

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

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

Département d'écologie et environnement

Laboratoire de recherche : Valorisation de l'action de l'homme pour la protection de l'environnement et application en santé publique



MÉMOIRE

Présenté par

HASSAINE Nassima

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Ecologie animale

Thème

**Effet bio-insecticide de l'huile essentielle de Clous de Girofle
(*Syzygium aromaticum*) à l'égard de *Tenebrio molitor* (L.)
(Coleoptera : Tenebrionidae).**

Soutenu le 05/07/2021, devant le jury composé de :

Président	Mr. BETTIOUI Réda	M.A.A	Université de Tlemcen
Encadreur	Mr. BOUCHIKHI TANI Zoheir	M.C.A	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme .DAMERDJI Amina	Professeur	Université de Tlemcen

Année universitaire 2020/2021

العنوان

تأثير المبيد الحيوي من زيت مسامير القرنفل الأساسي على (*Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae).

ملخص

تمثل المواد الطبيعية والزيوت الأساسية بشكل خاص حاليا حلا بديلا للرقابة الكيميائية لحماية المواد الغذائية المخزنة. في هذا السياق، يهدف هذا العمل إلى تقييم نشاط مبيد الحشرات للزيت العطري الأساسي لمسامير القرنفل مقابل آفة نخالة القمح *Tenebrio molitor*، في ظروف المختبر (درجة الحرارة من 25 درجة مئوية والرطوبة النسبية من 70٪)، تم اختبار النشاط المبيد للحشرات من زيت القرنفل الأساسية بجرعات مختلفة (8، 10، و 12 ميكرو لتر / 10g من نخالة القمح) على اليرقات والبالغين من *Tenebrio molitor*.

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن تأثير زيت القرنفل العطري الذي يحدث على يرقات *Tenebrio molitor* وجد أنه أكثر سمية مع DL50 من 14.98 ميكرو لتر / 10 جرام نخالة قمح و TL50 من 14.98 ميكرو لتر / 10 جرام نخالة قمح و TL50 من 2.79 يوما مقارنة مع تأثير زيت القرنفل الأساسي على البالغين *Tenebrio molitor* الذي لديه DL50 من 17.74 ميكرو لتر / 10g نخالة القمح و TL50 من 4.02 أيام.

الكلمات المفتاحية: زيت أساسي، مسامير القرنفل، *Tenebrio molitor*، DL50، TL50

Titre

Effet bio-insecticide de l'huile essentielle de Clous de Girofle (*Syzygium aromaticum*) à l'égard de *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera : Tenebrionidae).

Résumé

Les substances naturelles et plus particulièrement les huiles essentielles représentent actuellement une solution alternative de lutte chimique pour la protection des denrées stockées. Dans ce contexte, ce travail a pour but d'évaluer l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* vis-à-vis d'un ravageur de son de blé, il s'agit de *Tenebrio molitor*. Dans les conditions de laboratoire (Température de 25°C et humidité relative de 70 %), l'activité insecticide de l'huile essentielle de clou de girofle a été testée à différentes doses (8, 10, et 12 µl/10g de son de blé) sur les larves et les adultes de *Tenebrio molitor*.

Les résultats obtenus montrent que l'effet de l'huile essentielle de *syzygium aromaticum* sur les larves de *Tenebrio molitor* sont avérées être plus toxiques avec une DL50 de 14,98 µl / 10g son de blé et TL50 de 2,79 jours comparativement avec l'effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur les adultes *Tenebrio molitor* qui présente une DL50 de 17,74 µl / 10g son de blé de et un TL50 de 4,02 jours.

Mots clés: Huile essentielle, *Eugenia caryophyllus*, *Syzygium aromaticum*, *Tenebrio molitor*, DL50, TL50.

Title

Bio-insecticidal effect of Clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil against *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae).

Summary

Natural substances and more particularly essential oils currently represent an alternative chemical control solution for the protection of stored foodstuffs. In this context, this work aims to evaluate the insecticidal activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* vis-à-vis a pest of wheat bran, it is *Tenebrio molitor*. In laboratory conditions (Temperature of 25 ° C and relative humidity of 70%), the insecticidal activity of clove essential oil was tested at different doses (8, 10, and 12 µl / 10g of wheat bran) on the larvae and adults of *Tenebrio molitor*.

The results obtained show that the effect of *syzygium aromaticum* essential oil on *Tenebrio molitor* larvae are found to be more toxic with an LD50 of 14.98 µl / 10g wheat bran and TL50 of 2.79 days compared with the effect of clove essential oil on *tenebrio molitor* adults which has an LD50 of 17.74 µl / 10g wheat bran and a TL50 of 4.02 days.

Keywords: Essential oil, *Eugenia caryophyllus*, *Syzygium aromaticum*, *Tenebrio molitor*, DL50, TL50

REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie ALLAH le tout puissant pour m'avoir donné la force et le courage afin que je puisse accomplir ce modeste travail.

Ma sincère reconnaissance et l'expression de mon profond respect s'adressent à Mr BOUCHIKHI TANI Zoheir maitre de conférences à l'université de TLEMCEM, d'avoir accepté de m'encadrer et d'avoir accepté de diriger ce travail et de consacrer son temps à la réalisation de ce manuscrit, ainsi je la remercie profondément pour ses conseils et ses directions pour que ce travail se réalise sous une meilleure forme.

Je tiens à remercier Mr BETTIOUI Réda du département de l'Ecologie et de l'Environnement de l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de mon mémoire de Master, qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect.

J'adresse aussi mes vifs remerciements à Mme DAMERJI Amina professeur la faculté des sciences de la nature et de la vie et des Sciences de la Terre et l'univers, Université de Tlemcen, d'avoir bien voulu examiné ce travail, nous la remercions aussi pour son aide, son soutien et pour les précieux conseils.

Mes remerciements vont également à l'adresse de toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à:

Mes chers parents,

*pour tous leurs sacrifices, leurs amour, leurs tendresse, leur
soutien tout au long de mes études.*

A mon cher frère Mohammed et leur petite famille

A mes sœurs Noura et Yasmina

A la personne la plus chère à mon cœur Hamel Abdelkader

*A mes proches amies pour leurs encouragements
permanents et leur soutien moral.*

H. Nassima

Sommaire

INTRODUCTION	1
Chapitre I : Synthèse bibliographie	
I. Etude de l'espèce <i>Tenebrio molitor</i>	3
I.1. Position systématique de <i>Tenebrio Molitor</i>	3
I.2. L'ordre des Coléoptères.....	3
I.3. <i>Tenebrio molitor</i>	3
I.4. Origine du nom	4
I.5. Habitat	4
I.6. Nourriture	4
I.7. Cycle de développement	5
I.8. Importance et dégât de <i>Tenebrio molitor</i>	6
I.8.1. L'importance	6
I.8.2. Dégâts	6
II. Le stockage	6
II.1. Méthodes de stockage traditionnel	6
II.1.1. Le stockage en sac	6
II.1.2. Le stockage en vrac	6
II.1.3. Le stockage en silos	7
II.2. Les moyens de lutte contre les ravageurs	7
II.2.1. La lutte préventive	7
II.2.1.2. Protection de la denrée	7
II.2.2. La lutte curative.....	8
II.2.2.1. Les méthodes traditionnelles	8
II.2.2.1.1. L'enfumage	8
II.2.2.1.2. Exposition au soleil	8
II.2.2.1.3. Utilisation des plantes répulsives	8
II.2.2.1.4. Utilisation de matières inertes	8

II.2.2.2. Méthodes de lutte modernes	8
II.2.2.2.1. La lutte chimique	9
II.2.2.2.2. La lutte physique et mécanique	9
II.2.2.2.3. La lutte biologique	10
III. Etude de la plante	11
III.1. Le genre <i>syzygium</i>	11
III.2. Origine	11
III.3. Position systématique de <i>Syzygium aromaticum</i>	13
III.4. Les différents noms de giroflier.....	13
III.5. Caractéristiques botaniques	14
III.6. Production mondiale de girofle	15
III.7. Le stockage	16
III.8. Utilisation de clou de girofle.....	16
IV. Les huiles essentielles	16
IV.1. Définition	16
IV.2. Répartition et localisation	17
IV.3. Les principales familles des plantes aromatiques	17
IV.4. Rôle physiologique des huiles essentielles	18
IV.5. Domaines d'utilisation des huiles essentielles	18
IV.6. Composition chimique des huiles essentielles	19
IV.7. L'huile essentielle de Clou de Girofle	19
IV.7.1. Définition.....	19
IV.7.2. Les différentes huiles essentielles issues du giroflier.....	19
IV.7.3. L'huile essentielle du clou	20
IV.7.4. Composition chimique de l'huile essentielle de clou	20
IV.7.5. L'eugénol	21
Chapitre II : Matériel et méthodes	
I. Objectif	22

II. Matériel et méthodes	22
II.1. Matériel	22
II.1.1. Matériel biologique	22
II.1.2. Matériel végétale	24
II.1.3. Matériel de laboratoire	24
II.1.4. Choix des doses	25
II.1.5. Le test témoin	26
II.1.6. Le dimorphisme sexuel	26
II.2. Méthodes expérimentales	28
II.2.1. Essais avec l'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i>	28
II.2.2. Expression des résultats	29
II.2.2.1. Détermination des stades de développement de <i>Tenebrio molitor</i>	29
II.2.2.2. Calcul de la mortalité corrigée	29
II.2.2.3. La dose létale pour 50% de la population d'insectes « DL50 »	29
II.2.2.4. Le temps léthal pour 50% de la population d'insecte « TL50 »	29
II.2.2.5. Analyse statistique des données	30
Chapitre III : Résultats et discussion	
I. Les différents états et stades de développement	31
II. Efficacité de l'huile essentielle testée	31
II.1. La mortalité en élevage témoin	31
II. 2 La dose létal pour 50% de la population (DL50)	33
II.3. Le temps léthal pour 50 % de la population (TL50)	35
Discussion	37
Conclusion	40
Référence bibliographique	41

Liste des figures

Figure 01 : <i>Tenebrio molitor</i>	4
Figure 02 : cycle de <i>T. molitor</i>	5
Figure 03 : Méthodes de lutte modernes contre les Bio-agresseurs.....	9
Figure 04 : clou de girofle.....	12
Figure 05 : Arbre de giroflier.....	12
Figure 06 : Structure du Giroflier.....	14
Figure 07 : Fleur de giroflier.....	15
Figure 08 : Formule stylisée de l'eugénol.....	21
Figure 9 : Vivarium à <i>Tenebrio molitor</i>	22
Figure 10 : Élevage de masse de <i>T. molitor</i>	23
Figure 11 : L'huile essentielle de clou de girofle.....	24
Figure 12 : matériels utilisé dans laboratoire	25
Figure 13 : Femelle de <i>Tenebrio molitor</i> grossissement x40.....	27
Figure 14 : Mâle de <i>Tenebrio molitor</i> (grossissement x40).....	27
Figure 15 : Effet des huiles essentielles de <i>Syzygium aromaticum</i> sur <i>Tenebrio molitor</i>	28
Figure 16 : Les stades larvaires.....	31
Figure 17 : Le développement d'un imago a un adulte (a : stade imago, b et c : stade imago avancé, d et e : stade adulte mâle et femelle respectivement	31
Figure 18 : Mortalité des larves de <i>Tenebrio molitor</i> en présence de l'huile essentielle de <i>syzygium aromaticum</i>	32
Figure 19 : Mortalité des adultes de <i>Tenebrio molitor</i> en présence de l'huile essentielle de <i>syzygium aromaticum</i>	33

Figure 20 : Droite de régression Log doses de l'huile essentielle de *syzygium aromaticum* / probits des mortalités des larves de *Tenebrio molitor*.....34

Figure 21 : Droite de régression Log doses de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* / probits des mortalités des adultes de *Tenebrio molitor*.....34

Figure 22 : Droite de régression Log durée d'exposition aux huiles extraites de *Syzygium aromaticum* / probits des mortalités des larves.....35

Figure 23 : Droite de régression Log durée d'exposition aux huiles extraites de *Syzygium aromaticum* / probits des mortalités des adultes.....36

Liste des tableaux

Tableau 01 : Position systématique de <i>Tenebrio molitor</i>	3
Tableau 02 : Classification botanique du <i>Syzygium aromaticum</i>	13
Tableau 03 : Classement des principaux pays producteurs en 2012 de girofles (en tonne, toutes parties de la plante confondues).....	16
Tableau 04 : Composantes de l'huile essentielle de clou de girofle.....	21
Tableau 05 : Les doses utilisées en huile essentielle.....	26
Tableau 06 : Valeurs des DL50 après deux jours d'exposition à l'huile essentielle testée selon les deux stades de <i>Tenebrio molitor</i>	36
Tableau 07 : Valeurs des TL50 en utilisant la dose 10 µl / 10g son de blé d'huile essentielle selon deux stades de développement de <i>Tenebrio molitor</i>	36

INTRODUCTION

Introduction

La production agricole est généralement saisonnière alors que les besoins des consommateurs s'étendent sur tout le long de l'année, d'où la nécessité de stocker les céréales (**MIKOLO et al., 2007**), dont le but principal est l'étalement de la consommation de denrées récoltées ponctuellement dans l'année. Afin de satisfaire la demande alimentaire croissante des populations mondiales, les agriculteurs ont essayé de doubler la productivité alimentaire et le stockage des denrées vivrières. Toute fois cela n'a jamais été suffisant à cause de la présence de certaines espèces qui sont en concurrence avec nos ressources alimentaires (**BHUMI et al., 2017**).

Les légumineuses alimentaires et les céréales sont soumises, durant la période de stockage, à des agressions d'origine physico-chimiques (température, humidité relative) et biotiques (insectes, micro-organismes) qui entraînent des pertes importantes ainsi qu'une chute conséquente des qualités agronomiques et organoleptiques du produit stocké et qui mènent jusqu'à la perte totale du produit (**NDIAYE, 1999**), dont on trouve entre la récolte, le stockage à la consommation une perte de plus de 30 % de la production (**ALZOUMA, 1995 ; NGAMO et HANCE, 2007**). Les insectes sont les plus nuisibles, et ils sont très redoutés car leur seule présence est néfaste, et déprécie le stock tout entier, quelque soit leur nombre (**FLEURRAT-LESSARD, 1982**). Les pertes dues aux insectes sur les céréales et les légumineuses sont de l'ordre de 10% à 40% dans des pays où les technologies modernes de stockage n'ont pas été introduites (**HIGNAR, 1985**).

Les pertes causées par les insectes aux denrées stockées sont estimées sur 100 millions de tonnes de tous les grains perdues lors de leur stockage 13 millions sont provoquées par les insectes, dans les pays développés ces pertes avoisinent les 3% alors qu'en Afrique elles atteignent les 30%. (**SYLVIE in BENAZZEDDINE, 2010**).

Aux Etats-Unis il est estimé que les pertes de grains de post-récolte excèdent 500 millions de dollars annuellement et la majeure partie des pertes est un résultat de source biologique comme des insectes et mycotoxines (**SCHEF& ARTHUR ,2017**).

En raison de son efficacité et de son application facile et pratique, l'utilisation d'insecticides chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus utilisée pour lutter contre les insectes nuisibles. Cependant, l'emploi intensif et inconsidéré de ces insecticides a provoqué l'apparition de formes de résistances chez les insectes traités (**LEONARD et NGAMO, 2004**), une contamination de la biosphère et de la chaîne alimentaire et une éradication des espèces non ciblées telles que la faune auxiliaire (**SOEJARTO et al., 1989**).

Ces dangers ont conduit l'OMS (Organisation mondiale de la Santé) à interdire l'usage de certains insecticides chimiques, d'autres vont être interdits dans un futur proche (**BENAYAD, 2008**).

Il est important d'éviter les inconvénients de la lutte chimique, l'utilisation des huiles essentielles extraites des plantes, pouvant constituer une solution à la fois efficace et économique (KASSEMI *et al.*, 2013).

Ce mémoire traite l'étude de l'effet bio-insecticide de l'huile essentielle de Clou de Girofle (*Syzygium aromaticum*) sur les larves et les adultes de « *Tenebrio molitor* ».

Dans ce contexte l'objectif de ce travail est de réduire les dégâts causés par *Tenebrio molitor*, en utilisant l'huile essentielle comme des bio-insecticides. Dans ce travail, nous avons entamé quatre chapitres :

- CHAPITRE I : « la synthèse bibliographique » qui contient 4 parties la première se porte sur l'aspect bibliographique de l'insecte, une deuxième partie sur l'aspect bibliographique sur le stockage et les moyens de lutte contre les ravageurs de denrées stockées une troisième partie se porte sur l'aspect bibliographique de l'espèce végétale utilisée et une troisième partie relatif à l'aspect bibliographique de l'huile essentielle de Clous de Girofle.

- CHAPITRE II : vient la partie « matériel et méthodes » qui explique les tests de l'efficacité biocides de l'huile essentielle de Clou de Girofle contre cette population de *Tenebrio molitor* et le matériel utilisé au laboratoire.

- CHAPITRE III : « résultats et discussion » contient les résultats des tests, leur interprétation et la discussion.

Et Enfin une conclusion générale qui déduit l'essentiel des résultats de l'étude et les perspectives.

CHAPITRE I :

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIE

I. Etude de l'espèce *Tenebrio molitor*

I.1. Position systématique de *Tenebrio Molitor*

L'espèce *Tenebrio molitor* a été décrite par le naturaliste suédois **Carl Von Linné en 1758**.

Selon Carl Von Linné (1758) :

Tableau 01 : Position systématique de *Tenebrio molitor*

Règne	Animalia
Sous-Règne	Eumetazoa
Embranchement	Arthropodes
Classe	Hexapoda
Sous-Classe	Insecta
Ordre	Coleoptera
Sous-Ordre	Polyphaga
Super-Famille	Tenebrionoidea
Famille	Tenebrionidae
Sous-Famille	Tenebrioninae
Genre	<i>Tenebrio</i>
Espèce	<i>Tenebrio molitor</i>

I.2. L'ordre des Coléoptères.

Il existe dans le monde plus de 300 000 espèces de coléoptères (AGUILAR et FRAVAL, 2004), dont 468 sont répertoriées comme étant comestibles (RAMOS-ELORDUY in JOHNSON, 2010). Les coléoptères sont des insectes holométaboles avec un cycle de développement œuf-larve nymphe- imago-Adulte. En général, c'est le stade larvaire qui est nuisible.

I.3. *Tenebrio molitor*.

Aussi appelé Ténébrion meunier, Le ténébrion meunier est le plus grand coléoptère vivant dans le grain entreposé, mais il n'est pas commun en milieu agricole. (web01)

D'abord attiré par les aliments pour animaux, il peut ensuite infester les grains entreposés en train de se détériorer. L'adulte est noir et mesure environ 1,5 cm de longueur, tandis que la larve est jaune et mesure de 0,2 à 2,8 cm de longueur. Le Ténébrion meunier préfère les endroits obscurs et humides dans les entrepôts ou les cellules d'entreposage d'aliments pour animaux. L'adulte vit plusieurs mois, tandis que la larve peut prendre un ou deux ans avant de se nymphoser lorsque les conditions sont défavorables. En raison de sa grosseur, il est facile à détecter et semble souvent plus abondant qu'il ne l'est en réalité. Sa présence est un signe de mauvaises conditions d'entreposage

ou de déficience sanitaire, en raison de son élevage plus ou moins facile, il est le coléoptère idéal pour les tests au laboratoire, peut être utilisé comme une population expérimentale. (Web 01)



Figure 01 : *Tenebrio molitor* (Web 01).

Tenebrio molitor est l'une des espèces les plus utilisées au laboratoire car il est très facile à élever. En particulier, développer un élevage nécessite très peu d'espace. De plus, l'espèce se caractérise par un développement et une reproduction rapide (OPIE, 2013).

Tenebrio molitor se nourrit de farine ou autres céréales (son de blé). Il est utilisé pour la nourriture des quelques animaux (oiseaux en captivité et reptiles).

I.4. Origine du nom

Nom français : Ténébrion meunier (ver de farine)

Nom scientifique : *Tenebrio Molitor*

Nom anglais : Yellow mealworm

I.5. Habitat

On le trouve partout dans son habitat au Québec. Il est répandu au Canada et dans le nord des États-Unis. Probablement originaire d'Europe, le ténébrion meunier est maintenant cosmopolite. (Web02)

Il vit dans les minoteries, les élevateurs à grains et les entrepôts de céréales et d'autres aliments. On le trouve souvent dans les endroits sombres et humides où les grains sont entreposés depuis longtemps. On l'observe rarement en milieu naturel. Il vit alors dans de vieux arbres ou sous l'écorce d'arbres morts (Web 02).

I.6. Nourriture

Le *Tenebrio molitor* est un insecte omnivore, saprophage, à l'état larvaire, comme à l'état adulte, le Ténébrion se nourrit surtout de déchets végétaux en voie de décomposition, mais il peut

aussi manger des insectes morts, de la viande, des fruits séchés, etc. En élevage, on le nourrit de farine et de son de blé. En cas de manque de nourriture, il peut devenir cannibale (DIDIER, 2006).

I.7. Cycle de développement

En nature, les adultes apparaissent au début de l'été et s'accouplent rapidement. La femelle pond en moyenne de 400 à 500 œufs, elle dépose des œufs dispersés ou groupés en petites masses. Les œufs blancs et luisants éclosent au bout de 4 à 18 jours. Les larves qui en sortent mesurent environ 2 mm. D'abord blanches, elles prennent une teinte jaune doré à mesure qu'elles grandissent. Dans un milieu non chauffé, le stade larvaire peut durer de six à neuf mois et même jusqu'à une année. L'insecte passe l'hiver sous cette forme (Web 02).

La larve subit de 10 à 16 mues au cours de son développement. Elle atteint en moyenne 30 mm de long avant de se transformer en nymphe. Sa couleur blanche devient jaunâtre avec le temps. L'insecte passe deux à trois semaines à ce stade avant d'émerger sous la forme d'un adulte ailé. Celui-ci meurt au bout de deux à trois mois. Selon les conditions du milieu, le cycle complet du ténébrion meunier peut durer entre quatre mois et deux ans (Web 02).

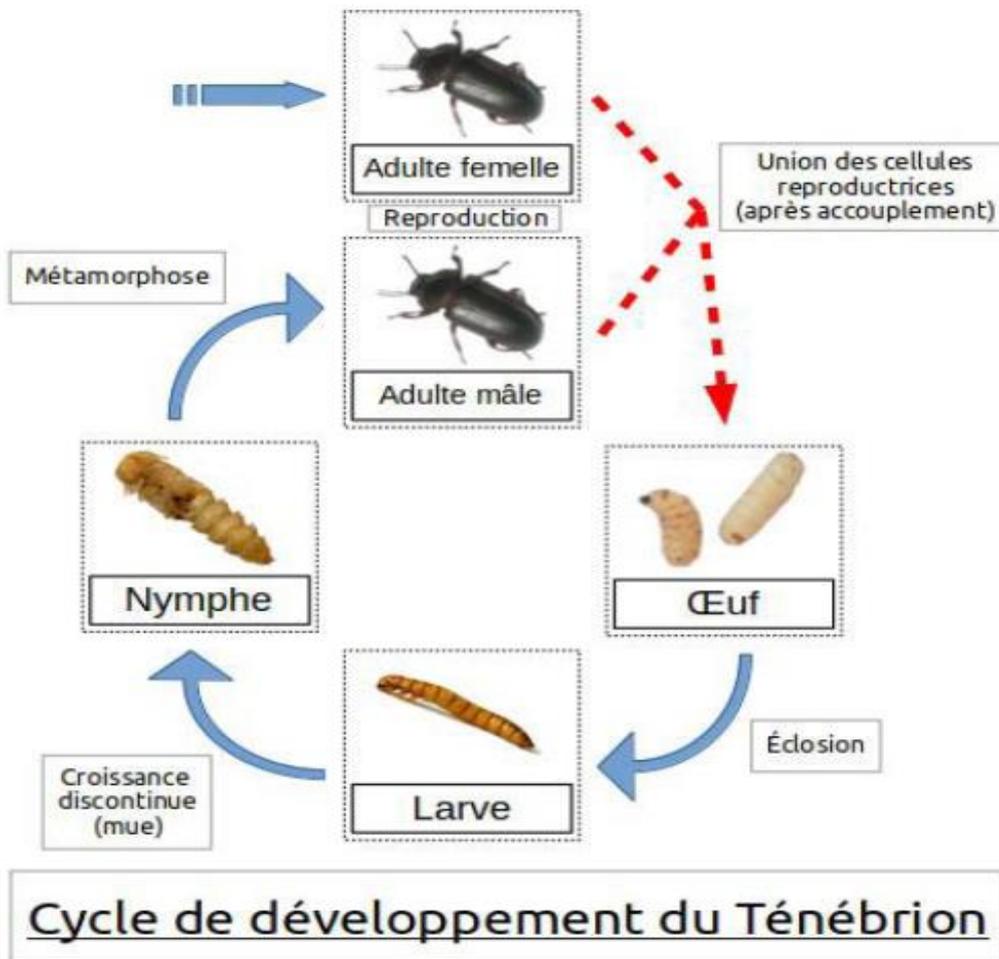


Figure 02 : cycle de *T. molitor* (Web 03).

I.8. Importance et dégât de *Tenebrio molitor*

I.8.1. L'importance

Tenebrio molitor sont très efficaces dans la bioconversion des déchets organiques, pour cette raison ces espèces font l'objet d'une attention croissante car elles pourraient convertir 1,3 milliard de tonnes de déchets organiques par an (VELDKAMP et al., 2012).

I.8.2. Dégâts

Des larves de *Tenebrio molitor* (Tenebrionidés) élevées sur son de blé rouge prenaient moins de poids que celles élevées sur son de blé blanc, mais il faut préciser que cet insecte possède une longue période de différenciation et qu'il n'attaque pas normalement les grains en bon état (WHITE et al., 2000).

II. Le stockage

Aujourd'hui, le problème de stockage des grains se pose en termes très différents suivant le niveau technologique des pays. Selon une estimation de la FAO, les pays ayant une technologie avancée de stockage ne subissent que de faibles pourcentages de pertes. Il existe plusieurs méthodes de stockage (KHELIL, 1977).

II.1.Méthodes de stockage traditionnel

Dans ce type de stockage, les gaines sont conservées dans des greniers et des cases d'habitation mal entretenues où se trouvent les restes des récoltes précédentes fortement contaminées par les insectes. Les greniers sont généralement en terre. De forme ronde ou carrée, ces greniers en terre plus ou moins additionnée de fibres végétales (pailles...) reposent généralement sur une ou plusieurs pierres qui évitent les remontées d'humidité. L'inconvénient majeur de cette méthode de stockage est la très forte humidité et les eaux d'infiltration qui favorisent le développement des moisissures et les phénomènes de fermentation bactérienne (HUIGNARD, 1985).

II.1.1. Le stockage en sac

D'après LAIB (2011), la solution de stockage en sacs au magasin est la plus fréquemment utilisée, car elle permet d'employer des bâtiments existants, dans le cas de constructions neuves, exige un investissement plus faible que le stockage en vrac. L'inconvénient est le fait que ces sacs sont déposés par terre donc sont exposés aux oiseaux, rongeurs, et insectes.

II.1.2. Le stockage en vrac

Le stockage en vrac est encore peu répandu dans les pays en développement alors qu'il est généralisé dans les pays développés. Les grains en tas sont laissés à l'air libre sous des hangars ouverts à charpente métallique. Malheureusement les contaminations sont possibles d'autant plus que dans ce type de construction, il demeure toujours des espèces entre les murs et les toits et le

libre passage des insectes est permis dans ce type de stockage, la hauteur du tas ne doit pas être assez grande pour pouvoir traiter le produit stocké par fumigation (DOUMANDJI, 1977).

II.1.3. Le stockage en silos

Selon LAIB (2011), les silos sont des enceintes cylindriques en métal ou en maçonnerie couvertes sur les parois internes d'une couche d'aluminium pour éviter les phénomènes de condensation. C'est une nouvelle méthode de stockage des grains efficace qui diminue les dégâts et limite l'attaque des insectes ravageurs.

II.2. Les moyens de lutte contre les ravageurs

La lutte contre les ravageurs des denrées stockées comprend deux méthodes, l'une et préventive et se pratique avant l'installation des ravageurs et l'autre est curative utilisée une fois les lots sont déjà infestés (BALACHOWSKY, 1962).

II.2.1. La lutte préventive

Selon AIDANI (2015), il est couramment admis que plus de 80 % de la lutte contre les insectes repose sur l'intervention sanitaire (mesures préventives).

II.2.1.1. Protection des locaux de stockage

Avant la mise en stock des denrées, il est indispensable de nettoyer correctement les structures de stockage:

- ✓ Balayage correcte des locaux, brossage des murs et colmatage des fissures ;
- ✓ Toutes les balayures et débris rassemblés doivent être détruits car il pourrait constituer un foyer d'infestation. En magasin il faudra traiter les sacs vides et détruire le vieux sac ;
- ✓ Comme les locaux de stockage, les alentours des bâtiments, doivent être propres et parfaitement dégagé (BELMOUZAR, 2004) ;
- ✓ La désinsectisation de l'emballage et des locaux de stockages qui doivent être hermétiquement fermés ainsi que la denrée destinée au stockage ;
- ✓ Utiliser un emballage résistant tels que les sacs en polyéthylène doublé, coton que les insectes sont incapables de percer (AMARI, 2014).

II.2.1.2. Protection de la denrée

Avant la mise en stock, le produit doit être correctement nettoyé, la présence de brisures constitue un élément favorable au développement des insectes. Tout nouveau lot doit être considéré à priori comme douteux est correctement inspecté car du produit attaqué introduit même en faible quantité peut infester un magasin ou un silo. La lutte contre les insectes sera souvent vaine si l'on ne considère pas que c'est l'ensemble des structures de stockage des denrées stockées qui doit être

correctement tenu et si l'on n'observe pas des principes élémentaires pouvant prévenir les infestations (PHILIPPE, 2006).

II.2.2. La lutte curative

La lutte curative a donc pour objet de détruire afin d'empêcher les insectes qui sont déjà présents de s'introduire dans le stock et de se multiplier (AIDANI, 2015).

II.2.2.1. Les méthodes traditionnelles

Selon (AIDANI, 2015), il existe 4 types de méthodes traditionnelles

II.2.2.1.1. L'enfumage

Les denrées les plus importantes pour le producteur sont souvent stockées au-dessus des foyers domestiques et sont ainsi enfumées presque en permanence. Cet enfumage ne tue pas les insectes mais les éloigne et empêche l'infestation.

II.2.2.1.2. Exposition au soleil

L'exposition des denrées au rayonnement solaire intense favorise le départ des insectes adultes qui ne supportent pas les fortes chaleurs ni la lumière intense (en stock les zones sombres sont un refuge pour les insectes). Le produit doit être déposé en couches minces.

II.2.2.1.3. Utilisation des plantes répulsives

Dans certaines régions on a coutume de mélanger aux grains des plantes qui agissent comme insectifuges (plantes aromatiques).

II.2.2.1.4. Utilisation de matières inertes

On mélange aux grains de la cendre ou du sable fin, ces matériaux pulvérulents remplissent les vides entre les grains et constituent une barrière à la progression, des femelles cherchant à pondre, et entraînent leur déshydratation. Dans tous les cas le matériau soit propre et suffisamment fin.

II.2.2.2. Méthodes de lutte modernes

De manière générale, il existe trois types de méthodes de lutte contre les insectes ravageurs (**figure 03**) : méthodes chimiques (pesticides chimiques), méthodes biologiques (auxiliaires naturels) et les méthodes physiques et mécaniques (LEPOIVRE, 2001).

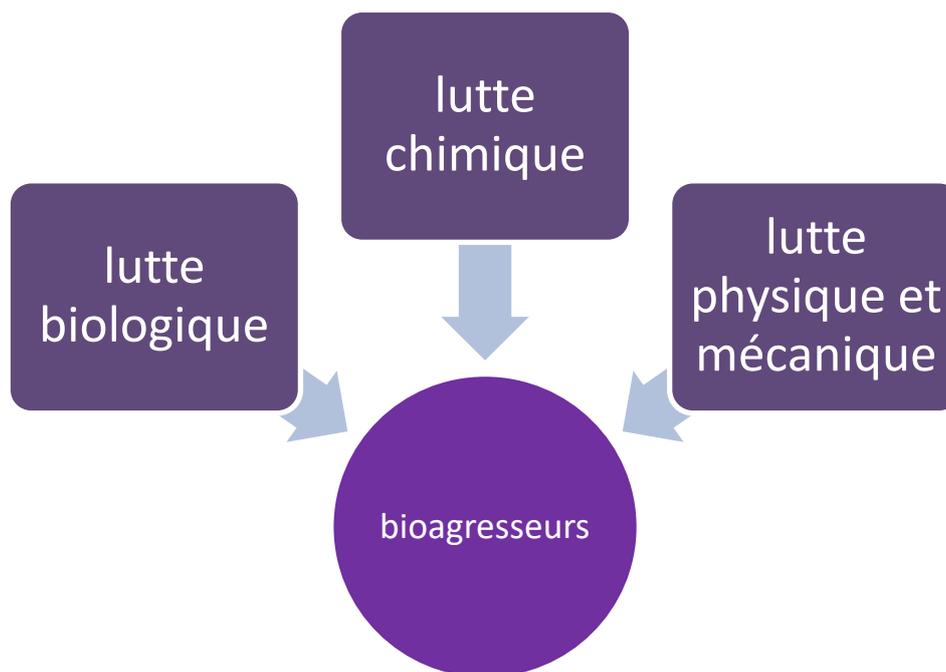


Figure 03 : Méthodes de lutte modernes contre les Bio-agresseurs (LEPOIVRE, 2001).

II.2.2.2.1. La lutte chimique

Il existe deux types de traitement :

A. Traitement par contact : où la graine est recouverte d'une pellicule de produits insecticide qui agit sur les insectes (CRUS *et al.*, 1988). Ces produits peuvent être utilisés sous forme de poudre ou après une dilution (KECHROUD, 2012).

B. Traitement par fumigation : dont les petites molécules de gaz pénètre à l'intérieur des grains et dans les fissures, ce qui leur permet d'éliminer les insectes cachés. Il existe deux produits de fumigation qui possèdent une grande importance économique : l'hydrogène phosphoré (PH₃) et le bromure de méthyle (CH₃Br) (GWINNER *et al.*, 1996).

II.2.2.2.2. La lutte physique et mécanique

La lutte physique est la destruction des insectes par la modification des conditions environnementales (FIELDS, 1992). Ces moyens de lutte physique font appel aux modifications de la température (lutte par le froid et le chaud) (KHELIL, 1977), aux radiations ionisantes et, aux matières inertes) (FLEURAT et LESSARD, 1987).

II.2.2.2.2.1. La lutte par le froid :

Consiste à abaisser la température de stockage, ce qui entraîne un ralentissement du développement des insectes, freiné dès que la température est inférieure à 10°C (AIDANI, 2015).

II.2.2.2.2.2. La lutte par le chaud :

Les insectes sont sensibles aux températures élevées, il suffit de leur imposer une température de 55°C durant une heure pour détruire les différents stades de développement

(KHELIL, 1977). Dans le cas du *R. dominica*, l'élimination des insectes à tous les stades est obtenue à 60° C pendant 10 minutes (STEFFAN, 1978)

II.2.2.2.3. Radiations ionisantes :

Les mâles sont plus sensibles aux radiations gamma que les femelles, la dose létale dépend de l'insecte et la période du traitement (AHMED, 1992). La désinsectisation par les rayons gamma, à hautes doses provoque la mort de tous stades de développement de l'insecte (DIOP et al., 1997), alors que son exposition à des doses faibles entraîne sa stérilité (DONGRET et al., 1997).

II.2.2.2.4. Radiations non ionisantes :

Les infrarouges et les radiofréquences qui permettent de chauffer les produits infestés à une température létale pour tous les insectes qui s'y trouvent quelle que soit l'espèce ou le stade de développement (ZEGGA et TERCHI, 2001).

II.2.2.3. La lutte biologique

Actuellement, la lutte biologique est la méthode la plus favorisée dans les programmes de recherche vus ses intérêts économiques et agro-environnementaux qui permettent le maintien d'un équilibre bioécologique (AMARI, 2014).

Selon (TIAIBA, 2007), la raison principale pour laquelle les chercheurs sont amenés à trouver des alternatives à la lutte chimique est le développement du phénomène de résistance des insectes ravageurs vis-à-vis des pesticides chimiques.

La lutte biologique peut être pratiquée de différentes manières :

a. Utilisation des ennemis naturels: C'est une méthode qui utilise des prédateurs, des parasitoïdes, des agents pathogènes pour réduire la densité de la population d'un insecte ravageur (PROCTOR, 1995).

b. Utilisation des huiles : C'est une méthode qui utilise des extraits des plantes ; ces dernières ont été connues depuis des années comme sources de protection des denrées stockées beaucoup ont été utilisées par des fermiers depuis le seizième siècle (KACHEBI et KEBBI, 2003). Différentes parties (feuilles, tiges, racines, écorces) de divers espèces sont utilisées dans plusieurs pays du monde (Afrique, Chine, Inde...) (DALES, 1996).

c. La méthode de lutte biologique, dite par conservation ou CBC (Conservation Biological Control), consiste à limiter l'effet des facteurs néfastes sur les populations auxiliaires et de favoriser du mieux possible les actions contribuant au maintien et au développement de ces populations (JONSSON et al., 2008). La CBC consiste donc à valoriser la biodiversité fonctionnelle existante en apportant des modifications à l'habitat (à l'intérieur ou en bordure des parcelles) de ces populations d'auxiliaires, pour en augmenter, améliorer et favoriser leur présence et leur efficacité sur les ravageurs (JONSSON et al., 2008).

d. Les méthodes de lutte plus respectueuses de l'environnement (PBI) : mise en œuvre dès le début des années 1980 a pris la forme de Protection Biologique Intégrée.

La PBI est définie de la manière suivante par la Fédération des Groupements de Défense contre les Organismes Nuisibles : « La Protection Biologique Intégrée est une stratégie alternative à la lutte chimique conventionnelle contre les ravageurs des cultures. Elle résulte d'un mariage équilibré entre la lutte préventive et la lutte biologique. Ainsi cette stratégie privilégie les méthodes biologiques pour lutter contre les insectes ravageurs des cultures et elle ne recourt aux traitements chimiques qu'en cas d'extrême nécessité ». La PBI est particulièrement adaptée aux cultures sous serre. Respectueuse de l'environnement et de la santé des consommateurs (COANTIC, 2007).

III. Etude de la plante

III.1. Le genre *syzygium*

Le genre *syzygium* est caractérisé par le développement initial de deux cotylédons non soudés. Les cotylédons sont les feuilles embryonnaires de la plante, contenant des substances nutritives pour permettre son développement. Une autre spécificité propre à ce genre est l'inflorescence en cyme terminale (AMSHOF, 1966).

III.2. Origine

Le Giroflier, est un arbre tropical appartenant à la grande famille des Myrtacées, originaire d'Indonésie, dans la partie sud des Philippines et les îles de Moluques, d'Afrique et d'Amérique du Sud (Madagascar, Brésil, Zanzibar), principalement dans des pays tropicaux.

Le giroflier, comme beaucoup d'autres plantes de la famille des Myrtacées, est habitué aux climats tropicaux. Cet arbre nécessite beaucoup d'ensoleillement, car sans soleil il ne donnera pas de clou. Cependant, à l'état de jeunes plants, il faut légèrement les ombrager durant les premiers mois. Il a également besoin d'humidité, de chaleur, et d'une altitude basse, ne dépassant pas 300 mètres. Son développement peut être favorisé par les climats marins. Bien qu'il ait besoin d'une humidité atmosphérique de 80%, l'eau stagnante est nuisible aux racines. Il se plaît sur les terrains qui s'écoulent bien, et sur les pentes basses des collines. En revanche, les sols très argileux et sableux ne lui conviennent pas. Dans l'idéal, le giroflier a besoin d'un sol volcanique (ou sédimentaire), au bord de mer (surtout pour l'altitude), avec une forte pluviométrie bien répartie sur l'année, et un ensoleillement plus marqué à l'apparition des inflorescences .**BOIS (1999) ; RANOARISOA (2012) ; RAMARIJAONA RABAR (1985) ; MAILHEBIAU (1989) ; Web 04.**



Figure 04 : clou de girofle. (Web 05)



Figure 05: Arbre de giroflier. (Web 06)

III.3. Position systématique de *Syzygium aromaticum*Tableau 02 : Classification botanique du *Syzygium aromaticum* (Web 07)

CLASSIFICATION		Particularité de la plante
CLASSE	Angiosperme	Plantes à ovaires
SOUS-CLASSE	Tiporées	Pollen à 3 ouvertures
CLADE	Rosidées	Souvent dialypétales
ORDRE	Myrtales	Feuilles opposées Ovaire infère
FAMILLE	Myrtaceae	Poches sécrétrices « schizogènes »
SOUS-FAMILLE	Myrtoideae	Le fruit est une baie
GENRE	<i>Syzygium</i>	Cotylédons libres
ESPECE	<i>Syzygium aromaticum</i>	

III.4. Les différents noms de giroflier

Comme beaucoup d'espèces, le giroflier a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *Syzygium aromaticum* (L.):

- *Caryophyllus aromaticus* L. (1753)
- *Eugenia caryophyllata* THUNB. (1788)
- *Eugenia caryophyllus* SPRENG. (1825)
- *Eugenia aromatica* (L.) BAILL. (1876)
- *Jambosa caryophyllus* (THUNB.) NIED. (1893)
- *Syzygium aromaticum* (L.) MERR.& L.M.PERRY, (1939)

Actuellement, les noms *Syzygium aromaticum* et *Eugenia caryophyllus* sont tous les deux employés.

III.5. Caractéristiques botaniques

Le giroflier est un grand arbre au tronc gris clair de 12 à 15 mètres de hauteur pouvant atteindre jusqu'à 20 mètres de haut (DAVET et ROUXEL, 1997).

Son feuillage est aromatique, coriace, persistant vert sombre et vernissé au revers plus clair. Ses feuilles sont opposées, entières, elliptiques, d'environ 10-12 cm à nervure médian marquée et parsemées de glandes sur le revers.

Les fleurs sont disposées en cymes terminales (**Figure 06**), de 25 fleurs environ, formant 3 fourches (**Figure 07**). Elle se présente sous la forme d'un long pédoncule, petite fleur à l'extrémité des rameaux, à 4 pétales (blanc-rosé) pompon Duveteux d'étamines blanches saillantes, les fleurs à 4 pétales blanc rosé sont caractérisées par leurs sépales rouges persistants.



Figure 06: Structure du Giroflier. (Web 08)



Figure 07: Fleur de giroflier. (Web 09)

Ce sont les boutons floraux cueillis avant épanouissement que l'on appelle les clous de girofle et l'huile essentielle qui est utilisés pour leurs vertus thérapeutiques ; Les fruits du giroflier sont des baies pourpres comestibles (**RAKOTO et al., 1999**).

La récolte des clous de girofle se fait au moment où ils contiennent le plus d'essence (Lorsqu'ils sont roses et les pétales pas encore ouverts). Ces clous sont récoltés 2 fois par an, après 6 à 8 ans de culture de l'arbre. Ce sont des boutons auxquels on ôte le pédicelle manuellement et que l'on met sécher au soleil jusqu'à ce qu'ils deviennent brun rouge. Boutons floraux appelés « clous ».

Les racines, les rameaux, les feuilles les fleurs et les fruits contiennent tous une huile essentielle dont la composition diffère. Par exemple l'huile essentielle extraite des feuilles contient seulement 2 à 3 % d'eugénol. L'huile essentielle de girofle provient de la distillation des boutons de giroflier traités à la vapeur (**KOROCH et al., 2007**).

III.6. Production mondiale de girofle

Historiquement, l'Indonésie, en particulier les îles Moluques, est le berceau de la culture du giroflier. Par la suite, Zanzibar est devenu un pôle important dans la production du clou, jusqu'à être le premier pays producteur. Vers 1960, l'Indonésie a cependant repris sa place de leader, et Madagascar a rejoint la course en 1970 en précédant de peu Zanzibar. **FRANÇOIS (1936) ; RANOARISOA (2012)**.

De nos jours, le premier pays producteur de girofle (toutes parties de la plante confondue) est l'Indonésie, suivie de Madagascar, de la République-Unie de Tanzanie (notamment les îles productrices Pemba et Zanzibar), du Sri Lanka et des îles Comores qui arrivent loin derrière en termes de quantité produite (**tableau 03**).

Tableau 03 : Classement des principaux pays producteurs en 2012 de girofles (en tonne, toutes parties de la plante confondues) (**Web 10**)

Position	Région	Production (1000\$ int)	Production (T)
1	Indonésie	161810	73000
2	Madagascar	52089	23500 Im
3	République-Unie de Tanzanie	15183	6850 Im
4	Sri Lanka	9420	4250
5	Comores	4876	2200 Im

III.7. Le stockage

Les clous et les griffes doivent être séchés avant d'être stockés. Ce stockage permet la vente de la récolte tout au long de l'année. En ce qui concerne les feuilles, une fois récoltées elles sont immédiatement distillées (**BARBELET S, 2015**).

III.8. Utilisation de clou de girofle

En infusion ou en huile essentielle, en pommade, en fumigation ou en solution alcoolique, il existe de nombreuses manières de s'en servir. Tout dépend du besoin. Très apprécié dans la cuisine comme épice, le clou de girofle est également préconisé pour soulager de nombreux maux et se soigner de manière naturelle. En outre, il constitue un excellent parfum d'intérieur pour assainir les pièces de vie et est réputé pour ses vertus aphrodisiaques depuis l'Antiquité. En Indonésie, le clou de girofle s'invite même dans le tabac pour aromatiser les cigarettes (**Web 12**).

IV. Les huiles essentielles

IV.1. Définition

Les huiles essentielles (= essences = huiles volatiles) sont : « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation » (**BRUNETON, 1993**).

Selon **SMALLFIELD (2001)**, les huiles essentielles sont des mélanges de composés aromatiques des plantes, qui sont extraites par distillation par la vapeur ou des solvants.

Selon **PADRINI & LUCHERONI (1996)**, les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, téguments des fruits, la résine, les branches, les bois, elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal. Elles sont odorantes et très volatiles.

IV.2. Répartition et localisation

Les huiles essentielles sont rencontrées dans diverses familles botaniques, elles sont largement répandues dans le monde végétal et se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles (**RICHTER, 1993**).

Actuellement, on compte environ 800,000 espèces végétales et parmi elles, seulement 10% sont capables de synthétiser une essence, c'est-à-dire les plantes aromatiques (**BALZ, 1986**).

Ces essences se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante, dans une même plante, ces huiles peuvent exister à la fois dans différentes parties, où la composition chimique peut varier d'une partie à une autre (feuilles, tige). Ces essences aromatiques sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante (**BRUNETON, 1999**).

IV.3. Les principales familles des plantes aromatiques

Selon **BACHELOT et al., (2005)**, Parmi les principales familles des plantes aromatiques:

- **Les Abiétacées (anciennement appelées Pinacées)** : 200 espèces réparties en 10 genres, représentées par les conifères (les sapins, les cèdres, les mélèzes, les épicéas, et les pins).

- **Les Cupressacées** : C'est une famille comprenant des arbres et arbrisseaux à feuilles écaillées en général. On y trouve les cyprès, les thuyas et les genévriers.

- **Les Lamiacées (anciennement appelées les Labiées)** : C'est une importante famille de plantes dicotylédones avec environ 6000 espèces réparties en 9 sous familles elles même réparties en 210 genres (les lavandes, les menthes, le romarin...), cette famille est une grande source d'huiles essentielles.

- **Les Myrtacées** : Cette famille est représentée par des arbres, des arbustes ou arbrisseaux. On trouve 3000 espèces réparties en 130 genres, en zones tempérées, subtropicales et tropicales (surtout en Australie et en Amérique). Dans cette famille on trouve de nombreux eucalyptus, des girofliers, et des myrtes.

- **Les Lauracées** : 2000 à 2500 espèces. Ce sont des arbres verts et sauvages, que l'on trouve surtout au Brésil. On y trouve les cannelles (de Chine), le laurier noble, le sassafras...etc.

- **Les Rutacées** : On y trouve 900 espèces réparties en 50 genres, qui sont en zones tropicales ou subtropicales. Ce sont des arbres, arbustes ou plus rarement des plantes herbacées, grands producteurs d'huiles essentielles (le citron, le citron vert, la mandarine).

▪ **Les Ericacées** : Famille des plantes ligneuses, que l'on trouve en régions tempérées et tropicales. On trouve 3500 espèces. Ce sont des plantes très précieuses en thérapeutique (la gaulthérie, le lédon).

▪ **Les Astéracées anciennement appelées Composées** : Ils forment la plus grande famille du règne végétal. On trouve plus de 20,000 espèces, surtout en zones sèches et arides (la camomille, l'estragon, et la santoline).

IV.4. Rôle physiologique des huiles essentielles

Les plantes aromatiques produisent des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante reste inconnu (**RAI et al., 2003**).

Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques (**BELAICHE, 1979**).

Certaines huiles essentielles servent à la défense des plantes contre les animaux herbivores, insectes et micro-organismes (**CAPO et al., 1990**).

IV.5. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles peuvent avoir d'intéressantes applications dans différents secteurs :

IV.5.1. Désinfection de l'air

Les huiles essentielles sont composées d'un grand nombre de molécules volatiles, en diffusion dans l'atmosphère, ou diluées dans les produits de nettoyage. Elles désinfectent, désodorisent et parfument agréablement et naturellement l'air en éliminant 90% du pouvoir bactérien. Cette pratique est utile en particulier dans le milieu hospitalier, comme elle peut être utilisée également pour l'assainissement de l'atmosphère des locaux tels que la conservation du patrimoine bibliographique des musées et des archives (**DE BILLERBECK, 2002**), ou pour traiter la qualité de l'air dans les bâtiments (**PIBIRI & SEIGNIEZ, 2001**).

IV.5.2. En agroalimentaire

Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit pour préserver les aliments (**BEKHECHI, 2008**). Ainsi, les huiles essentielles et leurs composants, actuellement employés comme arômes alimentaires, sont également connus pour posséder des activités antioxydants et antimicrobiennes sur plusieurs bactéries responsables de la pollution des aliments et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaires (**KIM et al., 1995**).

Les huiles essentielles ont également des propriétés fongicides (MAHADEVAN, 1982) et très efficaces contre les moisissures responsables de la détérioration des denrées alimentaires lors de leur stockage (MEJHOLM & DALGAARD, 2002).

Les huiles essentielles extraites des feuilles des plantes aromatiques ont également révélé des propriétés insecticides très intéressantes contre une grande variété d'insectes ravageurs des stocks des denrées alimentaires (TAPONDJOU *et al.*, 2003 ; KELLOUCHE, 2005).

IV.5.3. En traitement des infections

Les huiles essentielles sont très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques, ce qui leur donne une place parmi les moyens thérapeutiques pour guérir, atténuer ou prévenir les maladies et les infections, notamment les infections respiratoires (BUCHBAUER & JIROVETZ, 1994).

IV.6. Composition chimique des huiles essentielles

La composition des huiles essentielles est généralement très complexe, à la fois par la diversité considérable de leurs structures, et par le nombre élevé de constituants présents (ABID, 2008).

On peut déterminer la composition des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse (CPG), c'est la technique la plus utilisée, car elle permet de faire une analyse complète de plus d'une centaine de molécules chimiques que contient l'huile (BOUCHIKHI TANI, 2011).

Le spectromètre de masse (SM), que l'on associe souvent à la chromatographie (CPG-SM), permet lui d'obtenir la composition précise de l'huile essentielle (BACHELOT *et al.*, 2005).

Comme on peut utiliser une méthode spectroscopique, dite résonance magnétique nucléaire du carbone-13 (RMN 13 C) (BEKHECHI, 2008).

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant divers facteurs : L'environnement, le génotype, origine géographique, le lieu et la période de récolte, la partie de la plante étudiée, l'âge de la plante, le séchage, lieu de séchage, la température et durée de séchage, les parasites, les virus et mauvaises herbes (SMALLFIELD, 2001 ; MERGHACHE *et al.*, 2009 ; ATIK BEKKARA *et al.*, 2007).

IV.7. L'huile essentielle de Clou de Girofle

IV.7.1. Définition

Elle est extraite de l'arbre du Giroflier elle est connue pour son effet bio-insecticide contre les ravageurs des denrées stockées son utilisation est se fait dans plusieurs domaines (KELLOUCHE, 2005).

IV.7.2. Les différentes huiles essentielles issues du giroflier

Le giroflier est à l'origine de plusieurs types d'huiles essentielles, de qualité différente selon la partie de la plante utilisée. Il existe l'essence de clous, des feuilles, des griffes et des tiges.

L'huile essentielle de clou est essentiellement utilisée en parfumerie et en aromathérapie, alors que l'huile essentielle de feuille est de loin la plus commercialisée, notamment pour la production d'eugénol du fait de son faible coût et de sa récolte plus facile (**BARBELET, 2015**).

Dans la Pharmacopée européenne, sont répertoriées les monographies du clou de girofle, de l'huile essentielle du clou de girofle, et depuis 2007 la monographie de l'huile essentielle de feuille de giroflier. (**BARBELET, 2015**).

IV.7.3. L'huile essentielle du clou

Elle est extraite des clous du giroflier, c'est à dire des inflorescences à l'état de bouton, par distillation à la vapeur d'eau. Les clous renferment à l'état frais environ 15 à 20% d'huile essentielle, dont 78 à 98% d'eugénol. Selon la pharmacopée européenne, l'huile essentielle de clous de girofle est un liquide jaune, limpide, virant au brun lorsqu'il est exposé à l'air (**BARBELETB, 2015**).

IV.7.4. Composition chimique de l'huile essentielle de clou

Le clou de girofle est composé de 18 à 20 % d'huile essentielle (**Web 13**). En plus de l'huile, le clou est composé de 16 % d'eau, de tanins, d'amidon et de matières fibreuses cellulosiques (**Web 11**). Une huile essentielle est un liquide contenu dans la plupart des plantes, en faible ou plus grande quantité, qui donne l'odeur à la plante. C'est aussi celle-ci qui permet d'éloigner les maladies et les parasites de ces plantes (**Web 14**). Chimiquement, une huile essentielle est un amas de molécules extrêmement complexes qui est considéré comme le «langage» des plantes, puisque c'est l'huile essentielle des plantes qui font les interactions avec une autre plante, un insecte ou un animal herbivore (**Web 15**).

En ce qui concerne le giroflier, l'huile essentielle extraite des clous est à différencier de celle des feuilles, des griffes ou mêmes des tiges.

Tableau 04 : Composantes de l'huile essentielle de clou de girofle (Web 13).

Composante ¹	Eugénol	Acétate d'eugényle	Béta-caryophyllène	Alpha-caryophyllène
Type ¹	Phénol	Ester	Sesquiterpène	Sesquiterpène
Pourcentage ¹	81,67 %	13,02 %	3,17 %	0,4 %
Formule Chimique ²	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	C ₁₅ H ₂₄	C ₁₅ H ₂₄
Masse molaire ² (g/mol)	164,20	206,24	204,36	204,36

IV.7.5. L'eugénol

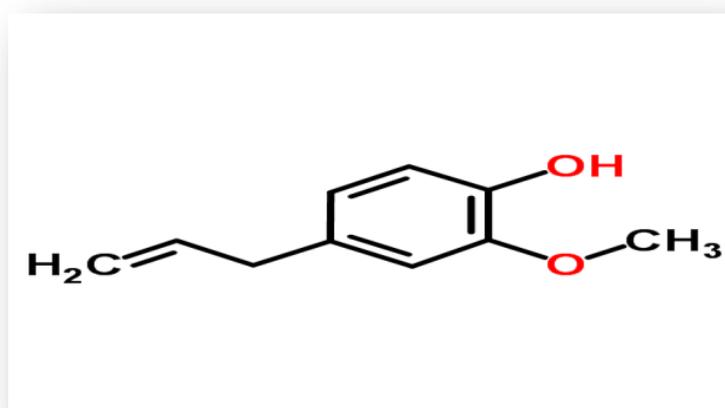


Figure 08 : Formule stylisée de l'eugénol (Web 16).

Avec une teneur de 81,67 % de l'huile essentielle du clou de girofle, l'eugénol est un phénol qui donne la couleur jaune pâle à l'huile essentielle et la forte odeur caractéristique de clou de girofle (Web 16). De plus, elle possède des propriétés antiseptiques, ce qui fait que cette molécule est encore aujourd'hui très utilisée dans la dentisterie (bains de bouche, dentifrices, etc.) ainsi que des propriétés anti-inflammatoires prouvées par action inhibitrice sur la 5-lipoxygénase (Web 17), impliquée dans la production de leucotriènes, qui cause notamment de l'inflammation bronchique chez les personnes souffrant d'asthme (Web 18). Portant le nom systématique de 4-allyl-2-méthoxyphénol (Web 16), l'eugénol peut cependant causer certains problèmes : irritation de la peau et possibilité d'effets cancérogènes (dans certaines conditions rares) (Web17).

CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. Objectif

Le but de ce travail est de déterminer l'efficacité de l'huile essentielle de clou de girofle (*syzygium aromaticum*) vis-à-vis des larves et les adultes d'un ravageur qui s'attaquant le son de blé il s'agit de *Tenebrio molitor*.

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

• Les insectes :

Des adultes et les larves de *Tenebrio molitor* ont été élevés en masse dans de la farine, du blé tendre et de la semoule de blé à une température de 25°C au laboratoire

➤ Elevage de vers de farine (larves de *Tenebrio molitor*).

Pour élever des vers de farine, il faut disposer de vivariums d'environ (20 ; 11 ; 14) cm de long : il suffit d'utiliser des boîtes en plastique (**Figure 9 et Figure 10**). Il est important d'utiliser des contenants à la paroi lisse, pour empêcher l'insecte de grimper.



Figure 9 : Vivarium à *Tenebrio molitor*. (Photo originale)



Figure 10 : Élevage de masse de *T. molitor* (Photo originale).

Il faut ensuite préparer le mélange nutritif (substrat alimentaire) où les larves vont se développer. Toutes les farines sont acceptables mais **HARDOUIN et MAHOUX (2003)**, préconisent le mélange suivant : 2 kg de farine, 200 g de son, 200 g de levure de bière en poudre et 200 g de carottes râpées pour nourrir une centaine d'insectes. Il est également possible de supplémenter ce milieu avec des fruits ou des légumes (source d'eau).

Les larves sont placées dans le mélange et il faut recouvrir ce milieu de papier humide. Le taux d'humidité joue un rôle important dans l'optimisation de l'élevage. Il doit être d'environ 70%. Même si *Tenebrio molitor* a la capacité de survivre avec des quantités d'eau très limitées, un taux d'humidité élevé permet d'augmenter la productivité en jouant sur la fécondité, le taux de reproduction et l'activité.

La température optimale de l'élevage doit être constante à 25°C. En effet les larves passent par de nombreux stades larvaires de développement avant de démarrer la nymphose. Il faut isoler les nymphes pour éviter qu'elles ne se fassent manger par les larves. La durée moyenne d'un cycle de développement de l'œuf à l'adulte est d'environ 4 mois.

II.1.2. Matériel végétale

▪ Le substrat :

La farine, le blé tendre (*Triticum durum*) et la semoule, dans notre élevage de masse nous avons utilisé comme substrat alimentaire le son de blé proviennent du marché local.

▪ L'huile essentielle :

L'huile essentielle utilisée est celle de Clou de girofle achetée de pharmacie (**Figure 11**).



Figure 11 : L'huile essentielle de clou de girofle (**Web 19**).

II.1.3. Matériel de laboratoire

- Boites Pétri en plastique de 8cm de diamètre (**figure12 a**)
- Micropipette pour les dosages utilisés 8 μ l ; 10 μ l ; et 12 μ l (**figure12 a**)
- Balance de précision (**figure 12 b**)
- Acétone (**figure 12 c**)
- Pince (**figure 12 d**)
- Etuve réfrigérée réglée à une température optimale 25°C favorable du développement de *Tenebrio molitor* (**figure 12 e**)

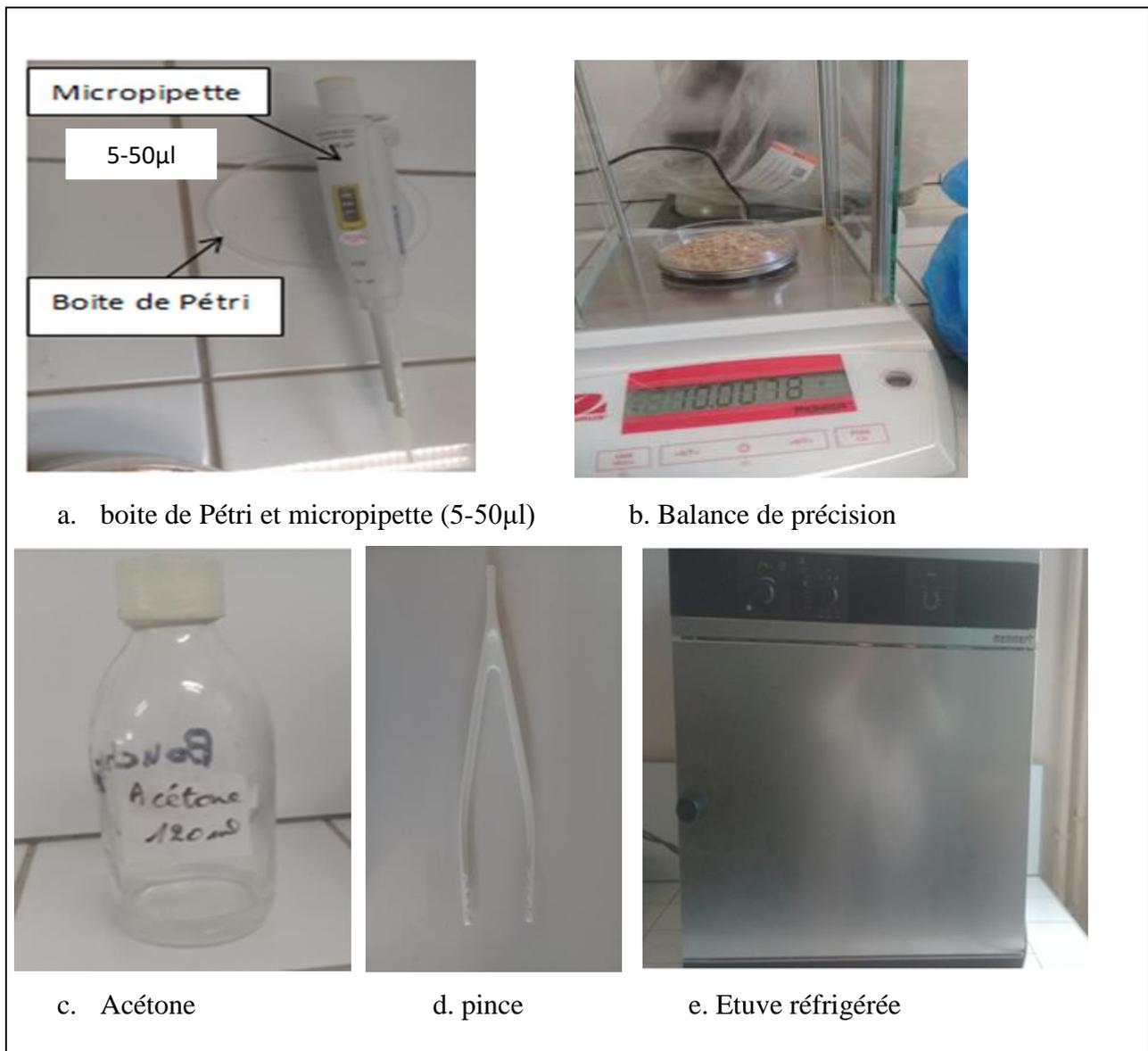


Figure 12 : matériels utilisé dans laboratoire (**Photos originales**).

II.1.4. Choix des doses

Pour tester l'efficacité des huiles essentielles contre les larves et les adultes de *Tenebrio molitor*, nous avons utilisé trois doses en huile essentielle de clou de girofle : 8µl, 10µl, et 12µl.

Dans des boîtes de Pétri en plastique nous avons mis 10g de son de blé comme substrat alimentaire.

Pour assurer une bonne propagation de l'huile essentielle testée dans la totalité de la surface de la boîte de Pétri, nous avons mélangé chaque dose testée avec 1 ml d'acétone (solvant).

Après l'évaporation totale du solvant (environ 10 mn), toutes les boîtes de Pétri ont été infestées par six (6) larves ou adultes de *Tenebrio molitor* (**Tableau 05**).

Toutes les boîtes de Pétri portent des renseignements concernant la date d'introduction des larves ou des adultes, la dose en huiles essentielle utilisée.

Les tests ont été répétés 3 fois pour chaque dose utilisée.

Tableau 05 : Les doses utilisées en huile essentielle

8µl des huiles	3 boîtes	1ml acétone	10g de son de blé	6 larves
10µl des huiles	3 boîtes	1ml acétone	10g de son de blé	6 larves
12µl des huiles	3 boîtes	1ml acétone	10g de son de blé	6 larves
8µl des huiles	3 boîtes	1ml acétone	10g de son de blé	6 adultes
10µl des huiles	3 boîtes	1ml acétone	10g de son de blé	6 adultes
12µl des huiles	3 boîtes	1ml acétone	10g de son de blé	6 adultes

II.1.5. Le test témoin

En trois répétitions, nous avons utilisé dans chaque boîte de Pétri 10 g de son de blé (substrat alimentaire) mélangé avec 1 ml d'acétone, avec l'introduction de 6 larves puis 6 adultes de *Tenebrio molitor* (absence d'huile).

II.1.6. Le dimorphisme sexuel

Chez la plupart des coléoptères, il n'existe aucune différence extérieure visible entre les deux sexes mais, dans certains cas il y a des caractères sexuels secondaires qui peuvent être différents entre le mâle et la femelle (**GUIGNOT, 1957**).

Chez *Tenebrio molitor* la femelle a une taille plus grande comparativement au mâle, et pour connaître le sexe des coléoptères avec certitude il est nécessaire d'observer les insectes sous une loupe binoculaire. La détermination du sexe se fait selon la présence ou l'absence de l'ovipositeur, car seule la femelle qui porte un ovipositeur afin de pondre ces œufs (**BERREMILLI, 2020**).



Face dorsal

Face ventral

Figure 13 : Femelle de *Tenebrio molitor* grossissement x40
(BERREMELI, 2020)



Face dorsal

face dorsal

Figure 14 : Mâle de *Tenebrio molitor* (grossissement x40)
(BERREMILI, 2020)

II.2. Méthodes expérimentales

Nous avons testé l'activité biocide de l'huile essentielle extraite de Clou de girofle sur les larves et les adultes de *Tenebrio molitor*

Pour chaque dose, le dénombrement des larves et des adultes morts ont été réalisés chaque 24 heures pendant une période de 7 jours.

II.2.1. Essais avec l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*

10g de grain du son de blé + 6 larves de *Tenebrio molitor* + 8 μ l de huile essentielle de *Syzygium aromaticum* +1ml d'acétones.

10g de grain du son de blé + 6 larves de *Tenebrio molitor* +10 μ l de huile essentielle de *Syzygium aromaticum* +1ml d'acétones.

10g de grain du son de blé + 6 larves de *Tenebrio molitor* +12 μ l de huile essentielle de *Syzygium aromaticum* +1ml d'acétones.

10g de grain du son de blé + 6 adultes de *Tenebrio molitor* + 8 μ l de huile essentielle de *Syzygium aromaticum* +1ml d'acétones.

10g de grain du son de blé + 6 adultes de *Tenebrio molitor* +10 μ l de huile essentielle de *Syzygium aromaticum* +1ml d'acétones.

10g de grain du son de blé + 6 adultes de *Tenebrio molitor* +12 μ l de huile essentielle de *Syzygium aromaticum* +1ml d'acétones.

Chaque essai a été répété 3 fois (pour chaque dose 3 boîtes de Pétri) pour avoir des résultats fiables.

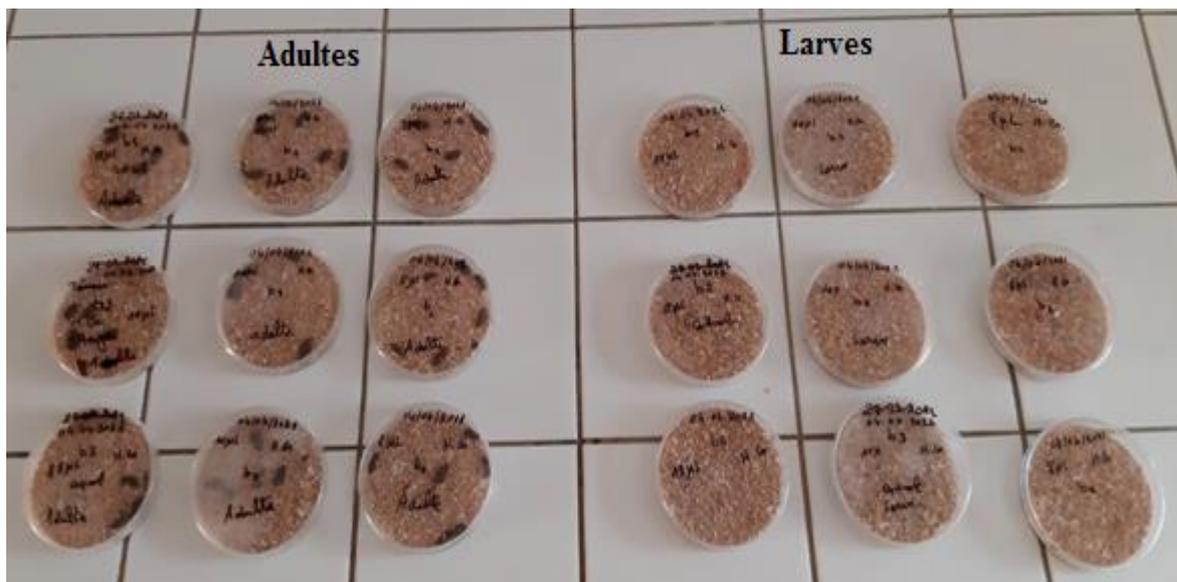


Figure 15 : Effet des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* sur *Tenebrio molitor*.

(Photo originale)

II.2.2. Expression des résultats

II.2.2.1. Détermination des stades de développement de *Tenebrio molitor*

A partir de l'élevage de masse de *Tenebrio molitor* nous avons essayé de déterminer les différents états et stades de développement de l'insecte étudié.

II.2.2.2. Calcul de la mortalité corrigée

L'efficacité d'un produit sur un insecte ravageur est évaluée par la mortalité engendrée. Le nombre d'individus morts dénombrés dans une population traitée par un produit n'est pas le nombre réel d'individus tué par ce produit.

Il existe, en fait dans toute population traitée une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par ce toxique (BENZAZZEDINE, 2010).

Pour estimer la mortalité des larves et des adultes, on dénombre les insectes morts (concernant les deux stades à savoir : les larves et les adultes), le dénombrement est réalisé tous les 24 heures pendant une période de 7 jours. La mortalité observée est exprimée après correction par la formule d'Abbott (ABBOTT, 1925) :

$$Pc (\%) = (Po - Pt / 100 - Pt)$$

Avec :

Pc: la mortalité corrigée en %.

Pt: mortalité observée en témoin.

Po: mortalité observée en l'essai.

II.2.2.3. La dose létale pour 50% de la population d'insectes « DL50 »

Afin de comparer la toxicité de l'huile essentielle sur les larves et les adultes de *Tenebrio molitor*. les valeurs de la DL50 sont calculées par la méthode des probits (FINNEY, 1971).

La toxicité d'un produit se mesure par sa DL50 qui représente les quantités de substance toxique entraînant la mortalité de 50% d'individus d'une même population. Elles sont déduites à partir du tracé des droites de régression. Pour cela, les pourcentages de mortalité corrigées sont transformés en probits, en suite à l'aide de logiciel MINITAB (version 18) la régression des logarithmes des doses en fonction des probits des mortalités déterminera la DL50 pour les larves et les adultes après deux jours d'exposition.

II.2.2.4. Le temps létal pour 50% de la population d'insecte « TL50 »

En plus de la DL50 nous avons calculé le TL50 pour confirmer les résultats de la toxicité de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* vis-à-vis des larves et les adultes de *Tenebrio molitor*.

Pour calculer le TL50 nous avons utilisé la méthode des probits (FINNEY, 1971).

Les pourcentages de mortalité ont été transformés en probits, la régression du logarithme de la durée d'exposition (en jours) en fonction des probits des mortalités à l'aide de logiciel

MINITAB (version 18) a permis de déterminer le temps létal pour 50% de la population d'insecte en utilisant la dose moyenne soit 10µl sur les larves et les adultes.

II.2.2.5. Analyse statistique des données

Pour savoir s'il existe ou non une différence significative concernant l'activité biologique de huile essentielle extraite de *Syzygium aromaticum*, les résultats obtenus à partir des essais expérimentales sont soumis à des analyses de variance a deux critères de classification (**ANOVA 2**), utile pour l'étude de l'action de deux facteurs (**DAGNELIE, 1975**).

Les deux facteurs sont:

- la dose utilisée en huile essentielle ;
- la durée d'exposition de cette huile essentielle sur l'insecte (larves et adultes).

L'étude statistique est réalisée sur le logiciel Microsoft Office Excel 2007.

CHAPITRE III :
RÉSULTATS ET
DISCUSSION

I. Les différents états et stades de développement

La figure suivante montre la différence entre deux larves de différents stades de développement, une larve de dernier stade arrive à une taille moyenne de 2,5 cm.

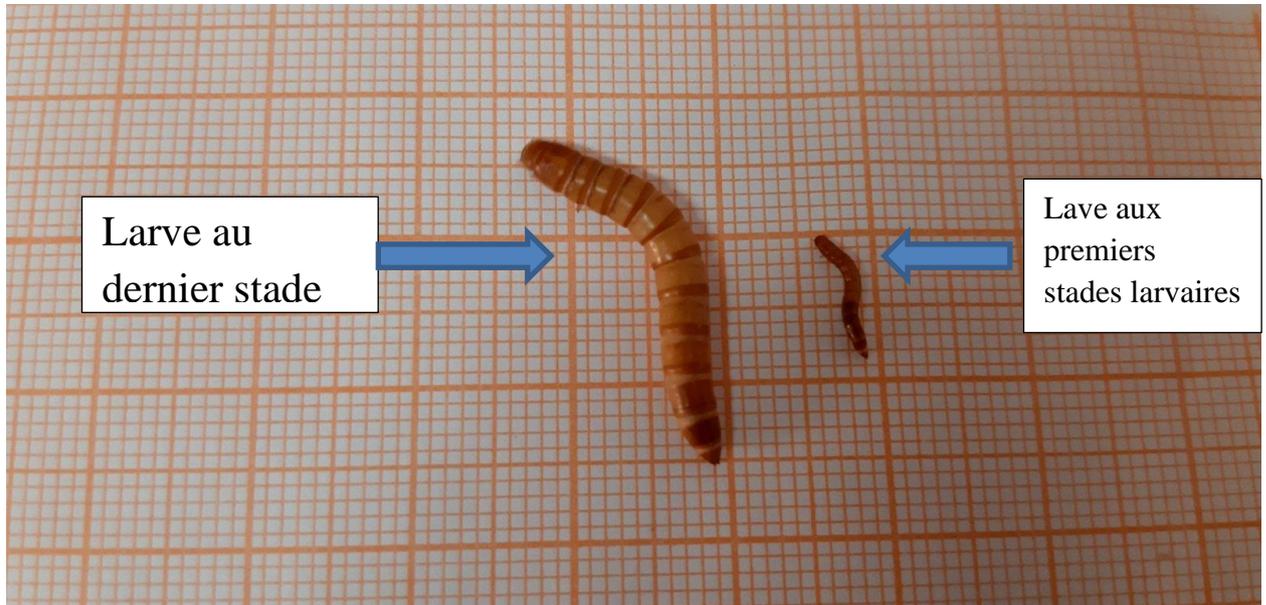


Figure 16 : Les stades larvaires (Photo originale).

La figure 17, montre les différents états de développement d'un imago (couleur claire) à un adulte (couleur noir foncé).



Figure 17: Le développement d'un imago a un adulte (a : stade imago, b et c : stade imago avancé, d et e : stade adulte mâle et femelle respectivement) (BERREMILI, 2020).

II. Efficacité de l'huile essentielle testée

II.1. La mortalité en élevage témoin

Que ce soit pour les larves ou les adultes, la mortalité observée au témoin après sept (7) jours d'exposition (On utilisant l'acétone uniquement) est nulle dans les trois boites de Pétri (les 3 répétitions).

a. Mortalité corrigée des larves :

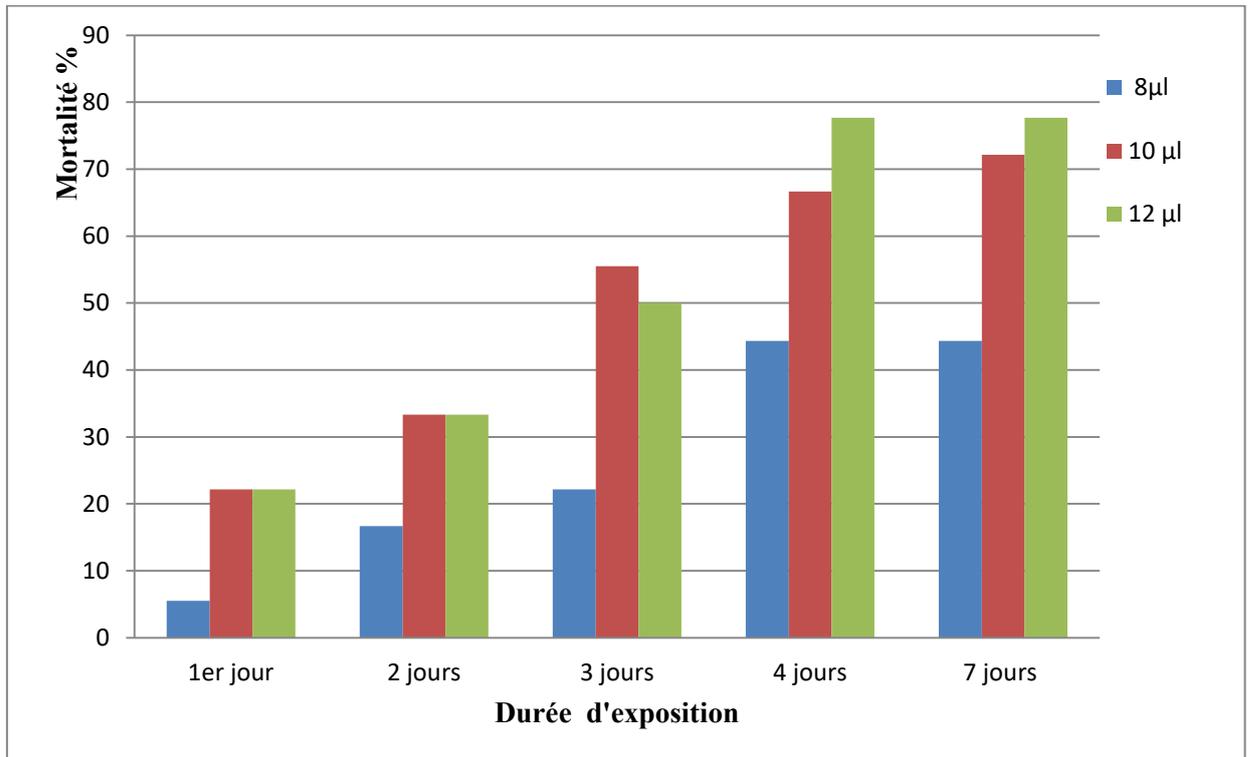


Figure 18 : Mortalité des larves de *Tenebrio molitor* en présence de l'huile essentielle de *syzygium aromaticum*.

- Selon le facteur dose en huiles essentielles extraites : il y a une variation significative entre les taux de mortalité avec $F = 36,95$ pour $P = 9,096.10^{-5}$
- Selon le facteur durée d'exposition : une différence significative entre les taux de mortalité avec $F = 49,58$ pour $P = 1,094.10^{-5}$

b. Mortalité corrigée des adultes :

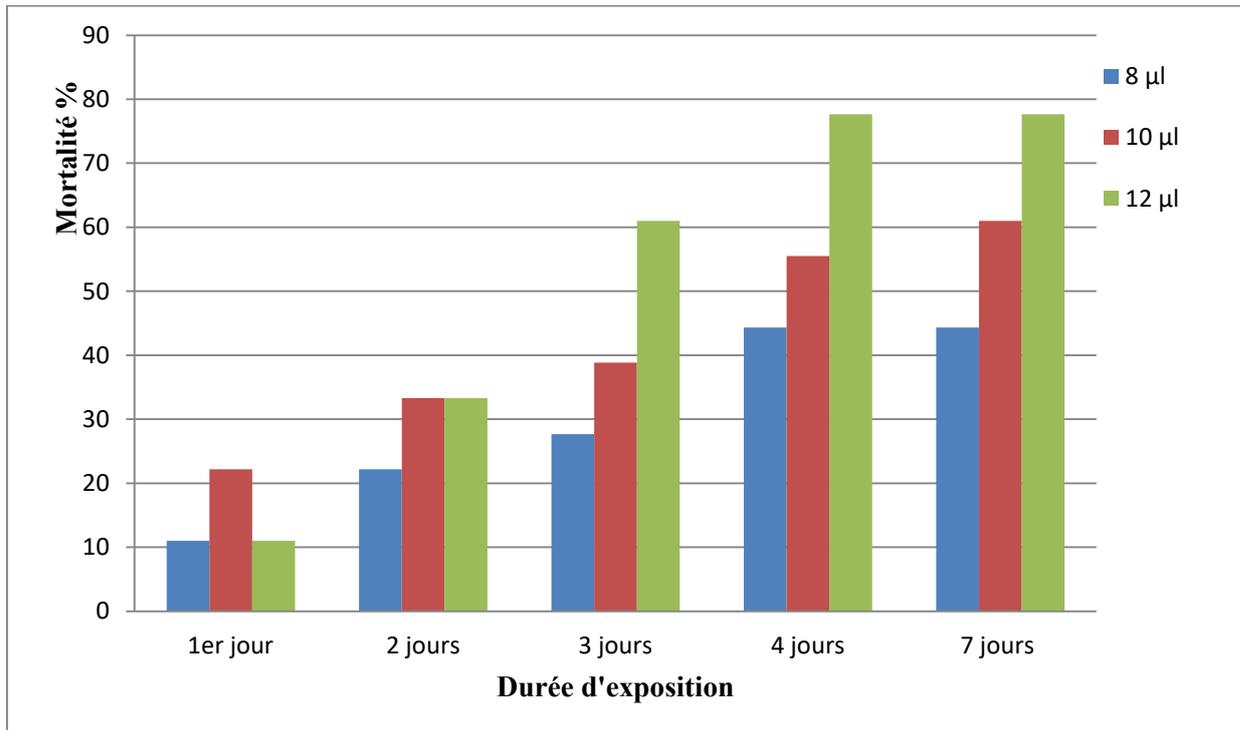


Figure 19 : Mortalité des adultes de *Tenebrio molitor* en présence de l'huile essentielle de *syzygium aromaticum*.

- Selon le facteur dose en huiles essentielles extraites : il y a une variation entre les taux de mortalité avec $F = 7,83$ pour $P = 0,013$.

- Selon le facteur durée d'exposition : une différence entre les taux de mortalité avec $F = 14,71$ pour $P = 0,0009$.

Comparaison de la toxicité de l'huile essentielle de Clou de girofle sur les larves et les adultes de *Tenebrio molitor* :

II.2. La dose létale pour 50 % de la population (DL50)

La transformation des mortalités corrigées des larves et des adultes après deux jours d'exposition en probits, et la régression de ces données en fonction des logarithmes des doses en huile essentielle, a permis d'obtenir les résultats suivants :

A/ Les larves

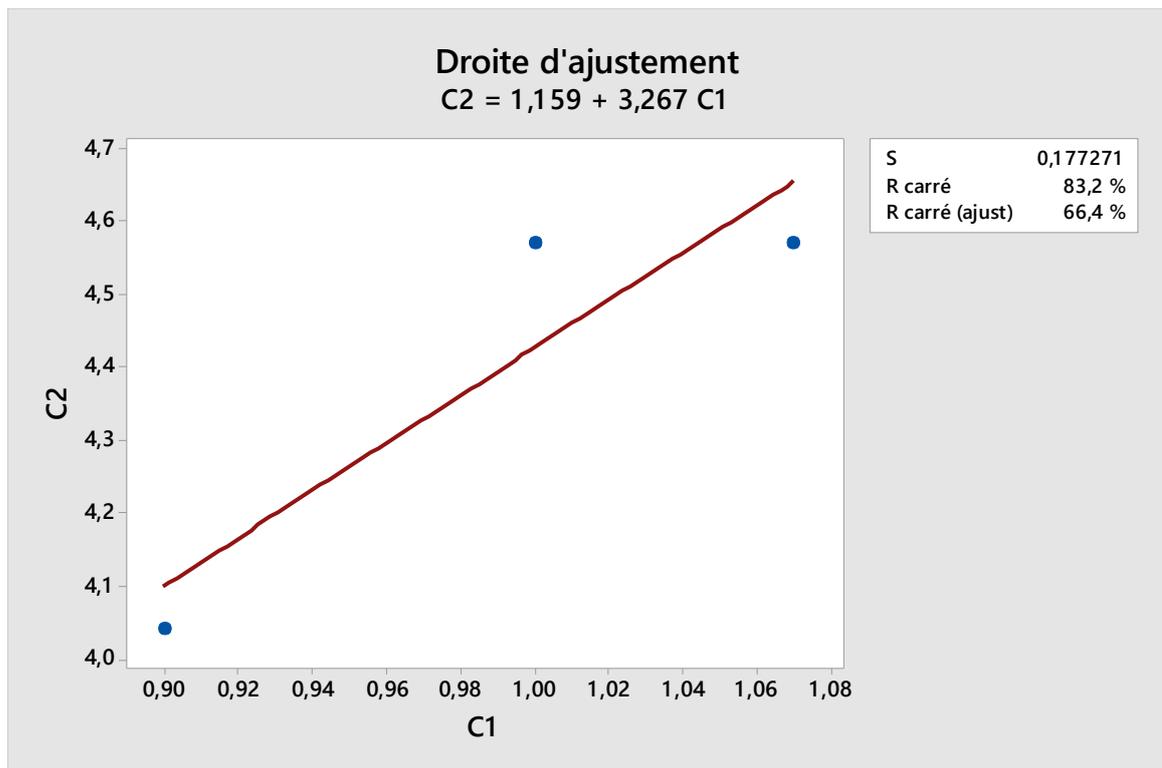


Figure 20 : Droite de régression Log doses de l’huile essentielle de *syzygium aromaticum* / probits des mortalités des larves de *Tenebrio molitor*.

B/ Les adultes

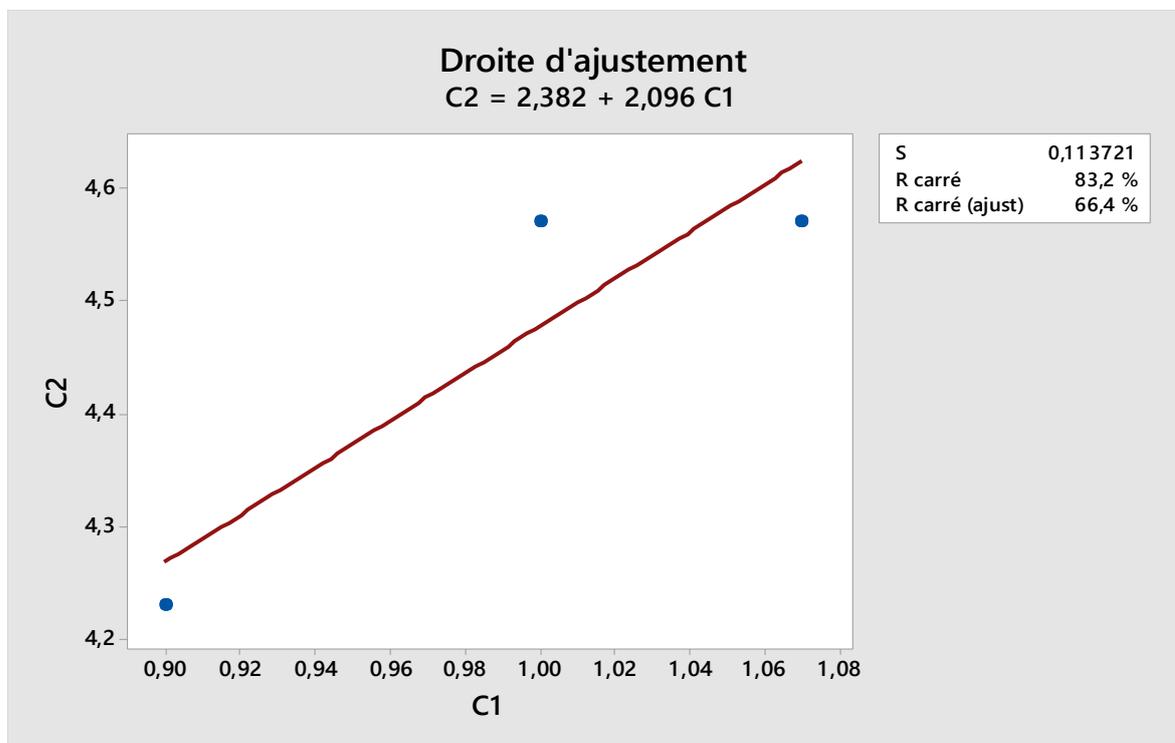


Figure 21 : Droite de régression Log doses de l’huile essentielle de *Syzygium aromaticum* / probits des mortalités des adultes de *Tenebrio molitor*.

II.3. Le temps léthal pour 50 % de la population (TL50)

La transformation des mortalités corrigées des larves en probits (en utilisant la dose 10 µl/ 10g son de blé), et la régression de ces données en fonction des logarithmes des durées d'exposition, a permis d'obtenir les résultats suivants

A/ Les larves

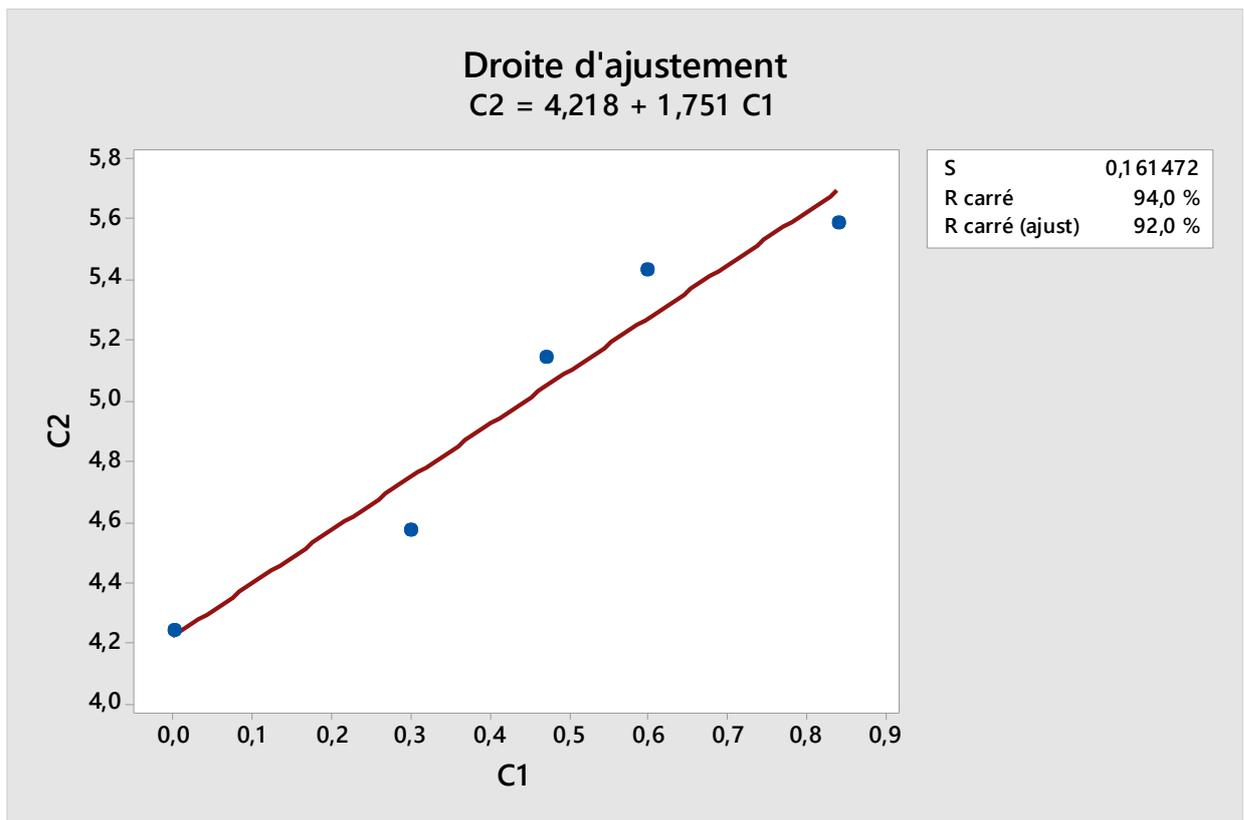


Figure 22 : Droite de régression Log durée d'exposition aux huiles extraites de *Syzygium aromaticum* / probits des mortalités des larves.

B/ les adultes

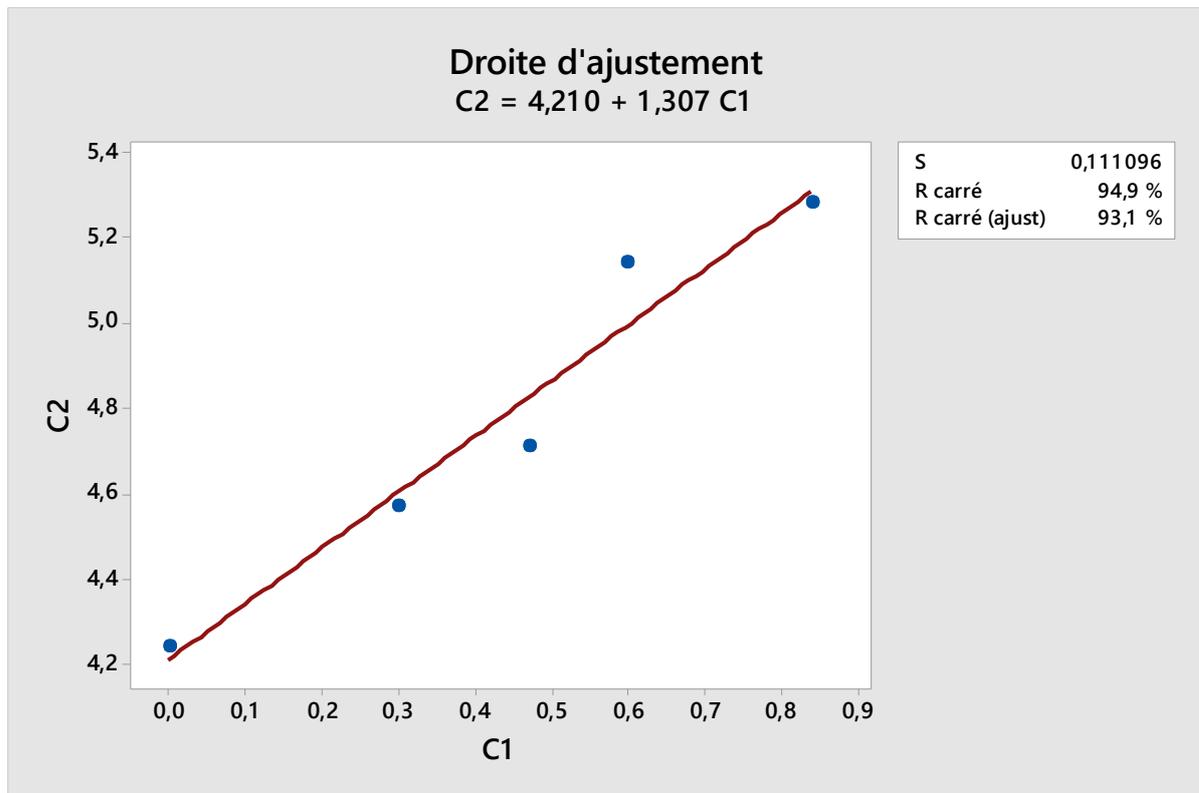


Figure 23 : Droite de régression Log durée d’exposition aux huiles extraites de *Syzygium aromaticum* / probits des mortalités des adultes.

Les tableaux suivants (06 et 07), résument les valeurs de la DL50 et le TL50 d’huile essentielle testée (*Syzygium aromaticum*).

Tableau 06: Valeurs des DL50 après deux jours d’exposition à l’huile essentielle testée selon les deux stades de *Tenebrio molitor*

Le stade de <i>Tenebrio molitor</i>	Equation de régression	DL50
Les larves	$C2=1,159+3,267C1$	14,98 µl
Les adultes	$C2=2,382+2,096C1$	17,74 µl

Tableau 07: Valeurs des TL50 en utilisant la dose 10 µl / 10g son de blé d’huile essentielle selon deux stades de développement de *Tenebrio molitor*

Le stade de <i>Tenebrio molitor</i>	Equation de régression	TL50
Les larves	$C2=4,218+1.751C1$	2,79 jours
Les adultes	$C2=4,210+1,307C1$	4,02 jours

Discussion

Selon les résultats obtenus après l'évaluation de l'activité biologique d'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* nous avons observé un effet biocide sur les larves et les adultes de Coléoptère étudié *Tenebrio molitor*.

Les résultats obtenus ont montré clairement que les huiles essentielles testées ont un effet insecticide (biocide) remarquable par rapport au témoin, en effet la mortalité des larves et les adultes au témoin dans les conditions du laboratoire est nulle (0%) après 7 jours d'exposition,

Après 3 jours d'exposition, nous avons observé une mortalité des larves de 50% et une mortalité des adultes de 61% en utilisation la dose la plus élevée soit 12 μ l, alors qu'en utilisant la même dose en huile essentielle, la mortalité des larves et les adultes peuvent atteindre 77,66 % après une durée d'exposition de sept jours.

L'analyse statistique a montré que la toxicité de l'huile essentielle varie selon le stade de développement de l'insecte et la dose utilisée.

Selon **KIM et al., (2003)**, la toxicité des huiles essentielles dépendent de l'espèce d'insecte, de la plante et du temps d'exposition. Selon **NGAMO & HANCE (2007)** ; **BOUCHIKHI TANI (2011)**, une huile essentielle n'exerce pas forcément la même activité aux différents stades du cycle biologique d'un insecte, comme il existe une grande variation dans la sensibilité des espèces d'insectes pour une même huile essentielle.

Les valeurs des DL50 calculées après deux jours d'exposition montrent que l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* sur les larves de *Tenebrio molitor* est plus toxique comparativement aux adultes de la même espèce avec 14,98 μ l / 10g son de blé et 17,74 μ l/ 10g son de blé respectivement.

Les valeurs des TL50 en utilisant une dose moyenne soit 10 μ L /10g son de blé confirment que l'huile essentielle de Clou de girofle est plus toxique sur les larves de *Tenebrio molitor* comparativement avec les adultes de la même espèce avec des TL50 de 2,79 jours et 4,02 jours respectivement.

Nos résultats sont similaires avec ceux rapportés par plusieurs auteurs. En effet **KETOH et al. (1997)** montrent que les huiles essentielles extraites de *Cymbopogon citratus*, *cymbopogon nardus*, *cymbopogon schoenanthus*, *Eucalyptus citriodora*, *Lavandula sp* et *Lippa multiflora* ont une nette action toxique sur les larves néoformées de *Callosobruchus maculatus*, à la concentration 33,3 μ l/l, toutes les huiles entraînent 100% de mortalité larvaire.

NAMANE et MEZANI (2014), ont signalé un taux moyen de mortalité de 100 % des adultes de *C. maculatus* traité à la dose 0,4ml / 25g avec des huiles d'olive issus de la région de Tizi-Ouzou.

Selon BOSTANIAN et al., (2005), les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou, ils sont moins efficaces avec des insectes à carapace dure tels que les Coléoptères et Hyménoptères adultes. D'après ACHEUK et al., (2014), les fortes doses en extrait éthanolique brut des plantes entraînent un effet larvicide sur les larves de *Locusta migratoria*, alors que les doses faibles entraînent des mortalités tardives et des perturbations de mue.

KELLOUCHE (2005) note que les graines de *Vigna unguiculata* traitées avec les huiles d'olive de première et de deuxième pression, les huiles d'oléastre et de tournesol, réduisent de façon très significative la longévité des adultes de *C. maculatus*. La mortalité totale des adultes a été obtenue à la dose 0,8 ml / 50g en moins de 24 heures.

KHRIS (2015) a noté que le taux de mortalité des adultes de *R. dominica* par l'huile d'olive est de 95 % en moins de 10 heures à la dose 0,8 ml / 50g de blé.

Selon OULD EL HADJ et al., (2005), l'étude de la toxicité des extraits de *Melia azedarach*. (Meliaceae), d'*Azadirachta indica* (Meliaceae) et d'*Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) vis-à-vis des larves du 5e stade et des adultes de *S. gregaria* révèle une mortalité de 100 % au bout de 10 jours pour les L5 et de 13 jours pour les adultes traités avec *A. indica*. Pour *M. azedarach*, elle est de 11 jours pour les L5 et 14 jours pour les adultes. Les individus traités à l'*Eucalyptus* meurent quelques jours plus tard. Les larves du 5e stade s'avèrent être plus sensibles que les imagos à ces extraits.

L'activité biologique de l'huile essentielle de *S. aromaticum* sur les insectes des produits stockés n'a fait l'objet que de quelques rares travaux comme ceux de LALE (1991), qui a évalué l'action de *Symbopogon sp.* (Rutaceae), de *S. aromaticum* et de *C. limon* sur *C. maculatus*. Cet auteur déduit que l'huile essentielle de clous de girofle est très toxique par contact. ZIDAN et al., (1993), ont mis en évidence l'action des extraits de différents végétaux, dont *S. aromaticum*, sur *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) et *C. maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). REGNAULT et al., (1995), ont testé plusieurs terpènes sur *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) et l'eugénol est cité parmi les plus toxiques. Cette bioactivité de l'eugénol vis – à – vis de *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) et *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrichidae) a été confirmée par les travaux de OBENG-OFURI et REICHMUTH (1997), qui considèrent ce composé comme potentiellement utilisable dans la protection des stocks des grains.

L'étude de l'activité biologique des extraits éthanoliques bruts de la partie aérienne de *S. argel* sur les larves du 5e stade de *L. migratoria*, montre une mortalité cumulée des larves traitées de différentes doses. Le taux de mortalité atteint 100% au bout de 14 jours après traitement à la faible dose 300 µg/larve, et au bout de 24 heures après traitement à la forte dose 3000 µg/larve.

AIBOUD (2011) a indiqué que les traitements par inhalation ont révélé que les huiles essentielles de Myrte, Eucalyptus, Origan et clous de girofle sont les plus toxiques vis-à-vis des larves de *C. maculatus*, avec 100% de mortalité chez les jeunes larves de 12 jours exposées au Myrte à la dose de 0,4µl / l. L'auteur a remarqué que les larves les plus âgées (18 jours) résistent mieux aux traitements que les jeunes larves de 12 jours.

Le classement de l'efficacité de ces huiles essentielles change selon l'insecte traité (*A. obtectus* ou *T. bisselliella*), selon le stade traité (adulte ou larve de *T. bisselliella*), et selon le test d'efficacité (efficacité sur la longévité des insectes ou sur la fécondité des femelles), ainsi sur la mortalité la toxicité varie selon la dose utilisée en huile essentielle et la durée d'exposition (**BOUCHIKHI TANI, 2011**).

Les différentes doses de l'huile essentielle des clous de *Syzygium aromaticum L.* (0,0019; 0,0039; 0,0079; et 0,0157µl/cm² ont occasionné respectivement 55; 75; 85 et 98,75% de répulsion vis-à-vis des larves de *Tuta absoluta*. Ceci montre clairement que le pourcentage de répulsion augmente en fonction de la dose. A la lumière de ces résultats, on peut noter que l'huile essentielle des clous de *Syzygium aromaticum L.* a également une forte activité insectifuge à l'égard des larves de *Tuta absoluta* (**MCDONALD et al., 1970**).

L'étude de **HAUBRUGE et al., (1989)** sur l'action des huiles essentielles de Rutacées sur les charançons du maïs *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae), le grand capucin du maïs *Prostephanus truncatus* (Coleoptera, Bostrychidae) et le tribolium rouge de la farine *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae) a révélé la toxicité la plus élevée pour l'huile essentielle de bigaradier, des résultats également rapportés par **HAMDANI (2012)** sur les adultes d'*A. obtectus* qui ont manifesté une mortalité de 100% à 6µl dès les premières heures d'exposition à l'huile essentielle de bigaradier.

L'activité insecticide des huiles essentielles de la famille des Poacées *Cymbopogon shoenanthus* et *C. nardus* et une lamiacée *O. basilicum* a été explorée sur *C. maculatus* et ses hyménoptères parasitoïdes (**KETOH et al., 2002**) de même que celles de giroflier (eugénol) (**KELLOUCHE, 2004**).

CONCLUSION

Conclusion

Les résultats de notre étude montrent que l'huile essentielle extraite de clou de girofle *Syzygium aromaticum* exerce un pouvoir insecticide (biocide) remarquable sur le Coléoptère *Tenebrio molitor*.

Les valeurs de la DL50 et le TL50 confirment les résultats obtenus et l'analyse de variance à deux critères de classification montre qu'elle existe une différence significative entre le taux de mortalité selon les deux facteurs la dose en huile essentielle et la durée d'exposition.

Le travail de recherche entre dans le cadre de la valorisation et utilisation des plantes aromatiques et Médicinales comme des insecticides naturels, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité bio-insecticide de l'huile essentielle extraite de clou de girofle à l'égard des autres ravageurs des cultures.

Au terme de ce travail nous pouvons conclure que ces huiles présentent une activité biocide importante, et l'effet de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* sur les larves de *Tenebrio molitor* sont avérées être plus toxiques avec une DL50 de 14,98 μ l / 10g son de blé et TL50 de 2,79 jours comparativement avec les adultes de *Tenebrio molitor* qui présentent une DL50 de 17,74 μ l / 10g son de blé de et un TL50 de 4,02 jours.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ABBOTT W. S., (1925):** A method for computing effectiveness of an insecticide. Journal. Ecological Entomology, 18, pp: 265-267.
2. **ACHEUK F., ABDELLAOUI K., BENDIFALLAH L., HAMMICHI A., & SEMMAR, E.** AFPP–dixième conférence internationale sur les ravageurs en agriculture Montpellier –22 et 23 octobre **2014**.
3. **AIBOUD K., 2011.** Etude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera ; Bruchidae) et impacte des traitements sur la germination de *vigna anguiculata* , Mémoire de Magister en science écologique. U.M.M.T.O. 58p.
4. **AIDANI H., 2015.** Effet des attaques de Capucin des grains (*Rhizopertha dominica*) sur les céréales stockées.. Mémoire de master 2: Agriculture, Production et Amélioration des plantes. Université Abou bekr belkaid 1 ,80p.
5. **AHMED M. S., 1992.** Composition, nutrition and favor of peanuts. H. G. batte anal C.T. young eds peanuts science and technologie T. X. pp: 655 – 688.
6. **ALZOUMA I., HUIGNARD J., LENGA A., 1994 :** Les coléoptères Bruchidae et les autres insectes ravageurs des légumineuses alimentaires en zone tropicale. In: Post-récolte, principes et application en zone tropicale. ESTEM/AUPELF Verstraeten et al. Eds. Pp. 79-103.
7. **AMARI N., 2014.** Etude du choix de ponte de la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* en présence de différentes variétés d'haricot et de pois chiche, et influence de quelques huiles essentielles (Cèdre, Ciste, Eucalyptus) sur activité biologique de l'insecte. mémoire de magistère pp23,23,25.
8. **AMSHOFF GJH., 1966.** Myrtacées. Paris : MNHN. p. 3-4 ; 16.
9. **BALACHOWSKY A. S., 1962.** Entomologie appliquée à l'agriculture.Ed. Masson et cie, paris, Tome I, pp .378-392
10. **BELMOUAZ. 2004.** Contrôle phytosanitaire et surveillance des denrées stockées. Agréage et protection phytosanitaire. Ed. O.A.I.C. (Office Intrprofétionnel des Céréales) ; pp 18-34.
11. **BENAYAD N. 2008.** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Universitaire Mohammed algie, 14.
12. **BENAZZEDDIN S. (2010) :** Activité insecticide de cinq huiles essentielles vis-à -vis de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera ; Curculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptera; Tenebrionidae). Mémoire master 2 : sciences agronomiques. Ecole nationale supérieure agronomique El Harrach Algérie. p 18.

13. **BERREMILI., 2020.** Etude de l'action larvicide de deux huiles essentielles sur une population expérimentale de *Tenebrio molitor*(Coleoptera : Tenebrionidae). Mémoire de master en écologie générale. P 1-56
14. **BHUMI, T., URVI, C., PRAGNA, P., 2017:** Biopesticidal Potential of Some Plant Derived Essential Oils Against The Stored Grain Pests. International Journal of Zoological Investigations, 23(3), p188–197.
15. **BOIS D., 1999.** Les plantes alimentaires chez tous les peuples et à travers les âges : histoire utilisation, culture. Volume 3 : plantes à épices, à aromates, à condiments. Paris : Ed. CME. p. 1-11.
16. **BOSTANIAN, N.J., AKALACH M., AND CHIASSON H. (2005):** Effects of a Chenopodium based botanical insecticide/acaricide on *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) and *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae). Pest Manag. Sci, 61: 979-984.
17. **BOUCHIKHI-TANI, Z. (2011)** Lutte contre la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. Thèse de doctorat, Univ. Tlemcen, Algérie,
18. **BOUCHIKHI-TANI, Z., KHELIL, M.A., and HSSANI, F. (2008):** Fight against the bruche bean *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) and the mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) by the essential oils extracted from *Rosmarinus officinalis*. Biosciences, Biotechnology Research Asia, 5(2): 651-656
19. **COANTIC A. (2007):** Analyse des effets de la réglementation sur le comportement de précaution des agents dans le cadre de la lutte contre l'invasion de maladie des cultures.. Mémoire de Master 2 : économie du développement durable, de l'environnement et de l'énergie. Université de paris . 17P
20. **CRUS J.F., TROUD F., GRIFFON D. & HEBERT J.P. (1988) :** Conservation des grains en régions chaudes. 2 Ed- « Technique rurales en Afrique ».Ed . CEEMAT; Paris, p545.
21. **DAGNELIIE, P. (1975):**théories et méthodes statistiques. les presses agronomiques de gembloux, Belgique, 2.pp :245-249.
22. **DALES, M .J. (1996):** A review of plant materials used for controlling insects pests of stored products. Ed. Crown copyright united king dom. NRA Bulletin. 65-84p.
23. **DEFOLIART, G., 2003.** Insects as food. *Encyclopedia of Insect.* 431-436. Resh, VH et Cardé, RT, Academic Press.
24. **DIDIER P. (2006) :** Didier P: Elevage du ténébrion meunier ("ver de farine"). [PDF], disponible sur : (<https://www.fondation-lamap.org/>), page consultée le (18 Septembre 2006).

25. **DIOP Y. M., MARCHOINI E. BA. D. Et HASSELMAN C. (1997)**: radiation des infestation of cowpea seeds contaminated by *Callosobruchus maculatus*. Journal of food processing and preservation. 21 (1): 69 – 81.
26. **DONGRET K., RANANAVAR H. D. ET DESSAS R. P. (1997)**: Influence of gamma radiation on oviposition and egg viability of *Callosobruchus maculatus* (F.) and grain loss in mung bean storage. J. Nuclear. Agro. Biol. 26 (3): 161 – 165.
27. **DOUMANDJI S.E., 1977**. Le stockage et la lutte contre les ennemis des céréales. Séminaire-la minoterie et les industries, pp : 4-14.
28. **DUPONT F, GUIGNARD JL., 2012**. Botanique : les familles des plantes. 15e éd. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson . p. 16.
29. **FRAVAL, A., D'AGUILAR, J. 2004**. *Glossaire entomologique*. Delachaux et Niestlé SA. 175p.
30. **FIELDS, P. G. (1992)**: The control of stored-product insects and mites with extreme temperatures. J. Stored Prod. Rev. N°34. Pp 269-277.
31. **FINNEY D. J., (1971)**: Statistical method in biological assay, 2nd edition. London: Griffin, 333p.
32. **FLEURAT - LESSARD, F. (1987)** :Evolution des méthodes de détection et de protection des grains par des procédés physique. Annales de L'A.N.P.P., 6, pp :449-458.
33. **GWINNER, J., HARNISCH, R. & MUCK, O. (1996)**: Manuel sur la manutention et conservation des graines après récolte. Ed. GTZ. Allemagne, 368p.
34. **HUIGNARD J., 1985**. Importances des pertes dues aux insectes ravageurs des graines : problèmes posés par la conservation des légumineuses alimentaires sources de protéines végétales. UA CNRS 340, pp: 193-204
35. **JONSSON, M., WRATTEN, S. D., LANDIS, D. A., & GURR, G. M. (2008)**. Recent advances in conservation biological control of arthropods by arthropods. Biological control, 45(2), 172-175.
36. **JOHNSON, DV. 2010**. The contribution of edible insects to human nutrition and to forest management. *Edible forest insects, Human bites back*. 5-22.
<http://www.fao.org/docrep/012/i1380e/i1380e00.pdf> consulté le 17/02/2013.
37. **KACHEBI N & KEBBI M. (2003)**:Contribution à l'étude de l'efficacité de la poudre des feuilles du pécher contre *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera, Bostrichidae).Ing. Univ. A M. Bejaia.P35.
38. **KASSEMI., KHELIL M.A., and BENDIMERAD N.,(2013)**. Evaluation of the insecticidal activity of the aerial part of *pseudocytisus integrifolius* (salisb) rehder on grain borer *ryzopertha dominica* fab .(bostrychidae) and wheat weevil *sitophilus granaries* linn.(curculionidae).journal of life sciences ,vol 7,n°7,pp :700-704 .

39. **KECHROUD M., (2012)**:effet insecticide des huile essentielle de *pinus nigra* Arl Ssp mauritanica maire et peyer sur les ravageurs de denrées stockées. Mémoire de Master 2 : Environnement et Sécurité Alimentaire. Université abdrrahmane mira de bejaia pp.14
40. **KHLIL M.A., 1977.** Influence de la chaleur utilisée comme moyen de lutte contre la bruche de haricot *A. obtectus* Say. (Coleoptera : Bruchidae) sur les différents états et stades de développement. Mem. D'Ing en Agronomie, INA. PP :14-26.
41. **KHRIS R., 2015.** Effet bio-insecticide de l'huile d'olive de la variété Chemlal à l'égard de *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera : Bostrychidae). Mémoire de Master en Biologie. U.M.M.T.O. : 22 - 25.
42. **KETOH G. K., GLITHO I. A., NUTO Y., KOUMAGLO H. K., 1998.** Effets de six huiles essentielles sur les œufs et les larves de *callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera : bruchidae). Sciences et Médecines. Vol. N°00 : 16-20.
43. **KIM, S., C. PARK, M. OHH, H. CHO AND Y. AHN. (2003)** : Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). J. Stored Prod. Res., N° 29, pp. 11-19.
44. **KIM, S., ROH, J., KIM, D., LEE, H., AND AHN, Y. (2003)** :Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. Journal of Stored Products Research, 39: 293-303.
45. **KELLOUCHE A., & SOLTANI N., 2004.** Activité biologique des poudres de cinq plantes de l'huile essentielle d'une d'entre elles sur *Callosobruchus maculatus* (F.). International Journal of Tropical Insect Science, 24 (1), pp: 184–191.
46. **KELLOUCHE A., 2005.** Etude de la bruche du poi-chiche, *Callosobruchus muculatus* (Coleoptera : bruchidae) : Biologie, physiologie, reproduction et lutte, Thèse. Doc d'état. Univ. Tizi-Ouzou, Algérie, 154p.
47. **KETOH G. K., 1998.** Utilisation des huiles essentielles des quelques plantes aromatiques du Togo comme biopesticides dans la gestion des stades de développement de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae), Thèse Doc. Univ. Bénin, Lomé, 141 p.
48. **KETOH G. K., GLITHO I. A., and HUIGNARD J., 2002.** Susceptibility of the Bruchid *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its Parasitoid *Dinarmus Basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) to Three Essential Oils. J. Econ. Entomol., 95(1), pp: 174-182.
49. **LAIB I., 2011.** Etude des activités antioxydants et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Mémoire de Magister en sciences Alimentaires à l'université MENTOURI Costantine.122p.
50. **LALE N. E. S. (1991).** The biological effects of three essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). J. Afr. Zool. 105, 357–362.
51. **LEONARD S. et NGAMO T. (2004)** :Conseil phytosanitaire interafricain, bulletin d'informations phytosanitaires. ed. F.A.O Rome N :44-58 p.
52. **LEPOIVRE, P., 2001.** "Les systèmes de production agricole et la protection des cultures à la Croisée des chemins." Biotechnologie Agronomie Société Environnement 5: 195-9

- 53. LINNAEUS., 1758.** 417. [Description originale] Linnaeus, C. 1758. Systema naturæ per regna tria naturæ, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Editio decima, reformata. Holmiæ. (Salvius). Tomus I: 1-824. [<http://www.biodiversitylibrary.org/item/10277>]
- 54. MAILHEBIAU P., 1989.** La nouvelle aromathérapie : caractérologie des essences et tempéraments humains. Toulouse : Ed. Nouvelle Vie. 372 p.
- 55. MCDONALD L.L., GUY R.H. & SPEIRS R.D., 1970,** Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants againts stored product insects. Marketing Res. Rep. n° 882. Washington: Agric. Res. Service, US. Dept of Agric., 183 p.
- 56. MIKOLO B., MASSAMBA D., MATOS L., LENG A., MBANI G. ET BALOUNGA P., 2007 :** Conditions de stockage et revue de l'entomofaune des denrées stockées du CongoBrazza ville. J.Sci. 7, N°1, 30-38.
- 57. NDIAYE, DECOLE SIDY BABA., 1999 :** Manuel de stockage et de conservation des céréales et des oléagineux. Cellule Centrale d'Appui Technique PADER II. Fonds Belge de Survie.
- 58. NGAMO, L. S. T., AND HANCE, T. (2007):** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical, Tropicultura J., 25(4): 215-220.
- 59. OBENG-OFURI D. ET REICHMUTH C. H. (1997)** Bioactivity of eugenol, a major component of *Ocimum suave* (Wild.) against four species of stored-product *Coleoptera*. Int. J. Pest Manag. 43, 89–94.
- 60. OPIE., 2013** <http://www.insectes.org/opie/monde-des-insectes.html> consulté le 14/05/2013
- 61. PERRIER DE LA BÂTHIE H., 1953.** Flore de Madagascar et des Comores, 152ème famille, Myrtacées. Paris : Firmin-Didot et Cie. p. 1-2.
- 62. PROCTOR D.L., 1995.** Techniques d'emmagasinage des grains : évolution et tendances dans les pays en développement. Bull. F.A.O N°109, 246p.
- 63. RAMARIJAONA RABARY BC., 1985.** Le giroflier de Madagascar : conditions de production et différentes utilisations. Thèse de chirurgie dentaire. Université de Nancy I ; 1985, 110 f.
- 64. RANOARISOA KM. 2012.** Evolution historique et état des lieux de la filière girofle à Madagascar, [Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur Agronome]. Antananarivo : Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques ;. 89 p. Disponible sur :
http://afs4food.cirad.fr/content/download/4421/33648/version/2/file/Ranoarisoa_historique_filiere_girofle_2012.pdf
- 65. REGNAULT-ROGER C. ET HAMRAOUI A. (1995)** Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae), a bruchid of kidney bean, *Phaseolus vulgaris* (L.). J. Stored Prod. Res. 31, 291–299.

- 66. SOEJARTO D., FARNSWORTH NR. (1989):** Tropical rainforsts: potential sources of New drugs. *Perspectives in Biology and Medicine*. 32:244-258.
- 67. STEFFAN J R., 1978.** Les insectes et les acariens des céréales stockées. Normes et techniques. AFNOR, 237 p.
- 68. TIAIBA AMEL., 2007.** Activité insecticide des huiles essentielles de mentha spicata L. et Origanum glandulosum Desf. Sur le potentiel biotique de *Callosobruchus maculatus* Fabicus. (coléoptère : Bruchidae). Ing. Institut nationale agronomique-el Harrach. Alger. P77.
- 69. VELDKAMP, T., G. VAN DUINKERKEN, A. VAN HUIS, C.M.M. LAEMOND, E. AND OTTEVANGER, E., AND M.A.J.S VAN BOEKEL. (2012).** Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets. A feasibility study. Wageningen UR Livestock Research, Report 638.
- 70. WHITE, N. D. G., DEMIANYK, C. J. and FIELDS, P. G. (2000).** Effects of red versus white wheat bran on rate of growth and feeding of some stored-product beetles. *Canadian journal of plant science*, 80: pp. 661-663.
- 71. ZEGGA S. & TIRCHI N. (2001) :** Activité biologique de quatre plantes sur la bruche du Pois – chiche. *C. maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae). 54 p.
- 72. ZIDAN Z. H., GOMAA A. A., AFIFI F. A., FAM E. Z. ET AHMED S. M. S. (1993)** Bioresidual activity of certain plant extracts on some grain insects, in relation to seed viability. *Arab Univ. J. Agric. Sci.* 1, 113–123.

Liste des sites web

Web 01: <https://docplayer.fr/7573737-Protection-des-cereales-des-oleagineux-et-des-legumineuses-a-grain-entreposes-a-la-ferme-contre-les-insectes-les-acariens-et-les-moisissures.html>

Web 02: <https://espacepourelavie.ca/insectes-arthropodes/tenebrion-meunier>

Web 03: https://victor-hugo-auby.enthdf.fr/wp-content/uploads/2020/03/SVT_6e_Bouchez_semaine-du-1er-juin.pdf

Web 04 : Giroflier [en ligne]. 2014 [consulté le 19.09.14].

Disponible sur : <http://www.agriculture.gov.mg/wpcontent/uploads/2014/pdf/Giroflier.pdf>

Web 05: www.gestel.li

Web 06: www.Dintzer.Tree.fr

Web 07: http://docnum.univ-lorraine.fr/public/BUPHA_T_2015_BARBELET_SOPHIE.pdf

Web 08:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Ffr.wikipedia.org%2Fwiki%2FGiroflier&psig=AOvVaw2J6U0zHCgVP1AY1DtRaHiG&ust=1625523162492000&source=images&cd=vfe&ved=0CAgQjhxqFwoTCJDYiOm3yvECFQAAAAAdAAAAABAD>

Web 09:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=http%3A%2F%2Fles.fleurs.free.fr%2FFLEURSSYMBOLSAD%2Findex-14.php&psig=AOvVaw34uBA3GZJOaXsFKJTXB- ez&ust=1625523335160000&source=images&cd=vfe&ved=2ahUKEwiyh4C5uMrxAhWxgHMKHXZjAosQr4kDegUIARDLAQ>

Web 10: www.faostat.fao.org

Web 11 : Phytomania (page consultée le 24 avril 2013), [En ligne], adresse URL :

<http://www.phytomania.com/girofle.htm>

Web 12: <https://www.caminteresse.fr/sante/clou-de-girofle-usages-bienfaits-et-risques-11149190/>

Web 13 : Wikiphyto (page consultée le 23 avril 2013), [En ligne], adresse URL :

http://www.wikiphyto.org/wiki/Giroflier#Propri.C3.A9t.C3.A9s_de_l.27huile_essentielle

Web 14 : Laboratoires Hévéa (page consultée le 23 avril 2013), [En ligne], adresse URL :

http://www.labo-hevea.com/huiles_essentielles/

Web 15 : Chemspider (page consultée le 23 avril 2013), [En ligne], adresse URL :

<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.13876103.html>

Web 16 : L'eugénol (page consultée le 23 avril 2013), [En ligne], adresse URL :

<http://www.exchem.fr/eugenol.htm>

Web 17 : Dictionnaire pharmaceutique (page consultée le 6 mai 2013), [En ligne], adresse URL : <http://www.informationhospitaliere.com/pharma-7705-leucotriene.html>

Web 18 : Huiles essentielles Gedane (page consultée le 7 mai 2013), [En ligne], adresse URL : http://www.gedane.ch/fr/huiles_essentielles/fabrication_huiles_essentielles.htm

Web 19 : <http://www.bioppam.com/nosproduits/purenaissance>