



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie appliquée

Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du Diplôme de

MASTER /Création une startup dans le cadre de l'arrêté Ministériel 1275

Domaine : Science de la nature et vie

Filière : Biologie appliquée

Option : Biochimie appliquée

Thème :

Étude de l'activité larvicide d'huile essentiel de *Laurus nobilis* (Lauracées) sur *Tenebrio molitor* (L) (Coleoptera : Tenebrionidae).

Présenté par :

M^{lle} DJERADI Nour El Houda

M^{lle} ZEGHDANI Sabah

Devant le jury :

| | | | |
|------------------|-----------------------|----------------------------------|------------------------|
| ROUABHI Rachid | Pr | Université de Tébessa | Président |
| GOUDJIL Tahar | MCA | Université de Tébessa | Examineur |
| GUENEZ Radja | MCB | Université de Tébessa | Promotrice |
| LAIMECHE Lakhdar | MCA | Université de Tébessa | Représent d'incubateur |
| HADJI Khaoula | Direction du commerce | Représente partenaire économique | |

Date de soutenance : 25 / 06 / 2023.

Année universitaire 2022-2023.

الملخص

تهدف دراستنا لتقييم نشاط المضاد للحشرات لمستخلص نبات الغار الاخضر *Laurus nobilis* المعروف باسم الرند ضد الحشرة المستوطنة للاطعمة المخزنة يرقة دودة الفريضة *Tenbrio molitor*.

تم التركيز على *Laurus nobilis* من خلال استخلاص اوراق الغار باستعمال جهاز Clevenger. حيث سجلنا 2.90 %

تم دراسة عدة جوانب :

الجانب السمي : سمح بايجاد الجرعات المميتة (CL₅₀) و (CL₉₀) في فترات مختلفة 24، 48 و 72 ساعة التي تم تطبيقها على الحشرة بواسطة الاستنشاق حيث كشف الاختبار ان هذا الزيت له خصائص مبيدات حشرية اي له فعالية كبيرة.

الجانب البيوكيميائي : تم تحديده بواسطة معايرة المدخرات الاستقلابية لليرقات المدروسة و المعالجين خلال اوقات مختلفة, اظهرت النتائج تفاوتاً في المحتوى خلال فترات زمنية مختلفة.

المؤشرات الحيوية : يكشف النشاط الانزيمي عند اليرقات المعالجة بالزيت الأساسي عن تأثير عصبي من خلال تثبيط نشاط نوعي لـ AChE .

الكلمات المفتاحية : الدودة ، الزيوت الأساسية، *Tenbrio molitor*، *laurus nobilis*، السمية، مؤشرات حيوية، بيوكيمياء.

Abstract

Our study aims to evaluate the anti-insect activity of the extract of the green laurel plant *Laurus Nobilis*, known as the rand, against the insect endemic to stored foods, the larva of the fern worm *Tenebrio Molitor*.

The focus was on *Laurus Nobilis* through the extraction of bay leaves using the Clevenger device. Where we scored 2.90 %

Several aspects have been studied:

Toxic aspect: it was allowed to find the lethal doses (CL50) and (CL90) in different periods of 24, 48 and 72 hours that were applied to the insect by inhalation, where the test revealed that this oil has insecticidal properties, i.e. it has great effectiveness.

Biochemical aspect: determined by the calibration of the autonomous savings of the studied larvae and handlers during different times, the results showed a variation in the content over different time periods.

Biomarkers: enzymatic activity in larvae treated with essential oil reveals a neuroprotective effect by inhibiting the specific activity of AChE.

Keywords: worm, essential oils, *Tenebrio molitor*, *Laurus nobilis*, toxicity, biomarkers, biochemistry.

Résumé

Notre étude vise à évaluer l'activité anti-insectes de l'extrait de la plante de laurier vert *Laurus nobilis*, connu sous le nom de rand, contre l'insecte endémique des aliments stockés, la larve du ver de fougère *Tenbrio molitor* .

L'accent a été mis sur *Laurus nobilis* par l'extraction de feuilles de laurier à l'aide du dispositif Clevenger. Où nous avons obtenu 2,90 %

Plusieurs aspects ont été étudiés :

Aspect toxique : il a été permis de trouver les doses létales (CL50) et (CL90) à différentes périodes de 24, 48 et 72 heures qui ont été appliquées à l'insecte par inhalation, où le test a révélé que cette huile a des propriétés insecticides, c'est-à-dire qu'elle a une grande efficacité.

Aspect biochimique : déterminés par l'étalonnage de l'épargne autonome des larves et des manipulateurs étudiés à différents moments, les résultats ont montré une variation du contenu sur différentes périodes de temps.

Biomarqueurs : l'activité enzymatique chez les larves traitées à l'huile essentielle révèle un effet neuroprotecteur en inhibant l'activité spécifique de l'ACHé.

Mots clés : ver, huiles essentielles, *Tenbrio molitor*, *laurus nobilis*, toxicité, biomarqueurs, biochimie.



Remerciements

En premier lieu, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Ce mémoire de fin d'étude a été réalisé au sein du Laboratoire de l'Université Echahid Chikh Larbi Tbessi - Tébessa, département de la biologie appliquée, sous la direction de Dr. GUENEZ Radja.



En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur **Madame Dr GUENEZ Radja**, Maître de Conférences classe « B » au département science de la vie, Faculté des Sciences Exacte et de la Nature et de la Vie, de l'Université de Chikh Larbi Tbessi -Tébessa- ; pour ses précieux conseils, son encadrement, ses critiques constructives, ses qualités humaines et scientifiques et son aide durant toute la période de travail.

Nous tenons à remercier aussi « **Mme Pr. TINE Fouzia** » Professeur au Faculté des Sciences Exacte et de la Nature et de la Vie, de l'Université Echahid Chikh Larbi Tbessi -Tébessa- pour son aide.

Nos vifs remerciements vont pareillement aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Monsieur **Pr. ROUABHI Rachid**. Professeur au Faculté des Sciences Exacte et de la Nature et de la Vie, de l'Université Echahid Chikh Larbi Tbessi -Tébessa- président de jury.

Monsieur **Dr. GHOUDJIL Tahar**. Maître de Conférences classe « A » au Faculté des Sciences Exacte et de la Nature et de la Vie, de l'Université de Echahid Chikh Larbi Tbessi -Tébessa- Chef département de science de la vie, Faculté des Sciences Exacte et de la Nature et de la Vie, de l'Université de Chikh Larbi Tbessi -Tébessa- examinateur de jury.





Monsieur **Dr. LAIMECHE Lakhdar**. Docteur au Faculté des Sciences Exacte et de la Nature et de la Vie, de l'Université de Echahid Chikh Larbi Tbessi -Tébessa- Représentant d'incubateur.

Madame **Dr. HADJI Khaoula**. Un représentant du partenaire économique de la direction des intérêts agricoles.

A tous les assistants du laboratoire de biologie de l'Université Echahid Chikh Larbi Tbessi -Tébessa- pour leur aide pendant la période de mon travail au laboratoire.

Enfin, nous remercions tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.





Dédicaces

A ceux qui m'ont tant appris, à ceux qui se sont toujours dévoués et sacrifiés pour moi, à ceux qui ont toujours été présents dans les bons comme les mauvais moments, à ceux qui m'ont tout donné : affection, amour, présence, à ceux qui ont partagé mes joies, mes rires et mes larmes, à mes très chers parents (Abd El Hamid, Chahla).

A mes chères sœurs, Awatef et son mari Safouane, Lika et Amal qui ont toujours répondu présentes et qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Ils m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

A tous ma famille ZEGHDANI, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité. A tous mes amis d'enfants qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès (Souad, Halima, Bouthaina, Aya, Sabrin).

Aux merveilleuses personnes que j'ai rencontrées durant mes cinq années, à mes copines et camarades de classe, à ces personnes qui m'ont fait vivre des moments mémorables (Mohammed, Sirine, Manar, Aicha, Sana) et surtout mon binôme NOUR EL HOUDA.

A tous mes professeurs d'université Echahid Chikh Larbi _ Fébessa _ surtout madame Dr. GUENEZ Radja, et tous ceux qui ont été crédités de mon éducation.

A toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

Je dédie cet humble travail.

SABA.H.Z





Dédicaces

je tiens tout d'abord à remercier Allah le grand dieu et le salut sur Mohamed le messager de dieu.

je tiens à remercier mes parents: A mon très cher père DJERADI LABIDI Pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour, pour son amour, Si l'amour est une médaille, alors tu mérites une médaille Et ses encouragements. Que ce travail, soit pour vous, un faible témoignage de ma Profonde affection et tendresse. Qu'ALLAH le tout puissant te préserve, t'accorde Santé, bonheur et te protège de tout mal.

A ma très chère mère ASSEL GUEZALA La joie de mes yeux et la joie de mon cœur. Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études.

Ô Allah, pardonne à mon père et à ma mère et élève leurs rangs dans le paradis supérieur.

Merci à ceux qui sont toujours à mes côtés sans raison et inconditionnellement, mes frères, garçons et filles Dieu vous protège et prend soin de vous.

A mes chères cousines : Nabila, Douaa, Hanane, Zahia.

A ma cher encadreur Madame. Dr GUEZ Radja pour son soutien, encouragement, et l'aide précieuse qu'elle m'a apportée tout le long de ce parcours en vue de la concrétisation de ce mémoire.

Et parce que l'amitié c'est la chance et la subsistance, je remercie Dieu de me l'avoir donnée Sedira Nassima

A mon binôme Sabah celle qui a partagé avec moi les bons et les mauvais moments.

Nour El Houda



Liste de tableau

| Tableau | Titre | Page |
|-------------------|--|-------------|
| Tableau 01 | Composition chimique de l'HE de <i>L. nobilis</i> : temps de rétention (TR) et concentrations (%) des différents constituants. | 21 |
| Tableau 02 | Principales familles chimiques de l'HE de <i>Laurus nobilis</i> . | 22 |
| Tableau 03 | Dosage des glucides totaux chez les <i>Tenebrio molitor</i> : Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides. | 38 |
| Tableau 04 | Dosage des protéines totales chez les <i>Tenebrio</i> : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines. | 39 |
| Tableau 05 | Dosage des lipides totaux chez les <i>Tenebrio</i> : Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides. | 40 |
| Tableau 06 | Caractéristiques organoleptiques et rendement des huiles essentielles extraites de <i>Laurus nobilis</i> . | 47 |
| Tableau 07 | Toxicité de l'HE de <i>L. nobilis</i> , appliquée sur du des larves nouvellement exuviées de <i>Tenebrio molitor</i> : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%). | 49 |
| Tableau 08 | Effet des HE extraites <i>L. nobilis</i> (CL 50 et CL 90) sur l'activité spécifique d'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves de <i>Tenebrio molitor</i> ($m \pm \text{SD}$, $n=3$) : test HSD de Tukey. | 50 |
| Tableau 09 | Effet des HEs extraites <i>L. nobilis</i> (CL 50 et CL 90) sur le contenu en protéines totales ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves de <i>Tenebrio molitor</i> à différentes périodes ($m \pm \text{SD}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey. | 51 |
| Tableau 10 | Effet des HE extraite de <i>L. nobilis</i> (CL 50 et CL 90) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves de <i>Tenebrio molitor</i> à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey. | 52 |
| Tableau 11 | Effet d'HE extraite de <i>L. nobilis</i> (CL 50 et CL 90) sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves de <i>Tenebrio molitor</i> à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey. | 53 |

| Liste de figure | | |
|-----------------|--|------|
| Figure | Titre | Page |
| Figure 01 | Structure de l'unité isoprénique. | 06 |
| Figure 02 | Structure chimique de quelques composés terpéniques des huiles essentielles. | 07 |
| Figure 03 | Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles. | 08 |
| Figure 04 | Plante de <i>Laurus nobilis</i> . | 18 |
| Figure 05 | Chromatogramme CPG-SM de l'HE de <i>L. nobilis</i> (Abondance en fonction du temps en min) (Guenez, 2019). | 23 |
| Figure 06 | Différent stade de <i>Tenebrio molitor</i> . | 25 |
| Figure 07 | Cycle de vie de <i>Tenebrio molitor</i> . | 26 |
| Figure 08 | Elvage de <i>Tenebrio molitor</i> . | 32 |
| Figure 09 | Séchage de <i>laurus nobilis</i> . | 33 |
| Figure 10 | Protocole d'extraction d'huile. | 33 |
| Figure 11 | Montage d'hydrodistillation. | 34 |
| Figure 12 | Le traitement. | 35 |
| Figure 13 | Les tests témoin positive et négative. | 35 |
| Figure 14 | Boîte de Pétri infestée par les larves de <i>Tenebrio molitor</i> . | 36 |
| Figure 15 | Conservation des échantillons dans 1ml de TCA avant la centrifugeuse. | 37 |
| Figure 16 | Dosage glucide. | 38 |
| Figure 17 | Dosage protéine. | 39 |
| Figure 18 | Dosage lipide. | 41 |
| Figure 19 | Extraction et dosage de l'acétylcholinestérase. | 43 |

| | | |
|------------------|---|-----------|
| Figure 20 | Spectrophotomètre. | 43 |
| Figure 22 | Toxicité de l'HE de <i>L. nobilis</i> (ppm), appliquée sur les larves du <i>Tenebrio molitor</i> nouvellement exuviées (A), Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, n=3 répétitions de 25 individus chacune). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey. | 48 |
| Figure 23 | Effet de l'HE de <i>L. nobilis</i> , appliquée sur les larves du <i>Tenebrio molitor</i> (A) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses. $R^2= 96\%$, 96% et 98% respectivement. | 48 |

Liste d'abréviation

°C : degré Celsius.

µg : microgramme.

1V/1V : deux solutions avec un même volume.

AChE : acétylcholinestérase.

CL50 : Concentration létale de 50% de la population.

CL90 : Concentration létale de 90% de la population.

g : gramme.

GSH : glutathion S-déshydrogénase (glutathion réduit).

GST : glutathion S-transférase.

h : heure.

HE : Huile essentielle

l : litre.

L₁ : le premier stade larvaire.

M : mole.

m : moyenne.

mg : milligramme.

ml : millilitre.

MM : millimole.

mn : minute

n : nombre de répétitions.

P : coefficient de signification.

Ppm : partie par million.

SEM : l'écart moyen.

sem : l'écart moyen.

trs : tours.

µl : microlitre

µM : micromole.

| TABLES DES MATIERES | |
|---|-----------|
| الملخص | |
| Abstract | |
| Résumé | |
| Remercîments | |
| Dédicace | |
| Liste de tableau | |
| Liste de figure | |
| Liste d'abréviation | |
| Tables des matières | |
| Introduction | 01 |
| PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE | |
| Chapitre I: Étude sur les huiles essentielles. | |
| 1. Définition | 05 |
| 2. Composition chimique des huiles essentielles | 05 |
| 2.1. Les composés terpéniques | 06 |
| 2.1.1. Monoterpènes | 06 |
| 2.1.2. Les sesquiterpène | 07 |
| 2.2. Composés aromatiques | 08 |
| 2.3. Les composés d'origines diverses | 08 |
| 3. Localisation | 09 |
| 4. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles | 09 |
| 5. Activité biologique | 10 |
| 5.1. Activité anti-inflamatoires | 10 |
| 5.2. Activité antimicrobienne | 10 |
| 5.3. Activité insecticide | 11 |
| 5.4. Activité antioxydant | 11 |
| 5.5. Activité antiseptique | 11 |
| 6. Utilisation de l'huile essentielle | 11 |
| 6.1. Dans l'industrie alimentaire | 12 |
| 6.2. En pharmacie | 12 |
| 6.3. En cosmétique et parfumerie | 12 |
| 6.4. En agriculture | 13 |

| | |
|---|----|
| 7. Rôle essentielle | 13 |
| 8. Extraction d'huile essentielle par Hydrodistillation | 14 |
| 9. Conservation | 14 |
| 10. Test de toxicité | 14 |
| 11. Analyse des huiles essentielle | 15 |
| 11.1. Chromatographie en phase gazeuse (CG) | 15 |
| 11.2. Chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse (CG-SM) | 16 |
| CHAPITRE II : Étude de la plante. | |
| 1. Etymologie et définition | 18 |
| 2. Histoire | 18 |
| 3. Position systématique | 19 |
| 4. Répartition géographique | 19 |
| 5. Description botanique | 19 |
| 6. Composition d'huiles essentielles | 20 |
| 6.1. Composition chimique de <i>laurus nobilis</i> | 20 |
| 7. Utilisation | 23 |
| 7.1. En médecine | 23 |
| 7.2. En cuisine | 24 |
| 7.3. En cosmétique | 24 |
| CHAPITRE III : Étude de l'insecte. | |
| 1. Famille | 23 |
| 2. Généralités sur <i>Tenebrio molitor</i> | 23 |
| 3. Nomenclature | 23 |
| 4. Systématique | 23 |
| 5. Morphologie de l'insecte | 24 |
| 6. Cycle de vie | 25 |
| 6.1. L'œuf | 26 |
| 6.2. Larve | 26 |
| 6.3. Nymphe | 26 |
| 6.4. Adulte | 27 |
| 7. Reproduction et développement | 27 |
| 8. Collecte | 27 |
| 9. Origine | 28 |

| | |
|--|-----------|
| 10. Utilisation | 28 |
| 11. Valeur nutritionnelle | 28 |
| 12. Dommage | 29 |
| PARTIE PRATIQUE | |
| I. Matériel et méthodes | 32 |
| 1. Technique d'élevage | 32 |
| 2. Extraction d'huile par Hydrodistillateur | 32 |
| 3. Traitement de toxicité | 34 |
| 4. Dosage des principaux constituants biochimiques | 36 |
| 4.1. Dosage des glucides totaux | 37 |
| 4.2. Dosage des protéines totales | 38 |
| 4.3. Dosage des lipides totaux | 39 |
| 5. Dosage des biomarqueurs | 41 |
| 5.1. Dosage de l'acétylcholinestérase | 41 |
| 6. Analyse statistique | 44 |
| II. RESULTATS | |
| 1. Caractéristiques organoleptiques et rendement d'huile essentielle | 47 |
| 2. Toxicité de l'HE de <i>Laurus nobilis</i> | 47 |
| 3. Impact des huiles essentielles sur les biomarqueurs | 49 |
| 3.1. Activité spécifique de l'acétylcholinestérase chez <i>Tenebrio molitor</i> | 49 |
| 4. Impact des HE sur la composition biochimique | 50 |
| 4.1. Effet sur le contenu en protéines totales | 50 |
| 4.2. Effet sur le contenu en glucides | 51 |
| 4.3. Effet sur le contenu en lipides | 52 |
| III. DISCUSSION | |
| 1. Rendement d'huile essentielle | 58 |
| 2. Toxicité d'HE à l'égard des larves <i>T. molitor</i> | 58 |
| 3. Impact d'HE sur le biomarqueur | 61 |
| 3.1. Effet sur l'activité spécifique de l'AChE | 62 |
| 4. Impact d'HE sur les réserves métaboliques des larves <i>T. Molitor</i> | 63 |
| 4.1. Effet du traitement sur les protéines | 63 |
| 4.2. Effet du traitement sur les lipides | 64 |
| 4.3. Effet du traitement sur les glucides | 65 |

Conclusion et perspectives

Référence bibliographique

Annexes

Introduction



Introduction

La science alimentaire se définit comme une combinaison des sciences fondamentales et des sciences appliquées s'occupant des diverses étapes comprises entre la production primaire des aliments végétaux et animaux et la consommation des produits finis. L'homme a fait depuis très longtemps de nombreux efforts pour conserver ses produits agricoles (la farine, blé et orge...) de la détérioration et de la corruption comme les insectes à cause des conditions climatiques favorables à leur développement (**Boeckel *et al.*, 2003**).

Les insectes des denrées stockées représentent une partie très importante des ravageurs des céréales stockées. Ils peuvent causer des pertes importantes en réduisant la qualité et/ou la quantité des produits stockés (**Kassemi, 2004**).

Pour éliminer ces insectes il existe plusieurs systèmes de la lutte, entre autres sont citées ces cinq classes : la lutte environnementale, la lutte biologique, la lutte génétique, la lutte mécanique, et la lutte chimique. A l'heure actuelle la lutte chimique est prédominante.

Cependant, l'exagération de l'utilisation de pesticides chimiques contre les insectes ravageurs, engendre des impacts néfastes pour la santé des humains et des animaux aussi pour le cycle écologie (**Eyraud, 2014**).

L'utilisation répandue des insecticides synthétiques a mené à beaucoup de conséquences négatives (la résistance aux insecticides, la toxicité sur la faune auxiliaire, les problèmes de résidu et la pollution environnemental) ayant pour résultat l'attention croissante étant donnée aux produits naturels (**Isman et Machial, 2006**).

Les plantes peuvent fournir des solutions de rechange potentielles aux agents actuellement utilisés contre les insectes parce qu'elles constituent une source riche en produits chimiques bioactifs. Beaucoup d'efforts ont été donc concentrés sur les matériaux dérivés de plante pour les produits potentiellement utiles en tant qu'agents commerciaux de lutte contre les insectes. Les plantes aromatiques sont parmi les bio-insecticides les plus efficaces

d'origine botanique et les huiles essentielles constituent souvent la fraction bioactive des extraits de plantes (Eyraud, 2014).

Étant donné que des recherches antérieures ont montré que les huiles essentielles sont des produits naturels qui jouent un rôle important dans la protection des aliments stockés, nous pouvons dire que notre étude est bénéfique sur le plan environnemental et économique.

Notre étude a été faite au niveau de laboratoire de biologie de l'université Chikh Larbi Tbsi -Tébessa-.

Ce travail vise à tester l'activité larvicide des extraits bruts de la plante aromatique, *Laurus nobilis* L, qui appartient à la famille des Lauracées. Leur huile essentielle est utilisée dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques, elles représentent récemment un sujet de recherche scientifique intéressant.

Dans ce contexte, notre étude a été consacrée dans une première partie à la recherche bibliographique composer 3 chapitres :

Chapitre I : Étude bibliographique sur les huiles essentielles en générale.

Chapitre II : Étude bibliographique sur la plante étudiée *Laurus nobilis*.

Chapitre III : Étude bibliographique sur l'insecte étudié *Tenebrio molitor*.

La deuxième partie a été consacrée au matériel et méthode, d'abord on commence par l'extraction d'huile essentielle de *L. nobilis*. Ensuite, l'effet larvicide de cette huile sur et la détermination des paramètres de létalité (CL50 et CL90) ont été étudiés.

De plus, l'étude de la réponse des larves, par la détermination d'un biomarqueur de neurotoxicité (acétylcholinestérase), chez les larves de premier stade de *Tenebrio molitor* témoins et traitées aux huiles essentielles à différentes périodes.

Enfin, traite l'impact de ce HE sur les réserves énergétiques (glucides, lipides et protéines) des larves L1 de cette espèce à différentes périodes 24, 48, et 72 heures.

Partie
bibliographique



Chapitre 9 :
Etude sur les huiles
essentielles



1. Définition

Le terme « **Huile** » s'explique par la propriété que présente ses composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « **Essentiel** » fait référence au parfum à l'odeur plus au moins forte dégagée par la plante (Mouhi, 2017). A partir la pharmacopée européenne, une huile essentielle est un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière végétale (Deschepper, 2017). L'agence française de normalisation : (afnor) donne la définition suivante : "L'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'un végétal matière première, et L'obtention des HE est généralement réalisée par :

- Soit par entraînement à la vapeur.
- Soit par distillation sèche.
- Soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage (Dhifi *et al.*, 2016).

De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (Toure, 2015). L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (Deschepper, 2017). D'autre part, l'obtention des HE par les différentes techniques est influencée par le séchage du matériel végétal. L'effet du séchage sur les HE a été bien discuté dans plusieurs travaux publiés. Généralement, le séchage des plantes aromatiques affecte significativement le rendement ainsi que les activités biologiques de leurs HE (Mouhi, 2017).

2. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont une très grande variabilité de leur composition, tant sur le plan qualitatif que quantitatif. Différents facteurs sont responsables de cette variabilité et peuvent être regroupés en deux catégories :

- Facteurs intrinsèques liés à la plante, et interaction avec l'environnement (type de sol et climat, etc.) et la maturité de la plante concernée, même au moment de la récolte dans la journée,

- Facteurs extrinsèques liés au mode d'extraction et à l'environnement. Et les principaux constituants des huiles essentielles appartiennent de manière quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Dhifi *et al.*, 2016).

2.1. Les composés terpéniques

Les terpènes doivent leur nom à Kekulé (ter-térébenthine ; pène-pin). Ce sont des composés formés de l'assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques (2-méthylbuta-1,3-diène), unité composée de cinq carbones isopréniques.

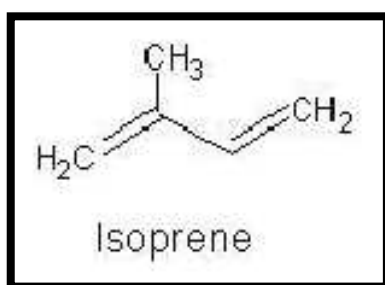


Figure 01 : Structure de l'unité isoprénique (Bakkali *et al.*, 2008) .

Selon Bruneton (1995, 1999) seuls les terpènes les plus volatils dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée (monoterpènes et sesquiterpènes) sont rencontrés dans la composition des huiles essentielles. Ils constituent entre autres le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbones. Extraites, ces molécules sont employées comme condiment (girofle) ou comme parfum (*rose, lavande*).

2.1.1. Monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les HE (90%). Ils comportent deux unités isoprène (C₅H₈), selon le mode de couplage tête-queue ». Ils peuvent être acycliques (Myrcène, Ocimène) ou cyclique, monocycliques (p-Cymène, (Terpinène) ou bicycliques (Camphène, Sabinene, Pinènes, 3-Carène). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (Mouhi, 2017).

2.1.2. Les sesquiterpènes

IL s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elles contiennent plus de 3000 molécules comme par exemple : B-caryophyllène, B-bisabolène, a-humulène, a-bisabolol, farnesol (Zaibet, 2018).

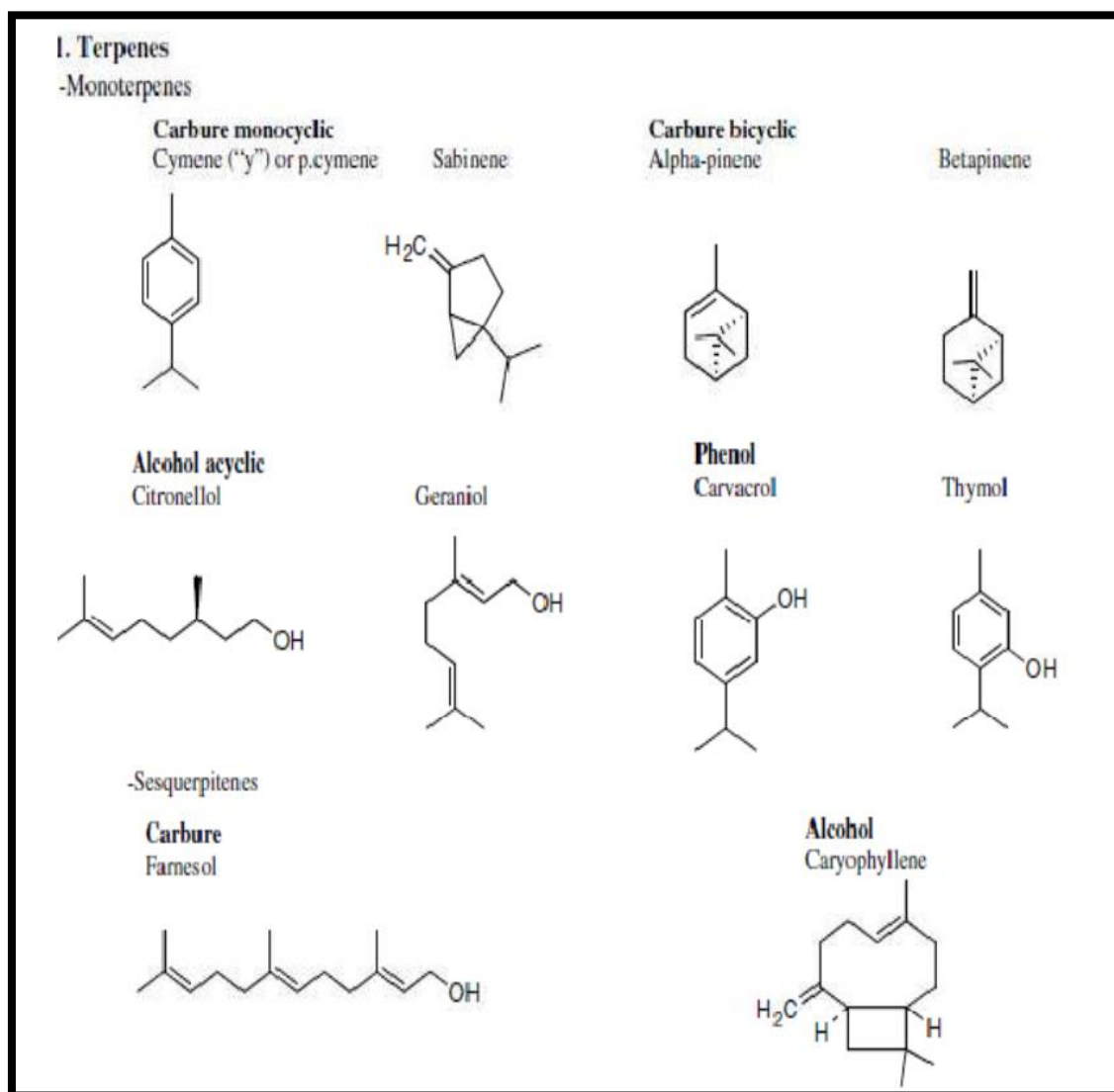


Figure 02 : Structure chimique de quelques composés terpéniques des huiles essentielles (Bakkali *et al.*, 2008).

2.2. Composés aromatiques

Contrairement aux composés terpéniques ; les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Nous pouvons citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle (Zaibet, 2018).

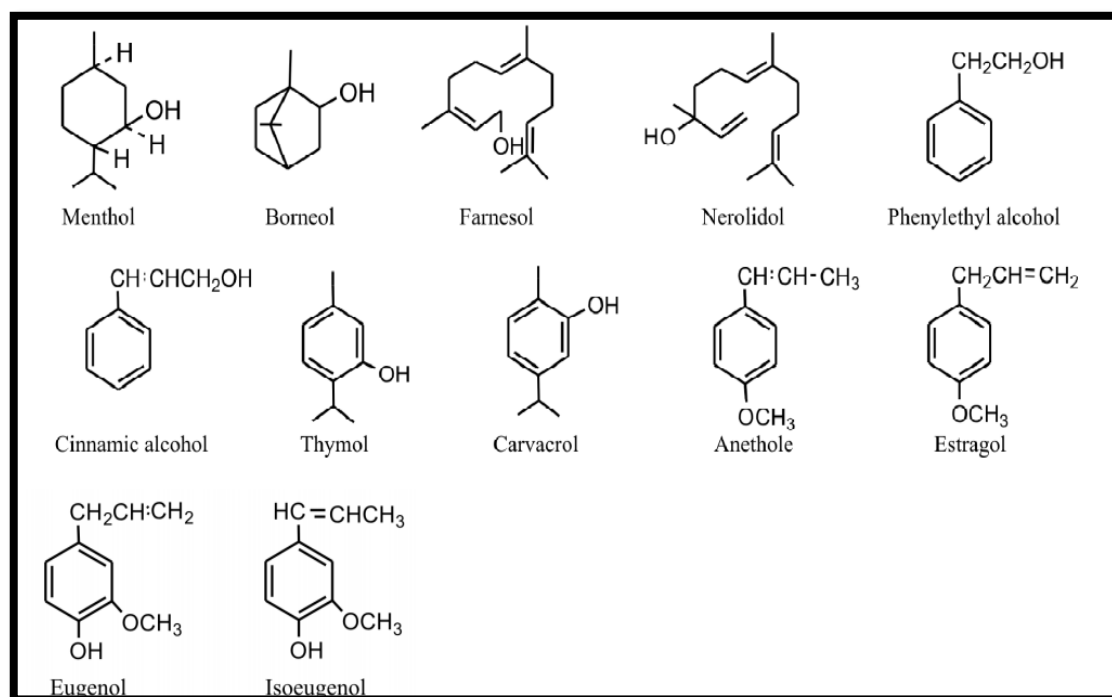


Figure 03 : Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles (Bakkali *et al.*, 2008).

2.3. Les composés d'origines diverses

Ces composés entrent également dans la constitution des huiles essentielles mais en faible proportion. Il s'agit de produits issus de la dégradation des acides gras et des terpènes. Des composés azotés et sulfurés peuvent également se rencontrer dans les huiles essentielles mais d'une manière très rare. Le composé sulfuré le plus rencontré est l'allyle-isothiocyanate issu de la dégradation d'un glucoside sinigrósido qui se trouve dans les graines de Moutarde noire. Ce composé est incolore, fluide et de saveur piquante. Certaines plantes aromatiques produisent des huiles essentielles dont les composés terpéniques renferment l'élément nitrogène. Parmi ces composés on cite l'indole, extrait d'huile essentielle de Citron et des

fleurs de *Jasmin*. Signalons enfin que, dans les Concrètes, il n'est pas rare de trouver des produits de masse moléculaire plus importante, non entraînés à la vapeur d'eau, mais extractibles par les solvants : homologues des phenyl propanes, diterpènes, etc (**Zaibet, 2018**).

3. Localisation

Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer de l'huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation (**Figueredo, 2007**) la synthèse et l'accumulation d'une HS généralement associées à la présence de structure histologiques spécialisée le plus souvent située sur ou proximité de la surface du végétal (**Mouhi, 2017**). Parmi les espèces végétales, 10 % seulement sont dites « aromatiques ». La capacité à accumuler l'HE est cependant la propriété de certaines familles de plantes réparties au sein de l'ensemble du règne végétal, aussi bien représentées par la classe des gymnospermes Cupressaceae (*bois de cèdre*) et Pinacea (*pin* et *sapin*) que celle des angiospermes. Les familles les plus importantes sont les dicotylédones comme celles des Apiaceae (*coriandre*), Asteracea (*camomille*), Geraniaceae (*géranium*), Illiciaceae (*anis*), Lamiaceae (*menthe*), Lauraceae (*cannelle*), Myristicaceae (*noix*), Myrtaceae (*eucalyptus*), Oleacea (*jasmin*), Rosacea (*rose*), Sandatalacea (*bois de santal*) et Rutacea (*citron*). Les monocotylédones sont principalement représentées par les familles Poacea (*vétiver*) et Zingiberaceae (*gingembre*) (**Couic-Marinier et al., 2013**). Aussi Tous les organes végétaux peuvent renfermer des huiles essentielles : fleurs (*bergamotier*), feuilles (*eucalyptus*, *laurier*), racines (*vétiver*), écorces (*cannelier*), fruits (*anis*, *agrumes*, *badiane*), graines (*muscade*), rhizomes (*gingembre*) et bois (*bois de rose*) (**Deschepper, 2017**).

4. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes, mais insolubles dans l'eau. Ces huiles volatiles sont généralement liquides et incolores à température ambiante. Ils ont une odeur caractéristique, sont généralement liquides à température ambiante et ont une densité inférieure à l'unité, à l'exception de quelques cas (*cannelle*, *sassafras* et *vétiver*). Ils ont un indice de réfraction et une activité optique très élevée. Ces huiles volatiles contenues dans les herbes sont responsables des différents parfums émis par les plantes (**Dhifi et al., 2016**).

Le point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires par exemple les points d'ébullition du caryophyllène, du géraniol, du citral et du α -pinène sont 260°, 230°, 228° et 156°C respectivement.

Un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active).

Parfois les huiles un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. **Par évaporation**, elles peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser de traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol ...) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante.

La solubilité est totale dans les huiles grasses qui représentent leurs meilleurs solvants, elle est très grande dans les alcools à titres élevés et dans les solvants organiques (**Zaibet, 2018**).

5. Activité biologique

Les plantes aromatiques produisent des huiles essentielles (HE) qui ont un grand pouvoir cicatrisant et des activités biologiques intéressantes telles que des propriétés antibactériennes, antifongiques, larvaires, insecticides et antioxydantes (**Herimanana et al., 2021**).

L'activité vitale de ces huiles essentielles dépend de leur composition chimique, qui varie en fonction de la partie de la plante utilisée au moment de la récolte et de l'extraction, de la nature du sol, de l'âge de la plante et des conditions de croissance (**Arshad et al., 2014**).

5.1. Activité anti-inflammatoires

Les huiles essentielles possédant des aldéhydes ont des propriétés actives contre l'inflammation par voie interne comme l'huile essentielle de *Gingembre* (**Zaibet, 2018**).

5.2. Activité antimicrobienne

Toutes les huiles essentielles ont une activité antibactérienne dans la marge de concentration de 21mg /ml, les huiles étaient actives contre les bactéries gram négatif (*Escherichia coli*, *Shigellasonnei*, *Salmonella typhosa*, *Serratiamarscens* et *pseudomonasaerugenosa*) et contre les bactéries gram positives (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus hemolyticus* et *staphylococcus aureus*) (**Sadia, 2015**).

5.3. Activité insecticide

Les huiles essentielles des végétaux ont montré des bio-activités larges et variées contre les parasites agricoles et les espèces d'insectes des produits stockés. Des études ont montré que toutes les huiles essentielles ont présenté un effet insecticide important vis-à-vis des adultes des insectes en fonction de la concentration des huiles essentielles et la durée de traitement (Alaoui *et al.*, 2018).

5.4. Activité antioxydant

Le stress oxydatif, qui survient lors de déséquilibre entre la production des radicaux libres et d'enzymes anti-oxydantes, est en relation avec l'apparition des maladies telle que l'alzheimer . Les HES de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants. Le thymol et le carvacrol sont encore une fois les composés les plus actifs. Leur activité est en relation avec leur structure phénolique car les composés de ce type ont des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes .L'activité anti-oxydante des huiles essentielles est également attribuable à certains alcools, éthers, cétones, aldéhydes monoterpéniques (linalool, 1,8-cinéole, géraniol/nérol, citronellal, isomenthone, menthone) et quelques monoterpènes: α -terpinène, γ -terpinène et α -terpinolène .La tendance des HES à inhiber l'oxydation d'acide linoléique est due principalement à la présence ou l'absence des composés phénoliques et ce résultat a été approuvé par plusieurs travaux (Bouguerra, 2019).

5.5. Activité antiseptique

Les propriétés antiseptiques et désinfectantes sont souvent retrouvées dans les huiles essentielles possédant des fonctions aldéhydes ou des terpènes comme l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* (Zaibet, 2018).

6. Utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles ou, comme on les appelle aussi, volatiles ou étherées, trouvent une application étonnamment large et variée dans de nombreux domaines (Guenther *et al.*, 1948).

6.1. Dans l'industrie alimentaire

Les premières utilisations des plantes aromatiques par l'homme se sont faites pour enrichir la cuisine (**Deschepper, 2017**). Les épices avec leurs principes aromatiques, les huiles volatiles, sont utilisées comme matières aromatisants depuis des temps immémoriaux. Pourtant, on ne réalise pas toujours suffisamment qu'ils sont réellement indispensables à l'homme pour permettre une bonne digestion des aliments. Les sucs digestifs contenant des enzymes digestives telles que la pepsine, la trypsine, la lipase, l'amylase, etc., ne sont sécrétés dans l'estomac et les intestins que lorsqu'ils sont stimulés par l'odeur et le goût des aliments agréablement aromatisés (**Guenther et al., 1948**). Les HE sont actuellement valorisés en industrie agroalimentaire due à leur activité antimicrobienne vis-à-vis des microorganismes d'altération et les principaux pathogènes, notamment *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*. D'un autre côté, les HE sont également utilisés en agroalimentaire comme des exhausteurs de saveurs (**Deschepper, 2017**).

6.2. En pharmacie

Certaines huiles volatiles sont des antiseptiques externes ou internes plus ou moins puissants, d'autres possèdent une action analgésique, hémolytique ou antizymatique, encore d'autres agissent comme sédatifs, stimulants et stomachiques. L'anthelminthique Les propriétés de certaines huiles volatiles, en particulier l'huile de vermifuge, sont bien connues. Escuela Beaucoup de choses a été publiées sur ce sujet, dans des livres et des articles sur pharmacologie, pathologie et physiologie de clinicien, particulièrement sur l'antiseptique et activités bactéricides des huiles volatiles (**Guenther et Althausen, 1948**).

6.3. En cosmétique et parfumerie

En outre, la large utilisation d'huiles volatiles dans les parfums, les cosmétiques et le parfum des savons n'a guère besoin d'être mentionnée. De plus en plus, les huiles volatiles et leurs isolats aromatiques servent également à couvrir des odeurs quelque peu désagréables, comme par exemple dans le cas des cuirs artificiels. Des articles acceptables et utiles peuvent maintenant être fabriqués à partir de matières premières qui étaient auparavant jetées ou négligées en raison d'odeurs désagréables. Dans la plupart des cas, l'incorporation d'aromatiques dans des produits tels que les caoutchoucs synthétiques et les latex a ouvert de nouveaux champs rentables pour les fabricants (**Guenther et Althausen, 1948**).

6.4. En agriculture

L'utilisation des huiles essentielles dans le domaine de l'agriculture est encore débutante mais est appelée à se développer. En effet, le contexte réglementaire actuel incite fortement à développer des produits phytosanitaires d'origine naturelle comme alternative aux moyens de lutte chimique. Les huiles essentielles sont actuellement testées sur différentes cibles : les insectes, les champignons, les bactéries, les adventices et également pour la conservation des semences. Des produits à base d'huiles essentielles sont déjà commercialisés dans certains pays d'Europe. L'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum* L.) est par exemple proposée pour lutter contre des maladies de conservation des pommes et des poires. La menthe verte (*Mentha spicata* L.) est utilisée pour inhiber la germination des pommes de terre. L'orange douce (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) est proposée contre de nombreuses maladies et insectes (mildiou, oïdium, rouille blanche, cicadelles, aleurodes...). De nouveaux produits à base d'huiles essentielles tardent à arriver sur le marché en raison d'une réglementation complexe. En effet, leur autorisation est soumise à la réglementation des produits phytopharmaceutiques, nécessitant d'apporter la preuve de l'efficacité et de la non dangerosité du produit. L'utilisation des huiles essentielles en agriculture biologique nécessite également leur inscription sur une liste dite « positive » de produits autorisés (Deschepper, 2017).

7. Rôle de huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) représentent une source de molécules bioactives et font l'objet de nombreuses études pour leur éventuelle utilisation comme pour la protection des aliments contre l'oxydation.

Le recours à ces huiles s'avère être un choix pertinent comme agents de conservation à la place des conservateurs synthétiques.

Le rôle de ces essences comme antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires, elles sont également utilisées comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Ismaili *et al.*, 2017).

8. Extraction d'huile essentiels par Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le principe de l'Hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult). Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger.

Les eaux aromatiques ainsi prélevées sont ensuite recyclées dans l'hydrodistillateur afin de maintenir le rapport plante/eau à son niveau initial. La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait (**Guenez, 2019**).

9. Conservation

Les huiles essentielles sont volatiles se conservent entre 12 et 18 mois. Elles sont très volatiles, ce qui signifie qu'il ne faut pas oublier de bien fermer le flacon. Elles doivent être conservées à une température entre 5°C et 35°C et à l'abri de la lumière (les rayons UV modifient leur structure biochimique et à basse température : dans des flacons étanches, en verre coloré (brun ou bleu) ou en acier inoxydable, de petit volume, avec des bouchons inertes (pas de liège), sous atmosphère d'azote (**Barlier, 2014**).

10. Test de toxicité

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Certaines d'entre elles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, en raison de leur pouvoir irritant (les huiles riches en thymol ou en carvacrol).

- Allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde).

- Photo-toxique (huiles de citrus contenant des furacoumarines).
- Un effet neurotoxique (les cétones comme l' α -thujone).
- Néphrotoxicité.
- Effets tératogènes et abortives.
- Propriétés carcinogéniques.
- Hypersensibilité (**Bouhaddouda, 2016**).

Les intoxications aiguës graves restent relativement rares et sont souvent liées à l'ingestion accidentelle d'huiles essentielles par de jeunes enfants. La principale toxicité chronique observée en aromathérapie est liée à l'utilisation prolongée d'huiles essentielles phénoliques, dangereuses pour les hépatocytes sur le long terme. Certaines huiles essentielles, sensibles par leur toxicité ou les usages détournés possibles, sont intégrées au monopole pharmaceutique (**Deschepper, 2017**).

11. Analyse des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont composées de plusieurs dizaines, voire centaines, de composés différents. Leurs propriétés étant étroitement liées à leur composition chimique, il existe plusieurs méthodes analytiques rendant possible l'étude de la composition chimique d'un échantillon, certaines sont plus adaptées à la séparation des composants des extraits aromatiques (**Deschepper, 2017**).

11.1. Chromatographie en phase gazeuse (CG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. C'est une méthode de séparation dont les principes généraux sont les mêmes que ceux énoncés pour la chromatographie en général, c'est-à-dire fondés sur la migration différentielle des constituants du mélange à analyser au travers d'un substrat choisi.

La CPG est la technique usuelle dans l'analyse des huiles essentielles. Elle permet d'opérer la séparation de composés volatils de mélanges très complexes et une analyse quantitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit (**Menaceur, 2015**).

11.2. Chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse (CG-SM)

Le couplage CPG/SM est, aujourd'hui, la technique de référence dans le secteur particulier des huiles essentielles. L'idée de coupler une autre méthode physique d'investigation après séparation chromatographique, dans le but d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique, s'est concrétisée dès 1960 dans la combinaison entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM. Le principe de cette méthode consiste à transférer par le gaz vecteur (phase mobile) les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs bibliothèques de référence permet son identification à condition que la similitude des spectres, inconnus et référence, soit suffisante et que les indices de rétention soient identiques, dans des conditions opératoires comparables (Zaibet, 2018).

Chapitre 99:
Etude de la plante



1. Etymologie et définition

Le mot laurier est une rectification de lorier. Quant à laurus, il est issu du latin *Lauda*, ce qui signifie louanges. Il était expressément réservé à la confection de couronnes que l'on plaçait sur la tête de ceux qui méritaient louanges (**Site web 1**).

Est un arbuste ou arbre aromatique et médicinal, le laurier noble (*Laurus nobilis*) est souvent présent dans nos jardins, il a donné son nom à la famille des Lauracées (**Bernard, 1997**) cet arbre toujours vert préféré les endroits humides et ombragés (**Annette, 2007**).

Synonymes : laurier d'apollon, laurier commun, laurier franc, laurier à jambon, laurier-sauce (**Marie, 2005**).



Figure 04 : Plante de *Laurus nobilis* (**Annette, 2007**).

2. Histoire

Le laurier est un arbuste décoratif prisé depuis l'Antiquité. Il joua également très tôt un rôle dans les croyances et la médecine. Pour les Romains, la mort d'un laurier portait malheur. Tressé en couronne, il ornait la tête des vainqueurs et des dignitaires. On disait également que la couronne de laurier protégeait de l'ivresse. En cas de difficultés digestives, une tisane de

laurier soulagerait et une feuille posée sur une piqûre d'insecte la ferait rapidement disparaître (Verlag GmbH, 2007).

3. Position systématique

- ◆ Règne : Plantes.
- ◆ Sous règne : Plantes vasculaires.
- ◆ Embranchement : Spermaphytes.
- ◆ S/Emb : Angiospermes.
- ◆ Classe : Dicotylédones.
- ◆ S /classe : Dialypétales.
- ◆ Ordre : Laurales.
- ◆ Famille : Lauracées.
- ◆ Genre : *Laurus*.
- ◆ Espèce : *Laurus nobilis* L (Ouibrahim, 2015).

4. Répartition géographique

Le laurier est la seule espèce représentant la famille lauracées dans la région méditerranéenne, en Asie mineure et en Afrique du nord et originaire du Moyen-Orient. Il est cultivé dans les autres régions comme plante décorative précieuse et pour la production commerciale dans beaucoup de pays tels que l'Algérie, la Turquie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis Méridionaux (Marie, 2005).

5. Description botanique

Le Laurier noble est un arbuste ou un petit arbre de 5-20 m, aromatique, toujours vert (Gérard, 2015), le tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique, et s'arrondissant

en fil du temps. L'écorce est noire à gris foncé et lisse. Ces branches remontent en oblique avec des jeunes pousses fines, glabres et brun rougeâtre dont les bourgeons sont étroits, verts rougeâtres et longs de 0,2 à 0,4 cm.

Et avec un feuillage est persistant avec des feuilles aromatiques, simples, alternes et coriaces dont le pétiole mesure de 2 à 5 cm, longues de 5 à 12 cm et large de 2 à 6 cm. Elles sont lancéolées, légèrement ondulées et entaillées au bord ; de couleur vert foncé, brillantes sur la face supérieure et verte clair au-dessous avec des nervures latérales pennées et rougeâtres (Ouibrahim, 2015).

Ses fleurs jaunâtres ou blan- châtres sont dioïques, odorantes et disposées en petites ombelles axillaires pédonculées et involuquées. Les fleurs mâles, au périanthe à 4 divisions égales et obovales portent 8-12 étamines disposées sur deux rangs, à anthères s'ouvrant de la base au sommet par des valvules. Les fleurs femelles, également à périanthe à 4 divisions égales et obovales portent un ovaire libre, entouré de 2-4 staminodes tripartis.

Les ovaires portent 1 style court et épais, à stigmate subcapité. Le fruit est une drupe noire, ellipsoïde, à une seule graine (Gérard, 2015).

6. Composition de huiles essentiels

Les composants des huiles essentielles de *Laurus nobilis*, ont été identifiés par la technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

6.1.Composition chimique de *Laurus nobilis*

Les composants de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* représentent 99,83% de la totalité de l'huile (Tableau 1). Les monoterpènes constituent le groupe chimique majoritaire. Cette huile comprend dix-neuf composants, avec la prédominance d'oxyde terpénique (1,8-Cinéole) (47,35%), du monoterpène bicyclique (35,81%) avec un composant majoritaire, le L- β -Pinène (31,14%). Le reste des constituants représentent des pourcentages considérables tels que : l'ester (Cyclopentène,3-isopropenyl-5,5-diméthyl) (0,13%) ; le phénol (Eugénol) (1,92%) ; l'éther (Eugénol méthyl éther et Cinnamaldéhyde) (4,91%) ; les monoterpènes oxygénés

cétones (p-menth-1-en 4-ol et α -Terpinéol) (2,17%) ; Les hydrocarbures isomériques (Sylvestrène et β -Terpinène) (6,75%) et les monoterpènes oxygénés alcools (β -Thujène, Terpinolène, α -Thujène, γ - Terpilène et Pulégone) (0,79%) (Tableau. 01).

Tableau 01 : composition chimique de l'HE de *L. nobilis* : temps de rétention (TR) et concentrations (%) des différents constituants (Guenez, 2020).

| Pic | Composants | TR | % |
|--------------|---|--------|---------------|
| 1 | α -Thujène | 6,248 | 0,08 |
| 2 | 3-Carène | 7,564 | 2,19 |
| 3 | α - Pinène | 7,673 | 0,75 |
| 4 | Terpinolène | 8,915 | 0,17 |
| 5 | Eucalyptol | 9,529 | 47,35 |
| 6 | γ - Terpilène | 10,395 | 0,30 |
| 7 | β -Terpinène | 10,743 | 0,16 |
| 8 | L- β -Pinène | 12,1 | 31,14 |
| 9 | α -Terpinéol | 14,679 | 0,31 |
| 10 | P-Menth-1-en 4-ol | 15,129 | 2,04 |
| 11 | 2-Methyl bicyclo [4, 3, 0] non -1(6) -ene | 15,681 | 1,57 |
| 12 | Cyclopentène, 3-isopropenyl-5,5-Dimethyl | 17,25 | 0,13 |
| 13 | Pulégone | 17,714 | 0,03 |
| 14 | β - Thujène | 18,41 | 0,21 |
| 15 | Cinnamaldéhyde, (E) | 18,949 | 0,02 |
| 16 | Pseudolimonène | 21,016 | 0,16 |
| 17 | D-Sylvestrène | 22,414 | 6,59 |
| 18 | Eugénol | 22,694 | 1,92 |
| 19 | Eugénol méthyl éther | 24,699 | 4,89 |
| Total | | | 99,98% |

Tableau 02. Principales familles chimiques de l'HE de *Laurus nobilis* (Guenez, 2020).

| Groupes chimiques | Total (%) | Composants |
|---|---------------|---|
| Monoterpènes cycliques (oxydes terpéniques) | 47,35 | Eucalyptol (1,8-Cinéole) |
| Monoterpènes bicycliques | 35,81 | L- β - Pinène 3-Carène 2-Methyl bicyclo [4, 3, 0] non -1(6) -ene α - Pinène Pseudolimonène |
| Ester | 0,13 | Cyclopentène, 3-isopropenyl-5,5-Diméthyl |
| Phénol | 1,92 | Eugénol |
| Ether | 4,91 | Eugénol méthyl éther Cinnamaldéhyde |
| Monoterpènes oxygénés cétones | 2,17 | P-Menth-1-en 4 -ol α -Terpinéol |
| Monoterpènes oxygénés alcools | 0,79 | β - Thujène Terpinolène α -Thujène γ - Terpilène Pulégone |
| Hydrocarbures Isomériques | 6,75 | Sylvestrène β -Terpinène |
| Total | 99,83% | |

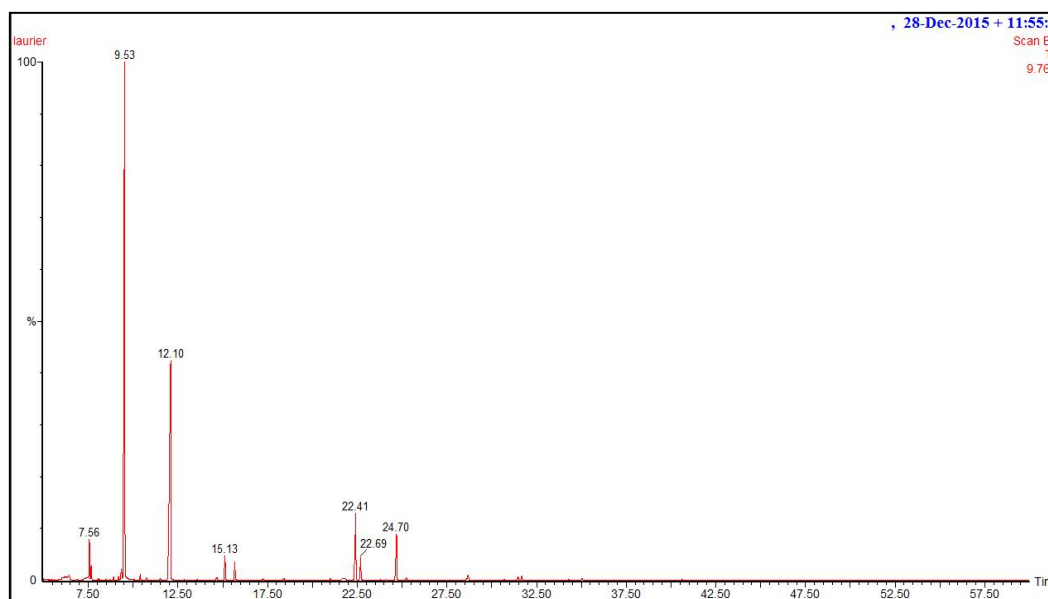


Figure 05 : Chromatogramme CPG-SM de l'HE de *L. nobilis* (Abondance en fonction du temps en min) (Guenez, 2019).

7. Utilisation

7.1 En médecin

On utilise les fruits et l'huile qu'on en extrait. En cuisine, les feuilles et les fruits apportent leur arôme. Santé La tisane de laurier est sa forme la plus connue. Elle apaise en cas de problèmes intestinaux ; elle stimule également la production de sucs digestifs, ainsi que l'appétit. Le laurier aurait aussi un effet positif en cas de douleurs articulaires. En application externe, l'huile diluée extraite des fruits frais serait un remède apprécié pour masser les articulations et les membres douloureux. En cas de douleurs articulaires, un bain de décoction de laurier soulagerai (Annette, 2007). Aussi la digestions difficiles, aphtes, gingivites, gripes, rhumes, infections ORL. Et Anti-infectieuse, expectorante, antispasmodique puissante, antalgique. On utilisera les huiles essentielles pour arrêter des douleurs aiguës physiques ou psychiques, gripes, infections ORL, hépatites virales, acnés et furoncles (Gérard, 2015).

7.2. En cuisine

Les feuilles sont très aromatiques et largement employées dans la cuisine (**Gérard, 2015**).

7.3. En cosmétique

Le laurier n'est pas seulement une plante aromatique, il est également apprécié depuis des millénaires pour ses propriétés purifiantes. Le laurier a même été à la base de l'industrie cosmétique actuelle. L'huile essentielle de Laurier est utilisée en cosmétique pour la peau grasse, l'acné, les rides et ridules et ce grâce à ses propriétés antioxydantes, purifiantes et tonifiantes. L'huile de laurier est l'ingrédient essentiel du premier savon dur. Le savon d'Alep, dont la fabrication remonte à plus de mille ans, est à l'origine de tous les savons durs. La qualité du savon est déterminée par sa teneur en huile de laurier (**Site web 2**).

Chapitre 999 :

Etude de l'insecte



1. Famille

La famille des Ténébrionidés est une grande famille de coléoptères qui comprend plus de 20 000 espèces dans le monde entier. Les ténébrionidés sont souvent appelés "coléoptères sombres" en raison de leur coloration principalement foncée. La famille des Ténébrionidés se caractérise par plusieurs caractéristiques morphologiques, notamment une forme de corps compacte, des élytres courts qui ne couvrent pas tout l'abdomen et des antennes généralement filiformes (filiformes) ou légèrement dentelées. Les ténébrionidés se trouvent dans une grande variété d'habitats, y compris les déserts, les forêts et les prairies, et ils jouent un rôle important dans de nombreux écosystèmes en tant que décomposeurs, herbivores et prédateurs (Bouchard *et al.*, 2011).

2. Généralités sur *Tenebrio molitor*

Les vers de farine jaunes, ou vers de farine en abrégé, sont les larves de *Tenebrio molitor*, le deuxième des quatre stades de vie : œuf, larve, nymphe et coléoptère *T. molitor* appartient à la famille des ténébrionidés (nom commun 'darkling beetle').

Dans sa région tempérée indigènes, *T. molitor* est considéré comme un ravageur car il infecte les maisons et installations céréalières entreposées, mais dans d'autres environnements, *T. molitor* est une ressource de protéines (Brandon *et al.*, 2018 ; Yang *et al.*, 2018).

3. Nomenclature

Selon (Brandon *et al.*, 2018 ; Yang *et al.*, 2018) le mot scientifique de *Tenebrio molitor* est l'insecte ver de farine jaune.

4. Systématique

La classification de *Tenebrio molitor* a été donnée par **Linnaeus en 1758**.

- ◆ **Règne** : Animalia
- ◆ **Embranchement** : Arthropoda
- ◆ **Classe** : Insecta
- ◆ **Ordre** : Coleoptera
- ◆ **Famille** : Tenebrionodae
- ◆ **Sous-famille** : Tenebrionidae
- ◆ **Genre** : *Tenebrio*
- ◆ **Espèce** : *Tenebrio molitor*

5. Morphologie de l'insecte

Tenebrio molitor, comme la majorité des insectes, a trois paires de pattes et un corps divisé en trois sections : la tête, le thorax et l'abdomen. Les femelles pondent jusqu'à 500 œufs qui éclosent au bout d'environ 7 jours.

Les ténébrions sont noirs et font de 1,25 à 2 cm de long pour les adultes en fin de stade.

Les larves (vers de farine) sont blanches au départ, puis prennent rapidement une couleur marron jaunâtre. Le stade larvaire dure de quatre semaines à plusieurs mois, selon l'humidité et la température ambiantes. Les vers à farine ne passent pas par un nombre de stades de croissance fixe et peuvent muer de 9 à 20 fois. Ils grandissent jusqu'à 2 à 3 cm avant de se nymphoser.

Le stade nymphal dure autour de 7 jours avant l'émergence des ténébrions (**Cloutier, 2015**).



Figure 06 : Différent stade de *Tenebrio molitor* (Site web 3).

6. Cycle de vie

Les œufs éclosent après 4 à 18 jours ; la larve stade dure généralement de 6 à 9 mois. Les vers de farine généralement au stade larvaire. La nymphale période varie de 6 à 18 jours, et les adultes vivent généralement 2-3 mois. La durée du cycle de vie du ver de farine jaune dépend de la nourriture l'environnement (figure 07). Dans des conditions favorables, la période la plus courte entre l'œuf et le stade adulte est d'environ 200 jours, mais sous moins conditions favorables une période de 629 jours (environ 2 ans) a été enregistré. Dans le laboratoire à 25°C, le cycle de vie complet prend environ 6 mois (Singh, 1975).

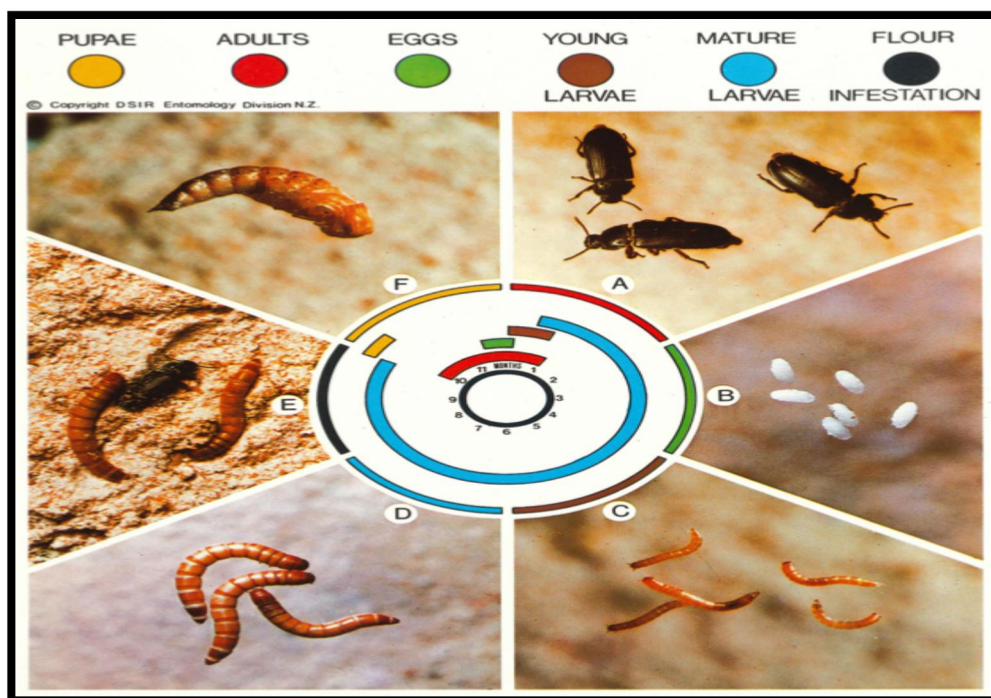


Figure 07 : Cycle de vie de *Tenebrio molitor* (Singh, 1975).

6.1. L'œuf

L'œuf est ovale, opaque, blanc laiteux et brillant, environ 1,5 mm de long et environ 0,60 mm de large. Une femelle pond 250 à 1 000 œufs individuellement ou en petites grappes sur la nourriture. Lors de la première pose les œufs sont recouverts d'une sécrétion collante, et des particules de nourriture les recouvrent rapidement.

6.2. Larve

La larve nouvellement éclos est blanche mais devient brun jaunâtre à mesure qu'il grandit de 2 à 25 mm ou plus (C, D, E). Larves adultes ressemblent étroitement aux taupins en apparence. Le nombre de stades larvaires stades L_1 varie de 9 à 21.

6.3. Nymphe

Lorsqu'elles sont prêtes à se nymphoser, les larves se déplacent vers la surface de la nourriture infestée et passer quelques jours comme prépupées avant de devenir pupes. La

nymphe mesure environ 15 mm de long, 5 mm de large, blanc lorsque d'abord formé mais bientôt changeant en jaunâtre brun, et a une rangée de latéral caractéristique lamelles de chaque côté. Il n'a ni cocon ni pro-couverture tective (F).

6.4. Adulte

Le coléoptère adulte (voir photo 05 A) est brun foncé, allongé, modérément convexe, un peu brillant, et de 17 à 25 mm de long. Mâles et femelles avoir des ailes bien développées et regarder superficiellement pareil. Ils préfèrent les endroits sombres, humides et miteux à l'intérieur d'entrepôts, de moulins ou de magasins de céréales.

Tenebrio molitor est un insecte holométabolique en métamorphose complète : son stade larvaire n'est pas le même que son stade adulte (**Lavalette, 2013 ; Cloutier, 2015**).

7. Reproduction et développement

L'accouplement a lieu quelques jours après l'émergence et se répète à intervalles réguliers tout au long de la vie des coléoptères. Des études ont montré qu'une fois fécondée, la femelle produit des œufs fertiles pendant une longue période, peut-être tout au long de la période de ponte moyenne. Les femelles non fécondées peuvent également pondre quelques œufs, mais aucun d'entre eux n'a éclos. La période prénatale est quelque peu différente et est principalement influencée par la température. Les adultes ont commencé à partir de *T. Molitor* est en ponte de 5 à 18 jours. Et les coléoptères dans tous les cas sont conservés à des températures normales de laboratoire (**Cotton et Saint, 1929**).

8. Collecte

Bien qu'on trouve le vers de farine dans de nombreuses régions du monde, dans les lieux d'entreposage des céréales, il est rarement récolté dans la nature, mais provient plutôt d'élevages d'amateurs ou de producteurs commerciaux (**Cloutier, 2015**).

9. Origine

Sont d'origine européenne ou asiatique. En ce qui concerne à répartition en Amérique du Nord, les registres tenus par le Bureau d'entomologie des États-Unis indiquent que *T. molitor* ne se reproduit pas librement dans le Sud mais préfère le climat plus frais des États plus septentrionaux (**Cotton et Saint, 1929**).

10. Utilisation

Les larves de vers de farine sont utilisées comme nourriture pour de nombreux petits oiseaux, amphibiens, reptiles, jeunes animaux insectivores, arthropodes carnivores, et du poisson. Dans les aquariums et les parcs zoologiques, où il y a beaucoup bouches affamées à nourrir, elles sont très demandées (**Cotton et Saint, 1929**).

11. Valeur nutritionnelle

Le ver de farine jaune (*Tenebrio molitor*) attire de plus en plus l'attention en tant que source durable et alternative de protéines pour la consommation humaine. Selon les recherches, le ver de farine jaune a une valeur nutritive élevée et est riche en protéines, en matières grasses et en divers micronutriments.

Une étude de **Rumpold et Schlüter (2013)** a analysé la composition nutritionnelle des vers de farine jaunes et a révélé qu'ils contenaient 56% à 58% de protéines, 13% à 21% de matières grasses et 13% à 17% de fibres, selon le stade de développement de l'insecte. L'étude a également révélé que les vers de farine jaunes étaient une riche source de minéraux, notamment de fer, de zinc et de magnésium.

Une autre étude de **Finke (2007)** a rapporté que les vers de farine jaunes avaient des niveaux élevés d'acides aminés essentiels, y compris la lysine, la thréonine et la méthionine, qui sont importants pour la santé humaine.

Dans l'ensemble, la valeur nutritionnelle du ver de farine jaune suggère qu'il pourrait être une source prometteuse de protéines pour la consommation humaine. Cependant, des

recherches supplémentaires sont nécessaires pour comprendre son potentiel en tant que source alimentaire et pour répondre aux préoccupations concernant la salubrité des aliments et l'acceptation par les consommateurs.

12. Dommage

Le ver de farine jaune est principalement un ravageur de la farine et repas, mais infeste également les céréales, les céréales et autres produits de moulin, en particulier dans l'obscurité, humide endroits où le grain n'a pas été dérangé pendant un certain temps. Les larves et les adultes s'en nourrissent produits, croissant et se reproduisant assez lentement. Ils font moins de dégâts que beaucoup d'autres plus petits scarabées (**Singh, 1975**).

Partie Pratique



9. Matériel et méthodes



I. Matériel et Méthodes

1. Technique d'élevage

Le ver de *Tenebrio molitor* provient de l'office professionnel algérien des céréales de l'état de Tébessa. L'élevage a été conduit au laboratoire dans une étuve sous des conditions optimales de développement, caractérisées par une température de 27°C, une humidité relative voisine à 70 % et à l'obscurité.

L'élevage de masse de *Tenebrio molitor* a été concrétisé dans des boîtes en plastique ayant une longueur de 20 cm, une largeur de 11 cm et une profondeur de 13 cm, contenant la farine, le sucre et la levure comme substrat alimentaire. Nous avons adopté dans nos essais les larves des premiers stades (L₁).



Figure 08 : Elvage de *Tenebrio molitor* (Photo originale, 2023).

2. Extraction d'huile par Hydrodistillateur

Le laurier utilisé provient d'un lot cultivé dans la région algérienne (Tébessa). Les parties utilisées sont les feuilles. Les vendanges ont eu lieu en mars 2023. Où ils ont été séchés pendant 15 jours dans l'obscurité.



Figure 09 : Séchage *Laurus nobilis* (Photo originale, 2023).

Une biomasse de 100g du matériel végétal (Partie aérienne de *L. nobilis*) et 850 ml d'eau distillée est soumise à une hydrodistillation en utilisant un montage de type CLEVENGER durant 3 heures (Fig. 10). Les huiles essentielles recueillies par décantation à la fin de la distillation sont ensuite conservées à 4°C dans de petits flacons bien fermés en verre ombré jusqu'à l'utilisation.

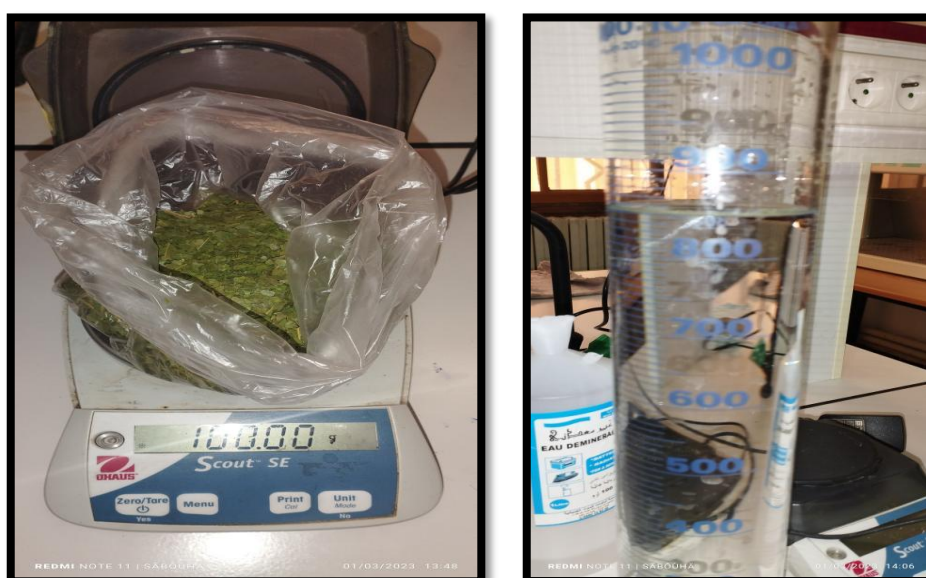


Figure 10 : Protocole d'extraction d'huile (Photo originale, 2023).

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé selon la formule suivante :

$$R = (PB / PA) \times 100$$

$$R = [\Sigma PB / \Sigma PA] \times 100$$

R : Rendement en huile en %.

PA : Poids de la matière sèche de la plante en g.

PB : Poids de l'huile en g.

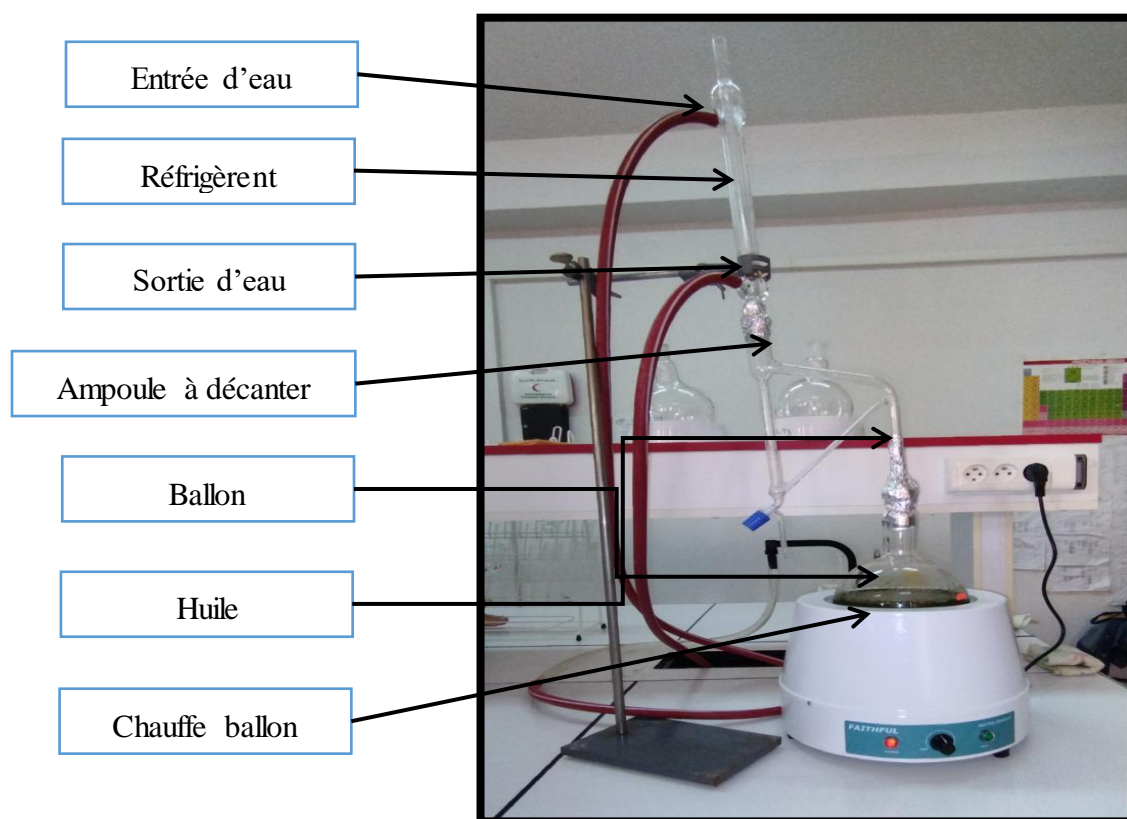


Figure 11 : Montage d'hydrodistillation (Photos originales, 2023).

3. Traitement de toxicité

Après un test de Screening, on a pu déterminer la gamme de concentrations des huiles essentielles de *Laurus nobilis* qui sont de l'ordre de 12,5 ; 25 ; 50 ; 70 ; 80 ; 90 et 100 ppm. Ces

concentrations ont été appliquées dans des boîtes de pétrie contenant 25 espèces de *Tenebrio molitor* L₁ nouvellement exuviées.



Figure 12 : Le traitement (Photos originales, 2023).

Après 24 h de traitement, selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé (Anonyme, 1983), *Tenebrio molitor* sont placées dans des boîtes de pétrie contenant de la nourriture (farine, sucre et levure).

Le témoin négatif ne contenait que de la nourriture tandis que le témoin positif renfermait 1 ml de solvant (éthanol).



Figure 13 : Les tests témoin positif et négatif (Photos originales, 2023).

Le suivi de mortalité des larves a été réalisé à 24 heures après traitement. Trois répétitions comportant chacune 25, ont été réalisées pour chaque concentration. Le pourcentage de mortalité observée est corrigé par la formule **d'Abbott (1925)** qui permet d'éliminer la mortalité naturelle et de déterminer la toxicité réelle des HEs. La détermination des concentrations létales (CL_{50} et CL_{90}) ainsi que leurs intervalles de confiance (95% IC) ont été faite grâce à un logiciel GRAPH PAD PRISM 7.

➤ **Remarque :** Pendant toute l'expérience, toutes les boîtes pétries ont reçu le même aliment (un milieu de culture).

Il est important de laisser la boîte de Pétri ouverte pendant quelque minute, jusqu'à l'évaporation totale du solvant, après on infeste chaque boîte par 25 larves de *Tenebrio molitor*.



Figure 14 : Boîte de Pétri infestée par les larves de *Tenebrio molitor* (Photo originale, 2023).

Toutes les boîtes de Pétri portent des renseignements concernant la date d'introduction des larves, la dose utilisée et le nom de l'huile essentielle testée. Pour chaque dose et pour chaque huile essentielle nous avons répété les expériences dix fois.

4. Dosage des principaux constituants biochimiques

Les individus témoins et traités (CL_{50} et CL_{90}) ont été prélevés à différents périodes (24, 48 et 72 heures) et conservés dans 1 ml de TCA (acide trichloracétique) à 20%. L'extraction des principaux constituants biochimiques (protéines, glucides et lipides) a été réalisée selon

le procédé de Shibko *et al.* (1966). Après homogénéisation aux ultrasons, puis centrifugation (5000 tours/min à 4°C pendant 10 min), le surnageant I obtenu servira pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (Goldsworthy *et al.*, 1972) et le culot II, dissout dans de la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon Bradford, (1976).



Figure 15 : Conservation des échantillons dans 1ml de TCA avant la centrifugeuse (Photos originales, 2023).

5.1. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de **Duchateau et Florkin (1959)**. Elle consiste à additionner 0,5 ml d'échantillon et 4,5 ml du réactif d'antrone et de chauffer le mélange à +80 °C pendant 10 min. Une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucides présents dans l'échantillon. L'absorbance est lue à 620 nm contre un blanc de gamme.

La préparation du réactif d'anthrone se fait comme suit : peser 150 mg d'anthrone, ajouter 75 ml d'acide sulfurique concentré et 25 ml d'eau distillée. On obtient une solution limpide de couleur verte qui est stockée à l'obscurité. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (0,1 mg/ ml) (Triki *et al.*, 2016).

Tableau 03 : Dosage des glucides totaux chez les *Tenebrio molitor* : Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.

| Les Tubes | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|-------------------------------|-----|----|----|----|----|-----|
| Solution mère de glucose (µl) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
| Eau distillée (µl) | 100 | 80 | 60 | 40 | 20 | 0 |
| Réactif d'anthrone (ml) | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |



Figure 16 : Dosage de glucide (Photo originale, 2023).

5.2. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de **Bradford (1976)**. Dans une fraction aliquote de 100 µl on ajoute 4ml de réactif au Bleu Brillant de Commassie (BBC ; G 250, Merck).

La solution de BBC se prépare comme suit : on homogénéise 100 mg de BBC dans 50 ml d'éthanol 95°C. On y ajoute ensuite 100 ml d'acide orthophosphorique à 85 % et on complète à 1000 ml avec de l'eau distillée. La durée de conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à +4°C. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue à 595 nm contre un blanc de gamme. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf titrant 1 mg/ ml (Triki *et al.*, 2016).

Tableau 04 : Dosage des protéines totales chez *les Tenebrio* : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.

| Les Tubes | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---------------------------------|-----|----|----|----|----|-----|
| Solution mère de BSA(µl) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
| Eau distillée (µl) | 100 | 80 | 60 | 40 | 20 | 0 |
| Réactif de BBC (ml) | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |



Figure 17 : Dosage de protéine (Photo originale, 2023).

5.3. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.*, (1972) utilisant la vanilline comme réactif. Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique en présence de vanilline et d'acide orthophosphorique, un complexe rose. Le dosage se fait sur des

prises aliquotes de 100 µl des extraits lipidiques ou de gamme d'étalonnage auxquelles on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré (96%). Les tubes sont fermés, agités et placés pendant 10 minutes dans un bain sec à +100°C. Après refroidissement pendant 5 minutes, on prend 200 µl de ce mélange auquel on ajoute 2,5 ml de réactif sulphosphovanillique et on agite vigoureusement. Après 30 minutes à l'obscurité, l'absorbance est lue dans un spectrophotomètre à 530 nm contre un blanc de gamme.

Le réactif est préparé comme suit : dissoudre 0,38 g de vanilline dans 55 ml d'eau distillée et ajouter 195 ml d'acide orthophosphorique à 85 %. Ce réactif se conserve pendant 3 semaines à +4°C et à l'obscurité. La solution mère de lipides est préparée extemporanément à partir de 2,5 mg d'huile de table (99% de triglycérides) dissous dans 1ml d'éther / chloroforme, 1/1 ; V/V) (Triki *et al.*, 2016).

Tableau 05 : Dosage des lipides totaux chez *les Tenebrio*: Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.

| Les Tubes | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Solution mère de lipides (µl) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
| Solvant (éther /chloroforme) (1V/1V) | 100 | 80 | 60 | 40 | 20 | 0 |
| Réactif de vanilline (ml) | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |



Figure 18 : Dosage de lipide (Photo originale, 2023)

5. Dosage des biomarqueurs

Les larves du quatrième stade des séries témoins et traitées (CL50 et CL90) ont été utilisées pour le dosage de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE). Le dosage a été mené sur des échantillons biologiques prélevés à 24, 48 et 72 heures après traitement. Par ailleurs, la concentration en protéines totales des différents échantillons a été préalablement déterminée.

5.1. Dosage de l'acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase est une enzyme très courante chez les animaux, elle catalyse la réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et acide éthanóique (acétique). Grâce à la neurotoxicité de la plupart des insecticides, notre travail consiste à étudier l'effet des huiles essentielles sur un biomarqueur de neurotoxicité, l'acétylcholinestérase (AChE). Les échantillons sont prélevés à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) puis pesés, ils sont ensuite homogénéisés dans 1ml de la solution détergente D [38,03 mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, β -aminoéthyl éther NNN'N' tétra-acétique), 1ml Triton X 100%, 5,845g NaCl (chlorure de sodium), 80 ml tampon tris (10mM, pH 7)] qui solubilise les membranes. Après centrifugation (5000 trs/ min pendant 5 min), le surnageant est récupéré et servira comme source d'enzyme (Fig.12). L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 25 individus avec une série témoin.

Le dosage de l'activité AChE est réalisé selon la méthode **d'Ellman *et al.* (1961)** sur une fraction aliquote de 100 μ l à laquelle on ajoute 100 μ l de DTNB préparé extemporanément [39,6 mg DTNB, 15 mg CO₃HNa (bicarbonate de sodium), 1 ml tampon tris (0,1 M, pH 7)] et 1 ml de tampon tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 minutes, 100 μ l de substrat acétylthiocholine préparé extemporanément [23,6 mg ASCh, 1 ml eau distillée] sont ajoutés. La lecture des absorbances s'effectue toutes les 2 mn pendant 40 minutes à une longueur d'onde de 214 nm contre un blanc où 100 μ l de solution détergente remplacent les 100 μ l de surnageant.

$$X = \frac{\Delta D^{\circ}/mn}{1,36 \times 10^4} \times \frac{V_t}{V_s} \text{ /mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (μ M/min/mg de Protéines).

ΔD° : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

1,36 x 10⁴ : coefficient d'extinction molaire du DTNB (M-1 cm-1).

V_t : volume total dans la cuve : 1,3 ml [0,1 ml surnageant + 0,1 ml DTNB + 1 ml tampon tris

(0,1 M, pH 7) + 0,1 ml acétylthiocholine].

V_s : volume du surnageant dans la cuve : 0,1 ml.

Mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

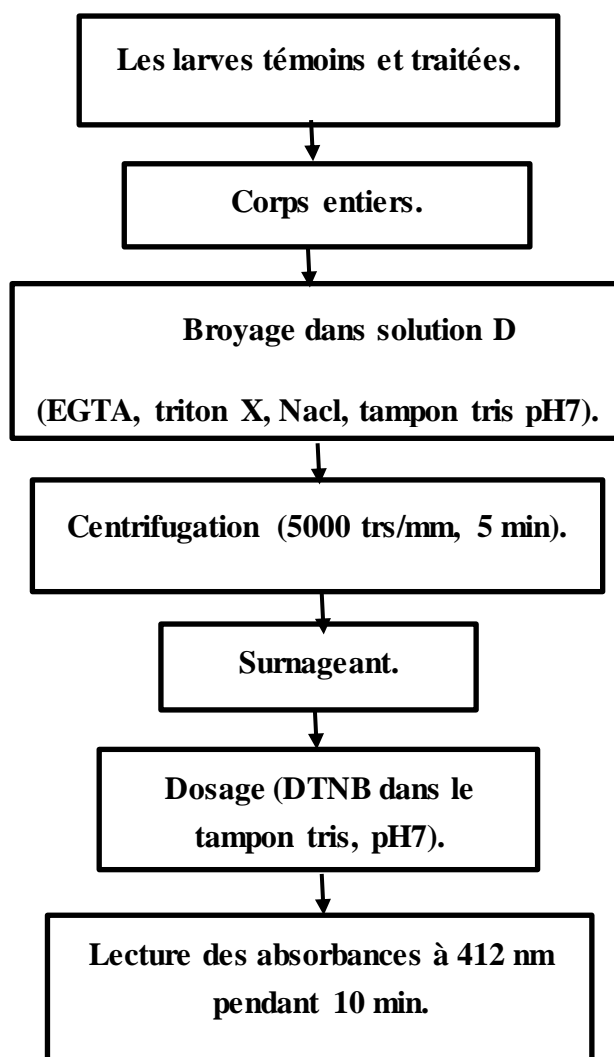


Figure 19 : Extraction et dosage de l'acétylcholinestérase (d'après Ellman *et al.*, 1961).



Figure 20 : Spectrophotomètre (Photo originale, 2023).

6. Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel GRAPH PAD PRISM 7. Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne \pm l'écart-type (SD). Les quantités des métabolites (protéines, glucides et lipides) sont déterminées à partir des courbes d'étalonnage dont l'équation de la droite de régression exprime l'absorbance en fonction de la quantité du standard utilisé (albumine, glucose et l'huile de tournesol). L'analyse de la variance à un de classification et le test HSD de Tukey ont été utilisés.

99. Résultats



II. Résultats

1. Caractéristiques organoleptiques et rendement d'huile essentielle

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de la partie aérienne de la plante appartenant à la famille des Lauracée, *Laurus nobilis* marquent un rendement de $2,90 \pm 0,05\%$. Cette huile est de couleur transparent avec une odeur agréable (Tab. 04).

Tableau 06 : Caractéristiques organoleptiques et rendement d'huile essentielle extraite de *Laurus nobilis*.

| Caractéristiques des HEs | <i>Laurus nobilis</i> |
|--------------------------|-----------------------|
| Odeur | Agréable |
| Couleur | Transparent |
| Rendement (%) | $2,90 \pm 0,05$ |

2. Toxicité de l'HE de *Laurus nobilis*

Après un test de screening, différentes concentrations de l'HE de *L. nobilis* (12,5, 25, 50, 75 et 100 ppm) ont été appliquées sur les larves du *Tenebrio molitor*. Des séries témoins négatifs (farine seulement) et témoins positifs (farine +1ml d'éthanol) sont réalisées en parallèles.

Aucune mortalité n'a été observée dans les deux séries pour l'espèce testée. Les mortalités corrigées enregistrées au cours des tests de toxicité augmentent en fonction des concentrations appliquées avec une relation dose-réponse (Fig. 21).

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme des doses appliquées (Fig. 22) a permis l'estimation des concentrations létales (CL_{50} et CL_{90}) ainsi que leurs intervalles de confiance (Tab. 7).

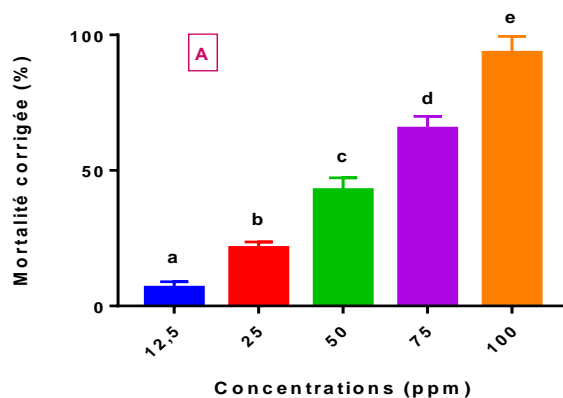


Figure 22 : Toxicité de l'HE de *L. nobilis* (ppm), appliquée sur les larves du *Tenebrio molitor* nouvellement exuviées (A), Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n=3$ répétitions de 25 individus chacune). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.

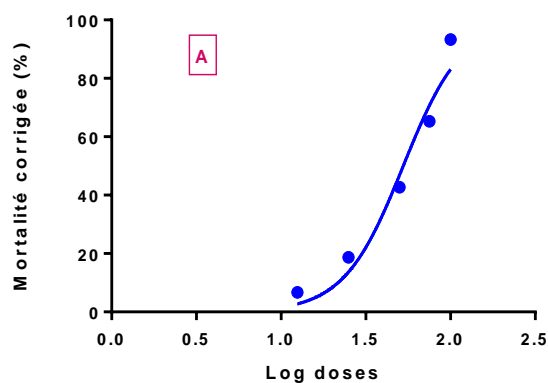


Figure 23 : Effet de l'HE de *L. nobilis*, appliquée sur les larves du *Tenebrio molitor* (A) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses. $R^2=96\%$, 96% et 98% respectivement.

Tableau 07 : Toxicité de l'HE de *L. nobilis*, appliquée sur du des larves nouvellement exuviées de *Tenebrio molitor* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).

| Espèces | R ² | HillSlope | Concentrations létales (ppm) | |
|-------------------------|----------------|-----------|---------------------------------|----------------------------------|
| | | | LC ₅₀ (95% IC) | LC ₉₀ (95% IC) |
| <i>Tenebrio molitor</i> | 0,96 | 2,47 | 54,62 [34,51 – 63,62] | 87,80 [88,47 – 224,60] |

3. Impact des huiles essentielles sur les biomarqueurs

Les HEs de *L. nobilis* ont été appliquées sur des larves du première stade nouvellement exuviées de *Tenebrio molitor* à deux concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀). L'effet de ces huiles a été évalué sur un site cible de neurotoxicité, l'acétylcholinestérase (AChE) à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) après traitement.

3.1. Activité spécifique de l'acétylcholinestérase chez *Tenebrio molitor*

Les résultats de l'activité spécifique de l'AChE au cours des temps testés (24, 48 et 72 heures) chez les séries témoins et traitées (CL₅₀ et CL₉₀) de *T. molitor* sont présentés dans le tableau (08). On remarque une diminution significative de cette activité ($p < 0,001$) à 24, 48 et 72 heures après traitement à l'HE du laurier.

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 2 groupes de moyennes à 24 et 48 heures, un groupe renfermant les témoins, un deuxième groupe est constitué des traités à la CL₅₀ et CL₉₀. Par contre à 72 heures, 3 groupes sont signalés, chacun étant représenté par une série. A partir de ces données.

On peut conclure que laurier présent un effet sur ce biomarqueur à 72 h et avec les deux doses létales étudiées (DL₅₀ et DL₉₀).

Tableau 08. Effet des HE extraites *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur l'activité spécifique d'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves de *Tenebrio molitor* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$) : test HSD de Tukey.

| Temps (heures) | Témoins | <i>Laurus nobilis</i> | |
|----------------|--------------------|-----------------------|--------------------|
| | | CL ₅₀ | CL ₉₀ |
| 24 | 34,45 \pm 1,22 a | 28,28 \pm 0,05 b | 24,75 \pm 0,06 b |
| 48 | 38,06 \pm 1,66 a | 30,38 \pm 0,04 b | 26,43 \pm 0,31 b |
| 72 | 39,40 \pm 2,12 a | 31,76 \pm 0,62 b | 29,83 \pm 0,19 c |

4. Impact des HE sur la composition biochimique

L'effet de HE (CL₅₀ et CL₉₀) du laurier a été testé sur les réserves métaboliques (protéines, glucides et lipides) chez les larves de *Tenebrio molitor* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures).

4.1. Effet sur le contenu en protéines totales

Chez *Tenebrio molitor*, et d'après le test HSD de Tukey, le contenu en protéines marque deux groupes de moyennes à 24 et 72 h, un groupe composé des témoins et un deuxième groupe formé des traités à la CL₅₀ et CL₉₀.

A 48 h le classement de moyennes du contenu en protéines chez *Tenebrio molitor* révèle la présence de deux groupes de moyennes, un premier groupe constitué des témoins et les traités à CL₅₀ et un deuxième groupe formé des traités à la CL₉₀.

En comparant les temps dans la même série, on constate un groupe de moyennes pour les témoins et les traités à CL₅₀ et CL₉₀ et cela dans tous les périodes étudiées (24, 48 et 72 h).

On peut conclure que le contenu en protéines *Tenebrio molitor* traité par le laurier présente un effet sur ce contenu.

Tableau 09 : Effet des HEs extraites *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le contenu en protéines totales ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves de *Tenebrio molitor* à différentes périodes ($m \pm \text{SD}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

| Temps (heures) | Espèces | Témoins | <i>Laurus nobilis</i> | |
|-------------------|-------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
| | | | CL ₅₀ | CL ₉₀ |
| 24 | <i>T. molitor</i> | 114,35 \pm 3,38Aa | 89,30 \pm 1,72 Ab | 68,33 \pm 1,35 Ab |
| 48 | <i>T. molitor</i> | 94,29 \pm 2,80 Aa | 86,77 \pm 2,45 Aa | 56,05 \pm 1,54 Ab |
| 72 | <i>T. molitor</i> | 87,98 \pm 1,65 Aa | 75,33 \pm 0,84 Ab | 73,78 \pm 0,07 Ab |

Les lettres minuscules représentent la comparaison dans la même espèce et entre les différentes séries.

Les lettres majuscules représentent la comparaison dans la même série entre les différents temps.

4.2. Effet sur le contenu en glucides

Le Tableau (10) présente le classement décroissant des différents traitements utilisés selon leurs effets sur le spécifique de contenu en glucides totaux grâce au test HSD de Tukey. Chez *Tenebrio molitor*.

Le contenu en glucides marque trois groupes de moyennes à 24 h, 48 h et 72 h un groupe composé des témoins, un deuxième groupe formé des traités à la CL₅₀ de la plante étudié et un troisième groupe formé des traités à la dose la plus élevé CL₉₀.

En comparant les espèces dans la même série, met en évidence un groupe renfermant les témoins et les traités à deux doses étudié (CL₅₀ et CL₉₀) à 24, 48 et 72 h.

On peut conclure que le contenu en glucides *Tenebrio molitor* traité par le laurier présent un effet sur ce contenu.

Tableau 10 : Effet des HE extraite de *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves de *Tenebrio molitor* à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

| Temps (heures) | Espèces | Témoins | <i>Laurus nobilis</i> | |
|-------------------|-------------------|------------------|-----------------------|------------------|
| | | | CL ₅₀ | CL ₉₀ |
| 24 | <i>T. molitor</i> | 660,05±65,07Aa | 402,77±3,07Ab | 295,38 ± 20,40Ac |
| 48 | <i>T. molitor</i> | 556,00 ± 58,77Aa | 391,66±7,88Ab | 205,25±19,27Ac |
| 72 | <i>T. molitor</i> | 522,33 ± 38,66Aa | 310,55±15,85Ab | 224,22±8,25Ac |

Les lettres minuscules représentent la comparaison dans la même espèce et entre les différentes séries

Les lettres majuscules représentent la comparaison dans la même série entre les différents temps.

4.3. Effet sur le contenu en lipides

Chez *Tenebrio molitor*, et d'après le test HSD de Tukey, le contenu en lipides marque deux groupes de moyennes à 24 h, un groupe composé des témoins et CL₅₀ et un deuxième groupe formé des traités à la et CL₉₀.

Le classement de moyennes du contenu en lipides chez *Tenebrio molitor* révèle la présence de deux groupes de moyennes 48h, un premier groupe constitué des témoins et un deuxième groupe formé des traités à la CL₅₀ et CL₉₀.

A 72 h deux sont marques le premier constitué les témoins et le deuxième groupe formé des traités à la CL₅₀ et CL₉₀.

En comparant les espèces dans la même série, ont constaté un groupe constitue les témoins et les traités à deux doses étudié (CL₅₀ et CL₉₀) à 24, 48 et 72 h.

On peut conclure que le contenu en lipides *Tenebrio molitor* traite par le laurier présent un effet sur ce contenu.

Tableau 11 : Effet de HE extraite de *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves de *Tenebrio molitor* à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

| Temps (heures) | Espèces | Témoins | <i>Laurus nobilis</i> | |
|-------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| | | | CL ₅₀ | CL ₉₀ |
| 24 | <i>T. molitor</i> | 145,06 \pm 1,309 Aa | 131,27 \pm 2,34 Aa | 106,87 \pm 0,79Ab |
| 48 | <i>T. molitor</i> | 143,37 \pm 0,19 Aa | 113,36 \pm 0,73 Ab | 105,05 \pm 0,24Ab |
| 72 | <i>T. molitor</i> | 136,39 \pm 1,78 Aa | 106,87 \pm 0,81 Ab | 104,83 \pm 0,83Ab |

Les lettres minuscules représentent la comparaison dans la même espèce et entre les différentes séries

Les lettres majuscules représentent la comparaison dans la même série entre les différents temps.

999. Discussion



III. Discussion

1. Rendement de huile essentielle

Le rendement en huile essentielle de *Laurus nobilis* obtenu au cours de notre étude, est de 2,90 % de la matière sèche de la plante. Un rendement maximal (2.37 %) est obtenu à partir des feuilles séchées tandis que le minimum a été signalé au niveau des feuilles fraîches (**Ouafi et al., 2017**). Ces résultats sont supérieurs à ceux signalés dans certaines régions de l'Algérie, El Kala (0.7 %) extraite par l'Hydrodistillation (**Ouibrahim et al., 2015**) ; Ouargla (0.78 %) est obtenue après le 9^{ème} jour de séchage qui donne un meilleur résultat (**Goudjil et al., 2015**) et (0.7 %) au Tizi ouzou (**Badi, 2018**). Ce rendement présente également des variations d'un pays à un autre, il est de (0.34 %) à l'Afrique de l'Ouest (**Baba-Moussa et al., 2016**) ; de 1.63 % au Tunisie (**Bouchaale et kahalerras, 2015**) ; de 1.7 % au Maroc (**Taarabt et al., 2017**) ; au l'europe (1,54 %) obtenus avec les feuilles (**Labiad et al., 2019**) et de 0.064 % au Oman (**Al Abri et al., 2022**).

La variation de rendement d'extraction peut être expliqué par la différence de solubilité des composés chimiques dans le solvant d'extraction, à leur degré de polymérisation ou à leur implication dans autre structures moléculaires formant ainsi des complexes insolubles (**Cacace et Mazza, 2000**). Revenons aussi aux aptitudes intrinsèques des espèces végétales à produire de l'huile essentielle, mais aussi aux conditions climatiques et pédologiques des sites de collecte du matériel végétal (**Baba-Moussa et al., 2016**).

2. Toxicité de HE à l'égard des larves *T. molitor*

Depuis quelques années, l'utilisation des substances naturelles connaît un regain d'intérêt. Parmi celle-ci, se trouvent les huiles essentielles, sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyens de défense contre les ravageurs phytophages. D'autres études ont montré que les huiles essentielles ont une activité insecticide indéniable. Ainsi, leur utilisation comme bio-conservateurs constitue une alternative crédible, parce que garant de la préservation de la santé des consommateurs (**Rose de Lima et al., 2014**).

On considère que ces mécanismes sont uniques et que les biopesticides à base d'huiles essentielles peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de résistance aux

Biopesticides. Avec ces mécanismes d'action particuliers, ces biopesticides peuvent être utilisés seuls et à répétition sans potentiellement inciter le développement de la résistance chez les insectes (Csek et Kaufman, 1999).

Notre étude a pour but de tester la toxicité d'huile essentiel extraite de *Laurus nobilis* à l'égard des larves du premier stade nouvellement exuviées de *Tenebrio molitor* à 24, 48 et 72 heures. Les résultats montrent une activité larvicide avec une relation dose-réponse. Les concentrations létales, la CL50 et la CL90 sont respectivement de : (34,51 – 63,62 ppm), (88,47 – 224,60 ppm).

Plusieurs études sur *Laurus nobilis* ont prouvé pouvoirs larvicides contre plusieurs espèces des insectes ou moustiques telles que : *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* (Bouderhem, 2015) ; et (Rezkallah et Amraani, 2018) ont montré que les huiles essentielles de *Laurus nobilis*, manifestent une toxicité à l'égard des larves avec une relation dose-réponse.

Ainsi que l'efficacité biologique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* (Lauracées), *Citrus bergamia* (Rutacées), et *Lavandula hybrida* (Lamiacées) a été démontré sur les adultes des charançons du maïs *Sitophilus zeamais* (Coleoptera : Curculionidae), les charançons du blé *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera : Cucujidae), et sur les larves des charançons du riz *Tenebrio molitor* (Coleoptera : Tenebrionidae).

La toxicité des huiles essentielles sur les insectes est induite par l'action de leurs composés majoritaires. Les composés majoritaires des huiles essentielles ont des efficacités insecticides soit singulières ou lorsqu'elles sont mises ensemble. L'action toxique combinée des composants majoritaires d'une huile essentielle est plus remarquable que l'action individuelle de ces composants. α -Pinène a révélé un effet insecticide intéressant contre le ténébrion brun de la farine *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), des effets similaires ont été également notés avec le α -terpinéol, le cinéole et le limonène (Bouchikhi-Tani et al., 2018).

Une autre étude de (Mediouni et al., 2012) les résultats ont montré que l'huile essentielle de *L. nobilis* sur le coléoptère de la cigarette, *Lasioderma serricorne* était caractérisée par du 1,8-cinéole (24,55 %), linalol (17,67 %), eugénylméthyléther (12,40 %), isovaléraldéhyde

(9,65 %) et camphène (7,21 %) comme composants majeurs. L'action répulsive dépend sur la concentration d'huile. Les pourcentages répulsifs étaient respectivement de 12,5, 57,5 et 60 % à concentrations 0,04, 0,08 et 0,2 $\mu\text{l} / \text{cm}^2$. De plus, la dose répulsive létale 50 (RD50) était de 37,84 $\mu\text{l} / \text{cm}^2$.

En ajoutant, que plusieurs études appliquées des différentes huiles essentielles sur les larves de *Tenebrio molitor* on citera :

L'étude de (Martynov *et al.*, 2019) qui appliqué 18 huiles essentielles sur l'espèce de *Tenebrio molitor* seuls deux échantillons ont eu un effet biologique notable sur l'activité migratoire de *S. granarius* et cinq échantillons - sur *T. molitor*. Ces données indiquent la possibilité d'utiliser des huiles essentielles ou leurs principaux composants comme répulsifs naturels écologiquement sûrs contre les ravageurs du blé stocké et des produits de sa transformation.

Les huiles essentielles ont montré une activité différente : sur *S. zeamais*, le fenouil après 3 h d'exposition et la bergamote après 24 h ont exercé la répulsion la plus élevée, des résultats similaires ont été obtenus pour *C. ferrugineus*, mais le lavandin a également montré une bonne activité répulsive, tandis que pour les larves de *T. molitor* le laurier était le répulsif le plus efficace (Cosimi *et al.*, 2009).

Selon (Wang *et al.*, 2015) l'activité répulsive de *Citrus limonum*, *Cymbopogon citratus*, *Litsea cubeba*, and *Muristica fragrans* de deux plantes contre le 10^e stade et les adultes de *Tenebrio molitor* ont également été analysés. Les résultats ont indiqué que les principaux constituants de *C. limonum*. Les citrates étaient le D-limonène (38,22%) et le 3,7-diméthyl-6-octénaal (26,21%), tandis que lesquels de *L. cubeba* et *M.* les parfums étaient (E)-3, 7-diméthyl-2, 6-octadiénaal (49,78%) et (E)-cinnamaldéhyde (79,31%), respectivement. Les activités de répulsion (indices de répulsion > 89,0%) ($P < 0,05$) à 12 h au 10^e stade étaient meilleures que celles des deux autres EOS. Néanmoins, L'EOs de *L. cubeba* et *C. limonum* ont nettement allongé la croissance et le développement des larves, des œufs et légèrement raccourci les nymphes et les adultes de *T. molitor* par rapport au témoin. Il a été démontré que les ingrédients principalement actifs de *L. cubeba* et de *C. limonum*, y compris le D-limonène et le β -pinène, co-inhibent les actifs de l'ACHé et augmentent les toxicités au le stade de *T.*

molitor. Ces résultats indiquent que les EOs de *L. cubeba* et de *C. limonum* pourraient avoir un grand potentiel en tant qu'insecticides botaniques contre *T. molitor*.

3. Impact de HE sur le biomarqueur

Les biomarqueurs ont été largement utilisés en écotoxicologie comme indicateurs précoces d'exposition à des substances toxiques (**Lagadic et al., 1997**).

Les marqueurs biologiques ou biomarqueurs concernent l'étude des changements physiologiques, biochimiques, moléculaires ou comportementaux révélant l'exposition présente ou passé d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant qui peuvent être mesurés dans les tissus ou les fluides d'un organisme ou sur l'organisme entier pour mettre en évidence l'exposition à un ou plusieurs contaminants (**Badiou, 2007**).

Les principaux biomarqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques comme la catalase, la glutathion peroxydase, la glutathion-S-transférase. Les enzymes du système de détoxification sont aussi beaucoup étudiées puisque leurs activités sont susceptibles d'être fortement modifiées après une exposition.

Plus de 500 espèces d'arthropodes sont maintenant résistantes à au moins, un insecticide ou larvicide. Un petit nombre de mécanismes sont capable de détoxifier les insecticides en métabolites moins toxiques (**Soderlund, 1997**). Ces mécanismes sont généralement classés en trois:

➤ Le premier est dû à une diminution de la pénétration cuticulaire qui est un mécanisme de résistance de moindre importance mais qui peut contribuer en association avec d'autres à augmenter le niveau de résistance (**George, 1994 ; Pasteur & Reymond, 1996 ; Taylor & Feyereison, 1996**).

➤ Le deuxième mécanisme, assure une bonne détoxification des différents tissus de l'organisme, est lié à une augmentation du taux des diverses enzymes de détoxification (**Sodrlund, 1997**) telles que les monooxygénases à cytochrome P450 (**Kassi et al., 1989**), l'estérase (**Field et al., 1999 ; Zhu et al., 1999**) la glutathion-S-transférase (**Parapanthadara et al., 2000 ; Sun et al., 2001**), et la lactate déshydrogénase entre autres (**Saleem & Shakoori, 1987 ; Ribeiro et al., 1999**).

➤ Enfin, le troisième mécanisme, aussi important que le second, traite de l'altération des sites cibles et leur insensibilité aux insecticides. Parmi ces sites cibles, on note les canaux sodium, les récepteurs GABA et surtout une enzyme du système nerveux, l'acétylcholinestérase (**Rufingier et al., 1999 ; Tomita et al., 2000**).

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique qui détermine son niveau de toxicité (**Akono et al., 2012**).

Pour contribuer à une compréhension de ces mécanismes, nous avons évalué l'effet de HE de *L. nobilis* sur l'activité d'un biomarqueur de neurotoxicité, l'acétylcholinestérase, chez *Tenebrio molitor* à différentes périodes après traitement : 24, 48 et 72 heures.

3.1. Effet sur l'activité spécifique de l'AChE

L'acétylcholinestérase est une enzyme clé du système cholinergique car elle régule le niveau d'acétylcholine et arrête l'influx nerveux en stimulant l'hydrolyse de l'acétylcholine. Son inhibition provoque la mort, des inhibiteurs irréversibles ont été développés comme insecticides : organophosphorés et carbamates. Ils ont des propriétés similaires à l'acétylcholine mais sont des hémisubstrats car ils phosphorylent ou carbamoylent la sérine du site actif conduisant à une inhibition irréversible de l'enzyme. Cette inhibition conduit à l'accumulation d'acétylcholine dans les synapses des nerfs qui à son tour laisse les récepteurs de l'acétylcholine ouverts en permanence, ce qui entraîne la mort de l'insecte (**Fournier, 2005**).

Le rôle de l'acétylcholinestérase est d'hydrolyser l'acétylcholine en acétate et choline, afin de stopper la stimulation du récepteur et par conséquent la repolarisation de la membrane. Si l'action de cette enzyme est bloquée, la membrane post-synaptique se trouve continuellement excitée (**Guenez, 2020**).

L'accumulation de l'AChE dans la région synaptique provoque une transmission permanente de l'influx nerveux, causant finalement la mort de l'insecte par tétanie. La mort a eu lieu suite à une liaison de manière covalente du groupement acétyl de l'ACh, empêchant ainsi toute liaison ultérieure de l'enzyme avec une molécule d'acétylcholine (Estrada-Mandaca et al., 1998 ; Bairy, 2000) (**Guenez, 2020**).

L'analyse des résultats obtenus après dosage de l'activité enzymatique de l'AChE chez les larves du premier stade de *Tenebrio molitor* traitées par les H.E extraites de *Laurus nobilis*.

Révèle une diminution significative de l'activité de l'AChE comparativement aux témoins. Cette diminution est probablement due à l'inhibition de cette enzyme par les HEs. Le traitement avec certaines huiles essentielles ou leurs constituants purifiés a provoqué des symptômes qui prouvent leur mode d'action neurotoxique.

Plusieurs travaux sur les huiles essentielles extraites à partir de plusieurs plantes ont enregistré une inhibition de l'activité de l'AChE (**Orhan et al., 2009 ; Tel et al., 2010 ; Orhan et al., 2013 ; Seo et al., 2014**).

Des résultats similaires ont été signalé par **El kadi et al. (2008)**, qui ont observé une diminution de l'activité de l'AChE chez *Cx. pipiens* et *An. multicolor* après traitement avec deux bioinsecticides (Spinetoram et Vertemic).

Par contre les travaux de **Sayada & Messai (2015)** réalisés sur l'espèce de *Cx pipiens* ont enregistré une augmentation de l'activité de l'AChE chez les larves du quatrième stade traitées par *Ocimum basilicum* à différents temps 24, 48 et 72 heures.

4. Impact de HE sur les réserves métaboliques des larves *T. Molitor*

Au moment où l'insecte entre en contact avec l'insecticide, ce dernier pénètre dans l'organisme et atteint, plus ou moins rapidement, au niveau cellulaire, les protéines et les enzymes cibles dont il entrave le fonctionnement normal. (**Haubruge et Amichot, 1998**) Les huiles essentielles sont présumées interférer avec le métabolisme de base, fonctions biochimiques, physiologiques et comportementales des (**Mann et Kaufman, 2012**) Plusieurs études ont montré une perturbation de la composition biochimique des insectes traités avec des huiles essentielles (**Kaufmann et Brown, 2008**). Il est important d'étudier les modifications de la composition biochimique des individus traités par des insecticides botaniques, pour déterminer le pouvoir toxique de ces derniers (**Sak, 2006**).

4 1. Effet du traitement sur les protéines

Chez les insectes, les protéines et les acides aminés jouent un rôle majeur durant les différentes phases de leur vie, ce sont des composants biochimiques majeurs nécessaires au développement, à la croissance et à l'accomplissement de ses activités vitales (**Yazdani et**

al., 2014). La teneur de l'insecte en protéines dépend de sa synthèse, sa dégradation, du mouvement de l'eau entre les tissus et de l'hémolymphe (**Gnanamani et Dhanasekaran, 2017**).

Nos résultats montrent que le traitement par les huiles essentielles extraites de *Laurus nobilis* (CL50 et CL90) sur les larves de *Tenebrio molitor* cause une diminution marquée du contenu en protéines au cours de la période testée (24, 48 et 72 heures), Des résultats similaires ont été constatés chez les larves de *Plodia interpunctella* après traitement à l'huile d'*Artemisia khorassanica* (**Borzoui et al., 2016**), chez *T. confusum* traité par l'*Eucalyptol* (**Debab et Mesloub, 2022**), chez les larves de *T. castaneum* traitées avec l'huile d'*A. foeniculum* (**Ebadollahi et al., 2013**), chez *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* traités à la lavande et à la menthe (**Dris, 2018**), et chez *S. granarius* traité par l'huile de *C. limonum* et l'azadirachtine (**Guettal, 2021**). Par contre une augmentation du contenu en protéines a été signalée chez ont été constatés chez les adultes de *R. dominica* traités à l'azadirachtine (**Tine et al., 2017**), chez *Tribolium confusum* traité par l'huile de *Schinus molle* et de son composé majoritaire (**Bouaziz et Abderrazak, 2022**), chez *Cx pipiens* après traitement avec l'*Ocimum basilicum* (**Khamene, 2014**), et chez (**Madaci et al., 2008**) ont montré que les extraits hydroalcooliques des feuilles de *Nerium oleander* (Apocynaceae) provoquent une augmentation des taux de protéines chez les larves blanches de *Rhizotrogini* (Coleoptera:scarabaeidae).

4.2. Effet du traitement sur les lipides :

Les réserves lipidiques est la principale source d'énergie chez les insectes, (**Van Hensdan et Law, 1989**), transportés du corps gras, site de leurs synthèse et stockage (**Keely, 1986 ; Van Hensdan et Law, 1989**), vers les organes utilisateurs, notamment les ovaires (**Kilby, 1963 ; Chino et al., 1981**), via l'hémolymphe pour être utilisés lors de la vitellogenèse (**Downer, 1985 ; Keely, 1986**).

Nos résultats ont montré que le traitement des larves de *T. Molitor* avec l'HE du *Laurus nobilis* provoque une diminution du contenu en lipides avec une relation dose-réponse, Les mêmes observations ont été signalées chez *T. granarium* traité par *S. molle* (**Brahmi et Yousfi, 2021**), chez *T. castaneum* traité par l'huile d'*A. foeniculum* (**Ebadollahi et al., 2013**),

et chez *S. granarius* traité par l'huile de *C. limonum* et l'azadirachtine (Guettal, 2021), chez les moustiques traités par *Artemisia annua* (Sharma *et al.*, 2011), et chez *Cx pipiens*, traités par *Eucalyptus globulus* (Kheled et Dib, 2015).

Par contre, une augmentation du contenu en lipides chez *R. dominica* traitée par l'azadirachtine (Halaimia et Chachoui, 2017) ,(Askar *et al.*, 2016) signalent que l'application de l'huile de girofle sur les adultes de *S. oryzae*, *S. zmais* et *S. granarius* a augmenté les niveaux de lipides,et l'application de l'azadirachtine chez *B. germanica* (Saci-Messiad, 2006), En général, la teneur en lipides du corps gras augmente continuellement pendant la période larvaire des insectes holométaboles pour être utilisée pendant la métamorphose ainsi que pour fournir les réserves aux adultes pour soutenir le vol et l'embryogénèse (Arrese *et al.*, 2001, Canavoso *et al.*, 2001) (In Guenez,2020).

4.3. Effet du traitement sur les glucides

Les glucides représentent également l'élément énergétique de l'organisme jouant un rôle essentiel dans la physiologie des insectes (Cassier *et al.*, 1997). Les glucides forment un groupe de composés très importants. Certains représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, soit immédiatement utilisable (tréhalose), soit sous forme de réserves (glycogène) ; d'autres ont un rôle structural (cellulose, chitine, acidehyaluronique).

Les taux de glycogène et de tréhalose dans les tissus sont étroitement liés aux évènements physiologiques tels que le vol, la mue, et la reproduction (Wiens et Gilbert, 1967). Le tréhalose est la fraction la plus importante des glucides circulants. Il joue un rôle métabolique de premier plan dans le cycle de développement (Steel, 1981).

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation révèlent une diminution du contenu en glucide Des résultats similaires ont été observés par (Dris *et al.*, 2017), chez *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* après traitement à l'HE de *Petroselinum crispum* (Seghier *et al.*, 2020), chez *Cx. pipiens* traité au *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* (Bouguerra, 2019), et chez *Cx. pipiens*, *Cs. longiareolata* et *Ae. caspius* traités au *Laurus nobilis* et *Mentha pulegium* (Guenez, 2020).

En revanche, les larves de *Spodoptera littoralis* traitées par les huiles d '*Allium sativum* et de *Citrus limonum* montrent une augmentation de la teneur en glucides (Ali *et al.*, 2017) chez

Ephestia kuehniella traité par *Mentha piperita* (Zoghlami, 2015) ,chez *R. dominica* traitée par l'azadirachtine (Halaimia et Chachoui, 2017), chez les larves de *Cx pipiens* traité par l'HE de *R. officinalis* (CL25 et CL50) (BERRAH, 2016), et une augmentation du taux de glucose a été signalée chez les larves L4 de *Cx. quinquefasciatus* après traitement à l'huile de *Baccharis dracunculifolia* (Alves *et al.*, 2018).

Conclusion



Conclusion et perspective

Au cours des dernières années, plusieurs études se sont concentrées sur l'utilisation potentielle des applications d'huiles essentielles dans la lutte biologique contre différents insectes nuisibles.

La recherche sur les huiles essentielles a progressé en grande partie en raison de leur facilité de préparation et d'analyse par rapport à d'autres types d'extraits de plantes. Les huiles essentielles végétales ont une longue histoire d'utilisation humaine, principalement en tant qu'agents aromatisants et parfumants fondés sur les utilisations traditionnelles des plantes aromatiques comme herbes culinaires et épices. Plus récemment, leur valeur en médecine humaine, en tant que produits phytopharmaceutiques et en aromathérapie, a élargi leur gamme d'utilisations, et celles-ci, ainsi que leur utilisation généralisée dans les aliments et les boissons, ont défini leur sécurité relative à la fois par la pratique empirique et une évaluation expérimentale plus rigoureuse dans des modèles animaux.

Le travail réalisé, nous a permis d'évaluer chez l'espèce de *Tenebrio molitor*, l'effet d'huile essentiel extraite de *Laurus nobilis*, sur la mortalité, la composition biochimique, et sur l'activité de biomarqueur enzymatique l'acétylcholinestérase AChE.

Le HE extraite de *Laurus nobilis* (Lauraceae) présentent des rendements de 2,90 %. L'analyse chimique de l'huile du Laurier réalisée par la CPG-SM a révélé la présence de dix-neuf composants, dominés par l'oxyde terpénique, 1,8-Cinéole (47,35 %). Ce HE a été testée sur *Tenebrio molitor*, Les insectes les plus courants dans les aliments. Leurs actions ont été évaluées sur plusieurs aspects : toxicologique, biomarqueur et biochimique.

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) de cette huile à l'égard des larves du premier stade nouvellement exuviées de *Tenebrio molitor*. Ces huiles révèlent un effet insecticide avec une relation dose-réponse. L'HE du laurier présente un pouvoir larvicide très élevé contre ces espèces d'insecte.

L'évaluation de l'effet de HE sur le biomarqueur, indique qu'elles exercent une action neurotoxique chez les larves de *T. molitor*, se traduisant par une inhibition de l'activité spécifique de l'AChE au cours de la période testée, 24 et 48 et 72 heures après traitement.

De plus, une perturbation de la composition biochimique (contenu en protéines, glucides et lipides) chez les larves, a été enregistrée après le traitement avec les différents temps 24, 48 et 72h.

A l'avenir, il serait intéressant de compléter cette recherche en :

- ✓ Une analyse qualitative des protéines et de tester l'effet de ces huiles sur la viabilité des œufs ainsi que sur le potentiel de reproduction.
- ✓ Évaluant leur efficacité dans le milieu naturel en interaction avec les facteurs biotiques et abiotiques
- ✓ Comparer l'efficacité de ces huiles par rapport aux différents extraits, éthanolique, méthanolique, éther de pétrole et extrait aqueux.

Enfin les bio insecticides à base d'huiles essentielles végétales sont déjà établis dans plusieurs juridictions importantes, et bien qu'ils soient petits par rapport aux marchés des microbes et autres bio pesticides, ces produits s'étendent à d'autres pays et secteurs. Cela est dû en grande partie à la demande croissante du public pour des produits de lutte antiparasitaire ayant moins d'impacts sur la santé humaine et l'environnement, à la fois dans la production alimentaire et dans la santé publique et la lutte antiparasitaire urbaine.

Annexes





**Hydrodistillateur type
Clevenger**



Agitateur



Spectrophotomètre



Micropipette



Bicher



Entonnoire



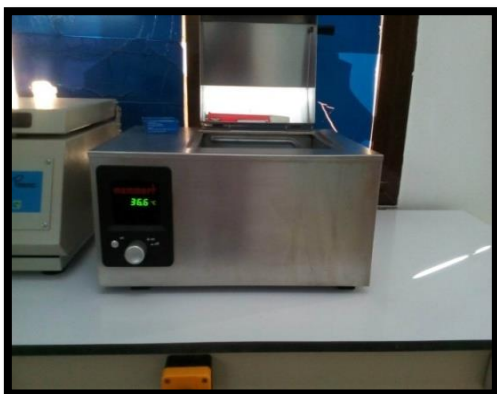
Ballon



Tube épindorf



Balance



Bain marin



Micropipette en verre



Les embouts

*Référence
bibliographique*



Référence bibliographique

A

- ✓ **Abbot, W. S.** (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *JEcon Entomol* 18:265-266.
- ✓ **Akono Ntonga P., Belong P., Tchoumboungang F., Bakwo Fils E.M., Fankem H,** (2012). Effets insecticides des huiles essentielles des feuilles *Ocimum* spp. sur les adultes d'*Anopheles funestus* vecteur du paludisme au Cameroun. *J. App. Biosc.*, 59: 4340– 4348.
- ✓ **Alaoui-Jamali, C., Kasrati, A., Leach, D., & Abbad, A.** (2018). Étude comparative de l'activité insecticide des huiles essentielles des espèces de thyms originaires du Sud-Ouest marocain. *Phytothérapie*, 16(5), 268-274.
- ✓ **Ali, A. M., Mohamed, D. S., Shaurub, E. H. & Elsayed, A. M.** (2017). Antifeedant activity and some biochemical effects of garlic and lemon essential oils on *Spodoptera littoralis* (Bois du val) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3: 1476-1482
- ✓ **Alves, K. F., Caetano, F. H., Pereira Garcia, I. J., Santos, H. L., Silva, D. B., Siqueira, J. M., Alves, S. N.** (2018). *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) essential oil toxicity to *Culex quinquefasciatus* (Culicidae). *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 31718-31726.
- ✓ **Annette.T.** (2007). *Lexiguide des plantes médicinales*. Elcy, paris.
- ✓ **Askar, S., Al-Assal, M. & Nassar, A.** (2016). Efficiency of some essential oils and insecticides in the control of some *Sitophilus* insects (Coleoptera: Curculionidae). *Egyptian Journal of Plant Protection Research*, 4: 39-55.

B

- ✓ **Baba-Moussa, F., Noumavo, P. A., Adéoti, K., & Akpagana, K.** Composition Chimique Et Influence De Différents Tweens Sur Le Pouvoir Antimicrobien Des Huiles Essentielles De *Ocimum Gratissimum*, *Ocimum Basilicum*, *Laurus Nobilis* Et *Melaleuca Quinquenervia*.
 - ✓ **Badiou, A.** (2007). Caractérisation cinétique et moléculaire du biomarqueur acétylcholinesterase chez l'abeille, *Apis mellifera* (Doctoral dissertation, Université
-
-

d'Avignon et des Pays de Vaucluse).

- ✓ **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M.** (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- ✓ **Bernard, B.** (2015). *plantes et chompignons. ESTEM. paris.*
- ✓ **Berrah, F., & Ahcene, H.** (2016). Etude préliminaire de l'effet larvicide d'une plante du genre *Rosmarinus* à l'égard de *Culex pipiens* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa; biomarqueurs. Mémoire de Master. Université de Tébessa 37p.
- ✓ **Boeckel, T. P. V., Hounhouigan, J. D., & Nout, R.** (2003). Les aliments: transformation, conservation et qualité. Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation.
- ✓ **Borzoui, E., Naseri, B., Abedi, Z., & Karimi-Pormehr, M. S.** (2016). Lethal and sublethal effects of essential oils from *Artemisia khorassanica* and *Vitex pseudo-negundo* against *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental entomology*, 45(5), 1220-1226.
- ✓ **Bouazizi, A., & Abderrazak, D.** (2022). *Activité biologique et investigation phytochimique de différentes parties d'une plante médicinale (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébessi-Tébessa).*
- ✓ **Bouchard, P., Bousquet, Y., Davies, A. E., Alonso-Zarazaga, M. A., Lawrence, J. F., Lyal, C. H., ... & Smith, A. B.** (2011). Family-group names in Coleoptera (Insecta). *ZooKeys*, (88), 1.
- ✓ **Bouchikhi-Tani, Z., Khelil, M. A., & Bendahou, M.** (2018). Evaluation des propriétés larvicides des huiles essentielles extraites de cinq plantes aromatiques d'Algérie: essai sur la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera: Tineidae). *Lebanese Science Journal*, 19(2), 187-199.
- ✓ **Bouderhem, A.** (2015). Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*).
- ✓ **Bouguerra, N.** (2019). Efficacité comparée des extraits de deux plantes, *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens*: Composition chimique, Toxicité, Biochimie et Biomarqueurs. Thèse de Doctoral, Université de

Tébessa-Larbi Tébessi.143 p.

- ✓ **Brahmi, A., & Yousfi, R.** (2021). Impact d'une huile essentielle d'Eucalyptus globulus sur les larves de *Trogoderma granarium* : Toxicité, Répulsion, Biochimie et Indices nutritionnels, Master. Ecophysiologie Animale. Université Larbi Tébessi Tébessa. 83p.
- ✓ **Brandon, A. M., Gao, S. H., Tian, R., Ning, D., Yang, S. S., Zhou, J., ... & Criddle, C. S.** (2018). Biodegradation of polyethylene and plastic mixtures in mealworms (larvae of *Tenebrio molitor*) and effects on the gut microbiome. *Environmental science & technology*, 52(11), 6526-6533.

C

- ✓ **Cassier, P., Laffont, R., Porchet, M. D., & Soyeux, D.** (1997). La reproduction des invertébrés. Masson.
 - ✓ **Charef-Guenez R.** (2019). Contribution à l'étude de l'activité larvicide des extraits de certaines plantes sur les larves de trois espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas) et *Culiseta longiareolata* (Aitken). Thèse de doctorat non publiée, Université Badji Mokhtar-Annaba, Annaba.
 - ✓ **Chino, H., Katase, H., Downer, R. G., & Takahashi, K.** (1981). Diacylglycerol-carrying lipoprotein of hemolymph of the American cockroach: purification, characterization, and function. *Journal of lipid research*, 22(1), 7-15.
 - ✓ **Cloutier, J.** (2015). Insectes comestibles en Afrique: introduction à la collecte, au mode de préparation et à la consommation des insectes. Agrodok.
 - ✓ **Cosimi, S., Rossi, E., Cioni, P. L., & Canale, A.** (2009). Bioactivity and qualitative analysis of some essential oils from Mediterranean plants against stored-product pests: Evaluation of repellency against *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Tenebrio molitor* (L.). *Journal of Stored Products Research*, 45(2), 125-132.
 - ✓ **Cotton, R. T. & Saint George, R. A.** (1929). The Meal Worms. U.S. Department of Agriculture. Technical Bulletin, (95).
 - ✓ **Cseke, L. J., Kirakosyan, A., Kaufman, P. B., Warber, S., Duke, J. A., & Brielmann, H. L.** (2016). Natural products from plants. CRC press.
-
-

D

- ✓ **Debab, A., & Mesloub, M.** (2022). Efficacité comparée d'une molécule bioactive et d'une huile essentielle vis-à-vis d'un ravageur des denrées stockées (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébessi-Tébessa).
- ✓ **Depledge, M. H., & Fossi, M. C.** (1994). The role of biomarkers in environmental assessment (2). *Invertebrates. Ecotoxicology*, 3, 161-172.
- ✓ **Deschepper, R.** (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie (Doctoral dissertation).
- ✓ **Downer, R. G.** (1985). Lipid metabolism. *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*, 10, 77-113.
- ✓ **Dragovic-Uzelac, V., Levaj, B., Mrkic, V., Bursac, D., & Boras, M.** (2007). The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region. *Food chemistry*, 102(3), 966-975.
- ✓ **Dragovic-Uzelac, V., Levaj, B., Mrkic, V., Bursac, D., & Boras, M.** (2007). The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region. *Food chemistry*, 102(3), 966-975.
- ✓ **Dris, D.** (2018). Etude de l'activité larvicide des extraits de trois plantes: *Mentha piperita*, *Lavandula dentata* et *Ocimum basilicum* sur les larves de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné) et *Culiseta longiareolata* (Aitken) (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat en sciences. Spécialité: Biologie Animale. Université Badji Mokhtar, Annaba).
- ✓ **Dris, D., Tine-Djebbar, F., Bouabida, H., & Soltani, N.** (2017). Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical aspects. *South African Journal of Botany*, 113, 362-369.

E

- ✓ **Ebadollahi, A., Khosravi, R., Sendi, J. J., Honarmand, P., & Amini, R. M.** (2013). Toxicity and physiological effects of essential oil from *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. *Annual Research & Review in Biology*, 649-658.
 - ✓ **El-Bakry, A. M., Abdel-Aziz, N. F., Sammour, E. A., & Abdelgaleil, S. A. M.** (2016).
-

Insecticidal activity of natural plant essential oils against some stored product insects and their side effects on wheat seed germination. Egyptian journal of biological pest control, 26(1), 83.

- ✓ **Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V. & Featherstone, R. M.** (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, (7): 88-95.
- ✓ **Eyraud, V.** (2014). Etude d'un insecticide naturel nommé PA1b: Mécanisme d'action et expression hétérologue (Doctoral dissertation, Lyon, INSA).

F

- ✓ **Field, L. M., Blackman, R. L., Tyler-Smith, C., & Devonshire, A. L.** (1999). Relationship between amount of esterase and gene copy number in insecticide-resistant *Myzus persicae* (Sulzer). *Biochemical journal*, 339(3), 737-742.
- ✓ **Finke, M. D.** (2007). Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo biology: published in affiliation with the American zoo and aquarium association*, 26(2), 105-115.
- ✓ Fournier, D. (2005). Mutations of acetylcholinesterase which confer insecticide resistance in insect populations. *Chemico-biological interactions*, 157, 257-261.

G

- ✓ **Charef-Guenez R.** (2019). Contribution à l'étude de l'activité larvicide des extraits de certaines plantes sur les larves de trois espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas) et *Culiseta longiareolata* (Aitken). Thèse de doctorat non publiée, Université Badji Mokhtar-Annaba, Annaba.
 - ✓ **George, S. G.** (1994). Enzymology and molecular biology of phase II xenobiotic-conjugating enzymes in fish. *Aquatic toxicology*, 4, 37-85.
 - ✓ **Gérard, D.** (2015). L'encyclopédie des plantes bio-indicatrice alimentaire et médicinales. Promonature, France.
 - ✓ **Gnanamani, R., & Dhanasekaran, S.** (2017). Efficacy of azadirachta indica leaf extract on the biochemical estimation of a lepidopteran pest *Pericallia ricini* (Lepidoptera: Arctiidae). *World Applied Sciences Journal*, 35(2), 177-181.
 - ✓ **Goudjil, M. B., Bencheikh, S. E., Zighmi, S., & Ladjel, S.** (2015). Détermination
-
-

Expérimentale de la Cinétique de Séchage à l'Ombre des Huiles Essentielles de Laurus Nobilis Lauraceae. *Ḥawliyyāt al-‘Ulūm wa-al-Tiknūlūjiyā*, 281(5389), 1-5.

- ✓ **Guenther, E., & Althausen, D.** (1948). *The essential oils* (Vol. 1, p. 81). New York: Van Nostrand.
- ✓ **Guettal, S.** (2021). *Effets de deux biopesticides d'origine végétale sur un ravageur des denrées stockées* (Doctoral dissertation).

H

- ✓ **Halaimia, A., & Chachoui, D.** (2017). *Effet d'un biopesticide, azadirachtine à l'égard d'un ravageur des denrées stockées* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).
- ✓ **Haubruge, É., & Amichot, M.** (1998). *Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens*. BASE.

I

- ✓ **Isman, M. B., & Machial, C. M.** (2006). *Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization*. *Advances in phytomedicine*, 3, 29-44.

K

- ✓ **Kady, G. A. E. L., Kamel, N. H., Mosleh, Y. Y., & Bahght, I. M.** (2008). *Comparative toxicity of two bio-insecticides (Spinotoram and Vertemic) compared with methomyl against Culex pipiens and Anopheles multicolor*. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(2), 198-205.
 - ✓ **Kassemi, N.**(2004): *Activité biologique des poudres et des huiles essentielles de deux plantes (Pseudocytisus integrifolius Salib et Nepeta nepetella L) sur les ravageurs du blé et des légumes secs* (Doctoral dissertation, Université de Tlemcen-Abou Bekr Belkaid).
 - ✓ **Kassi L.A., Berger Y.M., Bradford G.E., Boukhliq R., Tibary A., Derqaoui L. & Boujenane I.**, 1989. *Performance of D'man and Sardi sheep on accelerated lambing. I. Fertility, litter size, post- partum anoestrus and puberty*. *Small. Rum. Res.*, 2: 225-239.
 - ✓ **Kaufmann, C., & Brown, M. R.** (2008). *Regulation of carbohydrate metabolism and flight performance by a hypertrehalosaemic hormone in the mosquito Anopheles gambiae*. *Journal of insect physiology*, 54(2), 367-377.
-
-

- ✓ **Keely, L.L.** (1986). Physiology and biochemistry of fat body, pp. 211-248. In GA Kerkut & L.I. Gilbert (eds): *Comprehensive Insect Biochemistry, physiology and pharmacology*, vol. 3, Pergamon Press, Oxford.
- ✓ **Khaled I. & Dib D.**, 2015. Evaluation de l'activité des huiles essentielles de l'Eucalyptus globulus à l'égard d'une espèce de moustiques *Culex pipiens* : toxicologie, développement, morphométrie et biochimie. Mémoire de Master. Université de Tébessa. p : 39-44.
- ✓ **Khamene, I.** (2014). Etude de l'activité insecticide d'extrait de l'*Ocimum basilicum* à l'égard d'une espèce de moustique *Culex pipiens*, Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master Université Larbi Tébessi-Tebessa. 43 p
- ✓ **Kilby, B. A.** (1963). The biochemistry of the insect fat body. In *Advances in insect physiology* (Vol. 1, pp. 111-174). Academic Press.

L

- ✓ **Labiad, H., El Jemli, M., Marmouzi, I., Chaouch, A., Ghanmi, M., Satrani, B., & Fadli, M.** (2019). Étude toxicologique et activité psychotrope des huiles essentielles de *Laurus nobilis* et de *Vitex agnus-castus*. *Phytothérapie*, 17(5), 276-282.
- ✓ **Lagadic, L., & Caquet, T.** (1997). *Biomarqueurs en écotoxicologie: Aspects fondamentaux*. Masson.
- ✓ **Lavalette, M.** (2013). *Les insectes: une nouvelle ressource en protéines pour l'alimentation humaine* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine). , France, p 95.
- ✓ *Leucophaco maderae*. *J. Insect. Physiol.*, 13: 779 -794p
- ✓ **Linnaeus.,(1758)** : 417. [Description originale] Linnaeus, C. 1758. *Systema naturæ perregna tria naturæ, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. Editio decima, reformata. Holmiæ. (Salvius). Tomus I: pp : 1-824. [<http://www.biodiversitylibrary.org/item/10277>].

M

- ✓ **Madaci, B., Merghem, R., Doumandji, B., & Soltani, N.** (2008). Effet du nerium oleander, laurier rose,(APOCYNACEES) sur le taux des proteines, L'activité de L'ACHE et les mouvements des vers blans RHIZOTROGINI,(COLEOPTERA
-
-

SCARABAEIDAE). Sciences & Technologie. C, Biotechnologies, 73-78.

- ✓ **Marie,A.**(2005).La bible des plante.Dauphin.paris.
- ✓ **Martynov, V. O., Hladkyi, O. Y., Kolombar, T. M., & Brygadyrenko, V. V. (2019).** Impact of essential oil from plants on migratory activity of Sitophilus granarius and Tenebrio molitor. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 10(4), 359-371.
- ✓ **MECHERI Mohamed, N., & MENNAH, R. S. (2019).** Impact de l'huile essentielle de Rutagraveolens sur les biomarqueurs de détoxification chez les larves de Culiseta longiareolata (Doctoral dissertation, Universite laarbi tebessi tebessa).
- ✓ **Mediouni-Ben Jemâç a, J., Tersim, N., & Khouja, M. L. (2012, March).** Repellent action of Laurus nobilis essential oil against the cigarette beetle Lasioderma serricorne fabricius (Coleoptera: Anobiidae). In International symposium on Medicinal and Aromatic Plants-SIPAM 2012 997 (pp. 169-176).

N

- ✓ **Ntonga, P. A., Belong, P., Tchoumboungang, F., Bakwo, E. M., & Fankem, H. (2012).** Composition chimique et effets insecticides des huiles essentielles des feuilles fraîches d'Ocimum canum Sims et d'Ocimum basilicum L. sur les adultes d'Anopheles funestus ss, vecteur du paludisme au Cameroun. J. Applied Biosci, 59, 4340-4348.

O

- ✓ **Orhan, I. E., Senol, F. S., Ozturk, N., Celik, S. A., Pulur, A., & Kan, Y. (2013).** Phytochemical contents and enzyme inhibitory and antioxidant properties of Anethum graveolens L.(dill) samples cultivated under organic and conventional agricultural conditions. Food and chemical toxicology, 59, 96-103.
- ✓ **Orhan, I., Şenol, F. S., Gülpinar, A. R., Kartal, M. U. R. A. T., Şekeroglu, N., Deveci, M., ... & Şener, B. (2009).** Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of Cyclotrichium niveum, Thymus praecox subsp. caucasicus var. caucasicus, Echinacea purpurea and E. pallida. Food and chemical toxicology, 47(6), 1304-1310.
- ✓ **Ouafi, N., Moghrani, H., Benaouda, N., Yassaa, N., & Maachi, R. (2017).** Evaluation qualitative et quantitative de la qualité des feuilles de Laurier noble Algérien séchées dans un séchoir solaire convectif. Journal of Renewable Energies, 20(1), 161-168.

- ✓ **Ouibrahim, A.** (2015). Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR–ANNABA. P, 15. Ouibrahim.

P

- ✓ **Pasteur, N., & Raymond, M.** (1996). Insecticide resistance genes in mosquitoes: their mutations, migration, and selection in field populations. *Journal of Heredity*, 87(6), 444-449.
- ✓ **Prapantadara, L., Promtet, N., Kootathep, S., Somboon, P., & Ketterman, A. J.** (2000). Isoenzymes of glutathione S-transferase from the mosquito *Anopheles dirus* species B: the purification, partial characterization and interaction with various insecticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30(5), 395-403.

R

- ✓ **Rezkallah, O., & Amrani, Z.** (2018). Efficacité des huiles essentielles extraites d'une plante médicinale, *Laurusnobilis* à l'égard d'une espèce de moustique (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).
 - ✓ **Ribeiro, S., Guilhermino, L., Sousa, J. P., & Soares, A. M. V. M.** (1999). Novel bioassay based on acetylcholinesterase and lactate dehydrogenase activities to evaluate the toxicity of chemicals to soil isopods. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 44(3), 287-293.
 - ✓ **Rose de Lima, F. H., Ajour, E. S., Ahoussi, E. D., Sohounhloué, D. C., & Soumanou, M. M.** (2014). Caractéristiques biochimique et sensorielle du niébé (*Vigna unguiculata*) conservé au moyen des huiles essentielles extraites de plantes de la famille des Myrtaceae [Biochemical and sensorial Characteristics of cowpea (*Vigna unguiculata*) stored with essentials oils extracted from plants of Myrtaceae family]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 9(1), 428.
 - ✓ **Rufingier, C., Pasteur, N., Lagnel, J., Martin, C., & Navajas, M.** (1999). Mechanisms of insecticide resistance in the aphid *Nasonovia ribisnigri* (Mosley)(Homoptera: Aphididae) from France. *Insect biochemistry and molecular biology*, 29(4), 385-391.
 - ✓ **Rumpold, B. A., & Schlüter, O. K.** (2013). Nutritional composition and safety aspects of
-
-

edible insects. *Molecular nutrition & food research*, 57(5), 802-823.

S

- ✓ **Sadia, M. A. N. S. O. U. R.** (2015). Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf des sciences et de la technologie d'Oran).
 - ✓ **Sak, O., Uckan, F. & Ergin, E.** (2006). Effects of cypermethrin on total body weight, glycogen, protein and lipid contents of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae).
 - ✓ **Saleem, M. A., & Shakoory, A. R.** (1987). Joint effects of Dimilin and Ambush on enzyme activities of *Tribolium castaneum* larvae. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 29(2), 127-137.
 - ✓ **Sayada N. & Messai S.,** (2015). Etude de l'effet des huiles essentielles d'une plante larvicide
 - ✓ **Seghier, H., Tine- Djebbar, f., Loucif-Ayad, W., & Soltani, N.** (2020). Larvicidal and pupicidal activities of *Petroselinum crispum* seed essential oil on *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata* mosquitoes. *Transylvanian Review*. 27 :47.
 - ✓ **Seo, S. M., Kim, J., Kang, J., Koh, S. H., Ahn, Y. J., Kang, K. S., & Park, I. K.** (2014). Fumigant toxicity and acetylcholinesterase inhibitory activity of 4 Asteraceae plant essential oils and their constituents against Japanese termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). *Pesticide biochemistry and physiology*, 113, 55-61.
 - ✓ **Sharma, P., Mohan, L., Dua, K. K., & Srivastava, C. N.** (2011). Status of carbohydrate, protein and lipid profile in the mosquito larvae treated with certain phytoextracts. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 4(4), 301-304.
 - ✓ **Singh, P.** (1975). Yellow mealworm, *Tenebrio molitor* Linnaeus, life-cycle. *Entomon*, 1(2), 181-184.
 - ✓ **Singh, P.** (1975). Yellow mealworm, *Tenebrio molitor* Linnaeus, life-cycle. *DSIR Information Series*, (105/13).
 - ✓ **Soderlund D.M.,** 1997. Molecular mechanisms of insecticide resistance. In situ V (Ed). Springer, Berlin Heidelberg New York., 13 : 21-56.
-
-

- ✓ **Steele, J.E.** (1981). The role of carbohydrate metabolism in physiological function. In: Downer, R.G.H. (Ed.), *Energy Metabolism in Insects*. Plenum, New York. 101-133.
- ✓ **Stefanova, G., Girova, T., Gochev, V., Stoyanova, M., Petkova, Z., Stoyanova, A., & Zheljazkov, V. D.** (2020). Comparative study on the chemical composition of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves from Greece and Georgia and the antibacterial activity of their essential oil. *Heliyon*, 6(12), e05491.

T

- ✓ **Taylor, M., & Feyereisen, R.** (1996). Molecular biology and evolution of resistance of toxicants. *Molecular biology and evolution*, 13(6), 719-734.
- ✓ **Tel, G., Öztürk, M., Duru, M. E., Harmandar, M., & Topçu, G.** (2010). Chemical composition of the essential oil and hexane extract of *Salvia chionantha* and their antioxidant and anticholinesterase activities. *Food and chemical toxicology*, 48(11), 3189-3193.
- ✓ **Tine, S., Halaimia, A., Chechoui, J., & Tine-Djebbar, F.** (2017, December). Fumigant Toxicity and Repellent Effect of Azadirachtin Against the Lesser Grain. In *Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions: Proceedings of Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration (EMCEI-1), Tunisia 2017* (p. 399). Springer.
- ✓ **Tomita, T., Hidoh, O., & Kono, Y.** (2000). Absence of protein polymorphism attributable to insecticide-insensitivity of acetylcholinesterase in the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30(4), 325-333.
- ✓ **Triki, T., Guasmi, F., Ali, S., Mohamed, M., Drine, S., Yahia, H., ... & Ferchichi, A.** Etudes de la variabilité biochimique de cinq cultivars de chénopodium quinoa.

V

- ✓ **Van Heusden, M. C., & Law, J. H.** (1989). An insect lipid transfer particle promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *Journal of Biological Chemistry*, 264(29), 17287-17292..

W

- ✓ **Wang, X., Hao, Q., Chen, Y., Jiang, S., Yang, Q., & Li, Q.** (2015). The effect of
-
-

chemical composition and bioactivity of several essential oils on *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Insect Science*, 15(1).

- ✓ **Wiens A. W. & Gilbert T.** (1967). Regulation of carbohydrate mobilization and utilization in

Y

- ✓ **Yang, S. S., Brandon, A. M., Flanagan, J. C. A., Yang, J., Ning, D., Cai, S. Y., ... & Wu, W. M.** (2018). Biodegradation of polystyrene wastes in yellow mealworms (larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus): Factors affecting biodegradation rates and the ability of polystyrene-fed larvae to complete their life cycle. *Chemosphere*, 191, 979-989.
- ✓ **Yazdani, E., Sendi, J.J., & Hajizadeh, J.** (2014). Effect of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*. 54(1).

Z

- ✓ **Zhu, Y. C., Dowdy, A. K., & Baker, J. E.** (1999). Detection of single-base substitution in an esterase gene and its linkage to malathion resistance in the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Pesticide Science*, 55(4), 398-404.
- ✓ **Zoghلامي, L.** (2015). Evaluation de l'effet des huiles essentielles de *Mentha piperita* sur un lépidoptère *Ephestia kuehniella*. *MasterEcophysiologie Animale*, Université Larbi Tébessi Tébessa. 52p.

Webographie

Site eb 1

<https://booksofdante.wordpress.com/2014/01/16/le-laurier-noble-laurus-nobilis>.

Site web 2

<http://www.laurusnobilis.nl/fr/le-laurier-lorigine-de-la-beaute>.

Site web 3

<https://fr.dreamstime.com/photos-images/tenebrio-molitor.html>.

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Echahid Chikh Larbi Tébessi –Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Titre du projet:

La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour
préserver les nutriments .

**Un projet d'obtention du certificat d'institution émergente dans le
cadre de la résolution ministérielle 1275**



Nom commercial:

Lauranos

Année universitaire

2022 _ 2023

Carte d'information:

À propos de l'équipe de supervision et de l'équipe de travail

1- L'équipe de supervision :

| Equipe de supervision | |
|--|--|
| Spécialité : Biologie animale | Le superviseur principal : GUENEZ Radja |

2- L'équipe de travail :

| Faculté Équipe de projet | Spécialité | Faculté |
|--|------------------------|---|
| Étudiant : DJERADI NOUREL HOUDA | Biochimie appliquée | Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie |
| Étudiant : ZEGDHANI SABAH | Biochimie appliquée | Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie |

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

TABLE DE MATIERE

Le premier Axe: La Soumission des Projets

Le deuxième axe: Aspects innovants

Le troisième axe: Analyse stratégique du marché

Le quatrième Axe: le Prototype Expérimental

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

Le premier axe La Soumission des Projets

1. Idée de projet (solution proposée)

Notre domaine d'activité est la production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

L'idée du projet a commencé par une étude qui a conclu que l'infection des matériaux stockés par les mites et les coléoptères de toutes sortes peut entraîner de graves pertes pour l'agriculteur et le commerçant, et que la perte augmente en raison de l'infection des mites et des coléoptères également dans les silos à grains et les grands entrepôts, ce qui affecte les prix des marchandises et affecte également la qualité des aliments, la température des matériaux stockés augmente et leur humidité augmente, ce qui conduit à la croissance de champignons toxiques sur ces matériaux, ce qui conduit à, et cela conduit à l'infection de tous ceux qui se nourrissent de ces matériaux avec des maladies, en particulier le cancer, les maladies allergiques et tous les pesticides disponibles sur le marché de nature chimique qui affectent la santé publique

Nous produirons un insecticide naturel

Cela se fait grâce à la réalisation d'une unité de production à base de substances inoffensives pour la chaîne environnementale, la Santé Publique et à base de laurier et d'alcool dilué

Le laboratoire a été choisi pour la présence de machines à distiller, d'outils de travail et d'une bonne ambiance.

2. Valeurs proposés

- ✓ Il est considéré comme un insecticide naturel et sain à base de matériaux naturels
- ✓ Un type est valable pour tous les aliments
- ✓ Facile à utiliser
- ✓ Faible coût de production en s'appuyant sur une usine largement disponible

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

- ✓ Abandonner les pesticides chimiques nocifs pour la santé .

3. Notre équipe

L'équipe de travail est composée de :

- ✓ Dr. GUENEZ Radja.
- ✓ ZEGHDANI Sabah.
- ✓ DJERADI NOUR EL HOUDA.

4. Objectifs du projet

Nous nous efforçons de devenir le projet numéro un en Algérie qui introduit un insecticide à base de plantes qui peut réduire les risques pour la santé humaine. Et cela pendant les premières années de sa présentation.

Et d'atteindre une part de marché estimée à 30% du total des insecticides produits en Algérie.

5. Calendrier de réalisation du projet

| | LES MOIS/ LES SEMAINES | | | | | | | |
|---------------------|---|---|---|---|---|---|---|--|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | |
| <i>LES Affaires</i> | Études préliminaires sélection des locaux du laboratoire et traitement des documents requis | ✓ | ✓ | | | | | |
| | Commande de matériel à l'étranger | | ✓ | ✓ | | | | |
| | Construire un détective | | | ✓ | ✓ | | | |

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

| | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|---|---|---|---|
| | Installation de l'équipement | | | | ✓ | ✓ | | |
| | Acquisition de matières premières | | | | | ✓ | ✓ | |
| | Le début de la production du premier produit | | | | | | ✓ | ✓ |

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

Le deuxième axe : Aspects innovants

1. La nature des innovations : Innovations radicales.

2. Domaines d'innovations :

Les aspects innovants de notre projet sont les suivants :

- ✓ Le premier insecticide à caractère végétal en Algérie.
- ✓ Exploitation des parties restantes de la plante dans la production d'un autre produit.
- ✓ Cibler une nouvelle catégorie de consommateurs, les propriétaires d'usines et de moulins.

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

Le troisième axe: Analyse stratégique du marché.

1 . Stratégies de marketing:

Nous comptons sur la commercialisation de nos produits sur une stratégie marketing à des prix compétitifs en contrôlant la réduction des coûts en utilisant la plante de laurier qui est disponible partout et nous pouvons la cultiver en plus de compter sur Internet pour commercialiser nos produits, distribuer et gérer les commandes.

Notre organisation considère ses clients comme son capital, elle leur fournit donc des services après-vente, des demandes de renseignements, des méthodes d'utilisation et l'inscription à des cours gratuits sur la façon de conserver les aliments de manière sûre.

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

Le quatrième Axe :

Prototype Expérimental. Pour obtenir ce produit, nous avons extrait l'huile essentielle de Laurier, puis nous avons ajouté de l'alcool dilué dans différentes proportions et nous avons obtenu le produit en deux doses efficaces et létales.



Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

➤ **LES TABLEAUX**

STARTUP : étude générale sur le projet.

| | <u>REALISATION</u> | | | <u>PREVISION</u> | | | | |
|----------------------------------|--------------------|------|---|------------------|---------------|---------------|----------------|----------------|
| Produit A destiné Client | N -2 | N -1 | N | N+1 | N+2 | N+3 | N+4 | N+5 |
| Quantité produit A | | | | 1200 | 1800 | 2400 | 3000 | 3600 |
| Prix HT produit A | | | | 600000 | 900000 | 1200000 | 1500000 | 1800000 |
| <u>Ventes produit A</u> | | | | 50% | 60% | 70% | 80% | 90% |
| CHIFFRE D'AFFAIRES GLOBAL | | | | 3600000 00 | 9720000 00 | 2026000 00 | 31500000 00 | 51840000 00 |

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

الملحق رقم 02: جدول حسابات النتائج المتوقعة

COMPTE DE RUSULTAT PREVISIONNELDE STARTUP :

| En DINAR DZD | REALISATION | | | PREVISION | | | | |
|---|-------------|-------|---|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | N - 2 | N - 1 | N | N+1 | N+2 | N+3 | N+4 | N+5 |
| Vente et produits annexes | / | / | / | 1200 | 1800 | 2400 | 3000 | 3600 |
| Variation des stocks produits finis et en cours | / | / | / | 600 | 1320 | 1440 | 1620 | 1620 |
| Production immobilisée | / | / | / | / | / | / | / | / |
| Subvention d'exploitation | / | / | / | / | / | / | / | / |
| Production de l'exercice | - | - | - | 1800 | 3120 | 3840 | 4620 | 5140 |
| Achats consommés | | | | 45000 | 67500 | 90000 | 112500 | 135000 |
| Services Extérieurs et autres consommations | | | | 37200 0 | 372000 | 372000 | 372000 | 372000 |
| Consommation de l'exercice | - | - | - | - 41700 0 | - 439500 | - 462000 | - 484500 | - 507000 |
| Valeur ajoutée d'exploitation | - | - | - | 41520 0 | 436380 | 458160 | 479880 | 501860 |
| Charges de personnel | / | / | / | 0 | 180000 | 360000 | 540000 | 800000 |
| Impôts et taxes et versement assimilés | / | / | / | / | / | / | / | / |
| Excédent Brut d'Exploitation | / | / | / | 41520 0 | 256380 | 98160 | - 60120 | - 298140 |

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

| | | | | | | | | |
|--|---|---|---|--------------|---------------|---------------|---------------|----------------|
| Autres produits opérationnels | / | / | / | 10000 | 10000 | 10000 | 10000 | 10000 |
| Autres charges opérationnelles | / | / | / | / | / | / | / | / |
| Dotations aux amortissements, Provisions | / | / | / | 10000 | 16000 | 20000 | 25000 | 30000 |
| Reprise sur pertes de valeurs et provisions | / | / | / | / | / | / | / | / |
| Résultat opérationnel | | | | 41520 | 250380 | 88160 | - | - |
| | | | | 0 | | | 75120 | 318140 |
| Produits Financiers | | | | / | / | / | / | / |
| Charges financières | | | | / | / | / | / | / |
| Résultat financier | | | | / | / | / | / | / |
| Résultat Ordinaire avant impôt | | | | 41520 | 250380 | 88160 | 75120 | 318140 |
| | | | | 0 | | | | |
| Impôt exigible sur résultat ordinaire | | | | 78888 | 47572,2 | 16750,4 | 14272,8 | 6044,66 |
| Impôt différé (variation) sur résultat ordinaire | / | / | / | / | / | / | / | / |
| TOTAL DES PRODUITS DES ACTIVITES ORDINAIRES | - | - | - | 11800 | 13120 | 13840 | 14620 | 15140 |
| TOTAL DES CHARGES DES ACTIVITES ORDINAIRES | - | - | - | 51588 | 693072 | 868750 | 107377 | 1353044 |
| | | | | 8 | ,2 | ,4 | 2,8 | ,66 |
| RESULTA NET DES | - | - | - | - | - | - | - | - |

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| ACTIVITES ORDINAIRES | | | | 50408 8 | 679952 ,2 | 854910 ,4 | 105915 2,8 | 1337904 ,6 |
| Eléments extraordinaire (produits) | | | | 10000 00 | 200000 0 | 300000 0 | 400000 0 | 500000 0 |
| Eléments extraordinaire (charges) | | | | 20000 00 | 300000 0 | 400000 0 | 500000 0 | 600000 0 |
| Résultat extraordinaire | - | - | - | 10000 00- | 100000 0 - | 100000 0 | 100000 0 | 1000000 |
| RESULTAT NET DE L'EXERCICE | - | - | - | 15040 88 | 167995 2,2 | 185491 0,4 | 205915 2,8 | 2337904 ,6 |

Axe n 04: Business Model Canvas

| Partenaires clés | Activités clés | Offre (proposition de valeur) | Relation client | Segments de clientèle |
|--|--|--|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Incubateurs ou accélérateurs de projets • Investisseur financier • Agence nationale de gestion des microcrédits ANGEM • Sociétés de distribution • Prestataires de services • Entreprises vendant des substances semi-pharmaceutiques • Usine de bouteilles • Usine d'emballage • domaine agricole • Laboratoires • Intégration avec les propriétaires d'usine en tant que partenaires | <ul style="list-style-type: none"> • Pour produire • Cet insecticide, nous devons cultiver une plante de laurus nobilis • Séchage • Broyage • Distillation • Ajout d'alcool dilué et complications • Mise en conserve • Emballage • Stockage • Vente | <ul style="list-style-type: none"> • Valeur de conception • Conçu à partir de bases végétales inoffensives, contrairement aux produits chimiques sur le marché • Valeur au prix • Son prix est bas car il est fait de matériaux naturels • La valeur par la performance • Il est efficace car des expériences scientifiques ont prouvé que cette plante détruit les espèces d'insectes alimentaires • La valeur de la facilité d'utilisation • Facile à utiliser, n'a pas besoin d'une | <ul style="list-style-type: none"> • Sensibilisation • Le prix du produit est bas pour les produits chimiques sur le marché • Non toxique, sans additifs chimiques • Efficace et sûr • Un rappel de la valeur nutritive que les aliments perdent lorsqu'ils sont exposés à ce ravageur • Un rappel de la perte matérielle • Un rappel de la perte matérielle • Évaluation • Nous pouvons augmenter les assainisseurs pour que le produit soit inodore sur demande | <ul style="list-style-type: none"> • le marché potentiel • les moulins à grains • Entrepôts de stockage • Des usines • Magasins de grains de détail et de gros • utilisateurs et consommateurs de céréales • boulangeries • maisons • femme's au foyer • Magasins de céréales en gros et au détail • Restaurants • le marché cible • Tout d'abord, les entrepôts et les usines alimentaires sont ciblés pour se débarrasser du problème de la |

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

| | | | | |
|--|--|--|---|--|
| | | <p>personne compétente, tout le monde peut l'utiliser</p> <ul style="list-style-type: none"> • Valeur innovante • Un nouveau produit n'est pas disponible sur le marché • Créer de la valeur en réduisant les risques • Réduit les risques causés par les insecticides chimiques • Valeur par distinction • Il se démarque car il est inoffensif pour ses utilisateurs • La valeur totale du service • Disponible dans tous les marchés et magasins • Il n'a pas besoin de personnes dédiées pour l'utiliser • Maintenir la qualité des aliments | <ul style="list-style-type: none"> • Fournir le produit sous plusieurs formes, tranchées ou pulvérisées • Achat • Encourager achat par exactitude de la transaction pour gagner la confiance du client • Convertir les clients en spécialistes du marketing grâce à des remises • Mettez le produit sous une forme inconnue • Catégorie campagnes photo • Coupons et cadeaux • Offrez une augmentation sur le service s'il m'a acheté un certain nombre de fois ou s'il a amené un certain nombre de clients à travers lui • Toujours travailler | <p>pourriture et de la détérioration</p> <ul style="list-style-type: none"> • Les différents types de marchés • Marchés dédiés • Marchés numériques • Marchés appliqués • Besoins fondamentaux et valeurs qui leur correspondent • Réduction des maladies et des épidémies • Réduire les pertes matérielles et humaines • Conservation des aliments sur leur valeur nutritionnelle • Se sentir à l'aise pour l'acheteur et le vendeur |
|--|--|--|---|--|

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

| | | | | |
|--|--|---|---|--|
| | | <ul style="list-style-type: none">• Consommation et stockage sûrs des céréales• Création d'emplois• Augmentation du revenu national• Réduire la pauvreté grâce à l'emploi• L'État maintient son économie en investissant dans ce secteur• La baisse de la valeur des importations de pesticides• Croissance économique grâce à une augmentation des ventes au détail, à une production de qualité et à une sensibilisation accrue au développement. | <p>sur le développement et la mise à jour des produits</p> <ul style="list-style-type: none">• Facilité d'acquisition• Augmentez le volume de l'emballage de ml4, par exemple• Offrir des prix inférieurs à ceux des concurrents directs• Réductions à certains moments• Ouvrez le champ à l'expérimentation pour vous assurer• Livraison• Livraison des produits aux succursales municipales et étatiques• Par l'intermédiaire du représentant des ventes• Au moyen de voitures de livraison• Report incorrect exemple or | |
|--|--|---|---|--|

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

| | | | | |
|--|---|--|--|--|
| | | | translation | |
| | Ressources clés <ul style="list-style-type: none">• la plante de laurus nobilis• Ateliers, espaces dédiés, laboratoires• Ciseaux• balance• Eau distillée• Machine de distillation• Alcool (éthanol)• Additifs alimentaires• Conservateur de bouteilles en verre coloré pour huiles volatiles• Source de refroidissement | | Canaux de distribution <ul style="list-style-type: none">• Vente directe• au b2b• B2c• Magasins• Kiosques• Par l'intermédiaire du représentant des ventes• Via Internet via les sites de réseautage social• Création d'une plateforme numérique spéciale création de campagnes publicitaires | |

Titre de projet : La production d'un insecticide efficace de nature végétale pour préserver les nutriments .

| | | | | |
|--|---|---|--|--|
| | <ul style="list-style-type: none">• Outils de mise en conserve• Outils d'emballage | | | |
| Structure des coûts <ul style="list-style-type: none">• Coûts liés aux produits• Matières premières la plante de <i>laurus nobilis</i> additifs• Machines d'emballage et d'emballage• Location d'ateliers et de laboratoires• Coûts fixes• Salaires des travailleurs• Frais de partenaire• Dépenses de consommation d'eau et d'électricité• Coûts de maintenance du matériel. | | Sources de revenus <ul style="list-style-type: none">• Vente de produits et vente de services• Conseils pour utiliser la vente• Vendez des emballages de grande taille et vendez de petits emballages pour une facilité d'utilisation• Cours de formation pour les agriculteurs pour apprendre à préserver leurs cultures• Louer des idées annuellement, c'est-à-dire une licence• Annonces pour les propriétaires de produits avec un contenu similaire pour une somme d'argent. | | |