peut causer des dommages importants aux céréales stockées. Cette souche est connue pour sa capacité à produire d'importantes quantités de fumonisines potentiellement dangereuses pour la santé humaine et animale (**Chelaghema, 2021 ; Leslie et Summerell, 2008**).

**I.2.1.2 Insectes ravageurs des céréales stockées**

Le processus de réchauffement des grains de céréales mal conservés peut favoriser l'installation et le développement des insectes ravageurs. En effet, ces derniers consomment le grain et peuvent provoquer des montées de température en raison de leurs activités métaboliques. La prolifération d'insectes représente un danger non seulement en termes d'hygiène mais aussi pour celui de la conservation des grains (**Bettahar, 2016 ; Fourar, 2013 ; Moule, 1971**).

Il existe environ 900 espèces d'insectes dans le monde qui appartiennent à cette catégorie. Il s'agit d'insectes qui nuisent aussi bien aux denrées et produits dérivés entreposés d'origine végétale, ainsi qu'à une multitude de produits manufacturés. Les pertes les plus importantes sont infligées par différentes espèces appartiennent aux plusieurs ordres. Beaucoup de travaux font référence à l'attaque et à la déperdition des stocks de céréales et de légumineuses par les insectes (**Adjalian et al., 2014 ; Benlameur, 2016**).

Les insectes ravageurs primaires sont les plus dangereux, car ils peuvent endommager les graines intactes, ce qui permet aux larves de se développer à l'intérieur de ces graines. Ils permettent également l'infestation du stock par les ravageurs secondaires et tertiaires qui s'alimentent essentiellement des graines endommagées. Les graines qui présentent de petits trous peuvent contenir

des larves de ravageurs primaires, et les laisser dans un silo revient à y introduire des insectes adultes (de Groot, 2004).

Le **tableau 3** résume les différents ordres d’insectes ravageurs les plus abondants dans les produits céréaliers stockés :

**Tableau 3** : Insectes ravageurs fréquents en silos de stockage (Benlameur, 2016)

<b>Ordre</b>	<b>Famille</b>	<b>Nom commun</b>	<b>Nom scientifique</b>
<b>Coléoptère</b>	Tenebrionidae	Tribolium brun	<i>Tribolium confusum</i>
		Tribolium rouge	<i>Tribolium castaneum</i>
	Bostrichidae	Capucin des grains	<i>Rhyzopertha dominica</i>
	Silvanidae	Silvain	<i>Oryzaephilus surinamensis</i>
			<i>Oryzaephilus mercator</i>
	Cucujidae	Petit ver des grains	<i>Cryptolestes ferrugineus</i>
	Bruchidae	Bruche	<i>Callosobruchus maculatus</i>
Curculionidae	Charançon des grains Charançon du riz Charançon du maïs	<i>Sitophilus granarius</i>	
		<i>Sitophilus oryzae</i>	
		<i>Sitophilus zeamais</i>	
<b>Lépidoptère</b>	Tineidae	Teigne de blé	<i>Nemapogon granella</i>
	Pyralidae	Teigne de la farine	<i>Anagasta kuehniella</i>
		Pyrale de la farine	<i>Pyralis farinalis</i>
<b>Psocoptères</b>	Liposcelididae	Psoque	<i>Liposcelis sp</i>
		<i>Liposcelis paetus</i>	
		<i>Liposcelis entomophilus</i>	

## **I.2.2 Gestion des silos de stockage**

### **I.2.2.1 Prévention**

Selon **de Groot (2004)**, il est donc essentiel de mettre en place des mesures préventives d'hygiène pour minimiser les risques et garantir une qualité optimale des stocks de céréales :

- Les murs des zones de stockage doivent être blanchis car la couche de la peinture bouche les très petits trous qui servent de cachette aux insectes.
- Les sols doivent être lavés régulièrement et les résidus doivent être immédiatement détruits.
- La nouvelle récolte ne doit jamais être stockée avec les restes de la récolte précédente.
- Le séchage des semences fraîchement récoltées prévient la germination des graines, la croissance des bactéries et des moisissures et réduit les conditions favorables au développement des insectes.

### **I.2.2.2 Lutte chimique**

Les pesticides chimiques sont couramment utilisés pour protéger les grains en stockage contre les insectes ravageurs et les moisissures. Les produits de contact sous forme de poudre contiennent des faibles concentrations des matières actives qui peuvent être mélangées au grain au moment du stockage. D'autre part, les produits fumigatoires sous forme de gaz se diffusent dans l'ensemble du conteneur pour éliminer les nuisibles. Le choix du pesticide et de la méthode d'application dépend du type de grain et du conteneur utilisé (**de Groot, 2004**).

Bien que les pesticides soient efficaces et économiques, ils ont entraîné des effets secondaires inattendus tels que l'épuisement de l'ozone, la pollution environnementale, la résistance des ravageurs, ainsi que la nocivité pour l'organisme. En Afrique, environ 30% des produits commercialisés ne répondent pas aux normes de qualité internationale en raison du manque de moyen de contrôle efficace (**Boileau, 2015 ; Cissokho et al., 2015 ; Isman, 2006**).

### **I.2.2.3 Lutte physique**

Il existe diverses méthodes de lutte physique utilisées depuis longtemps pour le stockage des grains. Parmi celles-ci, le chauffage par convection est employé pour combattre les insectes des grains, comme l'ont souligné **Bareil et Crépon (2018)** ainsi que **Tilley et al., (2007)**. Par ailleurs, le chauffage par ondes électromagnétiques repose sur le transfert d'énergie d'une onde vers un matériau diélectrique,

induisant ainsi la production de chaleur par la rotation de molécules polaires ou d'ions, selon l'étude menée par **Tang et Wang (2007)**.

#### **I.2.2.4 Lutte biologique**

##### **I.2.2.4.a Définition**

La lutte biologique en agriculture peut être définie comme une méthode de lutte contre les nuisibles au moyen d'organismes naturels antagonistes ou substances d'origine naturelle synthétisée par ces derniers, et plus généralement tout produit de protection des plantes qui n'est pas issu de la chimie. Les biopesticides comprennent les agents de contrôle des insectes auxiliaires, et des bactéries entomophages, ainsi que les insecticides d'origine végétale et les molécules de synthèse biologique tels que les phéromones et les molécules allélochimiques (**Caron et al., 2006 ; Ndzana Abanda, 2012 ; Van Lenteren, 2012**).

##### **I.2.2.4.b Biopesticides végétaux**

Les plantes produisent des substances actives ayant des propriétés insecticides, aseptiques ou encore régulatrices de la croissance. Le plus souvent, ces substances actives sont des métabolites secondaires qui, à l'origine, protègent les végétaux des herbivores (**Deravel et al., 2013**). Les extraits végétaux et les huiles essentielles sont les produits les plus évalués actuellement, présentant plusieurs avantages par rapport aux composés synthétiques à cause de leur biodégradation rapide et la réduction des risques pour l'environnement (**Basaid et al., 2021 ; Tavares et al., 2021**).

Les extraits de plantes ont peu d'impacts négatifs sur les auxiliaires par rapport à ceux occasionnés par les pesticides d'origine chimique. En effet, leur application permet de maintenir un équilibre écologique entre ravageurs et auxiliaires, qui est beaucoup plus en faveur de la lutte biologique que le déséquilibre écologique causé par l'usage des pesticides d'origine chimiques (**Mochiah et al., 2011 ; Wainwright et al., 2013 ; Yarou et al., 2017**).

Dans l'étude effectuée par **Amoabeng et al., (2013)**, il y est constaté que la population de certains auxiliaires et des araignées prédatrices était plus importante sur les parcelles traitées avec des extraits végétaux comparées à celles traitées par des insecticides de synthèse. De plus, la faible rémanence est l'avantage des extraits végétaux ce qui les rend moins dangereux que les pesticides de synthèse, même si certains extraits de plantes comme la nicotine peuvent être toxiques à certaines doses sur les organismes vivants (**Slotkin et al., 2016 ; Wainwright et al., 2013**).

Des nouvelles stratégies attractives et très avantageuses commencent à émerger. Par conséquent, plusieurs tests biologiques (**Tab. 4 et 5**), ont examiné l'efficacité des extraits végétaux et huiles essentielles de plantes médicinales en tant qu'agents bioactifs (insecticide et fongicide) susceptibles d'être intégrés dans le programme de la lutte intégrée contre divers ravageurs des produits stockés (**Pandey et Singh, 2017**).

**Tableau 4 :** Efficacité des plantes vis-à-vis des insectes ravageurs des denrées stockées

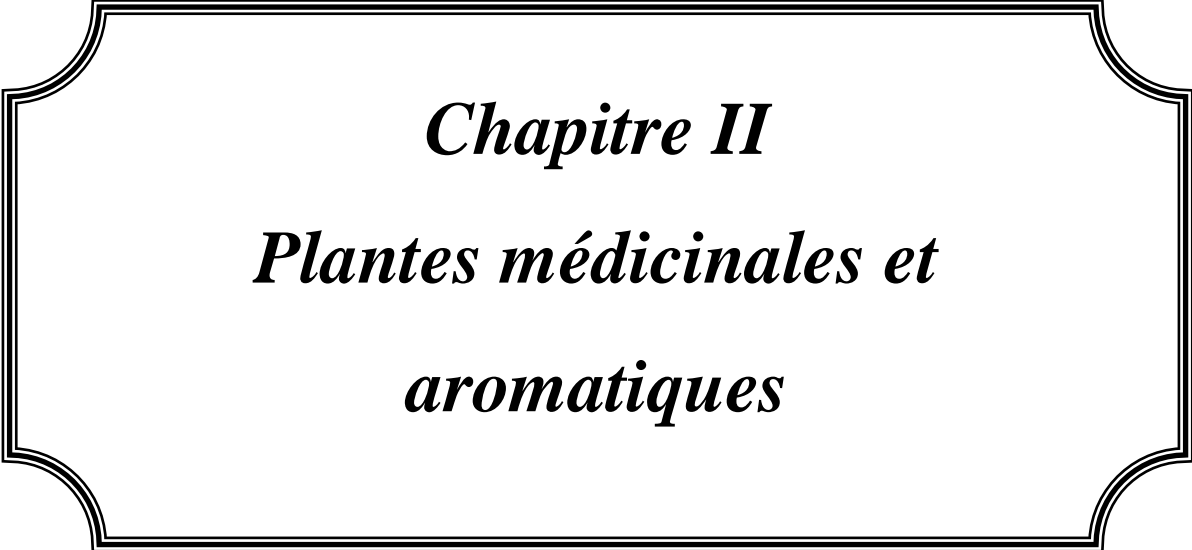
<b>Famille</b>	<b>Espèce végétale</b>	<b>Organe utilisé</b>	<b>Huile/ extrait</b>	<b>Ravageur cible</b>	<b>Auteurs</b>
<b>Asteraceae</b>	<i>Achillea biebersteinii</i>	Parties arienne	Huile essentielle	<i>T. castaneum</i>	<b>Nenaah (2014)</b>
	<i>Achillea wilhelmsii</i>	Fuille	Huile Essentielle	<i>T. castaneum and C. maculatus</i>	<b>Khani et Asghari (2012)</b>
	<i>Artemisia sieversiana</i>	Partie aeriennne	Huile essentielle	<i>S. zeamais</i>	<b>Liu et al., (2010)</b>
	<i>Dittrichia viscosa</i>	Partie aérienne	Extrait aqueux	<i>R. dominica S. oryzae T. confusum</i>	<b>Lampiri et al., (2020)</b>
	<i>Tithonia diversifolia</i>	Feuilles	Extrait méthanolique	<i>C. maculatus</i>	<b>Green et al., (2017)</b>
<b>Lamiaceae</b>	<i>Lavandula hybrida</i>	Feuille	Huile essentielle	<i>S. zeamais,</i>	<b>Cosimi et al., (2009)</b>
	<i>Ocimum basilicum</i>	Feuille	Huile essentielle	<i>T. granarium</i>	<b>Tripathi et Kumar (2007)</b>
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Feuilles tiges fleurs	Huile essentielle	<i>S. zeamais.</i>	<b>Nerio et al., (2009).</b>
	<i>Thymus daenensis</i>	Feuilles	Huile essentielle	<i>L. decemlineata</i>	<b>Taghizadeh-Sarikolaei et al., (2014).</b>
	<i>Agastache foeniculum</i>	Partie airenne	Huile essentielle	<i>O. surinamensis L. serricorne</i>	<b>Ebadollahi et al., (2010).</b>
	<i>M. arvensis</i>	Feuilles	Huile essentielle	<i>C. chinensis</i>	<b>Kumar et al., (2009).</b>
	<i>M. longifolia (L.) Huds.</i>	Feuilles	Huile essentielle	<i>S. zeamais</i>	<b>Odeyemi et al., (2008).</b>

<b>Fabaceae</b>	<i>Cytisus Triflorus</i>	Partie aérienne	Extrait aqueux	<i>T. castaneum</i>	<b>Djidjel et al., (2018).</b>
<b>Cupressaceae</b>	<i>Juniperus phoenicea</i>	Feuille	Extrait méthanolique	<i>S. oryzae</i>	<b>Dane et al., (2016).</b>
<b>Solanaceae</b>	<i>Solanum elaeagnifolium</i>	Graines et feuilles	Extrait méthanolique	<i>T. castaneum</i>	<b>Hamouda et al., (2015).</b>
<b>Poacées</b>	<i>Cymbopogon citratus</i>	Feuilles	Huile essentielle	<i>U. dermatoides</i>	<b>Plata-Rueda et al., (2020).</b>
	<i>Cymbopogon giganteus</i>	Feuille	Huile essentielle	<i>C. maculatus</i> <i>C. subinnotatus</i>	<b>Nyamador et al., (2010).</b>
	<i>Cymbopogon nardus L</i>	Partie aérienne	Extrait	<i>T. castaneum, S. Oryzae</i> <i>D. Melanogaster</i>	<b>Ali et al., (2019).</b>
<b>Myrtaceae</b>	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Partie aeriennne	Huile essentielle	<i>C. maculatus, S. oryzae</i> <i>T. castaneum</i>	<b>Negahban et Moharamipour (2007)</b>
	<i>Eucalyptus citriodora</i>	Feuilles	Extrait méthanolique	<i>T. castaneum</i>	<b>Sahi (2016)</b>
		Feuilles	Huile essentielle	<i>C. maculatus</i> <i>T. castaneum</i>	<b>Nouri et al., (2016).</b>

**Tableau 5 :** Efficacité des plantes vis-à-vis des champignons phytopathogènes

<b>Espèce végétale</b>	<b>Huile/ extrait</b>	<b>Organe utilisé</b>	<b>Agent pathogène</b>	<b>Référence</b>
<i>Origanum spp</i>	Huile essentielle	Partie aérienne	<i>Fusarium verticillioides</i>	<b>Pizzolitto et al., (2020).</b>
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Huile essentielle	Feuilles	<i>Fusarium spp</i>	<b>Gakuubi et al., (2017).</b>
<i>Citrus sinensis</i>	Huile essentielle	Écorce	<i>Penicillium expansum</i> <i>Fusarium proliferatum</i>	<b>Van Hung et al., (2013).</b>
<i>Pimpinella anisum</i>	Huile essentielle	Graines	<i>Aspergillus sp</i>	<b>Bluma et Etcheverry</b>

				(2008).
<i>Salvia officinalis</i>	Extrait éthanolique	Feuilles	<i>Aspergillus sp</i>	<b>Satish et al., (2007).</b>
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Huile essentielle	Écorce	<i>Fusarium culmorum and F. graminearum</i>	<b>Perczak et al., (2019).</b>
<i>Juniperus communis</i>	Extrait aqueux	Feuilles	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<b>Webster et al., (2008).</b>
<i>Citrus sinensis</i>	Huile essentielle	Feuilles	<i>Aspergillus niger</i>	<b>Gogoi et al., (2008).</b>
<i>Lavandula stoechas</i>	Huile essentielle	Partie aérienne	<i>Trichoderma spp</i>	<b>Mohammedi et Atik (2012).</b>
<i>Linum usitatissimum</i>	Extrait acid-methyl	Graines	<i>Aspergillus sp</i>	<b>Abdelillah et al., (2013).</b>
<i>Citrullus Colocynthis</i>	Extrait aqueux	Feuilles	<i>Aspergillus Flavus</i> <i>Aspergillus Ochraceus</i>	<b>Gacem et al., (2013).</b>



*Chapitre II*  
*Plantes médicinales et*  
*aromatiques*

**Chapitre II : Plantes médicinales et aromatiques****II.1 Plantes médicinales et aromatiques en Algérie**

L'Algérie bénéficie d'une situation géographique particulière et d'une large gamme très variée de climats, favorisant le développement et l'apparition d'une végétation diversifiée d'un point de vue taxonomique et écologique. En effet, le territoire Algérien renferme d'importantes ressources végétales réparties sur les côtes, les plaines, les montagnes, la steppe et le Sahara (**Bruneton, 1999 ; Khalkhal, 2014**).

Selon les résultats des enquêtes ethnobotaniques, la majorité des espèces végétales utilisées pour des intérêts thérapeutiques en Algérie appartiennent aux familles d'Apiacées, Fabacées, Liliacées, Térébinthacées, Solanacées et les Rutacées (**Chehma et Djebbar, 2008 ; Lazli et al., 2019 ; Yasser et al., 2018**).

**II.1.1 Conditions de la récolte des plantes médicinales****II.1.1.1 La saison**

La saison de récolte des plantes médicinales dépend généralement de la partie de la plante que l'on souhaite utiliser. Ainsi, pour les racines, la récolte se fait souvent en automne ou en hiver, lorsque la plante a stocké le maximum de nutriments. En revanche, pour les feuilles et les fleurs, la récolte se fait souvent au printemps ou en été, lorsque la plante est en pleine croissance et que sa teneur en principes actifs est la plus élevée. Il est donc important de respecter la saisonnalité des plantes pour en récolter les parties les plus riches en principes actifs (**Schneider, 2013**).

**II.1.2 Métabolites secondaires des plantes**

Les plantes médicinales représentent une source immense de molécules chimiques complexes, à la fois de métabolites primaires impliqués dans leur développement et leur croissance, et de métabolites secondaires qui contribuent à leur adaptation à l'environnement, à leur tolérance aux chocs thermiques et hydriques, ainsi qu'à leur résistance aux bioagresseurs (**Herms et Mattson, 1992 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

Pratiquement, les métabolites secondaires sont utiles dans une large gamme d'applications et sont classés selon leur appartenance chimique en terpénoides, alcaloïdes et composés phénoliques (**Cuendet, 1999 ; Vermerris et al., 2006**). D'ailleurs, ces derniers en particulier les flavonoïdes sont essentiellement connus pour leurs nombreuses activités biologiques (**Mayouf, 2019 ; Medina-Torres et al., 2017**).

**II.1.2.1 Les polyphénols**

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires produits par les plantes qui se retrouvent dans leurs organes, des racines aux fruits. Ces molécules, spécifiques du règne végétal, jouent un rôle crucial dans les interactions de la plante avec son environnement. Les composés phénoliques interviennent notamment dans la défense contre les bioagresseurs, la tolérance aux conditions climatiques extrêmes, la rhizogenèse, la germination des graines, la régulation de la croissance et du développement de la plante, ainsi que dans la pigmentation et la saveur des fruits et légumes. Les principales classes de composants phénoliques sont : les flavonoïdes, les tanins, et les coumarines (**Fig. 2**) (**Achat, 2013 ; Crozier *et al.*, 2006 ; King et Young, 1999 ; Tapiero *et al.*, 2002**).

**II.1.2.2 Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques présents dans les plantes et ils sont constitués de deux ou plusieurs cycles aromatiques reliés par un pont carboné. Les flavonoïdes peuvent se présenter sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides (hétérosides), où une ou plusieurs groupes hydroxyles sont liées à un ou plusieurs sucres (**Heller et Forkmann, 1993**).

Les flavonoïdes peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et alimentaire en raison de leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes et antivirales. De plus, ils jouent un rôle important dans la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV (**Bovy, 2004 ; Iserin *et al.*, 2001 ; Saija *et al.*, 1995 ; Wichtl et Anton, 2009**).

**II.1.2.3 Les tanins**

Bien que la composition chimique des tanins est variable selon leur origine, ils partagent une caractéristique commune de l'hydrosoluble. Leur intérêt médicinal réside principalement dans leur propriété de coagulants des albumines, des muqueuses et des tissus, qui peut créer une couche de coagulation isolante et protectrice, ce qui réduit l'irritation et la douleur. Des études ont montré que de nombreux tanins présentent des propriétés anti-inflammatoires, antifongiques, anti tumorales, antivirale et antidiarrhéique (**Blot et Bernard, 2012 ; Maïga *et al.*, 2005**).

Les tanins condensés sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la capacité de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique. Cependant, les tanins condensés peuvent former des composés insolubles appelés "rouge de tanins" lorsqu'ils sont chauffés à ébullition en milieu acide. Ce phénomène est dû à la réaction entre les tanins

condensés et les acides, ce qui conduit à la formation de pigments rouges insolubles (**Guignard, 1998 ; Porter et al., 1986**).

Les tanins hydrolysables sont des composés estérifiés de glucides ou de dérivés d'acides phénols. Le glucose est généralement la molécule glucidique la plus courante, mais dans certains cas, les tanins hydrolysables peuvent être constitués de polysaccharides. Ce groupe de tanins est caractéristique des plantes dicotylédones et se retrouve dans tous les organes de la plante, tels que les racines, les tiges, les feuilles et les fruits avant leur maturité. Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins dans l'eau, en formant des solutions colloïdales (**Guignard, 1996 ; Ribereau, 1968**).

#### **II.1.2.4 Les saponines**

Les saponines sont des composés fréquents dans les plantes médicinales, contenant un groupe glucidique. Elles sont des glycosides stéroïdiques ou triterpéniques qui ont la particularité de produire des moussantes en présence d'eau. Les saponines peuvent être hydrolysées par des acides pour donner un aglycone appelé sapogénine. Certaines saponines contiennent également des stéroïdes et des amines stéroïdiques qui sont considérées par certains comme des alcaloïdes stéroïdiques (**Bruneton, 1999 ; Malne et al., 1980**). Les saponines possèdent une grande variété d'activités biologiques, comme l'antipyrétique, l'antalgique, l'immuno-modulatrice, l'anti-inflammatoire et l'anticoagulante. En raison de leurs propriétés tensioactives importantes, les saponines sont utilisées dans des domaines variés, tels que l'industrie, la pharmacie et la cosmétologie (**Lautrette, 2004**).

#### **II.1.2.5 Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés avec une structure moléculaire complexe et variée, possédant des propriétés alcalines (**Badiaga, 2012 ; Judd et al., 2002**). Ces métabolites sont des composés relativement stables, synthétisés par les végétaux et stockés dans différentes parties de la plante principalement dans les jeunes feuilles et racines en croissance, mais également dans les fleurs, les fruits et les graines (**Krief, 2003 ; Mauro, 2006 ; Omulokoli et al., 1997**).

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine, dont plusieurs études ont évalué leur efficacité en tant qu'agents biologiques qui dépend souvent de la fonction amine qui est transformée en un système quaternaire par ionisation aux pH physiologiques (**Dellile, 2007 ; Dewick, 1999 ; Guignard, 2000**).

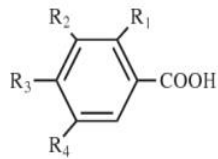
**II.1.2.6 Les huiles essentielles**

Une huile essentielle est un produit odorant obtenu à partir de matières végétales par plusieurs méthodes d'extraction. Sa composition complexe est due à deux groupes principaux de composés caractérisés par leurs origines biogénétiques : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Bruneton, 1999 ; Teisseire, 1991**).

Les terpénoïdes dans les huiles essentielles, sont celles qui ont la masse moléculaire la plus volatile et portent dans la plupart des cas la formule générale  $(C_5H_8)_n$ . Selon les valeurs de  $n$ , différents groupes des terpènes sont distingués, tels que les hémiterpènes, les monoterpènes, les sesquiterpènes, les triterpènes, les tétraterpènes et les polyterpènes. En revanche, les composés aromatiques présents dans les huiles essentielles sont beaucoup moins fréquents que les terpènes, leur biogénèse étant totalement différente (**Paris et Hurabielle, 1981 ; Teisseire, 1991**). Les composés d'origines diverses sont des produits issus de la transformation de molécules non volatiles pouvant être entraînées par la vapeur d'eau. La volatilité des huiles essentielles dépend généralement de la température et de la composition chimique. Il convient de noter qu'une huile essentielle riche en monoterpènes est plus volatile que celle riche en sesquiterpènes (**Bruneton, 1999 ; Jacques et Francis, 2012**).

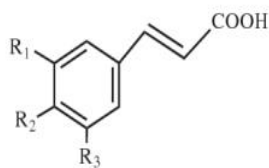
Les huiles essentielles sont connues pour leurs propriétés thérapeutiques en médecine tels que leur effet anticancéreux, anti-nociceptif, anti-inflammatoire, antiviral, antibactérien et antioxydant (**Bruneton, 1999 ; Buchbauer, 2010 ; Jacques et Francis, 2012**). Des études précédentes ont démontré que les monoterpènes ont la capacité d'inhiber le cholinestérase, tandis que les composés soufrés agissent sur les canaux potassium de la blatte sans avoir d'effet cholinergique (**Dugravot, 2000 ; Ngamo et Hance, 2007**).

Acides hydroxybenzoïques

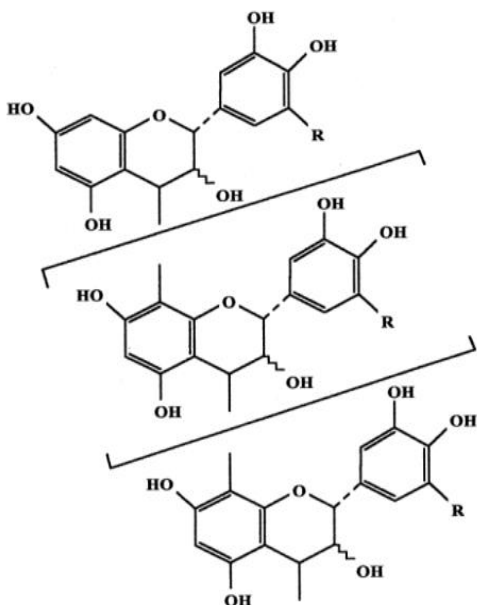


- $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$  acide benzoïque (non phénolique)
- $R_1 = R_2 = R_4 = H, R_3 = OH$  acide *p*-hydroxybenzoïque
- $R_1 = R_4 = H, R_2 = R_3 = OH$  acide protocatéchique
- $R_1 = R_4 = H, R_2 = OCH_3, R_3 = OH$  acide vanillique
- $R_1 = H, R_2 = R_3 = R_4 = OH$  acide gallique
- $R_1 = H, R_2 = R_4 = OCH_3, R_3 = OH$  acide syringique
- $R_1 = OH, R_2 = R_3 = R_4 = H$  acide salicylique
- $R_1 = R_4 = OH, R_2 = R_3 = H$  acide gentisique

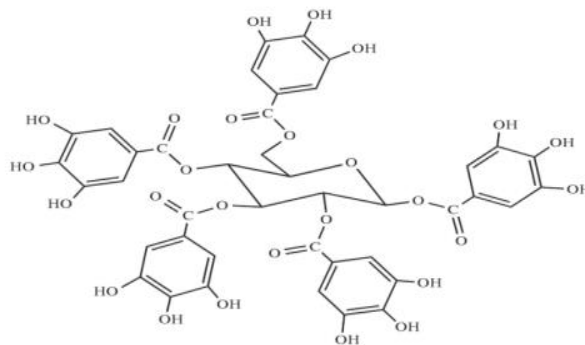
Acides hydroxycinnamiques («phénylpropanoïdes»)



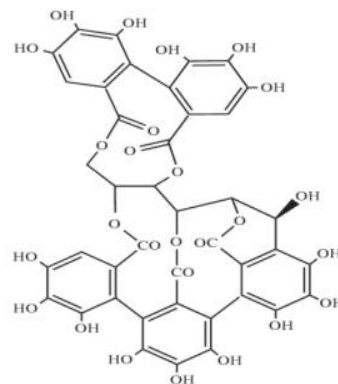
- $R_1 = R_2 = R_3 = H$  acide cinnamique (non phénolique)
- $R_1 = R_3 = H, R_2 = OH$  acide *p*-coumarique
- $R_1 = R_2 = OH, R_3 = H$  acide caféique
- $R_1 = OCH_3, R_2 = OH, R_3 = H$  acide férulique
- $R_1 = R_3 = OCH_3, R_2 = OH$  acide sinapique



R= H : Catéchine  
R=OH : Gallocatechine



Pentagalloylglucose



Castalagine

Figure 2 : Structures chimiques de principaux composés phénoliques (Macheix et al., 2005)

**II.1.3 Procédés d'extraction**

L'extraction de composés bioactifs est une procédure de séparation qui permet de récupérer des matières végétales utiles dans diverses applications (Joana GilChávez *et al.*, 2013). Le choix du solvant d'extraction est un facteur déterminant dans cette procédure, car il dépend de la nature des composés recherchés. Par exemple, la récupération des composés phénoliques est fortement influencée par la polarité et la concentration du solvant utilisé lors de l'extraction (Ezez *et al.*, 2021 ; Herrera-Pool, 2021 ; Ma *et al.*, 2021).

**II.1.3.1 Méthodes de préparation des extraits végétaux****II.1.3.1.a Infusion**

La préparation des extraits végétaux par infusion consiste à verser de l'eau bouillante (à une température d'environ 100 °C) sur une quantité spécifique de matière végétale, sèche ou fraîche, puis à laisser reposer la mixture pendant un temps qui peut s'étaler de 10 à 15 minutes (Sofowora, 2010).

**II. 1.3.1.b Macération**

Le principe du processus de macération consiste à placer la matière végétale brute dans un récipient contenant le solvant et de la laisser reposer à température ambiante pendant une période pouvant aller jusqu'à 72h tout en agitant fréquemment pour permettre la dissolution des composés solubles. Le mélange est ensuite filtré pour éliminer la matière solide humide et les liquides récupérés sont clarifiés par filtration ou décantation (Handa *et al.*, 2008).

**II.1.3.1.c Soxhelt**

L'extraction par l'appareil de Soxhlet est une technique d'extraction en continu utilisée pour extraire des composés solubles d'un solide insoluble ou peu soluble dans un solvant (Fig. 3). L'installation de Soxhlet est composée d'un ballon, d'un réfrigérant, d'une cartouche en verre ou en papier et d'un siphon. Cette méthode consiste à placer le matériel en poudre dans la cartouche poreuse et le solvant dans le ballon, puis portés à ébullition. La vapeur de solvant passe ensuite à travers un réfrigérant situé en haut de l'installation, où elle se condense et s'accumule autour et à l'intérieur de la cartouche. Lorsque le solvant atteint le niveau supérieur du siphon, il est renvoyé dans le ballon par différence de pression, où il est à nouveau évaporé pour éliminer le solvant et récupérer les composés solubles (Haunold, 1991 ; Rachel, 2007).

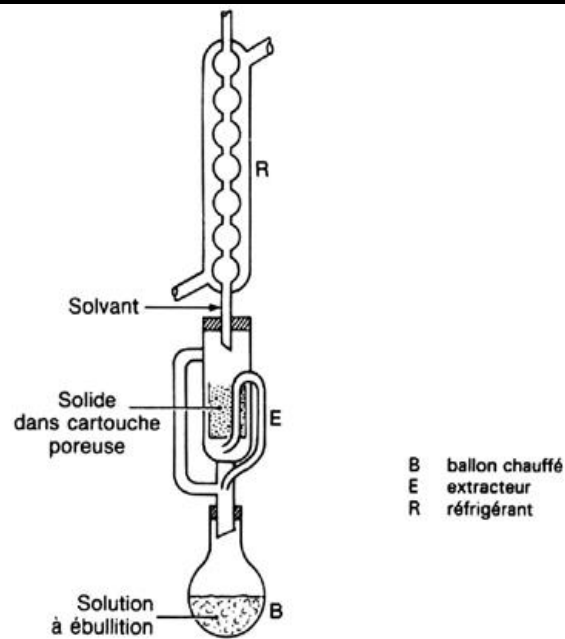


Figure 3 : Montage de Soxhlet (Rachel, 2007)

#### II.1.3.1.d Extraction assistée aux ultrasons

Les ondes mécaniques ultrasonores peuvent améliorer l'efficacité de l'extraction des composés solubles des matrices végétales en raison des effets de cavitation produits par les bulles, qui agissent sur les parois cellulaires du végétale, augmentant ainsi les phénomènes de transfert de masse entre le solvant et le soluté (Chemat *et al.*, 2011; Dias *et al.*, 2021). En effet, l'optimisation des paramètres d'extraction assistée par ultrasons tels que la fréquence, la puissance des ultrasons, le temps d'extraction, la température, la distribution d'ondes ultrasonores et le solvant utilisé, peut grandement améliorer le rendement d'extraction. Cependant, il est important de noter que la température doit être inférieure à la température du solvant pour éviter son évaporation (Ma *et al.*, 2008 ; M'hiri, 2015 ; Wang et Weller, 2006).

#### II.1.3.2 Techniques d'extraction des huiles essentielles

##### II.1.3.2.a Hydrodistillation

Dans le processus d'hydrodistillation, les matières végétales sont chauffées dans de l'eau, ce qui entraîne la libération des molécules volatiles à partir des tissus cellulaires (Fig. 4). La vitesse de vaporisation des composés volatils dépend de la solubilité des molécules volatiles dans l'eau (AFNOR 1980 ; Hernandez, 2005). Cette technique consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau puis l'ensemble est porté à ébullition sous une pression atmosphérique. La vapeur qui se dégage de la

matière végétale est entraînée dans un condenseur, où elle se condense en un mélange d'eau et d'huile essentielle. Les eaux aromatiques obtenues sont mises à une décantation, afin de récupérer les huiles essentielles brutes (Farhat, 2010).

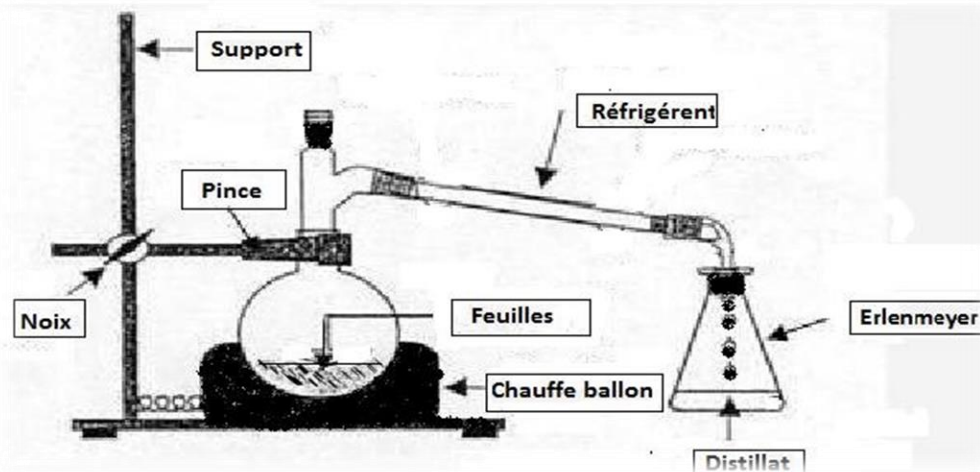


Figure 4 : Montage de l'hydrodistillation (Hamdani, 2015)

II.1.3.2.b Entraînement à la vapeur

Dans ce procédé le matériel végétal n'est pas en contact direct avec l'eau (Fig. 5), mais il est placé dans un récipient perforé au-dessus de la chaudière. La vapeur d'eau produite par la chaudière est ensuite injectée dans le récipient, traversant la matière végétale de bas en haut et entraînant avec elle les composés volatils. La vapeur d'eau saturée en composés volatils est ensuite dirigée vers un tube réfrigérant, où elle se condense en un mélange hétérogène d'huile essentielle et d'hydrolat (Bruneton, 1999 ; Marrouf et Tremblin, 2009).

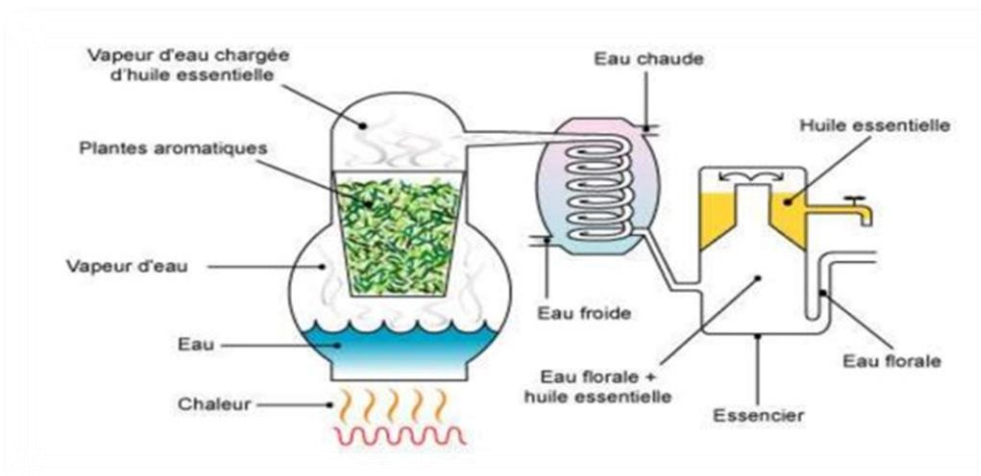


Figure 5 : Montage de l'entraînement à la vapeur (Goudjil, 2016)

### II.1.3.2.c Expression à froid

Contrairement à la distillation, aucune source de chaleur n'est utilisée dans cette méthode, ce qui laisse à l'huile une odeur très proche de l'original. La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes tels que les écorces des agrumes où les parties du végétal sont pressées mécaniquement à froid afin de libérer les poches d'huiles essentielles situées à la surface en utilisant des rouleaux ou des éponges. L'huile essentielle est ensuite recueillie par un courant d'eau (Boukhatem *et al.*, 2019 ; Bruneton, 1999 ; Marrouf et Tremblin, 2009).

### II.1.3.2.d Hydrodistillation assistée par ultrasons

L'extraction par ultrasons des huiles essentielles provoque la désorganisation de la structure des parois des plantes et des tissus cellulaires, due aux ondes ultrasonores et aux micro-cavitations générées (Fig. 6). Ces changements favorisent la diffusion de l'eau dans les tissus cellulaires, ce qui peut également influencer sur la cinétique d'extraction des molécules aromatiques des huiles essentielles. Les principaux avantages de ce procédé sont l'accélération de la cinétique d'extraction et l'amélioration du rendement (Herzi, 2013).

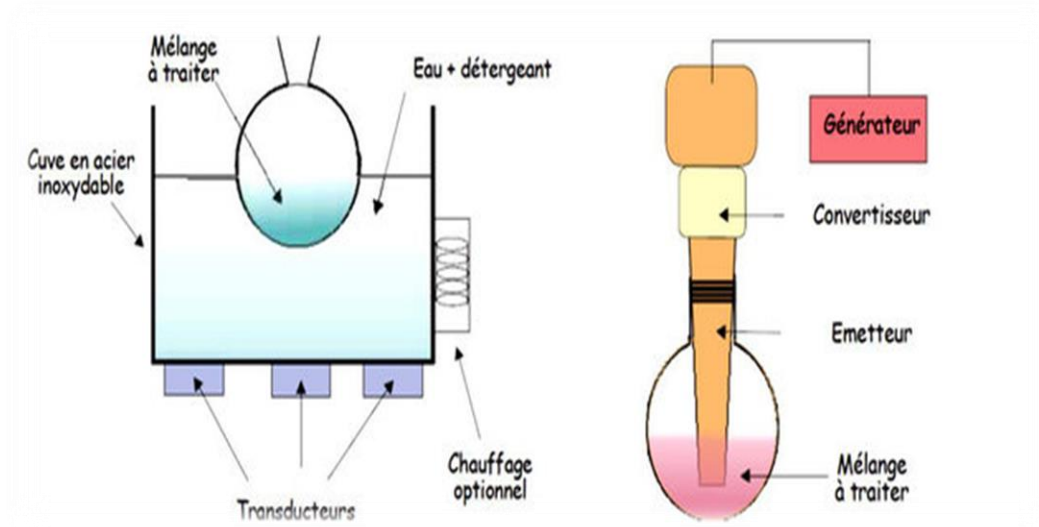


Figure 6 : Schéma du procédé de l'extraction assistée aux Ultrasons (Achat, 2013)

### II.1.3.2.e Hydrodistillation assistée par micro-ondes

L'extraction assistée aux micro-ondes est une technique récente développée dans le but d'extraire des produits naturels comme les huiles essentielles et les extraits aromatiques. La plante est chauffée par les micro-ondes dans une enceinte (Fig. 7), dont la pression est réduite progressivement pour permettre l'évaporation des molécules volatiles. Ces dernières sont ensuite entraînées dans un

mélange azéotropique formé avec la vapeur d'eau produite par la plante traitée (Herodez, *et al.*, 2003 ; Marrouf et Tremblin, 2009 ; Wang *et al.*, 2006). En effet, la distillation assistée par micro-ondes est une technique en constante évolution qui présente de nombreux avantages, tels que la réduction de la dégradation thermique et hydrolytique des produits, ainsi que des économies d'énergie et de temps (Lucchesi, 2004 ; Olivero-Verbel, *et al.*, 2010).

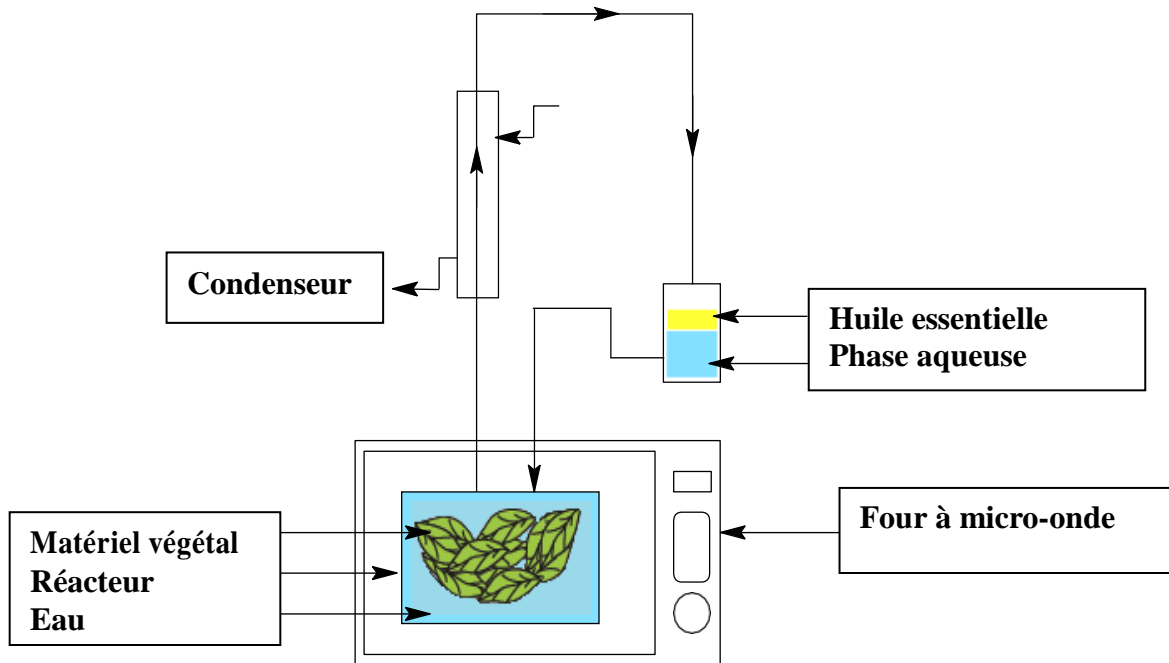


Figure 7 : Schéma du procédé de l'extraction assistée aux micro-ondes (Chenni et El abed, 2017)

### II.1.3.3 Comparaison entre les méthodes d'extraction conventionnelles et innovantes

Les techniques d'extraction conventionnelles utilisées pour obtenir des extraits bioactifs impliquent souvent une forte consommation de solvants organiques, ce qui limite leur application en raison de la toxicité de ces solvants. De plus, ces méthodes nécessitent des durées d'extraction prolongées, entraînant une consommation énergétique importante et des coûts élevés. Pour remédier à ces problèmes, de nouvelles technologies d'extraction sont mises en place, notamment l'extraction assistée par ultrasons. Des études récentes ont démontré que cette méthode innovante est une technologie durable qui permet de réduire la consommation d'énergie par rapport aux méthodes conventionnelles, tout en préservant les propriétés bioactives des extraits obtenus (Da Porto, 2013; Khadhraoui *et al.*, 2021; Medina-Torres *et al.*, 2017).

Le tableau ci-dessous détaille une comparaison des critères entre une extraction conventionnelle et une extraction innovante :

**Tableau 5** : Comparaison entre une méthode d'extraction conventionnelle et une méthode innovante (Chenni et El abed, 2017)

<b>Méthode d'extraction conventionnelle</b>	<b>Extraction assistée aux micro ondes</b>
Le mécanisme de chauffage dans le récipient réactionnel se produit à partir de sa surface interne	Le contenu du réacteur est chauffé simultanément entraînant un chauffage volumétrique.
Le récipient doit être en contact physique avec la source de chaleur.	Le réacteur n'a pas besoin d'un contact physique avec la source de chaleur.
Le chauffage s'effectue par la source thermique.	Le chauffage s'effectue par des ondes électromagnétiques.
Le mécanisme de chauffage est la conduction suivie par convection à l'intérieur du récipient.	Le mécanisme de chauffage est la polarisation diélectrique et la conduction ionique.
Le transfert d'énergie se produit depuis la surface du récipient au mélange pour faire réagir les espèces.	Le noyau du contenu est chauffé directement tandis que la surface agit en tant que moyen de perte thermique.
Tous les composants du mélange réactionnel reçoivent la même quantité d'énergie thermique.	Les différents composants du mélange réactionnel peuvent être chauffés à des températures différentes en fonction de leur capacité à absorber les micro-ondes.
Le taux de chauffage est minime.	Le taux de chauffage est très élevé.
La température la plus élevée qui peut être atteinte est contrôlée par le point d'ébullition du mélange.	La température du mélange peut être beaucoup plus élevée que son point d'ébullition, elle est donc indépendante du point d'ébullition des solvants.
L'extraction nécessite plusieurs heures.	L'extraction nécessite quelques minutes.



*Partie expérimentale*

# *Chapitre I*

*Préparation, extraction et  
analyses phytochimiques*

**Chapitre I : Préparation, extraction et analyses phytochimiques****I.1 Matériel et méthodes****I.1.1 Matériel végétal biologique****I.1.1.1 Présentation des espèces végétales étudiées**

Les feuilles du Cyprès *Cupressus sempervirens* L., du genévrier *Juniperus phoenicea* L. et de la menthe *Mentha rotundifolia* (L.) Huds, ainsi que les gousses de genêt jaune *Cytisus scoparius* et les fleurs blanches de l'asphodèle *Asphodelus microcarpus* Salzm& Viv. sont récoltées dans différentes zones de la région de Bouira en Algérie (**Fig. 8, Tab. 7**). Les espèces végétales sont identifiées au niveau de l'herbier à l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, El-Harrach, Algérie.

**I.1.1.1.a Menthe à feuilles rondes *M. rotundifolia* (L.) Huds**

Les menthes à feuilles rondes sont des plantes herbacées qui ne dépassent généralement pas un mètre de hauteur. Elles se caractérisent par des tiges quadrangulaires et des feuilles pétiolées ou sessiles, arrondies et plus ou moins dentées. Leurs fleurs, de couleur mauve et presque régulières, sont regroupées en inflorescences en tête arrondie. Les fruits de la menthe sont composés de quatre parties ovoïdes, parfois verruqueuses, et dégagent une forte odeur agréable, plus ou moins fine. Les tiges de la menthe sont fortifiées pour supporter le poids des inflorescences (**Benayad, 2008, Iserin et al., 1997**). La classification botanique de la menthe à feuilles rondes est comme suit :

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes.
- Classe : Dicotylédones
- Sous classe : Gamopétales.
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Mentha*
- Espèce : *Mentha rotundifolia* (L.) Huds

**I.1.1.1.b Cyprès *Cupressus sempervirens* L.**

Le cyprès est caractérisé par son feuillage perpétuellement vert et peut atteindre une hauteur allant jusqu'à 25 mètres. Son tronc droit est revêtu d'une écorce sombre, tandis que son bois dur et odorant est de couleur jaune rougeâtre. La configuration de ses branches lui donne une silhouette conique élancée avec une cime pyramidale étroite. Les feuilles persistantes sont très petites et de couleur gris-vert foncé. Les fleurs sont regroupées en groupe et donnent naissance à des fruits appelés

"noix de cyprès" (Monteuuis, 1985 ; Moussaoui, 2014). La classification taxonomique pour l'arbre communément appelé cyprès méditerranéen est comme ci-dessous :

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Gymnospermes
- Classe : Pinopsida
- Ordre : Cupressales
- Famille : Cupressaceae
- Genre : *Cupressus*
- Espèce : *Cupressus sempervirens* L.

#### **I.1.1.1.c Genévrier *Juniperus phoenicea* L.**

Le genévrier est un arbuste de forme touffue et élancée, pouvant atteindre une hauteur de six mètres. Ses baies ont une couleur brun-rougâtre foncée et ses feuilles sont persistantes écailleuses, dégageant une odeur balsamique. Sa floraison a lieu de mars à avril, et ses baies restent sur l'arbre jusqu'à leur maturation. Sa position systématique est comme suit : (Quezel et Santa, 1962).

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous Embranchement : Gymnosperme
- Classe : Pinopsida
- Ordre : Pinales
- Famille : Cupressaceae
- Genre : *Juniperus*
- Espèce : *Juniperus phoenicea* L.

#### **I.1.1.1.d Asphodèle à fleurs blanches *Asphodelus microcarpus* Salzm& Viv.**

Les caractéristiques distinctives de l'*A. microcarpus* comprennent des feuilles cylindriques ou semi-cylindriques et creuses, des fleurs blanches ou rosées mesurant jusqu'à 15 mm de long, des tépales en forme de carène avec une couleur allant du vert au pourpre, et des capsules oblongues, ovoïdes ou subglobuleuses de 6 à 14 mm de long, présentant des valves nettement ridées transversalement. Cette plante possède également des fruits sous forme de petites capsules et des racines qui sont fortement renflées, prenant la forme de tubercules cylindriques (Kaddem, 1990). D'après Ghileb (1987) la taxonomie d'asphodèle est configurée comme suit :

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Monocotyledones
- Ordre : Liliiflorae
- Famille : Liliaceae
- Genre : *Asphodelus*
- Espèce : *Asphodelus microcarpus* Solzm&Viv.

**I.1.1.1.e Genet jaune *Cytisus scoparius* L.**

Le *Cytisus scoparius* est un arbuste à feuillage caduc et persistant, pouvant atteindre jusqu'à 4 m de hauteur, et pouvant être glabre ou pubescent. Les tiges sont inermes et vertes, avec des angles prononcés qui deviennent ligneux à mesure que la plante mûrit. Les feuilles alternes sont trifoliolées à la base des rameaux, devenant simples vers le haut et apprimées près des rameaux. Les folioles mesurent entre 4 et 8 mm de long, sont obovales et ont un bout aigu ou mucroné. Les feuilles supérieures sont sessiles et n'ont pas de stipules. Les fleurs sont parfaites, de couleur jaune vif, parfois rouge ou violacée, et mesurent environ 2 cm de long. Elles peuvent être solitaires ou groupées par deux ou trois à l'aisselle des feuilles, ou en grappes feuillées terminales allongées. Cette espèce est classée en botanique dans : (**Peterson et Prasad, 1998**).

- Division : Tracheophyta
- Subdivision : Spermatophytina
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Fabales
- Famille : Fabaceae
- Genre : *Cytisus*
- Espèce : *Cytisus scoparius* L.

**I.1.1.2 Préparation des poudres**

Au niveau du laboratoire les échantillons récoltés ont subi une série d'analyse avant de tester leurs effets insecticides et antifongiques. Les parties des plantes utilisées pour l'extraction sont séparées des autres parties manuellement et rincées deux fois par l'eau distillée afin d'éliminer le maximum des impuretés, ensuite elles sont découpées avec un sécateur stérile en petits fragments. Les parties sélectionnées sont séchées à l'air libre ( $25 \pm 2$  °C) pendant 7 à 20 jours selon la plante, dans une pièce de laboratoire. Après la phase de séchage les matières végétales sont mises en broyage à l'aide d'un

hachoir électrique jusqu'à l'obtention des poudres fines avant de les faire passer par un tamis de 200µm de diamètre. Les poudres sont conservées dans des flacons en verre hermétiques stériles à 4 °C.

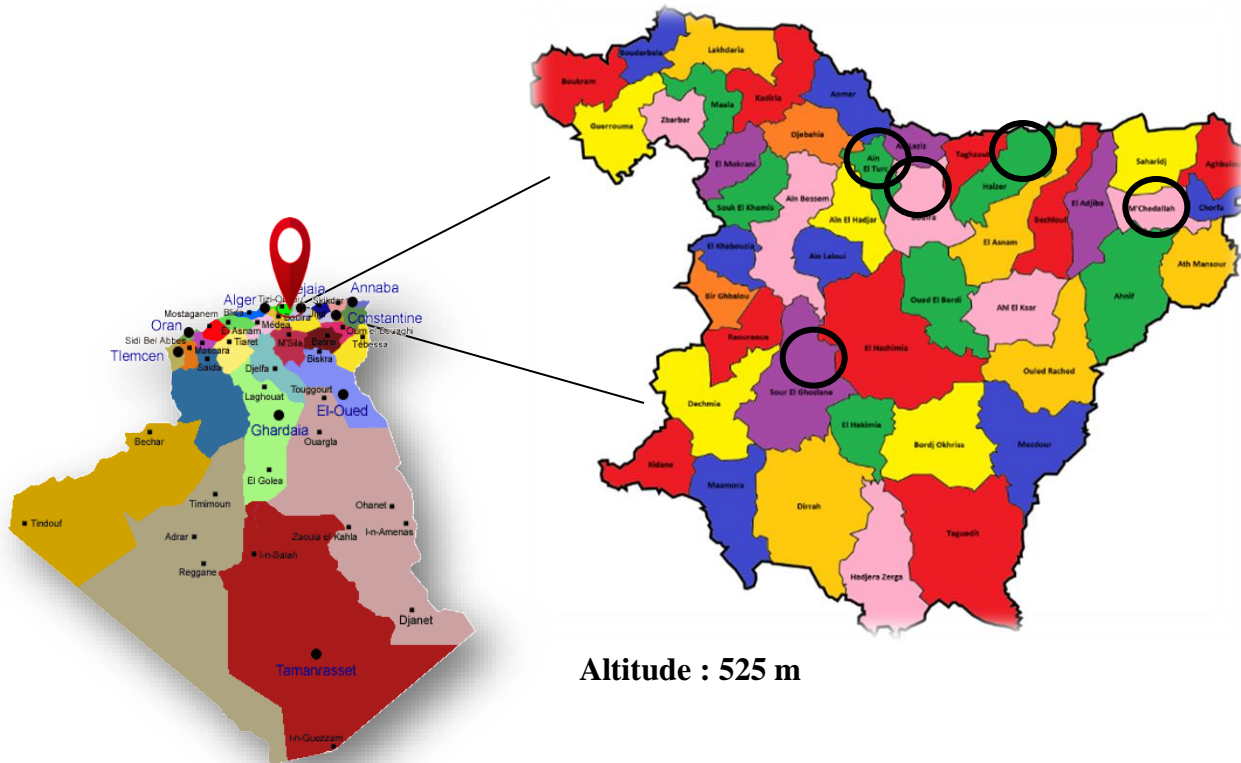
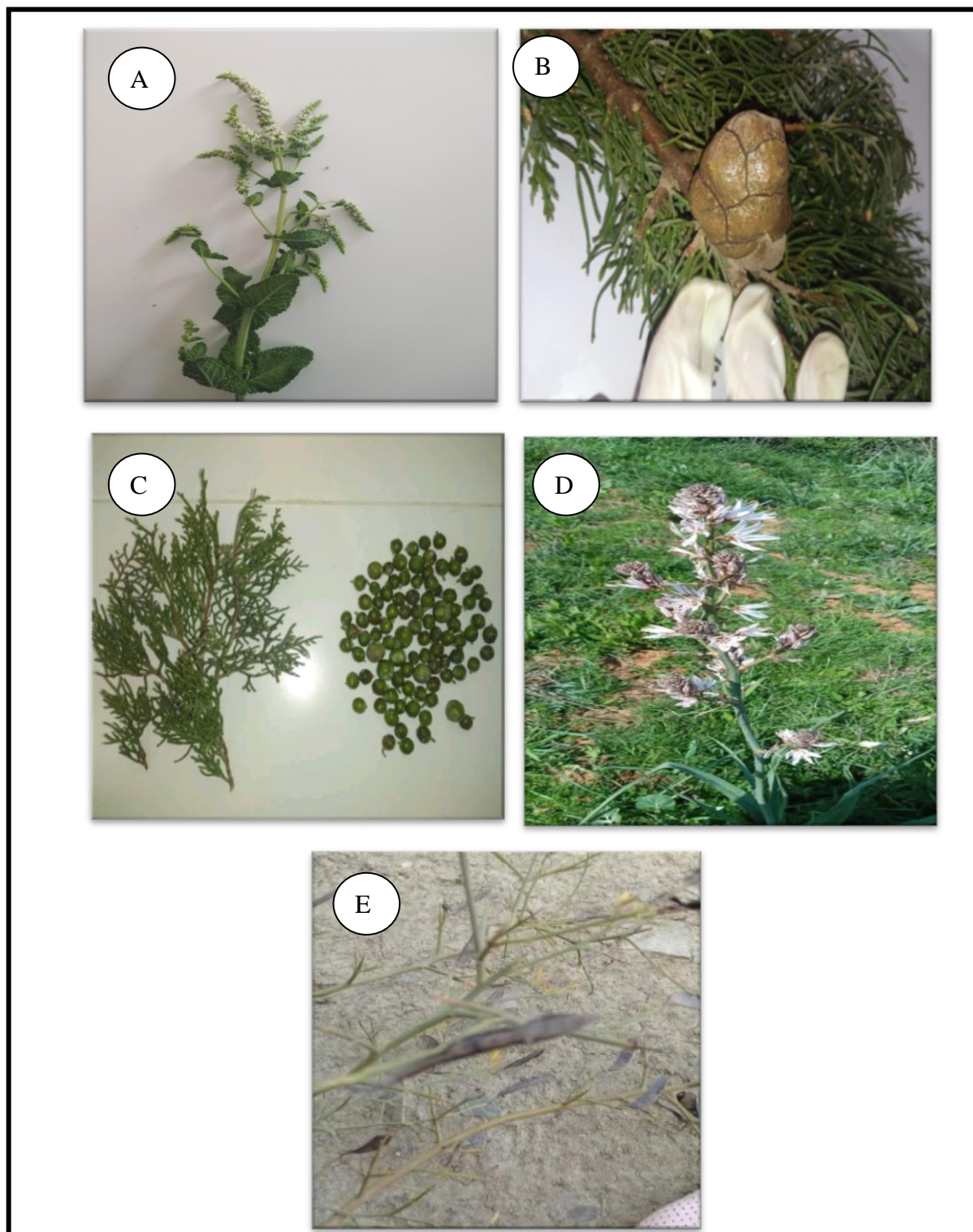


Figure 8 : Zones de récolte des espèces végétales

Tableau 7 : coordonnées géographiques des zones de récolte

Espèce végétale	Région	Longitude	Latitude
<i>Mentha rotundifolia</i> (L.) Huds	« Hamam frakssa » Sour El-Ghozlane	36.186308°	3.960193°
<i>Cupresus sempervirens</i> L.	Foret d'Errich	36.398014°	3.885802°
<i>Juniperus phoenicea</i> L.	Foret Tikejda	36.1492231°	3.6901552°
<i>Asphodelus microcarpus</i> Salzm&Viv.	Ain turk	36.394774°	3.803448°
<i>Cytisus scoparius</i> L.	M'chedallah	36.354868°	4.265525°



**Figure 09** : Parties de plantes utilisées

**A:** *Mentha rotundifolia*, **B:** *Cupresus sempervirens*, **C:** *Juniperus phoenicea*

**D:** *Asphodelus microcarpus*, **E:** *Cytisus scoparius*

**I.1.2 Préparation, étude phytochimique qualitative et quantitative des extraits végétaux et des huiles essentielles**

**I.1.2.1 Extraction des huiles essentielles**

La technique d'hydrodistillation est largement utilisée pour extraire les huiles essentielles des plantes. Elle implique l'utilisation d'un appareil de type Clevenger, tel que décrit par **Clevenger (1928)**. L'extraction est réalisée à une température de 100°C sous pression atmosphérique, ce qui permet de libérer les molécules aromatiques emprisonnées dans les cellules végétales. La durée de chaque extraction est de trois heures après la première goutte, pendant lesquelles 50 g de poudre sont mélangés avec 500 ml d'eau distillée (**Fig. 10**). Les huiles essentielles sont condensées dans un réfrigérant, recueillies dans des tubes ombrés et stockées à 4°C dans un réfrigérateur pour une utilisation ultérieure. Le rendement en huiles essentielles (**RHE**) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (**MH**) et la masse de la matière végétale utilisée (**MV**). Les HEs sont collectées, pesées, et leur rendement est déterminé par rapport à la masse de matière sèche utilisée par la formule suivante : (**Zrira et al., 1995**)

$$RHE(\%) = (MH/MV) * 100$$



**Figure 10** : Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

**I.1.2.2 Préparations des extraits phénoliques bruts****I.1.2.2.a Extraction par macération**

La méthode d'extraction des composés végétaux suivie pour cette étude est basée sur la méthode décrite par **Xu et al., (2017)**, avec quelques modifications. Les extraits hydro-méthanolique, hydro-éthanolique, hydro-acétonique et aqueux sont préparés en macérant 20g de matériau végétal en poudre brute avec 200 ml de méthanol (50%), d'éthanol (50%), d'acétone (50%) et d'eau distillée séparément. Les mélanges sont agités à l'aide d'une agitation magnétique silencieuse pendant 48h à une température de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  et à une vitesse de 500 trs/min (**Fig. 11**).



**Figure 11** : Extraction par macération

**I.1.2.2.b Extraction assistée aux Ultrasons**

La méthode d'extraction utilisée repose sur l'utilisation d'un bain à ultrasons, qui génère des vibrations sonores à une fréquence de 50/60Hz et une puissance maximale de 195 W (**Fig. 12**). Pour cette étude, 20 grammes de poudre végétale sont mis en contact avec 200 ml de méthanol (50%), d'éthanol (50%), d'acétone (50%) et d'eau distillée, séparément, dans des béchers de 500 ml à une température de  $40^{\circ}\text{C}$  pendant 20 min, en suivant la méthode décrite par **Xu et al., (2017)**.



**Figure 12**: Extraction dans un bain à Ultrasons

Les mélanges obtenus par les deux méthodes d'extraction sont filtrés à travers un papier Wattman N°02 puis centrifugés par 3000 trs/min pendant 15 min. Les extraits sont séchés sous vide à 40°C jusqu'à l'obtention d'une matière totalement sèche. Après l'estimation de rendement sec d'extraction, les extraits bruts sont conservés au frais à 4 °C jusqu'à leur utilisation. Les rendements d'extraction sont déterminés par rapport à la quantité de la matière sèche végétale utilisée selon la formule de **Carré (1953)**.

$$R (\%) = (Me/Ms) * 100$$

**Me** : Masse de l'extrait obtenu sec

**Ms** : Masse de matière végétale sèche

### **I.1.2.3 Screening phytochimique qualitative des extraits végétaux**

Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et de précipitation, effectuée à l'aide de tests en tube utilisant des réactifs spécifiques pour chaque groupe chimique. L'objectif de cette analyse est de déterminer, de manière préliminaire, la présence de certains métabolites secondaires dans les extraits étudiés.

#### **II.1.2.3.a Caractérisation des alcaloïdes**

Le test de Mayer (**Memelink et al., 2001 ; Sofowora, 1982**) est utilisé pour détecter la présence des alcaloïdes. Pour ce faire, une quantité de 1 g de poudre végétale est macérée avec 10 ml d'HCl (1%) pendant 24h. Ensuite, l'extrait est filtré et alcalinisé en ajoutant quelques gouttes d'ammoniaque NH<sub>4</sub>OH (10%) jusqu'à ce que le pH atteigne 8. Le filtrat est ensuite extrait avec 5 ml de chloroforme, évaporé à sec et récupéré dans 5 ml d'HCl (1%). Pour réaliser le test, quelques gouttes du réactif de Mayer sont ajoutées au précipité obtenu. La réaction est immédiatement lue pour détecter l'apparition d'un précipité blanc, indiquant la présence d'alcaloïdes.

#### **I.1.2.3.b Caractérisation des polyphénols**

La caractérisation des polyphénols est effectuée en ajoutant une goutte de chlorure ferrique (III) (FeCl<sub>3</sub>) à 2% à 2 ml de l'extrait méthanolique préalablement préparé par macération pendant 24h. L'apparition d'une coloration bleue-noirâtre ou verte plus ou moins foncée indique la présence de polyphénols (**Wong et al., 2006**).

**I.1.2.3.c Caractérisation des flavonoïdes**

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 2 ml d'extrait filtré obtenu par macération 24 h de 5 g du matériel végétal en poudre avec 50 ml de HCl (1%) et en ajoutant quelques gouttes de NH<sub>4</sub>OH jusqu'à atteindre la basicité de la solution (pH 8). La présence des flavonoïdes est mise en évidence si la coloration vire au jaune clair en milieu basique, ce qui peut indiquer la présence d'anthocyanes parmi les flavonoïdes détectés (**Benzahi, 2001**).

**I.1.2.3.d Caractérisation des tanins**

De 2 à 3 gouttes de trichlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) dilué à 1% sont ajoutées à 1 ml d'extrait aqueux déjà préparé. Après quelques secondes d'incubation, le chlorure ferrique développe une coloration bleue-verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques ou bleue-noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques (**Trease et Evans, 1987**).

**I.1.2.3.e Caractérisation des saponines**

Les saponosides peuvent être détectés par l'indice de mousse (**Bruneton, 1999**). Dans cette méthode, 5 g de matière végétale sèche sont mélangés avec 100 ml d'eau distillée dans un bécher, puis la solution est portée à ébullition pendant 30 min. Après refroidissement, le filtrat est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. Ensuite, dans un tube à vis, un volume de 2 ml de l'extrait dilué est introduit et une forte agitation horizontale est appliquée pendant 15 secondes. Après 15 min de repos, la hauteur de la mousse résiduelle est mesurée en cm. L'indice de mousse est évalué comme suit :

- ✓ Pas de mousse = test négatif
- ✓ Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- ✓ Mousse de 1-2 cm = test positif
- ✓ Mousse plus de 2 cm = test très positif

**I.1.2.3.f Caractérisation des quinones libres**

Pour détecter la présence de quinones libres, sur un volume de l'extrait méthanolique préparé, filtré et concentré au rotavapor, quelques gouttes de NaOH à 1% sont y ajoutées. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (**Oloyede, 2015**).

**I.1.2.3.g Caractérisation des anthraquinones**

Pour confirmer la présence d'anthraquinones, 1 ml de KOH dilué avec de l'eau distillée à 10% (v/v) est ajouté à 2 ml de l'extrait chloroformique, puis le mélange est agité pendant quelques secondes. Si les anthraquinones sont présentes, la phase aqueuse devrait virer au rouge (**Dohou, 2003**).

**I.1.2.3.h Caractérisation des stérols**

La détection des stérols consiste à récupérer l'extrait éthanolique sec dans 2 ml d'acide sulfurique et y rajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. La réaction positive est marquée par un changement de couleur vers un bleu ou vert (**Edeoga et al., 2005**).

**I.1.2.3.i Caractérisation des terpénoïdes**

Pour mettre en évidence la présence des terpénoïdes, il est recommandé de mélanger 2 ml de l'extrait méthanolique préparé avec 1 ml de chloroforme, puis d'ajouter lentement et avec précaution 2 ml d'acide sulfurique concentré (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). La présence de terpénoïdes est mise en évidence par l'apparition de deux phases et une coloration marron à l'interface (**Edeoga et al., 2005**).

**I.1.2.3.j Sucres réducteurs**

Le test pour les sucres réducteurs consiste à ajouter 1 ml de la liqueur de Fehling (0,5 ml de réactif A et 0,5 ml de réactif B, mélange extemporané) à 5 ml d'extrait, puis à chauffer la solution dans un bain-marie. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité rouge brique (**Trease et Evans, 1987**).

**I.1.2.4 Analyse quantitative des extraits phénoliques****I.1.2.4.a Dosage des polyphénols totaux**

L'estimation de la teneur totale en composés phénoliques, le protocole décrit par **Wong et al., (2006)** est adapté. Tout d'abord, un volume de 500 µl de réactif Folin ciocalteu dilué à 10% dans l'eau distillée (v/v) est ajouté à une aliquote de 500 µl diluée par le solvant d'extraction correspondant. Après 4 minutes d'incubation dans l'obscurité, une deuxième addition de 800 µl de carbonate de sodium (7.5%) y est faite. Les tubes à essai sont ensuite incubés pendant 30 min à une température ambiante.

La teneur totale en composés phénoliques est mesurée à 765 nm dans un spectrophotomètre UV-VIS model SP-3000nana et déterminée à partir de la courbe d'étalonnage ( $Y = 0,0932x + 0.0795$  ; avec  $R^2 = 0,996$ ) (**Fig. 13**), tracée en utilisant l'acide gallique comme acide phénolique standard. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/ g).

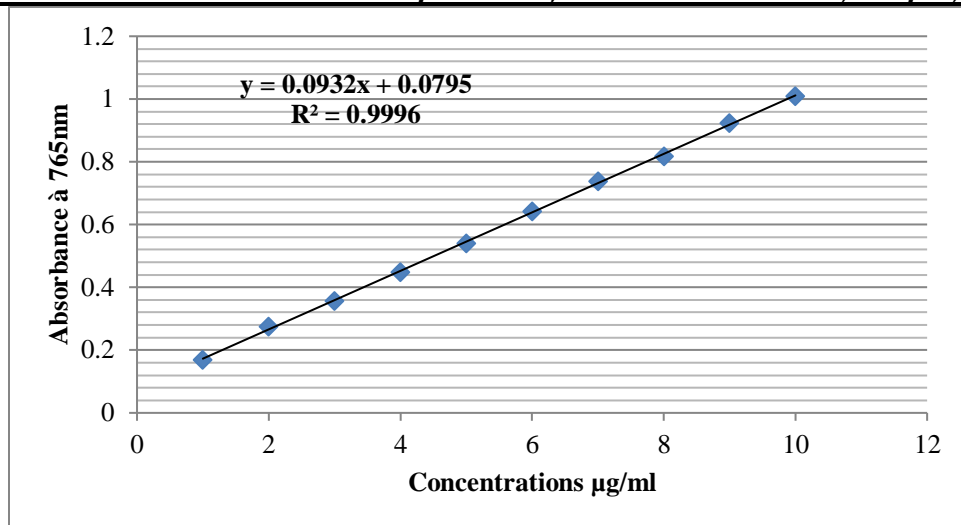


Figure 13 : Courbe d'étalonnage acide gallique (µg/ml)

#### I.1.2.4.b Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est déterminée selon la méthode d'**Alara et al. (2018)**. Des volumes de 1 ml de chaque extrait dilué sont mélangés avec 1 ml de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 2% (préparé dans le méthanol) dans des tubes. Les solutions obtenues sont incubées à l'obscurité et à une température ambiante pendant 1h. La teneur en flavonoïdes de la solution est mesurée à une longueur d'onde de 420 nm, et calculée à l'aide d'une courbe d'étalonnage ( $Y = 0,0123x - 0,1242$  ; avec  $R^2 = 0,9994$ ) (**Fig. 14**), tracée en utilisant la quercétine comme flavonoïde standard. Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg EQ /g).

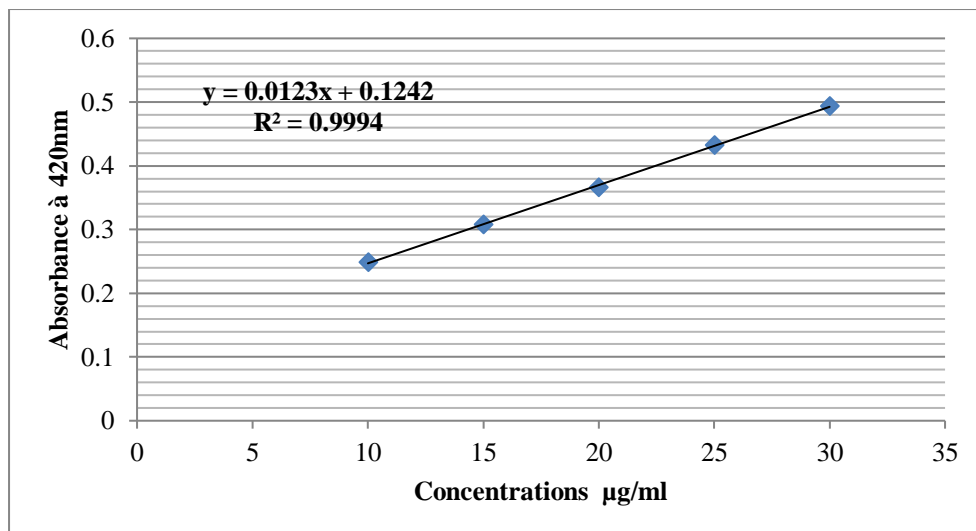


Figure 14 : Courbe d'étalonnage quercétine (µg/ml)

## I.1.2.4.c Dosage des tanins

- **Dosage des tanins hydrolysables**

Cette méthode est basée sur une réaction avec le trichlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) (Dif, 2015). Un volume de 1 ml du filtrat est additionné à 3,5 ml d'une solution préparée à base de trichlorure ferrique à 0,01 M dans l'acide chlorhydrique (HCl) à 0,001 M. L'absorbance du mélange est lue dans 15 secondes après l'addition du réactif à 660 nm sur spectrophotomètre UV. La teneur en tanins hydrolysables est exprimée en  $\mu\text{g}$  équivalent acide tannique par gramme de la matière sèche ( $\mu\text{g}$  EAT/g) en utilisant la courbe d'étalonnage ci-dessous ( $0,1447x - 0,0921$  ; avec  $R^2 = 0,9902$ ) (Fig. 15).

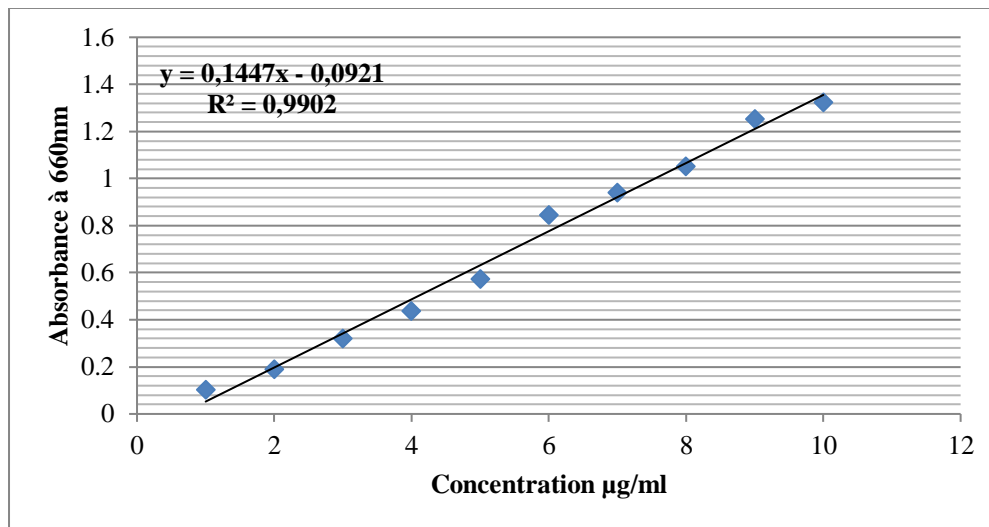


Figure 15 : Courbe d'étalonnage acide tannique ( $\mu\text{g/ml}$ )

- **Dosage des tanins condensés**

Le dosage des tanins condensés est effectué selon la méthode de la vanilline décrite par Julkumen-Titto (1985), avec quelques modifications. Un volume de 50  $\mu\text{l}$  de chaque extrait est ajouté à 750  $\mu\text{l}$  de la solution vanilline 4% préparé dans le méthanol. Le mélange résultant est vigoureusement agité puis un volume de 375  $\mu\text{l}$  d'HCl concentré y est additionné. La solution obtenue est laissée en incubation à température ambiante pendant 20 min pour réagir. Une courbe d'étalonnage ( $Y = 0,0052x + 0,201$  ; avec  $R^2 = 0,9918$ ) (Fig. 16), est établie avec la catéchine utilisée comme standard de référence afin d'estimer la quantité de tanins condensés exprimée en mg équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g).

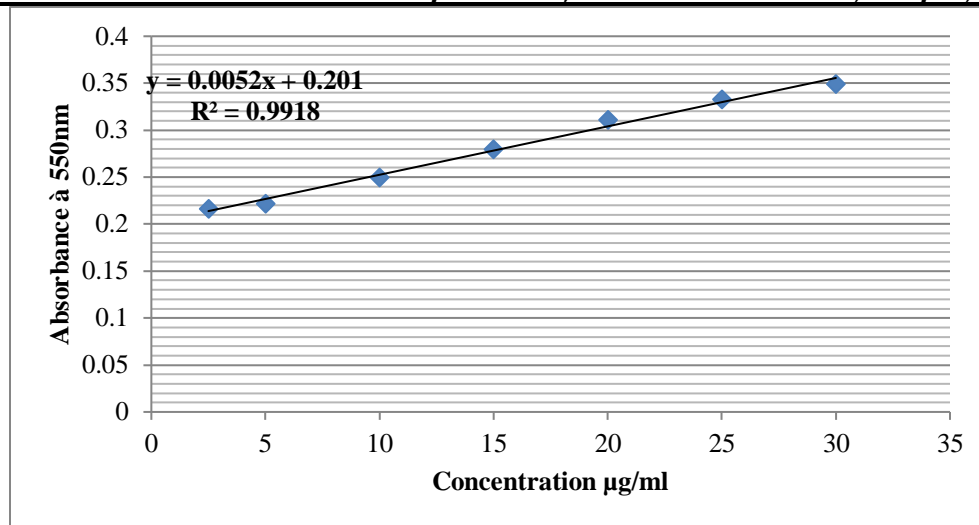


Figure 16: Courbe d'étalonnage catéchine (µg/ml)

### I.1.3 Méthodes d'analyse statistique

Toutes les analyses effectuées sont triplées. La représentation graphique des résultats est réalisée par le logiciel GraphPad Prism 8.0.2 et le Microsoft office Excel 2007. La valeur moyenne est accompagnée des écarts types standards (Moyenne  $\pm$  SD). La différence entre deux valeurs est considérée comme significative lorsque  $P < 0.05$ . L'analyse statistique des résultats est faite en utilisant l'analyse des variances (ANOVA) et le test de comparaison Tukey.

## I.2 Résultats et discussion

### I.2.1 Rendement en huile essentielle

Le pourcentage de rendement en huiles essentielles des espèces végétales examinées est calculé en fonction de la quantité de matière végétale sèche utilisée pour l'extraction. Les valeurs correspondantes sont indiquées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 8 : Rendement des huiles essentielles (%)

Espèce végétale	<i>C. sempervirens</i> L.	<i>J. phoenicea</i> L.	<i>M. rotundifolia</i> (L.)
Rendement en huile (%)	1.9%	2.7%	0.8%

Le *C. sempervirens* utilisé a produit un rendement de 1.9%. Ce dernier est nettement supérieur par rapport aux résultats obtenus par Boufares (2020) (0,91%) à Tiart. Le rendement noté pour cette étude est supérieur aussi à celui obtenu par Tapondjou *et al.*, (2005) au Cameroun (1%) et par Argui

(2021) en Tunisie (0.13%). Cependant, le rendement obtenu est inférieur à celui de **Slim et al., (2014)** en Arabie saoudite, qui a révélé un rendement en huile essentielle de 2.6%.

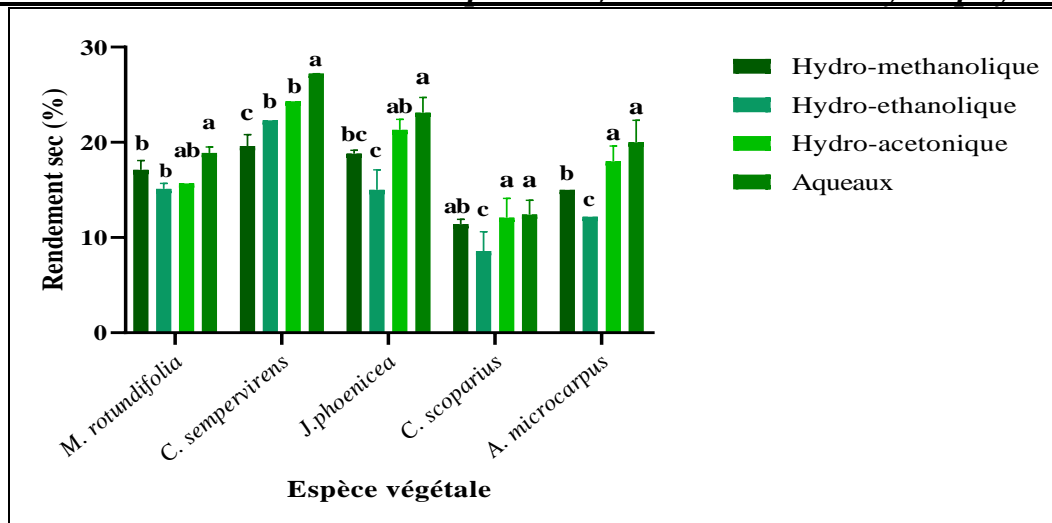
L'hydrodistillation des feuilles de *J. phoenicea* a fourni un taux de rendement en huile essentielle de 2.7% plus élevé que ceux obtenus par d'autres études menées en Algérie par **Boufares (2020)** (0.76%) et par **Boukhaloua (2022)** (0.8%). De même, dans d'autres pays, ce rendement peut être considéré comme le plus élevé comparé à ceux obtenus au Maroc par **Barrero et al., 2016** (0.7%) et **Ait-Ouazzou (2012)** (0.5%), ainsi qu'en Tunisie par **Aouadi (2021)** (0.8%) et **Bozouita et al., (2008)** (0.5%).

La plante *M. rotundifolia* a produit un rendement d'environ 0.8%. Ce même rendement est enregistré chez **Brada et al., (2007)** avec des échantillons collectés à Ain defla. Ce rendement est supérieur à celui obtenu pour la même espèce par **Brahmi et al., (2016)** de l'ordre 0.49% à Bejaia, de **Brada et al., (2006)** à Chlef de 0.2% et de **Başer et al., 2012** de 0.6% en Turquie. Cependant ce taux de rendement en huile essentielle de est inférieur à celui obtenu par **Leblalta (2018)** et **Yakhlef et al., (2020)** qui ont estimé des taux de 1.27% et 1.2% pour les feuilles collectées à Sétif et Batna, respectivement. D'autre part, ce rendement est également inférieur à ceux trouvés dans d'autres pays cités par **Derwich (2010)** et **Riahi et al., (2013)**.

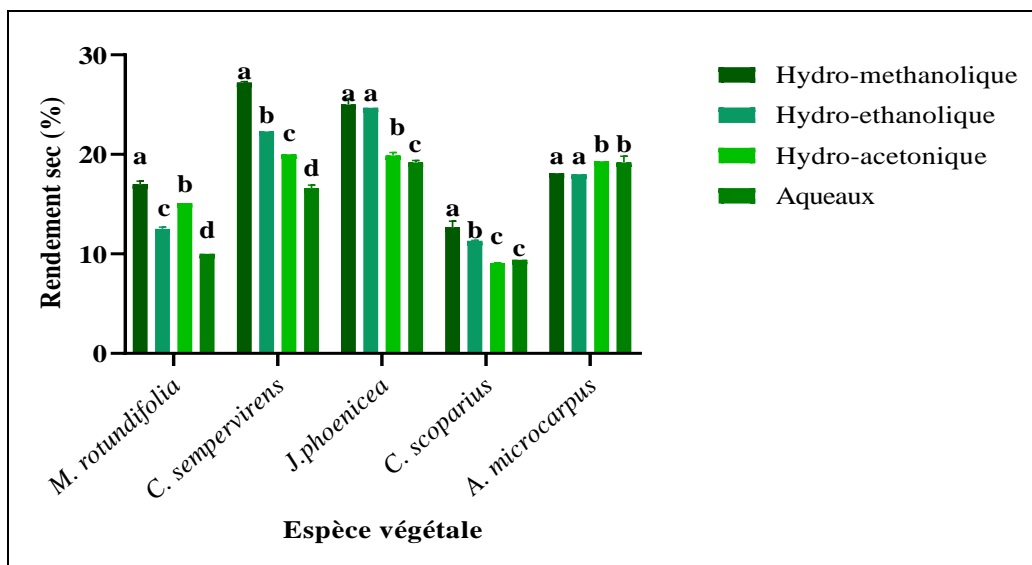
Cette variation dans le rendement peut être attribuée par les facteurs environnementaux (la température et l'humidité), l'espèce végétale utilisée, l'organe végétal, la période et le lieu géographique de récolte, le stade de la croissance et les conditions de culture de la plante (**Benayed, 2008 ; Brada et al., 2007 ; Mansouri et al., 2011**).

### **I.2.2 Rendement sec d'extraction**

Les rendements secs des extraits phénoliques hydro-méthanoliques, hydro-éthanoliques, hydro-acétoniques et aqueux obtenus par l'extraction assistée aux Ultrasons et la macération sont illustrés ci-dessous (**Fig. 17, 18**).



**Figure 17:** Rendement sec en % des extraits phénoliques obtenus par extraction assistée aux Ultrasons



**Figure 18 :** Rendement sec en % des extraits phénoliques obtenus par macération

Pour l'extraction par macération, les meilleurs rendements secs (%) sont enregistrés chez les extraits hydro-méthanoliques ( $17.0 \pm 0.3$  %) et hydro-acétoniques ( $15.1 \pm 0.0\%$ ) comparés avec les rendements obtenus par les extraits hydro-éthanoliques ( $12.5 \pm 0.2\%$ ) et aqueux ( $10.0 \pm 0.0\%$ ). Dans le cas d'extraction assistée aux Ultrasons, les résultats montrent que les rendements des extraits aqueux et hydro-méthanoliques, exprimés en pourcentage par rapport au poids de la matière sèche de *M. rotundifolia*, sont significativement plus élevés ( $P < 0,05$ ) que les rendements des extraits hydro-acétoniques et hydro-éthanoliques. Les rendements des extraits aqueux et hydro-méthanoliques sont respectivement de  $18,9 \pm 0,9$  % et  $17,1 \pm 1,0$  %, tandis que les rendements des extraits hydro-acétoniques et hydro-éthanoliques sont de  $15,0 \pm 0,0$  % et  $15,1 \pm 0,6$  %, respectivement.

Ces résultats diffèrent de ceux enregistrés chez **Leblalta (2018)** à Sétif, dont l'extrait aqueux de *M. rotundifolia* préparé par macération a présenté un rendement le plus élevé (20,08 %) par rapport aux extraits éthanoliques (2,2 %) et méthanoliques (9,15 %). A Bejaia, l'extraction par macération effectuée par **Brahmi et al., (2017)** a révélé que l'extrait hydro-méthanolique (50 % v/v) a donné un rendement de 12,4% plus élevé de celui récupéré avec l'hydro-acétonique (50 % v/v) (11,9 %).

Les résultats obtenus démontrent que les meilleurs rendements secs sont trouvés chez les extraits préparés l'extraction assistée aux Ultrasons avec un ordre de : l'extrait aqueux ( $32,5 \pm 0,1$  %) suivi par l'extrait hydro-acétonique ( $24,3 \pm 0,0$  %) puis l'extrait hydro-éthanolique ( $22,3 \pm 0,0$  %) et en fin l'extrait hydro-méthanolique ( $19,6 \pm 1,2$  %) comparés aux rendements secs des extraits issus de la macération avec un ordre complètement inversé : extrait hydro-méthanolique ( $27,2 \pm 0,01$  %), extrait hydro-éthanolique ( $21,1 \pm 0,0$  %), extrait hydro-acétonique ( $20,0 \pm 0,0$  %) et extrait aqueux ( $16,6 \pm 0,3$  %). Ces résultats sont cohérents avec ceux dans l'étude menée par **Tumen et al., (2012)** qui ont signalé que les extraits méthanoliques obtenus par macération à partir des cônes et des feuilles de l'espèce *C. sempervirens* récoltées en Turquie présentent les meilleurs rendements (9,50 %) et (9,21 %) respectivement, par rapport aux extraits acétoniques. En revanche, **Ialeff et al., (2021)** ont révélé que l'extrait aqueux donne un meilleur rendement de 25% par rapport aux extraits acétonique (14,96 %), méthanolique (20,4 %) et éthanolique (11,48 %).

Contrairement aux résultats susmentionnés, chez le *J. phoenicea* les rendements les plus élevés sont enregistrés pour les extraits hydro-méthanolique ( $25,0 \pm 0,6$  %), hydro-éthanolique ( $24,7 \pm 0,0$  %), hydro-acétonique ( $19,9 \pm 0,3$  %) et aqueux ( $19,2 \pm 0,2$  %) obtenus par la macération. En contrepartie, les extraits obtenus par extraction assistée aux Ultrasons ont permis d'établir l'ordre suivant : extrait aqueux ( $23,1 \pm 1,36$  %), hydro-acétonique ( $21,3 \pm 1,1$  %), hydro-méthanolique ( $18,8 \pm 0,4$  %) et hydro-éthanolique ( $15,0 \pm 2,1$  %). Dans des études antérieures effectuées en Tunisie la macération semblait plus efficace pour une meilleure récupération des extraits secs. Les résultats de **Bouzabata (2015)** ont révélé des rendements très importants obtenus dans l'éthanol par macération. Également, chez **Hayouni et al., (2007)**, les meilleurs rendements sont enregistrés par les extraits aqueux (10,8 %) et acétonique (15,20 %) obtenus par macération, par contre les extraits obtenus par reflux ont présenté des rendements faibles de 6,32% (Extrait aqueux) et 9,65% (Extrait acétonique).

Les extraits préparés à partir des gousses de *C. scoparius* par extraction assistée aux Ultrasons, ont des rendements variables. Les extraits aqueux et hydro-acétonique présentent les rendements les plus élevés de  $12,4 \pm 1,5\%$  et  $12,1 \pm 2,0\%$  respectivement, suivis par l'extrait hydro-méthanolique (11,4

$\pm 0,5\%$ ). Alors que l'extrait hydro-éthanolique présente un faible rendement ( $8,6 \pm 2,0\%$ ). Les résultats de l'extraction par la macération ont révélé que l'extrait hydro-méthanolique assure les meilleurs rendements secs, avec  $12,7 \pm 0,6\%$  par rapport aux extraits hydro-éthanolique ( $11,3 \pm 0,05\%$ ), hydro-acétonique ( $9,1 \pm 0,02\%$ ) et aqueux ( $9,4 \pm 0,0\%$ ). Il est à noter que la discussion de ces résultats semble difficile en raison de l'indisponibilité de données dans la littérature.

Les résultats de rendement des extraits exprimés par rapport au poids de la matière sèche d'*A. microcarpus*, relèvent un pourcentage plus élevé pour les extraits obtenus par macération qui est de l'ordre de l'extrait hydro-acétonique, aqueux, hydro-méthanolique et hydro-éthanolique, avec des rendements de  $20,0 \pm 2,3\%$ ,  $19,2 \pm 0,6\%$ ,  $18,1 \pm 0,0\%$  et  $18,0 \pm 0,0\%$ , respectivement. Les extraits obtenus par extraction assistée aux Ultrasons ont des rendements inférieurs de  $19,3 \pm 0,0\%$  (Extrait aqueux),  $18,0 \pm 1,6\%$  (Extraits hydro-acétonique),  $15,0 \pm 0,0\%$  (Extrait hydro-méthanolique) et  $12,0 \pm 0,0\%$  (Extrait hydro-éthanolique). Ces résultats sont similaires à ceux cités par **Mayouf (2019)** pour l'extrait aqueux des fleurs d'*A. microcarpus* récoltées à Souk Ahras, Algérie qui a donné un rendement de  $14,6\%$ . Par contre l'extrait méthanolique préparé par infusion a donné un rendement de  $7,92\%$ . Il est important de noter que ces pourcentages sont bien inférieurs à ceux enregistrés par **Hosni et al., (2019)**, qui ont trouvé un rendement de  $27,3\%$  avec les feuilles d'Asphodèle récoltées au Maroc.

Bien que la macération soit considérée comme l'une des méthodes traditionnelles efficaces pour l'extraction des composés phénoliques approuvée par différents auteurs (**Cujic et al., 2016**), l'extraction assistée aux Ultrasons demeure la meilleure technique innovante car ses ondes sonores perturbent la structure de la paroi ce qui assure la diffusion des molécules à travers les membranes cellulaires, donc réduire considérablement le temps d'extraction et d'augmenter le rendement d'extraction (**Chemat et al., 2017**). Ceci est en accord avec nos résultats qui révèlent que la plupart des rendements élevés sont obtenus par la méthode d'extraction assistée aux Ultrasons.

D'autre part, les rendements secs des extractions peuvent varier en fonction de différents facteurs tels que la méthode d'extraction, la polarité et la nature des solvants utilisés, le lieu de la récolte et la partie de la plante utilisée. Cela est en ligne avec les résultats présentés dans la présente étude, qui ont montré des différences de rendement selon les méthodes et les solvants utilisés pour extraire les composés.

**II.2.3 Etude phytochimique qualitative des extraits végétaux**

Les extraits des espèces végétales *M. rotundifolia*, *C. sempervirens*, *J. phoenicea*, *C. scoparius* et *A. microcarpus* préparés par deux méthodes d'extraction et avec différents solvants, ont fait l'objet de quelques tests phytochimiques basés sur des phénomènes de la précipitation et de changement de couleur qui permettent de mettre en évidence la présence ou l'absence de certaines substances recherchées.

Le **tableau 9** représente les résultats du screening phytochimique classés en fonction des observations à savoir une réaction positive (+) ou négative (-). Le screening phytochimique a permis d'enregistrer la présence d'un groupe de métabolites secondaires majoritaires, comprenant des alcaloïdes, des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des terpénoïdes, des saponines, des quinones et des sucres réducteurs.

**Tableau 9:** Résultats du screening phytochimique des extraits de différentes espèces végétales

<b>Espèces végétales</b>	<i>M. rotundifolia</i> (L.) Huds	<i>C. sempervirens</i> L.	<i>J. phoenicea</i> L.	<i>C. scoparius</i> L.	<i>A. microcarpus</i> Salzm & Viv.
Alcaloïdes	-	-	+	++	-
Polyphénols	+++	+++	+++	++	+
Flavonoïdes	+++	+	++	+	++
Tanins	+++	+++	+++	+	+
Terpénoïdes	++	+++	+++	-	-
Saponines	+	-	-	++	++
Quinons	+++	+++	-	++	++
Anthocyanes	-	-	-	-	-
Stérols	+	-	-	-	-
Composés réducteurs	+++	+	+++	+	+

**+ : Présence    ++ Forte présence    +++ Très forte présence ; - : Absence**

Les résultats des tests phytochimiques obtenus ont révélé la présence moyenne des alcaloïdes dans les feuilles de *J. phoenicea* et une forte présence dans les gousses de *C. scoparius* après le test positif de Mayer et l'apparition d'un précipité blanc. En revanche, les autres espèces végétales ne présentent pas de traces d'alcaloïdes détectables.

En effet, la forte présence des composés phénoliques dans les extraits de toutes les plantes analysées pourrait justifier leur utilisation potentielle en thérapie pour l'entretien des neurones (**Akter et al., 2021**). De plus, ces métabolites sont dotés d'un fort pouvoir antibactérien et antifongique (**Rashed et al., 2014**).

Les résultats des tests de caractérisation des flavonoïdes ont indiqué une forte présence de flavonoïdes dans les différents extraits préparés à partir de *M. rotundifolia*, de *J. phoenicea* et d'*A. microcarpus*. En revanche, les réactions sont marquées comme faibles chez le *C. sempervirens* et *C. scoparius*.

Les tanins sont connus pour leurs propriétés antiseptique, antibactérienne, antifongique, antioxydante, anti-inflammatoire (**Carvalho et al., 2018 ; Park et al., 2014**). Les extraits de *M. rotundifolia*, de *C. sempervirens* et de *J. phoenicea* sont estimés comme riches en tanins, d'ailleurs le test a montré la présence d'une coloration brune verdâtre très intense en comparaison avec les extraits de gousses de *C. scoparius* et les fleurs d'*A. microcarpus* qui n'ont pas changé de couleur.

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques de terpénoïdes réalisés ont montré que leur présence était fortement positive uniquement dans les extraits de *M. rotundifolia*, *C. sempervirens* L. et *J. phoenicea*, en revanche des tests négatifs sont enregistrés pour les extraits de *C. scoparius* et d'*A. microcarpus*. Quant aux saponines, ces métabolites étaient présents chez les feuilles de *M. rotundifolia*, les gousses de *C. scoparius* et les fleurs d'*A. microcarpus*, et absentes chez les feuilles de *C. sempervirens* et *J. phoenicea*.

Les précipités de couleur rouge brique présents dans les extraits de toutes les plantes étudiées confirment leurs contenus en sucres réducteurs. D'un test à l'autre, l'absence des stérols et des anthracyones est notée chez tous les extraits des plantes étudiées. Pour les quinones, un test très positif est observé dans toutes les plantes, sauf chez *J. phoenicea*.

Les résultats obtenus dans cette étude diffèrent de ceux des travaux antérieurs. Par exemple, **Leblalta (2018)** a trouvé que la *M. rotundifolia* provenant de la région de Sétif contient des tanins, flavonoïdes et des polyphénols, alors que les saponines et les quinones n'ont pas été détectées. De même, l'étude menée par **Bounihi (2016)**, a révélé la présence de saponines, de tanins, de flavonoïdes et de polyphénols dans l'extrait brut de cette espèce. En revanche, elle a noté l'absence des alcaloïdes et des stérols.

Cependant, nos résultats sont en accord avec ceux de **Rahmani (2020)**, qui a révélé par ses tests phytochimiques la présence des flavonoïdes, des tanins et des terpénoïdes, et par d'autres tests l'absence des alcaloïdes et des saponines dans les extraits préparés à partir des feuilles de l'espèce *C. sempervirens*. D'autre part, les résultats d'**Azaz et al., (2019)** ont montré que l'extrait méthanolique de *Cupressus* contenait des tanins et des alcaloïdes, à l'exception des terpènes, des saponines, des flavonoïdes et des résines. Par contre, l'extrait de chloroforme contenait des terpènes et des alcaloïdes, à l'exception des tanins, des flavonoïdes, des saponines et des résines. Enfin, l'extrait éthanolique contenait des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes et était dépourvu des terpènes, des saponines et des résines.

Les résultats enregistrés par **Khadri (2019)** ont révélé que le *Cytisus triflorus* a une composition riche en tanins, flavonoïdes, alcaloïdes et en saponines, par contre le test des stérols est positif.

Contrairement à nos résultats, les tests réalisés par **El jemli (2019)** et **El sawi et al., (2014)** ont montré que les feuilles de *J. phoenicea* contiennent des saponines mais dépourvues des alcaloïdes. Cependant, ces deux études ont indiqué que les flavonoïdes sont abondants. Chez **Zouari (2018)**, le screening phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique préparé à partir des feuilles de *J. phoenicea* a révélé la présence d'un groupe chimique variant de métabolites secondaires à savoir les terpenoïdes, tanins, saponins et les alcaloïdes.

Sur le plan phytochimique, nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Hosni et al., (2020)**, dont les tests de caractérisation des polyphénols, flavonoïdes et tanins se sont tous révélés positifs, alors que cette étude a marqué l'absence des quinones et des saponines dans les extraits d'*A. microcarpus*.

Ces observations peuvent être expliquées par des différences au niveau de plusieurs paramètres, tels que les paramètres géographiques, physicochimiques ou biologiques. Il s'agit notamment du site de récolte, y compris l'environnement de la plante, de la lumière, des précipitations, de la saison, de la période de récolte, de la procédure d'extraction utilisée et de la partie de la plante étudiée (**Benayed, 2008**).

#### **I.2.4 Etude phytochimique quantitative des extraits phénoliques**

Le criblage phytochimique qualitatif par réactions est suivi d'une confirmation par dosage des contenus phénoliques, flavonoïdes et des tanins (hydrolysables et condensés). Ces quantifications sont élaborées pour l'ensemble des parties de plantes choisies, en vue de caractériser les substances

chimiques qui peuvent être exploitées pour leurs propriétés insecticides et antifongiques. Il est nécessaire de noter que l'étape d'extraction de ces différents composés est primordiale pour la valorisation de la plante qui dépend de la méthode et du solvant approprié.

#### **I.2.4.1 Dosage des polyphénols totaux**

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits obtenus à partir des feuilles de *M. rotundifolia*, *C. sempervirens*, *J. phoenicea*, des gousses de *C. scoparius* et des fleurs d'*A. microcarpus* déterminées en utilisant les courbes d'étalonnages sont illustrées sous forme d'histogramme dans la **figure 19**.

Chez *M. rotundifolia*, les résultats ont révélé de manière significative (avec un  $P < 0,05$ ) que les teneurs les plus élevées en polyphénol sont trouvées dans les extraits hydro-acétoniques obtenus par l'extraction assistée aux Ultrasons ( $353,0 \pm 10,74$  mg EAG/g) et par la macération ( $414,33 \pm 11,08$  mg EAG/g). Cependant, les autres extraits hydro-méthanoliques, hydro-éthanoliques et aqueux, ont également présenté des taux considérables en polyphénols de  $339,60 \pm 11,70$  mg EAG/g,  $233,0 \pm 10,00$  mg EAG/g et  $313,0 \pm 7,27$  mg EAG/g par extraction assistée aux Ultrasons et de  $377,66 \pm 10,16$  mg EAG/g,  $279,0 \pm 4,2$  mg EAG/g et  $239,66 \pm 10,9$  mg EAG/g par macération, respectivement.

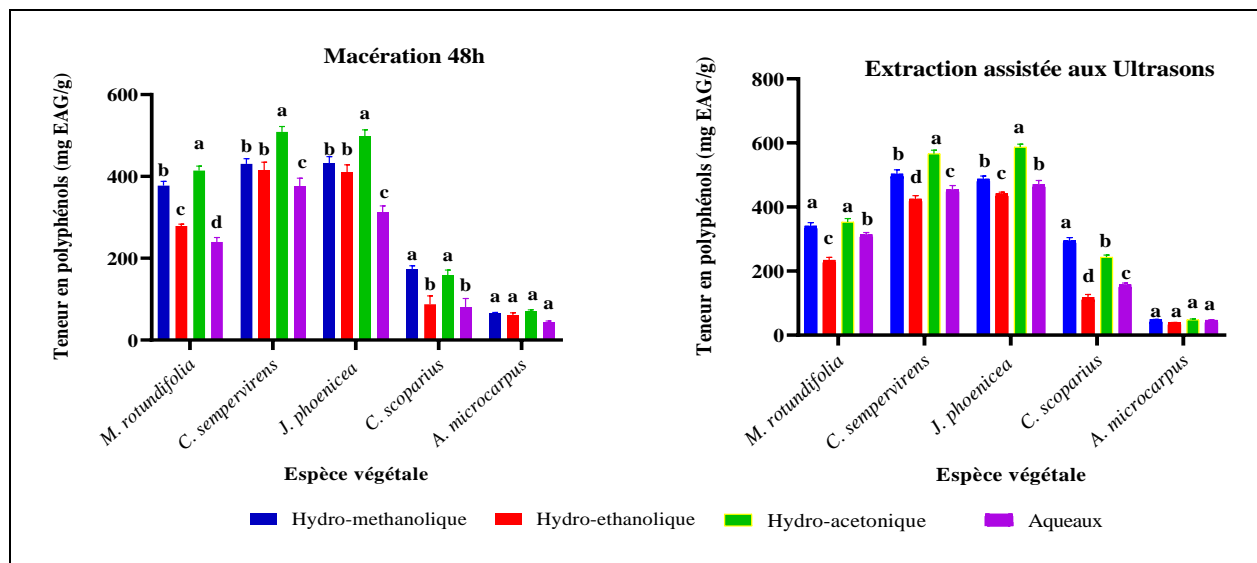
Dans le cas de *C. sempervirens* les valeurs les plus élevées de polyphénols sont enregistrées pour les extraits hydro-acétonique, hydro-méthanolique, hydro-éthanolique et aqueux obtenus par extraction assistée aux Ultrasons avec :  $566,5 \pm 10,66$  mg EAG/g,  $502,1 \pm 14,22$  mg EAG/g,  $423,8 \pm 11,55$  mg EAG/g et  $453,8 \pm 13,11$  mg EAG/g, respectivement. Le même ordre est noté dans le cas d'extraction par la macération avec des taux de  $430,8 \pm 12,44$  mg EAG/g (Extrait hydro-méthanolique),  $414,5 \pm 20,1$  mg EAG/g (Extrait hydro-éthanolique),  $509,0 \pm 13$  mg EAG/g (Extrait hydro-acétonique) et  $375,8 \pm 20,1$  mg EAG/g (Extrait aqueux).

Ces estimations étaient largement proches à celles trouvées chez le *J. phoenicea*, dont les extraits hydro-méthanoliques, hydro-éthanoliques, hydro-acétonique et aqueux préparés par l'extraction assistée aux Ultrasons ont donné les taux suivants :  $486,1 \pm 10,66$  mg EAG/g,  $441,1 \pm 5,33$  mg EAG/g,  $587 \pm 9,2$  mg EAG/g,  $469,1 \pm 13,55$  mg EAG/g, respectivement. En revanche, les extraits obtenus par la macération ont présenté des taux de  $430,5 \pm 17,99$  mg EAG/g (hydro-méthanolique),  $410,8 \pm 17,57$  mg EAG/g (hydro-éthanolique),  $498,1 \pm 15,65$  mg EAG/g (hydro-acétonique) et  $311,8 \pm 16$  mg EAG/g (aqueux).

L'extraction assistée aux Ultrasons faite à partir des gousses de *C. scoparius* a permis d'obtenir des taux de polyphénols de  $294,3 \pm 10,3$  mg EAG/g,  $117,3 \pm 9,6$  mg EAG/g,  $243,5 \pm 6,33$  mg EAG/g,

156,5 ±6,5 mg EAG/g, chez les extraits hydro-méthanoliques, hydro-éthanoliques, hydro-acétonique et aqueux, respectivement. Par contre l'extraction par la macération a donné des valeurs moins importantes qui variaient selon le solvant d'extraction utilisé de 171,8 ±10,01 mg EAG/g à 80,5 ±21,3 mg EAG/g.

En revanche, aucune différence significative ( $P > 0,05$ ) n'est enregistrée chez les extraits obtenus avec les fleurs d'*A. microcarpus*, avec des valeurs qui varient entre 39,33 ±10,61 mg EAG/g à 69,1 ±8,0 mg EAG/g.



**Figure 19 :** Teneurs des extraits végétaux en polyphénols exprimées en mg EAG/g

La préparation des extraits phénoliques est réalisée en utilisant les parties aériennes de nos plantes sélectionnées, qui sont généralement les plus utilisées pour leurs activités biologiques (Benabdallah *et al.*, 2016 ; Chassagne *et al.*, 2020; Malmir *et al.*, 2018 ; Redhouane *et al.*, 2020). Le but était d'éviter le déracinement des plantes et d'assurer leur régénération. Ainsi, afin de surmonter les problèmes associés au processus d'extraction solide-liquide, beaucoup d'efforts sont consacrés dans notre étude pour améliorer le rendement en composés bioactifs en faisant varier certains paramètres fondamentaux. Dans ce cadre, quatre solvants de polarités différentes sont utilisés sous la forme de mélange (solvant/eau) pour assurer une meilleure solubilité de ces composés bioactifs (Atègbo *et al.*, 2020 ; Ghasemzadeh *et al.*, 2015 ; Hayouni *et al.*, 2007).

Généralement, les niveaux considérables de biomolécules cités par certains auteurs sont le résultat d'une extraction assistée aux Ultrasons par rapport aux niveaux obtenus par des méthodes

conventionnelles (Deng *et al.*, 2017 ; Momchev *et al.*, 2020 ; Oroian *et al.*, 2020). Ceci a incité à adopter cette technique pour cette recherche.

De manière globale, les résultats de cette étude ont montré que les extraits de nos plantes ont des teneurs significativement variables en polyphénols totaux, même pour les espèces végétales appartenant à une même famille. L'extraction assistée aux Ultrasons a révélé les meilleurs taux de polyphénols chez les deux essences forestières de la famille « Cupressacées » à savoir le *C. sempervirens* et *J. phoenicea*.

Ce résultat peut être justifié par la similitude de leur structure végétale qui nécessite une action mécanique accompagnée d'une température modérée, ce qui provoque l'éclatement des cellules végétales et assure l'exsudation de ce type de molécules bioactives. De plus, les résultats de Klavins *et al.*, (2017) confirment l'efficacité de ce procédé pour une meilleure récupération des polyphénols dans le solvant lors de l'extraction. En revanche, l'analyse statistique a montré que les extraits de *M. rotundifolia* et *A. microcarpus* obtenus par la macération ont présenté significativement ( $P < 0,05$ ) les meilleurs taux de polyphénols. Ces résultats sont en accord avec ceux retenus par Boussof *et al.*, (2017), Di Petrillo *et al.*, (2016), Mayouf *et al.*, (2019) et Nikavar *et al.*, (2008), qui ont trouvé des niveaux considérables de polyphénols par la macération et 24h.

Cependant, il convient de noter que l'eau distillée utilisée comme solvant a donné les meilleurs taux de polyphénols par la méthode assistée aux ultrasons dans toutes les plantes étudiées, par rapport à ceux obtenus par la macération avec ce solvant. Cette observation peut s'expliquer par le fait que les polyphénols sont des molécules sensibles aux effets extérieurs, et qu'ils se sont dégradés au contact de l'eau distillée pendant une période prolongée de 48h à une température ambiante de 25°C (Osorio-Tobon, 2020).

#### **I.2.4.2 Dosage des flavonoïdes**

Les résultats de l'estimation quantitative des flavonoïdes qui sont présentés dans la **figure 20**, montrent que les extraits hydro-méthanoliques ont des niveaux significativement plus élevés de flavonoïdes ( $P < 0,05$ ) que les extraits hydro-acétonique, hydro-éthanolique et aqueux. Les teneurs les plus élevées des flavonoïdes sont enregistrés chez le *C. sempervirens* (23,68 ± 0,82 mg EQ/g), *J. phoenicea* (25,8 ± 1,31 mg EQ/g) et *M. rotundifolia* (33,1 ± 0,32 mg EQ/g) pour les extraits hydro-méthanoliques obtenus par l'extraction assistée aux Ultrasons. En revanche, des valeurs de 58,85 ± 0,23

mg EQ/g,  $37,0 \pm 0,83$  mg EQ/g et  $40,9 \pm 0,1$  mg EQ/g sont enregistrées pour les extraits hydro-méthanoliques obtenus par la macération pour les plantes mentionnées précédemment.

Contrairement aux résultats cités ci-dessus, chez le *C. scoparius* et l'*A. microcarpus* les extraits hydro-acétoniques ont présenté significativement ( $P < 0,05$ ) les meilleures valeurs des flavonoïdes de  $8,8 \pm 0,3$  mg EQ/g (*C. scoparius*) et  $28,41 \pm 3,24$  mg EQ/g (*A. microcarpus*) par la macération et de  $11,27 \pm 0,66$  mg EQ/g (*C. scoparius*) et  $6,65 \pm 0,39$  mg EQ/g (*A. microcarpus*) par l'extraction assistée aux Ultrasons (Fig. 20).

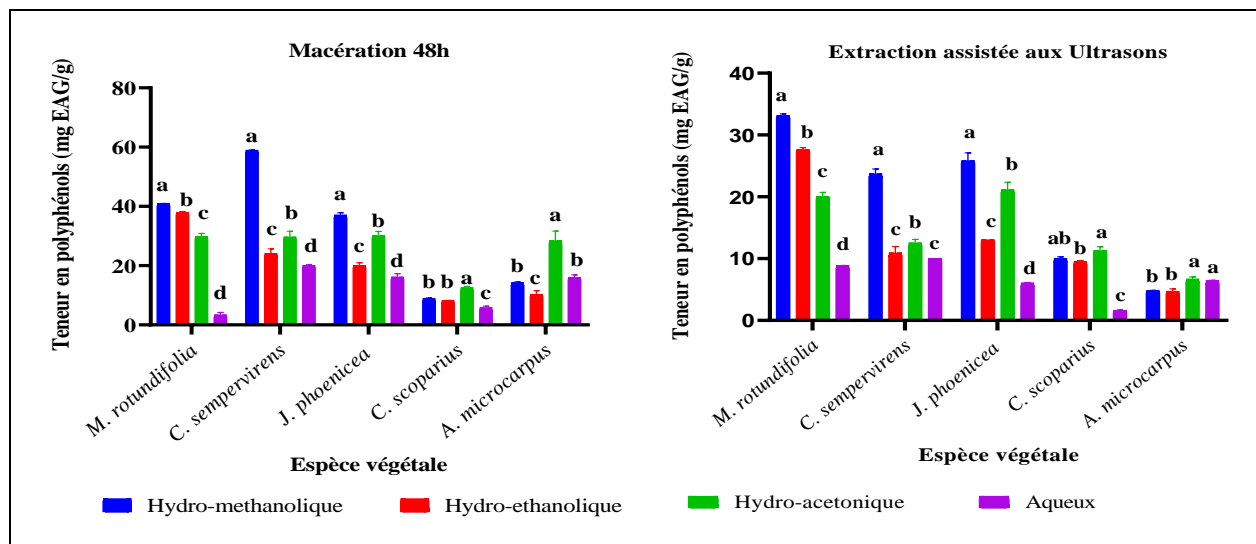


Figure 20 : Teneurs des extraits végétaux en flavonoïdes exprimées en mg EQ/g

Les auteurs **Redhouane et al., (2020)** et **Soltani et al., (2018)** indiquent que les teneurs trouvées dans les extraits méthanoliques sont supérieures à celles trouvées dans les extraits aqueux. Pour le genévrier, l'estimation quantitative dans l'étude menée par **Keskes et al., (2014)** et **Soltani et al., (2018)** a dénoté un taux très élevé de flavonoïdes, respectivement  $98,36 \pm 6,27$  mg EC/g et  $176,0 \pm 0,52$  mg EC/g, dans le méthanol par macération. Cependant, **Ozturk et al., (2011)** et **Tumen et al., (2012)** ont déterminé que l'acétone est le meilleur solvant pour extraire les flavonoïdes.

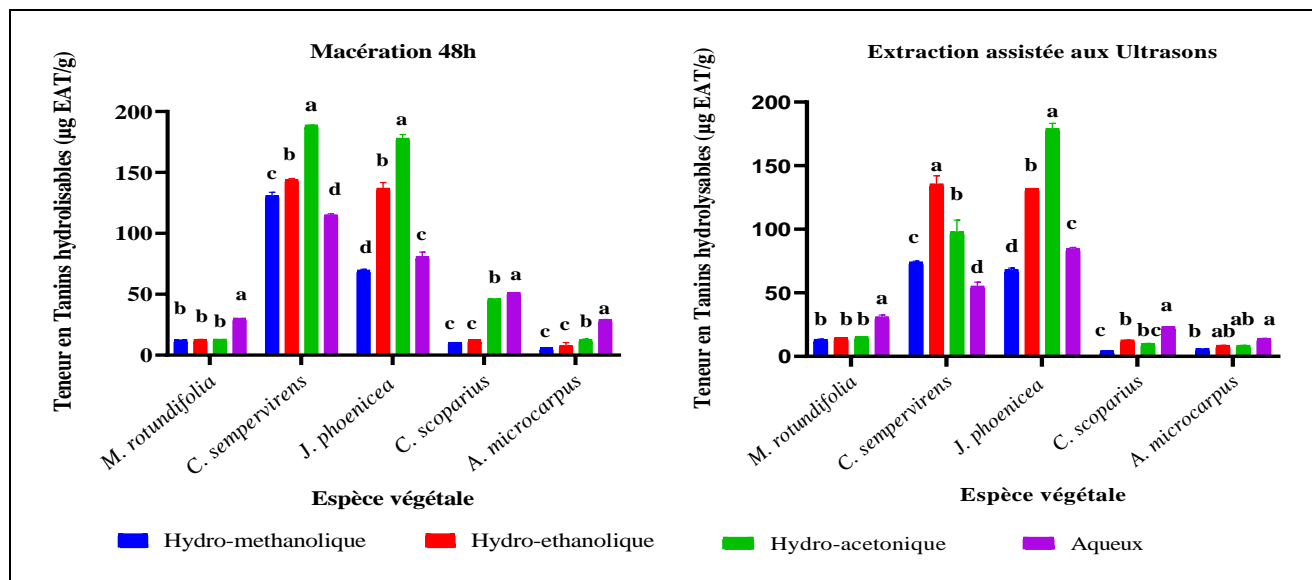
Ces résultats sont en désaccord avec ceux rapportés par **Di Petrillo et al., (2016)** et **Lazarova et al., (2020)**, qui ont montré que les extraits préparés au méthanol et à l'éthanol donnent les meilleurs taux de flavonoïdes par macération dans certaines espèces du genre *Asphodelus*, en notant que la macération de 48h a donné les niveaux les plus élevés de flavonoïdes dans toutes les plantes de notre étude. Ces résultats confirment l'utilisation fréquente de cette méthode pour extraire les flavonoïdes de plantes (**Rani et al., 2021**).

## I.2.4.3 Dosage des tanins

## I.2.4.3.a Dosage des tannins hydrolysables

D'après la **figure 21**, les différents extraits des feuilles de *C. sempervirens* et de *J. phoenicea* présentent des teneurs significativement intéressantes en tanins hydrolysables, avec des niveaux de  $130,83 \pm 2,92 \mu\text{g EAT/g}$ ,  $144,4 \pm 1,0 \mu\text{g EAT/g}$ ,  $188,7 \pm 0,1 \mu\text{g EAT/g}$  et  $144,96 \pm 1,2 \mu\text{g EAT/g}$ , chez les extraits hydro-méthanolique, hydro-ethanolique, hydro-acétonique et aqueux respectivement, de *C. sempervirens* obtenus par la macération, et des niveaux de  $69,58 \pm 0,98 \mu\text{g EAT/g}$ ,  $136,85 \pm 4,92 \mu\text{g EAT/g}$ ,  $177,96 \pm 3,14 \mu\text{g EAT/g}$  et  $81,04 \pm 3,64 \mu\text{g EAT/g}$  dans les extraits hydro-méthanolique, hydro-ethanolique, hydro-acétonique et aqueux respectivement, de *J. phoenicea*. D'autre part, des teneurs de  $74,06 \pm 0,88 \mu\text{g EAT/g}$  (hydro-méthanolique),  $135,45 \pm 6,59 \mu\text{g EAT/g}$  (hydro-ethanolique),  $97,73 \pm 9,47 \mu\text{g EAT/g}$  (hydro-acétonique) et  $55,08 \pm 3,26 \mu\text{g EAT/g}$  (aqueux) sont notées pour le *C. sempervirens* et de  $67,96 \pm 1,44 \mu\text{g EAT/g}$  (hydro-méthanolique),  $131,78 \pm 0,24 \mu\text{g EAT/g}$  (hydro-ethanolique),  $179,0 \pm 4,31 \mu\text{g EAT/g}$  (hydro-acétonique) et  $84,43 \pm 1,2 \mu\text{g EAT/g}$  (aqueux) pour le *J. phoenicea* avec les extraits obtenus par l'extraction assistée aux Ultrasons.

En revanche, ces teneurs chez *M. rotundifolia*, *C. scoparius* et *A. microcarpus* sont plus ou moins importantes selon le solvant d'extraction. Une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) était marquée dans les extraits aqueux qui ont révélé les plus fortes teneurs en tanins hydrolysables en les comparant aux autres extraits. Malheureusement, aucune comparaison n'a pu être établie du fait de l'indisponibilité de travaux sur ce type de biomolécules par les plantes utilisées pour cette étude.



**Figure 21** : Teneurs des extraits végétaux en tanins hydrolysables exprimées en  $\mu\text{g EAT/g}$ .

I.2.4.3.b Dosage des tanins condensés

La figure 22 indique que les niveaux des tanins condensés enregistrés chez *C. sempervirens* dans les extraits hydro-acétoniques (84,33 ±7,98 mg EC/g par extraction assistée aux Ultrasons et 86,47 ± 0,37 mg EC/g par macération) et dans les extraits hydro-éthanoliques (78,0 ±6,0 mg EC/g par extraction assistée aux Ultrasons et 72,0± 6,0 mg EC/g par macération) sont significativement plus élevés que ceux enregistrés dans les extraits aqueux et hydro-méthanoliques.

Pour le *J. phoenicea*, les extraits hydro-acétoniques ont également donné significativement les teneurs maximales en tanins condensés (161,0 ±7,0 mg EC/g par extraction assistée aux Ultrasons et 120,0 ±2,27 mg EC/g par macération)

Chez la *M. rotundifolia* les valeurs trouvées dans les extraits aqueux obtenus par extraction assistée aux Ultrasons (8,7 ±0,11 mg EC/g) et obtenus par la macération (7,89 ±0,09 mg EC/g) sont hautement significatives ( $P < 0,05$ ) par rapport aux autres extraits.

Dans le cas d'*A. microcarpus* la teneur la plus élevée est notée chez l'extrait hydro-acétonique (7,0 ±0,1 mg EC/g) obtenu par extraction assistée aux Ultrasons et l'extrait aqueux (9,25 ± 0,77 mg EC/g) obtenu par la macération (Fig. 22).

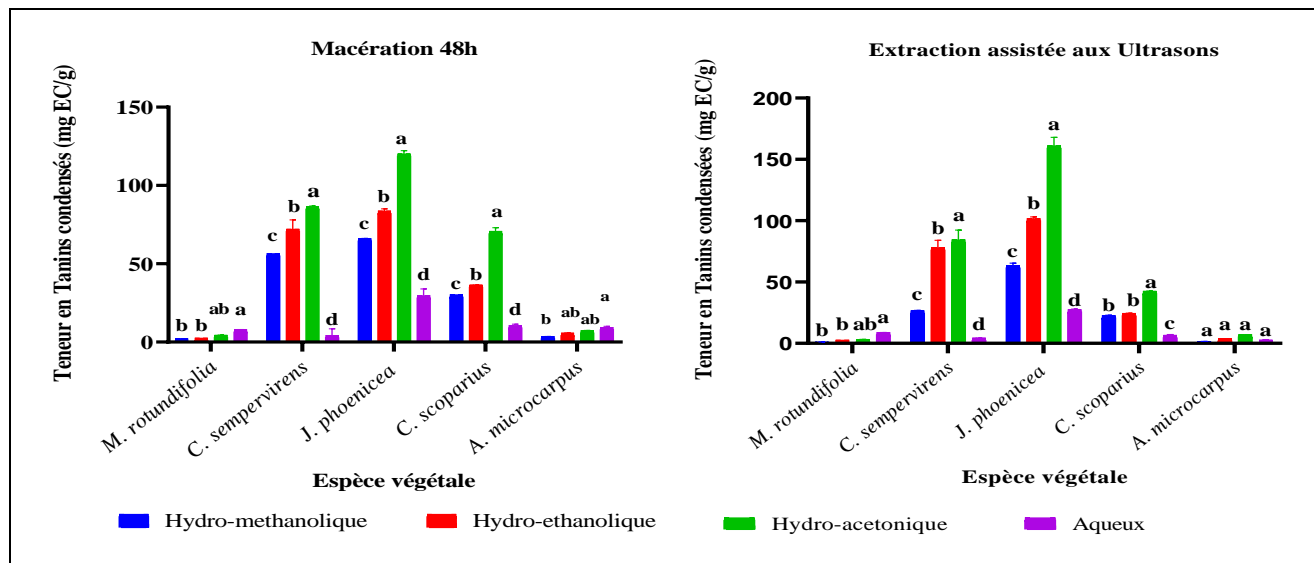


Figure 22 : Teneurs des extraits végétaux en tanins condensés exprimées en mg EC/g

Statistiquement, les extraits issus des espèces végétales étudiées ont présenté des niveaux supérieurs de tanins condensés par rapport aux teneurs en tanins hydrolysables précédemment estimées. L'analyse de ces métabolites a montré que les extraits hydro-acétonique et éthanolique dans le cas de *C.*

*sempervirens* et *J. phoenicea* et les extraits aqueux de *M. rotundifolia* et *A. microcarpus* sont marqués par une différence significative ( $P < 0,05$ ), d'ailleurs les meilleurs taux sont enregistrés chez ces extraits obtenus par les deux méthodes d'extraction.

Ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés dans les extraits méthanolique et aqueux de *C. sempervirens* préparés par macération par **Rahmani et al., (2019)** et **Rguez et al., (2019)**. En revanche, ils sont en accord avec ceux trouvés par **Ennajar et al., (2009)** et **Soltani et al., (2018)** qui ont démontré que l'extrait éthanolique de l'espèce *J. phoenicea* est riche en tanins condensés, avec des teneurs de  $122,66 \pm 5,89$  mg EC/g et  $57,2 \pm 2,8$ g EC/kg, par ordre. Par ailleurs, les résultats cités par **Redhouane et al., (2020)** confirment que l'eau distillée donne les meilleurs niveaux de tanins condensés chez *M. rotundifolia*. À notre connaissance, aucune recherche n'est effectuée sur les tanins condensés chez l'espèce *A. microcarpus* et de *C. scoparius*.

Il est à signaler que la comparaison directe des résultats avec ceux fournis par la littérature est quasiment difficile en raison des différentes manières, car les auteurs déterminent et expriment leurs résultats. Ainsi, il convient de souligner que les niveaux des composants phénoliques peuvent varier selon la méthode d'extraction adoptée (**Momchev et al., 2020**), la polarité du solvant utilisé (**Benabdallah et al., 2016**), l'espèce végétale, le lieu et la période de sa récolte (**Ranjbar et al., 2020 ; Redhouane et al., 2020**), la partie de la plante récoltée (**Mayouf et al., 2019**), ainsi que son stade phénologique (**Rguez et al., 2019**). Néanmoins, les facteurs extrinsèques, génétiques et physiologiques influence également le rendement de ces composés bioactifs (**Atègbo et al., 2020 ; Chaouche et al., 2015 ; Lama-Munoz et al., 2020**)

## *Chapitre II*

*Activité insecticide des extraits  
bruts et des huiles essentielles*

**Chapitre II : Activité insecticide des extraits bruts et des huiles essentielles****II.1 Matériel et méthodes****II.1.1 Matériel biologique animal**

Le petit capucin des céréales, *Rhyzopertha dominica* (F.), inclus dans la famille des Bostrichidae (Fisher, 1950), est le principal ravageur des céréales entreposées dans de nombreuses régions du monde. Il se reproduit dans les Poaceae et d'autres substrats contenant de l'amidon tels que les légumineuses (Chittenden, 1911 ; Potter, 1935). Les grains infestés par *R. dominica* ont une odeur indésirable caractéristique, qui est due aux phéromones d'agrégation produites par les mâles. En plus, les activités d'alimentation des adultes produisent de grandes quantités d'excréments qui contiennent des exuvies de larves, des fragments d'insectes immatures et d'autres sous-produits, qui pourraient affecter la qualité d'utilisation finale du grain infesté (Edde, 2012 ; Khorramshahi et Burkholder, 1981 ; Sanchez-Marinez *et al.*, 1997).

Le *Tribolium castaneum* (Herbst) est un coléoptère appartenant à la famille des Tenebrionidae, qui est considéré comme un ravageur majeur des grains entreposés et des matières farineuses. Cet insecte est particulièrement répandu dans les régions tempérées chaudes et tropicales. Le contrôle à long terme de cet insecte a généralement été obtenu par l'utilisation d'une gamme d'insecticides à effet rémanent ; mais il a développé une certaine résistance à la plupart des groupes chimiques d'insecticides (Collins, 1990 ; Matthews, 1993).

L'élevage des insectes sélectionnés est effectué dans un incubateur de type phytotron maintenu à une température de  $25 \pm 2$  °C et une humidité relative de  $75 \pm 5$  % sur des grains de blé cultivé dans la zone agricole de Bouira (Algérie) qui n'ont reçu aucun traitement chimique lors de leur stockage. Les adultes de *Rhyzopertha dominica* (F.) (Fig. 23) et de *Tribolium castaneum* Herbst (Fig. 24) sont maintenus séparément dans des bocaux en verre, recouverts d'un filet perforé pour assurer l'aération. Les adultes des deux espèces d'insecte nouvellement émergés et sans malformations sont transférés sur un nouveau blé par tamisage, cette opération étant répétée tous les 30 jours pendant 14 mois. Seuls les adultes sont utilisés dans les tests de toxicité, et toutes les expériences sont réalisées dans les mêmes conditions environnementales.



**Figure 23:** *Rhyzopertha dominica* (F.) x40



**Figure 24:** *Tribolium castaneum* Herbst x40

### II.1.2 Tests insecticides préliminaires

Des tests insecticides préliminaires sont effectués dans le but de déterminer l'intervalle des concentrations utilisées pour les tests de toxicité par les extraits bruts et les huiles essentielles des plantes étudiées contre les adultes de *R. dominica* (F.) et *T. castaneum* Herbst. Sur cette base les concentrations sont choisies comme suit :

Les concentrations des extraits bruts secs sont préparées dans les solvants d'extraction (hydro-méthanol, hydro-éthanol, hydro-acétone et aqueux) pour obtenir cinq concentrations : 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml, 300 µg/ml et 400 µg/ml. D'autre part, les huiles essentielles sont diluées dans l'acétone pour préparer sept différentes concentrations : 2.5 µl/ml, 5 µl/ml, 10 µl/ml, 15 µl/ml, 20 µl/ml, 25 µl/ml et 30 µl/ml, utilisées pour le test de contact et de répulsion. Cependant, une série de cinq concentrations : 125, 187,5, 250, 312,5, 375 µl/l d'air est sélectionnée pour le test d'inhalation.

### II.1.3 Effet insecticide par contact des extraits bruts hydro-méthanolique, hydro-éthanolique, hydro-acétonique et aqueux

Le plan expérimental de test insecticide était complètement randomisé avec quatre répétitions par concentration de chaque extrait : hydro-méthanolique, hydro-éthanolique, hydro-acétonique et aqueux. Vingt individus de chaque espèce (*R. dominica* (F.) et *T. castaneum* Herbst), conditionnés expérimentalement de taille similaire et provenant du même élevage, sont distribués dans des boîtes de Pétri (**Fig. 25**). Les tests sont réalisés selon la méthode décrite par (**De Cássia, 2010**), dans laquelle les individus sont traités par les extraits de chaque plante à différentes concentrations. Chaque solution (1µl) est appliquée topiquement sur la face dorsale des adultes à l'aide d'une micropipette. Ces individus sont laissés à l'air libre pendant 10 min puis placés séparément dans des jars en verre d'une

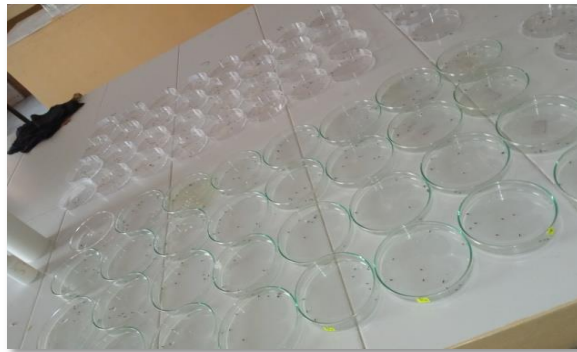
capacité de 75 g, recouverts d'un tissu d'organza et contenant 10 g de grains de blé stériles (Entiers pour les *R. dominica* et concassés pour le *T. castaneum*) (**Fig. 26**). Pour chaque test de toxicité, des lots de témoin sont traités avec les solvants d'extraction, utilisés pour déterminer les taux de mortalités corrigées et d'estimer les concentrations létales (CL<sub>50</sub>). Le nombre d'insectes morts est enregistré toutes les 24 h d'exposition pendant 15 jours. Les insectes sont considérés comme morts lorsqu'ils ont présenté des signes de paralysie et d'immobilité au toucher des poils d'une brosse en silicone pendant 60 secondes sous la lumière d'une loupe binoculaire (**Fig. 27 et 28**). Les taux de mortalité sont calculés et corrigés selon la formule d'**Abbott (1925)** :

$$M\% = \frac{M_o - M_t}{100 - M_t} \times 100$$

**M** : Taux de mortalité

**M<sub>o</sub>** : Taux de mortalité dans les lots traités

**M<sub>t</sub>** : Taux de mortalité dans les lots témoins



**Figure 25** : Distribution des insectes dans des boîtes en verre pour les tests



**Figure 26** : Lots des tests de contact



**Figure 27** : Vérification de la mortalité chez les adultes de *R. dominica* (F.)

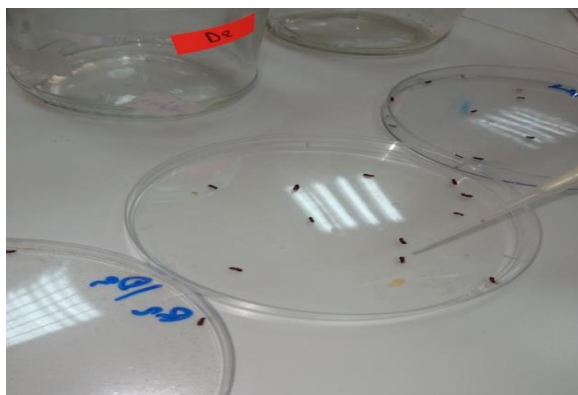


**Figure 28** : Vérification de la mortalité chez les adultes *T. castaneum* Herbst

## II.1.4 Effet insecticide des huiles essentielles de *C. sempervirens*, *J. phoenicea* et *M. rotundifolia*

### II.1.4.1 Toxicité par contact

Les tests de contact sont effectués en suivant la méthodologie de **Conti et al., (2011)**, les individus sont traités avec les huiles essentielles de *C. sempervirens*, *J. phoenicea* et *M. rotundifolia* diluées dans l'acétone (50%) à des concentrations de : 2,5, 5, 10, 15, 20, 25, 30  $\mu\text{l/ml}$ . Un volume de 1  $\mu\text{l}$  de chaque solution est appliqué sur la surface dorsale des adultes de *T. castaneum* (Herbst) et de *R. dominica* (F.). Ensuite, les individus traités sont séchés à l'air libre pendant 10 min et placés séparément dans des bocaux en verre contenant 10g de grains de blé stériles (**Fig. 29**). La conception expérimentale du test insecticide est complètement randomisée avec quatre répétitions par concentration, et l'acétone (50%) est utilisée comme contrôle négatif. La mortalité des insectes est enregistrée toutes les 24 h d'exposition pendant 5 jours.



**Figure 29** : Application des huiles essentielles sur la surface dorsale des insectes

**II.1.4.2 Toxicité par inhalation**

La toxicité des huiles essentielles de *M. rotundifolia* et *C. sempervirens* et *J. phoenicea* par inhalation est évaluée en adoptant la méthode de **Huang et al., (2000)**, avec quelques modifications. Des disques de 1 cm de papier filtre Whatman N°2 sont imbibés avec différentes concentrations de : 125, 187,5, 250, 312,5, 375  $\mu$ l/l d'air, puis placés sous le bouchon des pots de coprologie à l'aide d'un fil transparent. Vingt adultes de *T. castaneum* et *R. dominica* sont introduits avant la fermeture des pots de coprologie. Quatre répliques sont utilisées dans tous les traitements (**Fig. 30**). Après 24h, les insectes sont transférés dans des bocaux propres sans aucun traitement avec de la nourriture stérile, puis incubés une seconde fois dans les mêmes conditions. La mortalité des insectes est notée toutes les 24h pendant cinq jours.



**Figure 30** : Test par inhalation des huiles essentielles

**II.1.4.3 Test de répulsion**

La répulsion est testée selon la méthode standard de **McDonald et al., (1970)**. Pour ce faire, des demi-disques de papier filtre sont préparés et un volume de 200  $\mu$ l de chaque concentration d'extrait végétal est appliqué séparément sur la moitié du papier filtre de manière aussi uniforme que possible avec une micropipette, tandis que l'autre moitié est traitée avec 200  $\mu$ l d'acétone. Après 10min, chaque demi-disque traité est ensuite attaché dans le sens de la longueur, bord à bord, sur un demi-disque de contrôle avec un ruban adhésif et placé dans les boîtes de Pétri. Les adultes sont ensuite relâchés au hasard au milieu de chaque boîte. Chaque concentration est répliquée quatre fois (**Fig. 31**). Les insectes qui se sont posés sur chaque moitié du disque de papier filtre sont comptés après 3h, 6h, 10h et 24h. La moyenne des dénombrements est convertie en pourcentage de répulsion (PR%) en utilisant la formule d'**Abbott (1925)**. Sur la base de la valeur moyenne de répulsion, l'activité insecticide est classée selon l'échelle proposée par **Jilani et Su (1983)** :

- **Classe 0** (PR = 0,1%)
- **Classe I** (PR = 0,1-20%)
- **Classe II** (PR = 20,1-40%)
- **Classe III** (PR = 40,1-60%)
- **Classe IV** (PR = 60,1-80%)
- **Classe V** (PR = 80,1-100%)



**Figure 31** : Test de répulsion

### **II.1.5 Analyse des résultats**

L'activité insecticide des extraits hydro-méthanolique, hydro-éthanolique, hydro-acétoniques et aqueux, ainsi que des huiles essentielles est exprimée en taux de mortalité (%) (Moyenne  $\pm$ Ecart type). Ces données sont soumises à des analyses d'Anova et aux tests de comparaison Turkey et Duncan en utilisant le logiciel GraphPad Prism 8.0.2 pour comparer les taux de mortalité des différents traitements. A l'aide de logiciel SPSS 28, la régression des probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes de concentration et de temps est adaptée dans cette étude pour déterminer les valeurs des CL<sub>50</sub> (Finney, 1971).

## **II.2 Résultats et discussions**

### **II.2.1 Effet insecticide par contact des extraits bruts vis-à-vis des adultes de *T. castaneum* Herbst**

L'évolution de la mortalité corrigée provoquée par les différents extraits après 5, 10 et 15 jours de traitement est présentée dans les **figures 32, 33 et 34**. La concentration maximale (400  $\mu$ g/ml) a présenté des mortalités chez les adultes de *T. castaneum* Herbst plus au moins importantes selon la

plante au bout de 5 jours après exposition aux traitements. En examinant ces résultats, il paraît que les extraits hydro-méthanolique et hydro-acétonique ont avérés comme les plus efficaces.

Des taux de  $30,0 \pm 5,77\%$ ,  $25,6 \pm 6,18\%$ ,  $19,8 \pm 5,77\%$ ,  $30,0 \pm 0,00\%$  et  $17,5 \pm 0,00\%$  sont enregistrés avec les extraits hydro-méthanoliques préparés par l'extraction assistée aux Ultrasons et des taux de  $20,0 \pm 5,77\%$ ,  $33,33 \pm 11,54\%$ ,  $20,00 \pm 5,77\%$ ,  $20,00 \pm 00\%$  et  $15,00 \pm 00\%$  enregistrés avec les extraits hydro-méthanoliques obtenus par la macération de *M. rotundifolia*, *C. sempervirens*, *J. phoenicea*, *C. scoparius* et *A. microcarpus*, respectivement. En revanche, les extraits hydro-acétoniques issus de l'EAU ont présenté des taux de  $34,5 \pm 5,77\%$ ,  $40,0 \pm 6,41\%$ ,  $32,0 \pm 5,77\%$ ,  $20,00 \pm 0,5\%$ ,  $10 \pm 5,77\%$ , tandis que les extraits hydro-acétoniques issus de la macération ont provoqué des taux de mortalité de  $30,00 \pm 5,77\%$ ,  $42,85 \pm 5,77\%$ ,  $20,00 \pm 5,77\%$ ,  $30,00 \pm 0,5\%$  et  $10,00 \pm 0,0\%$ , chez les espèces végétales étudiées dans l'ordre susmentionné (**Fig. 32**).

La toxicité par contact des extraits végétaux testés à différentes concentrations à l'égard des adultes de *T. castaneum* (Herbst) a montré une augmentation dans les taux de mortalités en fonction de concentration et au fil de temps. Les taux de mortalité corrigée après dix jours varient de  $23,33 \pm 5,00\%$  à  $59,25 \pm 6,14\%$ , de  $51,72 \pm 11,54\%$  à  $23,00 \pm 5,77\%$ , de  $66,66 \pm 5,77\%$  à  $40,00 \pm 10,00\%$ , de  $30,00 \pm 17,32\%$  à  $60,0 \pm 0,00\%$  et de  $24,13 \pm 5,77\%$  à  $10,00 \pm 7,07\%$ , respectivement pour les extraits de *C. sempervirens*, *J. phoenicea*, *M. rotundifolia*, *C. scoparius* et *A. microcarpus* obtenus par EAU. En revanche, les résultats des tests avec les extraits obtenus par ME allant de  $42,85 \pm 5,77\%$  à  $20,00 \pm 10,00\%$  pour le *C. sempervirens*, de  $48,27 \pm 17,32\%$  à  $20,00 \pm 10,00\%$  pour le *J. phoenicea*, de  $62,95 \pm 5,77\%$  à  $37,07 \pm 5,77\%$  pour la *M. rotundifolia*, de  $30,0 \pm 0,00\%$  à  $60,0 \pm 10,00\%$  pour le *C. scoparius* et de  $33,33 \pm 7,07\%$  à  $6,66 \pm 0,00\%$  pour l'*A. microcarpus* (**Fig. 33**).

La **figure 34** montre que les taux de mortalité maximaux sont notés chez les extraits obtenus par EAU avec  $100,0 \pm 0,00\%$  (hydro-méthanolique),  $69,87 \pm 6,41\%$  (hydro-acétonique),  $61,99 \pm 11,54\%$  (hydro-acétonique),  $100,00 \pm 0,00\%$  (hydro-méthanolique et acétonique) et  $33,5 \pm 0,00\%$  (hydro-méthanolique) de *C. sempervirens*, *J. phoenicea*, *M. rotundifolia*, *C. scoparius* et *A. microcarpus* respectivement.

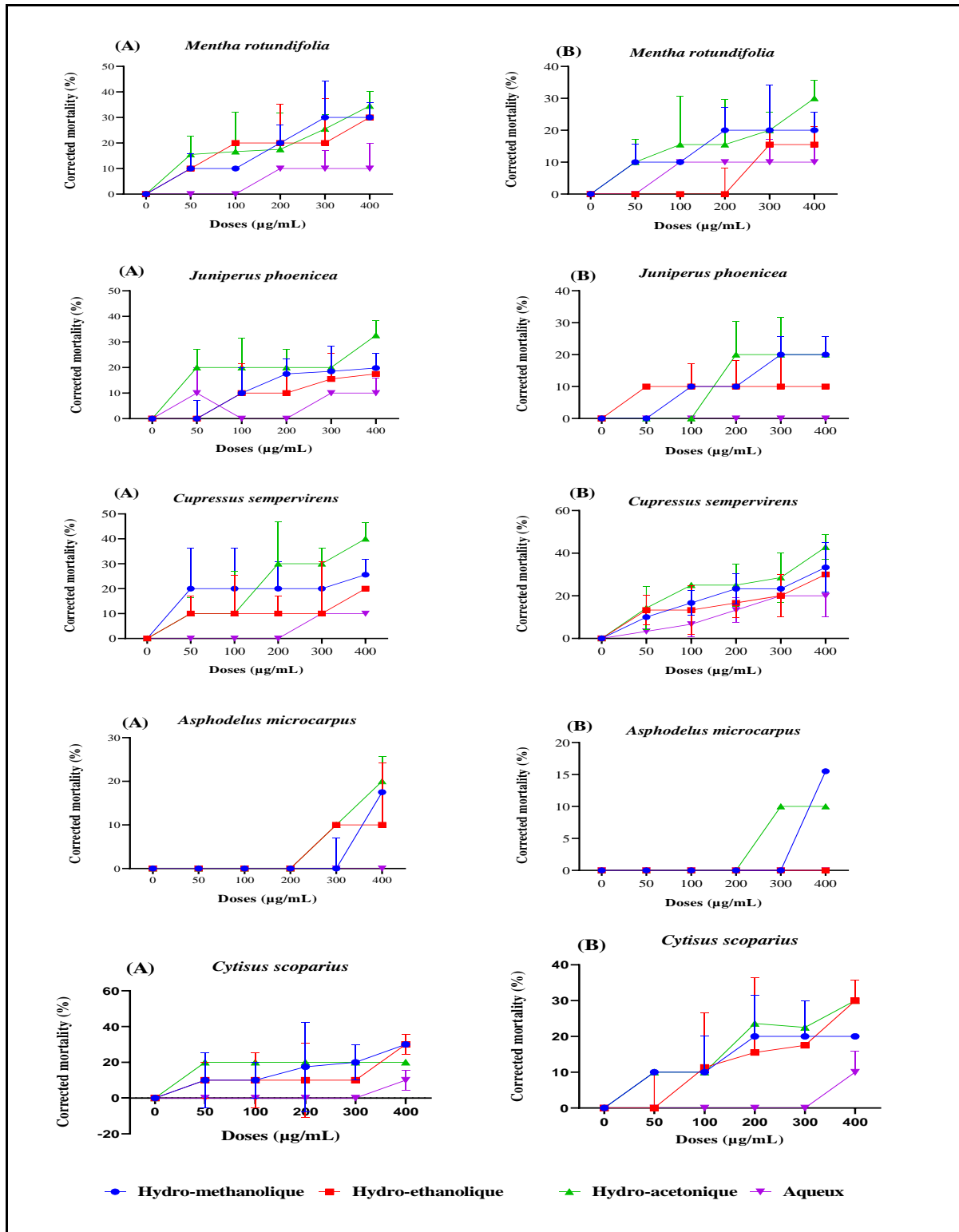


Figure 32 : Taux de mortalité (%) chez les adultes de *T. castaneum* Herbst après 5 jours d'exposition  
 (A) : Extraction assistée aux Ultrasons (B) : Macération

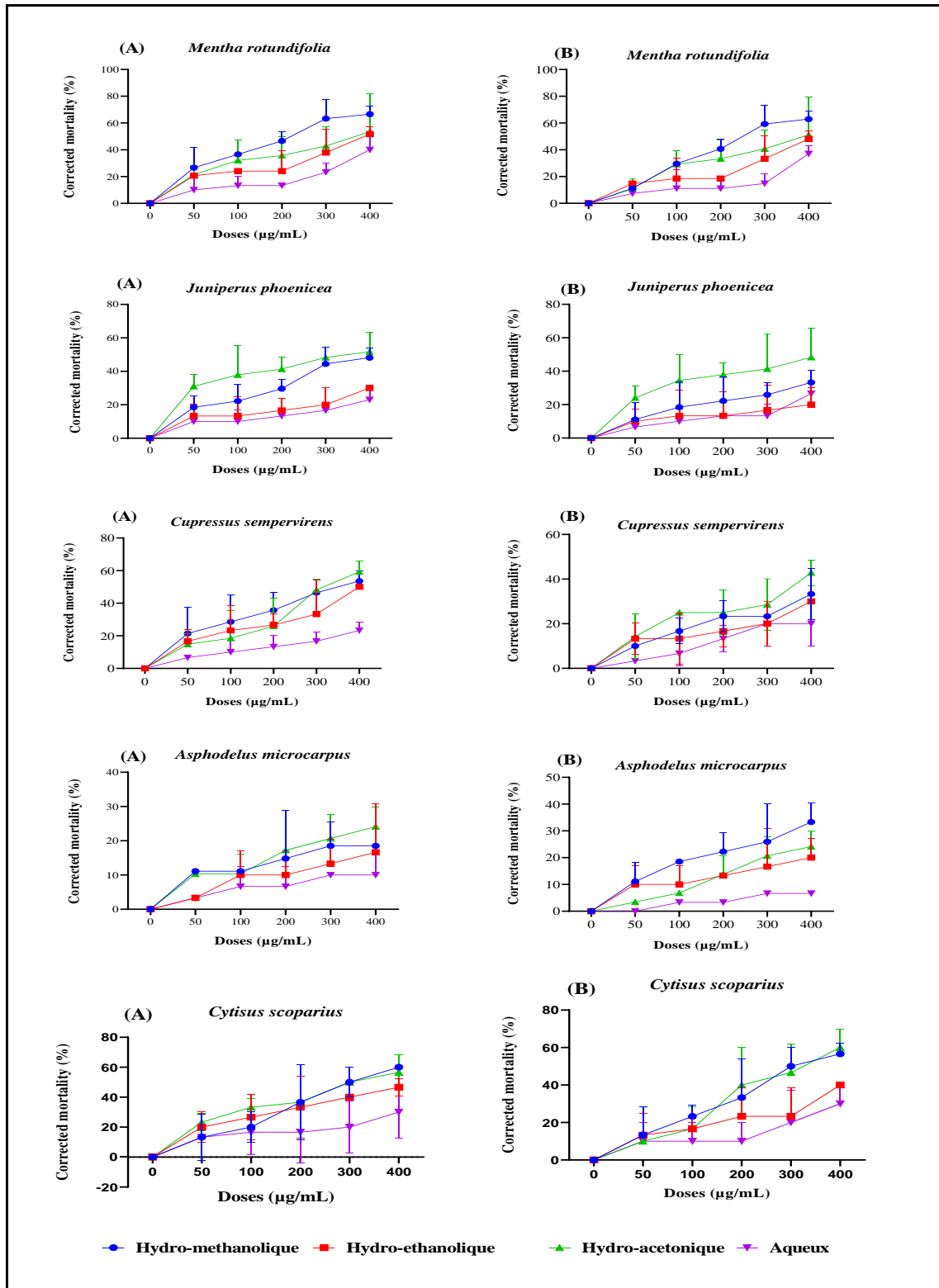


Figure 33: Taux de mortalité (%) chez les adultes de *T. castaneum* Herbst après 10 jours d'exposition

(A) : Extraction assistée aux Ultrasons (B) : Macération

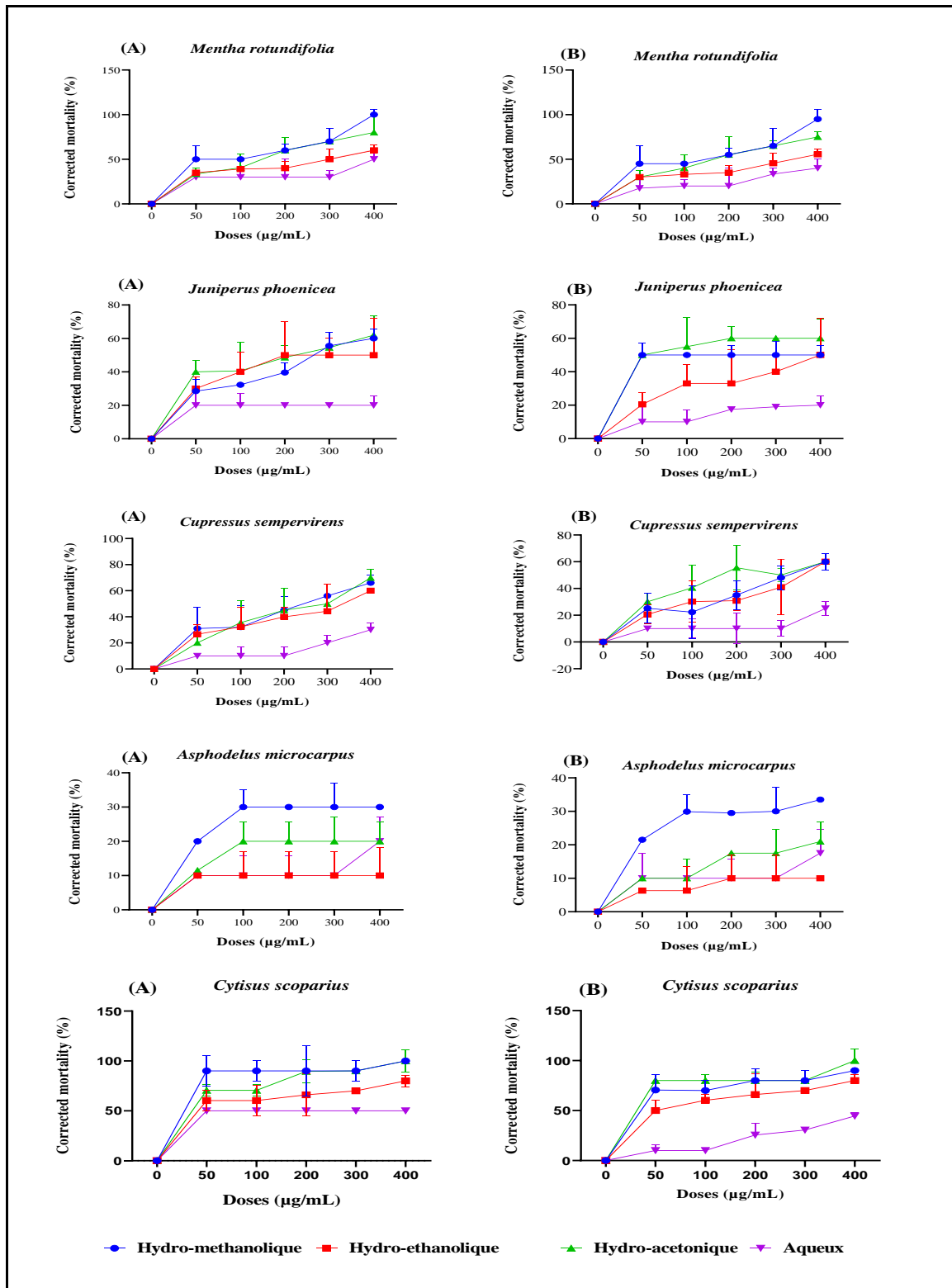


Figure 34 : Taux de mortalité (%) chez les adultes de *T. castaneum* Herbst après 15 jours d'exposition

(A) : Extraction assistée aux Ultrasons (B) : Macération

(B)

**II.2.2 Toxicité par contact des extraits vis-à-vis des adultes de *R. dominica* (F.)**

Selon les résultats représentés dans les **figures 35, 36 et 37**, il y est clair que les mortalités enregistrées chez les adultes de *R. dominica* (F.) sont augmentées progressivement avec l'augmentation de concentration. Ainsi, ces mortalités sont évoluées au fur et à mesure de temps, où les taux sont notés de  $16,2 \pm 5,77$  à  $48,66 \pm 10,00$ , de  $10,00 \pm 5,77$  à  $40,53 \pm 5,77$ , de  $12,5 \pm 5,77$  à  $39,99 \pm 5,77$ , de  $20,00 \pm 5,77$  à  $50,0 \pm 5,77$  et de  $6,66 \pm 5,77$  à  $17,5 \pm 0,00$  (%), respectivement pour la *M. rotundifolia*, *C. sempervirens*, *J. phoenicea*, *C. scoparius* et *A. microcarpus* avec les extraits obtenus par l'extraction assistée aux Ultrasons après 5 jours de traitement pour qu'elles atteignent après les 10 jours de traitement des taux qui s'étalent entre :  $35,0 \pm 5,77$  et  $90,0 \pm 14,14$ ,  $30,0 \pm 7,07$  et  $92,5 \pm 5,77$ ,  $37,5 \pm 0,0$  et  $60,0 \pm 0,0$ ,  $50,0 \pm 15,27$  et  $97,5 \pm 5,77$  et entre  $12,5 \pm 0,0$  et  $22,5 \pm 0,00$  (%) avec l'ordre des espèces végétales mentionnées précédemment.

Quant aux extraits obtenus par macération les pourcentages de mortalité sont augmenté de :  $10,66 \pm 5,77\%$  à  $42,5 \pm 10,0\%$  (*M. rotundifolia*),  $21,5 \pm 11,54\%$  à  $45,5 \pm 5,77\%$  (*C. sempervirens*),  $10,00 \pm 11,54\%$  à  $39,09 \pm 5,77\%$  (*J. phoenicea*),  $26,5 \pm 5,66\%$  à  $45,5 \pm 10,0\%$  (*C. scoparius*) et entre  $6,66 \pm 5,77\%$  et  $16,5 \pm 2,66\%$  (*A. microcarpus*) jusqu'aux des taux de  $32,5 \pm 14,14\%$  et  $90,0 \pm 0,0\%$  (*M. rotundifolia*), de  $30,00 \pm 7,07\%$  et  $72,3 \pm 5,77\%$  (*C. sempervirens*), de  $30,0 \pm 0,0\%$  et  $56,66 \pm 5,77\%$  (*J. phoenicea*),  $40,0 \pm 10,0\%$  et  $92,5 \pm 5,77\%$  (*C. scoparius*) et de  $5,0 \pm 5,17\%$  et  $17,5 \pm 10,0\%$  (*A. microcarpus*).

Pareillement aux résultats de chez *T. castaneum* Herbst, les meilleurs taux de mortalités sont marqués avec les extraits préparés par l'extraction assistée aux Ultrasons selon la plante après 15 jours de traitement. D'ailleurs des mortalités de  $100,0 \pm 0,00\%$  sont trouvés par les extraits hydro-méthanoliques de *C. sempervirens* et *C. scoparius*, suivi par des taux de  $97,8 \pm 5,77\%$  (hydro-acétonique) et  $60,0 \pm 0,0\%$  (hydro-méthanolique) chez *M. rotundifolia* et *J. phenicea* respectivement, et une mortalité de  $22,5 \pm 11,54\%$  avec l'extrait hydro-acétonique d'*A. microcarpus*.

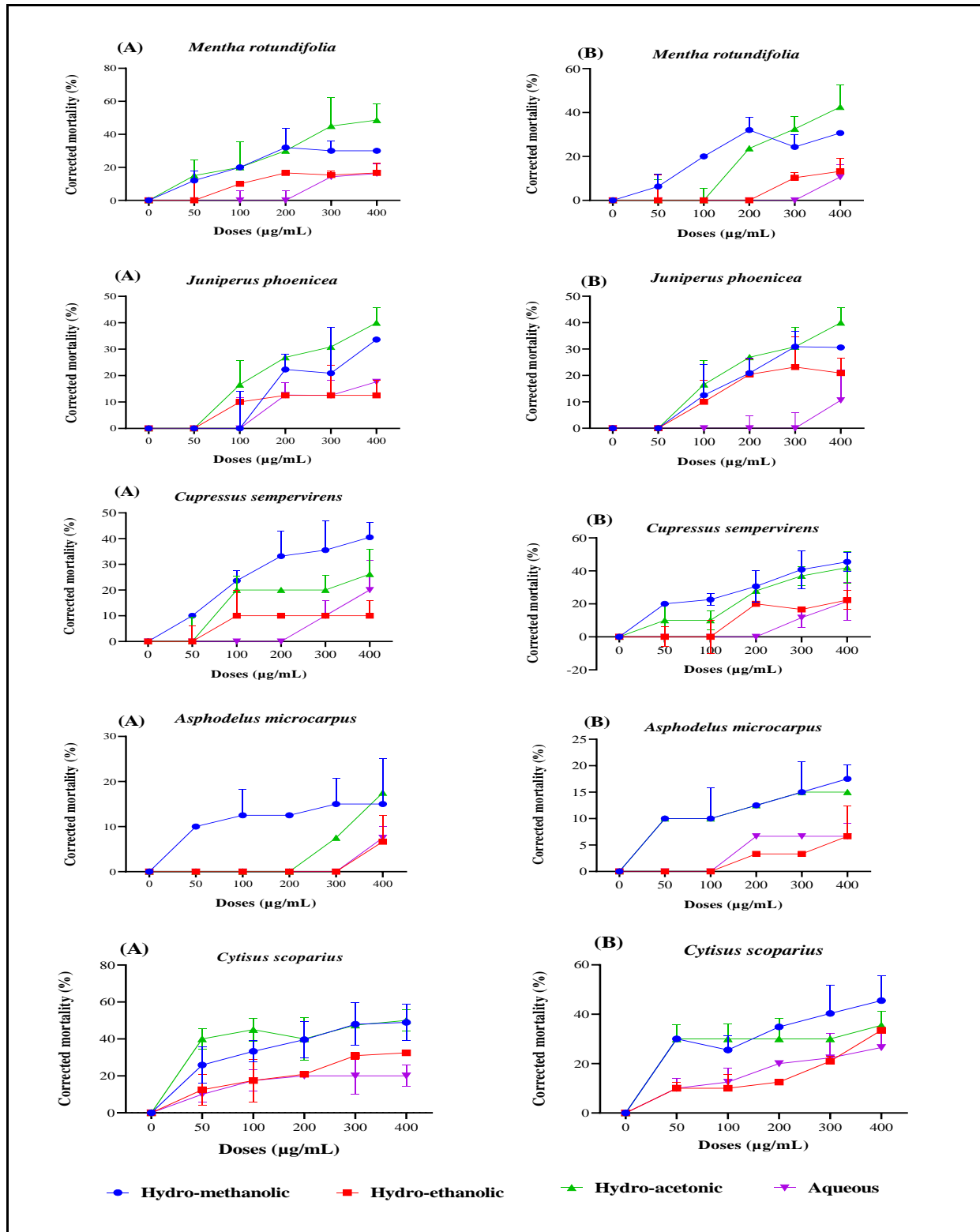


Figure 35: Taux de mortalité (%) chez les adultes de *R. dominica* (F.) après 5 jours d'exposition  
 (A) : Extraction assistée aux Ultrasons (B) : Macération

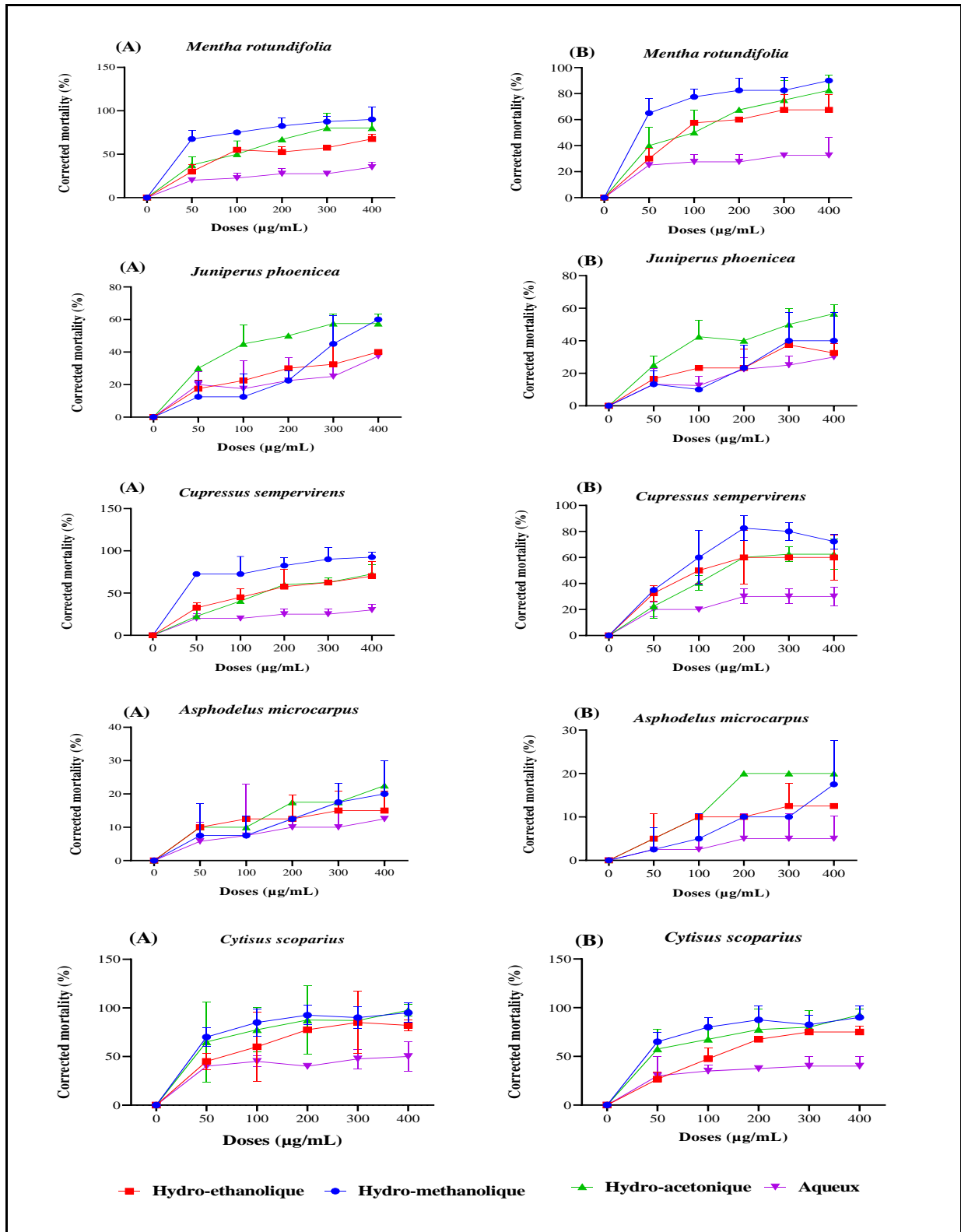


Figure 36: Taux de mortalité (%) chez les adultes de *R. dominica* (F.) après 10 jours d'exposition

(A) : Extraction assistée aux Ultrasons (B) : Macération

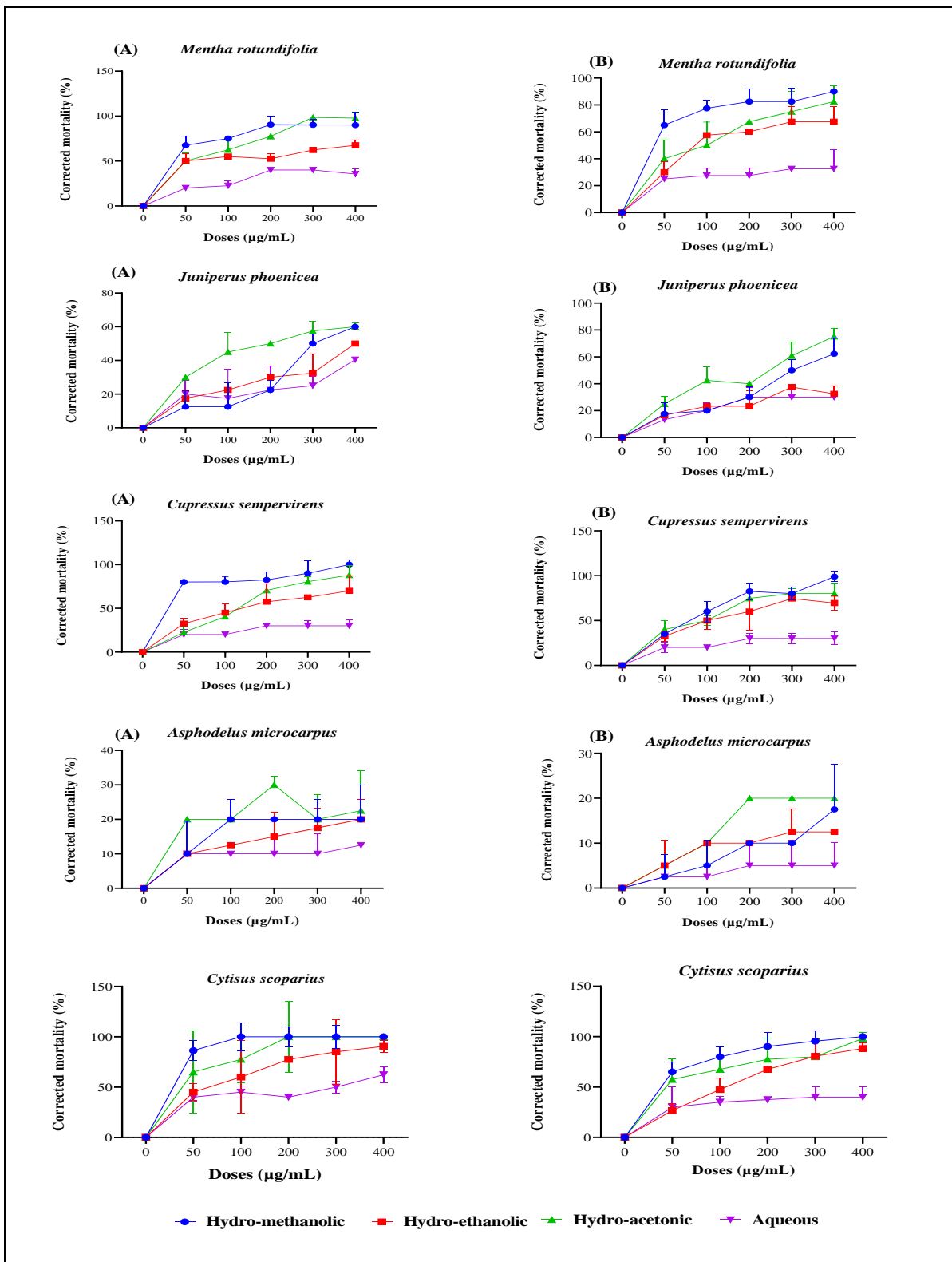


Figure 37 : Taux de mortalité (%) chez les adultes de *R. dominica* (F.) après 15 jours d'exposition

(A) : Extraction assistée aux Ultrasons (B) : Macération

Plusieurs recherches trouvées dans la littérature ont évalué la toxicité par contact des extraits phénoliques de plantes contre les insectes ravageurs des denrées stockées de plusieurs familles (**Kumer et al., 2011 ; Oryzae, 2006**).

Les résultats de cette étude indiquent que les extraits de plantes utilisés sont plus efficaces contre les adultes de *R. dominica* (F.) que contre *T. castaneum* Herbst, qui a montré une tolérance aux faibles concentrations. Une étude menée par **Manzoor et al., (2011)** a également montré que l'extrait éthanolique des plantes présentait une légère toxicité contre *T. castaneum* Herbst, tandis qu'il était efficace contre *Oryzaephilus surinamensis* L. et *Callosobruchus chinensis*.

D'autre part, l'évaluation de l'effet insecticide par contact de l'extrait méthanolique de *D. hamiltonii* par **Rajashekar et al., (2010)** a révélé que les taux de mortalité les plus élevés sont enregistrés chez le *R. dominica* par rapport ceux enregistrés chez le *Sitophilus oryzae* et le *Callosobruchus chinensis*. L'auteur **Clemente et al., (2003)** a signalé que l'extrait de dichlorométhane de *M. rotundifolia* a donné une mortalité chez le *T. castaneum* plus élevée par rapport à celle provoquée par l'extrait aqueux.

En outre, les résultats ont montré que l'activité insecticide varie en fonction de type d'extrait, avec des pourcentages de mortalité différents pour chaque extrait. Ces observations sont en accord avec l'étude menée par **Pugazhvendan et al., (2012)** qui a examiné l'activité insecticide de certaines plantes médicinales contre *T. castaneum* et qui a constaté que le pourcentage de mortalité variait selon le solvant utilisé, où leurs données relatives à l'activité insecticide de différents extraits de solvants de *T. purpurea* contre *T. castaneum* ont montré que le pourcentage de mortalité le plus élevé était de 52 % à une concentration de 5 % d'extrait d'acétate d'éthyle. L'extrait au chloroforme de cette plante a montré une mortalité de 48 % à une concentration plus élevée, tandis que l'extrait à l'hexane a montré une faible activité.

L'étude menée par **Daraban et al., (2021)** a clairement montré que l'activité insecticide varie en fonction de la méthode d'extraction utilisée pour la préparation des extraits. Les résultats de cette étude ont confirmé ce qu'était conclut dans notre recherche.

Des études précédentes ont rapporté que la richesse des extraits en métabolites secondaires est en corrélation positive avec leur efficacité en tant qu'agents insecticides (**Al-Massarani et al., 2021 ; Baliyarsingh et al., 2020**). En général, il a été constaté que l'activité insecticide est significativement

affectée par la méthode d'extraction utilisée et le solvant utilisé. En particulier, les extraits hydro-acétoniques et hydro-méthanolique des espèces végétales utilisées obtenus par extraction assistée aux Ultrasons ont donné les pourcentages de mortalité les plus élevés par rapport aux autres extraits obtenus par macération. Cette conclusion a également été rapportée par **Hasaballah et al., (2018)** et par **Hernandez-Trejo et al., (2021)**.

### **II.2.3 Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielle de *C. sempervirens* et *J. phoenicea* et *M. rotundifolia***

#### **II.2.3.1 Toxicité par contact**

Selon la **figure 38**, les résultats du test de contact montrent que les taux de mortalité les plus élevés sont enregistrés après 120 h de traitement, avec des pourcentages de 97,5 ±5,00% et 82,5 ±9,57% observés pour *R. dominica* (F.) et *T. castaneum* (Herbst) respectivement, à la concentration de 30 µl/ml de *C. sempervirens*.

D'après la **figure 39**, les résultats du test de contact montrent qu'après 120 h, une forte concentration de 30 µl/ml d'huile essentielle de *J. phoenicea* a provoqué une mortalité de 100,0 ±0,00% chez les adultes de *R. dominica* (F.). Pour *T. castaneum* (Herbst), une mortalité maximale de 90,0 ±14,00 % est enregistrée à la même concentration.

La **figure 40** montre qu'après 120 h de traitement, des mortalités maximales de 85,0 ±6,00 et 67,5 ±17,07% sont notées chez les lots traités par l'huile essentielle de *M. rotundifolia* de *R. dominica* (F.) et *T. castaneum* (Herbst) respectivement, à la concentration élevée de 30 µl/ml.

Les effets insecticides des huiles essentielles évalués par contact ont entraîné des taux de mortalités considérables qui sont augmentées significativement ( $P < 0.05$ ) avec l'augmentation des concentrations appliquées : (*C. sempervirens* X *R. dominica*:  $F^{7, 120} = 46,58, P < 0,0001$  ; *C. sempervirens* X *T. castaneum* :  $F^{7, 120} = 32,38, P < 0,0001$ ; *J. phoenicea* X *R. dominica* :  $F^{7, 120} = 139,3, P < 0,0001$  ; *J. phoenicea* X *T. castaneum* :  $F^{7, 120} = 66,65, P < 0,0001$  ; *M. rotundifolia* X *R. dominica* :  $F^{7, 120} = 63,09, P < 0,0001$ ; *M. rotundifolia* X *T. castaneum*  $F^{7, 120} = 71,39, P < 0,0001$ ).

Ces taux de mortalités sont augmentés également au fil du temps (*C. sempervirens* X *R. dominica* :  $F^{4, 120} = 54,01, P < 0,0001$  ; *C. sempervirens* X *T. castaneum* :  $F^{4, 120} = 52,53, P < 0,0001$  ; *J. phoenicea* X *R. dominica* :  $F^{4, 120} = 88,41, P < 0,0001$  ; *J. phoenicea* X *T. castaneum* :  $F^{4, 120} = 59,14,$

$P < 0,0001$ ; *M. rotundifolia* X *R. dominica* :  $F^{4, 120} = 114,4$ ,  $P < 0,0001$ ; *M. rotundifolia* X *T. castaneum*  $F^{4, 120} = 187,7$ ,  $P < 0,0001$ ).

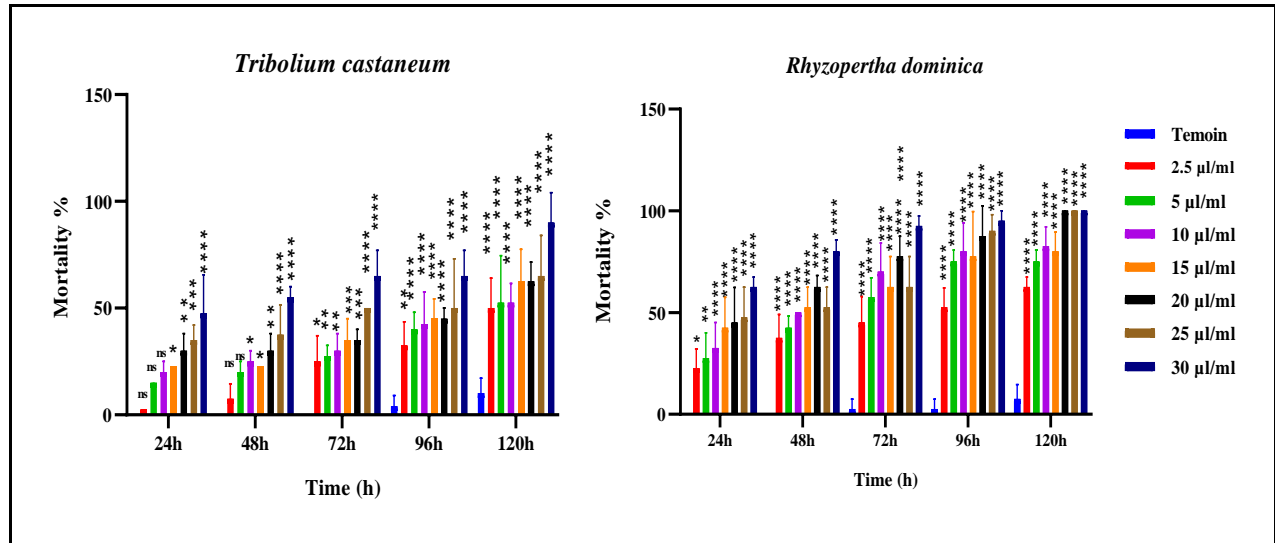


Figure 38 : Taux de mortalité enregistrés par le test de contact de l’huile essentielle de *C. sempervirens* chez les adultes de *T. castaneum* Herbst et *R. dominica* (F.).

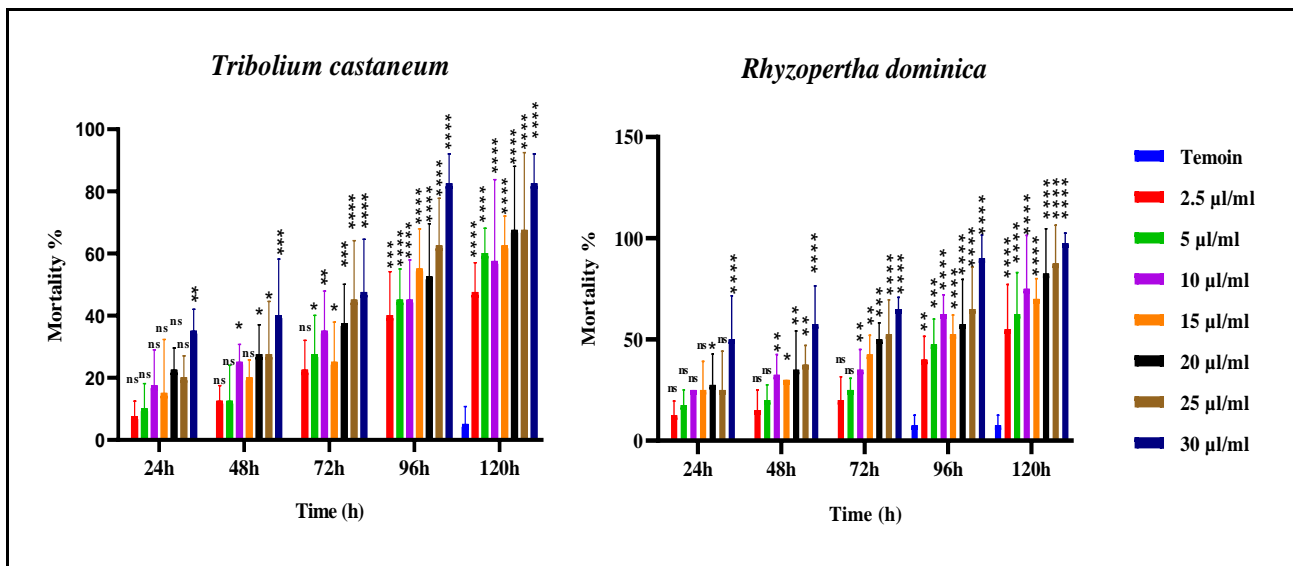
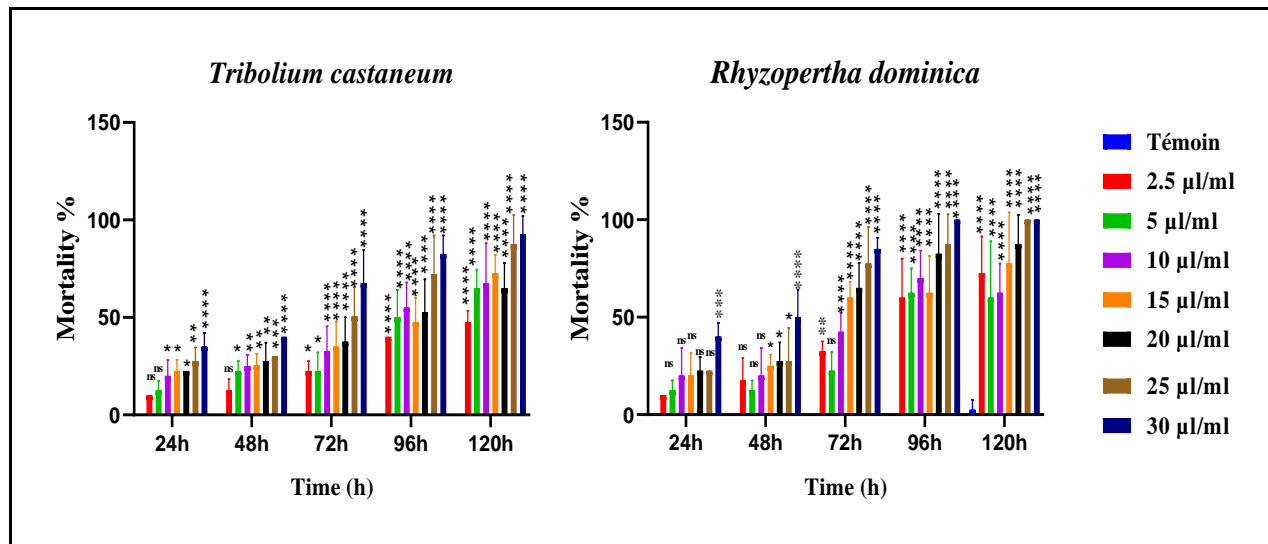


Figure 39 : Taux de mortalité enregistrés par le test de contact de l’huile essentielle de *J. phoenicea* L chez les adultes de *T. castaneum* Hesbst et *R. dominica* (F.)



**Figure 40 :** Taux de mortalité enregistrés par le test de contact de l'huile essentielle de *M. rotundifolia* chez les adultes de *T. castaneum* Herbst et *R. dominica* (F.)

### II.2.3.2 Toxicité par inhalation

Les figures 41, 42 et 43 illustrent l'activité insecticide des huiles essentielles par inhalation. Les résultats montrent que l'huile essentielle de *J. phoenicea* a provoqué des taux de mortalité élevés chez *R. dominica* (F.) et *T. castaneum* (Herbst) avec des valeurs de  $90,0 \pm 5,8\%$  et  $82,5 \pm 15,3\%$ , respectivement. De même, des mortalités de  $75,0 \pm 15,3\%$  et  $65,0 \pm 20,8\%$  ont été observées chez ces deux espèces avec l'huile essentielle de *C. sempervirens* et des mortalités de  $82,5 \pm 17,3\%$  et  $67,5 \pm 7,3\%$  avec l'huile essentielle de *M. rotundifolia*, à une concentration de  $375 \mu\text{l/l}$  d'air après 120h d'exposition.

Les taux de mortalité enregistrés chez les adultes des deux espèces utilisées ont augmentés significativement ( $P < 0,05$ ) lors de la fumigation avec les huiles essentielles par rapport aux lots témoin avec les concentrations croissantes (*C. sempervirens* X *R. dominica* :  $F^{5,90} = 55,57$ ,  $P < 0,0001$  ; *C. sempervirens* X *T. castaneum* :  $F^{5,90} = 28,80$ ,  $P < 0,0001$  ; *J. phoenicea* X *R. dominica* :  $F^{5,90} = 72,66$ ,  $P < 0,0001$  ; *J. phoenicea* X *T. castaneum* :  $F^{5,90} = 72,84$ ,  $P < 0,0001$  ; *M. rotundifolia* X *R. dominica* :  $F^{5,90} = 73,13$ ,  $P < 0,0001$  ; *M. rotundifolia* X *T. castaneum* :  $F^{5,90} = 34,29$ ,  $P < 0,0001$ ).

Les pourcentages de mortalité ont présenté une augmentation significative en fonction du temps : (*C. sempervirens* X *R. dominica* :  $F^{4,90} = 42,06$ ,  $P < 0,0001$  ; *C. sempervirens* X *T. castaneum* :  $F^{4,90} = 14,96$ ,  $P < 0,0001$  ; *J. phoenicea* X *R. dominica* :  $F^{4,90} = 49,71$ ,  $P < 0,0001$  ; *J. phoenicea* X *T.*

*castaneum* :  $F^{4,90} = 55,00$   $P < 0,0001$  ; *M. rotundifolia* X *R. dominica* :  $F^{4,90} = 14,37$ ,  $P < 0,0001$  ; *M. rotundifolia* X *T. castaneum* :  $F^{4,90} = 12,44$   $P < 0,0001$ ).

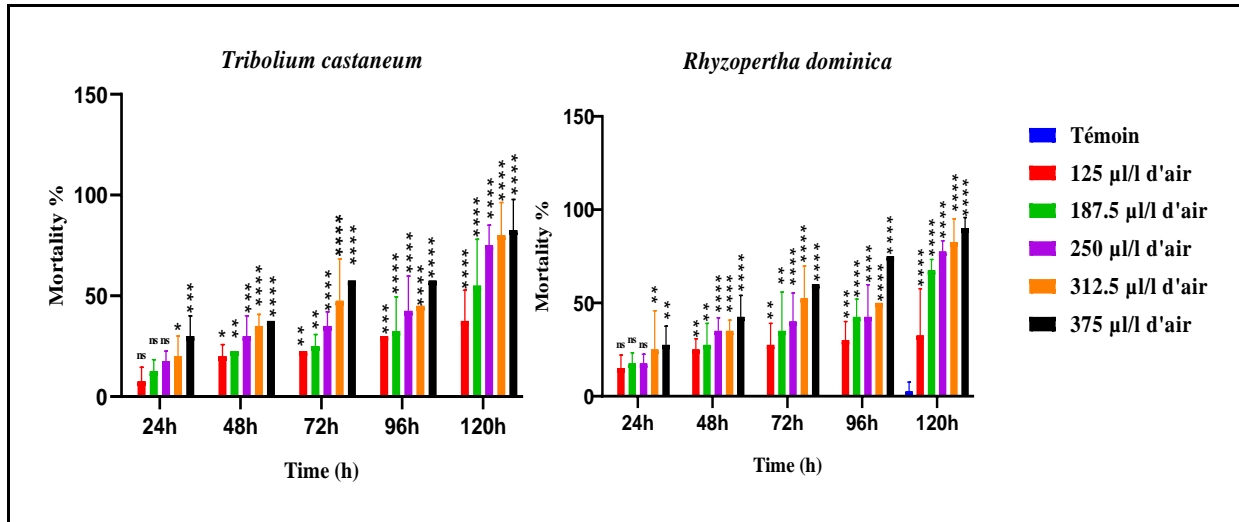


Figure 41 : Taux de mortalité enregistrés par le test d'inhalation avec l'huile essentielle de *C. sempervirens* L. chez les adultes de *T. castaneum* Herbst et *R. dominica* (F.)

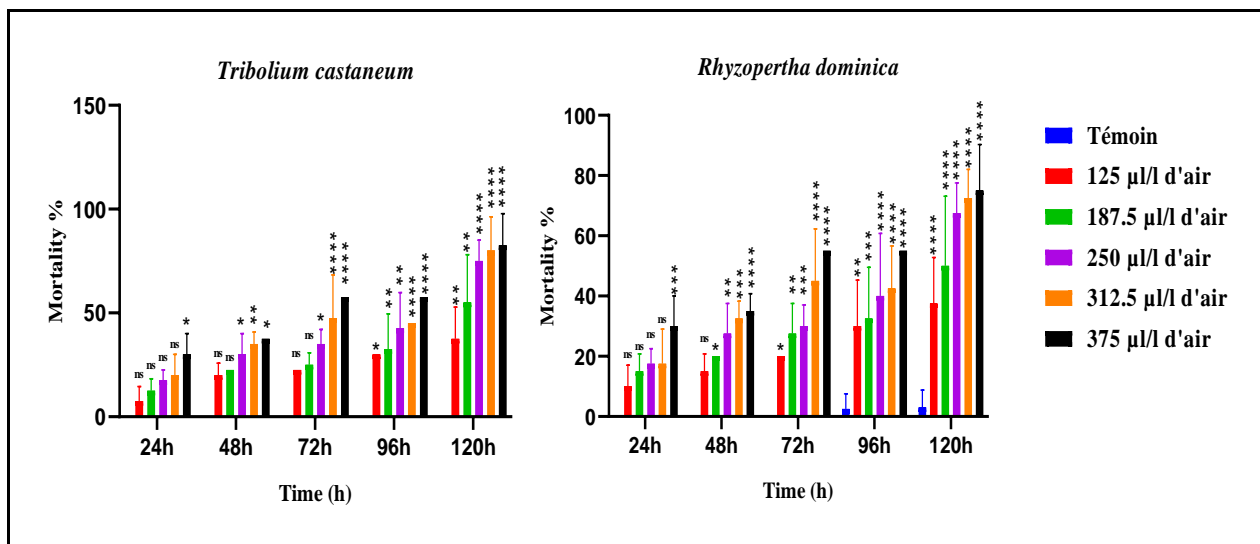
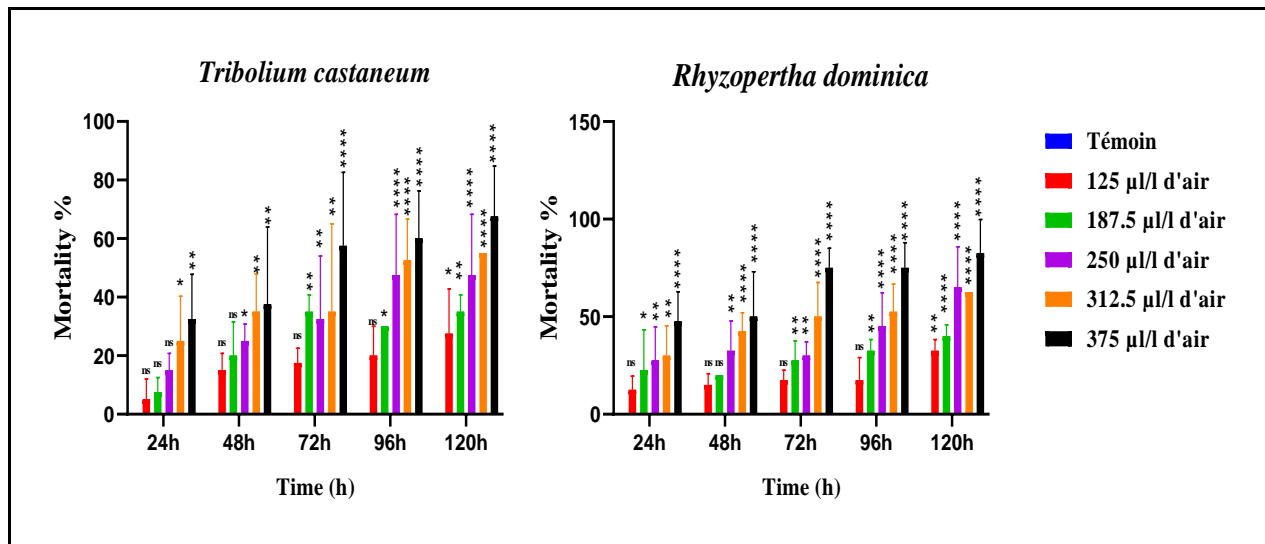


Figure 42: Taux de mortalité enregistrés par le test d'inhalation avec l'huile essentielle de *J. phoenicea* L. chez les adultes de *T. castaneum* Herbst et *R. dominica* (F.)



**Figure 43 :** Taux de mortalité enregistrés par le test d’inhalation avec l’huile essentielle de *M. rotundifolia* (L.) chez les adultes de *T. castaneum* Herbst et *R. dominica* (F.)

Les concentrations qui provoquent les 50 % de mortalité au sien des populations des insectes utilisés sont présentées dans les tableaux 10 et 11 suivants :

**Tableau 10 :** Estimation des valeurs de CL<sub>50</sub> (µl/ml) des huiles essentielles par contact

Plant species	Insect	<sup>a</sup> CL <sub>50</sub>	95% confidence limits		<sup>b</sup> Slope	<sup>c</sup> Intercept	<sup>d</sup> Chi- square (X <sup>2</sup> )
			Min	Max			
<i>J. phoenicea</i>	<i>R. dominica</i>	3.74	1.677	5.666	1.29	-0.76	8.979
	<i>T. castaneum</i>	20.0	15.484	28.649	0.88	-1.14	7.884
<i>C. sempervirens</i>	<i>R. dominica</i>	16.1	13.403	19.999	1.19	-1.43	5.399
	<i>T. castaneum</i>	35.8	24.698	70.494	0.76	-1.19	7.963
<i>M. rotundifolia</i>	<i>R. dominica</i>	12.3	10.123	15.633	1.67	-1.20	6.365
	<i>T. castaneum</i>	22.5	16.881	26.987	0.33	-0.99	7.777

<sup>a</sup> La concentration causant 50 % de mortalité  
<sup>b</sup> Pente de la droite de régression concentration-inhibition  
<sup>c</sup> Interception de la droite de régression  
<sup>d</sup> Chi valeur au carré

Tableau 11 : Estimation des valeurs de CL<sub>50</sub> (µl/l d'air) des huiles essentielles par inhalation

Plant species	Insect	<sup>a</sup> CL <sub>50</sub>	95% confidence limits		<sup>b</sup> Slope	<sup>c</sup> Intercept	<sup>d</sup> Chi- square (X <sup>2</sup> )
			Min	Max			
<i>J. phoenicea</i>	<i>R. dominica</i>	296.0	255.309	370.290	1.76	-4.36	1.591
	<i>T. castaneum</i>	339.7	294.204	428.938	2.02	-5.13	3.460
<i>C. sempervirens</i>	<i>R. dominica</i>	366.497	312.344	483.985	1.96	-5.02	3.52
	<i>T. castaneum</i>	399.4	341.039	524.305	2.28	-5.94	1.341
<i>M. rotundifolia</i>	<i>R. dominica</i>	325.823	300.153	410.236	2.03	-6.03	1.223
	<i>T. castaneum</i>	356.666	320.69	500.321	1.11	-5.53	2.876

<sup>a</sup> La concentration causant 50 % de mortalité

<sup>b</sup> Pente de la droite de régression concentration-inhibition

<sup>c</sup> Interception de la droite de régression

<sup>d</sup> Chi valeur au carré

### II.2.3.3 Test de répulsion

Les pourcentages de l'activité insectifuge par les huiles essentielles de *C. sempervirens*, de *J. phoenicea* et de *M. rotundifolia* contre les adultes de *R. dominica* et de *T. castaneum* sont résumés dans les figures 44, 45 et 46. Les huiles essentielles de *M. rotundifolia* et de *J. phoenicea* se sont montrées très répulsives (Classe IV) envers les *R. dominica* et les *T. castaneum*, en revanche modérément répulsives pour l'HE de *C. sempervirens* avec les *R. dominica* (Classe III) et les *T. castaneum* (Classe II), 3h après l'introduction des insectes.

Les résultats de cette étude ont montré que la répulsion a augmenté significativement avec la concentration des huiles essentielles : *C. sempervirens* (*R. dominica* :  $F^{6,84} = 9,960$   $P < 0,0001$  ; *T. castaneum* :  $F^{6,84} = 17,67$ ,  $P < 0,0001$ ), de *J. phoenicea* (*R. dominica* :  $F^{6,84} = 13,28$ ,  $P < 0,0001$  ; *T. castaneum* :  $F^{6,84} = 44,82$ ,  $P < 0,0001$ ) et de *M. rotundifolia* (*R. dominica* :  $F^{6,84} = 17,23$ ,  $P < 0,0001$  ; *T. castaneum* :  $F^{6,84} = 12,20$ ,  $P < 0,0001$ ).

Alors que, l'activité répulsive atteint les 100% d'efficacité au fil de temps avec la concentration de 30 µl/ml des huiles essentielles de *C. sempervirens* : (*R. dominica* :  $F^{3,84} = 46,16$ ,  $P < 0,0001$  ; *T. castaneum* :  $F^{3,84} = 78,37$  ;  $P < 0,0001$ ), de *J. phoenicea* (*R. dominica* :  $F^{3,84} = 2,771$ ,  $P = 0,0466$  ; *T. castaneum* :  $F^{3,84} = 50,78$ ,  $P < 0,0001$ ) et de *M. rotundifolia* (*R. dominica* :  $F^{3,84} = 11,25$ ,  $P < 0,0001$  ; *T. castaneum* :  $F^{3,84} = 49,09$ ,  $P < 0,0001$ ).

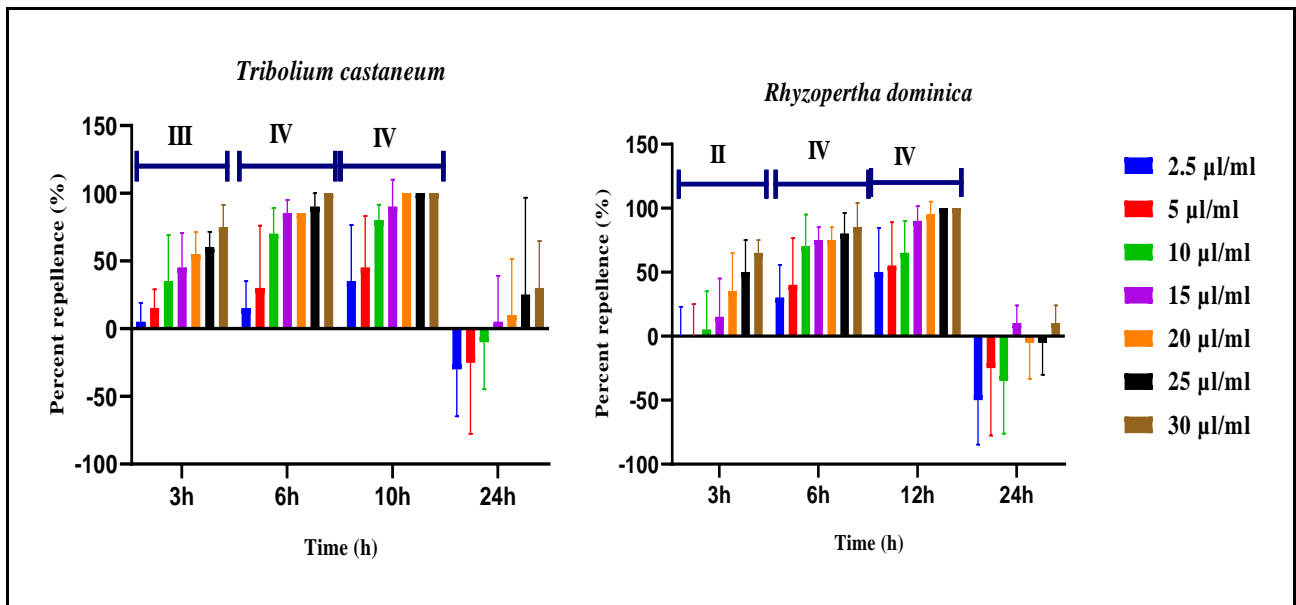


Figure 44 : Pourcentage de répulsion chez les adultes de *T. castaneum* Herbst et *R. dominica* (F.) par l'huile essentielle de *C. sempervirens* (L).

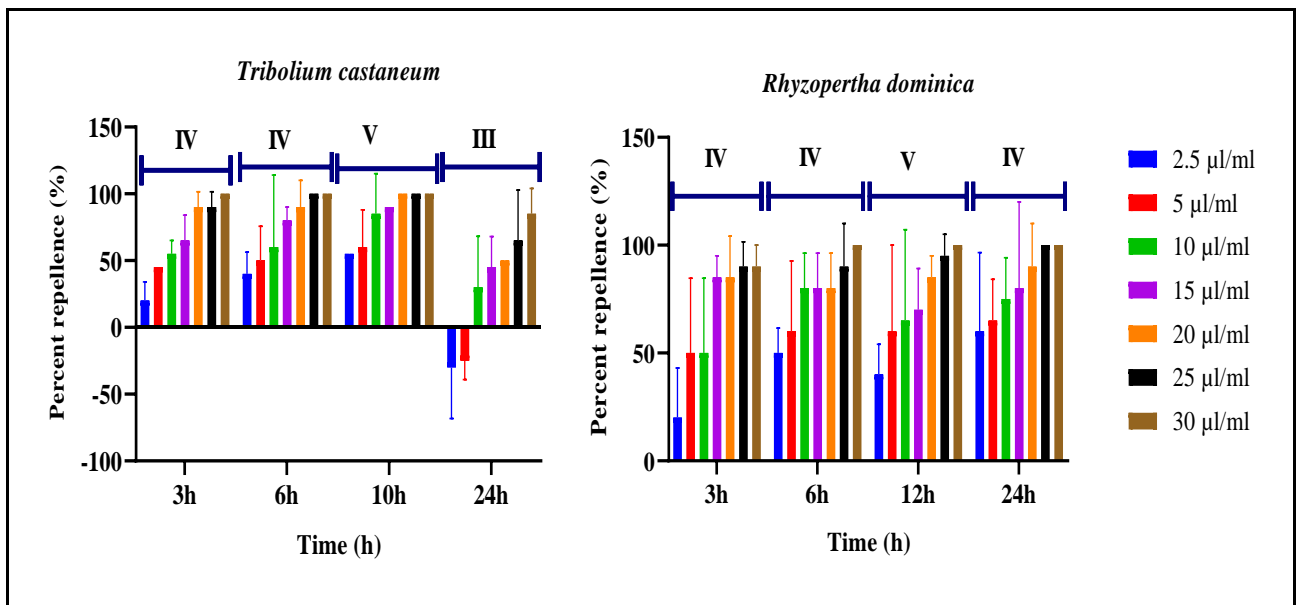
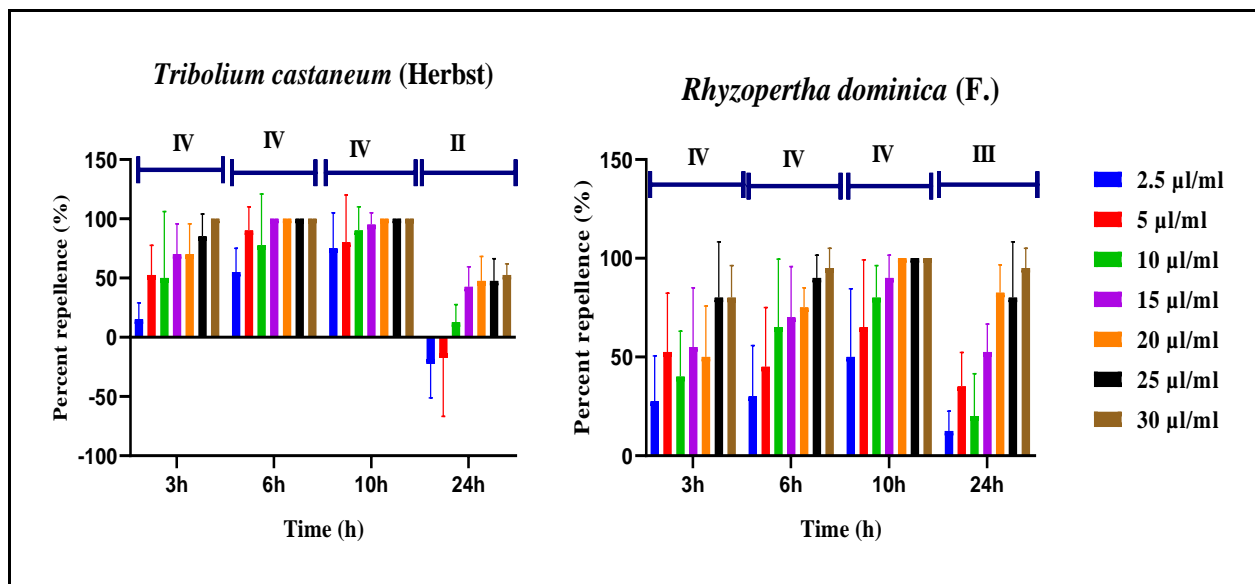


Figure 45 : Pourcentage de répulsion chez les adultes de *T. castaneum* Herbst et *R. dominica* (F.) par l'huile essentielle de *J. phoenicea* L.



**Figure 46 :** Pourcentage de répulsion chez les adultes de *T. castaneum* Herbst et *R. dominica* (F.) par l'huile essentielle de *M. rotundifolia* (L.)

Dans notre étude, des taux de mortalité considérables sont enregistrés à différentes concentrations avec les tests de contact et de d'inhalation contre les adultes de *R. dominica* (F.) et de *T. castaneum* (Herbst). La nature lipophile des huiles essentielles végétales facilite leur interférer avec les fonctions métaboliques, biochimiques, physiologiques et comportementales de base des insectes (Brahmi *et al.*, 2016).

Des études antérieures ont démontré l'efficacité des huiles essentielles de la famille des lamiacées (Brahmi *et al.*, 2016 ; Kumer *et al.*, 2011 ; Ncibi *et al.*, 2020) et des Cupressacées (Abou-Taleb *et al.*, 2016 ; Ncibi *et al.*, 2019 ; Papanikolaou *et al.*, 2022 ; Sabrine *et al.*, 2018) contre divers ravageurs du stockage. Cependant, en examinant les valeurs de  $CL_{50}$ , il est indéniable que la toxicité des HES exercées par contact sur les insectes est la meilleure méthode pour atteindre des taux de mortalité significatifs.

Dans le même ordre d'idées, des recherches antérieures ont montré que les huiles essentielles réagissent mieux à la toxicité de contact que d'autres méthodes, par exemple ; dans le résultat de da Silva Bomfim *et al.*, (2015), les huiles essentielles de *C. macrocarpa* et de *C. sempervirens* ont présenté des  $DL_{50}$  de 30,34 mg/l et 17,16 mg/l respectivement, par fumigation et de 0,32 mg/cm<sup>2</sup> et  $LC_{50} > 0,6$  mg/cm<sup>2</sup> par contact vis-à-vis de *Sitophilus oryzae*. De plus, les chercheurs Filomeno *et al.*, (2020) ont constaté que l'effet insecticide de l'HE de *J. phoenicea* contre *R. dominica* par test de contact

présentait un pourcentage de mortalité d'environ 20 % meilleur que par fumigation qui a donné une mortalité inférieure à 20 %.

D'après les résultats d'**Abou-Taleb et al., (2016)**, le pouvoir insecticide de deux huiles essentielles de *C. sempervirens* et *C. macrocarpa* a donné respectivement des CL<sub>50</sub> de 35,81 mg/l et 38,11 mg/m par le test de fumigation, et des CL<sub>50</sub> de >0,6 mg/cm<sup>2</sup> et 0,16 mg/cm<sup>2</sup> par contact. Cela peut être justifié par le contact direct des huiles essentielles avec la surface corporelle des insectes.

Selon les résultats de cette étude, les taux de mortalité augmentent significativement avec le temps d'exposition pour les tests de toxicité de contact et de fumigation. Ces résultats sont en accord avec d'autres études similaires menées avec ces huiles essentielles, qui ont confirmé une corrélation positive entre le pourcentage de mortalité et le temps d'exposition au traitement insecticide.

Par exemple, l'étude effectuée par **Tapondjou et al., (2005)** a montré que la mortalité atteint 100% après 5 jours d'exposition au traitement. Une autre étude de **Papanikolaou et al., (2022)** montre l'augmentation marquée des taux de mortalité causés par l'huile essentielle de *J. phoenicea* envers *T. castaneum* et *T. granarium* après 7 et 14 jours. Par conséquent, il est probable que du temps soit nécessaire à la bonne pénétration des composants des huiles essentielles à travers les barrières cutanées ou respiratoires externes des insectes.

Les valeurs X<sup>2</sup> (Chi square) indiquent la corrélation positive entre les concentrations des huiles essentielles appliquées et la réponse des populations testées. Cela signifie que la mortalité des insectes est augmentée en fonction des concentrations testées comparées à celle du témoin. Ce résultat est renforcé par les résultats de **Labbafi et al., (2021)** qui ont montré que le taux de mortalité chez *Sitophilus oryzae* causé par l'huile essentielle de *C. sempervirens* augmente avec l'augmentation des doses à savoir 4% de mortalité avec 71,5 µl/l d'air et de 100% avec la dose la plus élevée 428,5 µl/l d'air. **Langsi et al., (2020)** ont également indiqué que les effets des insecticides dépendaient de leurs concentrations exercées.

Les coléoptères utilisés dans cette étude ont réagi différemment aux huiles essentielles des espèces végétales étudiées. Une analyse probit est utilisée pour estimer la CL<sub>50</sub> des huiles essentielles de *M. rotundifolia*, *J. phoenicea* et *C. sempervirens*, dont les résultats ont montré que les adultes de *T. castaneum* (Herbst) sont plus résistants que les *R. dominica* (F.). Dans le même contexte, les valeurs trouvées de CL<sub>50</sub> par l'étude de **Yakhlef et al., (2020)** sont de 0.195 µl/ml d'air pour le *Sitophilus*

*granarius* et de 0.561 µl/ml d'air pour le *Tribolium confusum* après 3h d'exposition à l'huile essentielle de *M. rotundifolia*. De plus, chez **Pang et al., (2020)**, la valeur de DL<sub>50</sub> de l'huile essentielle de *M. piperita* enregistrée par le test de fumigation chez les adultes *T. castaneum* (18.1 mg/l d'air) était supérieure par celle notée chez les adultes de *L. botrychophila* (0.6 mg/L).

L'activité insecticide menée par **Sabrine et al., (2018)** sur trois insectes ravageurs des denrées stockées montre que les adultes de *T. castaneum* étaient les plus tolérants à l'huile essentielle de *C. sempervirens* avec un taux de mortalité de 3 % par rapport aux adultes de *R. dominica* et de *S. oryzae* 11 %, 41 % respectivement. De plus, **Ncibi et al., (2019)** ont enregistré des valeurs de CL<sub>50</sub> très élevées chez *T. castaneum* par rapport à celles de *R. dominica* obtenues par un test de fumigation avec un groupe variable d'espèces végétales. Cela peut être justifié par la forte résistance développée par ces coléoptères. Cette estimation est confirmée par les recherches de **Richards et al., (2008)** qui ont estimé que *Tribolium* s'adapte rapidement aux changements de son environnement grâce à des modifications génétiques spécifiques.

Le test de répulsion de ces huiles essentielle a montré une activité significative vis-à-vis des insectes utilisés dans cette étude. Des résultats similaires sont rapportés par **Brahmi et al., (2016)**, dont l'huile essentielle de *M. rotundifolia* a présenté une activité répulsive modérée (Class III) de 47.54% envers les adultes de *R. dominica* après 30 min d'exposition. Par ailleurs, l'huile essentielle de *M. rotundifolia* a révélé des pourcentage de répulsion de 63.75 ±8.69% (Classe IV) et 81.25 ±4.84% (Classe V) chez les adultes de *Sitophilus gramarius* et *T. confusum*, respectivement (**Yakhlef et al., 2020**).

En outre, **Labbafi et al., (2021)** ont cité que l'huile essentielle de *C. sempervirens* a montré le taux de répulsion le plus élevé (80,61%) par rapport aux autres espèces utilisées. Chez **Tapondjou et al., (2005)** l'HE de *C. sempervirens* appartient à la classe V par rapport à son effet répulsif contre *S. zeamais* (98 ±4%) et *T. confusum* (90 ±10%).

Dans la présente étude, *T. castaneum* a présenté des pourcentages plus élevés dès la première dose appliquée. Cela peut être dû à la mobilité rapide de ces individus, mais cet insecte est également le premier à se retenir et à s'adapter à l'odeur des huiles essentielles. Ce résultat est cohérent avec une étude menée par **Ncibi et al., (2019)**, dans laquelle le taux de répulsion variait fortement dans le temps chez les 14 plantes aromatiques étudiées. Les résultats ont montré que ces plantes aromatiques exerçaient un pourcentage de répulsion plus élevé contre *T. castaneum* par rapport à *R. dominica*, et

## **Chapitre II**                      **Activité insecticide des extraits bruts et des huiles essentielles**

que le taux de répulsion diminuait après 24 heures d'exposition au traitement, particulièrement chez *T. castaneum*. Toutes ces remarques peuvent s'expliquer par l'augmentation des récepteurs olfactifs chez cette espèce (**Richards et al., 2008**).

Il existe de nombreux rapports antérieurs sur la constitution des huiles essentielles de *M. rotundifolia*, de *J. phoenicea* et de *C. sempervirens*, qui montrent leur richesse en composés chimiques, notant l' $\alpha$ -pinène (**Barnawi et al., 2021 ; Fadel et al., 2021**). Par conséquent, ces composés sont rapportés comme étant responsables de l'activité insecticide des huiles essentielles contre les insectes ravageurs des denrées stockées (**Abdelgaleil et al., 2021 ; Allenspach et Steuer, 2021 ; Tapondjou et al., 2005**).

Certains chercheurs comme **Labbafi et al., (2021)** et **Ncibi et al., (2019)** ont souligné que la composition chimique des huiles essentielles varie en fonction de divers facteurs tels que l'espèce, la situation géographique, le climat et de la méthode d'extraction. Cette variation peut expliquer les différences de résultats obtenus dans cette étude et les résultats rapportés par d'autres auteurs dans la littérature.

## *Chapitre III*

# *Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles*

## Chapitre III Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles

### Chapitre III : Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles

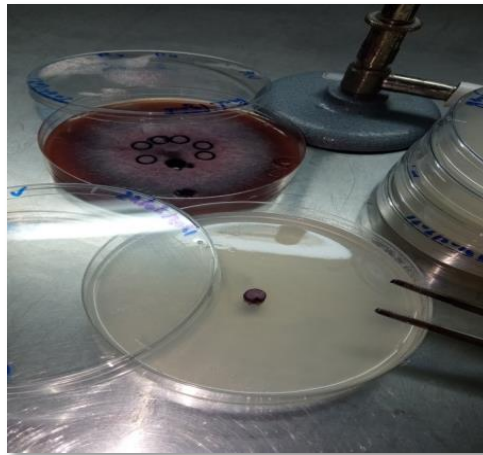
#### III.1 Matériel et méthodes

##### III.1.1 Matériel fongique

##### III.1.1.1 Isolement et purification de la souche fongique phytopathogène « *Fusarium verticillioides* »

L'espèce fongique « *Fusarium verticillioides* » est isolée en suivant la méthode de **Larran et al., (2007)**. Pour cela, une dizaine de grains de blé local sont aléatoirement choisis, désinfectés, puis placés dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA additionné de l'antibiotique « Chloramphenicol ». Cinq grains sont utilisés par boîte et plusieurs répliques sont effectuées pour chaque échantillon. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 27°C et à une humidité relative de  $70 \pm 5\%$  pendant sept jours. Après cette période, la purification des souches est réalisée en prélevant l'hyphe terminal des tapis mycéliens cultivés en boîte de Pétri sur un milieu PDA neuf sans antibiotique (**Fig. 47**).

Afin de vérifier l'apparition de contaminations, des observations quotidiennes sont effectuées à partir du deuxième jour d'incubation. Après le repiquage, les cultures sont conservées à 27°C pendant une semaine, puis stockées à 4°C pour favoriser la viabilité et limiter l'apparition d'autres genres fongiques.



**Figure 47** : Purification de la souche fongique

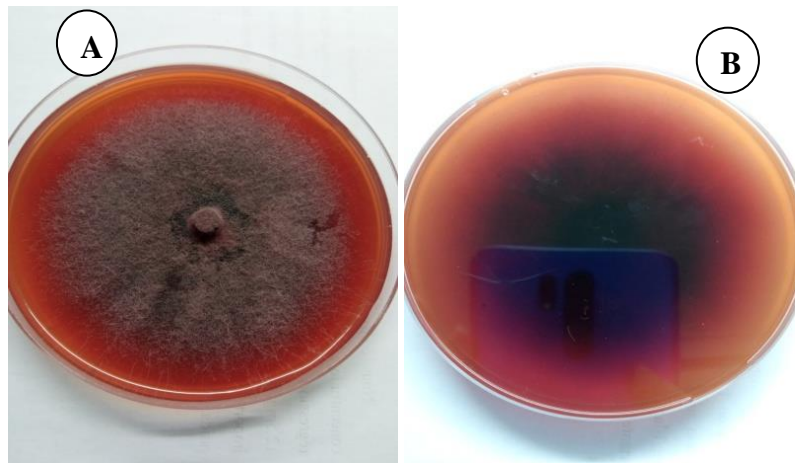
##### III.1.1.2 Identification de la souche fongique purifiée

Une étude approfondie est menée sur la souche fongique issue de l'isolement effectué précédemment. L'observation macroscopique (**Fig. 48**) est réalisée en utilisant une loupe binoculaire qui

### Chapitre III Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles

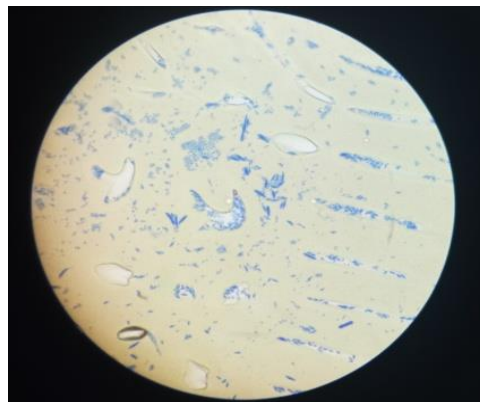
a servi à l'examen à l'œil nu pour examiner l'échantillon sur les milieux solides en boîte de Pétri et identifier ses caractéristiques culturelles (telles que le diamètre, la couleur et la forme de la colonie).

D'autre part, un microscope optique à différents grossissements est utilisé pour les observations microscopiques (**Fig. 49**). Pour cela, il est nécessaire de préparer un montage de préparations microscopiques, une coloration du matériel à examiner et de réaliser des mesures micrométriques afin de déterminer les caractéristiques d'hyphes (cloisonnés ou non), la forme de mycélium et le type de spores sexuelle (**Botton *et al.*, 1990, Guiraud, 1998**). L'identification de la souche fongique utilisée pour est réalisée avec Dr Mabdoua samira au niveau du laboratoire phytopathologie de département Sciences Agronomiques, Faculté SNV/ST Université de Bouira.



**Figure 48** : Caractères macroscopiques de la colonie fongique

**A** : Face supérieure      **B** : Face inférieure



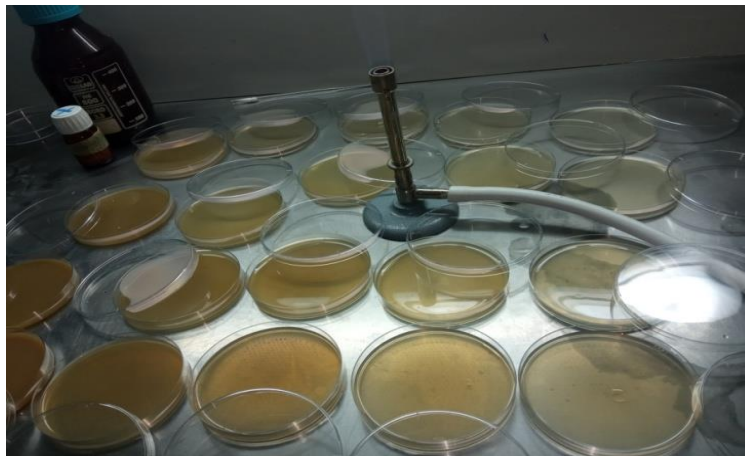
**Figure 49** : Observation microscopique (GX40)

### **Chapitre III Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles**

#### **III.1.2 Evaluation de l'activité antifongique des extraits bruts de *C. sempervirens*, *J. phoenicea*, *M. rotundifolia*, *C. scoparius* et *A. microcarpus***

L'activité antifongique *in vitro* est évaluée selon la méthode de dilution en gélose (Sharma et Trivedi, 2002) sur le milieu semi sélectif « PDA » (Fig. 50). Les extraits bruts secs hydro-méthanolique, hydro-éthanolique, hydro-acétonique et aqueux préparés auparavant par les deux méthodes d'extraction de *C. sempervirens*, *J. phoenicea*, *M. rotundifolia*, *C. scoparius* et *A. microcarpus*, sont dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) pour donner des dilutions en série de concentrations : 12,5 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml et 200 µg/ml pour chaque extrait.

Sous des conditions environnementales stériles, le milieu PDA est additionné de ces différentes concentrations des extraits. Ensuite, les mélanges sont inoculés dans des boîtes de Pétri d'une moyenne de 20 ml par boîte, puis laissés solidifier. Un diamètre de 6 mm de la souche d'essai *F. verticillioides* est prélevé à partir de la marge d'une culture âgée de sept jours à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Les boîtes de Pétri sont incubées pendant dix jours à une température de  $25 \pm 2$  °C. La croissance du mycélium radial est mesurée quotidiennement après chaque 48h, et la toxicité fongique des extraits est exprimée en pourcentage d'inhibition de la croissance du mycélium. Pour chaque concentration, quatre répétitions sont préparées afin de minimiser l'erreur expérimentale.



**Figure 50** : Préparation des boîtes de Pétri avec les différentes concentrations

#### **III.1.3 Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de *C. sempervirens*, *J. phoenicea*, *M. rotundifolia***

L'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites de *C. sempervirens*, *J. phoenicea*, *M. rotundifolia* est étudiée sur la même espèce de *F. verticillioides*. La toxicité des HEs est mesurée en utilisant la méthode de contact direct adaptée par Gakuubi *et al.*, (2017). Différentes

### **Chapitre III Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles**

concentrations sont utilisées : 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm et 2000 ppm. Pour améliorer la solubilité des huiles essentielles dans le milieu de culture, 50 µl de Tween20 sont ajoutés à chaque concentration.

Les mélanges préparés sont coulés en quantité de 20 ml dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre. Ensuite à l'aide d'une pipette pasteur stérile, un fragment de culture fongique de 6 mm de diamètre est prélevé à partir d'un tapis mycélien âgé de sept jours, puis déposé au centre de chaque boîte de Pétri contenant concentration d'huile essentielle différente. Cette opération est répétée pour chaque concentration, et les boîtes de Pétri sont fermées hermétiquement avec un parafilm avant d'être incubées à 25 ±2°C pendant dix jours. Pour minimiser les erreurs expérimentales, cinq répétitions et des boîtes témoins sont préparées pour chaque concentration.

Selon **da Silva Bomfim et al., (2015)**, les taux d'inhibition de la croissance mycélienne par rapport aux boîtes témoins, sont calculés selon la formule suivante :

$$TI (\%) = \frac{DC - DE}{DC} * 100$$

**TI** : Taux d'inhibition exprimé en pourcentage

**DC** : Diamètre de la zone de croissance du témoin

**DE** : Diamètre de la zone de croissance de l'essai

#### **III.1.4 Analyse statistique**

Les activités antifongiques des extraits bruts hydro-méthanolique, hydro-éthanolique, hydro-acétonique et aqueux ainsi que des huiles essentielles présentées en moyenne ±ecart type sont statistiquement analysées en utilisant le test de comparaison de Tukey après une Anova à deux facteurs (Two way Anova). Toutes les analyses statistiques sont réalisées à l'aide du logiciel Graphpad Prism 8.0.2.

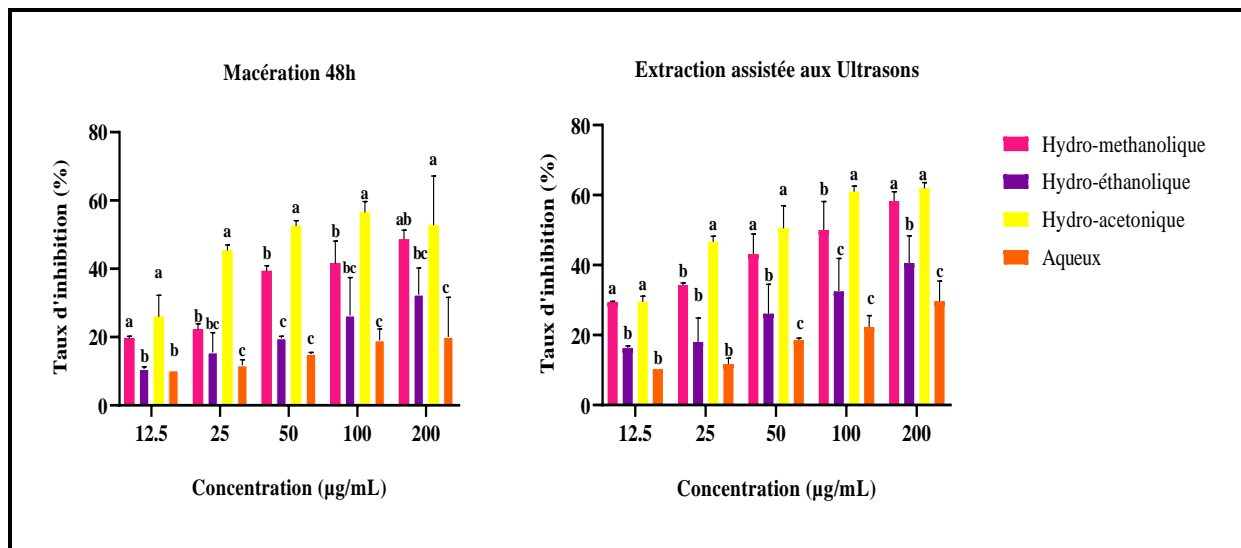
#### **III.2 Résultat et discussion**

##### **III.2.1 Effet des extraits bruts de *C. sempervirens*, *J. phoenicea*, *M. rotundifolia*, *C. scoparius* et *A. microcarpus* vis-à-vis de *F. verticillioides***

Selon les données présentées dans la **figure 51**, les pourcentages d'inhibition augmentent avec l'augmentation des concentrations. En comparant les résultats, il est clair que tous les extraits de *C. sempervirens* obtenus par l'extraction assistée aux ultrasons sont les plus efficaces contre le *F.*

**Chapitre III Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles verticillioides.** Cependant, les extraits hydro-méthanolique et hydro-acétonique de *C. sempervirens* issus de l'extraction assistée aux Ultrasons et la macération ont donné les meilleurs taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *F. verticillioides* qui variaient respectivement entre  $48,58 \pm 2,7\%$  et  $52,77 \pm 14,4\%$  avec la concentration  $200 \mu\text{g/ml}$  après dix jours d'incubation.

En revanche, l'espèce fongique étudiée s'est avérée moins sensible aux extraits hydro-éthanoliques avec des taux d'inhibition de  $32,44 \pm 7,8\%$  (Macération), de  $40,54 \pm 7,8\%$  (Extraction assistée aux Ultrasons) et aux extraits aqueux  $20,0 \pm 11,6\%$  (Macération) , $29,63 \pm 5,77\%$  (Extraction assistée aux Ultrasons) avec la concentration  $200 \mu\text{g/ml}$  après dix jours d'incubation.



**Figure 51 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne par les extraits bruts de *C. sempervirens* L.

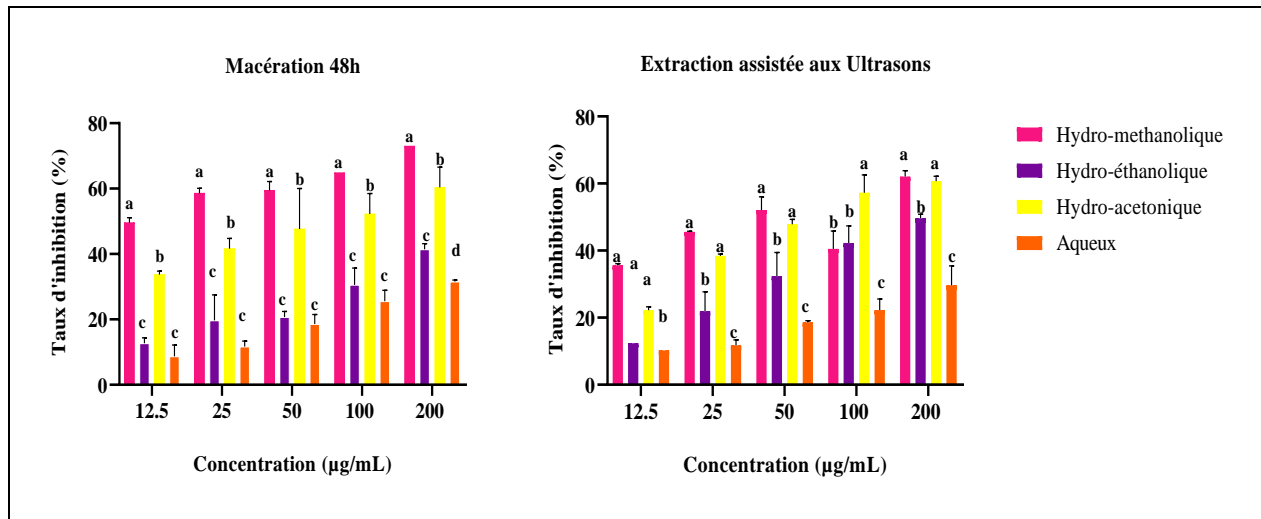
La **figure 52** illustre l'efficacité antifongique des différents extraits de feuilles de *J. phoenicea* contre le *F. verticillioides* après dix jours d'incubation. Les résultats varient en fonction des concentrations examinées, mais dans l'ensemble, les extraits ont montré des propriétés antifongiques comparables.

Les extraits hydro-méthanolique et hydro-acétonique préparés par l'extraction assistée aux Ultrasons ont produit les niveaux les plus élevés d'inhibition de la croissance mycélienne avec des pourcentages de  $62,03 \pm 1,78\%$  et  $60,68 \pm 1,47\%$  respectivement, et avec  $72,97 \pm 0,00\%$  et  $60,35 \pm 6,24\%$  avec les extraits obtenus par la macération à la concentration  $200 \mu\text{g/ml}$ .

Cependant, il est nécessaire de noter que les extraits hydro-éthanoliques préparés par les deux méthodes d'extractions ont présenté une action non négligeable sur le *F. verticillioides* en provoquant

### Chapitre III Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles

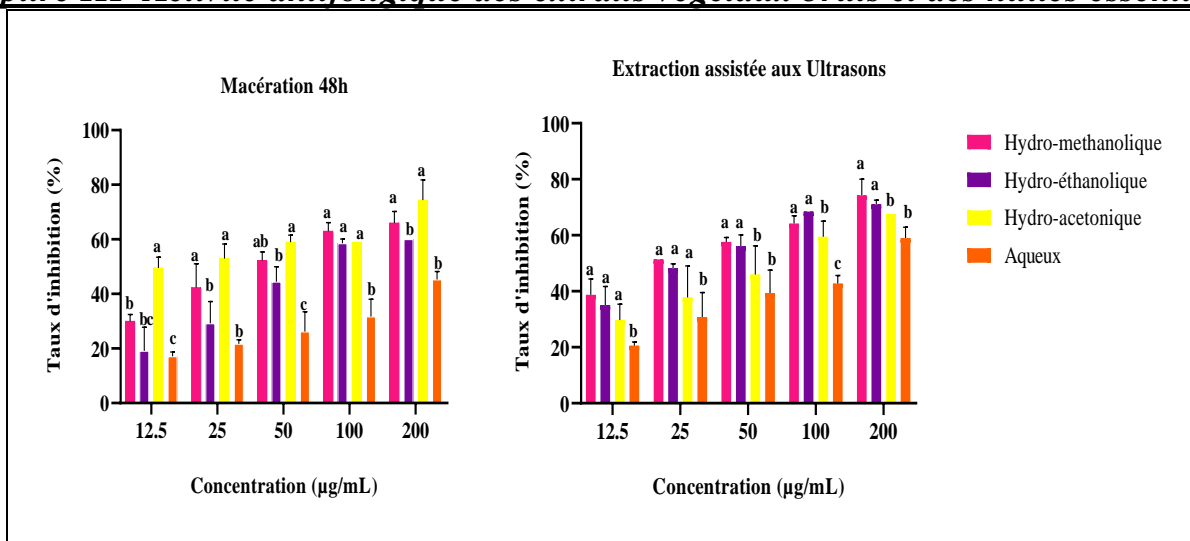
des taux d'inhibition de  $49,66 \pm 1,2\%$  (Extraction assistée aux Ultrasons) et de  $41,46 \pm 1,72\%$  (Macération). D'autre part, en utilisant les extraits aqueux la souche fongique *F. verticillioides* était plus résistante aux concentrations avec des taux d'inhibition de  $\leq 20\%$ . Selon la **figure 52**, les extraits aqueux l'extraction assistée aux Ultrasons atteignent un taux de  $31,54 \pm 0,5\%$  par et un taux de  $29,63 \pm 5,77\%$  par l'extrait de la macération.



**Figure 52 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne par les extraits bruts de *J. phoenicea* L.

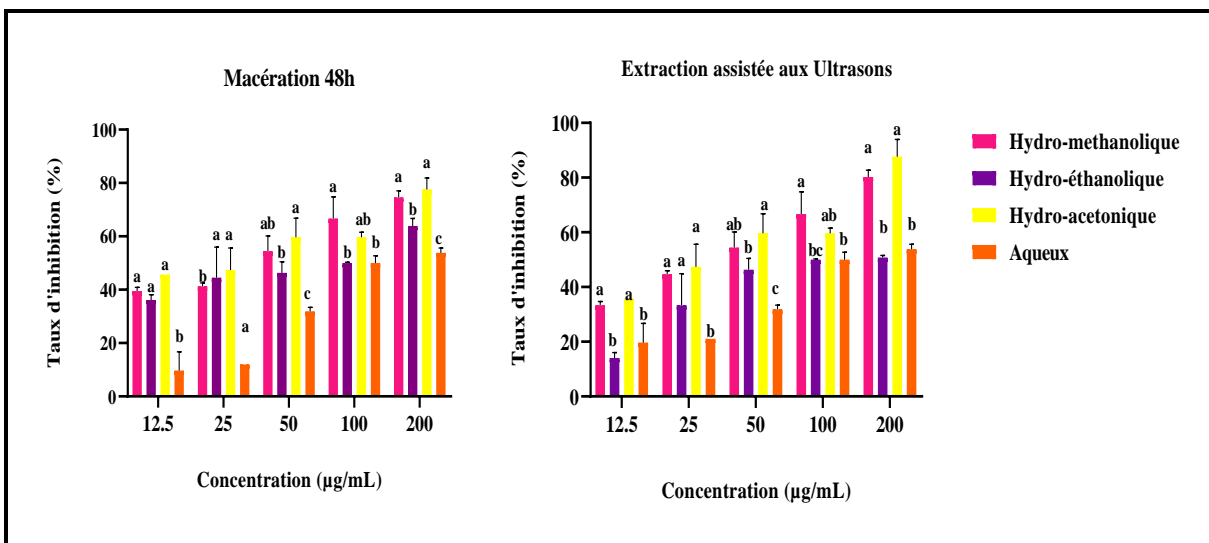
Quant aux résultats de l'activité antifongique obtenus à partir des extraits de la *M. rotundifolia* (**Fig. 53**), les extraits hydro-méthanolique et hydro-éthanolique obtenus par l'extraction assistée aux Ultrasons à partir des feuilles de cette plante ont présenté des pourcentages d'inhibition significativement ( $P < 0,05$ ) élevés allant de  $74,20 \pm 5,83\%$  à  $71,05 \pm 1,51\%$  respectivement, avec la concentration la plus élevée 200 µg/ml après dix jours de traitement, en les comparant avec ceux obtenus par les extraits hydro-acétonique ( $67,56 \pm 0,1\%$ ) et aqueux ( $58,97 \pm 3,91\%$ ) issus de la même méthode d'extraction.

En revanche, les extraits hydro-méthanolique et hydro-acétonique obtenus par la macération ont révélé des fortes inhibitions de  $65,99 \pm 4,23\%$  et  $74,35 \pm 7,4\%$ , respectivement ; et les extraits hydro-éthanolique et aqueux ont donné des taux de  $60,0 \pm 0,0\%$  et  $45,28 \pm 2,93\%$ , respectivement.



**Figure 53 :** Taux d’inhibition de la croissance mycélienne par les extraits bruts de *M. rotundifolia* (L.)

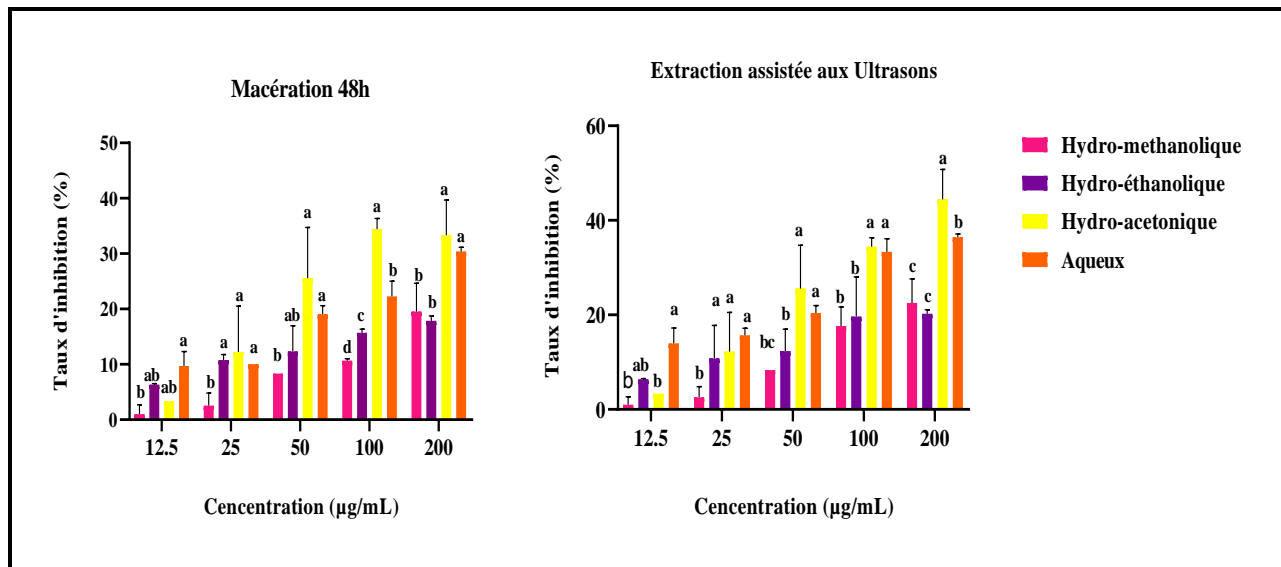
En examinant les résultats de la **figure 54**, le *F. verticillioides* est apparu très sensible à toutes les concentrations des extraits de gousses de *C. scoparius* avec des pourcentages d’inhibition très importants qui varient selon le solvant et la méthode d’extraction. D’ailleurs, des taux de  $87,6 \pm 6,34$  %, de  $80,22 \pm 2,5$  %, de  $50,7 \pm 0,86$  % et de  $53,8 \pm 1,8$  % sont enregistrés avec les extraits par la méthode assistée aux Ultrasons hydro-acétoniques, hydro-méthanolique, aqueux et hydro-éthanolique respectivement. Les extraits préparés par macération ont également donné des taux d’inhibition considérables de  $74,55 \pm 2,5$  % (hydro-méthanolique),  $77,5 \pm 4,34$  % (hydro-acétonique),  $63,88 \pm 0,86$  % (hydro-éthanolique), et  $53,8 \pm 2,8$  % (aqueux).



**Figure 54 :** Taux d’inhibition de la croissance mycélienne par les extraits bruts de *C. scoparius* L.

### Chapitre III Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles

Contrairement aux résultats susmentionnés, de fortes inhibitions de la croissance mycélienne de *F. verticillioides* sont notées par les extraits hydro-acétoniques et aqueux obtenus par l'extraction assistée aux Ultrasons (33,33 ±6,34% et 30,35 ±0,80%) et par la macération (44,44 ±6,34% et 36,35 ±0,80%) à 200 µg/ml après dix jours d'incubations dans les tests antifongiques avec les fleurs d'*A. microcarpus* (Fig. 55).



**Figure 55 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne des extraits bruts d'*A. microcarpus*.

Le pouvoir antifongique des extraits hydro-méthanolique, hydro-éthanolique, hydro-acétonique et aqueux préparés par l'extraction assistée aux Ultrasons et par la macération est évalué *in vitro* sur la souche fongique *F. verticillioides*. Les résultats obtenus ont indiqué que les extraits hydro-méthanolique et hydro-acétonique des plantes se sont avérés les plus efficaces quasiment dans tous les tests, sachant que ces deux types d'extraits ont présenté les taux maximaux des composés phénoliques dans les sessions précédentes (Voir chapitre I). Donc, il est évident de constater que l'activité antifongique est en corrélation positive avec la présence de certains métabolites dans les extraits utilisés.

Selon les résultats de notre étude, il est clair que les solvants d'extraction utilisés peuvent être plus efficaces que d'autres pour extraire des composés ayant une activité antifongique, ce qui peut influencer l'efficacité de l'extrait végétal dans l'inhibition de la croissance fongique (Castillo et al., 2010). Chez Ortiz et al., (2010), l'extrait hexanique des parties aériennes de *Juniperus lucayana* a présenté une activité antifongique plus élevée que l'extrait éthanolique contre le champignon *Botrytis cinerea*. En revanche, les résultats de Ameziane et al., (2007) ont rapporté que les extraits

### **Chapitre III Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles**

méthanoliques d'*Eucalyptus globulus* et de *Citrus villosus* étaient plus actifs contre les souches fongiques *Penicillium digitatum* et *Geotrichum candidum* que les extraits chloroformiques. En Algérie, dans l'étude établie par **Khalfaoui et al., (2021)** le pouvoir antifongique des extraits de chloroforme, d'acetate d'éthyl et de butanol s'est avéré différent envers les trois espèces de genre *candida* selon l'extrait. De plus, les résultats de **Suárez-Jiménez et al., (2007)** indiquent que les extraits méthanoliques de *Baccharis glutinosa* et *Larrea tridentata* paraient très efficaces contre le *F. verticillioides*.

Par ailleurs, la souche fongique testée est un facteur important, car elle peut avoir des sensibilités différentes aux extraits végétaux. Par exemple, une souche fongique résistante à un extrait végétal peut être sensible à un autre extrait provenant de la même plante. **Thembo et al., (2010)**, ont rapporté que les extraits au méthanol et à l'hexane de *V. unguiculata* et *A. spinosus* paraient les plus actifs contre les isolats de *Fusarium spp* avec des valeurs de concentration minimale inhibitrice inférieure à 0.5 mg/ml après 48h, en revanche aucune inhibition de l'*Aspergillus spp* testée n'est observée. Dans **Okla et al., (2021)**, les résultats ont montré que parmi les extraits d'*Avicennia marina* obtenus par les différents solvants, une activité antifongique est observée uniquement par l'application d'extrait éthanolique sur l'*Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*.

De plus, les résultats de **Rosas-Burgos et al., (2009)** ont montré que l'extrait de *Baccharis glutinosa* réparti dans l'acétate d'éthyle inhibait complètement (100%) la croissance mycélienne de *F. verticillioides* à 0,8 mg/ml, alors que la croissance radiale de *A. flavus* et *A. parasiticus* est inhibée uniquement à 70 % à 1,5 mg/ml.

Pareillement, l'espèce végétale utilisée et la méthode d'extraction sont des facteurs importants à prendre en compte. Les espèces végétales peuvent avoir des propriétés différentes en termes de composition phénolique et de propriétés antifongiques. La méthode d'extraction peut également influencer la composition de l'extrait et son efficacité antifongique. Dans le travail de **Satish et al., (2007)**, des extraits aqueux de 52 plantes de différentes familles sont testés pour leur potentiel antifongique contre huit espèces importantes d'*Aspergillus* telles que *A. candidus*, *A. columnaris*, *A. flavipes*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus* et *A. tamarii*, l'activité antifongique obtenue était variable selon la souche fongique.

Chez **Ertürk et al., (2006)**, les extraits de *M. officinalis*, *P. nigrum*, *C. annum* et *C. cyminum* ont montré une activité antifongique contre l'*A. niger* et *C. albicans* avec une plage de diamètre de

### **Chapitre III Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles**

zone d'inhibition 10 à 16 mm et ceux de *M. piperita* et *E. arborea* ont montré un pouvoir antifongique plus élevé avec des diamètres de zone d'inhibition de 18 à 23 mm, alors que les extraits de *L. nobilis*, *D. coryophyllum*, de *J. oxycedrus* et de *C. arborescens* ont donné le meilleur effet antifongique contre ces deux espèces avec des diamètres de 20 à 32 mm.

En résumé, le comportement des extraits végétaux vis-à-vis des champignons phytopathogènes pourrait être lié principalement à la différence de la composition phénolique de chaque extrait étudié, la souche fongique testée, l'espèce végétale utilisée ainsi que la méthode et le solvant d'extraction utilisé. Donc tous ces facteurs doivent être pris en compte lors de la sélection d'extraits végétaux pour une utilisation dans le contrôle des champignons phytopathogènes.

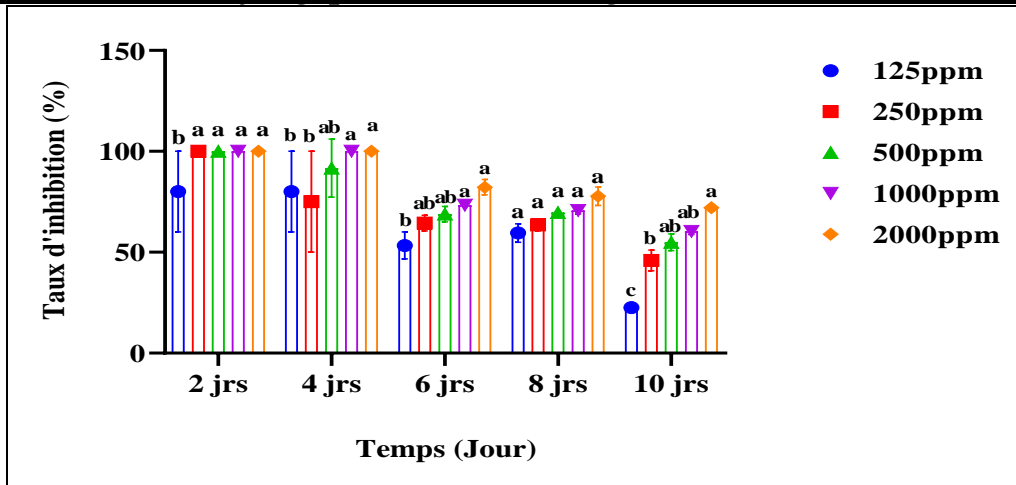
#### **III.2.2 Evaluation de l'effet antifongique des huiles essentielles de *C. sempervirens* et *J. phoenicea* *M. rotundifolia*, vis-à-vis de *F. verticillioides***

Les pourcentages d'inhibitions de la croissance mycélienne de *F. verticillioides* induites par les huiles essentielles des espèces végétales examinées variaient significativement avec le temps (*C. sempervirens* :  $F^{4,5} = 86,92$ ,  $P < 0,0001$  ; *J. phoenicea* :  $F^{4,5} = 92,78$ ,  $P < 0,0001$  ; *M. rotundifolia* :  $F^{4,5} = 80,48$ ,  $P < 0,0001$ ), ainsi qu'avec les concentrations incorporées (*C. sempervirens* :  $F^{4,5} = 23,08$ ,  $P < 0,0001$  ; *J. phoenicea* :  $F^{4,5} = 41,41$ ,  $P < 0,0001$  ; *M. rotundifolia* :  $F^{4,5} = 42,16$ ,  $P < 0,0001$ ).

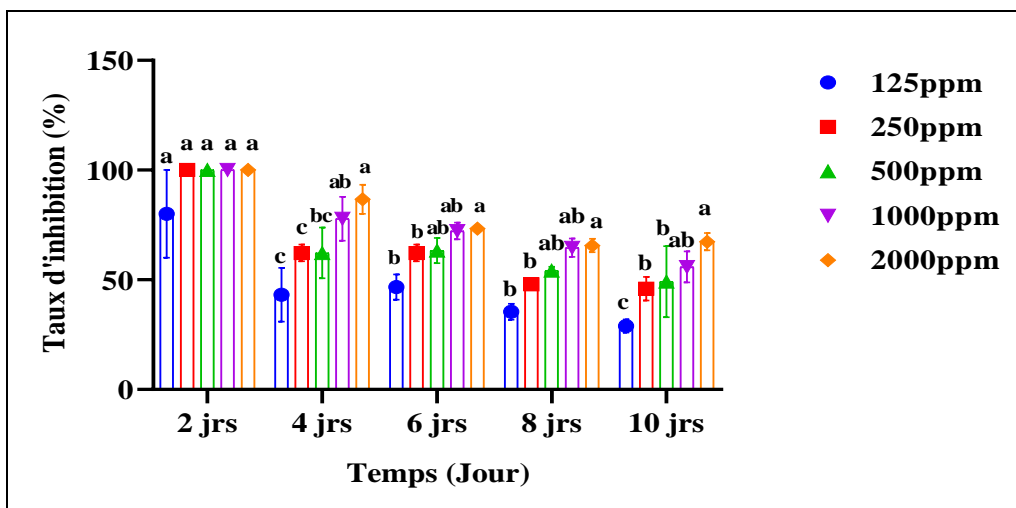
Les **figure 56** et **57** montrent une inhibition totale de la croissance mycélienne (100%) de *F. verticillioides* chez les boîtes contenant les huiles essentielles de *C. sempervirens* et de *J. phoenicea*, aux concentrations de 250ppm, 500ppm, 1000ppm et 2000ppm après les premiers 48h du test. A la fin du test des taux d'inhibitions considérables sont enregistrés de  $60,35 \pm 1,5$  % (*C. sempervirens*) et  $55,86 \pm 7,03$  % (*J. phoenicea*) à la concentration 1000ppm et des taux de  $72,07 \pm 1,55$  % (*C. sempervirens*) et  $67,36 \pm 3,92$  % (*J. phoenicea*) à la concentration 2000ppm.

Quant au *M. rotundifolia* (**Fig. 58**), après deux jours de traitement, l'huile essentielle s'est montrée très active contre le *F. verticillioides* qui est complètement inhibé (100%). Aucune croissance n'est observée aux concentrations administrées (0 cm de diamètre) en comparaison avec les boîtes témoins. Une croissance légère du champignon est notée au 4<sup>ème</sup> jour du test avec les concentrations de 125ppm et 250ppm. Cependant, les concentrations de 500ppm, 1000ppm et 2000ppm ont présenté une inhibition totale de la croissance à ce temps là. En effet, les pourcentages d'inhibition provoqués par l'huile essentielle de *M. rotundifolia* variaient de  $55,21 \pm 1,4$ % à  $83,75 \pm 9,3$ % à la fin du test (Après dix jours).

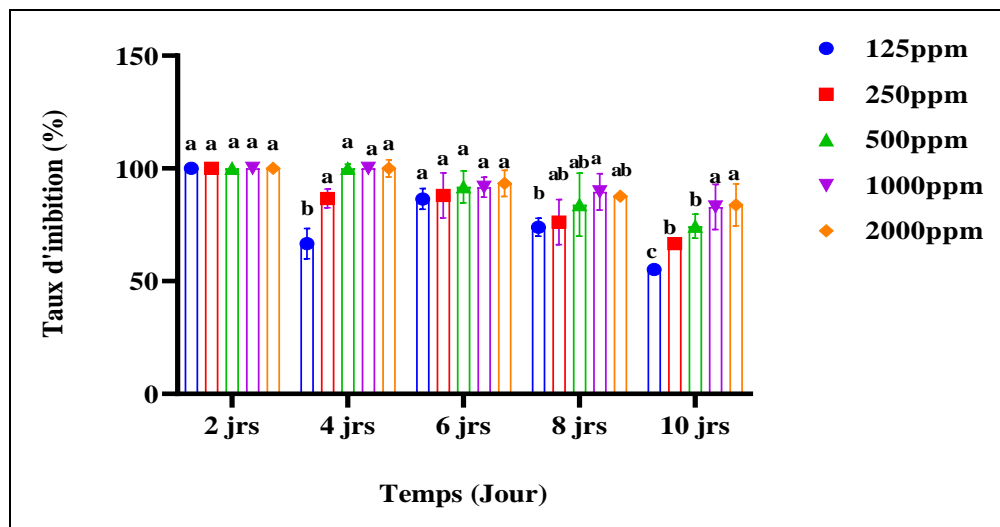
**Chapitre III Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles**



**Figure 55 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne par l'huile essentielle de *C. sempervirens* L.



**Figure 56 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne par l'huile essentielle de *J. phoenicea* L.



**Figure 57 :** Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne par l'huile essentielle de *M. rotundifolia* (L.)

### **Chapitre III Activité antifongique des extraits végétaux bruts et des huiles essentielles**

Dans l'étude de **Rguez et al., (2018)**, l'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *C. sempervirens* contre *Botrytis cinerea* de la tomate a révélé un taux d'inhibition de 0% à la concentration 25 µg/ml pour atteindre les 100% d'inhibition à la dose 1000µg/ml. L'étude de **Mazari et al., (2010)**, a mis en évidence l'activité antifongique de *J. phoenicea* et *C. sempervirens* sur le *Fusarium oxysporium*, des taux d'inhibition de 47,1 % et 55,7 % respectivement, sont rapportés avec la dose de 25 µl/ml.

En outre, l'effet antifongique obtenu par **Abu-Darwish et al., (2013)** et **Politi et al., (2022)** est présenté par l'huile essentielle de *J. phoenicea* contre plusieurs espèces fongiques du genre *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Arthroderma* et *Candida*. En revanche, **Amri et al., (2013)** ont révélé un effet important produit par l'huile essentielle de *C. sempervirens* sur la germination de *Fusarium verticillioides* de 79,16 ±2,16%, 66,73 ±8,5% et 52,81 ±5,63% avec cône, feuilles et branches, respectivement.

**El Ajjouri et al. (2010)**, ont expliqué que la composition chimique des huiles essentielles doit être prise dans sa totalité. En effet, il ne faut pas négliger l'effet synergique entre différents constituants, y compris les constituants minoritaires. D'après les travaux consultés dans la littérature, l'étude des activités biologiques a révélé que les espèces les plus riches en composés monoterpéniques, sont les mêmes espèces qui ont le plus d'efficacité inhibitrice, ce qui suggère la corrélation entre le composant majoritaire des huiles essentielles et leur activité antifongique (**Amri et al., 2013**).

Le groupe chimique des huiles essentielles présente un pouvoir antifongique en provoquant des altérations et des destructions au niveau des membranes mycéliennes, en perturbant l'équilibre osmotique qui conduit à un blocage de la croissance cellulaire, et elles sont également capables d'inhiber la production de fumonisine (**López et al., 2004 ; Yamamoto-Ribeiro et al., 2013**). Selon **Mann et al., (2000)**, le pouvoir antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de cette dernière entraînant une fuite du contenu cytoplasmique.

L'activité antifongique des huiles essentielles est influencée par plusieurs facteurs tels que leur composition chimique, la durée d'exposition et la sensibilité des souches fongiques aux concentration appliquées. En général, une concentration plus élevée et une exposition plus longue améliore l'efficacité des huiles essentielles. Cependant, la sensibilité des souches fongiques aux huiles essentielles peut varier considérablement, il est donc important de prendre en compte tous ces facteurs pour optimiser leur utilisation comme agents antifongiques.

***Chapitre IV***  
***Effet des traitements sur la  
germination des graines et sur la  
croissance des plantules***

## Chapitre IV : Effet des traitements sur la germination des graines et sur la croissance des plantules

### IV.1 Matériel et méthodes

#### IV.1.1 Echantillons de semences

Quatre variétés de blé sont utilisées pour ce test, le blé dur (Sémito et Chen's) et le blé tendre (ARZ et HD1220), récoltées lors de la campagne agricole 2020/2021 (**Fig. 59**). Les semences de blé ont été fournies par la CCLS de la wilaya de Bouira avec l'assurance qu'elles n'ont subi aucun traitement chimique pendant la période de stockage.



**Figure 59** : Semence de blé utilisé

#### IV.1.2 Préparation des extraits végétaux et des huiles essentielles

Cinq extraits phénoliques aqueux obtenus à partir des feuilles de *C. sempervirens*, de *J. phoenicea* et de *M. rotundifolia*, des fleurs d'*A. microcarpus*, ainsi que des gousses de *C. scoparius*, sont préparés à l'aide d'un bain à Ultrasons (voir chapitre I) et utilisés dans cette partie de l'étude. De plus, trois huiles essentielles de *C. sempervirens*, de *J. phoenicea* et de *M. rotundifolia* sont récupérées par hydrodistillation (voir chapitre I) et utilisées. D'autre part, deux produits phytosanitaires chimiques, à savoir le fongicide Tébuconazole et l'insecticide Pirimiphos-methyl, fournis par la CCLS de Bouira, sont employés dans l'étude.

#### IV.1.3 Traitement des semences aux extraits aqueux, aux huiles essentielles et aux pesticides

Les semences de blé dur et de blé tendre saines, intactes et de la même taille, sont immergées séparément dans les filtrats végétaux aqueux, dans les huiles essentielles et dans le Tébuconazole et le Pirimiphos-methyl d'une manière régulière et homogène pendant 24h (**Fig.60**). Des semences immergées dans l'eau stérile (Témoin) sont préparées parallèlement afin de comparer les résultats. Le traitement des semences est réalisé à partir d'une solution de :

#### Chapitre IV Effet des traitements sur la germination des graines et sur la croissance des plantules

- 1 ml/l de Tébuconazole et Pirimiphos-methyl
- 0.1 mg/ml des extraits
- Huile essentielle brute

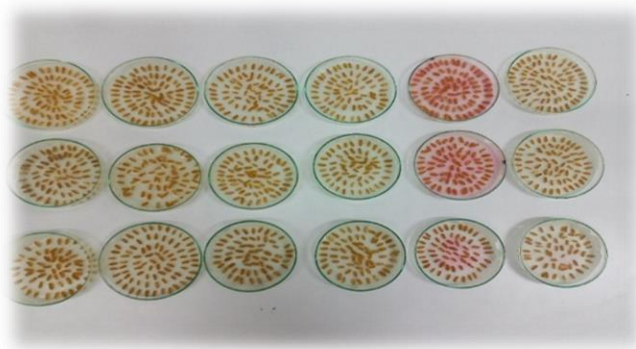


**Figure 60** : Traitement des graines par les extraits et les huiles essentielles

#### IV.1.4 Test de germination des semences

La méthode consiste à disposer les graines (**Fig. 61**) à intervalles réguliers dans des boîtes de Petri en verre sur un papier Wattman N°5 préalablement imbibés d'eau distillée stérile puis les placer en incubation dans un phytotron à une température de 25°C pendant 7 jours (**Siddiqui et al., 1999**). Selon **Malcolm et al., (2003)**, La vitesse et la durée de germination des graines ne sont pas significativement affectées par des températures ambiantes allant de 15 à 25°C. Trois répétitions sont effectuées pour chaque variété et traitement avec environ de 50 graines par répétition. L'évaluation consiste à compter le nombre de graines germées, dont le taux de germination est exprimé en pourcentage (TG%) :

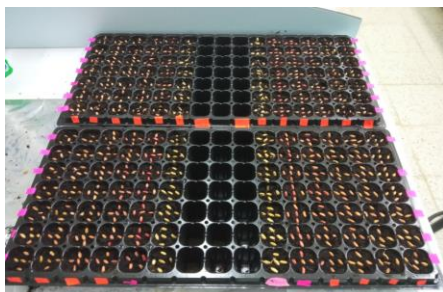
$$TG\% = \frac{\text{Nombre de graines germées}}{\text{Nombre total de grains semés}} * 100$$



**Figure 61** : Test de germination

**IV.1.5 Influence des traitements sur la croissance et la vigueur des plantules**

L'essai en terreau est réalisé dans des barquettes en plastique comportant des alvéoles (**Fig. 62**). Cinq graines sont semées par alvéole avec sept répétitions par traitement. Les plantes sont laissées à incuber pendant 15 jours, avec un arrosage tous les trois jours. Les plantules qui ont poussé, sans déformation ni dommage, sont soigneusement prélevées du terreau et rincées à l'eau distillée pour enlever les résidus de terre (**Fig. 63**). Les longueurs des tiges et des racines des plantules sont ensuite mesurées avec une règle graduée en cm.



**Figure 62 :** Semence de graines de blé



**Figure 63 :** Récupération des plantules

Pour comparer les effets des traitements sur la croissance de chaque variétés, les mesures des LR<sub>s</sub> et LT<sub>s</sub> sont converties en pourcentages d'inhibition. Les conversions sont effectuées selon la formule utilisée par **Benmeddour (2009)** et **Dhima et al., (2006)** :

$$I \% = [(Témoin - Extrait) / Témoin] \times 100$$

**I %:** Pourcentage d'inhibition

**Témoin :** Moyenne des répétitions du témoin

**Extrait :** Pourcentage de la longueur des LT<sub>s</sub> et LR<sub>s</sub>

**IV.1.6 Teneur moyenne en eau des parties racinaires et aériennes**

Les tiges des plantules obtenues sont séparées des racines à l'aide d'un ciseau, puis placées dans des boîtes de Pétri en verre individuellement. Les boîtes sont ensuite transportées dans une étuve à 45°C pendant 5h. Le poids des boîtes est pris avant et après le séchage afin de déterminer la teneur moyenne en eau (TME %) qui est exprimée selon la formule de **Monneveu (1991)** :

$$TME(\%) = (PF - PS / PF) * 100$$

**PF :** Poids frais des racines ou des tiges

**PS :** Poids sec des racines ou des tiges

**IV.1.7 Analyse des résultats**

Touts les résultats sont exprimés en pourcentages sous la forme de Moyenne ±écart type. Les traitements sont comparés pour leur signification à l'aide des tests d'Anova. Les comparaisons des moyennes sont réalisées à l'aide des tests statistiques de Dunnett et Tukey.

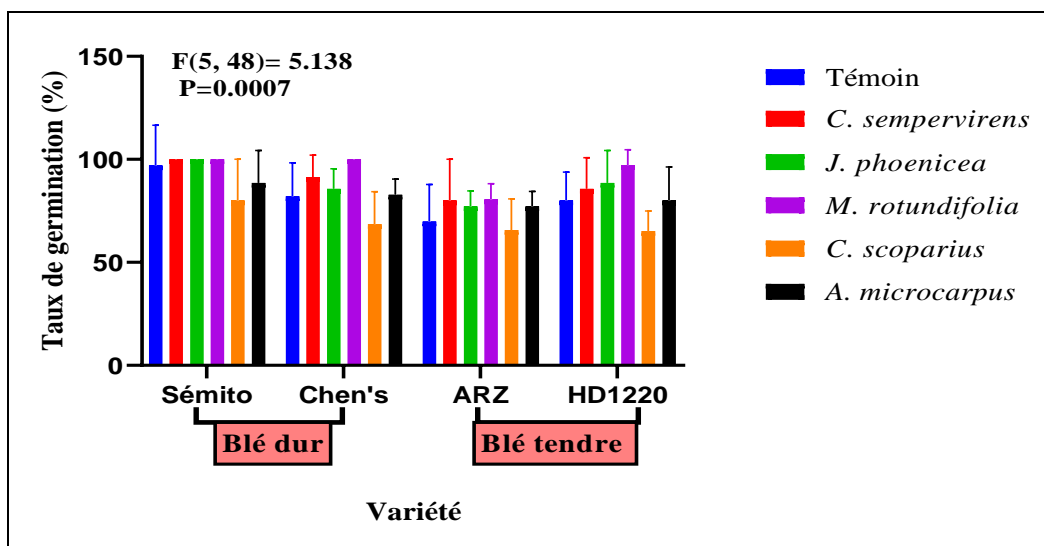
**IV.2 Résultats et discussion**

**IV.2.1 Taux de germination**

Les taux de germination des variétés de blé dur (Sémito et Chen's) et blé tendre (ARZ et HD 1220) traitées avec les extraits aqueux, huiles essentielles et produits chimiques (Tébuconazole et Pirimiphos-methyl) sont comparés aux taux de germination des blés non traités. Les résultats sont illustrés graphiquement dans les **figures 64 ,65 et 66**.

Le taux de germination des différentes variétés de blé traitées et les témoins était supérieur à 50%, avec le développement d'une radicule et d'une tigelle pour toutes les graines. Les résultats des tests de germination des échantillons traités avec les extraits aqueux des plantes étaient similaires à ceux des échantillons témoins. Néanmoins, l'application de l'extrait aqueux des gousses de *C. scoparius* a entraîné une diminution significative du taux de germination des graines (**Fig. 64**).

Le pourcentage de germination exprimé par le nombre des graines germées par rapport au nombre total des graines semées était de 80,0 ±20,0% à 100, ±0,0% pour le *C. sempervirens*, 77,14 ±7,55% à 100,0 ±0,0% pour le *J. phoenicea*, 80,6 ±7,5% à 100,0 ±0,0% pour la *M. rotundifolia*, 65,14 ±9,75% à 80,0 ±20,0% pour le *C. scoparius* et 77,4 ±7,35% à 88,57 ±15,7% pour l'*A. microcarpus*.

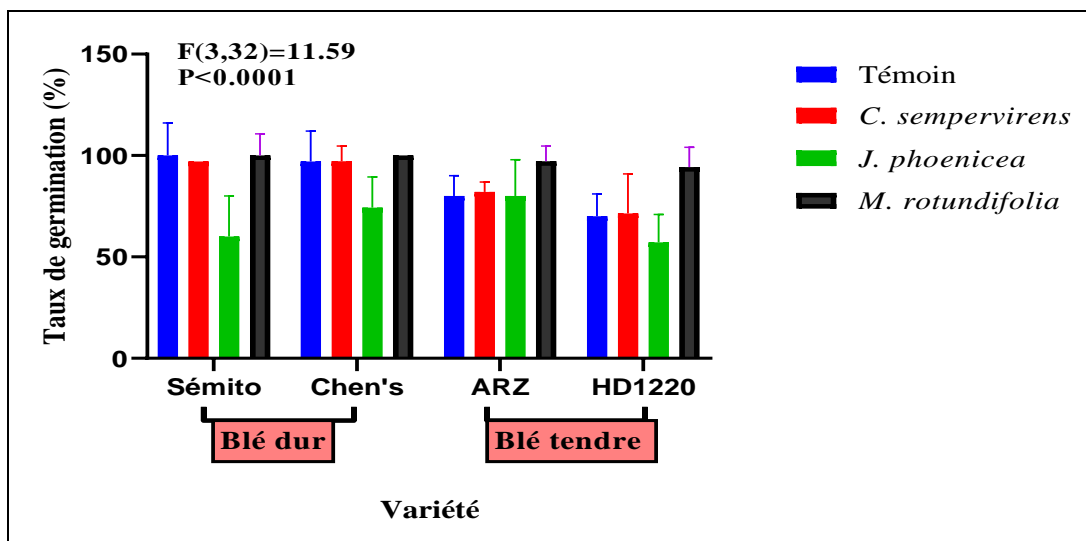


**Figure 64** : Taux de germination des variétés de blé traitées aux extraits aqueux

#### Chapitre IV Effet des traitements sur la germination des graines et sur la croissance des plantules

L'effet des huiles essentielles sur le taux de germination comparées aux témoins est résumé dans la **figure 65**. D'une manière générale, les taux de germination ont varié selon la variété de 71,42 ±19,51% (HD 1220), 82,0 ±4,89% (ARZ), 97,14 ±7,55% (Chen's) et 97,0 ±0,0% (Sémito) pour le *C. sempervirens*, de 60,0 ±20,0% (Sémito), 74,28 ±15,11% (Chen's), 57,14 ±13,8% (HD 1220), 80 ±17,99% (ARZ) pour le *J. phoenicea*, et de 94,28 ±9,75% (HD 1220), 100,0 ±0,0% (Sémito), 100,0 ±0,0% (Chen's), 97,14 ±7,55% (ARZ) pour la *M. rotundifolia*.

Le traitement des semences aux huiles essentielles des espèces végétales étudiées, n'a pas entraîné des effets significatifs sur leurs taux de germination comparativement aux témoins, à l'exception de l'huile essentielle de *J. phoenicea* qui a influencé sur les paramètres de germination uniquement de la variété de blé dur « Sémito ».



**Figure 65** : Taux de germination des variétés de blé traitées aux huiles essentielles

Les résultats montrent que le traitement au Tébuconazole a entraîné des taux de germination supérieurs par rapport aux valeurs témoins, indiquant que les effets de ce fongicide sont moins néfastes sur la germination que ceux du pirimiphos-methyl, un insecticide qui a également réduit significativement ( $P < 0,0001$ ) le taux de germination des graines de blé comparativement aux témoins non traités. En examinant les résultats de la **figure 66**, il est noté que le traitement des semences avec le Tébuconazole a augmenté le taux de germination par rapport aux témoins non traités.

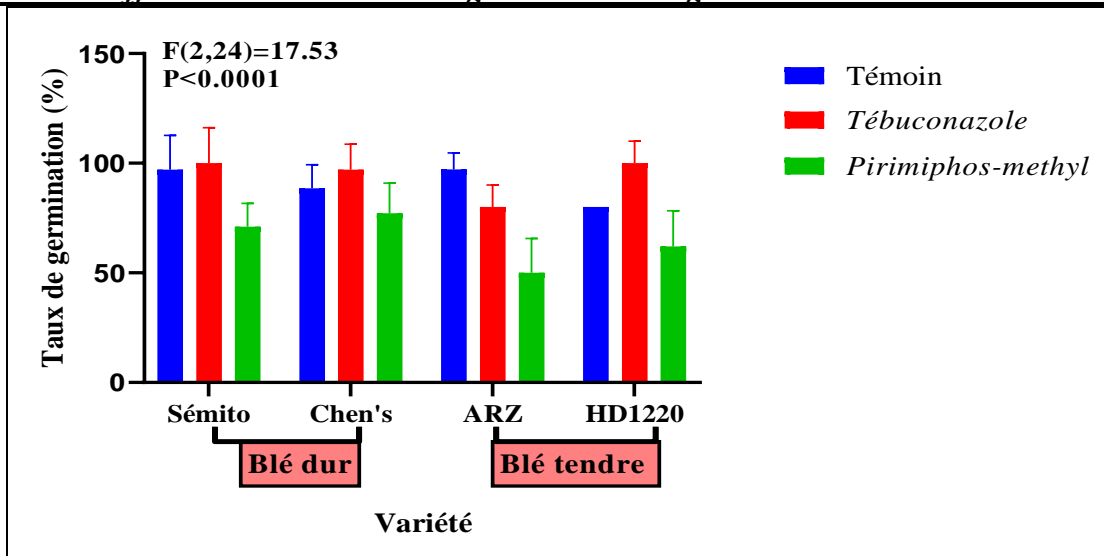


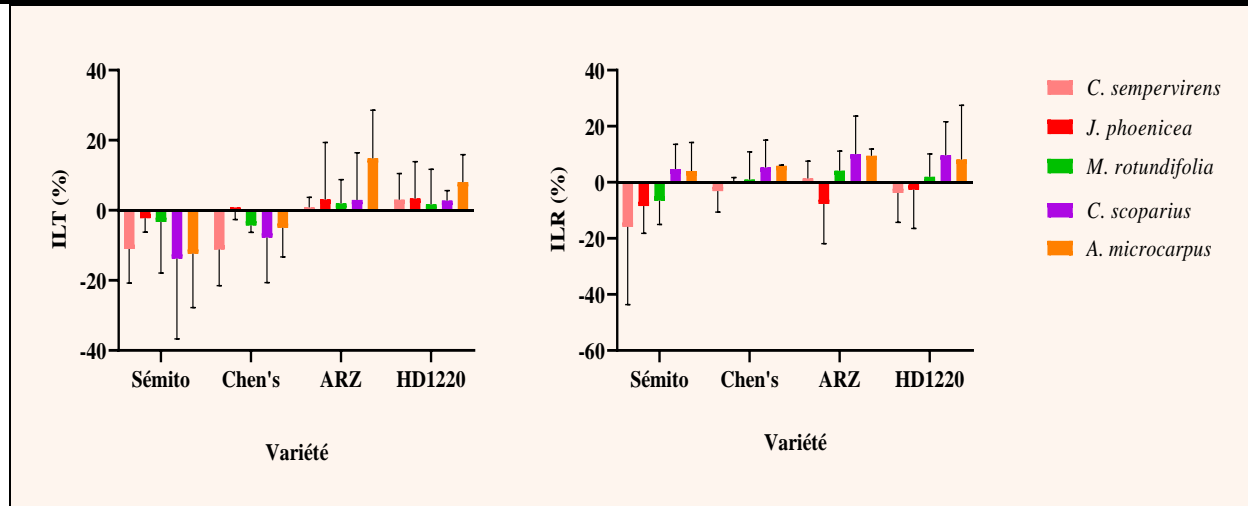
Figure 66 : Taux de germination des quatre variétés de blé traitées aux Tébuconazole et Pirimiphos-methyl

#### IV.2.2 Influence sur la croissance des plantules

Les résultats d'inhibition de la croissance des tiges (ILT) et des racines (ILR) exprimés en pourcentage (%), sont retranchés des valeurs témoins. Les illustrations graphiques des taux de réduction ou d'augmentation par rapport aux témoins sont présentées dans les figures 67, 68 et 69.

La figure 67 montre que la croissance des tiges dans le cas des traitements avec les extraits aqueux a présenté une augmentation de la longueur des semences de blé dur (Sémito et Chen's) par rapport aux semences témoins. En revanche, les tiges des semences de blé tendre (ARZ et HD 1220) ont présenté des longueurs légèrement inférieures à celles des témoins. Les inhibitions de la croissance des tiges les plus élevées sont enregistrées avec l'extrait de *J. phoenicea* avec des valeurs de  $3,34 \pm 10,57\%$  (pour ARZ) et  $3,08 \pm 16,3\%$  (pour HD 1220) et avec l'extrait d'*A. microcarpus* de  $14,84 \pm 13,74\%$  (ARZ) et  $8,06 \pm 7,83\%$  (HD 1220).

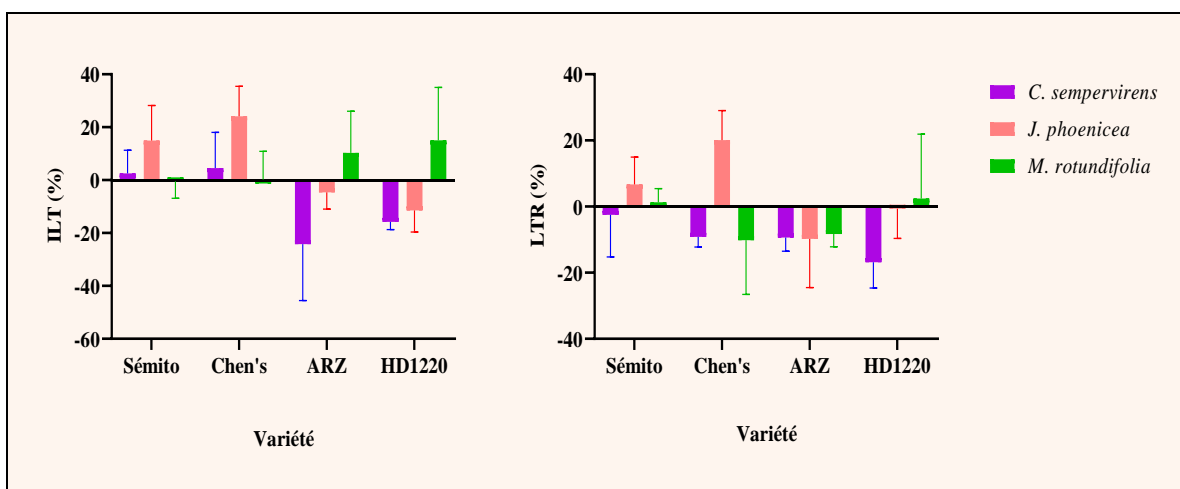
Dans le cas des racines, les inhibitions des longueurs étaient variantes selon l'extrait végétal (Fig. 67), mais il est à noter que ces taux ne dépassent pas les 10%. Les extraits aqueux de *C. scoparius* et d'*A. microcarpus* ont provoqué des inhibitions selon la variété de  $4,68 \pm 8,9\%$  à  $10,0 \pm 13,4\%$  et de  $4,02 \pm 10,18\%$  à  $9,44 \pm 2,44\%$  respectivement.



**Figure 67 :** Pourcentage d'inhibition de la longueur des tiges (ILT) et des racines (ILR) rapporté pour les semences traitées par les extraits végétaux.

Contrairement aux résultats des extraits aqueux, les semences de blé dur semble plus sensibles à l'huile essentielle de *J. phoenicea*, en provoquant une inhibition de  $24,16 \pm 11,33$  % (pour la variété Sémito) et de  $14,93 \pm 13,29\%$  (pour la variété Chen's). Cependant, des taux d'inhibitions de  $10,25 \pm 15,8\%$  et de  $15,07 \pm 20,01\%$  sont notés chez les semences de blé tendre des variétés ARZ et HD 1220 respectivement (**Fig. 68**).

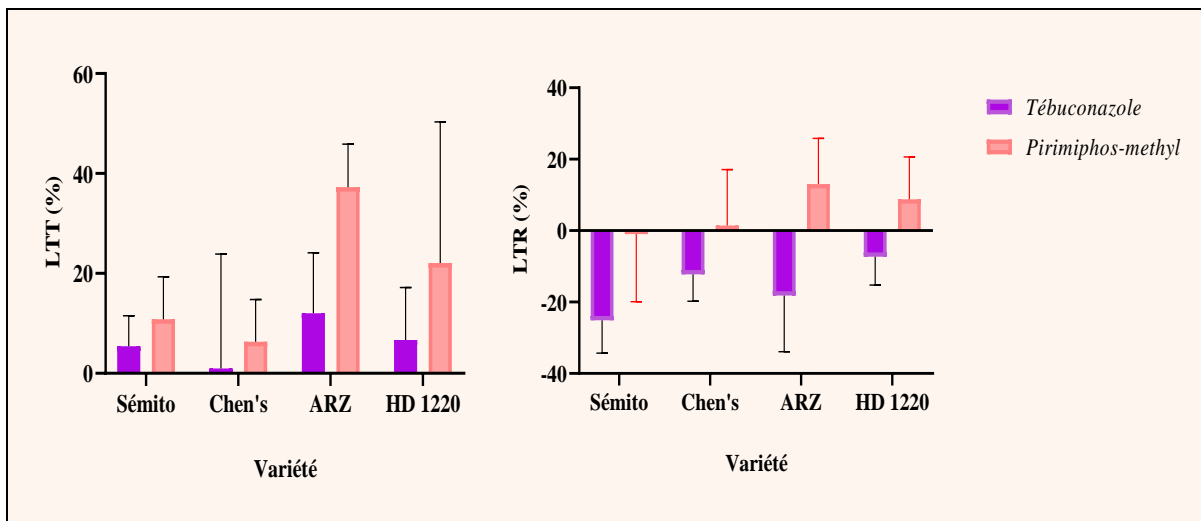
D'autre part, la majorité des racines des semences n'ont pas été influencées par les huiles essentielles, à l'exception des variétés de Sémito et Chen's qui ont présenté des taux d'inhibitions de  $6,72 \pm 8,27\%$  et  $20,13 \pm 8,9\%$  par ordre au fait de traitement par l'huile essentielle de *J. phoenicea* (**Fig. 68**).



**Figure 68 :** Pourcentage d'inhibition de la longueur des tiges (ILT) et des racines (ILR) rapporté pour les semences traitées par les huiles essentielles.

#### **Chapitre IV Effet des traitements sur la germination des graines et sur la croissance des plantules**

Selon la **figure 69**, l'application de fongicide (Tébuconazole) et d'insecticide (Pirimiphos-methyl) a entraîné des taux d'inhibition au niveau des longueurs de tiges des deux variétés de blé tendre avec des pourcentages importants de  $37,29 \pm 8,6\%$  (ARZ) et  $22,09 \pm 28,23\%$  (HD 1220). En contrepartie, la croissance des racines de semences n'est pas impactée par les produits chimiques.



**Figure 69** : Pourcentage d'inhibition de la longueur des tiges (ILT) maximal rapporté pour les semences traitées par le Tébuconazole et le Pirimiphos-methyl

#### **IV.2.3 Teneur moyenne en eau des parties racinaires et aériennes des variétés**

L'étude évalue l'impact des extraits végétaux, huiles essentielles et produits chimiques sur la teneur en eau des parties aériennes et racinaires des plantules de variétés de blé dur et blé tendre. Les plantules traitées et les témoins sont cultivés pendant 15 jours sous des conditions contrôlées.

Selon la **figure 70**, les teneurs en eau diffèrent entre les cinq extraits aqueux utilisés. Les taux les plus élevés sont enregistrés chez les variétés traitées par l'extrait aqueux de *C. sempervirens*, avec des taux de  $12,33 \pm 0,01\%$  (Sémito),  $12,8 \pm 0,02\%$  (Chen's),  $10,11 \pm 0,2\%$  (ARZ) et  $6,5 \pm 0,01\%$  (HD 1220), ainsi que chez les variétés mises en contact avec l'extrait d'*A. microcarpus*, avec des taux de  $10,15 \pm 0,8\%$  (Sémito),  $13,9 \pm 0,6\%$  (Chen's),  $8,35 \pm 0,3\%$  (ARZ) et  $7,88 \pm 0,44\%$  (HD 1220).

En ce qui concerne les parties racinaires des plantules, tous les taux sont proches et s'étalent entre  $2,2 \pm 0,09\%$  à  $4,40 \pm 0,23\%$  (*C. sempervirens*),  $3,07 \pm 1,6\%$  à  $4,58\%$  (*J. phoenicea*),  $2,36 \pm 0,1\%$  à  $5,12 \pm 0,23\%$  (*M. rotundifolia*),  $2,3 \pm 0,02\%$  à  $4,66 \pm 0,12\%$  (*C. scoparius*), et entre  $1,75 \pm 0,4\%$  à  $3,71 \pm 0,03\%$  (*A. microcarpus*).

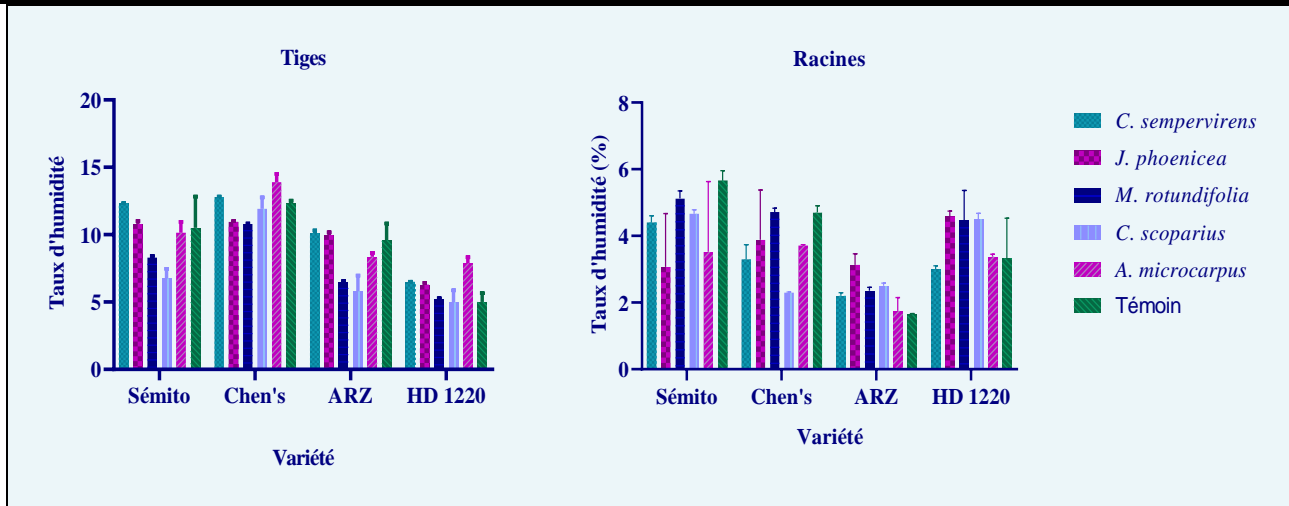


Figure 70 : Teneur en eau des plantules de blé dur et blé tendre, témoin et traitées au extraits aqueux des plantes

Les teneurs en eau des plantules traitées aux huiles essentielles sont illustrées dans la **figure 71**. Les meilleurs taux sont notés pour les plantules du blé tendre, dont les teneurs en eau des parties aériennes sont variantes de  $9,08 \pm 0,09$  à  $11,66 \pm 0,3\%$  (*C. sempervirens*),  $4,55 \pm 0,32$  à  $8,25 \pm 0,5\%$  (*J. phoenicea*), et de  $6,9 \pm 0,21$  à  $10,9 \pm 0,22\%$  (*M. rotundifolia*). En revanche, les teneurs des parties racinaires étaient plus au moins différentes et s'étalent de  $2,02 \pm 0,6$  à  $4,78 \pm 0,18\%$ , de  $2,07 \pm 0,02$  à  $3,74 \pm 0,3 \%$ , et de  $2,13 \pm 0,33$  à  $4,03 \pm 0,02\%$  chez les plantules issues des semences traitées par les huiles essentielles de *C. sempervirens*, *J. phoenicea* et *M. rotundifolia*, respectivement.

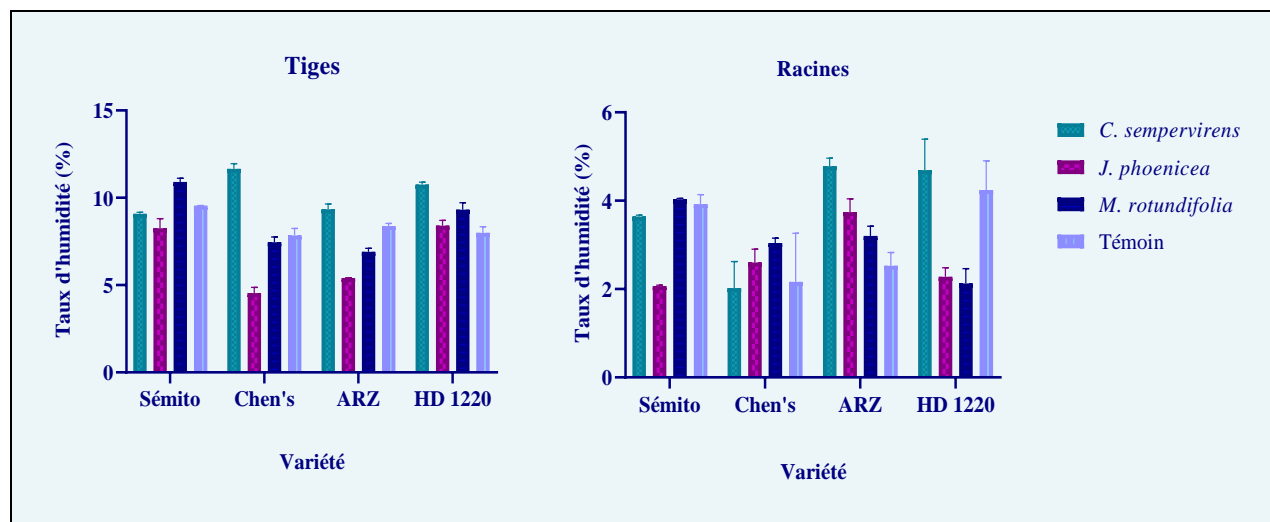
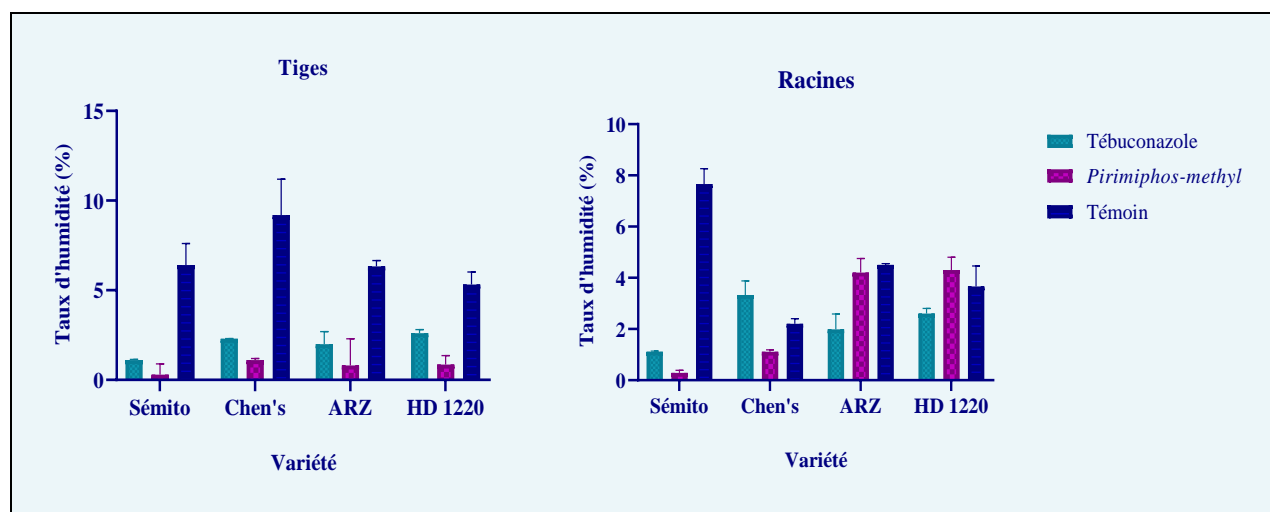


Figure 71 : Teneur en eau des plantules de blé dur et blé tendre, témoin et traitées aux huiles essentielles des plantes

#### Chapitre IV *Effet des traitements sur la germination des graines et sur la croissance des plantules*

Les résultats de la **figure 72** mettent en évidence des teneurs en eau des tiges et des racines de plantules inférieures à celles des témoins pour. En effet, les taux vont de  $1,11 \pm 0,03\%$  à  $2,6 \pm 0,2\%$  (tiges) et de  $1,11 \pm 0,03\%$  à  $3,33 \pm 0,55\%$  (racines) pour le fongicide Tébuconazole, et de  $0,29 \pm 0,6 \%$  à  $1,11 \pm 0,08 \%$  (tiges) et de  $0,29 \pm 0,1\%$  à  $4,3 \pm 0,5\%$  (racines) pour l'insecticide Pirimiphos-methyl.

L'analyse de la variance révèle une différence très hautement significative ( $P < 0,05$ ) du facteur matière active, et le test de comparaison des moyennes des teneurs des plantules traitées par rapport aux plantules témoins confirme les résultats selon lesquels les produits chimiques appliqués ont des effets négatifs sur les taux d'humidité des plantules.



**Figure 72 :** Teneur en eau des plantules de blé dur et blé tendre, témoin et traitées au Tébuconazole et au Pirimiphos-methyl

Ce chapitre a pour objectif d'étudier l'impact des extraits aqueux, des huiles essentielles ainsi que de deux pesticides chimiques, à savoir le fongicide Tébuconazole et l'insecticide Pirimiphos-methyl, sur différentes variétés de blé dur (Sémito et Chen's) et de blé tendre (ARZ et HD 1220). L'objectif principal de cette étude est d'observer la germination des semences et les premiers stades de croissance des plantules.

Les résultats obtenus laissent supposer que la plupart des extraits aqueux utilisés pour cette étude ne présentent aucun effet sur les différents paramètres de germination et de croissance de la majorité des variétés testées. Ces observations sont en accord avec celles de **Dabiré (2004)** qui a trouvé que le traitement des semences avec l'extrait aqueux des feuilles de Citronnelle et d'Eucalyptus, n'a pas entraîné des effets significatifs sur les taux de germination comparativement aux témoins absolus. Par contre, l'application de l'extrait aqueux de *S. longepedunculata* et d'*E. alba* sur les semences de mil a

#### **Chapitre IV Effet des traitements sur la germination des graines et sur la croissance des plantules**

fait baisser significativement leur taux de germination. En revanche, l'extrait aqueux des feuilles de *Calotropis procera* a sensiblement augmenté le taux de germination des semences par rapport aux témoins non traités.

Par ailleurs, les résultats de **Melakhessou et al., (2018)** ont montré que le taux de réduction de la germination augmentait avec l'augmentation de la concentration des extraits aqueux (20 g/l, 30 g/l et 40 g/l) de *Cynodon dactylon* L. De même, **Waheed Murad et al., (2016)** ont signalé que l'augmentation de la concentration de l'extrait aqueux de l'espèce *Silene villosa* entraînait un effet inhibiteur sur la germination, la longueur des racines et des pousses de blé. Nos résultats sont cohérents avec ces précédents travaux et confirment que l'effet des extraits dépend de leur concentration.

Dans une étude récente menée par **Ebrahimifar et al., (2021)**, l'effet inhibiteur de l'huile essentielle de *F. angulata* sur la germination du blé a démontré que la germination des graines n'est pas affectée par les concentrations testées. En revanche, **Liu et al., (2006)** ont constaté que les huiles essentielles d'*A. princeps* et de *C. camphora* présentaient une toxicité sur la germination des graines de blé.

D'après **Benarab (2021)** et **Zheljzakov et al., (2021)**, les différents effets des huiles essentielles sur la germination des graines et sur le développement des plantules, peuvent être expliqués par la nature physico-chimique et la concentration de l'huile essentielle. D'ailleurs, les auteurs **Nishida et al., (2005)** et **Singh et al., (2006)** ont rapporté que l'exposition aux composants chimiques tels que le pinène, b-pinène, 1,8-cinéol et le camphre a empêché l'élongation des racines de *Brassica campestris* en inhibant la prolifération cellulaire dans les méristèmes apicaux des racines et diminuait l'indice mitotique.

Une huile essentielle est un mélange de nombreux composés présents en proportions différentes. Par conséquent, l'effet d'une huile essentielle sur la germination des graines et la croissance des semis dépend également des interactions entre ces composés. De plus, à mesure que la concentration varie, la dominance relative de ces composés change, ce qui détermine ainsi les propriétés globales de l'huile essentielle (**Chou et al., 2003 ; Darabi et al., 2011 ; Yun et Choi, 2002**).

Ces résultats suggèrent que l'effet des huiles essentielles sur la germination du blé dépend de leur composition chimique et de leur concentration, ainsi que du temps d'exposition. Néanmoins, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre leurs effets pour déterminer les concentrations et les méthodes d'application optimales.

#### **Chapitre IV Effet des traitements sur la germination des graines et sur la croissance des plantules**

L'analyse de la variance a révélé des effets hautement significatifs des pesticides sur l'ensemble des paramètres de germination des semences, de la croissance des plantules ainsi que des teneurs en eau. Les résultats ont révélé que le fongicide Tébuconazole a stimulé la germination des semences, cependant l'insecticide Pirimiphos-methyl appliqué a provoqué des inhibitions considérables au cours de la présente expérimentation. Des résultats pareils sont dévoilés par les pesticides (Captaf, Bavistin, Blitox, Sitara et Domarck) appliqués dans l'étude de **Dhanamanjuri et al., (2013)** qui ont montré un effet inhibiteur ainsi qu'un effet favorisant de la germination et de la croissance des semis de la racicule et de la plumule de *Cicer arietinum* et *Zea mays*.

Des estimations sémilaires sont trouvées chez **Rangwala et al., (2013)** lors de l'application du fongicide Carbendazim à des concentrations élevées, qui a amélioré la germination des grains de blé. Ces résultats sont en accord avec ceux déterminés par **Taye et al., (2013)** qui ont montré que les traitements de semences avec certains fongicides pouvaient accélérer leur germination.

L'utilisation continue et répétée de familles identiques de fongicides peut avoir des effets indésirables sur les plantes, qui se manifestent par des signes visibles sur la germination, y compris un ralentissement de la croissance et une perturbation de l'activité biochimique, en particulier la synthèse des glucides et des acides aminés (**Borjiba et Ketif, 2009 ; Dhanamanjuri et al., 2013**).

Les concentrations élevées de certains pesticides chimiques nécessitent plus de temps pour se dégrader et des rapports montrent que des concentrations plus élevées de pesticides ont des effets nocifs sur les divers paramètres de croissance des plantes (**Dhanamanjuri et al., 2013 ; Foster et al., 1980 ; Reyes, 1975**).

Les résultats ont souligné également que les différentes variétés de blé présentent des différences dans leur sensibilité aux extraits aqueux, huiles essentielles et pesticide utilisés. En effet, chaque variété possède une composition génétique unique qui peut influencer sa réponse aux stress environnementaux. D'après **Prasad (1995)** et **Zhu (2001)**, l'inhibition de la production d'auxines traduisant une perturbation de l'élongation des méristèmes ce qui provoque une réduction de l'allongement des racines. Egalement, les problèmes de croissance peuvent être dus à la conservation de l'énergie par le système umminitaire du végétal pour la défense et pour réduire les risques de dommages. Selon **Aya et al., (2011)**, les variations des taux de la germination des semences dépend essentiellement de leurs qualités physiques, physiologiques et sanitaires, ainsi que les conditions de stockage.



# *Conclusion*

---

**Conclusion**

Dans le cadre de recherche de substances naturelles biologiquement actives, les espèces locales traditionnellement utilisées dans la médecine thérapeutique sont choisies. Les essences appartiennent aux familles des Lamiaceae: *Mentha rotundifolia* (L.) Huds, des Cupressaceae : *Cupressus sempervirens* L. et *Juniperus phoenicea* L., ainsi que les Fabaceae : *Cytisus scoparius* L. et les Asphodelaceae : *Asphodelus microcarpus* Salzm& Viv. Elles sont récoltées de stations à différentes altitudes de la région de Bouira. Les extraits de ces plantes sont utilisés pour rechercher leurs effets insecticides et antifongiques dans la présente étude.

Cette recherche consiste à analyser quantitativement certains métabolites secondaires à savoir les polyphénols, les flavonoides, et les tanins hydrolysables et condensés, ainsi que des huiles essentielles. L'objectif de ce travail était de comparer les rendements secs d'extraction et les teneurs en métabolites secondaires obtenus par quatre solvants de différentes polarités tels que l'hydro-méthanolique, l'hydro-éthanolique, l'hydro-acétonique (Dilués à 50%) et aqueux. Chaque extrait de plante est préparé par deux méthodes d'extractions à savoir la macération et l'extraction assistée aux Ultrasons.

A la lumière des résultats obtenus, il est clair que la technique d'extraction et les solvants utilisés ont une incidence sur la teneur en constituants métabolites secondaires. Les solvants hydro-acétoniques et hydro-méthanoliques semblent être les plus recommandés et efficaces pour atteindre des niveaux considérables de composés bioactifs. De plus, les extractions assistées aux Ultrasons peuvent être une alternative viable aux méthodes d'extraction conventionnelles, dans le but d'économiser le temps et l'énergie consommée.

La mise en évidence de différentes classes des métabolites secondaires constituant les plantes permet d'obtenir une meilleure compréhension de leurs activités biologiques potentielles. Les extraits analysés ont présenté des taux élevés de composés phénoliques ainsi que des rendements satisfaisants en huiles essentielles qui sont généralement des composés actifs. Par conséquent, les extraits obtenus étaient utilisés pour divers tests insecticides et antifongique.

La présente étude a permis d'évaluer l'activité insecticide des extraits phénoliques hydro-méthanolique, hydro-ethanolique, hydro-acétonique, et aqueux préparés par deux méthodes d'extraction à partir d'un ensemble de plante récoltées à la région de Bouira sur différents sites.

Il est important de souligner que les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité insecticide par contact avec les extraits phénoliques ont prouvé clairement que leurs efficacités sont influencées par la méthode d'extraction ainsi que par le solvant d'extraction utilisé. Les extraits hydro-méthanoliques et hydro-acétoniques obtenus par l'extraction assistée aux Ultrasons ont présenté les pourcentages de mortalité les plus élevés. Ces deux types d'extrait ont donné les meilleures teneurs en composés phénoliques, cela permet de confirmer que l'activité insecticide des extraits est en corrélation positive avec la richesse en métabolites secondaires en particulier les polyphénols.

Par ailleurs, les huiles essentielles issues des feuilles de la *M. rotundifolia*, *C. sempervirens* et *J. phoenicea* sont testées pour leurs effets insecticides. Les résultats obtenus ont montré que ces huiles essentielles présentaient un pouvoir insecticide qui a donné des pourcentages de mortalité considérables chez les adultes de *R. dominica* et *T. castaneum*. Cependant ce dernier s'est avéré le plus tolérant face aux huiles essentielles par rapport aux capucins des grains. Des valeurs importantes de CL<sub>50</sub> sont estimées pour les huiles essentielles de *M. rotundifolia* (12,3 µl/ml), *J. phoenicea* (3,74 µl/ml) et *C. sempervirens* (16,1µl/ml) chez les adultes de *R. dominica*.

Les huiles essentielles des espèces aromatiques *M. rotundifolia*, *C. sempervirens* et *J. phoenicea* testées pour leur effet insectifuge ont montré une activité répulsive très importante aux différentes concentrations employées.

L'utilisation d'extraits végétaux et des huiles essentielles comme alternative aux insecticides synthétiques dans les endroits de stockage peut contribuer à réduire l'usage de produits chimiques et, par conséquent, diminuer les effets indésirables tels que les résidus, la résistance et la pollution environnementale.

La détermination de l'activité antifongique est réalisée sur la souche fongique *F. verticillioides* obtenue après une série de purification et une identification microscopique. Les tests sont effectués par la méthode de dilution en milieu gélose. Les résultats montrent que la croissance mycélienne variait en fonction de temps et de concentrations introduites.

Les extraits végétaux de *Mentha rotundifolia*, *Juniperus phoenicea* et *Cytisus scoparius* se sont révélés les plus efficaces contre le *F. verticillioides* avec des pourcentages allant jusqu'à 70% et 80%. Pour la plupart de ces espèces végétales, les extraits hydro-acétoniques et hydro-méthanolique ont présenté les plus fortes inhibitions de la souche fongique étudiée.

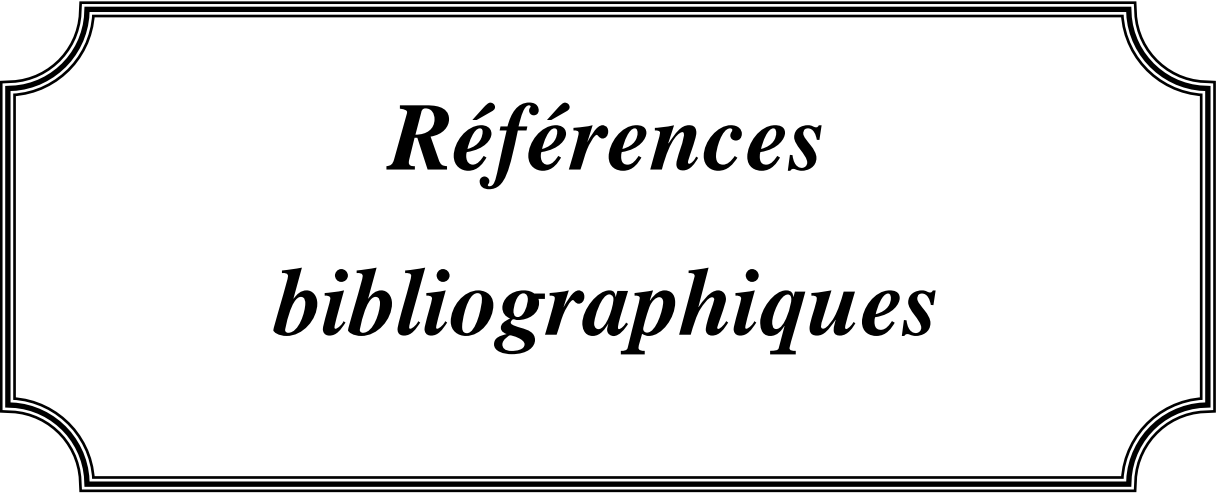
## Conclusion

Les huiles essentielles de *M. rotundifolia*, *C. sempervirens* et *J. phoenicea* ont montré une activité fongicide importante à des concentrations faibles avec des taux de  $83,75 \pm 9,3\%$ ,  $55,86 \pm 7,03\%$  et  $60,35 \pm 1,5\%$  respectivement. La différence de la sensibilité de la souche fongique aux huiles essentielles peut être due à certains facteurs, à savoir la dose appliquée, le solvant et la méthode d'extraction utilisés pour la préparation des extraits phénoliques.

Les huiles essentielles de *M. rotundifolia*, *C. sempervirens* et *J. phoenicea* de différentes concentrations sont testées pour leurs effets sur la germination des graines et la croissance des plantules de quatre variétés de blé stockées à la CCLS de Bouira (blé dur et blé tendre) sous les conditions de laboratoire. Les extraits aqueux ainsi que les huiles essentielles testés n'ont pas présenté une activité inhibitrice significative de la germination des graines ou sur la croissance aérienne et racinaire par rapport aux semences traitées par le fongicide « Tébuconazole » et l'insecticide « Pirimiphos-methyl ».

A l'issue de ce travail, de nombreuses réflexions et recommandations sous forme perspectives de recherche peuvent être dégagées dans le but de poursuivre cette étude et d'une bonne exploitation des résultats obtenus, de ce fait il serait intéressant de :

- Réaliser des études approfondies et des investigations supplémentaires pour développer un modèle mathématique permettant de contrôler et de prédire l'optimisation des paramètres du processus d'extraction verte pour améliorer le rendement des extraits végétaux bruts avec des activités insecticides et antifongiques intéressantes.
- Déterminer par des modèles numériques les conditions optimales de récolte des plantes afin d'obtenir des rendements élevés en extraits utiles.
- Etablir la composition chimique des extraits phénoliques et des huiles essentielles étudiés et évaluer l'activité insecticide des composés majeurs sur le *Rhyzpertha dominica* (F.) et *Tribolium castaneum* Herbst.
- Exploiter d'autres activités biologiques de ces espèces végétales.
- Déterminer le mécanisme d'action de ces différents extraits et de ces huiles essentielles sur la cible.
- Evaluer les effets synergiques ou antagonistes des huiles essentielles et des extraits bruts insecticide et antifongique.



*Références  
bibliographiques*

**Références bibliographiques**

1. **Abbott, W.S. (1925).** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. econ. Entomol*, 18, 265-267.
2. **Abdelgaleil, S.A.M., Gad, H.A., Ramadan, G.R., El-Bakry, A.M., El-Sabrou, A.M. (2021).** Monoterpenes: chemistry, insecticidal activity against stored product insects and modes of action—a review. *International Journal of Pest Management*, 1-23.
3. **Abdelillah, A., Houcine, B., Halima, D., et al., (2013).** Evaluation of antifungal activity of free fatty acids methyl esters fraction isolated from Algerian *Linum usitatissimum* L. seeds against toxigenic *Aspergillus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(6), 443-448.
4. **Abou-Taleb, H.K., Mohamed, M.I., Shawir, M.S., Abdelgaleil, S.A. (2016).** Insecticidal properties of essential oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. *Natural product research*, 30, 710-714.
5. **Abu-Darwish, M., Gonçalves, M., Cabral, C., Cavaleiro, C., Salgueiro, L. (2013).** Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Juniperus phoenicea subsp. phoenicea* berries from Jordan. *Acta alimentaria*, 42(4), 504-511.
6. **Achat, S. (2013).** Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métallique. Thèse de doctorat. Ecole Doctorale, d'Avignon. 211p.
7. **Adjalian, E., Noudogbessi, J., Kossou, D., & Sohounhloue, D. (2014).** État et perspectives de lutte contre *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1789), déprédateur des céréales au Bénin: synthèse bibliographique. *Journal of Applied Biosciences*, 79, 6955-6967.
8. **AFNOR, (1980).** Association Française de Normalisation, Tour Europe, Cedex 7-92080, Paris.
9. **Aidani, H. (2015).** Effet des attaques de Capucin des grains (*Rhizopertha dominica*) sur les céréales stockées. « Estimation sur la perte pondérale et le pouvoir germinatif Cas de blé dur dans la région de Tlemcen » thèse de magister. 82p.
10. **Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., Rafael, P., Conchello, P. (2012).** Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. *Food Research International*, 45(1), 313-319.
11. **Akter, R., Chowdhury, M.A., Rahman, M.H. (2021).** Flavonoids and polyphenolic compounds as potential talented agents for the treatment of Alzheimer's disease and their antioxidant activities. *Current pharmaceutical design*, 27(3), 345-356.

12. Alara, O.R., Abdurahman, N.H., Ukaegbu, C.I., Azhari, N.H. (2018). *Vernonia cinerea* leaves as the source of phenolic compounds, antioxidants, and anti-diabetic activity using microwave-assisted extraction technique. *Ind Crop Prod*, 122, 533-544.
13. Ali, F., Khan, J., Zada, A., Faheem, B., Khan, I., Salman, M., Khan, K. (2019). Bio-insecticidal efficacy of botanical extracts of citronella and cinnamon against *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* and *Drosophila melanogaster* under laboratory conditions. *Fresenius Environ. Bull*, 28, 3104-3109.
14. Allenspach, M., Steuer, C. (2021).  $\alpha$ -Pinene: A never-ending story. *Phytochemistry*, 190, 112857.
15. Al-Massarani, S.M., El-Gamal, A.A., Al-Rehaily, A.J., Al-Sheddi, E.S., Al-Oqail, M.M., Farshori, N.N., Estep, A.S., Tabanca, N., Becnel, J.J., (2021). Insecticidal Activity and Free Radical Scavenging Properties of Isolated Phytoconstituents from the Saudi Plant *Nuxia oppositifolia* (Hochst.). *Molecules*, 26.
16. Ameziane, N., Boubaker, H., Boudyach, H., Msanda, F., Jilal, A., Ait Benaoumar, A. (2007). Antifungal activity of Moroccan plants against citrus fruit pathogens. *Agro. Sustain. Dev.* 27, 273-277.
17. Amoabeng B.W. *et al.*, 2013. Tri-trophic insecticidal effects of African plants against cabbage pests. *PLoS One*, 8(10), e78651.
18. 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.
19. Aouadi, M., Msaada, K., Sebai, E., Aidi Wannes, W., Salah Abbassi, M., Akkari, H. (2021). Antioxidant, anthelmintic and antibacterial activities of red juniper (*Juniperus phoenicea* L.) essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 34, 163-172.
20. Argui, H., Youchret-Zalleza, O.B., Suner, S.C., *et al.*, (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.
21. Armengol, E.S., Harmanci, M., Laffleur, F. (2021). Current strategies to determine antifungal and antimicrobial activity of natural compounds. *Microbiological Research*, 252, 126867.
22. Atègbo, J.M., Dougnon, J.T., Déguénon, E., Sacramento, T.I., Yovo, M., Dougnon, V.T., Agbodjento, E., Klotoé, J.R. (2020). Exploration of the Chemical Potential and Antioxidant Activity of Some Plants Used in the Treatment of Male Infertility in Southern Benin. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 1-12.

23. **Aya, A.N., Irié, V.B., Patrice, L.K., Irié, A.Z. (2011).** Bases génétiques et biochimiques de la capacité germinative des graines : Implications pour les systèmes semenciers et la production alimentaire. *Sciences et Nature*, 8(1). 119-137.
24. **Azaza, N.A., Hamed, S.S., Kenawy, T.A. (2019).** Chemical studies on cypress leaves (*Cupressus sempervirens*) and their activity as antimicrobial agents. *Al-Azhar Journal of Agricultural Research*, 44(2), 100-109.
25. **Badiaga, M. (2012).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Mali.
26. **Baliyarsingh, B., Mishra, A., Rath, S. (2020).** Evaluation of insecticidal and repellency activity of leaf extracts of *Andrographis paniculata* against *Tribolium castaneum* (red flour beetle). *International Journal of Tropical Insect Science*, 41, 765-773.
27. **Barnawi, I.O., Nasr, F.A., Noman, O.M. et al., (2021).** Induction of apoptosis and cell cycle arrest by chloroform fraction of *Juniperus phoenicea* and chemical constituents analysis. *Open Chemistry*, 19, 119-127.
28. **Barrero, A.F., Herrador, M.M., Arteaga et al., (2006).** Chemical composition of the essential oil from the leaves of *Juniperus phoenicea* L. from North Africa. *Journal of Essential Oil Research*, 18(2), 168-169.
29. **Basaid, K., Chebli, B., Mayad, E.H et al., (2021).** Biological activities of essential oils and lipopeptides applied to control plant pests and diseases: A review. *International Journal of Pest Management*, 67(2), 155-177.
30. **Başer, K.H.C., Kürkçüoğlu, M., Demirci, B., Özek, T., Tarımcılar, G. (2012).** Essential oils of *Mentha* species from Marmara region of Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 24(3), 265-272.
31. **Belaid, (1996).** Aspect de la céréaliculture Algérienne OPU, Alger, 207p.
32. **Benabdallah, A., Rahmoune, C., Boumendjel, M., Aissi, O., Messaoud, C., (2016).** Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6, 760-766.
33. **Benarab, H. (2021).** Effets des huiles essentielles de l'Armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso.), l'Eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill.) et le Harmel (*Peganum harmala* L.) sur la germination des graines des adventices des cultures. Thèse de doctorat. 118p.

34. **Benayed, N. (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Université de Rabat. 61p.
35. **Benlameur, Z. (2016).** Les ravageurs des denrées stockées et leur impact sur la santé humaine. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie.133p.
36. **Benmedour, T. (2009).** Etude du pouvoir allélopathique de l'Harmel (*Peganum harmala* L.), le laurier rose (*Nerium oleander* L.), et l'ailante (*Ailanthus altissima*) sur la germination de quelques mauvaises herbes des céréales. Thèse de magister. 106p.
37. **Benzahi, K. (2001).** Contribution à l'étude des flavonoides dans la plante *Cynodn dactylon* L. Mémoire de magistère. Université de Ouargla. 102p.
38. **Bettahar, F. (2016).** Conception et prototypage d'un système complet pour la surveillance du grain dans les silos de stockage. Thèse de doctorat, Université de Toulouse. 153p.
39. **Blot, N., Bernard, J.G. (2012).** Atlas illustre des Médicinales et curatives 1er Ed. De Barrée, Larue des grands R Angustinus, Paris, France. 232p.
40. **Bluma, R.V., Etcheverry, M.G. (2008).** Application of essential oils in maize grain: Impact on *Aspergillus* section Flavi growth parameters and aflatoxin accumulation. *Food Microbiology*, 25(2), 324-334.
41. **Boileau, E. (2015).** Ecotoxicologie et impact sanitaire des pesticides en réponses à l'augmentation des ravageurs amenés par les changements climatiques : Portrait, Perspectives et Recommandations. Diplôme Maitrise en environnement. Université de Sherbrooke. 81p.
42. **Bonjean, A. (2001).** Histoire de la culture des céréales et en particulier de celle du blé tendre (*Triticum aestivum* L.). *Dossier de l'environnement de l'INRA*, 21, 29-37.
43. **Bordjiba, O., Ketif, A. (2009).** Effet de Trois Pesticides (Hexaconazole, Bromuconazole et Fluazifop-pbutyl) sur quelques Métabolites Physio-Biochimiques du Blé dur : *Triticum durum*. Desf. *European J. Sci. Res*, 36 (2): 260-268.
44. **Botton, B., Breton, A., Fèvre, M., Guy, PH., Larpent, J.P., Veau, P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2<sup>ème</sup> Ed Masson collection biotechnologies, 5-10.
45. **Boufares, K. (2020).** Extraction et étude phytochimique des huiles essentielles de certaines plantes steppiques et évaluation de leur efficacité comme biopesticides. Thèse de doctorat. Université Ibn Khaldoun-Tiaret.98p.

46. **Boufenar-zaghouane, F., Zaghouane, O. (2006).** Guide des principales variétés de céréales a pailles en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). Ed. I.T.G.C. Alger, 1ère édition, 154p.
47. **Boukhaloua, A.H.A., Berrayah, M., Bennabi, F., Ayache, A., Abdeldjebar, F. (2022).** Antibacterial activity and identification by GC/MS of the chemical composition of essential oils of *Juniperus phoenicea* and *Juniperus oxycedrus* L. from Western Algeria: Tيارت province. *Ukrainian Journal of Ecology*, 12(5), 31-39.
48. **Boukhatem, M.N., Ferhat, A., Kameli, A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une*, 3(4), 1653-1659.
49. **Bounihi, A. (2016).** Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées). Thèse de doctorat. Université Rabat. 199p.
50. **Boussouf, L., Boutennoune, H., Kebieche, M., Adjeroud, N., Al-Qaoud, K., Madani, K. (2017).** Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant effects of phenolic compound from Algerian *Mentha rotundifolia* L. leaves on experimental animals. *South African Journal of Botany*, 113, 77-83.
51. **Bouzabata, A. (2015).** Contribution à l'étude d'une plante médicinale et aromatique *myrtus communis* L. Thèse de doctorat. Université Badji-Mokhtar, Annaba. 191p.
52. **Bouzouita, N., Kachouri. F., Ben Halima, M., Chaabouni, M.M. (2008).** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10 : 119-125.
53. **Bovy, A. (2004).** Modification of flavonoids biosynthesis in crop plants. *Phytochemistry*, 65, 2631- 2648.
54. **Brada, M., Bezzina, M., Marlier, M., Carlier, A., Lognay, G. (2007).** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*, 11(1).
55. **Brada, M., Bezzina, M., Marlier, M., Lognay, G., (2006).** Chemical composition of the leaf oil of *Mentha rotundifolia* (L.) from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 18, 663-665.
56. **Brahmi, F., Abdenour, A., Bruno, M., et al., (2016).** Chemical composition and in vitro antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* (L.) Huds growing in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 88, 96-105.
57. **Brahmi, F., Dahmoune, F., Kadri, N., Chibane, M., Dairi, S., Remini, H., Oukmanou-Bensidhoum, S., Mouni, L., Madani, K. (2017).** Antioxidant capacity and phenolic

content of two Algerian *Mentha* species *M. rotundifolia*, *M. pulegium* L., extracted with different solvents. *Journal of complementary & integrative medicine*, 14.

58. **Bruneton, J. (1999).** Toxic plants dangerous to humans and animals. Intercept Limited.
59. **Buchbauer, G. (2010).** Biological activités of essential oils. Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and application. *Baser, KHC, Buchbauer, G., Eds*, 2010, 235-280 p.
60. **Caron, J., Laverdière, L., Venne, J., Bélanger, R. (2006).** Recherche et développement de biopesticides et pesticides naturels à faible toxicité pour les organismes non ciblés et respectueux de l'environnement-Rapport final-Volet Phytopathologie. *Projet PARDE*. 278p.
61. **Carré, P. (1953).** Précis de technologie et de chimie industrielle. Tome 3. Ed. Ballière J.B. et Fils. Paris. France.
62. **Carvalho, R.S., Carollo, C.A., De Magalhães, J.C., et al., (2018).** Antibacterial and antifungal activities of phenolic compound-enriched ethyl acetate fraction from *Cochlospermum regium* (mart. Et. Schr.) Pilger roots: mechanisms of action and synergism with tannin and gallic acid. *South African Journal of Botany*, 114, 181-187.
63. **Castillo, F., Hernandez D., Gallegos, G., Mendez, M., Rodriguez, R., Reyes A., Aguilar, C.N. (2010).** *In vitro* antifungal activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against *Rhizoctonia solani* Kuhn *Ind. Crop. Prod.* 2010, 32, 324-328.
64. **Chaouche, T.M., Haddouchi, F., Atik-Bekara, F., et al., (2015).** Antioxidant, haemolytic activities and HPLC–DAD–ESI–MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Industrial Crops and Products*, 64, 182-187.
65. **Chassagne, F., Samarakoon, T., Porras, G., Lyles, J.T., Dettweiler, M., Marquez, L., Salam, A.M., Shabih, S., Farrokhi, D.R., Quave, C.L. (2020).** A Systematic Review of Plants With Antibacterial Activities: A Taxonomic and Phylogenetic Perspective. *Frontiers in pharmacology*, 11, 586548.
66. **Chehma, A., Djebar, M.R. (2008).** Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 17, 36-45.
67. **Chelaghema, A. (2021).** Utilisation d'extraits végétaux pour la maîtrise du risque mycotoxique dans les systèmes agro-alimentaires. Thèse de doctorat. Université Montpellier. 177p.
68. **Chemat, F., Huma, Z., Khan, M.K. (2011).** Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonincs Sonochemistry*. 18, 813-835.
69. **Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., Abert-Vian, M. (2017).** Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms,

techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 34, 540-560.

70. **Chenni, M., El abed, D. (2017).** Procédés d'extraction des produits bioactifs. *PhytoChem & BioSub Journal*, 11.
71. **Chittenden, F.H. (1911).** The Lesser Grain-borer. The Larger Grain-borer. US Government Printing Office. 99p.
72. **Chou, S.U., Kim, Y.M., Lee, J.C. (2003).** Herbicidal potential and qualification of causative allelochemicals from several compositae weeds. *Weed Research* 43, 444-450.
73. **Cissokho, P.S., Gueye, M.T., Sow, E.H., Diarra, K. (2015).** Substances inertes et plantes à effet insecticide utilisées dans la lutte contre les insectes ravageurs des céréales et légumineuses au Sénégal et en Afrique de l'Ouest. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1644-1653.
74. **Clech, B. (2000).** Végétale. 2ème édition. Imprimerie Laplante, France. 412p.
75. **Clemente, S., Mareggiani, G., Brousalis, A., Martino, V., Ferraro, G. (2003).** Insecticidal effects of Lamiaceae species against stored products insects. *Boletin de Sanidad Vegetal Plagas*, 29, 1-8.
76. **Clevenger, J. (1928).** Apparatus for the determination of volatile oil. *The Journal of the American Pharmaceutical Association*, (1912) 17, 345-349.
77. **Collins, P.J. (1990).** A new resistance to pyrethroids in *Tribolium castaneum* (Herbst). *Pesticide Science*, 28(1), 101-115.
78. **Conti, B., Canale, A., Cioni, P.L., Flamini, G., Rifici, A. (2011).** *Hyptis suaveolens* and *Hyptis spicigera* (Lamiaceae) essential oils: qualitative analysis, contact toxicity and repellent activity against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Dryophthoridae). *Journal of Pest Science*, 84, 219-228.
79. **Cosimi, S., Rossi, E., Cioni, P.L., Canale, A. (2009).** Bioactivity and qualitative analysis of some essential oils from Mediterranean plants against stored-product pests: evaluation of repellency against *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Tenebrio molitor* (L.). *J Stored Prod Res* 45:125-32.
80. **Crozier, A., Yokota, T., Jaganath, I. B., Marks, S., Saltmarsh, M., Clifford, M.N. (2006).** Secondary metabolites in fruits, vegetables, beverages and other plant based dietary components. *Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet*, 208-302.
81. **Cuendet, M. (1999).** Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes

d'altitude: « *Bartsia alpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et Camp,

Thèse de doctorat. 24p.

**82. Čujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., Ibrić, S. (2016).** Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food chemistry*, 194, 135-142.

**83. Da Porto, C., Porretto, E., Decorti, D. (2013).** Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics sonochemistry*, 20, 1076-1080.

**84. da Silva Bomfim, N., Nakassugi, L.P, Faggion Pinheiro Oliveira, J., et al., (2015).** Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. *Food chemistry* 166: 330-336.

**85. Dabiré, T.G. (2004).** Etude de l'efficacité des extraits végétaux contre les agents pathogènes fongiques transmis par les semences de mil et de sorgho. Mémoire d'Ingénieur de l'Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, 96p.

**86. Dane, Y., Mouhouche, F., Canela-Garayoa, R., Delpino-Rius, A. (2016).** Phytochemical Analysis of Methanolic Extracts of *Artemisia absinthium* L. 1753 (Asteraceae), *Juniperus phoenicea* L., and *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, 1892 (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 41(6), 2147-2158.

**87. Daraban, G., Badeanu, M., Suteu, D. (2021).** Reoellent and insecticide activities of plants from spontaneous flora USING conventional and innovative assisted extraction techniques. *Research journal of Agricultural science*, 53(3).

**88. Darabi, H.R., Mohandessi, S., Balavar, Y., Moghaddam, M.M., Aghapoor, K., Mohsenzadeh, F., Nourinia, A.A. (2011).** Clove bud oil: an efficient, economical and widely available oil for the inhibition of wheat seed germination. *Environmental chemistry letters*, 9(4), 519-524.

**89. de Cássia Seffrin, R., Shikano, I., Akhtar, Y., Isman, M.B. (2010).** Effects of crude seed extracts of *Annona atemoya* and *Annona squamosa* L. against the cabbage looper, *Trichoplusia ni* in the laboratory and greenhouse. *Crop Protection*, 29, 20-24.

**90. de Groot, I. (2004).** AD18F Protection des céréales et des légumineuses stockées. Agromisa Foundation. 74p.

**91. Delille, L. (2007).** Les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger, 122p.

92. **Deng, J., Xu, Z., Xiang, C., Liu, J., Zhou, L., Li, T., Yang, Z., Ding, C. (2017).** Comparative evaluation of maceration and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from fresh olives. *Ultrasonics sonochemistry*, 37, 328-334.
93. **Deravel, J., Krier, F., Jacques, P. (2013).** Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*. 18(2), 220-232.
94. **Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A. (2010).** Chemical composition of leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* and evaluation of its antibacterial activity. *Int J Agric Biol*, 12(2), 199-204.
95. **Dewick P.M. (1999).** The biosynthesis of C<sub>5</sub>-C<sub>25</sub> terpenoid compounds. *Nat. Prod. Rep.* 16: 97-130.
96. **Dhanamanjuri W., Thoudam R., Dutta B.K.D. (2013).** Effect of pesticides (fungicide) on the germination and growth of seeds seedlings of some crop plants (*Cicer artienum* and *Zea mays*). *Middle-East Journal of Scientific Research*. 17(5): 627-632.
97. **Dhima, K.V., Vasilakoglou, I.B., Eleftherohorinos, I.G., Lithourgidis, A.S. (2006).** Allelopathic potential of winter cereal cover crop mulches on grass weed suppression and sugarbeet development. *Crop Science*, 46(4), 1682-1691.
98. **Di Petrillo, A., González-Paramás, A.M., Era, B., Medda, R., Pintus, F., Santos-Buelga, C., Fais, A. (2016).** Tyrosinase inhibition and antioxidant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts. *BMC complementary and alternative medicine*, 16, 1-9.
99. **Dias, A.L.B., de Aguiar, A.C., Rostagno, M.A. (2021).** Extraction of natural products using supercritical fluids and pressurized liquids assisted by ultrasound: Current status and trends. *Ultrasonics Sonochemistry*, 74, 105584.
100. **Dif, M.M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., Bouterfas, K. (2015).** Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. *Phytothérapie*, 13(5), 314-319.
101. **Djermoun, A. (2009).** La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. *Natureet Technologie*, (1), 45-53.
102. **Djidel, A., Daghbouche, S., Benrima, A., Djazouli, Z.E. (2018).** Évaluation de l'activité insecticide de l'extrait aqueux brut de la Fabacae *Cytisus Triflorus* l'her à l'égard de *Tribolium castaneum* (herbst, 1797) (Coleoptera: tenebrionidae). *Revue Agrobiologia*, 8(2): 1093-1102.
103. **Dohou, R., Yamni, K., Tahrouch, S., Hassani, L. I., Badoc, A., Gmira, N. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142(1/4), 61-78.

- 104. Doukani, K., Tabak, S., Gourchala, F., Mihoub, F., Ounes, M., Benbaguara, M. (2013).** Caractérisation physico-chimique du blé fermenté par Stockage Souterrain (Matmora). *Revue Ecologie-Environnement*, 9, 1-10.
- 105. Dugravot, S. (2000).** Analyse de la réponse d'insectes spécialistes et non-spécialistes à un composé soufré. Diplôme d'études approfondies. Université de Tours, 25p.
- 106. Dupré, N. (1991).** Le stockage des céréales dans le bassin de l'Ebre à l'époque romaine. Universidad Complutense de Madrid. 205-217p.
- 107. Ebadollahi, A., Safaralizadeh, M.H., Pourmirza, A.A., Gheibi, S.A. (2010).** Toxicity of essential oil of *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze to *Oryzaephilus surinamensis* L. and *Lasioderma serricorne* F. *J Plant Protection Res*, 50:215–19.
- 108. Ebrahimifar, J., Jamshidnia, A., Sadeghi, R., Ebadollahi, A. (2021).** Repellency of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss essential oil on two major stored-product insect pests without effect on wheat germination. *International Journal of Tropical Insect Science*, 41(1), 217-223.
- 109. Edde, P.A. (2012).** A review of the biology and control of *Rhyzopertha dominica* (F.) the lesser grain borer. *Journal of Stored Products Research*, 48, 1-18.
- 110. Edeoga, H.O., Okwu, D.E., Mbaebie, B.O. (2005).** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology*, 4(7), 685-688.
- 111. El Ajjouri, M. (2013).** Etude de la composition chimique et de l'efficacité des huiles essentielles de quelques espèces du genre *Thymus* dans la préservation du bois contre les champignons lignivores. Thèse de Doctorat. Université Mohammed V, Rabat, 181p.
- 112. EL jemli, M. (2020).** Contribution à l'étude ethnobotanique, toxicologique, pharmacologique et phytochimique de quatre Cupressacées marocaines : *Juniperus thurifera* L., *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea* L. et *Tetraclinis articulata* L. Thèse de doctorat. Université Mohammed V, RabaT. 187p.
- 113. El-Sawi, S.A., Motawae, H. M., Sleem, M. A. F., El-Shabrawy, A.R.O., Sleem, A., Ismail, M.A.N. (2014).** Phytochemical screening, investigation of carbohydrate contents, and antiviral activity of *Juniperus phoenicea* L. growing in Egypt. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 20(1), 83-91.
- 114. Ennajar, M., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Abderraba, M., Raies, A., Romdhane, M. (2009).** Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae). *Journal of food science*, 74, 364-371.

115. **Ertürk, Ö. (2006).** Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biologia*, 61(3), 275-278.
116. **Ezez, D., Tefera, M., Peana, M.F. (2021).** Effects of Solvents on Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Ginger Extracts. *Journal of Chemistry*, 1-5.
117. **Fadel, H., Benayache, F., Chalchat, J.C, Figueredo, G., Chalard, P., Hazmoune, H., Benayache, S. (2021).** Essential oil constituents of *Juniperus oxycedrus* L. and *Cupressus sempervirens* L. (Cupressaceae) growing in Aures region of Algeria. *Natural Product Research*, 35: 2616-2620.
118. **Farhat, A. (2010).** Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. France. Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès. Thèse de Doctorat en Sciences. 136p.
119. **Feillet, P. (2000).** *Le grain de blé: composition et utilisation*. Editions Quae.
120. **Filomeno, C.A., Almeida Barbosa, L.C., Teixeira, R.R., Pinheiro, A.L., de Sá Farias, E., Ferreira, J.S., Picanço, M.C. (2020).** Chemical diversity of essential oils of Myrtaceae species and their insecticidal activity against *Rhyzopertha dominica*. *Crop Protection*. 137, 105309.
121. **Finney, D.J. (1971).** Probit analysis, Cambridge University Press. Cambridge, UK.
122. **Fisher, W.S. (1950).** A Revision of the North America Species of Beetles Belonging to the Family Bostrichidae. In: Miscellaneous Publication. USDA, Washington, DC. 698.
123. **Foster, H., Buchenauer, F., Grossman. (1980).** Side effects of systemic fungicides triadimfon and triadimenol on barley plants. I. Influence on growth and yeild. *Zeitschrift für Pflanz and Pflanzen*, 87, 473-492
124. **Fourar B.R. (2013).** Interactions dynamiques insectes-mycoflore et leur influence sur la qualité du blé en cours de stockage. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie. 168p.
125. **Gacem, M.A., Khelil, Ould El Hadj, A., Gacemi, B, et al., (2013).** Antimycotoxigenic and antifungal activities of *Citrullus colocynthis* seeds against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus ochraceus* contaminating wheat stored. *African journal of biotechnology*, 12(43), p. 6222-6231.
126. **Gakuubi, M.M., Maina, A.W., Wagacha, J.M. (2017).** Antifungal activity of essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* dehn. against selected *Fusarium* spp. *International journal of microbiology*, 2017.
127. **Gate, P.H. (1995).** Ecophysiologie de blé. Premières résultants. ITCF, edition Tec ET Doc Lovosier, 429p.

- 128. Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., Juraimi, A. S., Tayebi-Meigooni, A. (2015).** Comparative evaluation of different extraction techniques and solvents for the assay of phytochemicals and antioxidant activity of hashemi rice bran. *Molecules*, 20(6), 10822-10838.
- 129. Ghileb, G.M. (1987).** *Les plantes dans la médecine traditionnelle maghrébine*. Dip. D'études Comp. De phytothérapie Tunis.78 p.
- 130. Gogoi, P., Baruah, P., Nath, S.C. (2008).** Microbiological Research. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem.). *Microbiol. Res*, 163, 337–344.
- 131. Goudjil, M.B. (2016).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. Thèse de doctorat. Université de Ouargla. 172p.
- 132. Green, P.W., Belmain, S.R., Ndakidemi, P.A., Farrell, I.W., Stevenson, P.C. (2017).** Insecticidal activity of *Tithonia diversifolia* and *Vernonia amygdalina*. *Industrial Crops and Products*, 110, 15-21.
- 133. Guèye, M.T., Seck, D., Wathelet, J.P., Lognay, G. (2011).** Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale: synthèse bibliographique. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 15.
- 134. Guignard, J.L. (2000).** Biochimie végétale. 2ème édition. Edition Dunod, Paris, 198-207.
- 135. Guignard, J.L., (1998).** Abrégé botanique. 11ème Edition Masson, Paris
- 136. Guignard, J. (1996).** Biochimie végétale. Lavoisier, Paris, 175-192.
- 137. Guiraud, J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Technique et Ingénierie. Série Agro-Alimentaire. Dunod Ed., Paris. : 8, 98-99, 157, 321-329.
- 138. Hamdani, F.Z. (2015).** Déterminisme moléculaire de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites à partir des feuilles d'agrumes. Thèse de doctorat. Université de Chlef. 140p.
- 139. Hamouda, A. B., Chaieb, I., Zarrad, K., Laarif, A. (2015).** Insecticidal activity of methanolic extract of silverleaf nightshade against *Tribolium castaneum*. *International Journal of Entomological Research*, 3(1), 23-28.
- 140. Handa, S.S., Khanuja Suman, P.S, Longo, G., Rakesh Dev D. (2008).** Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. *International centre for science and high technology, Trieste*, 21-25.
- 141. Hasaballah, A., Shehata, A., Fouda, M., Hassan, M., Gad, M. (2018).** The Biological Activity of *Cupressus sempervirens* Extracts against *Musca domestica*. *Asian Journal of Biology*, 5, 1-12.

- 142. Hassen, W., Cherif, H., Souissi, Y., Raddedi, N., Neifar, M., Cherif, A. (2020).** Rhizobacteria and their metabolites as a promising green approach for the treatment of pesticide contaminated agricultural soils. *MOJ Ecol. Environ. Sci*, 5, 244-254.
- 143. Haunold, C. (1991).** Extraction de Pyrethrinés - Analyse du procédé discontinu et de l'influence des ultrasons - Modélisation et mise en oeuvre d'un procédé continu. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse. Paris.
- 144. Hayden, B., (1990).** Nimrods, Piscators, Pluckers and Planters: The Emergence of Food Production. *J. Anthropol. Archaeol*, 9(1), 31.
- 145. Hayouni, E., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105, 1126-1134.
- 146. Heller, W., Forkmann, G. (1993).** Biosynthesis of flavonoids. Chapman and Hall, London: 499-535.
- 147. Henry, Y., De Buyser, J. (2000).** L'origine des blés. *Série*, 26, 60-62.
- 148. Herms, D.A., Mattson, W. J. (1992).** The dilemma of plants: to grow or defend. *The quarterly review of biology*, 67(3), 283-335.
- 149. Hernandez Ochoa, L.R. (2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine «solvant/actif» d'origine végétale. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse. 217p
- 150. Hernandez-Trejo, A., Rodríguez-Herrera, R., Sáenz-Galindo, A., et al., (2021).** Insecticidal capacity of polyphenolic seed compounds from neem (*Azadirachta indica*) on *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) larvae. *J Environ Sci Health B*, 1-8.
- 151. Herodez, S.S., Hadolinb, M., Skergeta, Zeljko K. (2003).** Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves, *Food Chemistry*, 80, 275– 282.
- 152. Herrera-Pool, E., Ramos-Diaz, A.L., Lizardi-Jimenez, M.A., Pech-Cohuo, S., Ayora-Talavera, T., Cuevas-Bernardino, J.C., Garcia-Cruz, U., Pacheco, N. (2021).** Effect of solvent polarity on the Ultrasound Assisted extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from habanero pepper leaves (*Capsicum chinense*) and its identification by UPLC-PDA-ESI-MS/MS. *Ultrason Sonochem*, 76, 105658.
- 153. Herzi, N. (2013).** Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO<sub>2</sub>-supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse de doctorat. 185 p.

- 154. Hosni, H., Salama, A., Abudunia, A., Cherrah, Y., Ibrahimi, A., Alaoui, K. (2020).** Toxicité aiguë, cytotoxicité et effet antiradicalaire de l'extrait méthanolique des feuilles de l'asphodèle, *Asphodelus microcarpus*. *Phytothérapie*, 18(5), 284-290
- 155. Hosni, H., Taghzouti, K., Bounihi, A., Cherrah, Y., Alaoui, K. (2019).** Analgesic activity of *Asphodelus microcarpus* leaves extract. *World J. Pharm. Pharmaceut. Sci*, 8, 297-306.
- 156. Hsissou, D. (1994).** Sélection in vitro et caractérisation de mutants de blé dur tolérants à la sécheresse. Thèse de doctorat. Université catholique de Louvain, 101p.
- 157. Huang, Y., Lam, S., Ho, S. (2000).** Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and: *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research* 36: 107-117.
- 158. Ialeff, K.A., Debib, A., Menadi, S., Alsayadi, M., Kaced, A., Benrima, A. (2021).** Phenolic Content and Antibacterial Activity of *Cupressus sempervirens* Leaves Extracts Against Phytopathogenic Bacteria *Pectobacterium atrosepticum* Causative Agent of Soft Rot on Potato and Clinical Bacteria Strains. *Tropical Journal of Natural Product Research (TJNPR)*, 5(5), 866-872.
- 159. Iserin, P., Masson, M., Restellin, J.P. (1997).** Encyclopédie, des plantes médicinales, identification, préparation, soin. Larousse- Bordas.
- 160. Iserin, P., Masson, M., Restellini, J.P., et al., (2001).** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong: 335.
- 161. Isman, M.B. (2006).** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Ann. Rev. Entomol.*, 51: 45-66.
- 162. Jacques, K., Francis, H.M. (2012).** La connaissance des huiles essentielles. ISBN 978-2-8178-0308-1 Springer Paris Berlin Heidelberg New York Springer-Verlag France, Paris, p25.
- 163. Jilani, G., Su, H.C. (1983).** Laboratory studies on several plant materials as insect repellants for protection of cereal grains. *Journal of economic entomology*, 76(1), 154-157.
- 164. Joana Gil Chávez, G., Villa, J.A., Fernando Ayala Zavala, J., Basilio Heredia, J., Sepulveda, D., Yahia, E.M., González Aguilar, G.A. (2013).** Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12, 5-23.
- 165. Judd Walter, S., Campbell Christopher, S., Kellogg Elizabeth, A., Stevens, P. (2002).** Botanique Systématique, une perspective phylogénétique. Edition De Boeck Université ,84-87 ,396-399.
- 166. Julkunen-Tiitto, R. (1985).** Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of agricultural and food chemistry*, 33, 213-217.

- 167. Kaddem, S.E, (1990).** Les plantes médicinales en Algérie. In: Bouchene, Oued Zenati (Ed.) Kerarho J, Adam JG, (1974). La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques. Vigot frères Ed, Paris, 138p.
- 168. Karima, A., Atika, G. B., Algérie, B. (2013).** Etudes des effets de stockage de ble en épi sur la descendance et les réserves énergétiques de *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera, Curculionidae). *Membres du comité de lecture*, 17.
- 169. Keskes, H., Mnafgui, K., Hamden, K., Damak, M., El Feki, A., Allouche, N. (2014).** In vitro anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant properties of *Juniperus phoenicea* L. leaves from Tunisia. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4, S649-S655.
- 170. Khadhraoui, B., Ummat, V., Tiwari, B.K., Fabiano-Tixier, A., Chemat, F. (2021).** Review of ultrasound combinations with hybrid and innovative techniques for extraction and processing of food and natural products. *Ultrasonics Sonochemistry*, 76, 105625.
- 171. Khadri, S. (2019).** Evaluation de l'activité antibactérienne, anti-oxydante et cicatrisante des brûlures thermiques édes composés phénoliques extraits de la plante médicinale *Cytisus triflorus* de l'Est Algérien. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba.111p.
- 172. Khalfaoui, A., Noumi, E., Belaabed, S., et al., (2021).** LC-ESI/MS-phytochemical profiling with antioxidant, antibacterial, antifungal, antiviral and in silico pharmacological properties of Algerian *Asphodelus tenuifolius* (Cav.) organic extracts. *Antioxidants*, 10(4), 628.
- 173. Khalkhal, F. (2014).** Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus ssp coloratus* et *ssp euciliatus*. Thèse de Doctorat. Université de Tlemcen. 200p.
- 174. Khan, M.A.U., Ashfaq, M.K., Zuberi, H.S., Mahmood, M.S., Gilani, A.H. (2003).** The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 17(2), 183-186.
- 175. Khani, A., Asghari, J. (2012).** Insecticide activity of essential oils of *Mentha longifolia*, *Pulicaria gnaphalodes* and *Achillea wilhelmsii* against two stored product pests, the flour beetle, *Tribolium castaneum* and the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*. *J Insect Sci*, 12:1–10.
- 176. Khorramshahi, A., Burkholder, W.E. (1981).** Behavior of the lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *Journal of Chemical Ecology*, 7(1), 33-38.
- 177. King, A., Young, G. (1999).** Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J of the American dietetic association*.99:213-218.

178. Klavins, L., Kviesis, J., Klavins, M. (2017). Comparison of methods of extraction of phenolic compounds from American cranberry (*Vaccinium macrocarpon* L.) pres residues. *Agron. Res.* 15(2), 1316-1329.
179. Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal. Thèse doctorat. Muséum national d'histoire naturelle. 32p.
180. Kumar, A., Shukla, R., Singh, P., Singh, A. K., Dubey, N.K. (2009). Use of essential oil from *Mentha arvensis* L. to control storage moulds and insects in stored chickpea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(15), 2643-2649.
181. Kumar, M., Prakash, S., Kumari, N., *et al.*, (2021). Beneficial role of antioxidant secondary metabolites from medicinal plants in maintaining oral health. *Antioxidants*, 10(7), 1061.
182. Kumar, P., Mishra, S., Malik, A., Satya, S. (2011). Insecticidal properties of *Mentha* species: a review. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 802-817.
183. Labbafi, M., Ahvazi, M., Khalighi-Sigaroodi, F., Khalaj, H., Ahmadian, S., Tajabadi, F., Khani, M., Amini, S. (2021). Essential oil bioactivity evaluation of the different populations of *Cupressus* against adult rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.). *Journal of Medicinal Plants*, 79-92.
184. Lama-Muñoz, A., del Mar Contreras, M., Espínola, F., Moya, M., Romero, I., Castro, E. (2020). Content of phenolic compounds and mannitol in olive leaves extracts from six Spanish cultivars: Extraction with the Soxhlet method and pressurized liquids. *Food Chemistry*, 320, 126626.
185. Lampiri, E., Agrafioti, P., Levizou, E., Athanassiou, C.G. (2020). Insecticidal effect of *Dittrichia viscosa* lyophilized epicuticular material against four major stored-product beetle species on wheat. *Crop protection*, 132, 105095.
186. Langsi, J.D., Nukenine, E.N., Oumarou, K.M., Moktar, H., Fokunang, C.N., Mbata, G.N. (2020). Evaluation of the Insecticidal Activities of alpha-Pinene and 3-Carene on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Insects* 11.
187. Larran, S., Perelló, A., Simón, M. R., Moreno, V. (2007). The endophytic fungi from wheat (*Triticum aestivum* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(4), 565-572.
188. Lautrette, S. (2004). Utilisation des fibres de carbone activé comme catalyseurs de O- et Nglycosylation : Application à la synthèse d'analogues de saponines et de nucléosides. Thèse de doctorat. Université de Limoges. 139p.

189. **Lazarova, I., Zengin, G., Sinan, K.I., et al., (2020).** Metabolomics profiling and biological properties of root extracts from two *Asphodelus* species: *A. albus* and *A. aestivus*. *Food research international*, 134, 109277.
190. **Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L., Nouri, N. E.H. (2019).** Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d'El Kala,-Nord-est algérien). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 22-43.
191. **Leblalta, A. (2018).** Activités insecticide et antifongique des extraits et de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* (Linné, 1792). Thèse de doctorat. Université de Sétif. 133pp.
192. **Leslie, J. F., Summerell, B.A. (2008).** *The Fusarium laboratory manual*. John Wiley & Sons. 416p.
193. **Liu, C.H., Mishra, A.K., Tan, R.X., Tang, C., Yang, H., Shen, Y.F. (2006).** Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. *Bioresource technology*, 97(15), 1969-197
194. **Liu, Z.L., Chu, S.S., Liu, Q.R. (2010).** Chemical composition and insecticidal activity against *Sitophilus zeamais* of the essential oils of *Artemisia capillaris* and *Artemisia mongolica*. *Molecules*, 15: 2600–8.
195. **López, A.G., Theumer, M.G., Zygadlo, J.A., Rubinstein, H.R. (2004).** Aromatic plants essential oils activity on *Fusarium verticillioides* Fumonisin B1 production in corn grain. *Mycopathologia*, 158(3), 343-349.
196. **Lucchesi, M.E., Chemat, F., Smadja, J. (2004).** Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043(2), 323-327.
197. **Ma, Y., Chen, J., Liu, D., Ye, X. (2008).** Effect of ultrasonic treatment on the total phenolic and antioxidant activity of extracts from citrus peel. *Journal of Food Sciences*. 73, 115-120.
198. **Ma, Y.L., Sun, P., Feng, J., Yuan, J., Wang, Y., Shang, Y.F., Niu, X.L., Yang, S.H., Wei, Z.J. (2021).** Solvent effect on phenolics and antioxidant activity of Huangshan Gongju (*Dendranthema morifolium* (Ramat) Tzvel. cv. Gongju) extract. *Food and Chemical Toxicology* 147, 111875.
199. **Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques*. 193p.
200. **Maïga, A., Diallo, D., Fané, S., Sanogo, R., Paulsen, B.S, Cissé, B. (2005).** A survey of toxic plants on the market in the district of Bamako, Mali: traditional knowledge compared with a

literature search of modern pharmacology and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*, 96 : 183-193

201. **Malcolm, P.J., Holford, P., McGlasson, W.B., Newman, S. (2003).** Temperature and seed weight affect the germination of peach rootstock seeds and the growth of rootstock seedlings. *Scientia Horticulturae*, 98(3): 247-256,
202. **Malmir, M., Serrano, R., Canica, M., Silva-Lima, B., Silva, O. (2018).** A Comprehensive Review on the Medicinal Plants from the Genus *Asphodelus*. *Plants*, 7, 20.
203. **Malne, J.F., Parve, M., Kam, A., Mckevy, A., Ahmed, I. and Bhatti, M. (1980).** « *Journal of the Chemical Society* ». *Pekin Transactions II*, 1683.
204. **Mann, C.M., Cox, S.D., Markham, J.L. (2000).** The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), *Letters in appl. Microbiol* 30, 294-297.
205. **Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., El Ghadraoui, L., Aafi, A. (2011).** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* ssp. *lycia* et *Juniperus phoenicea* ssp. *turbinata* du Maroc. *BASE*. 15(3), 415-424.
206. **Manzoor, F., Nasim, G., Saif, S., Malik, S.A. (2011).** Effect of ethanolic plant extracts on three storage grain pests of economic importance. *Pakistan Journal of Botany*, 43(6), 2941-2946.
207. **Marrouf, A.G. Tremblin. (2009).** Abrégé de biochimie appliquée, EDP sciences. 592p.
208. **Matthews, G.A. (1993).** Insecticide application in the stores. In Matthews, G.A. and Hislop, E.C. (Eds.). *Application technology for crop protection*. CAB, London, pp. 305-315.
209. **Mauro, N.M. (2006).** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)- anatoxine-a et la (±)-camptothécine. Thèse doctorat. Université Joseph-Fourier-Grenoble. 186p.
210. **Mayouf, N., (2019).** Propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et immunomodulatrice des extraits d'*Asphodelus microcarpus*. Thèse de doctorat. Université de Sétif. 123p.
211. **Mayouf, N., Charef, N., Saoudi, S., Baghiani, A., Khennouf, S., Arrar, L. (2019).** Antioxidant and anti-inflammatory effect of *Asphodelus microcarpus* methanolic extracts. *J Ethnopharmacol*, 239, 111914.
212. **Mazari, K., Bendimerad, N., Bekhechi, C. (2010).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4, 959-964.
213. **McDonald, L.L, Guy, R.H, Speirs, R.D. (1970).** Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents, and attractants against stored-product insects. *Marketing*

Research Report. Agricultural Research Service, US. Department of Agriculture, Washington, DC. 882.

**214. Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., Pacheco, N. (2017).** Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7, 47.

**215. Melakhessou Z., Demnati F. Demes M.R. (2018).** Allelopathic potential of *Cynodon dactylon* (L.) Pers. on the germination and growth of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). Research and innovation as tools for sustainable agriculture, food and nutrition security. MEDFORUM. Bari, Italy, 18-20.

**216. Memelink, J., Verpoorte, R., Kijne, J.W. (2001).** ORCAnization of jasmonate-responsive gene expression in alkaloid metabolism. *Trends in plant science*, 6(5), 212-219.

**217. M'Hiri, N. (2015).** Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange «Maltaise demi sanguine» et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone. Thèse de doctorat. Université de Lorraine. 147p.

**218. Mochiah, M., Banful, B. Fening, K., (2011).** Botanicals for the management of insect pests in organic vegetable production. *J. Entomol. Nematol*, 3, 85-97.

**219. Mohammedi, Z., Atik, F. (2012).** Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Revue «Nature & Technologie»*, 6, 34-39.

**220. Momchev, P., Ciganovic, P., Jug, M., Margui, E., Jablan, J., Zovko Koncic, M. (2020).** Comparison of Maceration and Ultrasonication for Green Extraction of Phenolic Acids from *Echinacea purpurea* Aerial Parts. *Molecules*, 25(21).

**221. Monneveux, P. (1991).** Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique. *L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides*, 165 p.

**222. Monteuis, O. (1985).** Les cyprès. *Informations Forêt*, (262), 13-24

**223. Morsli, L. (2010).** Adaptation du blé dur (*triticum durum* desf) dans les conditions des hautes plaines constantinoises. *Univ. Annaba. Doctorat 68p*.

**224. Moule, C. (1971).** *Céréales*. La Maison rustique. Paris. 236p.

**225. Moussaoui, M. (2014).** Plantes médicinales de Méditerranée et d'Orient. Ed Sabil. France. 58-67,137p.

**226. Ncibi, S., Attia, S., Diop, S. M. B., Hance, T., Ammar, M. (2020).** Bio-insecticidal activity of three essential oils against *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae). *African Entomology*, 28(2), 339-348.

227. Ncibi, S., Barbouche, N., Haouel-hamdi, S., Ammar, M. (2019). Insecticidal activity of several Tunisian essential oils against two major pests of stored grain *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) and *Tribolium castaneum* (Herbst 1797). *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 66: 4182-4194.
228. Ndzana Abanda, R.F.X. (2012). Régulation des bio-agresseurs dans les cultures associées de blé dur et de pois: impact de la diversité végétale sur la démographie des pucerons du pois. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. 141p.
229. Negahban M, Moharamipour S, Sefidkon F. (2007). Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three storedproduct insects. *J Stored Prod Res* 43:123–8.
230. Nenaah, G.E. (2014). Chemical composition, toxicity and growth inhibitory activities of essential oils of three *Achillea* species and their nano-emulsions against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Ind Crop Prod* 53:252–60.
231. Nerio, L.S., Olivero-Verbel J, Stashenko E.E. (2009). Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *J Stored Prod Res* 45: 212–14.
232. Ngamo, L.S.T., Hance, T.H. (2007). Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura*, 25(4), 215-220.
233. Nikavar, B., ALI, N.A., Kamalnejhad, M. (2008). Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha* species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (3), 203-209.
234. Nishida, N., Tamotsu, S., Nagata, N., Saito, C., Sakai, A. (2005). Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings. *J Chem Ecol*, 31:1187–1203.
235. Nouri-Ganbalani, G., Ebadollahi, A., Nouri, A. (2016). Chemical composition of the essential oil of *Eucalyptus procera* dehn. And its insecticidal effects against two stored product insects. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(5), 1234-1242.
236. Nyamador, W.S, Ketoh, G.K, Amevoin K, et al., (2010). Variation in the susceptibility of two *Callosobruchus* species to essential oils. *J Stored Prod Res* 46:48–51.
237. Odeyemi, O.O., Masika, P., Afolayan, A.J. (2008). Insecticidal activities of essential oil from the leaves of *Mentha longifolia* L. subsp. *capensis* against *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). *African Entomology*, 16(2), 220-225.
238. Oerke, E.C. (2006). Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31.

239. Okla, M.K., Alatar, A.A., Al-Amri, S.S., Soufan, W.H., Ahmad, A., Abdel-Maksoud, M.A. (2021). Antibacterial and antifungal activity of the extracts of different parts of *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. *Plants*, 10(2), 252.
240. Olivero-Verbel, J., González-Cervera, T., Güette-Fernandez, J., Jaramillo-Colorado, B., Stashenko, E. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(4), 568-574.
241. Oloyede, O.I. (2005). Chemical Profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition*. 4: 379-381.
242. Omulokoli, E., Khan, B., Chhabra S.C. (1997). Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 56 p 133-137.
243. Oroian, M., Dranca, F., Ursachi, F. (2020). Comparative evaluation of maceration, microwave and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from propolis. *J Food Sci Technol*, 57(1), 70-78.
244. Ortiz Núñez, Y., Spengler Salabarría, I., Collado, I. G., Hernández-Galán, R. (2010). Antifungal activity of extracts and terpene constituents of aerial parts of *Juniperus lucayana*. *Revista latinoamericana de química*, 38(3), 145-152.
245. Oryzae, S. (2006). Effects of six plant extracts on rice weevil *Sitophilus oryzae* L. in the stored wheat grains. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 1(4).
246. Osorio-Tobón, J.F. (2020). Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *Journal of Food Science and Technology*, 57(12), 4299-4315.
247. Ouazar, S. (2012). Etude comparative de l'effet du semis direct et du labour conventionnel sur le comportement du blé dur (*Triticum durum* Desf.). Thèse Magister. Université Ferhat Abbas Sétif 1, 70p.
248. Ozturk, M., Tumen, I., Ugur, A., Aydogmus-Ozturk, F., Topcu, G. (2011). Evaluation of fruit extracts of six Turkish *Juniperus* species for their antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activities. *J Sci Food Agric*, 91(5), 867-876.
249. Pandey, A.K., Singh, P. (2017). The genus *Artemisia*: A 2012–2017 Literature Review on Chemical Composition, Antimicrobial, Insecticidal and Antioxidant Activities of Essential Oils. *Medicines*, 4, 68.
250. Pang, X., Feng, Y.X., Qi, X.J., Wang, Y., Almaz, B., Xi, C., Du, S.S. (2020). Toxicity and repellent activity of essential oil from *Mentha piperita* Linn. Leaves and its major monoterpenoids against three stored product insects. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(7), 7618-7627.

251. Papanikolaou, N.E., Kavallieratos, N.G., Iliopoulos, V., Evergetis, E., Skourti, A., Nika, EP., Haroutounian, S.A. (2022). Essential Oil Coating: Mediterranean Culinary Plants as Grain Protectants against Larvae and Adults of *Tribolium castaneum* and *Trogoderma granarium*. *Insects*, 13, 165.
252. Paris, M., Hurabielle, M. (1981). Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed, Masson 339p.
253. Park, M., Cho, H., Jung, H., Lee, H., Hwang, K.T. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory activities of tannin fraction of the extract from black raspberry seeds compared to grape seeds. *Journal of food biochemistry*, 38(3), 259-270.
254. Perczak, A., Gwiazdowska, D., Marchwińska, K., Juś, K., Gwiazdowski, R., Waśkiewicz, A. (2019). Antifungal activity of selected essential oils against *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* and their secondary metabolites in wheat seeds. *Archives of microbiology*, 201(8), 1085-1097.
255. Peterson, D. J., Prasad, R. (1998). The biology of Canadian weeds. 109. *Cytisus scoparius* (L.) Link. *Canadian journal of plant science*, 78(3), 497-504.
256. Pizzolitto, R.P., Jacquat, A.G., Usseglio, V.L., Achimón, F., Cuello, A.E., Zygadlo, J.A., Dambolena, J.S. (2020). Quantitative-structure-activity relationship study to predict the antifungal activity of essential oils against *Fusarium verticillioides*. *Food Control*, 108, 106836.
257. Plata-Rueda, A., Martínez, L.C., da Silva Rolim, G., et al., (2020). Insecticidal and repellent activities of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) essential oil and its terpenoids (citral and geranyl acetate) against *Ulomoides dermestoides*. *Crop protection*, 137, 105299.
258. Politi, M., Ferrante, C., Menghini, L., Angelini, P., Flores, G. A., Muscatello, B., De Leo, M. (2022). Hydrosols from *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, and *Cupressus sempervirens*: Phytochemical analysis and bioactivity evaluation. *Plants*, 11(3), 349.
259. Porter, L.J., Hirtstich, L.N. and Change, B.J. (1986). The conversion of procyanidins and prodlephinidins to cyanidines and delphenidins, phytochemistry. 25: 223-230.
260. Potter, C. (1935). The biology and distribution of *Rhizopertha dominica* (Fab.). *Transactions of the Royal entomological Society of London*, 83(4).
261. Prasad, M.N.V. (1995). Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. *Environmental and Experimental Botany*, 35(4), 525-545.
262. Pugazhvendan, S. R., Ross, P. R., Elumalai, K. (2012). Insecticidal and repellent activities of four indigenous medicinal plants against stored grain pest, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2, S16-S20.

263. **Quézel, P., Santa, S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2. 218-940.
264. **Rachel, P. (2007).** Methodologie pour le passage en continu d'extraction de solute a partir de matiere vegetale. Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de toulouse. France. 118pp.
265. **Rahmani, Z. (2020).** Contribution à l'étude phytochimique, Electrochimique et biologique des extraits de *Cupressus sempervirens* (L). Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah-Ouargla, 129p.
266. **Rahmani, Z., Douadi, A., Rahmani, Z. (2019).** *In vitro* inhibition of a-amylase enzyme, phytochemical study and antioxidant capacity for *Cupressus sempervirens* extracts growing in arid climat. *Asian J Res Chem*, 12(6): 359.
267. **Rajashekar, Y., Gunasekaran, N., Shivanandappa, T. (2010).** Insecticidal activity of the root extract of *Decalepis hamiltonii* against stored-product insect pests and its application in grain protection. *Journal of food science and technology*, 47(3), 310-314.
268. **Rangwala, T., Bafna, A., Singh, V. (2013).** Effect of presence of fungicide on growth parameters of wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Biological and Chemical Research*, 30(2):529-536.
269. **Rani, L., Thapa, K., Kanojia, N., Sharma, N., Singh, S., Grewal, A.S., Srivastav, A.L., Kaushal, J. (2021).** An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. *Journal of Cleaner Production*, 283, 124657.
270. **Ranjbar, M., Kiani, M., Nikpay, A. (2020).** Antioxidant and scolicidal activities of four Iranian *Mentha* species (Lamiaceae) in relation to phenolic elements. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 9, 200-208.
271. **Rashed, K., Ćirić, A., Glamočlija, J., Soković, M. (2014).** Antibacterial and antifungal activities of methanol extract and phenolic compounds from *Diospyros virginiana* L. *Industrial Crops and Products*, 59, 210-215.
272. **Redhouane, B., Khaled, B., Hadjira, B., Imene, I., Abderrezak, K., Fethia, F., Svarc-Gajic, J. (2020).** Evaluation of some biological activities of phenolic compounds obtained from two Algerian medicinal plants: *Mentha rotundifolia* and *Satureja calamintha*. *Acta Periodica Technologica*, (51), 87-102.
273. **Reyes, A.A. (1975).** Phytotoxicity of benomyl to saffron. *Phytopath*, 65: 1-6.

274. **Rguez, S., Djébali, N., Ben Slimene, I., et al., (2018).** *Cupressus sempervirens* essential oils and their major compounds successfully control postharvest grey mould disease of tomato. *Industrial Crops and Products* 123, 135-141
275. **Rguez, S., Essid, R., Adele, P., et al., (2019).** Towards the use of *Cupressus sempervirens* L. organic extracts as a source of antioxidant, antibacterial and antileishmanial biomolecules. *Industrial Crops and Products*, 131, 194-202.
276. **Riahi, L., Elferchichi, M., Ghazghazi, H., et al., (2013).** Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. *Industrial Crops and Products*, 49, 883-889.
277. **Ribereau, G. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Paris: Dunod, 254 p.
278. **Richards, S., Gibbs, R.A., Weinstock, G.M., et al., (2008).** The genome of the model beetle and pest *Tribolium castaneum*. *Nature*, 452(7190), 949-955.
279. **Rosas-Burgos, E. C., Cortez-Rocha, M. O., Cinco-Moroyoqui, F. J., et al., (2009).** Antifungal activity in vitro of *Baccharis glutinosa* and *Ambrosia confertiflora* extracts on *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* and *Fusarium verticillioides*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(12), 2257-2261.
280. **Sabrine, I., Abdallah Abakar, A.h., Maryama, E., Ouafaa, A.F., Mohamed, B. (2018).** Insecticidal activity of essential oils from five Moroccan plants on three insect pests of stored cereals. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 4, 052-057.
281. **Sahi, N.M. (2016).** Evaluation of insecticidal activity of bioactive compounds from *Eucalyptus citriodora* against *Tribolium castaneum*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(8), 1256-1270.
282. **Saija, A., Scalese, M., Lanza, M., Marzullo, D., Bonina, F., Castelli, F. (1995).** Flavonoids as antioxidant agents importance of their interaction with biomembranes. *Free radical biology & medicine*, 19:481-486.
283. **Sánchez Mariñez, R.I., Cortez Rocha, M.O., Ortega Dorame, F., Morales Valdes, M., Silveira, M.I. (1997).** Enduse quality of flour from *Rhizopertha dominica* infested wheat. *Cereal Chemistry*, 74(4), 481-483.
284. **Sarni-Manchado, P., Cheynier, V. (2006).** *Les polyphénols en agroalimentaire*. Techniques & documentation. 398p.
285. **Satish, S., Mohana, D.C., Ranhavendra, M.P., Raveesha, K.A. (2007).** Antifungal activity of some plant extracts against important seed borne pathogens of *Aspergillus sp.* *Journal of Agricultural technology*, 3(1), 109-119.

- 286. Schneider, C. (2013).** Plantes sauvages aromatiques. Les reconnaître, les utiliser. Eugen Ulmer Eds.128p.
- 287. Selim, S.A., Adam, M.E., Hassan, S.M., Albalawi, A.R. (2014).** Chemical composition, antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil and methanol extract of the Mediterranean cypress (*Cupressus sempervirens* L.). *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 1-8.
- 288. Sharma, N., Trivedi, P.C. (2002).** Screening of leaf extracts of some plants for their nematocidal and fungicidal properties against *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum*. *Asian J. Exp. Sci*, 16(1, 2), 21-28.
- 289. Shewry PR (2009).** Wheat *Journal of Experimental Botany* 60: 1537–1553.
- 290. Siddiqui, Z.S., Ahmed, S., Shaukat, S.S. (1999).** Effect of systemic fungicides on germination, seedling growth, DNA, RNA and Phenolic content of *Brassica compestris*. *Pakistan Journal of Biological Science*, 2(4):1350-1351.
- 291. Singh, S.P., Batish, D.R., Kaur, S., Arora, K., Kohli, R.K. (2006).** a-Pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots. *Ann Bot*, 98:1261–1269.
- 292. Slama, A., Ben Salem, M., Ben Naceur, M., Zid, E. (2005).** Les céréales en Tunisie: production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. *Sécheresse*, 16(3), 225-229.
- 293. Slotkin, T.A., Stadler, A., Skavicus, S., Seidler, F.J. (2016).** Adolescents and adults differ in the immediate and longterm impact of nicotine administration and withdrawal on cardiac norepinephrine. *Brain Res. Bull*, 122, 71-75.
- 294. Sofowera, A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique. Karthala, Economie et Développement. Paris: 384p.
- 295. Sofowora, E.A. (1982).** Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa. John Wiley and Sons, Chichester, 256p.
- 296. Soltani, Y., Ali-Bouzidi, M., Toumi, F., Benyamina, A. (2018).** Activités antioxydantes des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea* L. de l’Ouest algérien. *Phytothérapie* 16, 142.
- 297. Suárez-Jiménez, G.M., Cortez-Rocha, M.O., Rosas-Burgos, E.C., Burgos-Hernández, A., Plascencia-Jatomea, M., Cinco-Moroyoqui, F.J. (2007).** Antifungal activity of plant methanolic extracts against *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. and fumonisin B1 production. *Revista mexicana de fitopatología*, 25(2), 134-142.

- 298. Taghizadeh-Saroukolai, A., Nouri-Ganbalani, G., Rafiee-Dastjerdi, H., Hadian, J. (2014).** Antifeedant activity and toxicity of some plant essential oils to Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). *Plant Protect Sci*, 50:207–16.
- 299. Tapiero, H., Tew, K. D., Ba, G. N., Mathe, G. (2002).** Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 56(4), 200-207.
- 300. Tapondjou, A.L., Adler, C., Fontem, D.A., Bouda, H., Reichmuth, C. (2005).** Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Products Research*, 41: 91-102.
- 301. Tavares, W.R., Barreto, M.D.C., Seca, A.M.L. (2021).** Aqueous and Ethanolic Plant Extracts as Bio-Insecticides-Establishing a Bridge between Raw Scientific Data and Practical Reality. *Plants*, 10.
- 302. Taye, W., Laekemariam, F., & Gidago, G. (2013).** Seed germination, emergence and seedling vigor of maize as influenced by pre-sowing fungicides seed treatment. *Journal of Agricultural Research and Development*, 3(3), 35-41.
- 303. Teisseire, P.J. (1991).** Chimie des substances odorantes: Technique et documentation Lavoisier. Paris. 480p.
- 304. Thembo, K. M., Vismer, H. F., Nyazema, N. Z., Gelderblom, W. C. A., Katerere, D. R. (2010).** Antifungal activity of four weedy plant extracts against selected mycotoxigenic fungi. *Journal of applied microbiology*, 109(4), 1479-1486.
- 305. Tlak Gajger, I., Dar, S.A. (2021).** Plant allelochemicals as sources of insecticides. *Insects*, 12(3), 189.
- 306. Trease, E., Evans, W.C. (1987).** Pharmacognosy, Billiare Tindall, London. Vogel AI (1988). In: Elementary practical organic chemistry (Second edition), Orient Longman Limited, pp. 45-168.
- 307. Triboï, E., Ntonga, J. (1993).** Effet de l'azote et du rayonnement sur le développement des feuilles et de l'épi chez le blé d'hiver : mise en place de l'appareil foliaire et de la structure de l'épi. *Agronomie*, 13 : 253-65
- 308. Tripathi, N.N, Kumar, N. (2007).** *Putranjiva roxburghii* oil, a potential herbal preservative for peanuts during storage. *J Stored Prod Res* 43, 435-42.
- 309. Tumen, I., Senol, F.S., Erdogan Orhan, I. (2012).** Evaluation of possible in vitro neurobiological effects of two varieties of *Cupressus sempervirens* (Mediterranean cypress) through their antioxidant and enzyme inhibition actions. *Turk J Biochem* 37(1): 5-13.

- 310. Van Hung, P., Chi, P.T.L., Phi, N.T.L. (2013).** Comparison of antifungal activities of Vietnamese citrus essential oils. *Natural product research*, 27(4-5), 506-508.
- 311. Van Lenteren, J.C. (2012).** IOBC Internet Book of Biological Control. IOBC Global. Edition van Lenteren, J.C. Versión 6. 182p.
- 312. Vermerris, W., Nicholson, R., Vermerris, W., Nicholson, R. (2006).** Families of phenolic compounds and means of classification. *Phenolic compound biochemistry*, 1-34.
- 313. Wadley, G., Martin, A. (1993).** The origins of agriculture – a biological perspective and new hypothesis. *Australian Biologist*, 6, 96-105.
- 314. Waheed Murad, R.U., Khan, A., Zulqarnain, H., Khan Z. (2016).** Allelopathic effect of *Silene villosa* on germination and seedling growth of *Triticum aestivum* L. *Journal of Pharmacy Research*, 10 (4): 176-180.
- 315. Wainwright, H., Wanyamay, C., Cherotich, N. (2013).** Biopesticides and their commercialisation in Africa. In: Proceedings of the First International Conference on Pesticidal Plants, 21-24 January 2013, Egerton University and ICIPE, Nairobi, Kenya, 189-191.
- 316. Wang, L., Weller, C.L. (2006).** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*. 17, 300-312.
- 317. Wang, Z., Ding, L., Li, T., Zhou, X., Wang, L., Zhang, H., He, H. (2006).** Improved solventfree microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. And *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Journal of Chromatography A*, 1102(1), 11-17.
- 318. Webster, D., Taschereau, P., Belland, R.J., Sand, C., Rennie, R.P. (2008).** Antifungal activity of medicinal plant extracts; preliminary screening studies. *Journal of ethnopharmacology*, 115(1), 140-1.
- 319. Wichtl, M., Anton, R. (2009).** Plantesthérapeutique tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition Lavoisier, Paris. 38-41.
- 320. Wong, S., Leong, L., Williamkoh, J. (2006).** Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry* 99, 775-783
- 321. Xu, D.P., Zheng, J., Zhou, Y., Li, Y., Li, S., Li, H.B. (2017).** Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods. *Food Chem* 217, 552-559.
- 322. Yakhlef, G., Hambaba, L., Pinto, D.C., Silva, A.M. (2020).** Chemical composition and insecticidal, repellent and antifungal activities of essential oil of *Mentha rotundifolia* (L.) from Algeria. *Industrial crops and products*, 158, 112988.

- 323. Yamamoto-Ribeiro, M.M., Grespan, R., Kohiyama, C.Y., et al., (2013).** Effect of *Zingiber officinale* essential oil on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. *Food chemistry*, 141, 3147-3152.
- 324. Yarou, B.B., Silvie, P., Assogba Komlan, F., Mensah, A., Alabi, T., Verheggen, F., Francis, F. (2017).** Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 21(4).
- 325. Yasser, K., Abdallah, M., Abdelmadjid, B. (2018).** Étude ethnobotanique de quelques plantes médicinales dans une région hyper aride du Sud-ouest Algérien «Cas du Touat dans la wilaya d'Adrar». *Journal of Animal & Plant Sciences*, 36(2), 5844-5857.
- 326. Yun, K.W., Choi, S.K. (2002).** Mycorrhizal colonization and plant growth affected by aqueous extract of *Artemisia princeps*, var. *orientalis* and two phenolic compounds. *Journal of Chemical Ecology*, 28, 253-262.
- 327. Yves. H., De Buysers, J. (2001)** .De la graine à la plante, l'origine des blés. BELIN POUR LA SCIENCE, 69-72.
- 328. Zheljzkov, V.D., Jeliakova, E.A., Astatkie, T. (2021).** Allelopathic Effects of Essential Oils on Seed Germination of Barley and Wheat. *Plants*, 10(12), 2728.
- 329. Zhu, J.K. (2001).** Plant salt tolerance. *Trends in plant science*. 6(2), 66-71.
- 330. Zouari B.K., Makni, S., Tounsi, A., Jlaïel, L., Trigui, M., Tounsi, S. (2018).** Effects of *Juniperus phoenicea* hydroalcoholic extract on inflammatory mediators and oxidative stress markers in carrageenan-induced paw oedema in mice. *BioMed Research International*. 11p.
- 331. Zrira, S., Benjilali, B., Lamaty, G. (1995).** Effet du séchage à l'air libre des feuilles d'*E. camaldulensis* sur le rendement et la composition de l'huile essentielle. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 15(4), 27-35.



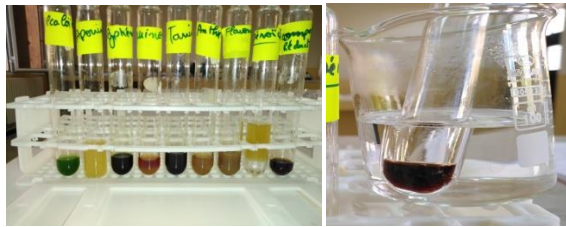


# ***Annexes***

*Annexe 01*

• Screening phytochimique

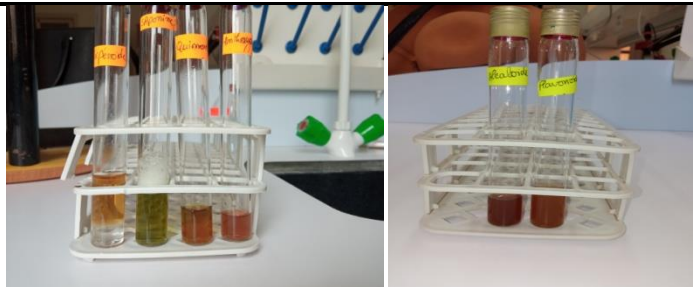
*C. sempervirens* L.



*J. phoenicea* L.



*M. rotundifolia* L. Huds



*C. scoparius* L.

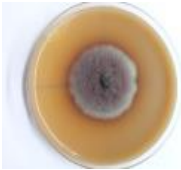
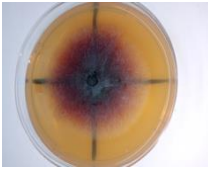
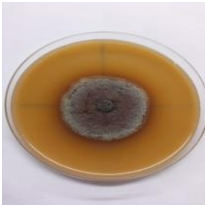
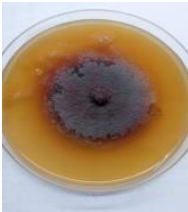
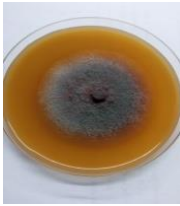

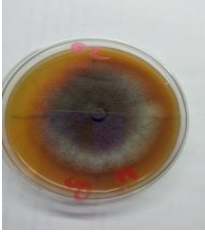
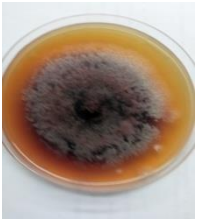


*A. microcarpus* Salzm & Viv.

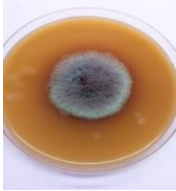
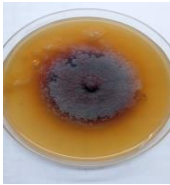
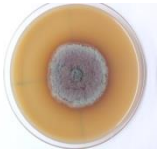

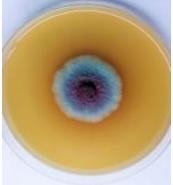

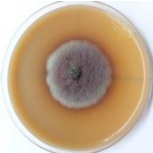
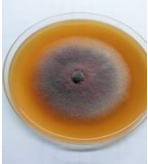


## Annexe 02

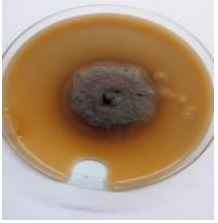



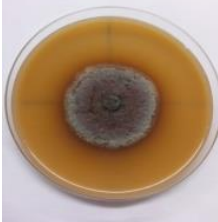
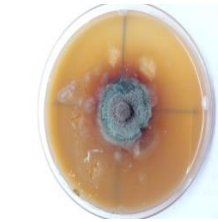
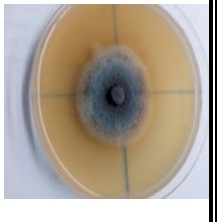

- Diamètre d'inhibition de la croissance mycélienne après dix jours par les extraits bruts de *C. sempervirens* L.

Extrait	Hydro-méthanolique	Hydro-éthanolique	Hydro-acétonique	Aqueux
<b>Extraction assistée aux Ultrasons</b>				
<b>Macération 48h</b>				


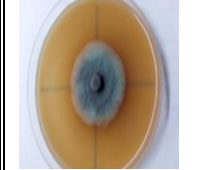
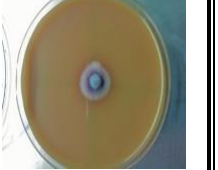
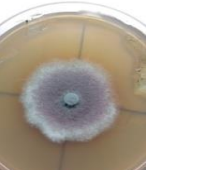
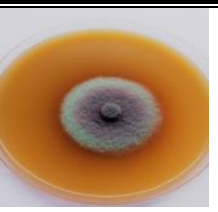

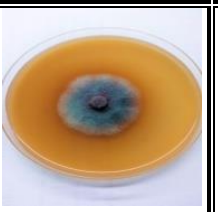

- Diamètre d'inhibition de la croissance mycélienne après dix jours par les extraits bruts de *J. phoenicea* L.

Extrait	Hydro-méthanolique	Hydro-éthanolique	Hydro-acétonique	Aqueux
<b>Extraction assistée aux Ultrasons</b>				
<b>Macération 48h</b>				

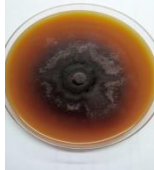
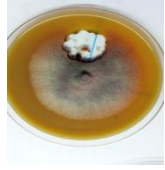
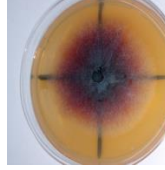

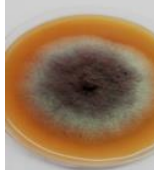
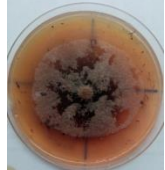

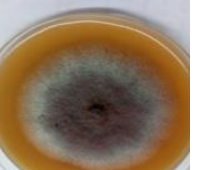
- Diamètre d'inhibition de la croissance mycélienne après dix jours par les extraits bruts de *M. rotundifolia* (L.)

Extrait	Hydro-méthanolique	Hydro-éthanolique	Hydro-acétonique	Aqueux
<b>Extraction assistée aux Ultrasons</b>				
<b>Macération 48h</b>				

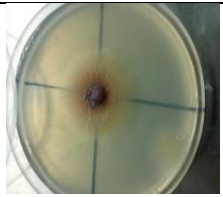
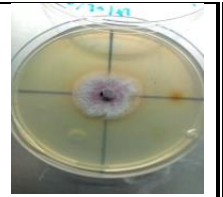
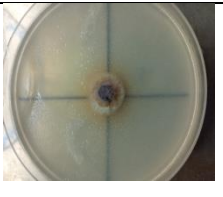

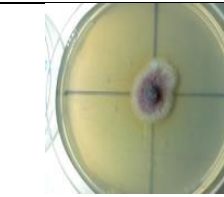
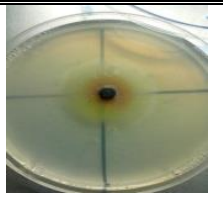


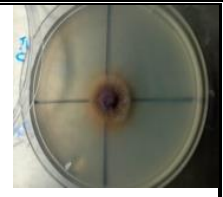


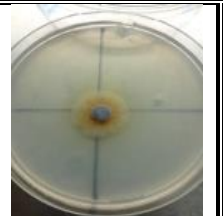
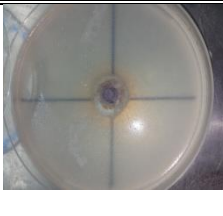

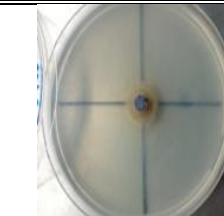
- Diamètre d'inhibition de la croissance mycélienne après dix jours par les extraits bruts de *C. scoparius* L

Extrait	Hydro-méthanolique	Hydro-éthanolique	Hydro-acétonique	Aqueux
<b>Extraction assistée aux Ultrasons</b>				
<b>Macération 48h</b>				

- Diamètre d'inhibition de la croissance mycélienne après dix jours par les extraits bruts d'*A. microcarpus* Salzm& Viv.

Extrait	Hydro-méthanolique	Hydro-éthanolique	Hydro-acétonique	Aqueux
<b>Extraction assistée aux Ultrasons</b>				
<b>Macération 48h</b>				

- Croissance mycélienne *in vitro* après dix jours de *F. verticillioides* en présence des huiles essentielles

Concentration (ppm)				
125ppm	250ppm	500ppm	1000ppm	2000ppm
<i>C. sempervirens</i>				
				
<i>J. phoenicea</i>				
				
<i>M. rotundifolia</i>				
				

## **Résumé**

Les plantes *Cupressus sempervirens* L., *Juniperus phoenicea* L., *Mentha rotundifolia* (L.), *Cytisus scoparius* L. et *Asphodelus microcarpus* Salzm& Viv., récoltées dans la région de Bouira sont sélectionnées pour évaluer leurs activités insecticides, antifongique ainsi que leurs effets sur la germination des grains de blé stockés. Les résultats des dosages ont montré que la technique d'extraction et les solvants utilisés affectent la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et en tanins (Condensés et hydrolysables), dont les solvants hydro-acétoniques et hydro-méthanoliques obtenus par extraction assistée aux Ultrasons semblent être les plus efficaces pour atteindre des rendements considérables de ces métabolites. L'évaluation de l'activité insecticide des extraits par contact a montré une corrélation positive avec la méthode et le solvant d'extraction utilisé. Les extraits hydro-méthanoliques et hydro-acétoniques obtenus par l'extraction assistée aux Ultrasons ont présenté les pourcentages de mortalité les plus élevés. D'autre part, les huiles essentielles extraites de *M. rotundifolia*, *C. sempervirens* et *J. phoenicea* sont révélées comme des agents insecticide en provoquant des mortalités allant jusqu'à 100% chez les adultes de *R. dominica* et *T. castaneum*. Dans le test antifongique *in vitro* les résultats montrent que les extraits de *M. rotundifolia*, de *J. phoenicea* et de *C. scoparius* étaient les plus efficaces contre le *F. verticillioides*. Pour la plupart de ces espèces végétales les plus fortes inhibitions sont enregistrées avec les extraits hydro-acétoniques et hydro-méthanolique. En revanche, les huiles essentielles de *M. rotundifolia*, de *C. sempervirens* et de *J. phoenicea* ont présenté un pouvoir antifongique important de  $72,07 \pm 1,85\%$ ,  $67,36 \pm 3,92\%$  et  $83,75 \pm 9,3\%$  respectivement. Les extraits aqueux et les huiles essentielles testés n'ont présenté pas des effets inhibiteurs significatifs sur la germination des graines et sur la croissance des plantules.

**Mot clés :** *Plantes médicinales, Extraction, Composés phénoliques, Solvant, Activité insecticide, activité antifongique, germination, blé, Bouira.*

## ***Abstract***

The plants *Cupressus sempervirens* L., *Juniperus phoenicea* L., *Mentha rotundifolia* (L.), *Cytisus scoparius* L. and *Asphodelus microcarpus* Salzm& Viv. collected in the Bouira region were selected to evaluate their insecticidal and antifungal activities as well as their effects on the germination of stored wheat grains. The assay results showed that the extraction technique and the solvents used affect the content of phenolic compounds, flavonoids and tannins (condensed and hydrolysable), of which hydro-acetonic and hydro-methanolic solvents obtained by Ultrasonic assisted extraction seem to be the most efficient solvents to achieve considerable yields of these metabolites. Evaluation of the insecticidal activity of the extracts by contact showed a positive correlation with the extraction method and the extraction solvent used. The hydro-methanolic and hydro-acetonic extracts obtained by Ultrasound assisted extraction showed the highest mortality percentages. On the other hand, the essential oils extracted from *M. rotundifolia*, *C. sempervirens* and *J. phoenicea* were found to be insecticidal agents, causing up to 100% mortality in adults of *R. dominica* and *T. castaneum*. The results of *in vitro* antifungal test show that extracts of *M. rotundifolia*, *J. phoenicea* and *C. scoparius* were the most effective against *F. verticillioides*. For most of these plant species the strongest inhibitions were recorded with the hydro-acetonic and hydro-methanolic extracts. In contrast, the essential oils of *M. rotundifolia*, *C. sempervirens* and *J. phoenicea* exhibited significant antifungal activity:  $72.07 \pm 1.85$ ,  $67.36 \pm 3.92$  and  $83.75 \pm 9.3$  (%) respectively. The aqueous extracts and essential oils tested showed no inhibitory effect on seed germination and seedling growth.

**Keywords:** *Medicinal plants, Extraction, Phenolic compounds, Solvent, Insecticidal activity, antifungal activity, germination, wheat, Bouira.*

## ملخص

النباتات *Cytisus* و *Mentha rotundifolia* L. *Juniperus phoenicea* L. و *Cupressus sempervirens* L. تم حصادها في منطقة البويرة لتقييم نشاطها في المبيدات الحشرية والفطريات *Asphodelus microcarpus* و *scoparius* L. وكذلك تأثيرها على إنبات حبوب القمح المخزنة. أظهرت نتائج الفحص أن تقنية الاستخلاص والمذيبات المستخدمة تؤثر على محتوى المركبات الفينولية والفلانويدات والعفص (المكثف والمتحلل بالماء)، والتي يبدو أن المذيبات الهيدرو-أسيون والمذيبات المائية الميثانولية التي تم الحصول عليها عن طريق الاستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية هي الأكثر مذيبيات فعالة لتحقيق عوائد كبيرة من هذه المستقلبات. أظهر تقييم فاعلية المبيدات الحشرية للمستخلصات عن طريق التلامس علاقة إيجابية مع طريقة الاستخلاص ومذيب الاستخلاص المستخدم. أظهرت مستخلصات الهيدرو ميثانول والهيدرو أسيون التي تم الحصول عليها عن طريق الاستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية أعلى نسب الوفيات. من ناحية أخرى، تم الكشف عن الزيوت الأساسية المستخرجة من *M. rotundifolia* و *C. sempervirens* و *J. phoenicea* كمبيدات حشرية عن طريق التسبب في نفوق يصل إلى 100% في البالغين من *R. dominica* و *T. castaneum*. في اختبار مضاد الفطريات في المختبر، أظهرت النتائج أن مستخلصات *M. rotundifolia*، *J. phoenicea* و *C. scoparius* كانت الأكثر فعالية ضد *F. verticillioides*. بالنسبة لمعظم هذه الأنواع النباتية، يتم تسجيل أقوى الموانع باستخدام مستخلصات الأسيون المائي والميثانول. من ناحية أخرى، قدمت الزيوت الأساسية من *M. rotundifolia* و *C. sempervirens* و *J. phoenicea* قوة مضادة للفطريات:  $1.85 \pm 72.07$  و  $3.92 \pm 67.36$  و  $83.75 \pm$  9.3 (%) على التوالي. أظهرت المستخلصات المائية والزيوت الأساسية التي تم اختبارها عدم وجود تأثير مثبط على إنبات البذور ونمو الشتلات.

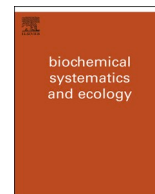
**الكلمات المفتاحية:** نباتات طبية، استخلاص، مركبات الفينول، مذيب، مبيد حشري، نشاط مضاد للفطريات، إنبات قمح، البويرة.

## **International Communications**

- Contribution à l'étude de quelques plantes médicinales de la forêt Errich, wilaya de Bouira. **SAADA Ilham**, MAHDI khadidja. International Seminar on Biodiversity, Valorization and Conservation of Urban and Forest Ecosystems: (In support of sustainable development). Université Mohamed Boudiaf de M'sila. 28.29-.04.2021.
- Les pesticides chimiques et la perturbation endocrinienne (Revue bibliographique). **SAADA Ilham**, MAHDI khadidja. 1er Séminaire International PERTURBATEURS ENDOCRINIENS ENVIRONNEMENT & REPRODUCTION (PEER 2021) tenu du 07 au 08 juillet 2021 à l'université Blida 1.
- Effect of extraction methods on the insecticidal activity of the crude extract of *Asphodelus microcarpus* flowers. **Ilham SAADA**, Khadidja Mahdi and Nabila Boubekka. 1st International Webinar of Animal Biodiversity, Protection and Environment " WIBAPE2022 " .26 to 27 May 2022 National Higher School of Agronomy.

## **National communications**

- « CONTACT TOXICITY AND REPULSION OF AN ESSENTIAL OIL OF AROMATIC PLANT AGAINST THE MAIN INSECT PESTS OF THE STORED PRODUCTS». **Ilham SAADA**, Khadidja Mahdi. Séminaire National sur les Pesticides: Législation, environnement et santé (SNP 2021). 24 et 25 Novembre 2021. Boumerdes.
- Evaluation de la toxicité aigüe et de l'effet répulsif des extraits bruts de *Cytisus scoparius*. **Ilham SAADA**, Khadidja Mahdi. Séminaire national sur la valorisation des bioressources végétale en Algérie (VBRV).07/06/2022. Khenchela.
- Evaluation de l'activité répulsive et antifongique de l'extrait brut des feuilles sèches de *Mentha rotundifolia* (linée, 1762). **Ilham SAADA**, Khadidja Mahdi. The first online National Seminar on Plant Production and Protection.19- 20 June 2021. Laghouat.
- Comparison of two extraction systems for isolation of phenolic compounds from some medicinal plants. **Ilham SAADA**, Khadidja Mahdi. 1 er Séminaire National des Plantes Aromatiques et Médicinales de l'Est Algérien (SNPAMEA-1). 14 et 15 Septembre 2021. Skikda.
- Optimisation d'extraction assistée par Ultrason des composés phénoliques totaux à partir d'une plante aromatique. Séminaire National : Ressources végétales, Produits Naturels et Santé. **SAADA Ilham** MAHDI Khadidja ; BOUBEKKA Nabila. 9, 10, 11 juin 2021. Blida.



## Variability of insecticidal activity of *Cupressus sempervirens* L., *Juniperus phoenicea* L., *Mentha rotundifolia* (L.) Huds, and *Asphodelus microcarpus* Salzm. & Viv. extracts according to solvents and extraction systems

Ilham Saada<sup>a,b,\*</sup>, Khadidja Mahdi<sup>b</sup>, Nabila Boubekka<sup>b</sup>, Nourelimane Benzitoune<sup>a,b</sup>, Omar Salhi<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire de Gestion et Valorisation des Ressources Naturelles et Assurances Qualité (LGVRNAQ), Faculté des sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre, Université de Bouira, 10000, Bouira, Algeria

<sup>b</sup> Département des Sciences Agronomiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre, Université de Bouira, 10000, Bouira, Algeria

<sup>c</sup> Institut des sciences vétérinaires. Université de Blida, Algeria

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

*Cupressus sempervirens* L.  
*Juniperus phoenicea* L.  
*Mentha rotundifolia* (L.) huds  
*Asphodelus microcarpus* Salzm. & Viv.  
 Secondary metabolites  
 Insecticidal activity

### ABSTRACT

Medicinal plants represent an enormous potential source of chemical derivatives with many therapeutic properties whose variability is modified by exogenous factors. The present research focused on the evaluation of the effects of solvents with different polarities (hydro-methanolic, hydro-ethanolic, hydro-acetonic, and aqueous) and the extraction methods: maceration extraction (ME), and ultrasound-assisted extraction (UAE) on the total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), and total condensed tannins (TCT) in *Cupressus sempervirens* L., *Juniperus phoenicea* L., *Mentha rotundifolia* (L.) Huds, and *Asphodelus microcarpus* Salzm. & Viv. extracts. The toxicity by contact of the plant extracts obtained against *Tribolium castaneum* (Herbst) adults was studied. The quantitative characterization revealed significant differences ( $p < 0.05$ ) in the secondary metabolites of the different extracts analyzed depending on the method and solvent used. The result of the contact test indicated that the hydro-acetonic extracts obtained by ultrasound-assisted extraction exhibited the strongest insecticidal power with a corrected mortality of  $59.25 \pm 6.41\%$  and  $51.72 \pm 11.54\%$  for *C. sempervirens* L. and *J. phoenicea* L., respectively, and a mortality rate of  $66.66 \pm 5.77\%$  was recorded for the hydro-methanolic extract of *M. rotundifolia* (L.) Huds. While in *A. microcarpus* Salzm. & Viv., the highest mortality rate ( $33.33 \pm 7.07\%$ ) was registered in the hydro-acetonic extract obtained by maceration. The results show that there is a strong relationship between the efficacy of extracts as biopesticides and their abundance in biomolecules.

### 1. Introduction

Currently, the different uses of medicinal plants are gradually taking a very important place in the biological and agronomic fields, because of their effectiveness as antibacterial, antifungal, insecticidal, and antioxidant agents. In particular, secondary metabolites are represented as biomolecules of different structures that have several substantial effects (Boussouf et al., 2017). However, it is necessary to use these metabolites in a way that does not have adverse consequences for the environment or human health; problems that some synthetic products of chemical origin pose. As such, the research aspect of plant extracts is a scientific theme that has continued to attract researchers from different disciplines

(Al-Snafi 2016; Bouyahya et al., 2017; Sola et al., 2014).

Previous studies have corroborated the proportional correlation between the biological activities and the content of phenolic compounds in plant extracts (Cavar et al., 2021; Hasaballah et al., 2018). In general, these secondary metabolites are significantly influenced by solvent and extraction method, therefore, their choice is considered a crucial step that need to be thoroughly studied to ensure the optimal dissolution of bioactive agents (Ghasemzadeh et al., 2015; Hayouni et al., 2007).

The ultrasonic vibrations of the bath allow the extraction of specific plant components by reducing the consumption of time and energy, simplifying the handling, and guaranteeing the purity of the final product (Chemat et al., 2017; Yong-guang et al., 2012). Despite the lack

\* Corresponding author. Laboratoire de Gestion et Valorisation des Ressources Naturelles et Assurances Qualité (LGVRNAQ), Faculté des sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre, Université de Bouira, 10000, Bouira, Algeria.

E-mail addresses: [ilanilhem55@gmail.com](mailto:ilanilhem55@gmail.com), [i.saada@univ-bouira.dz](mailto:i.saada@univ-bouira.dz) (I. Saada).

<https://doi.org/10.1016/j.bse.2022.104502>

Received 30 April 2022; Received in revised form 4 September 2022; Accepted 8 September 2022

Available online 14 September 2022

0305-1978/© 2022 Elsevier Ltd. All rights reserved.

of some improvements in terms of efficiency and time constraints, comparative studies of conventional and innovative extraction methods have justified that the maceration process is the most commonly used in the field of extraction (Cacique et al., 2020; Gori et al., 2021).

Several plants belonging to the families of Cupressaceae, Lamiaceae, and Liliaceae have been previously evaluated for their pharmacological effects (Barnawi et al., 2021; Boussouf et al., 2017; Mayouf et al., 2019). Furthermore, the Agri-food sector can benefit from plant extracts through their use in integrated pest management strategies as bio-products with fungicidal and insecticidal effects to combat certain crop pests and phytopathological fungi (Alharbi et al., 2021; Dane et al., 2016).

To our knowledge, and according to literature data, there are few previous works addressing the subject of ultrasound-assisted extraction compared to conventional extractions of plant biomolecules from our target plants, *C. sempervirens* L., *J. phoenicea* L., *M. rotundifolia* (L.) Huds, and *A. microcarpus* Salzm. & Viv. Therefore, and with the main objective of valorizing the plant heritage; the present study is interested in the crude extracts of these plants, of which this research aims at extracting, estimating, and comparing the contents of certain metabolite compounds (phenolic, flavonoids, and tannins) obtained by four solvents through two extraction methods. Secondly, to highlight the relationship between the contents of bioactive compounds in plant extracts and their activities as insecticides, in order to develop possible new biological additives.

## 2. Materiel and methods

### 2.1. Plant materials

The aerial parts (Leaves) of «*C. sempervirens* L. » and «*J. phoenicea* L. », «*M. rotundifolia* (L.) Huds », and «*A. microcarpus* Salzm. & Viv.» flowers, were collected from different areas of the region of Bouira, Algeria (36.2835299° N, 3.9878427° E), during March and May 2020. All plant species used for this study were determined and confirmed with the Herbarium of the department of botany of national high school of agronomy El-Harrach (Algiers).

### 2.2. Preparation of extracts

The parts of each plant used for extraction were separated manually, rinsed with distilled water and dried for 7–10 days depending on the plant at  $25 \pm 2$  °C in a dark laboratory room. Then, they were ground with an electric grinder until fine powders were obtained, which were then passed through a 200 µm diameter sieve.

#### 2.2.1. Preparation of extraction solvents

The extractions were carried out using different types of solvents previously prepared in mixture with distilled water: 50% (v/v) methanol (hydro-methanol), 50% ethanol (hydro-ethanol), 50% acetone (hydro-acetone), and distilled water.

#### 2.2.2. Maceration extraction (ME)

The different extracts were prepared by mixing 20 g of raw plant material with 200 mL of hydro-methanol, hydro-ethanol, hydro-acetone, and distilled water, separately in a glass vial; the mixtures were left to macerate in the dark for 48 h at  $25 \pm 2$  °C under silent magnetic stirring at 200 rpm/min (Xu et al., 2017).

#### 2.2.3. Ultrasound assisted extraction (UAE)

The method adopted for this extraction was that of Xu et al. (2017), with some modifications. The principle of this extraction method is to use an ultrasonic bath with sound vibrations (J.P. SELECTA- Spain) of 50/60 Hz and a maximum power of 195 W. A mass of 20 g of plant powder was mixed with 200 mL of hydro-methanol, hydro-ethanol, hydro-acetone, and distilled water, separately, previously prepared, at

40 °C for 20 min.

The mixtures obtained by these two extraction methods were filtered and then centrifuged (Sigma- Germany 220–240V) at 3000 rpm/min for 15 min. The extracts were dried under vacuum until a completely dry material was obtained. The crude extracts were stored at 4 °C until use. All chemicals used in this study were of analytical grade and were all purchased from Sigma-Aldrich (Germany) and BIOCHEM Chemo-pharma (France).

### 2.3. Determination of total phenolic content (TPC)

The method described by Wong et al. (2006) was adopted to estimate the total phenolic content. A volume of 500 µL of diluted aliquots was placed in test tubes and 500 µL of Folin Ciocalteu reagent (10%) was added, followed by the addition of sodium carbonate (7.5%) after 4 min incubation in the dark. The test tubes were vortexed and incubated for 30 min at room temperature. The TPC was measured at 765 nm using a UV-VIS spectrophotometer model SP-3000 Nano. The TPC rates were expressed as mg gallic acid equivalents per g of dry matter (mg GAE/g).

### 2.4. Determination of total flavonoid content (TFC)

According to Alara et al. (2018), a volume of 1 mL of each diluted extract was mixed with 1 mL of  $AlCl_3$  (2%, prepared in methanol) in a test tube and incubated in the dark for 1 h at room temperature. The flavonoid content of the extracts was measured at 420 nm using a UV-VIS spectrophotometer model SP-3000 Nano. The TFC rates were expressed as mg quercetin equivalents per g of dry matter (mg QE/g).

### 2.5. Determination of total condensed tannins content (TCT)

The condensed tannins content was determined according to the vanillin method described by Julkunen-Tiitto (1985) with some modifications. A volume of 50 µL of each extract was added to 750 µL of vanillin (4%). The resulting mixture was shaken vigorously, and 375 µL of concentrated hydrochloric acid was added and incubated to react at room temperature for 20 min. The absorbance was measured at 550 nm. The TCT rates were expressed as mg catechin equivalents per g of dry matter (mg CE/g).

### 2.6. Contact toxicity

The experimental design of the insecticide test was completely randomized with four replicates by a dose of the hydro-methanolic, hydro-ethanolic, hydro-acetonic, and aqueous extracts obtained previously. Ten experimentally conditioned individuals from permanent laboratory rearing and newly emerged of *T. castaneum* (Herbst) of identical size were distributed in glass Petri dishes. The tests were carried out according to the methodology described by de Cássia Seffin et al. (2010), in which the insects were treated with extracts prepared at different doses (50, 100, 200, 300, and 400 µg/mL) separately. A volume of 1 µL of each dose was applied topically to the dorsal surface of adults using a micropipette. They were then left in the open air for 10 min before being placed in 75 g glass vials, covered with organza cloth and containing 10 g of crushed sterile wheat seeds. The jars were incubated under controlled conditions of  $27 \pm 2$  °C and 75% relative humidity. Using the same toxicity test procedure, control lots were used to determine corrected mortality (Abbott, 1925).

### 2.7. Statistical analysis

The graphical representation of the results was carried out by GraphPad Prism 8.0.2. The mean value was accompanied by standard deviations (means  $\pm$  SD). All extraction analyses were performed in triplicate (n = 3). The statistical analysis of the results was performed using the Two-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's

comparison test. The difference between two values is considered significant when  $P < 0.05$ .

### 3. Results

#### 3.1. Comparison of total phenolic content (TPC)

As shown in Fig. 1, significant differences ( $p < 0.05$ ) were recorded by presenting the highest TPCs in the hydro-acetonic extracts obtained by UAE (566.5  $\pm$  10.66 mg GAE/g in *C. sempervirens* L., 587.0  $\pm$  9.2 mg GAE/g in *J. phoenicea* L., and 353.0  $\pm$  10.75 mg GAE/g *M. rotundifolia* (L.) Huds), and obtained by ME (509.0  $\pm$  13.00 mg GAE/g in *C. sempervirens* L., 498.1  $\pm$  15.7 mg GAE/g in *J. phoenicea* L., and 414.33  $\pm$  11.08 mg GAE/g in *M. rotundifolia* (L.) Huds). On the other hand, no significant difference ( $p > 0.05$ ) was recorded for the *A. microcarpus* Salzm. & Viv. extracts with values ranging from 39.33  $\pm$  10.61 mg GAE/g to 69.1  $\pm$  8.0 mg GAE/g. The *C. sempervirens* L., *J. phoenicea* L., and *M. rotundifolia* (L.) Huds, TPCs varied significantly ( $p < 0.05$ ) in the same solvents by changing the extraction method (Fig. 1. Table 1)

#### 3.2. Comparison of total flavonoid content (TFC)

The results of the quantitative estimation of TFC illustrated in Fig. 2 show that the hydro-methanolic extracts were highly significant ( $p < 0.05$ ) compared to the hydro-acetonic, hydro-ethanolic, and aqueous extracts; and gave the highest levels on TFC in *C. sempervirens* L., *J. phoenicea* L., and *M. rotundifolia* (L.) Huds, with 23.68  $\pm$  0.82 mg QE/g, 25.8  $\pm$  1.31 mg QE/g, and 33.1  $\pm$  0.32 mg QE/g respectively, recorded for the extracts obtained by UAE, and 58.85  $\pm$  0.23 mg QE/g, 37.0  $\pm$  0.83 mg QE/g, and 40.9  $\pm$  0.1 mg QE/g recorded for the extracts obtained by ME in plants in the same order mentioned previously. In *A. microcarpus* Salzm. & Viv., the hydro-acetonic extract obtained by ME significantly ( $p < 0.05$ ) presented the best TFC value (28.41  $\pm$  0.3 mg QE/g). In contrast, no significant difference ( $p > 0.05$ ) was indicated in the extracts obtained by UAE. From Fig. 2 and Table 2, it is clear that the yields of acquired flavonoids are significantly ( $p < 0.05$ ) influenced by the extraction methods.

**Table 1**

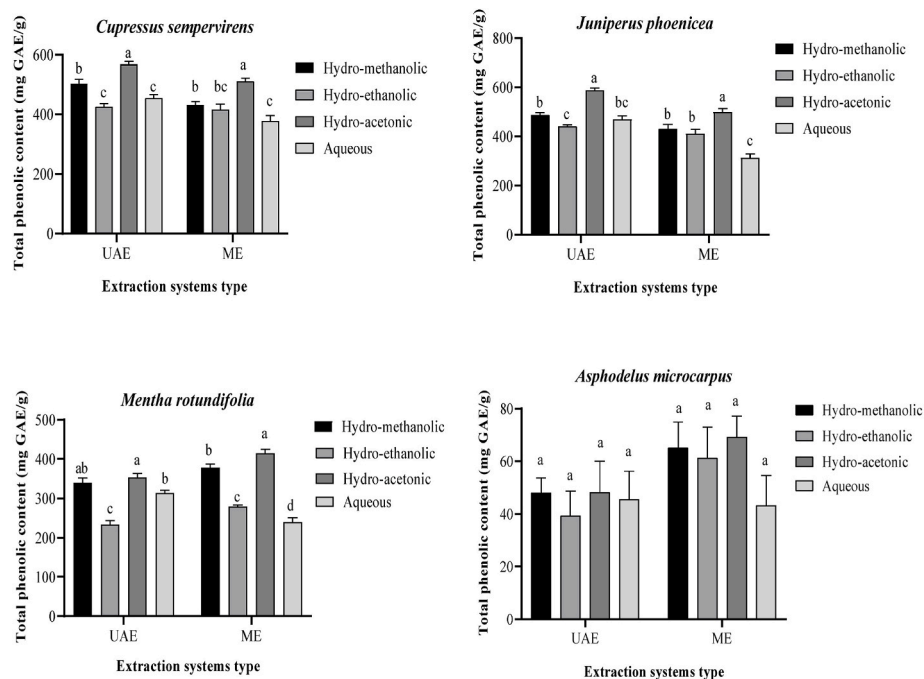
Significant difference ( $p < 0.05$ ) between the of total phenolic content (TPC) obtained by two extraction methods for the same solvent.

P value	C. sempervirens	J. phoenicea	M. rotundifolia	A. microcarpus
M. UAE X M. ME	0.0005***	0.0045**	0.0041**	0,4727 <sup>ns</sup>
E. UAE X E. ME	0.9926 <sup>ns</sup>	0.3762 <sup>ns</sup>	0.0006***	0,2170 <sup>ns</sup>
Ac. UAE X Ac. ME	0.0041**	<0.0001****	<0.0001****	0,2487 <sup>ns</sup>
Aq. UAE X Aq. ME	0.0002***	<0.0001****	<0.0001****	>0,9999 <sup>ns</sup>

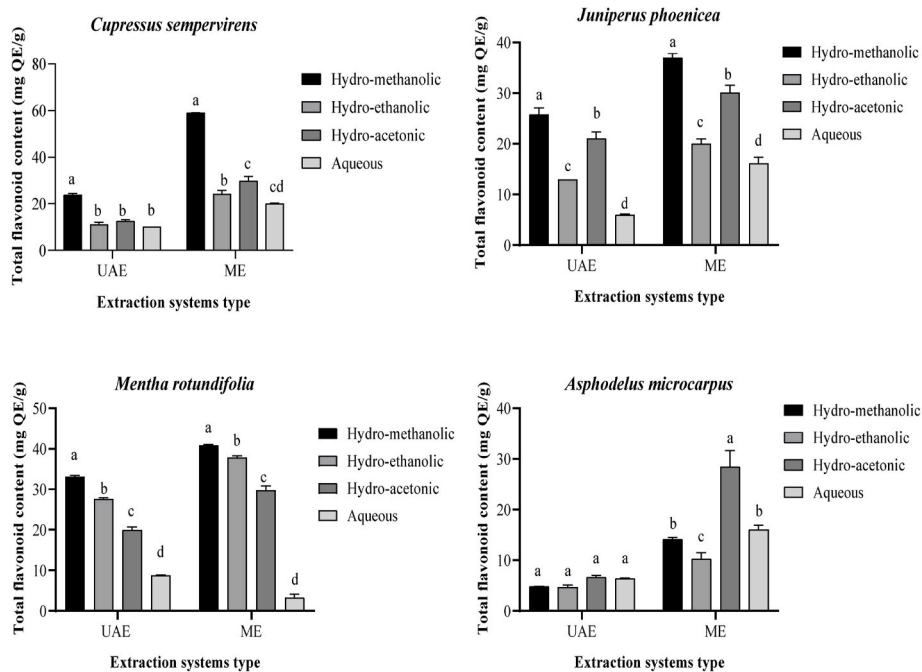
\*M: Hydro-methanolic extract, E: Hydro-ethanolic extract, Ac: Hydro-acetonic extract, Aq: Aqueous extract, UAE: Ultrasonic assisted-extraction, ME: Maceration extraction.

#### 3.3. Comparison of total condensed tannins (TCT)

Fig. 3 shows that the TCT levels registered in the hydro-acetonic extracts (84.33  $\pm$  7.98 mg CE/g by UAE, and 86.47  $\pm$  0.37 mg EC/g by ME) and the hydro-ethanolic extracts (78.0  $\pm$  6.0 mg EC/g by UAE, and 72.0  $\pm$  6.0 mg EC/g by ME) of *C. sempervirens* L. were significantly ( $p < 0.05$ ) higher than in the aqueous and hydro-methanolic extracts. Also, in *J. phoenicea* L. the hydro-acetonic extracts gave significantly ( $p < 0.05$ ) the maximum contents of condensed tannins (161.0  $\pm$  7.0 mg EC/g by UAE, and 120.0  $\pm$  2.27 mg EC/g by ME). In contrary, in *M. rotundifolia* (L.) Huds, the values found in aqueous extracts obtained by UAE (8.7  $\pm$  0.11 mg CE/g) and obtained by ME (7.89  $\pm$  0.09 mg CE/g) were highly significant ( $p < 0.05$ ) compared to the rest of the extracts. In the case of *A. microcarpus* Salzm. & Viv. the highest content was noted on hydro-acetonic extract (7.0  $\pm$  0.1 mg CE/g) obtained by UAE and the aqueous extract (9.25  $\pm$  0.77 mg CE/g) obtained by ME. Depending on the plant, the TCT of the extracts vary significantly ( $p < 0.05$ ) according to the extractions systems for the same solvents (Fig. 3. Table 3)



**Fig. 1.** Effect of different solvents on the total phenolic content (mg GAE/g) of plant extracts obtained with Ultrasonic assisted extraction (UAE) and maceration extraction (ME). The data are means  $\pm$  Standard deviation of three replicates. The histogram for the same extraction system with different letters indicates significant differences at  $p < 0.05$ .



**Fig. 0.2.** Effect of different solvents on the total flavonoid content (mg QE/g) of plant extracts obtained with Ultrasonic assisted extraction (UAE) and maceration extraction (ME). The data are means  $\pm$  Standard deviation of three replicates. The histograms for the same extraction system with different letters indicates significant differences at  $p < 0.05$ .

**Table 2**

Significant difference ( $p < 0.05$ ) between the total flavonoid content (TFC) obtained by two extraction methods for the same solvent.

P value	C. sempervirens	J. phoenicea	M. rotundifolia	A. microcarpus
M. UAE X M. ME	<0,0001****	<0,0001****	<0,0001****	<0,0001****
E. UAE X E. ME	<0,0001****	<0,0001****	<0,0001****	0.0015**
Ac. UAE X Ac. ME	<0,0001****	<0,0001****	<0,0001****	<0,0001****
Aq. UAE X Aq. ME	<0,0001****	<0,0001****	<0,0001****	<0,0001****

\*M: Hydro-methanolic extract, E: Hydro-ethanolic extract, Ac: Hydro-acetonic extract, Aq: Aqueous extract, UAE: Ultrasonic-assisted-extraction, ME: Maceration extraction.

### 3.4. Contact toxicity of raw extracts

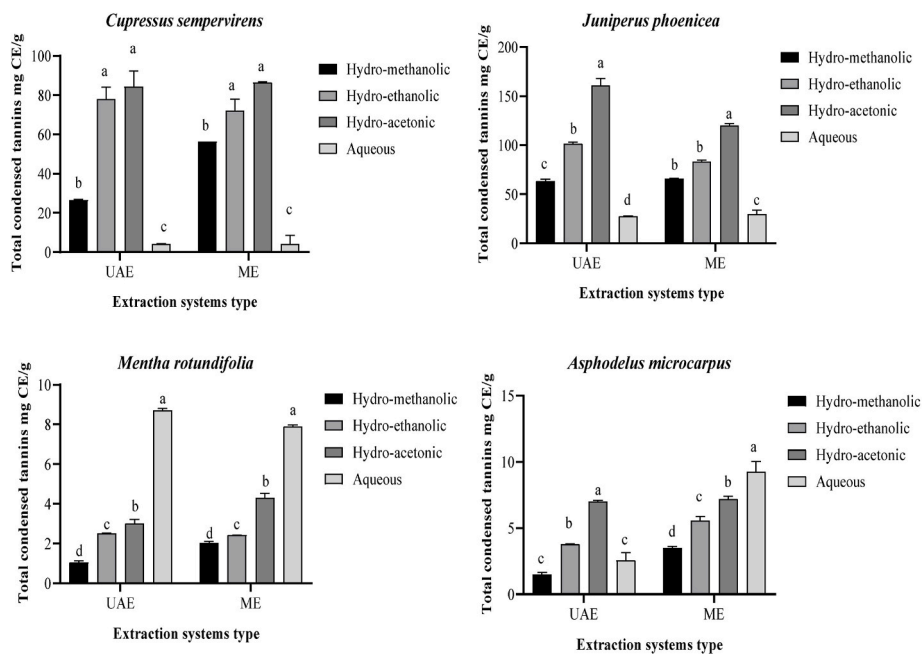
The evolution of dose-corrected mortality of the different extracts is presented in Fig. 4. The contact toxicity of plant extracts tested at different doses on *T. castaneum* (Herbst) adults showed variable rates depending on the extraction and solvent used after 10 days of treatment. The percentage of corrected mortality ranged from  $23.33 \pm 5.00$  to  $59.25 \pm 6.14$ ,  $51.72 \pm 11.54$  to  $23.00 \pm 5.77$ ,  $66.66 \pm 5.77$  to  $40.00 \pm 10.00$ ,  $24.13 \pm 5.77$  to  $10.00 \pm 7.07$  (%), respectively for *C. sempervirens* L., *J. phoenicea* L., *M. rotundifolia* (L.) Huds, and *A. microcarpus* Salzm. & Viv. extracts obtained by UAE. In contrast, the insecticidal test results of the extracts obtained by ME were from  $42.85 \pm 5.77\%$  to  $20.00 \pm 10.00\%$  for *C. sempervirens* L.,  $48.27 \pm 17.32$  to  $20.00 \pm 10.00\%$  for *J. phoenicea* L.,  $62.95 \pm 5.77$  to  $37.07 \pm 5.77\%$  for *M. rotundifolia* (L.) Huds, and  $33.33 \pm 7.07$  to  $6.66 \pm 0.00\%$  for *A. microcarpus* Salzm. & Viv.

## 4. Discussion

In the present study, the extracts were prepared from the aerial parts of the plants, which are the parts more studied for their biological activities (Chassagne et al., 2020; Ennajjar et al., 2009; Malmir et al., 2018; Tumen et al., 2012). The aim is to prevent the plants from being uprooted and to ensure their regeneration. Secondly, to overcome the problems associated with the solid-liquid extraction process, much effort has been devoted in the present study to improving the yield of bioactive compounds by varying some fundamental parameters. In this context, four solvents with different polarities were used in the form of a Solvent/water mixture to ensure increased solubility of the bioactive compounds (Klotoé et al., 2020; Hayouni et al., 2007).

The results show that the different plant extracts vary significantly in content, even for species of the same family. The UAE method registered the best TPC values in forest species of the family « Cupressaceae », this result can be justified by the similarity of their plant structure, which requires a mechanical action accompanied by a moderate temperature that causes the bursting of plant cells and ensures the exudation of this type of bioactive molecules. Moreover, the results of Klavins et al. (2017) and Silva et al. (2021) confirm the effectiveness of this process on the release of polyphenols into the solvent during extraction. On the other hand, statistical analysis showed that extracts of *M. rotundifolia* (L.) Huds and *A. microcarpus* Salzm. & Viv. obtained by 48 h maceration presented significantly the best polyphenol contents. These findings are consistent with those reported by Boussouf et al. (2017), Di Petrillo et al. (2016), and Mayouf et al. (2019), who reported significant polyphenol contents after 48 h and 24 h of maceration. On the other hand, it can be noted that distilled water gave the highest TPCs using the UAE method for all the plants studied compared to those obtained by ME using the same solvent. It is therefore subjective that phenolic compound are sensitive molecules to external effects, and they were degraded in contact with water for 48 h at 25 °C (Osorio-Tobon 2020).

An order can be established for all phenolic extracts of the different plant species studied as follows: hydro-acetonic, hydro-methanolic, aqueous, and hydro-ethanolic, concerning the extracts obtained UAE. While a different order was noted for the extracts obtained by ME:



**Fig. 0.3.** Effect of different solvents on total condensed tannins (mg CE/g) of the studied plant extracts obtained with Ultrasonic assisted extraction (UAE) and maceration extraction (ME). The data are means  $\pm$  Standard deviation of three replicates. The histogram for the same extraction system with different letters indicates significant differences at  $p < 0.05$ .

**Table 3**

Significant difference ( $p < 0.05$ ) between the total condensed tannins (TCT) obtained by two extraction methods for the same solvent.

	P value			
	C. sempervirens	J. phoenicea	M. rotundifolia	A. microcarpus
M. UAE X M. ME	0.0001***	<0,0001****	<0,0001****	0.0002***
E. UAE X E. ME	0.8715 <sup>ns</sup>	0.8741 <sup>ns</sup>	0.9964 <sup>ns</sup>	0.0006***
Ac. UAE X Ac. ME	0.9996 <sup>ns</sup>	<0,0001****	<0,0001****	0.9973 <sup>ns</sup>
Aq. UAE X Aq. ME	>0.9999 <sup>ns</sup>	<0,0001****	<0,0001****	<0,0001****

\*M: Hydro-methanolic extract, E: Hydro-ethanolic extract, Ac: Hydro-acetonic extract, Aq: Aqueous extract, UAE: Ultrasonic-assisted extraction, ME: Maceration extraction.

hydro-acetonic, hydro-methanolic, hydro-ethanolic, and aqueous. However, the results of the current study are not consistent with previous studies adopting 24 h maceration (Brahmi et al., 2017; Rita et al., 2016).

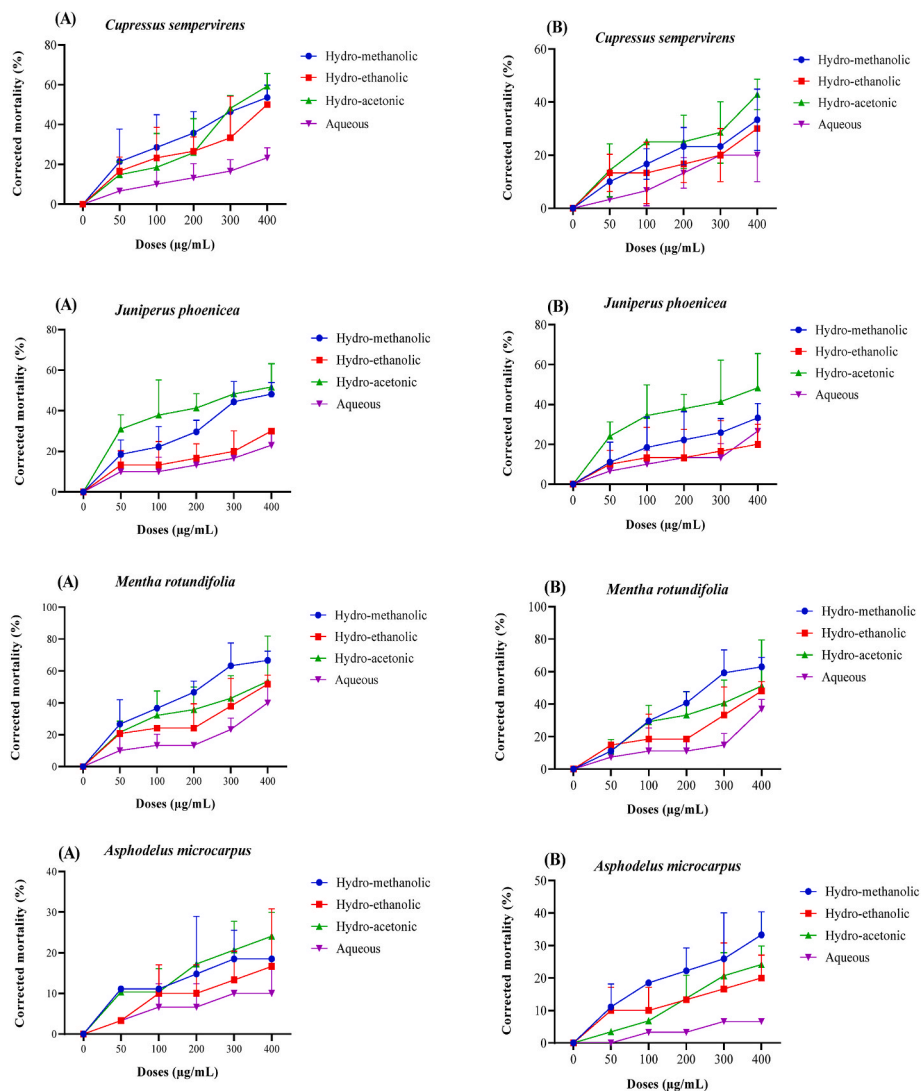
In contrast to TPC, *C. sempervirens* L., *J. phoenicea* L., and *M. rotundifolia* (L.) Huds, hydro-methanolic extracts presented the highest TFC for both extraction methods. Moreover, Redhouane et al. (2020) and Soltani et al. (2018) reported that the TFC recorded for the methanolic extracts was higher than those recorded for the aqueous extracts. In *J. phoenicea*, the quantitative estimation of flavonoids content reported by Keskes et al. (2014) and Soltani et al. (2018), revealed a very high flavonoids content of  $98.36 \pm 6.27$  mg CE/g and  $176.0 \pm 0.52$  mg CE/g, respectively, on the methanolic extracts obtained by maceration. In contrast, Ozturk et al. (2011) and Tumen et al. (2012) concluded that acetone was the best solvent for extracting flavonoids. However, this result disagrees with that of Di Petrillo et al. (2016) and Lazarova et al. (2020), who reported that extracts prepared in methanol and in ethanol by maceration present the highest flavonoids content in some species of the genus *Asphodelus*. Statistical analysis revealed that for all plants studied, the highest TFCs were recorded for extracts

obtained by ME. These results confirm the frequent use of this method to extract flavonoids from the plants studied (Rani et al., 2021).

The statistical analysis of TCT shows that hydro-acetonic and hydro-ethanolic extracts of *C. sempervirens* L. and *J. phoenicea* L., and aqueous extracts of *M. rotundifolia* (L.) Huds and *A. microcarpus* Salzm. & Viv. were significantly different. For *C. sempervirens*, the highest value of  $108.9 \pm 8.35$  mg CE/g was recorded in the hydro-acetonic extract, this value is higher than that reported by Rahmani et al. (2019) and Rguez et al. (2019) for the methanolic and aqueous extracts obtained by maceration. On the other hand, for *J. phoenicea* L., the highest TCT content was  $165.0 \pm 0.5$  mg CE/g. The result is broadly consistent with the studies of Ennajjar et al. (2009) and Soltani et al. (2018), who reported that *J. phoenicea* species are rich in condensed tannins with values of  $122.66 \pm 5.89$  mg EC/g and  $57.2 \pm 2.8$  g CE/kg, recorded for the ethanolic extracts obtained by maceration. In addition, the results reported by Redhouane et al. (2020), confirm that water gives the best condensed tannins contents in *M. rotundifolia* extract. For *A. microcarpus* Salzm. & Viv., the hydro-methanolic extracts presented the lowest TCT contents; these results differ from those reported by Eddine et al. (2015), in which the methanolic extract gave the best TCT content compared to ethanol.

Overall, the phenolic components can vary depending on the extraction method adopted (Momchev et al., 2020), the type of solvent (polarity) used (Benabdallah et al., 2016), the plant species, place and period of harvest (Ranjbar et al., 2020; Redhouane et al., 2020), the part of the plant collected (Mayouf et al., 2019), as well as its phenological stage (Rguez et al., 2019).

The evaluation of the corrected mortality expressed as a percentage shows a moderate insecticidal activity by contact for the extracts of *C. sempervirens* L. and *J. phoenicea* L. species, and high for the *M. rotundifolia* (L.) Huds, and low for *A. microcarpus* Salzm. & Viv. extracts towards *T. castaneum* adults after 10 days of contact compared to untreated controls. These results can be justified by the abundance of phenolic compounds in the extracts, which may confirm the correlation between the level of biochemical compounds and their effectiveness as insecticidal agents (Al-Massarani et al., 2021; Baliyarsingh et al., 2020). Globally, the extraction method as well as the solvent used significantly affected the insecticidal activity. The hydro-acetonic extracts of



**Fig. 4.** Corrected mortality (%) of plants extracts. The graphs with the capital letter (A) correspond to the results of the extracts obtained by Ultrasound assisted extraction (UAE) and the other graph with the capital letter (B) correspond to the results of the extracts obtained by maceration extraction (ME).

*C. sempervirens* L., *J. phoenicea* L., and *A. microcarpus* Salzm. & Viv., and hydro-methanolic extract of *M. rotundifolia* (L.) Huds obtained by UAE presented the highest mortality percentages compared to the extracts obtained by ME; the same information was reported by [Hasaballah et al. \(2018\)](#) and [Hernandez-Trejo et al. \(2021\)](#).

## 5. Conclusion

In the light of the overall results, it can be concluded that the technique extraction technique and the use of solvents of varying polarities affect the content of secondary metabolite constituents as well as the insecticidal activity of plant extracts. Hydro-acetonic and hydro-methanolic solvents seem to be the most recommended solvents to achieve considerable levels of more effective and environmentally friendly bioactive compounds for the biological activities of interest. Furthermore, significant positive correlations were determined between total bimolecular content and insecticidal activity. In addition, the extracts analyzed showed high levels of phenolic compounds which may have other biological activities.

## Author contributions

Conceptualization, investigation, methodology, and experiments:

Ilham SAADA. Data analysis and editing contribution; Khadidja MAHDI. Visualization; Nabila BOUBEKKA. Phytochemical resources; Nour-elimane BENZITOUNE. Reviewing contribution; Omar SALHI. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

## Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the Ministry of Higher Education and Scientific Research (MESRS), Faculty of Natural Sciences and Life and Earth Sciences, University of Bouira, Algeria, and Cooperative of cereals and legumes of Bouira, Algeria.

## Abbreviations

ME	Maceration extraction
TCT	Total condensed tannins
TFC	Total flavonoids content

**TPC** Total phenolic content  
**UAE** Ultrasound-assisted extraction

## References

- Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18, 265–267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>.
- Alara, O.R., Abdurahman, N.H., Ukaegbu, C.I., Azhari, N.H., 2018. *Vernonia cinerea* leaves as the source of phenolic compounds, antioxidants, and anti-diabetic activity using microwave-assisted extraction technique. *Ind. Crop. Prod.* 122, 533–544. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.034>.
- Alharbi, N.K., Naghmouchi, S., Al-Zaban, M., 2021. Evaluation of antimicrobial potential and comparison of HPLC composition, secondary metabolites count, and antioxidant activity of *Mentha rotundifolia* and *Mentha pulegium* extracts. *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* 2021, 9081536. <https://doi.org/10.1155/2021/9081536>.
- Al-Massarani, S.M., El-Gamal, A.A., Al-Rehaily, A.J., et al., 2021. Insecticidal activity and free radical scavenging properties of isolated phytoconstituents from the Saudi plant *Nuxia oppositifolia* (hochst.). *Molecules* 26 (4), 914. <https://doi.org/10.3390/molecules26040914>.
- Al-Snafi, A.E., 2016. Antiparasitic, antiprotozoal, molluscicidal and insecticidal activity of medicinal plants (part 2)—plant based review. *Scholars Acad. J. Pharm.* 5 (6), 194–207. <https://doi.org/10.21276/sajp.2016.5.6.1>.
- Baliyarsingh, B., Mishra, A., Rath, S., 2020. Evaluation of insecticidal and repellency activity of leaf extracts of *Andrographis paniculata* against *Tribolium castaneum* (red flour beetle). *Int. J. Trop. Insect Sci.* 41 (1), 765–773. <https://doi.org/10.1007/s42690-020-00267-9>.
- Barnawi, I.O., Nasr, F.A., Noman, O.M., et al., 2021. Induction of apoptosis and cell cycle arrest by chloroform fraction of *Juniperus phoenicea* and chemical constituents analysis. *Open. Chem.* 19 (1), 119–127. <https://doi.org/10.1515/chem-2021-0195>.
- Benabdallah, A., Rahmoune, C., Boumendjel, M., Aissi, O., Messaoud, C., 2016. Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 6 (9), 760–766. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.06.016>.
- Boussouf, L., Boutennoune, H., Kebieche, M., Adjeroud, N., Al-Qaoud, K., Madani, K., 2017. Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant effects of phenolic compound from Algerian *Mentha rotundifolia* L. leaves on experimental animals. *South Afr. J. Bot.* 113, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.07.003>.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Khay, E.O., Edaoudi, F., Talbaoui, A., Et-Touys, A., Abrini, J., Dakka, N., 2017. Antibacterial, antioxidant and antitumor properties of Moroccan medicinal plants: a review. *Asian. Pac. J. Trop. Dis.* 7, 57–64. <https://doi.org/10.12980/apjtd.7.2017D6-294>.
- Brahmi, F., Dahmoune, F., Kadri, N., et al., 2017. Antioxidant capacity and phenolic content of two Algerian *Mentha* species *M. rotundifolia* (L.) Huds, *M. pulegium* L., extracted with different solvents. *J. Compl. Integr. Med.* 14 (4), 1–9. <https://doi.org/10.1515/jcim-2016-0064>.
- Cacique, A.P., Barbosa, É.S., Pinho, G.P., Silvério, F.O., 2020. Maceration extraction conditions for determining the phenolic compounds and the antioxidant activity of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Cienc. E Agrotecnol* 44, 1–12. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044017420>.
- Cavar, S.J., Komzakova, K., De Diego, N., Kaffkova, K., Tarkowski, P., 2021. Phenolic compounds and biological activity of selected *Mentha* species. *Plants* 10 (3), 550. <https://doi.org/10.3390/plants10030550>.
- Chassagne, F., Samarakoon, T., Porras, G., et al., 2020. A systematic review of plants with antibacterial activities: a taxonomic and phylogenetic perspective. *Front. Pharmacol.* 11, 1–29. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.586548>.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.S., Abert-Vian, M., 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrason. Sonochem.* 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ulsonch.2016.06.035>.
- Dane, Y., Mouhouche, F., Canela-Garayoa, R., Delpino-Rius, A., 2016. Phytochemical analysis of methanolic extracts of *Artemisia absinthium* L. 1753 (asteraceae), *Juniperus phoenicea* L., and *Tetraclinis articulata* (vahl) mast, 1892 (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. *Arabian J. Sci. Eng.* 41, 2147–2158. <https://doi.org/10.1007/s13369-015-1977-2>.
- de Cássia Seffin, R., Shikano, I., Akhtar, Y., Isman, M.B., 2010. Effects of crude seed extracts of *Annona atemoya* and *Annona squamosa* L. against the cabbage looper, *Trichoplusia ni* in the laboratory and greenhouse. *Crop Protect.* 29, 20–24. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.09.003>.
- Di Petrillo, A., González-Paramás, A.M., Era, B., Medda, R., Pintus, F., Santos-Buelga, C., Fais, A., 2016. Tyrosinase inhibition and antioxidant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts. *BMC. Complement. altern. med.* 16, 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1442-0>.
- Eddine, L.S., Segni, L., Ridha, O.M., 2015. *In vitro* assays of the antibacterial and antioxidant properties of extracts from *Asphodelus tenuifolius* Cav and its main constituents: a comparative study. *Int. J. Pharm. Clin. Res.* 7 (2), 119–125.
- Ennajar, M., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Abderraba, M., Raies, A., Romdhane, M., 2009. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae). *J. Food Sci.* 74, 364–371. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01277.x>.
- Ghazemzadeh, A., Jaafar, H.Z., Juraimi, A.S., Tayebi-Meigooni, A., 2015. Comparative evaluation of different extraction techniques and solvents for the assay of phytochemicals and antioxidant activity of hashemi rice bran. *Molecules* 20 (6), 10822–10838. <https://doi.org/10.3390/molecules200610822>.
- Gori, A., Boucherle, B., Rey, A., Rome, M., Fuzzati, N., Peuchmaur, M., 2021. Development of an innovative maceration technique to optimize extraction and phase partition of natural products. *Pfitoterapia* 148, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104798>.
- Hasaballah, A., Shehata, A., Fouda, M., Hassan, M., Gad, M., 2018. The biological activity of *Cupressus sempervirens* extracts against *Musca domestica*. *Asian. J. Biol.* 5 (1), 1–12. <https://doi.org/10.9734/ajob/2018/38023>.
- Hayouni, E.A., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M., 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chem.* 105 (3), 1126–1134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.010>.
- Hernandez-Trejo, A., Rodríguez-Herrera, R., Sáenz-Galindo, A., et al., 2021. Insecticidal capacity of polyphenolic seed compounds from neem (*Azadirachta indica*) on *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) larvae. *J. Environ. Sci. Health. B.* 56 (12), 1023–1030. <https://doi.org/10.1080/03601234.2021.2004853>.
- Julkunen-Tiitto, R., 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 33 (2), 213–217. <https://doi.org/10.1021/jf00062a013>.
- Keskes, H., Mnafigui, K., Hamden, K., Damak, M., El Feki, A., Allouche, N., 2014. *In vitro* anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of *Juniperus phoenicea* L. leaves from Tunisia. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 4, S649–S655. <https://doi.org/10.12980/apjtb.4.201414b114>.
- Klavins, L., Kviessis, J., Klavins, M., 2017. Comparison of methods of extraction of phenolic compounds from American cranberry (*Vaccinium macrocarpon* L.) press residues. *Agron. Res.* 15 (2), 1316–1329.
- Klotóé, J.R., Agbodjento, E., Dougnon, V.T., Yovo, M., Sacramento, T.I., Déguénon, E., Dougnon, J.T., Atégbo, J.M., 2020. Exploration of the chemical potential and antioxidant activity of some plants used in the treatment of male infertility in southern Benin. *J. Pharm. Res. Int.* 32, 1–12. <https://doi.org/10.9734/jpri/2020/v32i430418>.
- Lazarova, I., Zengin, G., Sinan, K.I., et al., 2020. Metabolomics profiling and biological properties of root extracts from two *Asphodelus* species: *A. albus* and *A. aestivus*. *Food Res. Int.* 134, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109277>.
- Malmir, M., Serrano, R., Canica, M., Silva-Lima, B., Silva, O., 2018. A comprehensive review on the medicinal plants from the genus *Asphodelus*. *Plants* 7 (1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/plants7010020>.
- Mayouf, N., Charef, N., Saoudi, S., Baghiani, A., Khenouf, S., Arrar, L., 2019. Antioxidant and anti-inflammatory effect of *Asphodelus microcarpus* methanolic extracts. *J. Ethnopharmacol.* 239, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111914>.
- Momchev, P., Ciganovic, P., Jug, M., Margui, E., Jablan, J., Zovko Koncic, M., 2020. Comparison of maceration and ultrasonication for green extraction of phenolic acids from *Echinacea purpurea* aerial parts. *Molecules* 25 (21), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules25215142>.
- Osorio-Tobon, J.F., 2020. Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *J. Food Sci. Technol.* 57 (12), 4299–4315. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04433-2>.
- Ozturk, M., Tumen, I., Ugur, A., Aydogmus-Ozturk, F., Topcu, G., 2011. Evaluation of fruit extracts of six Turkish *Juniperus* species for their antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activities. *J. Sci. Food Agric.* 91 (5), 867–876. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4258>.
- Rahmani, Z., Douadi, A., Rahmani, Z., 2019. *In vitro* inhibition of a-amylase enzyme, Phytochemical study and Antioxidant capacity for *Cupressus sempervirens* extracts growing in arid climat. *Asian J. Res. Chem.* 12 (6), 359–365. <https://doi.org/10.5958/0974-4150.2019.00068.3>.
- Rani, L., Thapa, K., Kanojia, N., Sharma, N., Singh, S., Grewal, A.S., et al., 2021. An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. *J. Clean. Prod.* 283, 12465. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657>.
- Ranjbar, M., Kiani, M., Nikpay, A., 2020. Antioxidant and scolicidal activities of four Iranian *Mentha* species (Lamiaceae) in relation to phenolic elements. *J. Herbm. Pharmacol.* 9 (3), 200–208. <https://doi.org/10.34172/jhp.2020.26>.
- Redhouane, B., Khaled, B., Hadjira, B., Imene, I., Abderrezak, K., Fethia, F., Svarc-Gajic, J., 2020. Evaluation of some biological activities of phenolic compounds obtained from two Algerian medicinal plants: *Mentha rotundifolia* and *Satureja calamintha*. *Acta Period. Technol.* 51, 87–102. <https://doi.org/10.2298/apt2051087r>.
- Rguez, S., Essid, R., Adele, P., et al., 2019. Towards the use of *Cupressus sempervirens* L. organic extracts as a source of antioxidant, antibacterial and antileishmanial biomolecules. *Ind. Crop. Prod.* 131, 194–202. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.056>.
- Rita, I., Pereira, C., Barros, L., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C., 2016. *Mentha spicata* L. infusions as sources of antioxidant phenolic compounds: emerging reserve lots with special harvest requirements. *Food Funct.* 7 (10), 4188–4192. <https://doi.org/10.9734/ajob/2018/38023>.
- Silva, Júnior M.E., Araújo, M.V., Santana, A.A., Silva, F.L., Maciel, M.I., 2021. Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from ciriguela (*Spondias purpurea* L.) peel: optimization and comparison with conventional extraction and microwave. *Arab. J. Chem.* 14 (8), 103260. <https://doi.org/10.1016/j.arabj.2021.103260>.
- Sola, P., Mvumi, B., Ogendo, J., et al., 2014. Botanical pesticide production, trade and regulatory mechanisms in sub-Saharan Africa: making a case for plant-based pesticidal products. *Food Secur.* 6 (3), 369–384. <https://doi.org/10.1007/s12571-014-0343-7>.
- Soltani, Y., Ali-Bouzidi, M., Toumi, F., Benyamina, A., 2018. Activités antioxydantes des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea* L. de l'Ouest algérien. *Phytothérapie* 16 (3), 142–148. <https://doi.org/10.3166/phyto-2018-0045>.

- Tumen, I., Senol, F.S., Erdogan Orhan, I., 2012. Evaluation of possible *in vitro* neurobiological effects of two varieties of *Cupressus sempervirens* (Mediterranean cypress) through their antioxidant and enzyme inhibition actions. *Turk. J. Biochem.* 37 (1), 5–13. [https://doi: 10.5505/tjb.2012.92400](https://doi.org/10.5505/tjb.2012.92400).
- Wong, S., Leong, L., Williamkoh, J., 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chem.* 99 (4), 775–783. [https://doi: 10.1016/j.foodchem.2005.07.058](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.058).
- Xu, D.P., Zheng, J., Zhou, Y., Li, Y., Li, S., Li, H.B., 2017. Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: optimization and comparison with conventional methods. *Food Chem.* 217, 552–559. [https://doi: 10.1016/j.foodchem.2016.09.013](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.013).
- Yong-guang, B.I., Ding-long, Y., Xiao-jun, H., Yu-min, L.I., Min-xia, H., 2012. Study on ultrasonic-assisted extraction of polysaccharide of *Atractylis macrocephala* koidz of experiment. *Energy Proc.* 17, 1778–1785. [https://doi: 10.1016/j.egypro.2012.02.311](https://doi.org/10.1016/j.egypro.2012.02.311).