



N° d'ordre...

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Département des Sciences de l'Environnement

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée par :

Mme LARABI Fatiha ép. BENACHOUR

Spécialité : Sciences de l'Environnement

***Option : Biodiversité végétale méditerranéenne : inventaire,
valorisation et restauration***

Intitulé

***Composition phytochimique des organes aériens
de *Tetraclinis articulata* (Vahl). Master. et pouvoir
insecticide***

Soutenue le .../.../2017

Devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : Pr BENYAHIA Mohamed(Professeur, UDL/SBA)

Examineur : Pr HELLAL Benchaban(Professeur, Univ. Tiaret)

Dr OULBACHIR Karima(Maître C. A, UniTiaret)

Pr REZZOUG Wafaa Oum El Kheir (Professeur. A, Univ. Tiaret)

Pr TOUMI-BENALI Fawzia(Professeur, UDL/SBA)

Promoteur : Dr BOUZIDI Mohamed Ali.....(Maître C. A, UDL/SBA)

Année universitaire 2016 – 2017

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A

Mon père premier éducateur dans mes premiers pas de vie que dieu le protège.

Mes deux mères qui n'ont pas cessé de prier pour moi.

Mes beaux parents qui m'ont toujours encouragée.

Mes frères et mes sœurs.

Mes chers neveux et nièces.

REMERCIEMENTS

Le travail de synthèse que nécessite la rédaction d'une thèse est difficile, mais à présent que je me retrouve face à mes remerciements, je me sens toute aussi impuissante. Par où commencer ? Un ordre chronologique ? Très bien... cela va m'amener à un début original, mais ce n'est pas grave, je me lance ! Pour m'avoir permis de mener ce projet à bien et de vivre de tels moments, je tenais donc à remercier :

Mr. BOUZIDI Med ALI mon directeur de thèse. Les mots me manquent pour exprimer ma gratitude pour sa patience, sa générosité et d'avoir acquis une confiance grâce à vous.

Merci pour tout.

Je tiens à remercier l'ensemble de membres de jury pour avoir accepté d'examiner et de juger ce travail :

Je remercie Monsieur **BENYAHIA M.** Professeur à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie U.D.L Sidi Bel Abbés pour l'honneur qui nous a fait en acceptant de présider ce jury.

Je remercie Monsieur **HELLEL B.** professeur à l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie également **Dr. REZZOUG W. et Dr. OULBACHIR K.** Maître de Conférences classe -A- à l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Et là j'ai failli, j'avais dit que mes remerciements seraient chronologiques mais on finit toujours par le meilleur, merci à **Pr. TOUMI -BENALI F.** Maître de Conférences classe -A- Professeur à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie U.D.L Sidi Bel Abbés ; tout d'abord pour sa générosité et son soutien morale aux moments les plus difficiles et pour avoir accepté de juger ce travail qu'elle trouve ici ma reconnaissance et mes gratitude.

A titre plus personnel, Je remercie chaleureusement mon mari, **BENACHOUR Med Adel**, pour la grande patience, l'encouragement et la confiance qu'il m'a témoigné dont il a fait preuve à la relecture de mon manuscrit. Je tiens à le remercier surtout pour son soutien moral ininterrompu et ses nombreux conseils tout le long de ma thèse.

Je tourne une page et j'en ouvre une autre: vivement la suite !

*Elle qui croyait par son éducation, par ses études, tout savoir de la vie animale
découvre sur ces arpents de terre que la vie naturelle est un bien meilleur
professeur parce qu'elle ne donne pas la même réponse à toutes les questions et
qu'elle laisse le savoir germer et mûrir comme tout ce qui est vrai et vivant.*

J.M.G. Le Clézio

Prix Nobel de littérature 2008

Liste des Figures

Figure I.1 : Répartition de la famille des cupressacées dans le monde.....	5
Figure I.2 : Différents caractères morphologiques du genre <i>Tetraclinis</i>	7
Figure I.3 : Habitus de <i>Tetraclinis articulata</i> (Vahl.) Masters.....	8
Figure I.4 : Répartition du thuya dans le bassin méditerranéen.....	11
Figure I.5 : Répartition de thuya en Tunisie.....	12
Figure I.6 : Répartition de thuya au Maroc.....	13
Figure I.7: Répartition de thuya en Algérie.....	14
Figure II.1: Poche glandulaire endogène vue en coupe d'une feuille de rue fétide.....	18
Figure II.2: Poil secrétaire externe vue en coupe d'une feuille de verveine.....	19
Figure II.3 : Structure chimique du phénol.....	22
Figure II.4 : Schéma représentant le montage d'une hydrodistillation	24
Figure II.5 : Schématisation de la technique d'extraction par entrainement à la vapeur d'eau.....	25
Figure II.6 : Schéma descriptif de l'installation d'extraction par solvant volatils.....	26.
Figures III.1 : Morphologie d'un moustique adulte vu de profil	29
Figure III.2 : Cycle du développement des moustiques	31
Figure III.3 : Œufs du genre <i>Culex</i>	32
Figure III.4 : Larve du genre <i>Culex</i>	33
Figure III.5 : Nymphe mobile du genre <i>Culex</i>	34
Figure III.6 : Morphologie d'un adulte du genre <i>Culex</i> vu de dessus	35
Figures III.7 : Vue de la tête du genre <i>Culex</i>	36
Figure III.9 : Position de respiration de la larve.....	37
Figure III.8 : Fonctionnement du siphon respiratoire de la larve (A : clapets ouverts, B : clapets fermés vue de dessus, C : clapets fermés vue de profil (C)).....	37
Figure III.10 : Mécanisme de la pique, montrant l'insertion des pièces buccales dans un capillaire et le repli du labium à la surface de la peau.....	39
Figure III.11 : Vue d'une femelle <i>Culex pipens</i> pondant ses œufs sur l'eau.....	40
Figure IV.1 : Position géographique de la forêt de Messer	46

Figure IV.2 : Montage d'extraction de type Clevenger.....	48
Figure V.1 : Variation moyenne de la pluviométrie dans la région de Sidi Bel Abbès entre 1995 et 2015.....	51
Figure V.2 : Variation des températures moyennes mensuelles minimales et maximales (1995– 2015).....	52
Figure V.3 : Diagramme Ombrothermique de la ville de Sidi-Bel-Abbès (1995- 2015)...	53
Figure V.4 : Classes chimiques des composées identifiées dans l’huile essentielle des feuilles de thuya de berbérie.....	57
Figure V.5 : Structures chimiques des composés majoritaires identifiés dans l’huile essentielle de thuya de Berbérie.....	57
Figure V.6 Pourcentage de mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> selon la concentration d'huile essentielle de <i>Tetraclinis articulata en(ppm)</i> après 24h d'exposition.	58

Liste des tableaux

Tableau I.1: Caractéristique morphologiques de la famille des cupressacées.....	4
Tableau I.2 : Position des cupressacées dans les différents systèmes de classification.....	7
Tableau II.1 : Nomenclature adoptée pour les différentes classes des terpénoïdes.....	20
Tableau II.2 : Structures chimiques des différentes classes des terpènes	21
Tableau III.1 : Classement des méthodes de lutte contre les moustiques en fonction de leur Efficacité	43
Tableau V.1 : Pourcentage de principaux constituants de l'huile essentielle des feuilles du Thuya De berbérie.....	56
Tableau V.2 : Mortalité (en %) des larves de <i>Culex pipiens</i> en fonction de la concentration d'huile essentielle (ppm) de <i>Tetraclinis articulata</i> et leurs Concentrations létales CL50 et CL90 après 24 Heures d'exposition.....	58
Tableau V.3: Comparaison entre le pourcentage des composés majoritaires de l'huile essentiel de feuilles de thuya de différentes régions de l'Algérie.....	62
Tableau V.4: Comparaison entre le pourcentage des composés majoritaires de l'huile essentiel de feuilles de thuya de l'Algérie, Tunisie et Maroc.....	62

Liste des abréviations

-T : Température.

-R : Rendement.

-ppm : Partie par million.

-PAM : Plante Médicinale et Aromatique.

-P : Précipitation

-M.S : Matière sèche.

-m : Minimas

-M : Maximas

-L : Stade larvaire.

-Ir Apol et pol : Indice de Rétenion Apolaire et Polaire

-Ir Lit: Indice de Rétenion apol dans bibliothèque Joulain spécialisée dans les HE (Dernière version).

-I : Indice d'Arido Humidité.

-Ir Arom: Indice de Rétenion pol et apol d'échantillons authentiques références dans notre banque nomée « Aromes »

-H.E : Huile essentielle.

-CPG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplé à spectromètre de masse.

-CL90 : Concentration létale provoquant respectivement 90 % de mortalité.

- CL50 : Concentration létale provoquant respectivement 50 % de mortalité.

- % Apol: Pourcentage Apolaire

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

Partie 1. Synthèse Bibliographiques

Chapitre I : Généralités sur le Thuya

1. Aperçu sur la famille des <i>Cupressaceae</i>	4
1.1 Caractéristiques générales.....	4
1.2 Distribution dans le monde.....	5
1.3 Utilisation des cupressacées.....	5
1.4 Position des <i>Cupressaceae</i> dans les différents systèmes de classifications.....	5
2. Aperçu sur le genre <i>Tetraclinis</i>	6
2.1 Caractéristiques générales.....	6
2.2 Distribution.....	7
2.3 Utilisation.....	7
3. <i>Tetraclinis articulata</i>	7
3.1 Description morphologique.....	7
3.2 Synonymes taxonomiques.....	9
3.3 Synonymes nomenclaturaux.....	9
3.4 Noms vernaculaires.....	9
3.5 Exigence écologique et répartition géographique.....	9
3.5.1. Altitude.....	10
3.5.2. Conditions climatiques.....	10
3.5.3. Conditions édaphiques.....	10
3.5.4. Aire de répartition.....	10
3.5.5. Association de thuya.....	14
3.6 Classification botanique.....	15
7. Utilisation de l'espèce.....	16

Chapitre II : Les Huiles Essentielles

1. Approche.....	17
2. Structure des plantes et localisation des huiles essentielles.....	17
3. Composition chimique et propriétés physico-chimiques.....	19
3.1. Les composés terpéniques.....	20
3.2. Les composés phénoliques.....	21
4. Propriétés biologiques et utilisations.....	22
5. Techniques d'extraction.....	23
5.1. Méthodes traditionnelles d'extraction.....	23
5.1.1 Hydrodistillation.....	24
5.1.2. Entrainement à la vapeur.....	25
5.1.3. Expression à froid.....	25
5.1.4. Extraction par solvant organique	26
5.2. Méthodes innovantes d'extraction des HE.....	26
5.2.1. Hydrodistillation assistée par ultrasons.....	26
5.2.2. Extraction assistée par micro-ondes.....	27
6. Contrôle des huiles essentielles.....	27

Chapitre III : Généralités sur *Culex Pipiens L.*

1. Généralité sur les moustiques.....	29
1.2. Cycle de développement.....	29
1.2.1. Les œufs	30
1.2.2. Les larves.....	30
1.2.3. La nymphe.....	30
2. Le genre <i>Culex</i>	32
2.1. Les œufs	32
2.2. La larve	33
2.3. La Nymphe.....	33
2.4. L'adulte	34
3. <i>Culex pipiens</i>	36
3.1. Biologie des stades pré-imaginaux.....	36

3.1.1. Les œufs.....	36
3.1.2. Les larves.....	37
3.1.3. Les nymphes.....	37
3.2. Biologie des stades imaginaux.....	38
3.2.1. Habitat et nutrition.....	38
3.2.2 Reproduction.....	39
3.2.3 Ponte.....	40
3.2.4. Vol et dispersion.....	40
3.2.5. Duree de vie des adultes.....	41
4. Intérêts de la lutte contre <i>Culex pipiens pipiens</i>	41
4.1. Les principales nuisances causées par <i>Culex pipiens</i>	41
✓ <i>Des virus</i>	41
✓ <i>Des parasites</i>	42
4.2.Moyens de lutte	43
4.2.1. Lutte contre les larves.....	43
4.2.2. Lutte contre les adultes	43
4.2.2.1. Les répulsifs.....	44
4.2.2.2. Les insecticides	44

Parties II. Partie Expérimentale

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

1. Description de la zone d'étude.....	46
2. Etude phytochimique.....	47
2.1. Matériel biologique.....	47
2.2. Extraction de l'huile essentielle.....	47
2.3. Analyse chromatographique.....	48
2.4. Identification et quantification des constituants de l'huile essentielle.....	49
3. Etude de l'activité biologique	49
3.1. Collecte des larves de <i>Culex pipiens</i>	49
3.2. Tests de sensibilité larvaire.....	49
3.3. Analyse statistique.....	50

Chapitre V : Résultat et Discussion

1. Résultats.....	51
1.1 Caractéristiques climatiques.....	51
1.1.1 Pluviométrie.....	51
1.1.2 Température.....	52
1.1.3 Synthèse climatique	53
1.2 Caractérisation des huiles essentielles.....	55
1.2.1 Rendement en huiles essentielles	55
1.2.2 Analyses phytochimiques et identification des composés volatils.....	55
1.3 Partie pouvoir insecticide.....	58
1.3.1 Variation du taux de mortalité	58
2. Discussion.....	60
Conclusion.....	66
Références Bibliographiques.....	68

الملخص

في غابة ميسار (شمال غرب الجزائر) التويا البربرية هو من أهم النباتات للاستغلال من قبل السكان المحليين. الدراسة المناخية اوضحت أن مجال دراستنا ينتمي الي المناخ شبه جاف مع شتاء حار مع مؤشر الرطوبة حوالي 6.2.

الزيت الاساسية للتحصل عليه عن طريق التقطير بالبخار للأوراق المجففة للتويا البربرية تم تحليلها واختبارها على برقات بعوض الكيولكس .

عائد اسخراج الناتج هو 0.11%. أجرى التحليل والتعرف على مختلف مكونات الزيت الاساسية وتحديد نسبية كل مكون عن طريق التحليل جي سي /ام اس .جي سي /فيد . حيث أننا وجدنا أن هذا الزيت غني بي كافور حوالي 19.6%.

كما وجدنا أن نسبة المونوتغان هو 30.1% من الزيت الاساسية متنوعة بسيسكتغان بنسبة 21.88% .

الاختبار البيولوجي على برقات بعوض الكيولكس , وجدت أن هذا الزيت الاساسية له خصائص فعالة وملحوظة ضد البعوض. الحد الأدنى من التركيزات الضرورية لتحقيق موت اليرقات 100% هو 16 جزء من المليون .

اما التركيز المميت ل 50 و90% من البعوض فيكون على التوالي 8 جزء من المليون و14.4 جزء من المليون

الكلمات المفتاحية: النويا البربرية؛ بعوض الكيولكس ؛ الزيت الاساسية ؛ جي سي أم أس .جي سي فيد.

Abstract

In the Messer forest (northwestern of Algeria), *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters presents itself as a very important species exploited by the local population.

The bioclimatic synthesis of our study area shows that it is part of the semi-arid stage with warm winter and has an Arido-Humidity index in order of 6.2.

The essential oil obtained by hydrodistillation of the dry leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters, was analyzed and tested on the *Culex pipiens* larvae species. The extraction yield obtained is 0.11%.

The analysis and identification of the various constituents of the oil and the determination of its relative centesimal composition was carried by gas chromatography coupled with mass spectrometry (CPG-MS, CPG / FID).

This revealed that the essential oil of *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters is richness in camphor with on order of 19,6%. Monoterpenes represent 30.1% of the essential oil, for sesquiterpenes they are months abundant then monterpenes and represent only 21.88% of the essential oil.

The biological test carried on larvae of *Culex pipiens* revealed that the essential oil of *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters possesses remarkable larvicidal properties. The minimum concentrations required to obtain 100% larval mortality were evaluated at 16 ppm. The lethal concentration LC50 CL90 measured appears to be effective with respective values on the order of. 8ppm and. 14.4ppm.

Keywords: *Tetraclinis articulata*, *Culex pipiens*, Essential oil, GC / MS-CPG / FID. , Biological test, LC50, CL90

RESUME

Dans la forêt de Messer (Nord-Ouest Algérien) Wilaya de Sidi Bel Abbés, *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters se présente comme une espèce très importante exploitée par la population locale.

La synthèse bioclimatique de notre zone d'étude montre qu'elle fait partie de l'étage semi-aride à hiver chaud avec un indice d'Arido-Humidité de l'ordre de 6,2.

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des feuilles sèches de *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters, a été analysée et testée sur l'espèce de larve *Culex pipiens*. Le rendement d'extraction obtenu est de 0.11%. L'analyse et l'identification des différents constituants de l'huile et la détermination de sa composition centésimale relative a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM. CPG/FID). Celle-ci a révélé que l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters à une richesse en camphre de l'ordre de 19,6 %. Les monoterpènes représentent 30,1% de l'huile essentielle, pour les sesquiterpènes elles sont moins abondant que les monoterpènes et ne représentent que 21,88% de l'huile essentielle.

Le test biologique effectué sur des larves de *Culex pipiens*, a révélé que l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters possède de remarquables propriétés larvicides. Les concentrations minimales nécessaires pour obtenir 100% de mortalité des larves a été évaluée à 16 ppm. La concentration létale CL50 et CL90 mesurée semble être efficace avec des valeurs respectives de l'ordre de 8 ppm et de 14.4 ppm.

Mots-clés : *Tetraclinis articulata*, *Culex pipiens*, Huile essentielle, CPG/SM-CPG/FID. , test biologique, CL50, CL90

INTRODUCTION

1. Introduction Générale

Depuis longtemps l'homme s'est préoccupé de désinsectisation. Il a particulièrement voulu se protéger contre l'agression des insectes hématophages. Divers moyens de lutte ont été utilisés sur lesquels il serait trop long d'épiloguer. Ce n'est qu'au début de ce siècle qu'on a commencé à connaître le rôle vecteur des insectes dans la transmission de certaines maladies : le paludisme, la filariose de Bancroft, l'onchocercose, la fièvre jaune etc ... (**Boyer, 2006**).

La lutte contre les insectes ravageurs sont de plusieurs types mais la lutte biologique reste la plus utile parce qu'elle se repose sur l'utilisation des insecticides biologique ainsi qu'insecticide d'origine végétal (**Awad et al., 2011**).

Les bio-insecticides peuvent se définir au sens large comme des pesticides d'origine biologique, c'est-à-dire, organismes vivants ou substances d'origine naturelle synthétisée par ces derniers, et plus généralement tout produit de protection des plantes qui n'est pas issu de la chimie. Sous ce vocable, les biopesticides comprennent les agents de contrôle des insectes (auxiliaires) comme les arthropodes entomophages (ex. trichrogammes), les champignons hyphomycètes pathogènes pour les lépidoptères ou coléoptères (ex. Beauvaria), les baculovirus responsables des polyédroses nucléaires (NPV) ou des granuloses (GV) chez les lépidoptères, les bactéries (*Bacillus*), etc... , les insecticides d'origine végétale et les molécules de synthèse biologique (phéromones, molécules allélochimiques). Par contre la majorité des entomologistes exclut systématiquement ces derniers (**Karch, 1984**).

De nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des formes d'utilisation des plantes qui permettent de renforcer et de rentabiliser leur activité insecticide (**Isman, 1994**). Parmi les plantes qui peuvent être utilisé comme un bio-insecticide figure le thuya.

Le Thuya ou le *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters est un conifère endémique de l'Afrique du nord appartenant à la famille des Cupressacées (**Ziyyat et al., 1997 ; Farah et al., 2007**). Il est lié géographiquement aux trois pays du Maghreb : Tunisie, Maroc et Algérie. En dehors de ces pays, on n'en rencontre qu'une petite quantité dans la province de Carthagène (Espagne) et à Malte (**Ziyyat et al., 1997; Barerro et al., 2005; Bourkhiss et al., 2007**). Le thuya est un arbre monoïque, sa floraison a lieu au printemps, entre mars et mai. Le fruit est un cône liégeux de forme générale cubique constituée de quatre valves ornées d'un ombilic près du sommet (**Boudy, 1952**).

L'association du thuya est thermo xérophile, se développant dans les mêmes conditions de climats et de sol que celle du pin d'Alep ; mais beaucoup moins résistante au froid surtout humide. Elle lui faut des expositions chaudes et possède un fond d'espèces que l'on retrouve dans toutes les callitrais tel que la lavande, le ciste et la germandrée (**Vrdoljak, 1965**).

L'association pin d'Alep–thuya est caractérisée par un cortège comportant aussi les labiées et autres légumineuses. Toutefois, le thuya ne résiste pas à la concurrence d'une végétation trop dense. Les dangers qui pèsent sur cette association sont de plusieurs ordres : on cite l'action anthropozoogène, les incendies et les insectes ravageurs. Les méthodes de lutte utilisées par l'administration des forêts contre ces derniers sont diverses et utilise plusieurs techniques mécaniques, physiques ou bien biologiques (**Maatoug, 2003**).

Dans la région de Sidi Bel Abbès, on retrouve le thuya dans les zones du sud-ouest. Certaines stations sont bienvenante où on constate qu'après incendie, il rejette bien de souches et où il concurrence même le pin d'Alep.

Dans un travail antérieur (**Larabi, 2011**), et suite à une constatation sur terrain de la mortalité de la chenille processionnaire au contact du thuya, nous avons démontré l'efficacité de ses huiles essentielles sur la mortalité de ses insectes appartenant à la famille des lépidoptères.

La majorité des travaux sur la valorisation des menu-produits (normalement des sous-produits) du thuya traitent le côté antibactérien et antifongique des molécules bioactives ainsi la composition phytochimique (**Ziyyat et al., 1997; Barerro et al., 2005; Bourkhiss et al., 2007 ; Toumi et al., 2011**). Par contre, peu de travaux abordent l'aspect insecticide (**Aouinty et al., 2006**).

Il est à noter que mis à part les insectes utiles (abeilles ...) la majorité sont des insectes « nuisibles » parfois vecteur de maladies. Tel est le cas de la moustique *Culex pipiens* qui cause d'énormes dégâts en termes de santé publique et où la lutte est à base de produits chimiques. Ce qui nous ramène à repenser les méthodes de lutte alternatives respectueuses de l'environnement.

Dans ce cadre-là, le travail de recherche de la présente thèse s'articule sur les volets suivants :

- Un premier volet traitant de l'écologie de l'espèce et de sa répartition ;
- Un second volet concernera la caractérisation de la composition chimique de l'huile essentielle extraite à partir des feuilles jeunes du thuya ;
- Le dernier volet aborde l'effet de cette huile essentielle sur *Culex pipiens*.

PARTIE I

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I

Généralité sur le Thuya

1. Aperçu sur la famille des *Cupressaceae*

1.1 Caractéristiques générales

Les Cupressacées constituent une famille plus homogène que les Taxodiacées; on peut la définir par des caractères généraux concernant le cône femelle et les feuilles. Le cône femelle est petit et souvent globuleux (diamètre n'excédant pas 4 cm). Il est formé de 1 à 8 verticilles de pièces opposées ou alternes représentant la bractée et l'écaille soudées entre elles. Elles portent de 1 à 40 ovules suivant les genres. Les feuilles sont persistantes écailleuses souvent dimorphes, (caduque chez trois genres), simples, alternes et disposées tout autour du rameau, ou repliées à la base et apparaissant alors distiques, opposées ou verticillés, étroitement opprimées sur le rameau et ne dépassant pas 1mm, ou linéaires et atteignant alors 3cm de long. Les rameaux latéraux sont ornements par des canaux résinifères. Les feuilles latérales carénées enveloppent le rameau (**Judd et al., 2002**).

Pour les caractères morphologiques des cupressacées elles sont représentées dans le tableau **I.1** ci-dessous.

Tableau I.1: Caractéristique morphologiques de la famille des cupressacées (**Web Master 01**)

Ecorce	Peu épaisse, peu crevassée, se divisant en bandes longitudinales
Rameaux	Auxiblastes et mésoblastes de types non nettement distincts
Bourgeons	Bourgeons sans écailles, non visibles. Feuilles terminales protégeant l'axe végétatif
Feuilles	Petites feuilles squamifères opposées décussées ou aplaties, recouvrant entièrement l'axe végétatif (rameau) ou aciculaires et verticillées par 3
Fleurs	Famille à espèces monoïques et dioïques Fleurs mâles en petits strobiles terminaux ou axillaires, constitués d'étamines en forme d'écailles comprenant de nombreux sacs polliniques Fleurs femelles constituées d'écailles en disposition opposée ou pseudo-verticillée devenant ligneuses à maturité ou parfois charnues. Ecailles soudées à la bractée, portant chacune de 2 à 20 ovules
Fruits	Cônes à bractée et écailles concrescentes formant une pièce unique Maturité du cône en 1 ou 2 ans Forme cylindrique (tribu des cupressées) ou allongée (tribu des thujopsidées) Cônes pouvant devenir charnus (tribu des junipérées)

1.2 Distribution dans le monde

Cette famille à une vaste répartition, on la retrouve dans le sud des états unies d'Amérique, sud Européen, Asie (Iran et Japon) et l'Afrique du nord (**Figure I.1**)

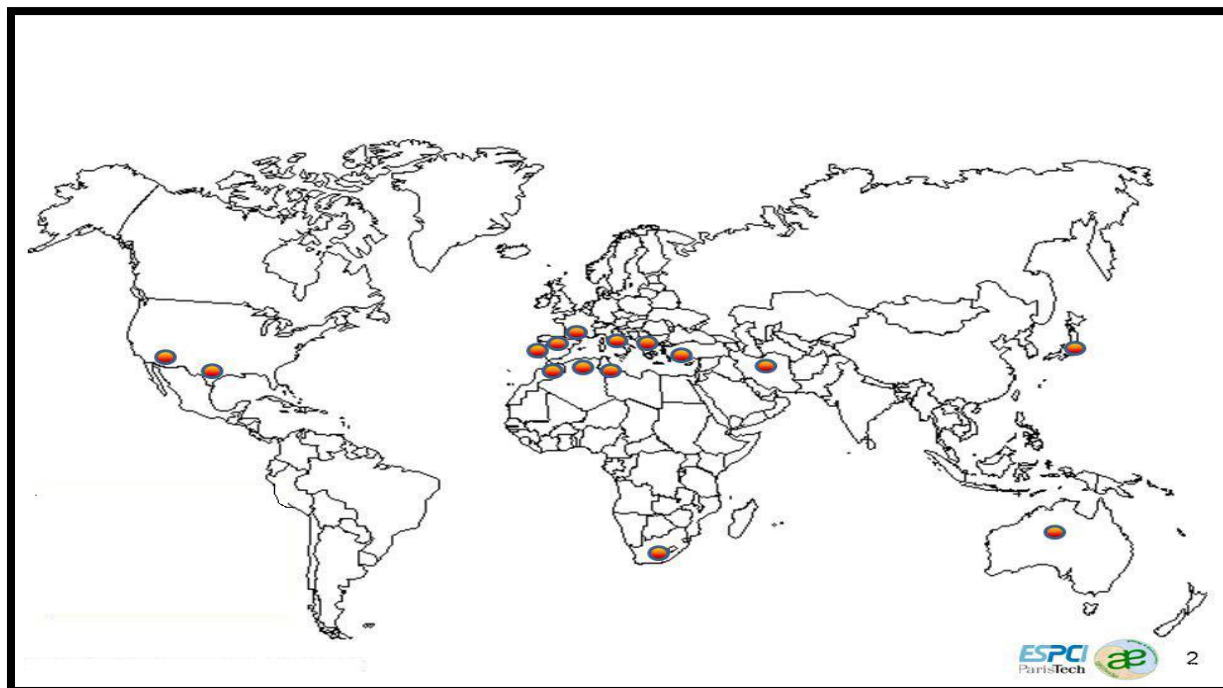


Figure I.1 : Répartition de la famille des cupressacées dans le monde (**Benjelloun, 1997**).

1.3 Utilisation des cupressacées

La plupart des espèces végétales appartenant à la famille des cupressacées sont très utilisées en médecine traditionnelle: Les feuilles sont utilisées sous forme de décoction pour soigner le diabète, diarrhée et rhumatisme (**Benjelloun, 1997**).

1.4 Position des *Cupressaceae* dans les différents systèmes de classifications

La famille des *Cupressaceae* (Cupressacées, aussi nommées Cupressinées), regroupe des plantes gymnospermes. Le contenu de cette famille a beaucoup changé entre classification classique et classification phylogénétique (**Tableau I.2**).

Tableau I.2 : Position des cupressacées dans les différents systèmes de classification (Gaussen, 1946)

Classification classique
Règne : végétal
Embranchement : Spermaphytes
S/Embranchement : Gymnospermes
Classe : Conifère
Ordre : Pinales.
Famille : Cupressacées.

2. Aperçu sur le genre *Tetraclinis*

2.1 Caractéristiques générales

Ce genre se caractérise par des Cônes constitués d'écailles disposées par paire ou par verticille de trois, non imbriquées, s'ouvrant comme des valves (**Figure I.2**).

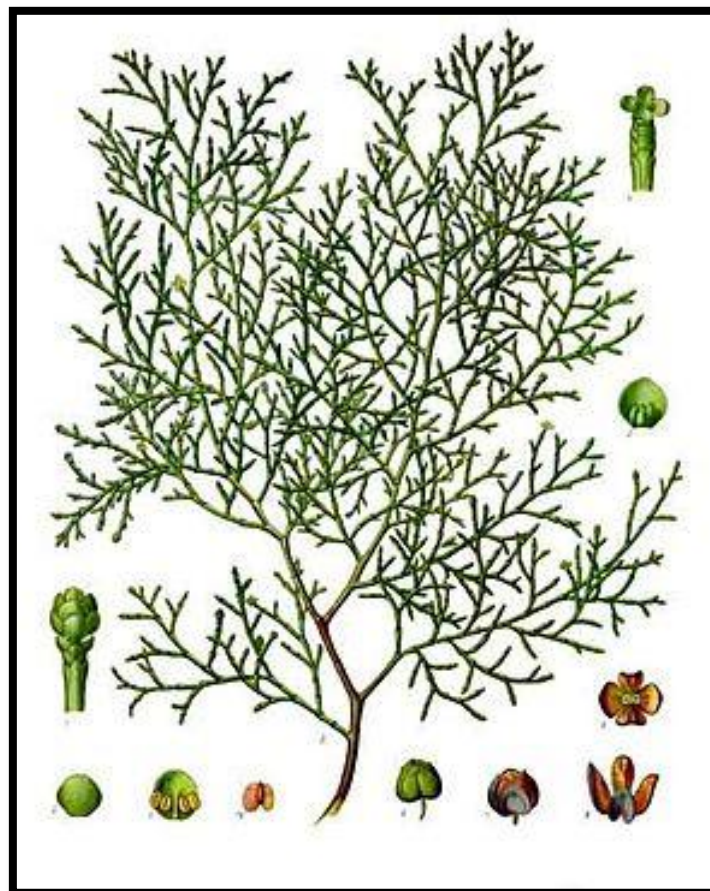


Figure I.2 : Différents caractères morphologiques du genre *Tetraclinis* (Farah, 2007).

2.2 Distribution

Le genre de *Tetraclinis* à une vaste répartition dans l'hémisphère Nord, l'Afrique du Nord et en Europe (Maatoug, 2003).

2.3 Utilisation

La majorité des espèces appartenant au genre *Tetraclinis* sont utilisés pour leurs bois et leur résine (Farah, 2007).

3. *Tetraclinis articulata*

3.1 Description morphologique

Le thuya est un arbre de troisième grandeur; dont la taille dépasse rarement 10 à 12 mètres (en moyenne 6 à 7) avec 0,40m à 0,50m de diamètre dans des circonstances exceptionnellement favorables. Il peut atteindre 20 mètres et 1 mètre de diamètre (arbre marabout) (Figure I.3). Le fût, généralement rectiligne, ne dépasse pas 5 à 7 mètres et la partie utilisable 3 mètres, du fait des mutilations dans sa jeunesse. Le port est svelte et pyramidale; à un âge plus avancé, ramure est légère, trouée et s'étale en parasol chez les sujets âgés (Boudy, 1952).



Figure I.3 : Habitus de *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters.

Les feuilles sont réduites à des écailles opposées et imbriquées par deux, donnant des rameaux articulés. Les jeunes plants ont au contraire des feuilles en aiguilles de 1 cm faisant ensuite place au type de rameaux articulés. L'écorce, très crevassée, forme un quadrillage serré; elle est moins épaisse que celle des pins (**Boudy, 1952**).

D'après **Greco (1966)**, Il fleurit en automne, ses cônes mûrissent en un an. Chaque cône se compose de 4 écailles abritant 6 graines. L'enracinement traçant donne un réseau de racines assez serrées pour fixer solidement l'arbre dans les sols rocheux et déclives. Il fructifie assez abondamment à partir de 15 ans ; toutefois, la dissémination de ses graines est bien plus limitée que pour le pin d'Alep, par exemple. Le fruit est un petit cône d'aspect cubique, s'ouvrant par 4 valves et contenant 6 graines ailées qui ne se conservent pas plus de 6 à 8 mois (**Boudy, 1952**).

Le bois, à aubier mince et blanc, est de coloration rouge brun. Il se dessèche facilement sans se fendre, à un grain fin et homogène, se travaille et se polit très bien. Il est lourd, de densité 0,70 à 0,95. Son bois est caractérisé par sa résistance à la pourriture (**Bellakhadar, 1997 ; Maatoug, 2003**).

Quasi imputrescible; on en tire des madriers d'arbre morts sur pied depuis longtemps. Son odeur est vive et caractéristique .il n'y a pas de canaux résinifères dans le bois, mais il en existe dans l'écorce exsudant une résine corticale peu abondante, ce qui avait amené les indigènes à pratiquer, pour obtenir de la gomme sandaraque, un gemmage grossier très funeste aux jeunes sujets (**Boudy, 1952**).

La vitalité physiologique du thuya est peu commune et sa longévité très grande; les vieux thuyas de 400 ans ne sont pas rares; il a également une facilité remarquable d'émission de rejets de souche jusqu'à un âge avancé (ce qui est extrêmement rare chez les résineux) (**Greco, 1966**). La conséquence de sa vigueur physiologique est qu'il peut cicatriser rapidement la multiple blessure qui lui est infligées et qui feraient périr les autres essences ; cette résistance permet à des tiges de 5 à 10 cm de diamètre de résister au gemmage barbare dont il vient d'être question. Il réagit très énergiquement contre le feu en produisant de nombreux rejets. C'est à toutes ses blessures répétées et à l'action du feu que l'on attribue la formation des loupes de thuya, énormes verrues se formant au collet de la racine, à bois très dense, moucheté, si prisées en ébénisterie et pouvant atteindre 1 mètre de diamètre. Les loupes mettant des siècles à se former. Elles ont été exploitées intensivement entre les deux guerres et ont à peu près disparu (**Boudy, 1952**).

3.2 Synonymes taxonomiques

Le thuya du Maghreb *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters a été décrit par Vahl (1791) sous le nom de *Thuya articulata* ; par la suite il a été reporté au genre *Tetraclinis* par Bentham (1883) et Maire (1926). Elle a aussi comme synonyme : *Callitris vulgaris* Schrader, *Callitris articulata* (Vahl.) Link., *C. quadrivalvus* Vent.

3.3 Synonymes nomenclaturaux

Thuya de Berbérie, thuya à sandaraque

3.4 Noms vernaculaires

Aaraar, Sandarus, Ar'ar berboush, Shajrat el-hayat.

3.5 Exigence écologique et répartition géographique

Le thuya est une essence méditerranéenne occidentale par excellence, il occupe la seconde place après le pin d'Alep et le chêne vert (**Maatoug, 2003**).

3.5.1. Altitude

Le thuya du Maghreb ne se trouve jamais aux hautes altitudes, car en Algérie, en montagne très sèches ; son altitude est de 1400 m, il y souffre d'ailleurs du froid est fructifie rarement par contre au Maroc, la limite la plus élevée est de 1800 m (**Fenane, 1988**). En effet le thuya peut descendre jusqu'au niveau de la mer (dune de la Stidia et d'Oureah à Mostaganem) mais ce n'est pas une station écologique ou il prospère dans les conditions optimales (**Maatoug, 2003**).

3.5.2. Conditions climatiques

Le thuya du Maghreb est une essence thermo xérophile par excellence. Elle est liée aux bioclimats de type semi-aride chaud, tempéré ou frais (**Benabid, 1976**). Le thuya craint surtout le froid humide. Dans bien des vallées, il préfère les expositions nord-sud, cependant il peut croître dans des stations froides allant jusqu'à la limite inférieure du cèdre dans l'Ouarsenis (**Maatoug, 2003**). Comme pour le pin d'Alep, le facteur climatique joue un rôle prépondérant dans l'écologie du thuya. Sa distribution est liée au climat méditerranéen semi-aride doux (**Boudy, 1952**).

3.5.3. Conditions édaphiques

Le thuya du Maghreb est indifférent à la nature chimique du substratum (**Boudy, 1952**). Il se localise sur les sols les plus secs et les plus pauvres, il semble cependant manifester une préférence pour les sols calcaires et les sols fertialitiques meubles plus au moins profonds. Il redoute les sables mais pousse bien sur les dunes fixes. Dans le milieu qu'il lui est favorable, il arrive à concurrencer toutes les autres espèces arborescentes et arbustives et ceci grâce à son extrême rigueur. En Algérie, la répartition du thuya a été décrite sur les formations géologique du crétacé (région de l'Ouarsenis et Ténès), du jurassique (région de Frenda, Saida et Tlemcen) et du quarantenaire puis le pliocène (région de Mostaganem) (**Maatoug, 2003**).

3.5.4. Aire de répartition

Le thuya du Maghreb est une essence endémique de la méditerranée sud occidentale (**Figure I.4**) (**Benabid, 1976 ; Quézel, 1981**). Le thuya de Berbérie est une endémique d'Afrique du nord occidentale (**Achhal, 1986**). Ou sa densité décroît d'Ouest en Est et couvre environ 916.000 hectares; cependant (**Haddad et al., 2006**) estiment la superficie de thuya en Afrique du nord à environ un million d'hectares. Les peuplements de thuya sont dénommés callitrais du nom latin du thuya (*Callitris quadrivalvus*) (**Boudy, 1952**).

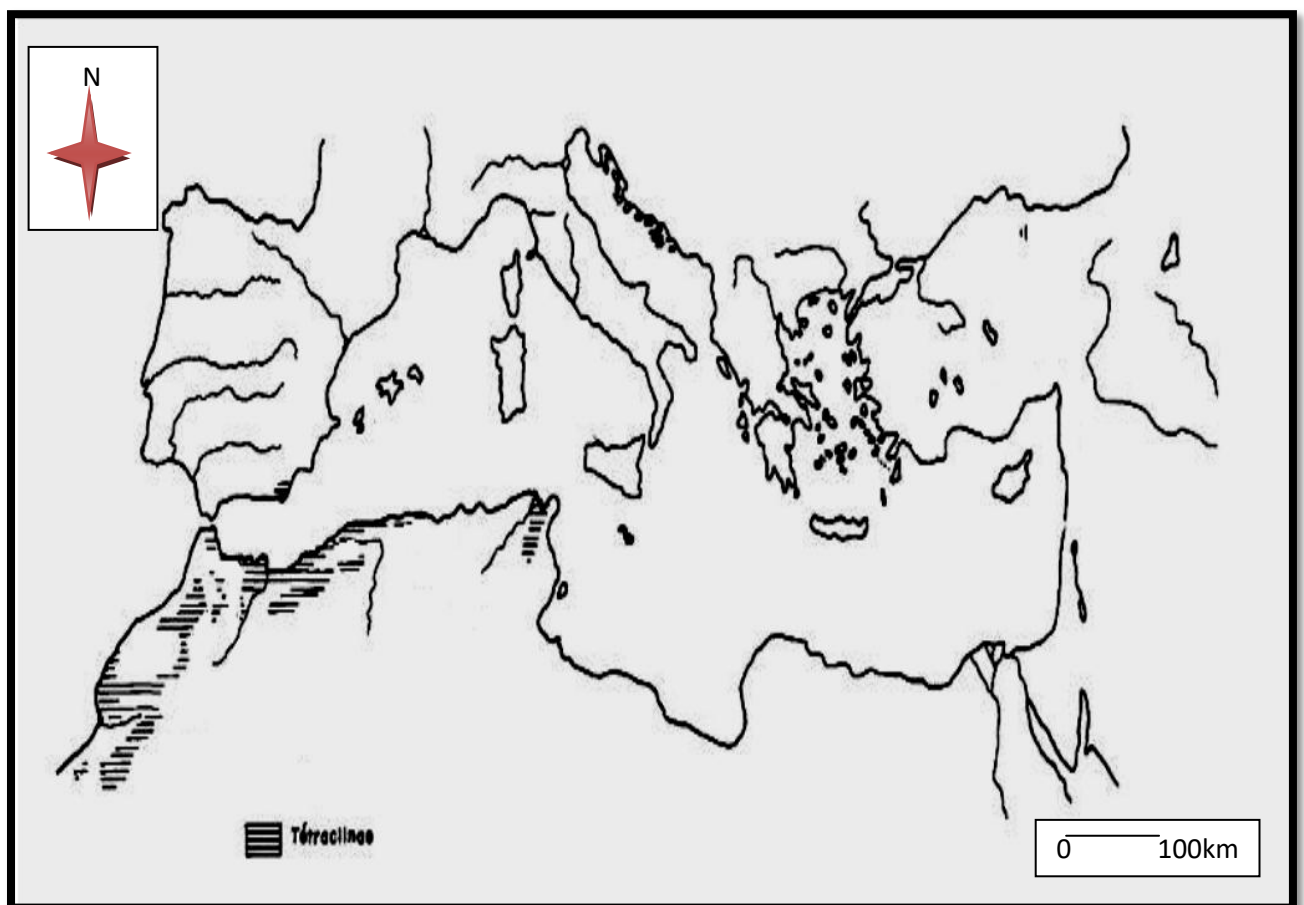


Figure I.4 : Répartition du thuya dans le bassin méditerranéen (**Quézel, 1980**)

En Tunisie, le thuya de Maghreb ne couvre que 30000 ha (**Boudy, 1952**). On la retrouve selon un transect Nord - Est allant de Bizerte aux monts de Zaghoune et à Hammamet (**Maire, 1952**); on la rencontre aussi dans la péninsule du Cap Bon (**Figure I.5**) (**Boudy, 1952**).



Figure I.5 : Répartition de thuya en Tunisie (Boudy, 1952).

C'est au Maroc que le thuya a pris tout son développement ou elle couvre 725000 ha (Boudy, 1952), par contre Bourkhiss et al., (2007) ont estimées la superficie actuelle de thuya à 560670 ha, soit plus de la moitié de la réserve forestière mondiale. D'après Benabid (1976) elle forme trois blocs; le premier au Maroc oriental et dans le moyen atlas, le second bloc dans la région atlantique notamment dans la vallée de l'Oued Grou, de l'Oued Mellah et enfin un troisième bloc, au sud dans les régions du grand Atlas et de l'Arganier (Bachoua et Voreux, 1986). C'est le plus important, avec 250000 hectares dans la région de Mogador, Tamarar, Ida ou Tanant (Figure I.6).

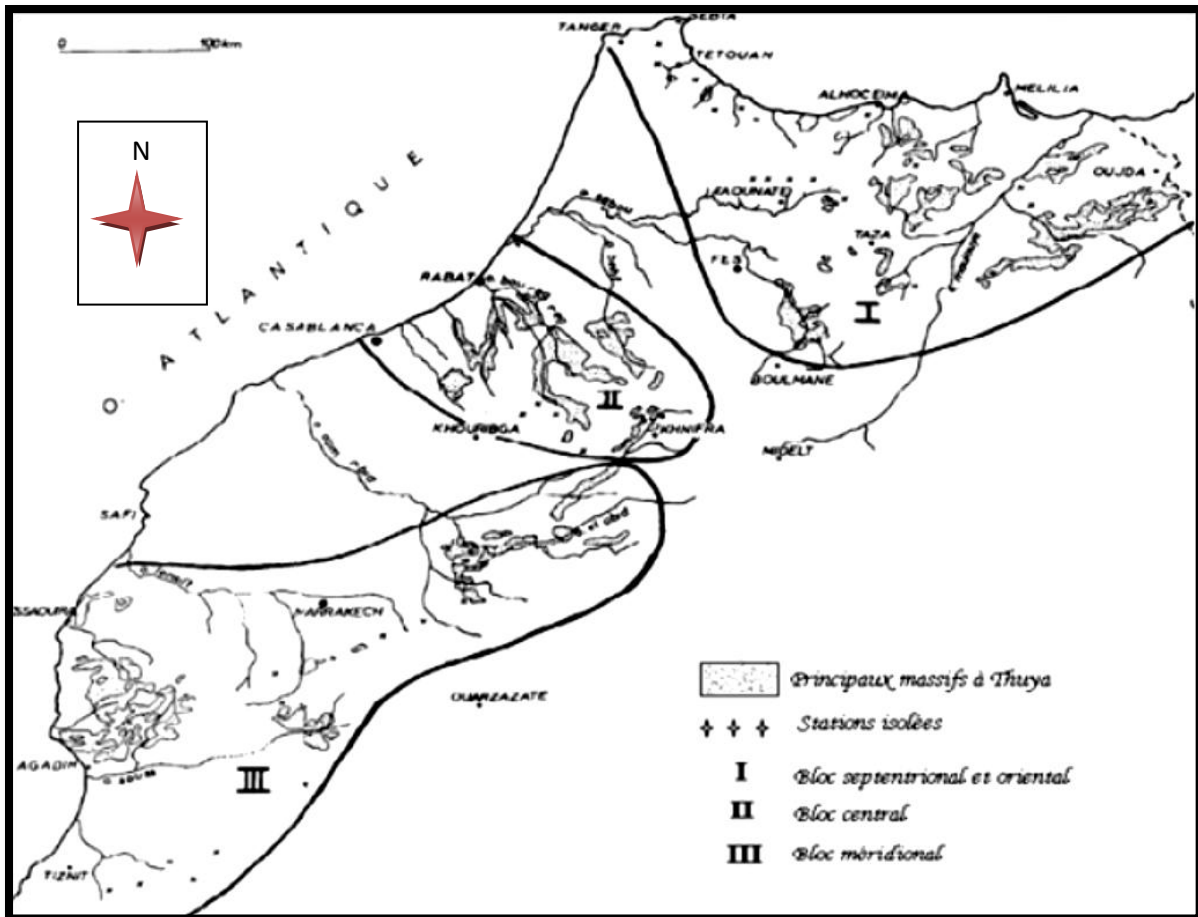


Figure I.6 : Répartition de thuya au Maroc (Metro et al., 1958).

D'après Boudy (1950), le thuya du Maghreb aurait occupé 161.000 ha. L'aire algérienne du thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata*) a beaucoup reculé sans que ce recule ne soit clairement expliqué (Hadjaj, 1995). Plus récemment le ministère de l'agriculture donnait le chiffre de 143.000 ha. Il occupait ainsi la 4^{ème} position après le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (Maatoug, 2003).

Dans la région *Algéro-Ouarsenienne*, les peuplements de thuya sont souvent en mélange avec le pin d'Alep. On le trouve dans les circonscriptions de Cherchell, Miliana, Médéa, Ténès, Théniet El - Had. En Oranie, dans le tell occidental, il se substitue nettement au pin d'Alep et forme des peuplements homogènes dans le secteur littoral (Figure I.7). On le rencontre dans la forêt de Ténès, El-Guelta, Oued Rass, puis dans toutes les forêts de Mostaganem. Dans le secteur de la Mehta Oranaise, il constitue l'élément principal des massifs sous forme de taillis bien venants et denses (Maatoug, 2003); ainsi on la retrouve dans quelque forêt de Sidi-Bel-Abbès (massif nord de Telagh) (Hadjaj et al., 2009).

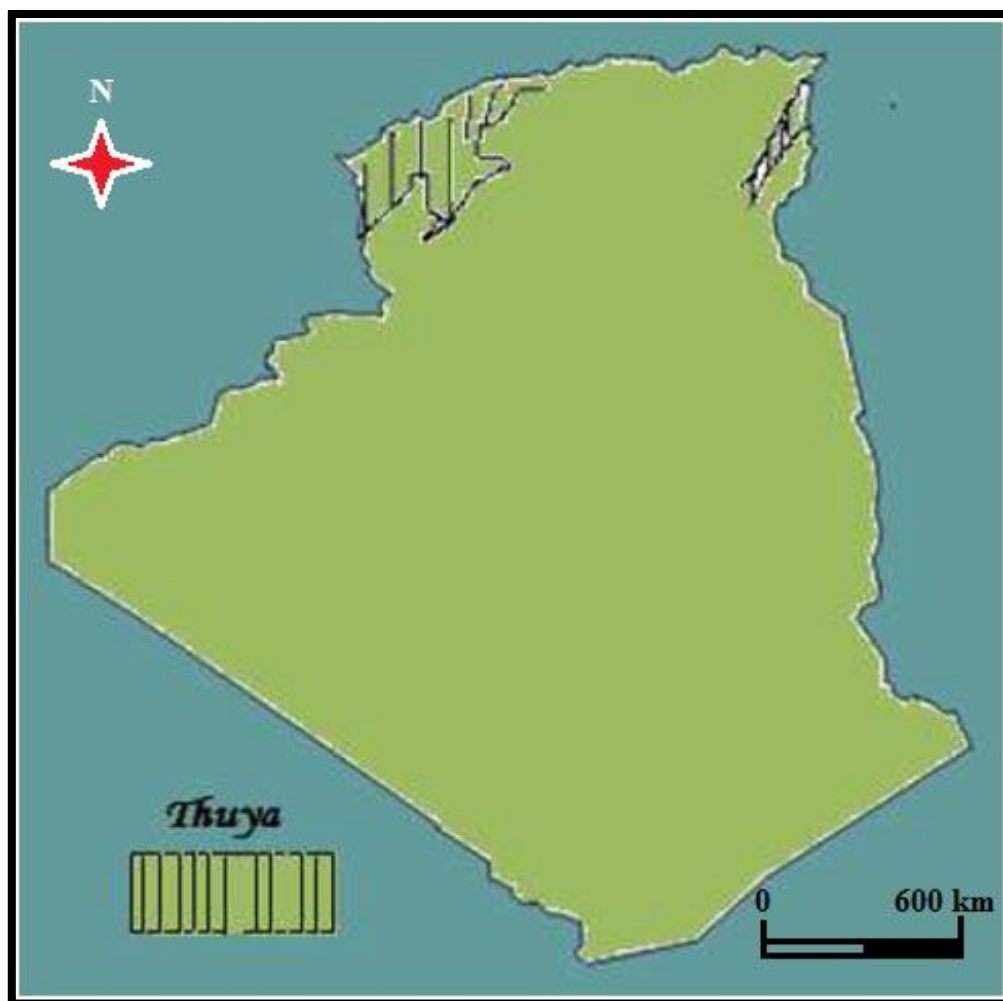


Figure I.7: Répartition de thuya en Algérie (Boudy, 1952).

Hadjadj (1988), note également que *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters est typique des pays maghrébins. On ne rencontre qu'une petite station dans la province de Carthagène en Espagne et une autre à Malte.

3.5.5. Association de thuya

C'est une association thermo-xérophile, se développant dans les mêmes conditions de climat et de sol que celle du pin d'Alep, mais beaucoup moins résistante au froid surtout humide. Il lui faut des expositions chaudes. Il possède un fond d'espèce que l'on trouve dans toutes les callitrais, telles que la lavande, le ciste velu et la germandrée (**Boudy, 1952**). En dehors de ces plantes, nous citons parmi les taxons les plus communs dans le nord: le pin d'Alep, l'Olivier, le Caroubier, le lentisque, le nerprun alaterne, la withanie frustecente, la

philaire, le romarin, le calycotome, le ciste ladanifère, alfa, la bruyère multiflore, et dans les régions sud, le frêne dimorphe, l'euphorbe résinifère, le tizra, le betoum et le periploca (Boudy, 1952).

D'après Maatoug (2003), les espèces caractéristiques de la tétraclinaie sont essentiellement : *Lavandula multifida*, *Cistus vilossus*, *Teucrium polium*, *Ebenus pinnata*, *Osyris lanceolata*

L'association se rapproche beaucoup de celle du pin d'Alep, mais ne présente pas des plantes indicatrices aussi caractéristique que le romarin et la globulaire (Boudy, 1952).

3.6 Classification botanique

Selon la classification de Gaussen 1946 ; le Thuya de Beberie appartient au :

Royaume : Plantae



Division : Pinophyta



Classe : Vectrices



Ordre : Coniferales



Famille : Cupressaceae



Genre : *Tetraclinis*



Espèce : *Tetraclinis articulata* (Vahl.)

Masters (= *Callitris quadrivalvus*
Vent.).

7. Utilisation de l'espèce

Le thuya surnommé au XVII^{ème} siècle « arbre de vie » en raison de la valeur médicinale attribuée à sa résine balsamique. L'extrait de cette résine augmente la tension artérielle et baisse la fièvre. Le feuillage a un parfum balsamique Ayache (2007). Boudy (1950) indique qu'au Maroc, les indigènes de la région de Hada (Sud- Ouest du Maroc) ont pratiqué le gemmage de thuya, pour en tirer la sandaraque, employée en pharmacie et dans les vernis de luxe. En effet, la sandaraque est un produit physiologique de thuya de Maghreb, il est obtenu par incision dans le tronc et les branches, il se solidifie rapidement en contact de l'air, ce produit est utilisé dans la laque, vernis, tandis que de petites quantités sont utilisées dans la parfumerie.

Le taux de résine dépend des conditions édapho-climatique de son développement (**Maatoug, 2003**). Le goudron végétal de thuya, préparé par distillation des racines, et du collet, utilisé en pharmacie vétérinaire (**Benabid, 1976**). Le thuya est un bois résineux parfait, rouge, très lourd, dégageant une odeur vive. D'après Boudy (1950), le thuya par ses qualités exceptionnelles, fournit un excellent bois d'ébénisterie, il se travaille et se polit très bien.

Son utilisation dans les reboisements n'est pas très importante du fait de sa faible vitesse de croissance au cours des premières années. Il pourrait cependant convenir dans les travaux de D.R.S, car il peut s'accrocher à même la roche sur les pentes les plus fortes, grâce à son système racinaire sére et pivotant. Selon Ayache (2007), au Maroc, le thuya joue un rôle considérable dans la protection des sols. En effet, cette espèce constitue des peuplements dans les conditions très difficiles comme les dunes d'Essaouira d'autres régions montagneuses où les peuplements du thuya assurent la protection contre l'érosion éolienne et pluviale.

CHAPITRE II

Les huiles essentielles

1. Approche

Les plantes aromatiques et médicinales contiennent des molécules à haute valeur ajoutée, parmi lesquelles on trouve des composés ayant une activité olfactive. Ils représentent ce que l'on appelle huile essentielle et sont très convoités par les industries pharmaceutiques et cosmétiques (Mbolo *et al.*, 2006 ; Boukhatem *et al.*, 2010). Selon la norme française NF T 75-006 (AFNOR, 1980) : «Une huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe des Citrus, soit par distillation «sèche». Elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques» (AFNOR, 1980).

Connue aussi sous le nom d'essence, une huile essentielle est un ensemble de molécules volatiles extraites de PAM par distillation sèche, par expression, par incision de la plante. Il s'agit d'un ensemble de molécules aromatiques d'origine naturelles qui sont utilisées par l'aromathérapie pour leurs effets bénéfiques sur la santé (Knore, 1999; Labore, 2000; Maarouf et Tremblin, 2009).

En effet, l'aromathérapie est l'art de préserver la santé avec les huiles essentielles. Elle fait recourt à une méthodologie rigoureuse qui s'inspire de données scientifiques solides confirmées tant par l'expérimentation clinique que par les recherches en laboratoire (Rémondet, 2004). En Europe, l'utilisation des huiles essentielles en massage a été mise en place par la biochimiste française Marguerite Maury dans les années 50. Ceci fera apparaître de nouvelles exigences relatives aux choix des végétaux, aux modalités de cueillette et aux techniques d'extraction et de conservation (Zermane, 2010). Ainsi, l'aromathérapie de nos jours est devenue l'une des thérapies complémentaires la plus puissante. Ainsi, en plus de sa forte valeur ajoutée en matière de santé, elle a pu apporter une action bénéfique des soins naturels pour la beauté et l'esthétique.

2. Structure des plantes et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont présentes en quantité appréciable chez environ 2000 espèces de PAM, réparties en 60 familles. Elles se localisent dans toutes les parties vivantes (fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits ou graines) de la plante et avec une quantité plus importante au niveau des parties supérieures (fleurs et feuilles).

Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule (Maarouf et Tremblin, 2009). L'accumulation des huiles

essentielles, partie des métabolites secondaires, se fait généralement au niveau des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur la surface de la plante telle que les poils sécréteurs pour la famille des *Lamiacées*, les poches sécrétrices pour les *Myrtacées* et *Rutacées* (**Figure II.1**), canaux sécréteurs des *Apiacées* ou des *Astéracées*, les cellules à huiles essentielles des *Lauracées* ou des *Zingibéracées*, poils sécréteurs des *Lamiacées* ou des *Verbénacées* (**Figure II.2**) (**Hernandez, 2005**).

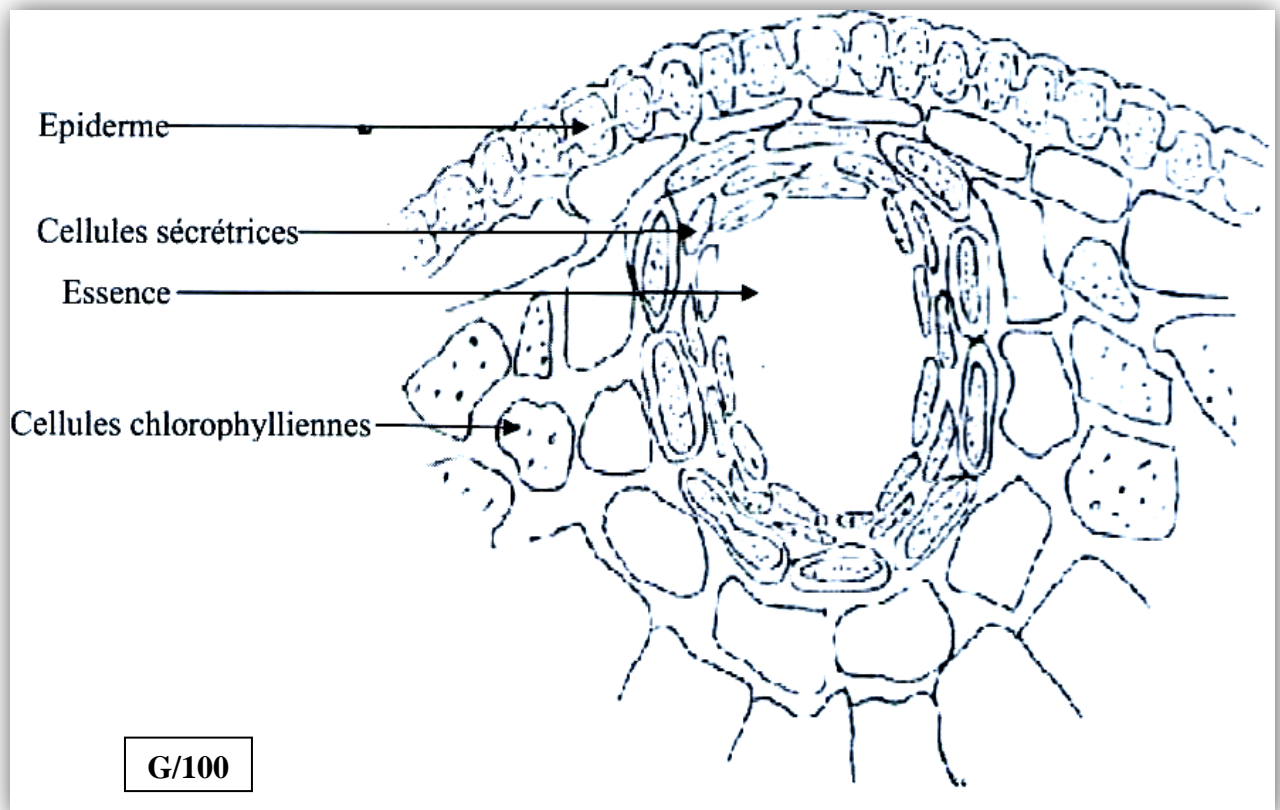


Figure II.1: Poche glandulaire endogène vue en coupe d'une feuille de rue fétide (*Rutacée*)
(**Bruneton, 1993 ; In Bouzidi, 2013**).

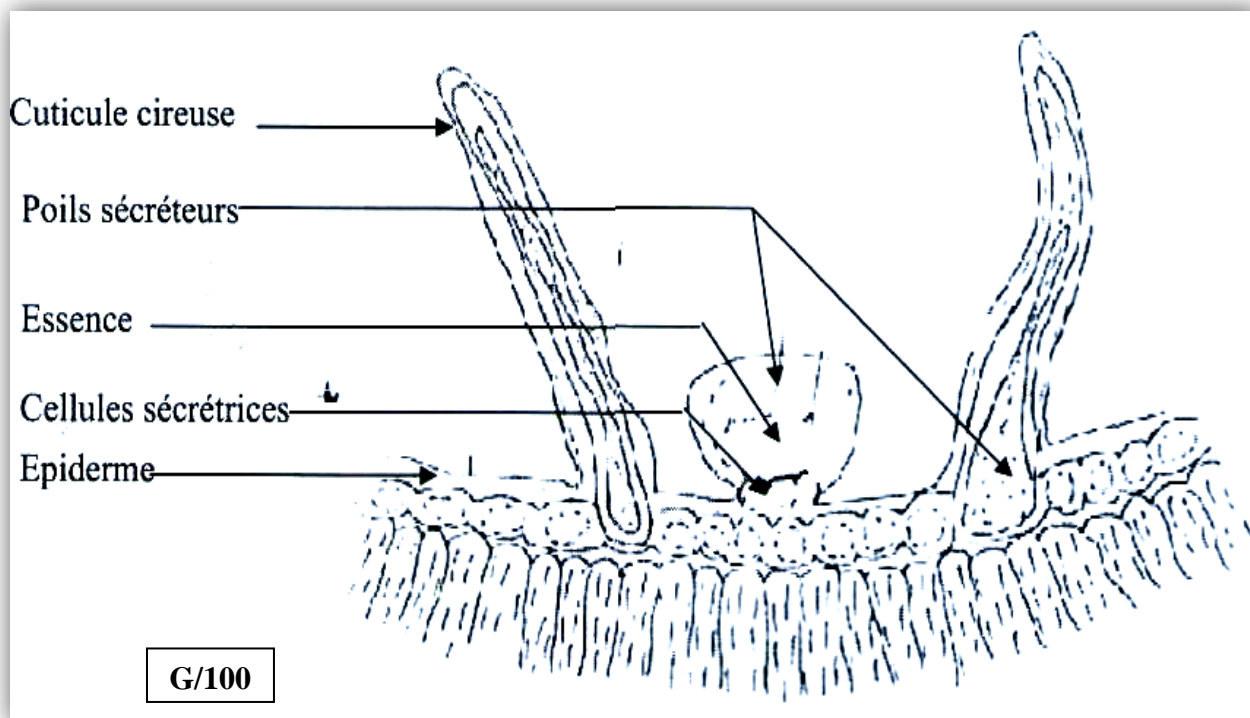


Figure II.2: Poil sécrétoire externe vue en coupe d'une feuille de verveine (*Verbenacée*)
(Bruneton, 1993 ; In Bouzidi, 2013).

3. Composition chimique et propriétés physico-chimiques

Après l'extraction on obtient des substances à forte odeur aromatique, de densité inférieure à celle de l'eau (à l'exception des huiles de cannelle, de girofle et de saffras) (Maarouf et Tremblin, 2009).

En effet, elles sont généralement sous forme liquide à température ambiante, très volatile, insoluble dans l'eau mais soluble dans les alcools et la plupart des solvants organiques jusqu'à un certain pourcentage bien défini. L'huile essentielle contient un nombre de molécules différentes dont la plupart sont poly-moléculaires, composées d'un grand nombre de composants (jusqu'à 500 molécules différentes dans la rose) (Andre, 1998 ; Berigaud, 2002).

À côté des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), il existe des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces. Généralement, on classe ces composés en deux groupes : les hydrocarbures terpéniques et les composés oxygénés (Maarouf et Tremblin, 2009)

3.1. Les composés terpéniques

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par l'agglomération de plusieurs isoprènes (dont l'unité isoprène est de formule C_5H_8). Dans les PAM on trouve souvent une famille d'arôme constituée d'une grande partie de ces terpènes. Ces terpènes possèdent généralement des propriétés biologiques importantes telles que des propriétés fongicides ou insecticides.

Les terpènes peuvent être classés selon leur nombre de motifs isoprènes ainsi que leurs arrangements. Les constituants les plus simples de la série des terpènes sont les monoterpènes, comportent deux unités isoprène en C_5H_8 , dont les principaux se trouvent dans les huiles essentielles (90%) (Bruneton, 1999). La nomenclature utilisée a pour base une unité terpénique en C_{10i} . Les différents terpénoïdes sont obtenus par l'addition de nouvelles molécules C_5 (Tableau II.2) (Bruneton, 1999).

Ils se trouvent sous deux formes, hydrocarbures et oxygénés tels que les aldéhydes et les acides, présents dans la nature. Ainsi, ces composés constituent la classe la plus diversifiée des terpènes et ils se trouvent dans de nombreuses catégories structurales, polycycliques, tricycliques, bi-cycliques, monocycliques, acycliques (Tableau II.2) (Bruneton, 1999).

Tableau II.1 : Nomenclature adoptée pour les différentes classes des terpénoïdes
(Bruneton, 1999 ; In Bouzidi, 2013)

Nom	Précurseur	Localisation
C₁₀ : Monoterpénoïdes	Pyrophosphate de géranyle	H.E, Pétales
C₁₅ : Sesquiterpénoïdes	Pyrophosphate de farnésyle	H.E, résines, Pétales
C₂₀ : Diterpénoïdes	Pyrophosphate de géranyle géranyle	H.E, Résines
C₂₅ : Sesterterpénoïdes	Pyrophosphate de géranyle farnésyle	H.E, Résines
C₃₀ : Triterpénoïdes	Squalène	Résine, Cires de feuilles
C₄₀ : Tetraterpénoïdes	Phytoène	Tissus verts, Racines, Pétales
C_n : 9 à 10⁵ Polyterpénoïdes	Pyrophosphate de géranyle géranyle	Latex Cires des feuilles

H.E : huiles essentielles

Tableau II.2 : Structures chimiques des différentes classes des terpènes
(Berigaud, 2002 ; In Bouzidi, 2013)

Alcool	Aldéhyde	Cétone	Carbure	Classe	
Nerol (Citron)	Citral (Citron)	Tagetone	Myrcènes (Laurier)	Acyclique	MONOTERPÈNES
Menthol (Menthe)	Safranal (Safran)	Menthone (Menthe poivrée)	Limonène (Orange)	Mono cyclique	
Borneol (Sauge)	Myrtenal (Camphre)	Camphre (Camphrier)	Pinène (Terebenthine)	bi cyclique	
Farnesol (Tilleul)	α-Sinrensal (Orange)	/	Sesquicitronellene (Citron)	Acyclique	SESQUITERPÈNES
α-Bisabotol (Camomille Allemande)	/	Atlantone (Cèdre)	Curcumène (Curcuma aromatique)	Mono cyclique	
Carotol (Carotte)	/	Vetivone (Vetivrier)	Cadinène (Goudron de cade)	bi cyclique	

3.2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont classés parmi les produits du métabolisme secondaire des PAM. Ils correspondent à un vaste ensemble de molécules caractérisées par la présence d'au moins un noyau benzénique qui est le phénol (Figure II-3) (Riberneau et Gayon, 1981; Bruneton, 1999). portant un ou plusieurs hydroxyles libres ou engagés dans une autre

fonction. Ces composés, d'intérêt biologique, sont principalement présents dans les végétaux (fruits, légumes, céréales...) et dans les produits qui en dérivent (thé, jus de fruits, vin, bière, ...) (**Boukhatem, 2010**).

Une des particularités des composés phénoliques réside dans leur importante diversité, on trouve aujourd'hui plus de 8000 composés phénoliques, dont 5000 sont des flavonoïdes (**Bravo, 1998**). En effet, leurs propriétés bénéfiques pour la santé humaine seraient nombreuses : effets protecteurs contre les maladies cardio-vasculaires, effets anti-inflammatoires, ou encore antiviraux pour n'en citer que quelques-uns (**Yang et al., 2000; Chang et al., 1998**). Par ailleurs ils sont bénéfiques pour l'homme vis-à-vis de certaines maladies de par leur action sur le métabolisme humain et leurs propriétés anti-oxydantes (**Huard et Huard, 1981; Tapiero et al., 2002**).

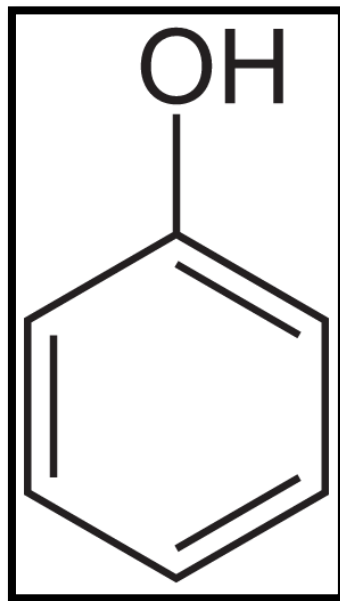


Figure II.3 : Structure chimique du phénol (**Web Master 02**).

4. Propriétés biologiques et utilisations

Les huiles essentielles sont reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques, elles agissent de manière remarquable dans la plupart des domaines de la santé et de la maladie (**Chemat, 2011**). Ce sont des substances douées d'activités pharmacologiques beaucoup plus importantes que les plantes fraîches (**Maarouf et Tremblin, 2009**). Elles possèdent de nombreuses activités biologiques (**Bruneton, 1999; Maarouf et Tremblin, 2009**). En effet, elles sont réputées efficaces en phytothérapie contre les maladies infectieuses d'origine

bactérienne tel que les bactéries endocanaliaires (**Benjlali et al., 1984**) et contre les dermatophytes au niveau de la microflore vaginale (**Viollon et Chaumont, 1994**). De plus, elles sont connues par leurs propriétés cytotoxiques [**Sivropoulou et al., 1996 ; Teimouri, 2012**]. Par ailleurs, les huiles essentielles pourraient également être efficaces en tant qu'un additif alimentaire pour la protection contre les champignons phytopathogènes (**Teimouri, 2012**) et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (**Mangena et Muyima, 1999**). Les travaux de **Zakarya et al., 1993**, en étudiant les variations qualitatives et quantitatives de 21 espèces végétales, ont montrés l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait (**Naves, 1974; Zakarya et al., 1993**).

L'utilisation des huiles et leurs composants dans l'industrie alimentaire a été l'un des principaux défis pour satisfaire aux exigences des consommateurs qui réclament plus de naturel et des produits peu transformés (**Collins, 2005; Ganzalez et al., 2011**).

En effet, selon ces propriétés, l'huile essentielle a été utilisée comme agents antimicrobiens naturels et antioxydants rapporté dans la viande, le poisson, les fruits, les légumes et les produits laitiers (**Ganzalez et al., 2011**). De nombreuses autres applications dans l'alimentation ont été rapportées, comme l'utilisation de l'origan et de la sauge dans la viande bovine et porcine (**Fasseas et al., 2007**), le thym et le romarin dans la mortadelle (**Viuda et al., 2010**) et l'eucalyptus dans les légumes-feuilles (**Ponce et al., 2004**).

5. Techniques d'extraction

Les huiles essentielles sont obtenues de diverses manières. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'huile dans le végétal et de son utilisation (**Maarouf et Tremblin, 2004**).

5.1. Méthodes traditionnelles d'extraction

Ces techniques d'extraction reposent toutes sur le même principe, basé sur l'entraînement des molécules volatiles de la plante par la vapeur d'eau. Le degré de contact entre la plante et l'eau est le seul paramètre qui diffère (**Chemat et al., 2012**).

5.1.1. Hydrodistillation

Dans ce cas, la plante se trouve dans un réacteur où elle est en contact direct avec l'eau bouillante (**Figure II.4**). Selon la densité ou la quantité de la plante utilisée, elle peut flotter ou être complètement immergée dans l'eau. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique (**Guenther, 1972; Gueorguiv, 1980**).

Le chauffage permet l'éclatement et la libération des molécules volatiles contenues dans la matière végétale. La vitesse de vaporisation des composés volatiles des PAM par l'hydrodistillation est connue par la variation de leur concentration en fonction de la résistance à la diffusion de l'huile essentielle dans les tissus cellulaires et également selon la solubilité des molécules volatiles dans l'eau (**AFNOR, 1980 ; Hernandez, 2005 ; Ganou, 1993**).

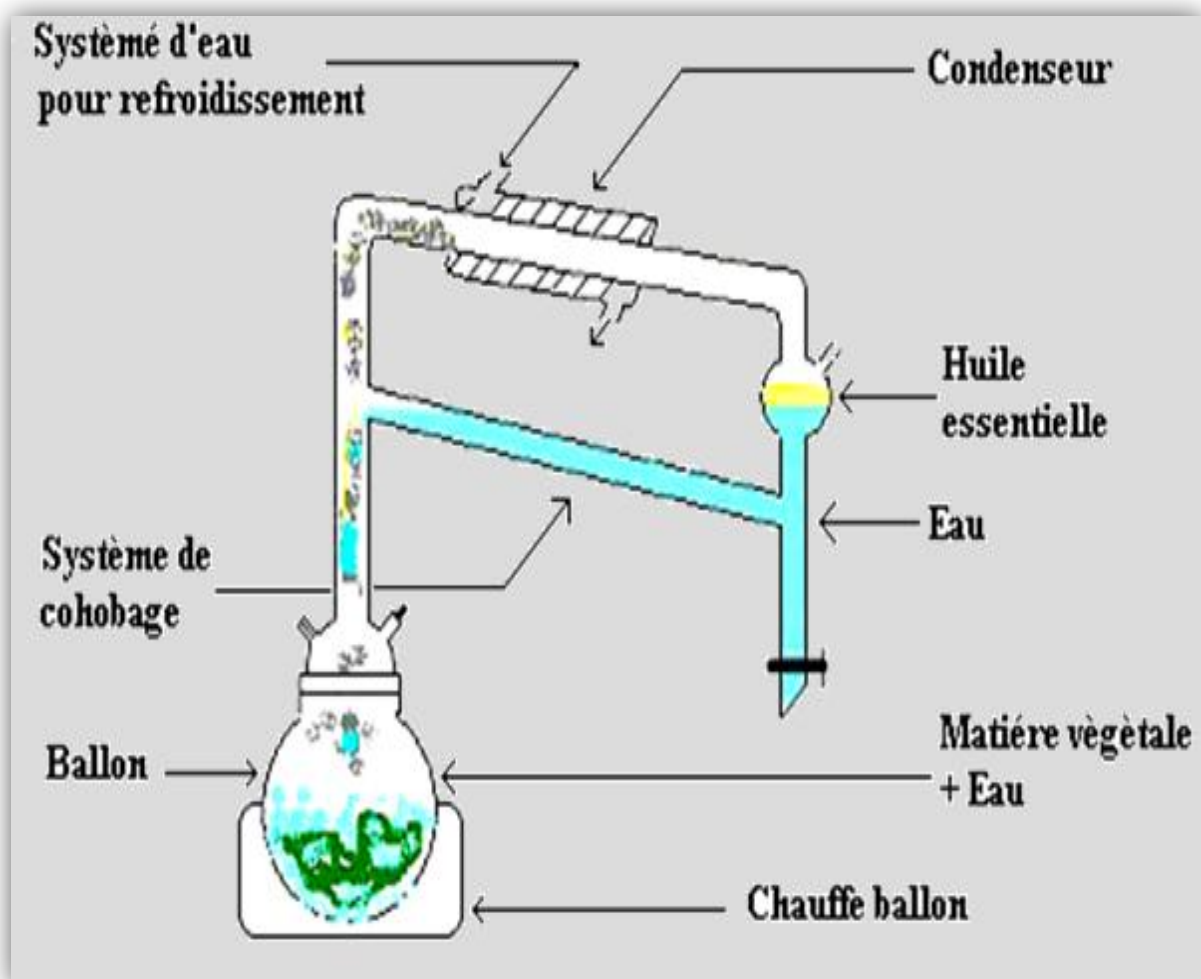


Figure II.4 : Schéma représentant le montage d'une hydrodistillation (**Web Master 02**)

5.1.2. Entraînement à la vapeur

C'est le moyen le plus répandu pour extraire les molécules volatiles des PAM. Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, mais la vapeur d'eau produite par une chaudière est injectée et traverse la matière végétale de bas en haut, éclate les cellules et entraîne les molécules volatiles. En traversant un tube réfrigérant, la vapeur d'eau saturée en composés volatils se condense en un mélange hétérogène composé d'huile essentielle et d'hydrolat (**Bruneton, 1999 ; Mohamed, 1997; Maarouf et Tremblin, 2004**). On peut également récupérer la phase aqueuse, comportant une faible proportion de composés aromatiques, qui porte alors le nom d'eau florale (**Figure II.5**).

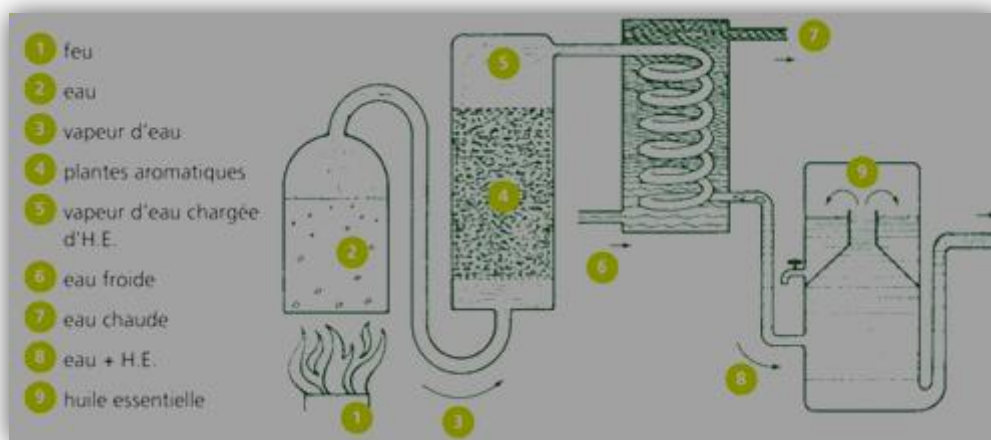


Figure II.5 : Schématisation de la technique d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau
(Web Master 03)

5.1.3. Expression à froid

C'est une technique "physique" simple où les écorces des agrumes (citron, orange,...) sont pressées à froid pour extraire leurs huiles essentielles en utilisant des rouleaux ou des éponges. Aucune source de chaleur n'est utilisée, laissant ainsi à l'huile une odeur très proche de l'original. Le principe de cette méthode consiste à faire éclater par différents procédés mécaniques (compression, perforation) les poches qui sont situées à la surface de l'écorce de ces fruits renfermant l'huile essentielle. Une fois libérée, elle est ensuite recueillie par un courant d'eau (**Bruneton, 1999; Maarouf et Tremblin, 2004**).

5.1.4. Extraction par solvant organique

L'extraction par solvant organique à chaud est actuellement largement utilisée. Le principe de cette méthode consiste à faire tremper les plantes dans un solvant organique volatil à chaud, soit pour obtenir des produits que l'on ne peut extraire par un autre procédé, soit en vue de rendements plus élevés (Maarouf et Tremblin, 2004). Dans l'appareillage Soxhlet un système de régénération interne du solvant permet de mettre en contact en permanence le végétal avec du solvant pur (Figure II.6). Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : sélectivité, stabilité, inertie chimique et température d'ébullition pas trop élevée pour permettre son élimination totale (Bruneton, 1999).

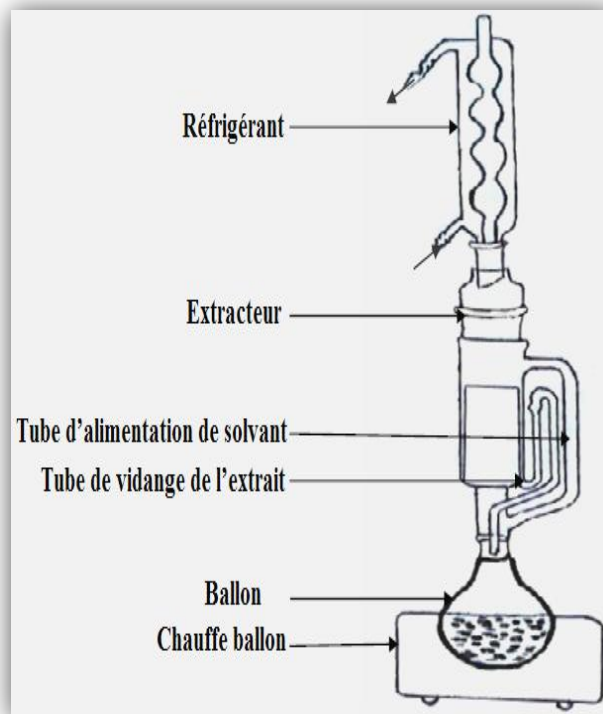


Figure II.6 : Schéma descriptif de l'installation d'extraction par solvant volatils (Web Master 03)

Le principe d'extraction par solvant volatil est représenté par une extraction solide-liquide qui est une opération de transfert au d'échange de matière entre une phase solide, la matière à extraire, et une phase liquide qui est le solvant d'extraction (Richard et Multon, 1992).

5.2. Méthodes innovantes d'extraction des HE

5.2.1. Hydrodistillation assistée par ultrasons

Il s'agit dans ce cas précis d'un traitement de la plante «pré» ou «post» opératoire. En effet, la structure des parois des plantes et les tissus cellulaires se désorganisent, sous l'effet des ondes ultrasonores et les micros cavitations générées par les ultrasons (**Romdhane, 1993**). Ainsi, ces changements favorisent la diffusion de l'eau dans les tissus cellulaires, ce qui peut également influencer sur la cinétique d'extraction des molécules aromatiques des HEs. Les principaux avantages de ce procédé sont l'accélération de la cinétique d'extraction et l'amélioration du rendement.

5.2.2. Extraction assistée par micro-ondes

C'est une technique récente développée dans le but d'extraire des produits naturels comparables aux huiles essentielles et aux extraits aromatiques. Dans cette méthode, la plante est chauffée par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle : les molécules volatiles sont entraînées dans le mélange azéotropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée (**Maarouf et Tremblin, 2009**). Ce chauffage, en vaporisant l'eau contenue dans les glandes oléifères, crée à l'intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois végétales et libère ainsi le contenu en huile. Les auteurs de ce procédé lui attribuent certains avantages tels que le temps d'extraction (jusqu'à trente fois plus rapide), l'économie d'énergie et une dégradation thermique réduite (**Huie, 2002; Lucchesi, 2005**).

6. Contrôle des huiles essentielles

L'intérêt pour l'utilisation des huiles essentielles dans différentes industries et en particulier dans l'industrie alimentaire (**Bruneton, 1993**) a conduit au développement des méthodes de caractérisation permettant d'accéder à des informations telle que la détermination de leurs compositions chimiques (**Zermane, 2010 ;Hernandez, 2015**), de leurs propriétés biologiques (**Bruneton, 1999**), de leur cytotoxicité (**Bravo, 1998 ; Chang et al., 1998**) ou de leur activité antioxydante (**Yang et al., 2000, Tapiero et al., 2002**). De nombreux facteurs peuvent influencer sur la composition chimique de l'HE. Un ensemble de paramètres a été étudié dont certains avec Bowes *et al.* (**Bowes et Zheljzkov, 2004**), et

autres, comme l'origine géographique (**Sari et al., 2006**), la saison de récolte (**Msaada et al., 2007; Shanjani et al., 2010**) et la méthode d'extraction (**Maffei et al., 1999 ; Bendahou et al., 2008**).

En effet, le développement industriel, ainsi que les législations complexes et sévères exigés quant à la qualité et au respect de l'environnement, confrontent le chimiste à certains problèmes tels que la demande d'analyse et sa complexité. Par conséquent, la chromatographie en phase gazeuse (CG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. La CG est une technique bien adaptée à l'analyse des HEs, compte tenu de la volatilité des constituants. Elle permet de séparer les composés volatils d'un mélange complexe ainsi que l'analyse quantitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit (**Laverdière et al., 1999; Maarouf et Tremblin, 2009**).

Il existe deux types de chromatographie gazeuse: la *chromatographie gaz-solide* (CGS) et la *chromatographie gaz-liquide* (CGL). Cette méthode ne peut suffire à une bonne identification, sans l'apport du couplage entre la CG et une technique d'identification spectroscopique, en général la spectrométrie de masse (CG-SM). La combinaison en ligne de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse ou CG-SM permet la détermination de la nature des constituants des mélanges (**Longevialle, 1981 ; Constantin, 1996**).

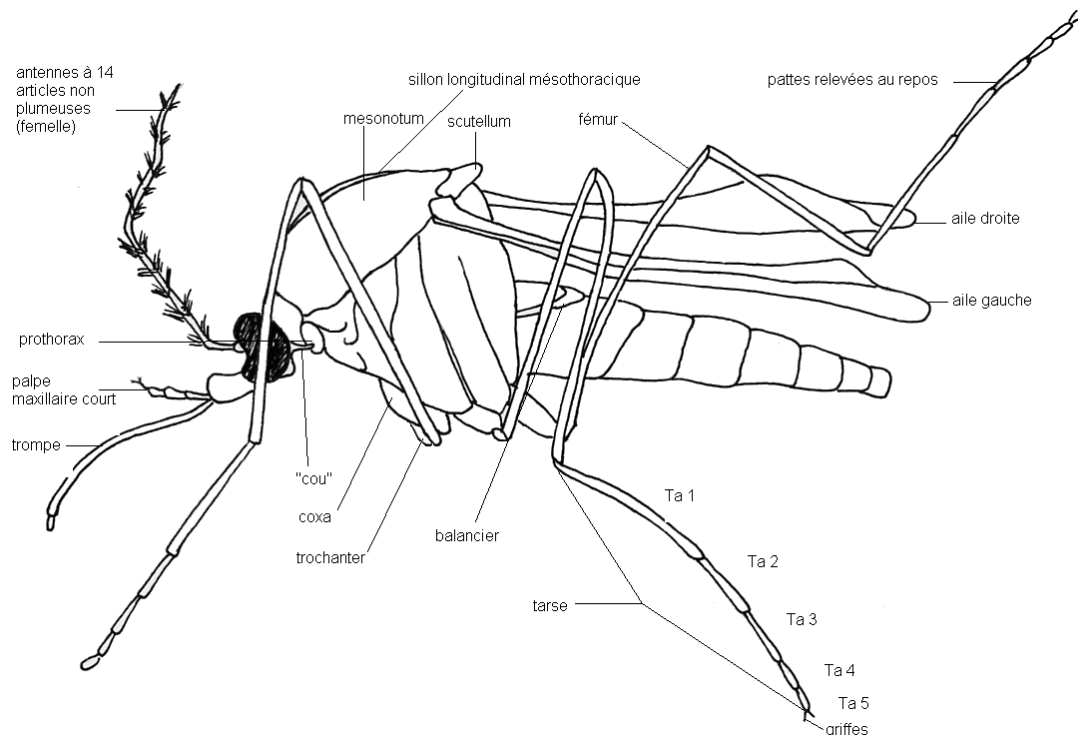
CHAPITRE IV

Matériels et Méthodes

1. Généralités sur les moustiques

Les moustiques sont des insectes holométaboles offrant tous les stades de leur développement une grande richesse de détails anatomiques. Ce sont surtout les larves de quatrième stade et les adultes qui fournissent le maximum de caractères systématiques (Rioux, 1958 ; in Benkalfat-El Hassar, 2001).

Leurs corps est élance et possèdent de longues antennes (a plus de six articles). Les pattes sont fines et longues (Figure III.1). Seuzles les femelles sont hémato-phages (Boyer , 2006).



Figures III.1 : Morphologie d'un moustique adulte vu de profil (Boyer , 2006).

1.2. Cycle de développement

Les moustiques sont à métamorphose complète, c'est-à-dire que les larves sont très différentes des adultes.

Contrairement à la femelle, le male ne prend pas de repas sanguin, indispensable à cette dernière pour porter ses œufs à maturité. Cela lui est possible grâce à des pièces buccales adaptées (cf. morphologie) (Boyer, 2006).

1.2.1. Les œufs

Ils sont pondus dans l'eau, claire en général, mais on en trouve également dans les eaux polluées, avec des matières organiques qui permettront aux larves de se nourrir. Ils sont déposés en paquets formant une nacelle qui flotte sur l'eau. Cette nacelle mesure 3-4 mm de long et 2-3 mm de large (**Figure III.2**). L'éclosion se produit environ 24h à 48h après l'oviposition (**Kettle, 1995**).

1.2.2. Les larves

Ont un mode de vie exclusivement aquatique, d'une durée de 5 à 6 jours. Dans certaines conditions, la densité larvaire est telle que les larves peuvent occuper la totalité de la surface d'un plan d'eau. Elles subiront 3 mues avant de se transformer en nymphe (**Figure III.2**). Au cours de ces mues, la tête de la larve va grossir de façon spectaculaire (+ 50% à chaque mue).

La fin du développement larvaire se caractérise par la lyse des muscles, première étape permettant le passage de la vie en milieu aquatique à la vie en milieu terrestre. La L4 ne se nourrit pas, puis mue en nymphe (**Lemaire, 1952; Cacheureul, 1997**)

1.2.3. La nymphe

Vit 2-3 jours dans l'eau, le temps que s'opèrent de profondes modifications anatomiques ; puis elle entame sa mutation en s'immobilisant à la surface de l'eau (**Figure III.2**). D'abord relativement mobile, elle finit par s'immobiliser à la surface de l'eau. La métamorphose s'accomplit en 1-2 jours si la température est suffisamment élevée (**Wall et Shearer, 1992**).

Quand l'adulte est complètement formé dans son enveloppe nymphale, l'insecte reste en surface et commence à respirer. Le tégument se dessèche au contact de l'air et il se forme une déchirure en T sur sa face dorsale sous l'effet de l'augmentation de la pression interne.

L'imago se dégage progressivement en se gonflant d'air pour s'envoler après un temps nécessaire au déplissage des ailes et des pattes (par augmentation de la pression de l'hémolymphe (**Figure III.2**) (**Bussieras et Chermette, 1991 ; Kettle, 1995**).

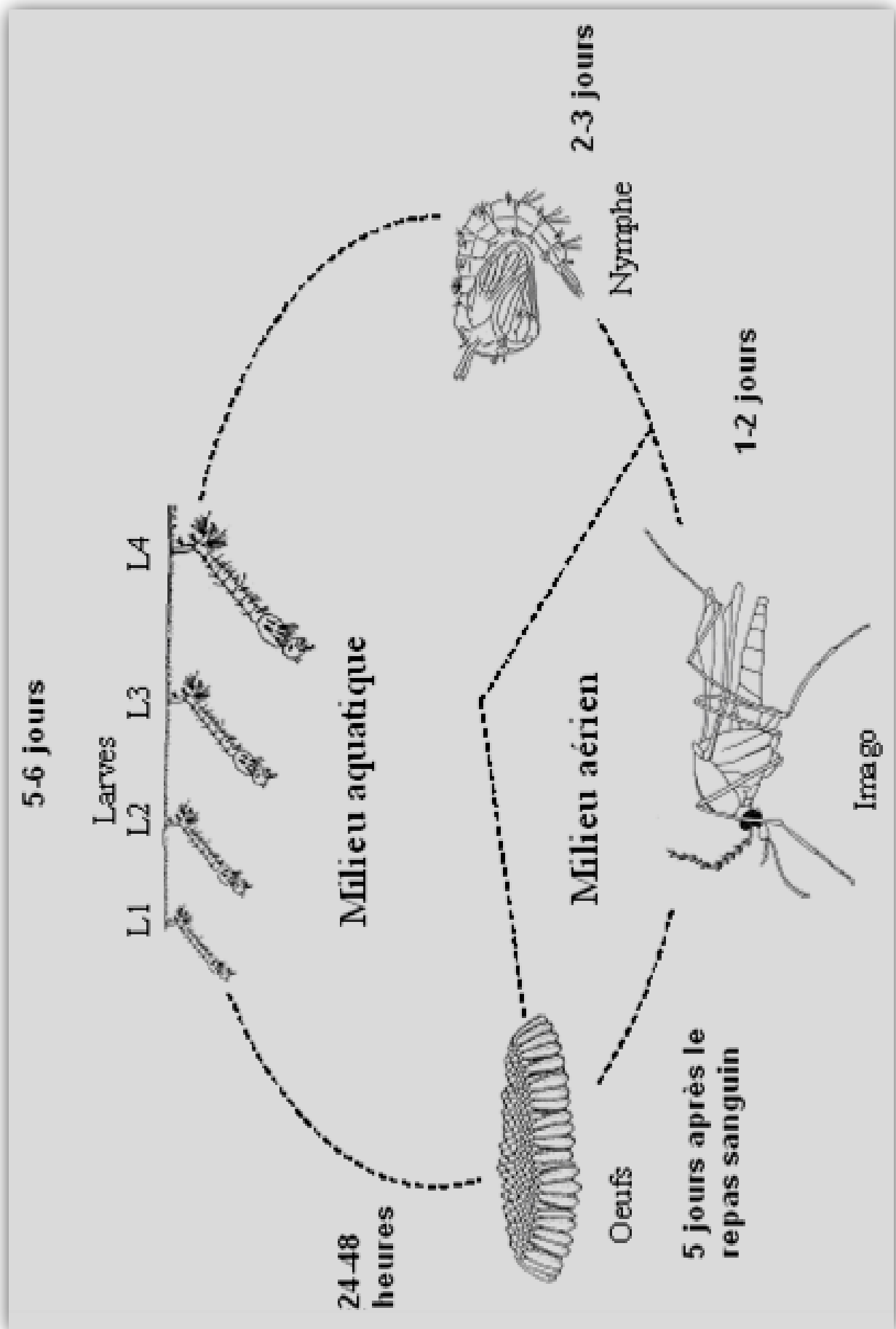


Figure III.2 : Cycle du développement des moustiques (Boyer, 2006).

2. Le genre *Culex*

La famille des culicidés, dont fait partie le genre *Culex*, se caractérise par des ailes recouvertes d'écailles. La trompe des adultes est d'une taille égale à celle de la tête et du thorax combinés (**Kettle, 1995 ; Bouallam, 2001 ; Brunhes et al., 2000**).

Comprenant presque 800 espèces, on retrouve le genre *Culex* dans de nombreuses régions du globe, notamment dans les régions tropicales, en Australie et en Europe (**Bussieras et Chermette, 1991**)

Les *Culex* sont surtout abondants dans les pays chauds, ou on les retrouve toute l'année. Dans les pays tempérés, ils abondent surtout en été et automne. Très hygrophiles, ils ont une activité principalement nocturne, et leur développement est lié à la présence d'eau (**Lemaire, 1952**)

En effet, il appartient à la sous-famille des Culicines, dont il possède les principales caractéristiques suivantes:

2.1. Les œufs

Fusifformes (**Figure III.3**), ils mesurent environ 1mm de long. Blanchâtres au moment de la ponte, ils s'assombrissent dans les heures qui suivent. Une corolla est présente au niveau du pôle inférieur de l'œuf. Ils sont pondus dans l'eau, réunis par 200 à 400 en nacelle dont l'arrangement leur permet d'être insubmersibles (**Cacheureul, 1997**).

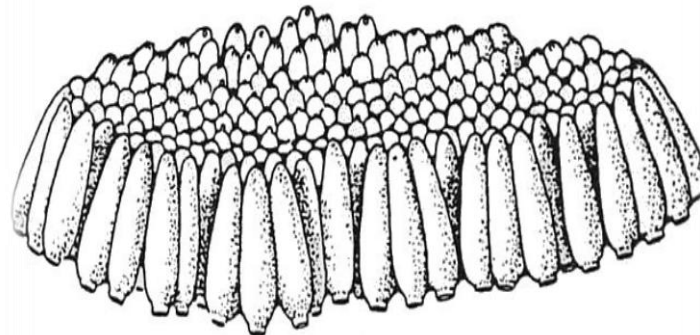


Figure III.3 : Œufs du genre *Culex* (**Cacheureul, 1997**).

2.2. La larve

Elle se développe indifféremment dans les eaux claires ou polluées. D'aspect vermiforme, son corps se divise en trois segments : tête, thorax trapu et dépourvu d'appendices locomoteurs, abdomen souple (**Figure III.4**). Sa taille varie de 2 à 12 mm en moyenne en fonction des stades. Elle est dépourvue d'appareil locomoteur, ce qui ne signifie pas qu'elle soit immobile. Son extrémité caudale est munie d'un siphon, ou tube respiratoire (dans le prolongement de l'abdomen), long et étroit affleurant à la surface de l'eau ; ce tube est muni de 5 clapets qui s'ouvrent sur deux orifices par où l'air pénètre à l'intérieur quand la larve monte à la surface de l'eau, et se rabattent quand elle gagne les profondeurs.

Ses pièces buccales sont de types broyeurs, adaptées à un régime saprophyte (alimentation de type particulaire) (**Kettle, 1995**).

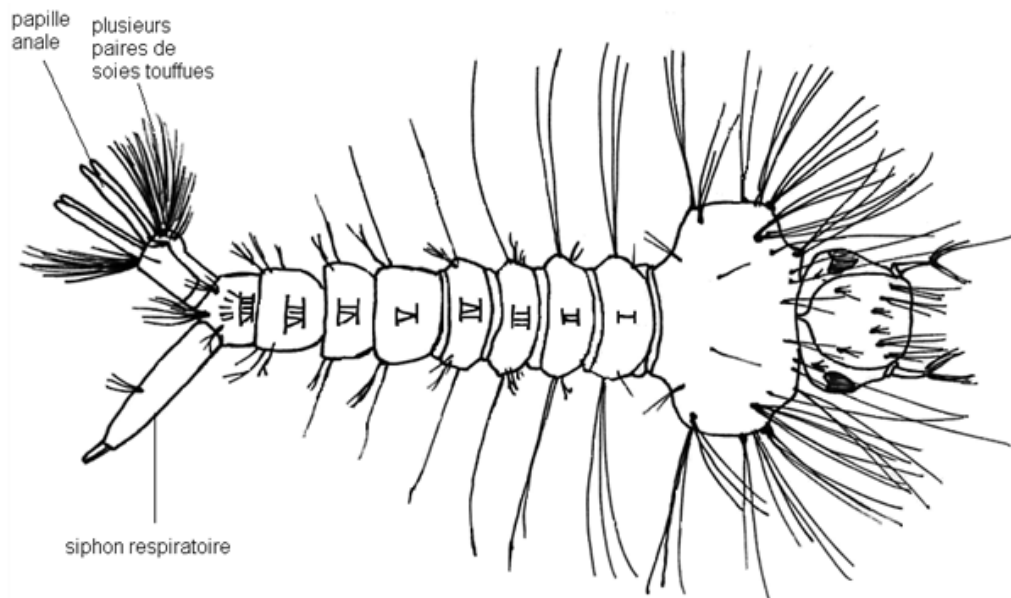


Figure III.4 : Larve du genre *Culex* (**Kettle, 1995**).

2.3. La Nymphé

La tête et le thorax fusionnent pour donner un céphalothorax sur lequel on trouve deux trompes qui permettent à la nymphé de respirer. Sa forme globale rappelle celle d'un point d'interrogation. Les orifices anal et buccal étant bouchés, la nymphé ne se nourrit pas. Ses palettes natatoires, situées sur l'abdomen, lui permettent de se déplacer (**Cacheureul, 1997 ; Andreo, 2003**).

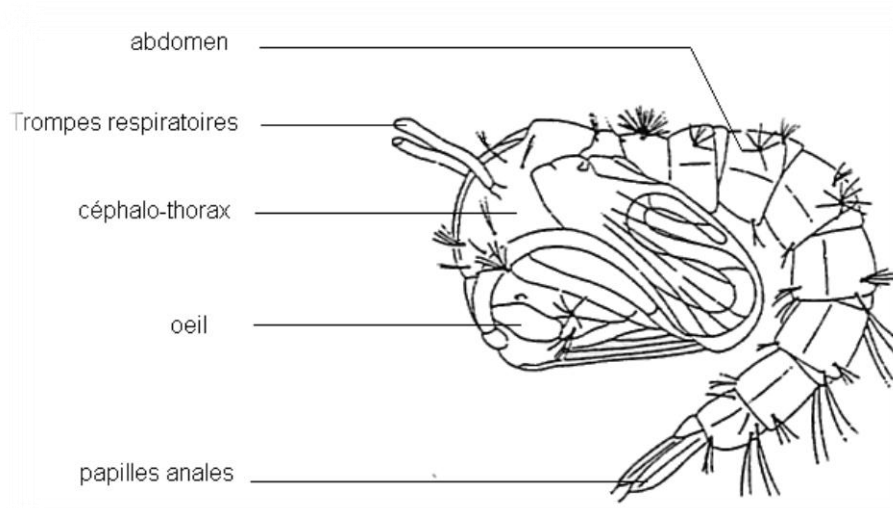


Figure III.5 : Nymphe mobile du genre *Culex* (Cacheureul, 1997).

2.4. L'adulte

Il mesure 3 à 6 mm de long (**Figure III.6**). Sa tête est sombre, couverte d'écailles fourchues dressées et sombres entre lesquelles sont situées des écailles blanches et des poils bruns (**Figure III.7**). Sur les joues se trouvent des écailles plus courtes formant une tache blanche (**Andreo, 2003, Kettle, 1995**).

Les antennes sont de calibre uniforme, très spumeuses et a 15 articles chez le mâle, peu spumeuses et a 14 articles chez la femelle, dont les soies sont plus courtes. Les mâles ont à la base de l'antenne un deuxième article dilaté comprenant des organes sensoriels disposés radialement : organe de Johnston, siège de l'audition (**Kettle, 1995**)

Les femelles possèdent des pièces buccales de type piqueur-suceur qui font saillie devant la tête, et sont composées de 7 articles : acérée en biseau, la trompe comprend, entre autres, les six pièces vulnérantes (labium-epipharynx, hypopharynx, 2 mandibules, 2 mâchoires). Le tout est protégé par une enveloppe souple : le labium. Les mandibules et les maxilles, en forme de piquet, sont bien adaptées à la fonction de piqueur. Le labre pointu et l'hypopharynx pénètrent également dans la plaie. Le labre est creusé en gouttière, et avec l'hypopharynx, forme le canal alimentaire par lequel le sang est aspiré. Chez le mâle, les maxilles et mandibules sont réduits.

Enfin, à la base de chaque mâchoire se trouve un palpe maxillaire à 4-5 articles, allongé et légèrement recourbés vers le haut chez les mâles (plus long que la trompe). Alors que chez

la femelle, il est plus courts que la trompe (environ un quart de sa taille) (**Figure III.7**) (**Chadwick, 1997 ; Hugnet et al., 1999**).

Quant au thorax, brun recouvert d'écailles fauves foncées avec quelques écailles claires sur les côtes, il est composé de trois segments soudés (le prothorax, le mésothorax et le métathorax), il porte les ailes et les pattes (**Figure III.6**).

Les pattes grêles sont brunes et non annelées, le fémur est noir au-dessus et sur le bord postérieur (**Figure III.6**). Au repos, elles sont repliées sur l'abdomen. En arrière des ailes se trouvent les balanciers, qui sont de petits organes sensoriels oscillatoires servant au contrôle du vol (**Bussieras et Chermette, 1991 ; Cachereul, 1997**).

En fin, l'abdomen est grêle et allongé, il est composé de 7 segments terminés par 2 cerques (**Figure III.6**), des appendices courts protégeant l'anus et l'orifice génital. Il est recouvert d'écailles claires, brunes et blanches avec de longs poils sur la face dorsale. Une ligne longitudinale sombre ainsi que quelques taches sombres sur les côtes ornent la face ventrale. Chez les mâles, l'abdomen se termine en une armature génitale servant à maintenir la femelle durant l'accouplement. Chez les femelles, on trouve un oviscapte qui intervient lors de la ponte. Au repos, l'abdomen des adultes est quasiment parallèle au support (**Lemaire, 1952; Bussieras et Chermette, 1991 ; Cachereul, 1997**).

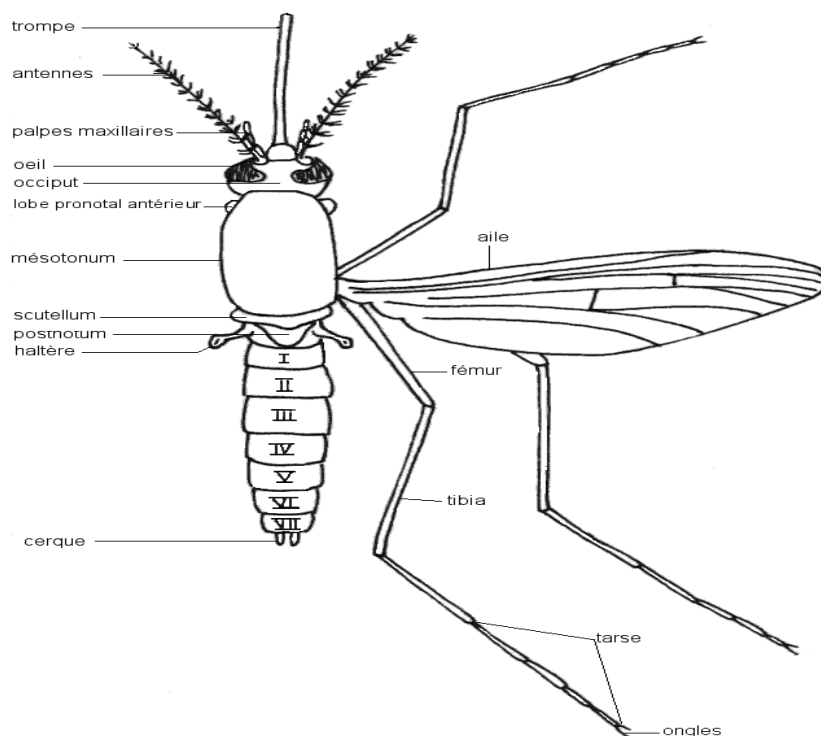
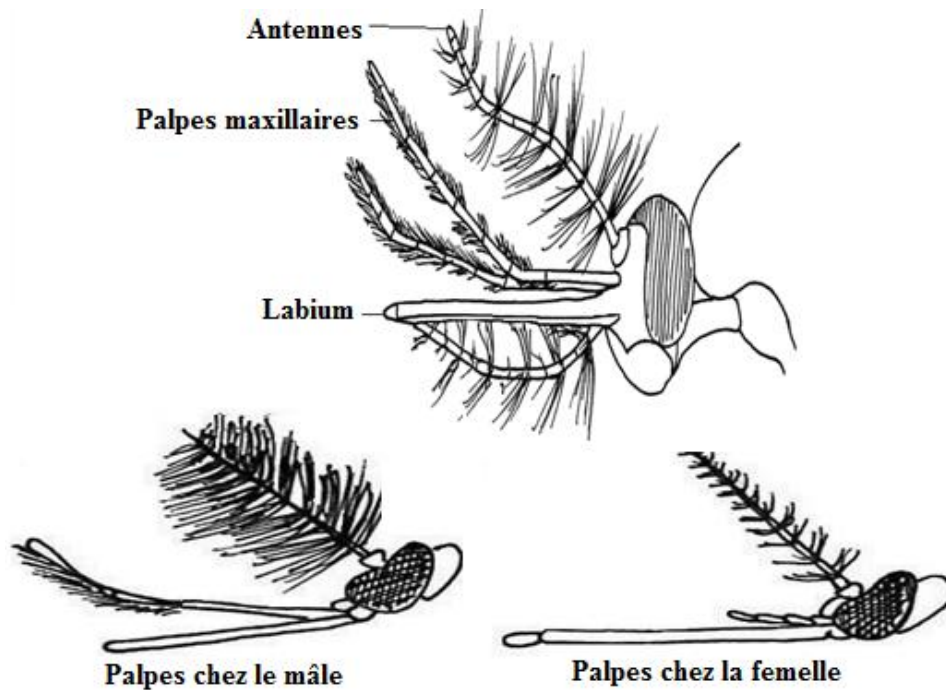


Figure III.6 : Morphologie d'un adulte du genre *Culex* vu de dessus (**Bussieras et Chermette, 1991**)



Figures III.7 : Vue de la tête du genre *Culex* (Lemaire ,1952)

3. *Culex pipiens*

Culex pipiens est une espèce relativement commune en région méditerranéenne. On la retrouve également dans toutes les régions tempérées de l'hémisphère nord. Cette espèce rurale a activité nocturne est domestique, c'est-à-dire qu'elle hiverne dans les habitations. Zoophile, elle pique surtout oiseaux et batraciens, et semble ne jamais s'attaquer aux humains (Kettle, 1995 ; Lemaire, 1952).

3.1. Biologie des stades pré-imaginaux

3.1.1. Les œufs

Chaque œuf est protégé par une coque étanche à l'eau et résistante à la dessiccation. Pour sortir de l'œuf, les larves utilisent un bouton d'éclosion, petite dent située en arrière de leur tête (Wall et Shearer, 1992; Cachereul, 1997).

3.1.2. Les larves

Elles se nourrissent de bactéries et de plancton, ce qui leur prend 95% de leur temps. Elles sont mobiles et respirent grâce à leur siphon respiratoire (**Figure III.8**). Pour respirer, les larves se tiennent obliquement par rapport à la surface de l'eau, tête en bas (**Figure III.9**). Elles peuvent se déplacer par mouvements saccadés grâce à de brusques contractions de leur corps (**Urquhart et al., 1996**).

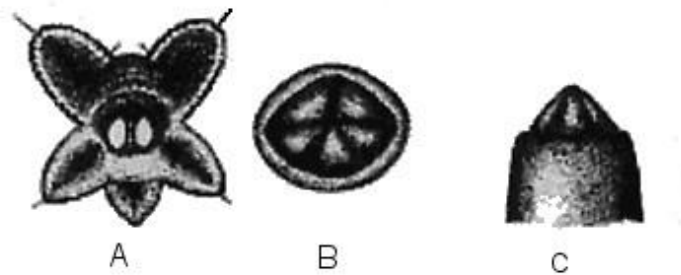


Figure III.8 : Fonctionnement du siphon respiratoire de la larve (A : clapets ouverts, B : clapets fermés vue de dessus, C : clapets fermés vue de profil (C) (**Ducos, 1994**).

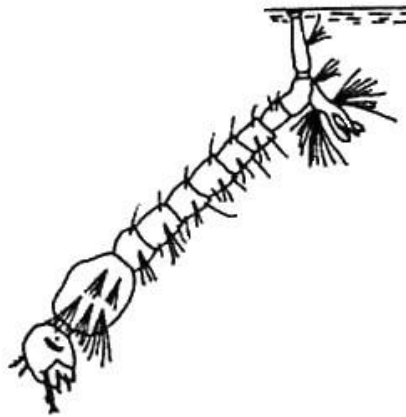


Figure III.9 : Position de respiration de la larve (**Ducos, 1994**).

3.1.3. Les nymphes

La nymphe ne se nourrit pas, mais puise dans les réserves stockées au stade larvaire. Elle reste généralement à la surface de l'eau mais plonge dès qu'elle est dérangée, en déployant et reployant brusquement l'abdomen terminé par deux palettes natatoires. En outre, une bulle d'air emprisonnée dans ses appendices lui permet de flotter lorsqu'elle est au repos (**Urquhart et al., 1996**).

3.2. Biologie des stades imaginaux

3.2.1. Habitat et nutrition

Durant les premiers jours de leur existence, les adultes mâles et femelles sont au repos dans des lieux abrités. Leur premier repas, pris au crépuscule, est composé de nectar. Il permet, entre autres, la maturation des organes génitaux ainsi que la constitution de réserves énergétiques pour le vol (**Kettle, 1995**).

Après la reproduction, les femelles prendront un repas sanguin nécessaire à l'élaboration des œufs. Cependant, les femelles de *Culex pipiens* peuvent produire une première ponte sans repas : elles sont dites autogènes. Elles utilisent les réserves accumulées par la larve (**Kettle, 1995**). Zoophile, c'est-à-dire qu'elle prend ses repas sanguins préférentiellement sur les animaux, elle repère son hôte par les mouvements, les formes et les couleurs de celui-ci (sombre en particulier), puis par l'odeur de substances chimiques, comme le gaz carbonique, qu'il dégage en respirant. Ce repérage se fait grâce à ses palpes maxillaires. Certaines odeurs, telle que la transpiration, poussent la femelle à piquer. En outre, les moustiques sont sensibles aux radiations infrarouges, qui les guident vers les animaux à sang chaud (**Andreo, 2003**).

La pique se fait par introduction des six stylets ; le labium, non perforant, se replie à la surface de la peau (**Figure III.10**). Les stylets pénètrent directement dans un capillaire (solenophagie), dans lequel la salive est injectée à plusieurs reprises au cours du repas. Cette salive contient une substance inhibant l'hémostase ainsi que l'agrégation plaquettaire. La salive est également composée de substances immunogènes responsables des réactions cutanées caractéristiques secondaires à la pique. Elle constitue également, le cas échéant, le support à la transmission vectorielle (protozoaires, virus). En 20 minutes maximum, la femelle peut ingérer jusqu'à quatre fois son poids en sang, soit 10,2 mm³. Une fois repue, elle se sert du labium comme d'un levier pour retirer ses stylets de la plaie. Alourdie et donc plus vulnérable, elle se repose à faible distance du lieu du repas (**Bussieras et Chermette, 1991 ; Kettle, 1995; Cachereul, 1997**).

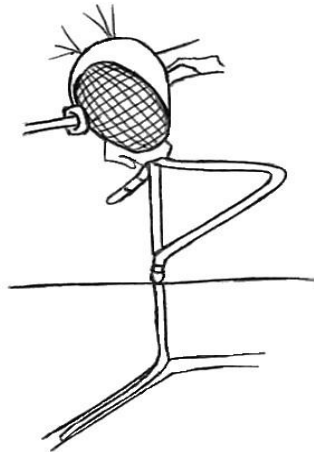


Figure III.10 : Mécanisme de la pique, montrant l'insertion des pièces buccales dans un capillaire et le repli du labium à la surface de la peau (**Fremont, 1996**).

3.2.2 Reproduction

Deux à quatre jours après leur sortie de l'eau, les moustiques partent en quête d'un partenaire sexuel. Le mâle est attiré par les vibrations des ailes de la femelle en vol (200 à 400 battements par seconde), ainsi que par des phéromones sexuelles. La perception des phéromones par le mâle est rendue possible par des soies sensibles situées sur les antennes. Les battements d'ailes, quant à eux, sont perçus grâce à l'organe de Johnston, lui aussi forme de soies spéciales et situé sur les antennes.

Culex pipiens est hétérodynome, c'est-à-dire que la reproduction est saisonnière. Après l'accouplement, les mâles ne tardent pas à mourir. Il n'y a généralement qu'un seul accouplement au début de la vie de l'adulte, le sperme étant stocké dans les spermatheques de la femelle où il est conservé tout au long de la vie de celle-ci. La fécondation des œufs a lieu au fur et à mesure de la ponte (**Andreo, 2003 ; Bussieras et Chermette, 1991 ; Cachereul, 1997**).

Les femelles nées à l'automne et ne se reproduisent pas ; elles se nourrissent de substances sucrées ce qui leur permet ensuite de survivre tout l'hiver sans s'alimenter (**Kettle, 1995 ; Andreo, 2003**).

3.2.3 Ponte

Une fois gorgée de sang, la femelle se réfugie dans un abri jusqu'au développement complet des œufs, puis elle cherche un endroit pour pondre. Le nombre d'œufs varie en fonction de la quantité de sang absorbée, les pontes autogènes étant toujours composées d'un nombre relativement réduit d'œufs. Les œufs sont déposés en nacelle à la surface de l'eau (**Figure III.11**), perpendiculairement à celle-ci, et arrangés de façon à ce que la larve ait la tête en bas et émerge par le dessous de l'œuf (**Andreo, 2003**). Une femelle peut pondre 800 à 2500 œufs repartis en pontes de 100 à 400 (**Kettle, 1995; Andreo, 2003**).

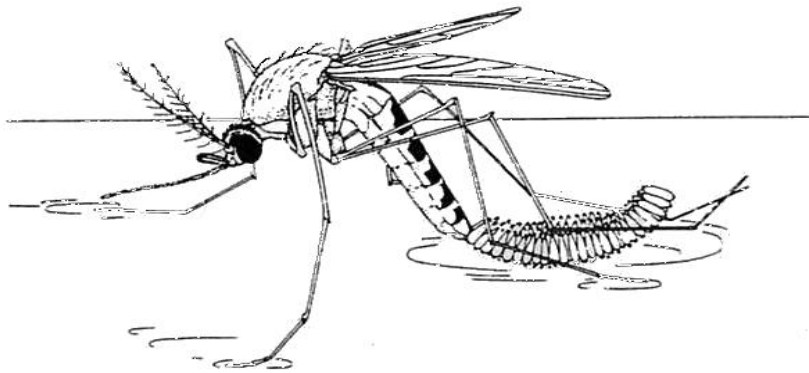


Figure III.11 : Vue d'une femelle *Culex pipiens* pondant ses œufs sur l'eau
(**Cachereul, 1997**)

3.2.4. Vol et dispersion

Culex pipiens est une forme campagnarde du genre *Culex*. Cette espèce est dite "sociale et domestique". Les capacités de vol varient en fonction des conditions météorologiques et de milieu. La distance parcourue dépend de la réserve d'énergie fournie par le glycogène, synthétisé à partir du nectar et stocké dans le corps gras et les muscles. La distance maximale parcourue après un repas de nectar est d'environ 30 km mais pas forcément en une seule fois ni en une seule direction. Des vols de dispersion se produisent à différentes périodes de la vie du moustique (quête d'un hôte, propagation de l'espèce...) et concernent principalement les femelles. Il existe également une dispersion passive par le vent et les moyens de transports (avions) (**Bussieras et Chermette, 1991**).

3.2.5. Duree de vie des adultes

Chez *Culex pipiens*, les adultes ne vivent pas plus de deux à trois semaines pour les mâles, et jusqu'à trois mois pour les femelles qui naissent à l'automne et pouvant survivre durant l'hiver (**Andreo, 2003**).

4. Intérêts de la lutte contre *Culex pipiens pipiens*

4.1. Les principales nuisances causées par *Culex pipiens*

On distingue deux types de nuisances causées par *Culex pipiens* ; la première est causée par la piqûre de la femelle qui va entraîner, chez l'homme comme chez l'animal, une lésion ronde érythémateuse de quelques mm à 2 cm de diamètre. Il est à noter que la piqûre ne provoque aucune douleur immédiate grâce à un anesthésique local contenu dans la salive (**Araujo et al., 1998**)

Les lésions sont très souvent suivies d'une réaction allergique due aux allergènes présents dans la salive de *Culex pipiens* injectée durant le repas sanguin. Cela entraîne généralement un fort prurit (**Guillet et al., 1999**).

Quant à la deuxième nuisance est liée à la transmission de maladies. Le moustique se contamine au cours du repas sanguin sur un hôte infecté. L'agent pathogène va alors subir un cycle de maturation et sera transmis au cours du repas suivant sanguin (**Bussieras et Chermette, 1991**).

On distingue deux types d'agents pathogènes transmis par les Culex :

✓ *Des virus*

- ❖ De la famille des Bunyaviridae genre Phlebovirus, comme le virus de la Fièvre de la Vallée du Rift, zoonose dont l'espèce cible principale est le bétail (**Fremont, 1996**).
- ❖ De la famille des Flaviviridae genre Flavivirus :
 - Le West Nile atteint les oiseaux mais peut aussi toucher l'homme (**Cooper et Penalagoon, 1996 ; Kioulos et al., 2013**)
 - L'encéphalite de Saint Louis atteint également l'oiseau et l'homme.
 - L'encéphalite japonaise humaine a pour réservoirs le porc et les oiseaux sauvages.
 - Le virus de la dengue atteint exclusivement l'homme.

- La fièvre jaune peut se transmettre aux singes et à l'homme (**Araujo et al., 1998**).

✓ *Des parasites*

- ❖ *Dirofilaria immitis*, responsable de la dirofilariose cardio-pulmonaire du chien. Ce parasite vit essentiellement dans le cœur droit et l'artère pulmonaire. Il entraîne des troubles cardiaques décomposés en 2 phases. Lors de la première, dite phase de compensation, le chien souffre de toux chronique, de dyspnée, de tachycardie, d'anémie et éventuellement d'hémoptysie. Un souffle cardiaque est audible. La fonction cardiocirculatoire se dégrade petit à petit, et le chien entre alors dans la deuxième phase, celle de décompensation : il souffre d'insuffisance cardiaque droite avec hépatomégalie, ascite, œdèmes souscutanés et insuffisance rénale. Le pronostic varie selon l'avancée des signes cliniques et la précocité du traitement. Plus rarement, l'animal peut développer un syndrome veine cave, caractérisé par un choc cardiogénique avec tachycardie, arythmie, tachypnée, dyspnée. La survie n'est que de quelques heures (**Cochet et al., 1997 ; Cooper et Penalagoon, 1997; Bordeau, 1998**). D'autres espèces peuvent néanmoins être atteintes : le chat, les canidés sauvages et même l'homme (**Guillet et al., 1999**).
- ❖ *Dirofilaria repens*, agent de la filariose sous-cutanée chez le chien, mais aussi chez le chat et l'homme. L'adulte se développe dans le tissu conjonctif sous-cutané. Cliniquement, des nodules de quelques millimètres à quelques centimètres de diamètre apparaissent. Ils sont indolores, prurigineux et localisés préférentiellement en région postérieure du corps (**Cochet et al., 1996 ; Guillet et al., 1999**).
- ❖ *Wuchereria bancrofti*, responsable de la filariose lymphatique de l'homme (**Araujo et al., 1998 ; Guillet et al., 1999**). Le nombre d'agents transmis, le nombre d'espèces atteintes dont l'Homme justifie les campagnes de lutte contre les moustiques.

4.2. Moyens de lutte

Les moyens de lutte visent les larves, les adultes ou les deux.

4.2.1. Lutte contre les larves

Certaines méthodes préconisent la réduction voire l'éradication des gîtes larvaires, notamment grâce au drainage et en facilitant l'écoulement des eaux, ce qui empêche le développement des *Culex*. Bien qu'extrêmement efficaces car définitives, elles ne sont cependant pas toujours réalisables, ni même économiques. A plus petite échelle, chacun peut se débarrasser des boîtes de conserve, vieux pneus... dans lesquelles se développent les larves. L'introduction de prédateurs aquatiques est envisageable lorsque les *Culex* se développent dans des collections d'eau suffisamment vastes, comme des étangs ou des mares. Une autre méthode consiste à introduire des pathogènes comme la bactérie *Bacillus thuringiensis* (Cochet et al., 1997) .

4.2.2. Lutte contre les adultes

L'INVS (Institut de Veille Sanitaire) a classé les différents moyens de protection des humains en fonction de leur efficacité selon le tableau III.1 suivant :

Tableau III.1 : Classement des méthodes de lutte contre les moustiques en fonction de leur efficacité (Euzeby, 1990)

Méthode	Efficacité
Moustiquaire imprégnée d'insecticide	++++
Pulvérisation intradomiciliaire d'insecticide rémanent	+++
Diffuseur électrique d'insecticide	++
Grillage anti-moustique aux portes et aux fenêtres	++
Répulsifs cutanés	++
Vêtements imprégnés d'insecticide	++
Climatisation	+
Ventilation	+
Fumigènes	+

À l'intérieur, le meilleur moyen de protection reste aujourd'hui une moustiquaire imprégnée d'insecticide, notamment des pyréthroïdes. Les produits qui jouent sur la rémanence sont distribués dans l'environnement du vecteur en vue de le neutraliser. On utilise des insecticides ou des huiles minérales. Mais qu'ils soient intradomiciliaires ou extradomiciliaires, ces produits se révèlent efficaces à court terme mais pas à long terme car l'application nécessite d'être maintenue en permanence (**Chauve, 1990**). De plus, utilisés à grande échelle, ils pourraient polluer l'environnement et accélérer le développement de résistances. C'est pourquoi il faut respecter la réglementation en vigueur.

4.2.2.1. Les répulsifs

Un répulsif est une substance naturelle ou de synthèse qui présente une propriété répulsive vis-à-vis des arthropodes hématophages. Il existe un grand nombre de molécules sur le marché avec des propriétés répulsives. Pour l'instant, seules 4 ont une efficacité reconnue par l'AFSSAPS (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé). Ce sont : - Le DEET (N,N-diethyl-m-toluamide) : efficace pour une concentration de 30 à 50% - L'IR3535 (N-acétyl-N-butyl- β -alaninate d'éthyle) : 20 à 35% - Le KBR3023, également appelé picaridine (carboxylate de sec-butyl-2-(2-hydroxyéthyl) piperidine-icaridine) : 20 à 30% - Le citriodiol (mélange de cis et trans-para-menthane-3,8-diol) : 20 à 30%. Ces molécules sont formulées sous forme de sprays ou de lotion et vont diffuser dans l'air ambiant afin d'éloigner les moustiques. Cependant leur effet répulsif n'est valable que quelques heures (**Euzeby, 1990**).

4.2.2.2. Les insecticides

Les insecticides les plus utilisés sont les pyréthroïdes sous forme de sprays à pulvériser dans l'air ambiant, sur des murs ou des moustiquaires. Ces molécules se révèlent efficaces jusqu'à plusieurs semaines si elles sont pulvérisées sur une moustiquaire. Concernant leur mode d'action, ils vont tout d'abord stimuler puis inhiber le système nerveux du *Culex*, pour finalement causer une paralysie musculaire généralisée. Comme l'effet est très rapide, on dit qu'ils ont un effet "*Knock down*" ou effet choc. Très toxiques pour les poissons, ils le sont peu pour les mammifères même si ils entraînent parfois des démangeaisons (**Curtis, 1996; Candace et al., 2001**).

Leur utilisation doit tout de même rester raisonnée pour éviter le développement de résistances comme c'est déjà le cas dans certaines régions du globe comme la Chine : sur 6 échantillons de 100 *Culex* chacun exposés à de la deltaméthrine à la dose de 0,05%, les 6 se sont révélés résistants avec un taux de mortalité allant de 20 à 80% (**Candace et al., 2001**). Parmi les formulations vétérinaires à base de pyréthroides possédant une AMM pour la protection des chiens contre les Culicidés, on trouve la perméthrine en spot on (ADVANTIX®) ou encore la deltaméthrine en collier (SCALIBOR®) (**Fremont, 1996**). Les carbamates et les organophosphorés ne sont plus utilisables sur les animaux domestiques et sur les humains (**Curtis, 1996**).

PARTIE II

*Partie
expérimentale*

CHAPITRE IV

Matériels et Méthodes

1. Description de la zone d'étude

La forêt de Messer fait partie d'un ensemble de cantons de la forêt domaniale de Ténira (Wilaya de Sidi Bel Abbés). Elle couvre une superficie de 126.53 ha et se situe à une altitude moyenne de 562 m. Elle s'éloigne au sud du chef lieu de la wilaya d'environ 5km (**Figure IV.1**), ayant pour coordonnées géographiques : (35° 07' 24 98" N, 0° 36' 02 09" O). Elle est délimitée :

- ✓ au Nord par la plaine de Sidi-Bel-Abbès,
- ✓ à l'Ouest par la commune de Belouadi.
- ✓ à l'Est par le chemin de wilaya N° 11 reliant Sidi-Bel-Abbès à Ténira;
- ✓ au Sud par la forêt domaniale de Ténira.

La forêt se développe sur un relief aux pentes inférieures à 10%. L'exposition principale est le nord-ouest.



Figure IV.1 : Position géographique de la forêt de Messer (Image Google earth)

Dans cette région, les sols sont superficiels, de type rendzines et dont les horizons supérieurs sont constituées de mélanges de sables et de cailloux calcaires (**Benaouda et al., 2005**).

En effet, la synthèse des paramètres bioclimatiques reposent sur les données sources de l'ONM de la période s'étalant de 1995 à 2015.

La synthèse des données moyennes annuelles de la pluviométrie et de la température sont exploitées pour construire le diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gaussen de la zone d'étude.

Pour la caractérisation de l'étage bioclimatique l'indice d'Arido-Humidité de Giaccobe (1964) a été utilisé. Cet indice caractérise l'aridité du climat d'une région donnée. Il s'exprime comme suit :

$$I = 100 \times P / M \times (M - m)$$

P : en (mm), M, m : en (°C).

En matière de couvert végétal, la forêt de Messer (Wilaya de Sidi Bel Abbés) est à dominance de pin d'Alep. Outre cette dernière espèce, la composition floristique de cette forêt comporte des essences secondaires tel que : le chêne vert, la phyllaire, le pistachier lentisque et enfin le thuya objet de notre étude.

2. Etude phytochimique

2.1. Matériel biologique

Notre travail a porté sur l'étude des feuilles jeunes de *Tetraclinis articulata*. Ces échantillons ont été prélevés au nord de la forêt de Messer en Mars 2014 sur des arbres pris au hasard.

Après la récolte, nos échantillons sont étalés et séchés pendant dix jours à l'abri du soleil et de l'humidité et à une température ambiante.

2.2. Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* a été réalisée par hydro distillation sur sept échantillons dans un appareil type Clevenger (**Figure IV.2**). La distillation de chaque pesée de 100 gr. dure environ trois heures. L'huile essentielle obtenue a été stockée à 4°C à l'obscurité. Les valeurs des rendements sont exprimées par apport à la matière sèche (en ml/100gr. de matière sèche).



(Figure IV.2) : Montage d'extraction de type Clevenger (Laboratoire de Biodiversité Végétale)

2.3. Analyse chromatographique

L'analyse chromatographique faite au laboratoire de chimie de produits naturels Université Pascal Paoli en Corse ; a été réalisée à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer auto system XL, doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes (60m×0.22mm d.i ; épaisseur du film : 0.25 μm) polaire (5 Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), couplé à un détecteur de masse Perkin Elmer Turbo Mass. Le gaz vecteur est l'hélium (1ml/mn) avec une pression en tête de colonne de 25 psi. La température de l'injecteur est de 250°C, la programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/80. la quantité d'huile essentielle injectée est de 0.2 μl . La détection se fait par un analyseur à filtre quadripolaire. Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70eV. Les spectres de masse obtenus par un impact électronique ont été acquis sur la gamme de masse 35-350Da la température de la source est de 150°C (Adams, 2001).

2.4. Identification et quantification des constituants de l'huile essentielle

La méthodologie du laboratoire est basée sur l'utilisation conjointe de la CPG associé à la détection par ionisation de flamme (FID) permettant le calcul des indices de rétention sur colonnes polaire et sur colonne apolaire ainsi la quantification des composées (les indices de rétention I_r sont déterminées par rapport aux indices de rétention d'une gamme étalon d'alcane C5-C30 par interpolation linéaire, en utilisant l'équation de Van den Dool et Kratz (1963) et (ii) du couplage en ligne CPG/SM qui permet d'obtenir le spectre de masse des composés individualisés. Les indices de rétention et les spectres ainsi obtenus sont comparés avec les données contenues dans une bibliothèque « arôme » propre au laboratoire ou dans des bibliothèques commerciales (ou encore littérature) (Adams, 2001).

3. Etude de l'activité biologique

3.1. Collecte des larves de *Culex pipiens*

Les larves de *Culex pipiens* ont été repérées par leur position horizontale à la surface de gîtes larvaires non traités qui proviennent des zones rurales (Oued Mekkera) de Sidi Bel Abbés. Le gîte larvaire a été ensuite vidé et l'eau introduite dans des bassines en plastiques (30×20×10cm). Les larves flottantes à la surface ont été recueillies par tamisage et rincées abondamment à l'eau de puits ensuite introduites dans des bocaux en verre de 500 ml.

3.2. Tests de sensibilité larvaire

Au laboratoire, elles ont été identifiées et nourries aux biscuits (2g de poudre de biscuits par boîte de 500 ml) pendant 24h avant leur utilisation pour les tests. Ces derniers ont pour objet l'évaluation de la mortalité des larves de *Culex* en présence des solutions diluées d'huiles essentielles suivant une méthodologie inspirée du protocole de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 1963) modifié par El Akhel et al., 2015. En effet, 25 larves de stade L4 ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et mises dans des gobelets de 5cm de diamètre contenant chacun 99 ml d'eau de puits. Des expériences préliminaires ont permis de sélectionner une gamme de concentrations pour les tests proprement dits. Pour ce faire, une solution mère d'huile essentielle a été préparée dans de l'acétone; à partir de laquelle des dilutions ont été réalisées dans l'eau de puits pour obtenir des concentrations expérimentales

finale de : 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm et 16 ppm. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque dilution.

Deux gobelets témoin ont été également constitués dans les conditions identiques aux gobelets tests. Le témoin négatif ne contenait que de l'acétone tandis que le témoin positif renfermait un larvicide de référence (Dichloro-Iphényl-Triclororéthane). Le comptage des larves a été réalisé après 24h d'exposition aux extraits volatils solubilisés dans l'Acétone.

3.3. Analyse statistique

Pour la saisie et le traitement des données nous avons utilisé le logiciel d'analyse Log-probit (WinDL de la version 2.0) développé par le CIRAD-CA/MABIS (Ginner *et al.*, 2005)

Pour évaluer plus précisément l'efficacité de la toxicité de cette huile, nous avons calculé les CL50 et CL90, définies comme étant les concentrations létales provoquant respectivement 50 % et 90 % de mortalité dans la population de larves traitées. Ces valeurs ont été déterminées à partir d'une courbe expérimentale donnant les variations du pourcentage de mortalité, à 24 h, en fonction des doses croissantes d'huile essentielle.

CHAPITRE V

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1 Caractéristiques climatiques

Le climat d'Algérie a fait l'objet de nombreuses études analytiques et synthétiques, notamment par **Seltzer (1946)** ; **Bagnouls & Gaussen (1953)** ; **Emberger (1954)**. Tous ces auteurs s'accordent à reconnaître l'intégration du climat algérien au climat méditerranéen, caractérisé par une saison sèche et chaude coïncidente avec la saison estivale, et une saison froide et pluvieuse coïncidente avec la saison hivernale.

En raison de sa situation et en absence de toutes barrières topographiques, les données climatiques brutes de la ville de Sidi bel-Abbes ont été empruntées. Dans la région de Sidi-Bel-Abbès, les études climatiques faites sur ces dernières décennies, confirme la tendance du climat au réchauffement, le calcul des paramètres climatiques est basée sur les données de échelonnés sur 20 années (1995-2015).

1.1.1 Pluviométrie

Dans la région de Sidi-Bel-Abbès, l'une des principales caractéristiques climatiques est la grande variabilité interannuelle de la pluviométrie. La **figure V.1** illustre la pluviométrie moyenne mensuelle sur une période de 20 ans (1995 -2015), à une altitude de 570 m. Le mois de Janvier demeure le mois le plus pluvieux avec une moyenne interannuelle de l'ordre de 84.8mm, alors que le mois de Juillet avec une moyenne de 1.2mm reste le mois le moins pluvieux.

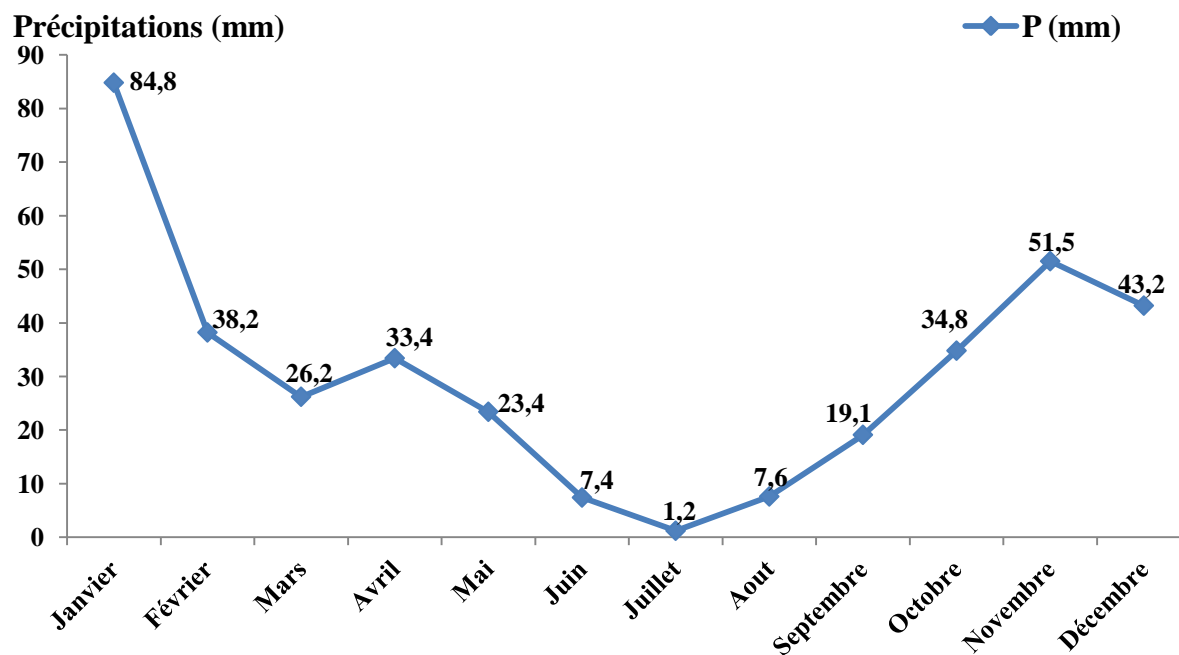


Figure V.1 : Variation moyenne de la pluviométrie dans la région de Sidi Bel Abbès entre 1995 et 2015 (O.N.M Sidi Bel Abbés, 2016)

1.1.2 Température

La température est également un élément écologique fondamental en tant que facteur climatique vital et déterminant dans la vie des végétaux. La période de végétation, ainsi que la répartition géographique des espèces. Cette température dépend de la latitude, de l'altitude, des masses d'air, de la couverture végétale. Elle dépend aussi du type du sol (**Emberger, 1954**).

Entre 1995 et 2015, les températures moyennes enregistrent un maximum de 27.3°C au mois de Juillet et un minimum de 9,3°C au mois de Janvier (**Figure V.2**). Les températures enregistrées évoluent dans le même sens, Juillet reste le mois le plus chaud, avec une température maximale de 35.8°C et un minima de 27.3°C, alors que le mois de Janvier avec 15. 6°C et 3.2°C pour le maxima et le minima respectivement s'avère le mois le plus froid de l'année.

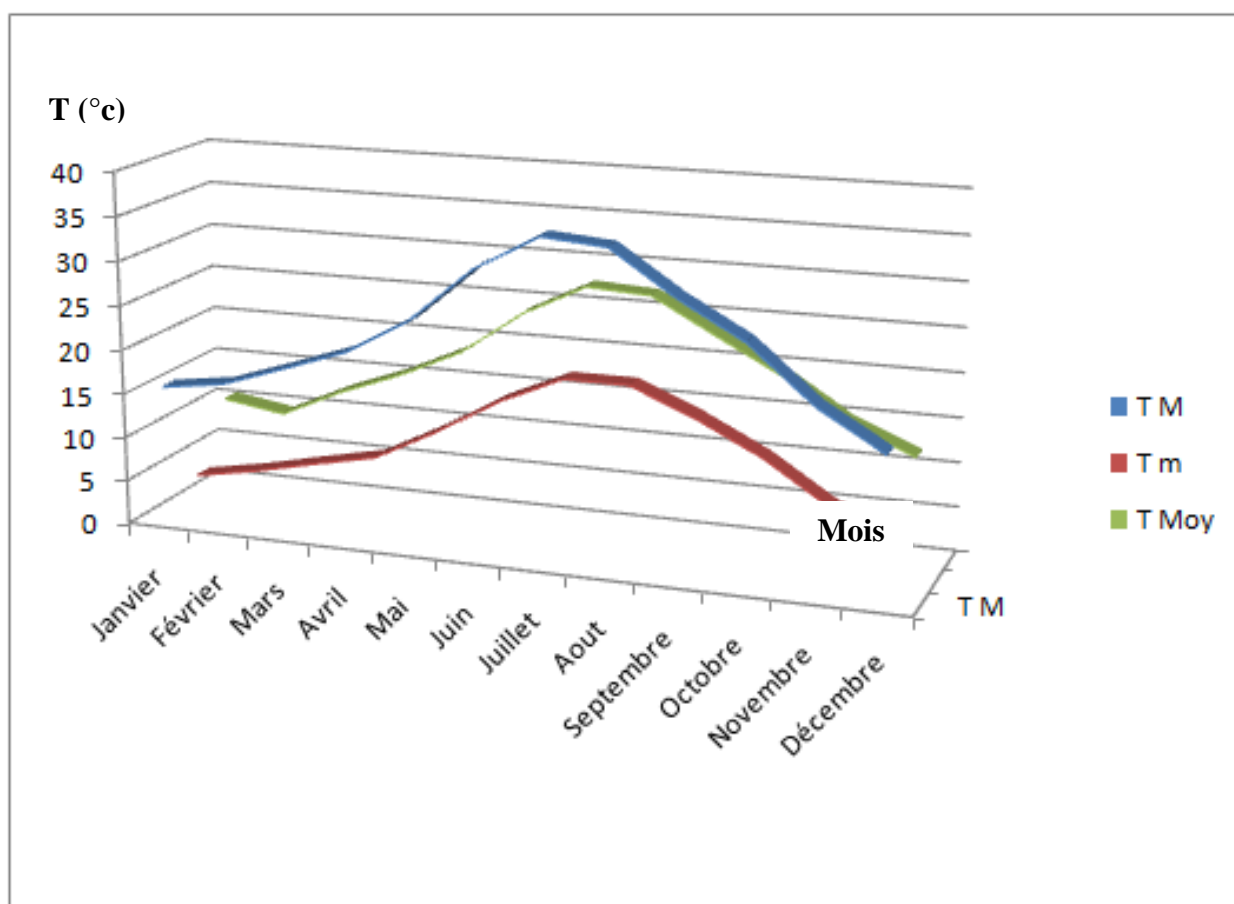


Figure V.2: Variation des températures moyennes mensuelles minimales et maximales (1995– 2015) (O.N.M, 2016).

1.1.3 Synthèse climatique

En effet, la synthèse climatique met en évidence les différentes caractéristiques du climat méditerranéen. Du fait que ce dernier est caractérisé par un hiver modéré et un été relativement sec et chaud. Cette différence chronologique entre l'alimentation en eau par les précipitations et la température est responsable de la période sèche de ce type de climat. Ce décalage est souvent dénommé Xérotherme c'est à dire long et sec (Faye, 1963).

On doit à Bagnouls et Gausson une méthode simple et efficace de discrimination entre la saison sèche et pluvieuse : le critère $P = 2T$. Le diagramme Ombrothermique est représenté sur un repère où sont portées les courbes pluviométriques des périodes humides et sèches et les courbes thermiques correspondant à la période sèche.

Pour un mois humide la courbe des précipitations passe au dessus de la courbe des températures. Pour un mois sec, la courbe des températures passe au dessus de la courbe des précipitations. Ainsi pour la région de Messer, la sécheresse prend une importance pendant la saison chaude où elle s'étend du début du mois de Mai jusqu'à la fin Octobre. Quant à la pluviométrie, elle s'accroît bien évidemment durant les mois les plus froids (hiver), c'est à dire de Novembre jusqu'au la fin Avril (Figure V.3).

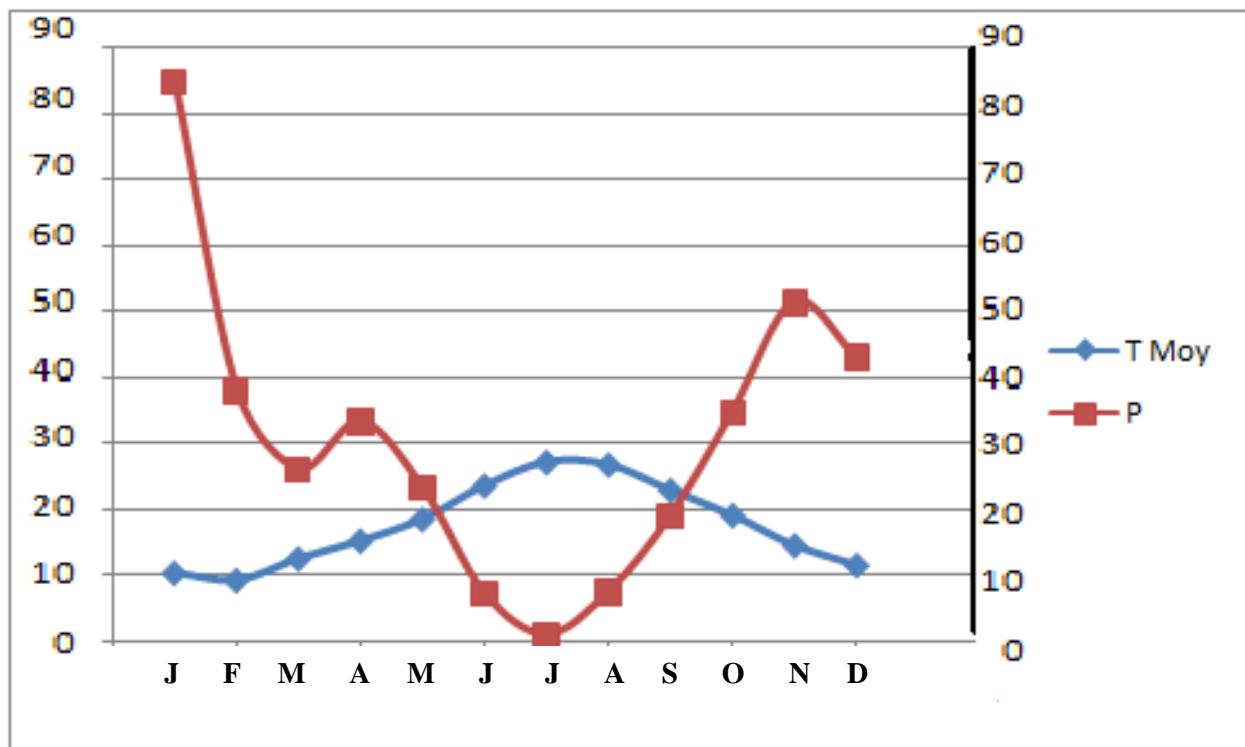


Figure V.3 : Diagramme Ombrothermique de la ville de Sidi-Bel-Abbès (1995- 2015).

Par ailleurs, la valeur trouvée de l'indice d'arido-humidité de Giacobbe (1964) qui est de l'ordre 6.2 traduit pour la région de Sidi-Bel-Abbès un climat semi-aride.

1.2 Caractérisation des huiles essentielles

1.2.1 Rendement en huiles essentielles

L'hydrodistillation des échantillons des feuilles de *Tetraclinis articulata* prélevées dans la forêt de Messer, réalisée à l'aide du dispositif type Clevenger, a produit des huiles essentielles sous forme liquide, d'un aspect huileux, d'une couleur jaune verdâtre, caractérisées par une forte odeur balsamique.

La masse de l'huile essentielle obtenue après hydrodistillation correspond à 0.11g pour une masse initiale de 100g de drogue, soit un rendement de 0.11%.

1.2.2 Analyses phytochimiques et identification des composés volatils

L'analyse par CPG/SM des huiles essentielles des feuilles de *Tetraclinis articulata* prélevées dans la forêt de Messer, montre clairement la richesse et la diversité en composés chimiques volatils des huiles essentielles. Quarante composés ont été identifiés représentant 89,8% de la composition chimique totale de cette huile (**Tableau V.1**). Le Camphre (**19,6%**); le Bornyl acétate (**18,7%**) ; le Germacrene D (**7,6%**) et le Borneol (**6,3%**) sont les composés majoritaires. D'autres composés sont présent mais en faible quantité tel que le δ -Cadinol et le p-Cymene.

Tableau V.1 : Pourcentage de principaux constituants de l'huile essentielle des feuilles du
Thuya de berbérie

N°	Composées	Ir apol	Ir pol	% apol	Ir Arom	Ir Lit	Formule
1	α -Pinene	933	1006	3,2	931/1022	936	C ₁₀ H ₁₆
2	Camphene	946	1044	0,2	943/1066	950	C ₁₀ H ₁₆
3	β -Pinene	973	1086	0,2	970/1110	978	C ₁₀ H ₁₆
4	Myrcene	983	1131	1,6	979/1159	987	C ₁₀ H ₁₆
5	p-Cymene	1014	1235	0,1	1011/1268	1015	C ₁₀ H ₁₄
6	Limonene	1024	1169	2,8	1020/1199	1025	C ₁₀ H ₁₆
7	1,8-Cineol	1024	1186	0,1	1020/1209	1024	C ₁₀ H ₁₈ O
8	Linalol	1086	1505	0,2	1081/1544	1086	C ₁₀ H ₁₈ O
9	α -Campholenal	1107	1445	0,3	1105/1482	1105	C ₁₀ H ₁₆ O
10	Camphre	1125	1472	19,6	1123/1517	1123	C ₁₀ H ₁₆ O
11	<i>trans</i> -Pinocarveol	1125	1602	0,4	1125/1650	1126	C ₁₀ H ₁₆ O
12	p-Mentha-1,5-diene-8-ol	1131	1628	1,0	1146/1714	1127	C ₁₀ H ₁₆
13	Camphene hydrate	1135	1549	0,9	-	1143	C ₁₀ H ₁₈ O
14	Borneol	1153	1649	6,3	1148/1698	1150	C ₁₀ H ₁₈ O
15	Terpinen-4-ol	1164	1554	1,1	1161/1600	1164	C ₁₀ H ₁₈ O
16	p-Cymen-8-ol	1164	1789	0,4	1161/1823	1169	C ₁₀ H ₁₄
17	α -Terpineol	1175	1649	0,6	1179/1700	1176	C ₁₀ H ₁₈ O
18	Verbenone	1183	1653	0,7	1184/1707	1183	C ₁₀ H ₁₄ O
19	<i>trans</i> -Carveol	1201	1777	0,5	1196/1832	1200	C ₁₀ H ₁₆ O
20	Carvone	1218	1677	0,2	1222/1739	1214	C ₁₀ H ₁₄ O
21	Bornyl acetate	1273	1538	18,7	1269/1575	1270	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
22	α -Terpinylacetate	1335	1646	1,3	1334/1695	1335	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
23	α -Copaene	1377	1457	0,9	1379/1488	1379	C ₁₅ H ₂₄
24	<i>trans</i>-Caryophyllene	1419	1556	7,1	1424/1591	1421	C ₁₈ H ₁₆ O ₂
25	α -Humulene	1451	1620	2,2	1456/1665	1455	C ₁₅ H ₂₄
26	γ -Muuroleone	1472	1640	0,3	1471/1681	1474	C ₁₅ H ₂₄
27	Germacrene D	1478	1659	7,6	1480/1704	1479	C ₁₅ H ₂₄
28	α -Muuroleone	1495	1677	0,3	1496/1719	1496	C ₁₅ H ₂₄
29	γ -Cadinene	1508	1705	1,4	1507/1752	1507	C ₁₅ H ₂₄
30	δ -Cadinene	1517	1705	1,4	1515/1749	1520	C ₁₅ H ₂₄
31	(E)-Nerolidol	1550	1985	0,3	1546/2037	1553	C ₁₅ H ₂₆ O
32	Caryophylleneoxide	1571	1919	2,3	1576/1980	1578	C ₁₅ H ₂₄ O
33	β -Oplopenone	1591	2001	0,3	1593/2023	1595	C ₁₅ H ₂₄ O
34	Humuleneepoxide II	1595	1973	0,6	1601/2044	1602	C ₁₅ H ₂₆
35	epi-Cubenol	1618	2001	2,1	1624/2059	1623	C ₁₅ H ₂₄ O
36	Caryophylla-4(14),8(15)dien-5 α -ol	1623	2211	0,2	1626/2285	-	C ₁₅ H ₂₆ O
37	τ -Muurolol	1628	2118	0,4	1634/2143	1633	-
38	τ -Cadinol	1628	2102	0,6	1638/2163	1633	C ₁₅ H ₂₆ O
39	δ -Cadinol	1641	2131	0,1	-	1645(DB5)	C ₁₅ H ₂₆ O
40	α -Cadinol	1641	2162	1,2	1645/2227	1643	C ₁₅ H ₂₆ O
Total				89,8			

Les monoterpènes sont les composés les plus abondants avec 30,10% de l'huile essentielle (**Figure V.4**); suivie par les sesquiterpènes avec 21,80% et les esters avec 20% du totale des composés identifiés dans l'huile essentielle. Les alcools et les cétones sont les moins abondants avec des taux respectifs de 9% et 0,20%.

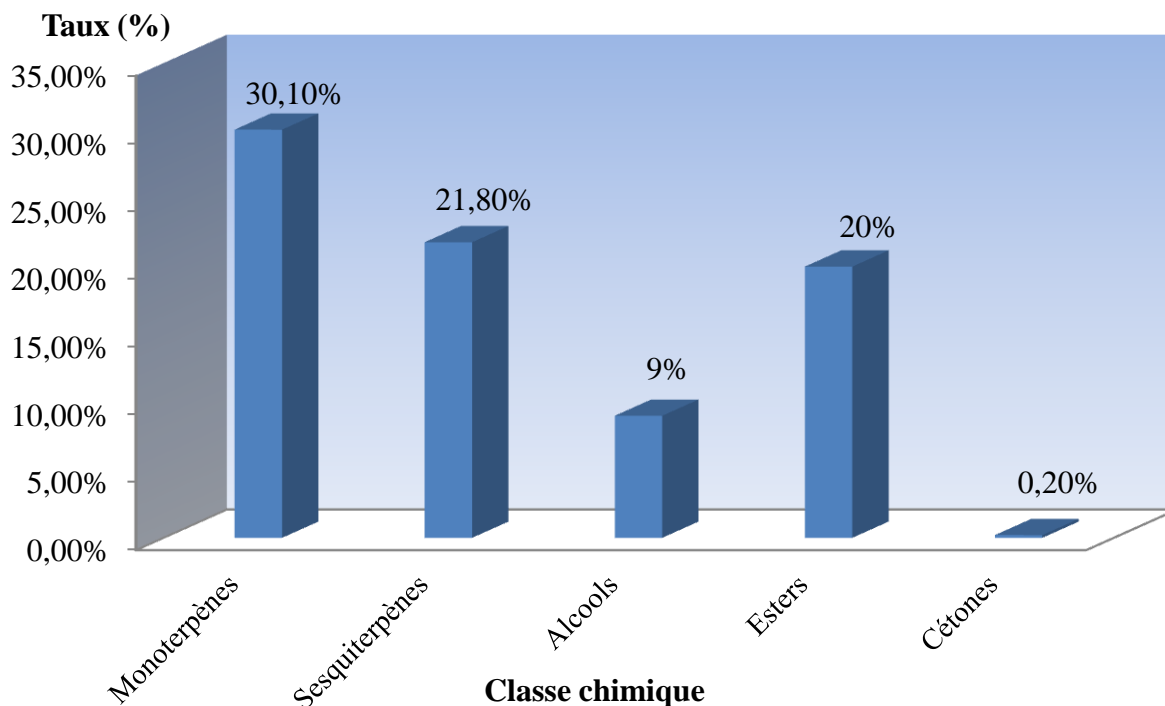


Figure V.4 : Classes chimiques des composés identifiés dans l'huile essentielle des feuilles de thuya de berbérie.

Le nombre des composés monoterpéniques dans cette huile est de l'ordre de 16 ; Pour les composés sesquiterpéniques on a identifié 12 composés. Les alcools, les esters et les cétones ont les valeurs suivantes respectivement : 7, 2 ; 1.

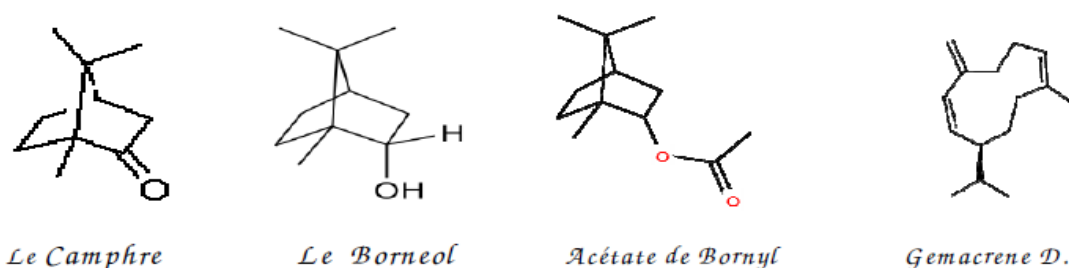


Figure V.5 : Structures chimiques des composés majoritaires identifiés dans l'huile essentielle de thuya de Berbérie

1.3 Partie pouvoir insecticide

1.3.1 Variation du taux de mortalité

Après avoir exposé les larves du stade 3 et 4 de l'espèce *Culex pipiens* aux différentes concentrations de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* pendant 24 h, le pourcentage de mortalité a varié selon les concentrations (**Tableau V.2**). Les concentrations minimales nécessaires pour obtenir 100 % de mortalité des larves de *Culex pipiens* ont été évaluées à 16ppm pour *Tetraclinis articulata* (**Figure V.6**).

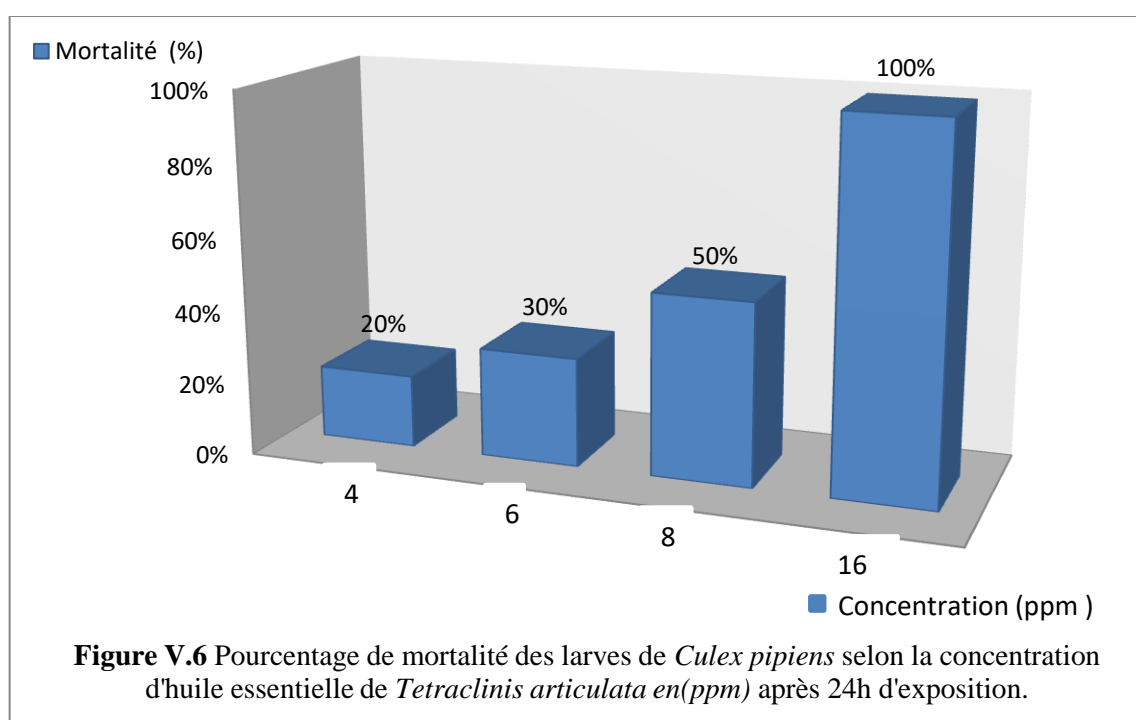


Tableau V.2 : Mortalité (en %) des larves de *Culex pipiens* en fonction de la concentration d'huile essentielle (ppm) de *Tetraclinis articulata* et leurs Concentrations létales CL50 et CL90 après 24 heures d'exposition

Concentrations (ppm)	Mortalité des larves%	CL50 (ppm)	CL90 (ppm)	Equation de la droite de régression	Chi ² calculé (χ ²)
4	20				
6	30				
8	50	8	14.4	Y=6.747 X -7.349	34.5
16	100				

Le tableau V.2 montre également que l'huile essentielle testée de *Tetraclinis articulata* demeure efficace, avec une valeur de 8ppm pour la CL50 et 14.4ppm pour la CL90. L'équation de la droite de régression pondéré est $Y=6.747 X -7.349$ et le $\text{Chi}^2 = 34.5$

2. Discussion

Les résultats relatifs à la synthèse bioclimatique de notre zone d'étude signifient que cette dernière est sous influence du climat méditerranéen avec un étage bioclimatique semi-aride à hiver chaud et d'un indice d'Arido-Humidité qui est de l'ordre de 6,2. Ceci est en accord avec plusieurs travaux qui notent un décrochement dans les étages bioclimatiques ou on constate une élévation des valeurs de la température surtout des minimas puis une faible pluviométrie (**Quézel, 1980**).

Le Thuya est peu exigeant au point de vue pluviométrique; 250 mm d'eau lui suffise avec un optimum est de 350 à 400 mm. C'est également l'une des essences caractéristique de l'étage semi aride, avec le pin d'Alep et le Genévrier (**Maatoug, 2003**).

Selon **Boudy (1952)**, *Tetraclinis articulata* est une espèce thermoxérophile. De part sa rusticité, sa faible exigence en eau, il se maintient dans les stations les plus variées et les plus sèches. Toutefois, il craint le froid humide, l'association se rapproche beaucoup de celle du pin d'Alep, mais ne présente pas des plantes indicatrices aussi caractéristique que le Romarin et la Globulaire. En effet, il est très robuste, plus même que le pin d'Alep, en raison de sa faculté de rejeter des souches. C'est une essence héliophile, au feuillage en écailles très souple.

Greco (1966) signale que le thuya est indifférent à la nature chimique du sol. Cependant, il préfère les sols calcaires et les sols fersialitiques meubles plus ou moins profonds.

Benabid (1976) rajoute que comme pour le pin d'Alep, le facteur climatique joue un rôle prépondérant dans l'écologie du Thuya. Sa distribution est liée aux climats méditerranéens semi-arides.

Il est important aussi de signaler que les changements climatiques globaux influent directement sur la physiologie des arbres. L'augmentation de la concentration de CO₂ de l'atmosphère améliore la photosynthèse; cette capacité photosynthétique ne peut se traduire que par une bonne production de biomasse à condition que la capacité d'alimentation en eau et en éléments nutritifs soit satisfaite en cas d'élévation de taux de CO₂ (**Norby et al., 1986 ; Fajer et al., 1991 ; Maning et Tirdman, 1995**).

Le rapport carbone/azote peut augmenter dans les tissus des plantes suite à l'accumulation de carbone dans les feuilles et la diminution de l'azote par effet de dilution ou l'azote serait une ressource limitant pour beaucoup d'insecte phytophage (**Norby et al., 1986**).

Dans un autre cadre, le rendement moyen de notre huile essentielle (en ml/100g de MS), extraites des jeunes feuilles de *Tetraclinis articulata*, de la région de Messer est de 0.11%. Ce rendement reste inférieur à celui cité dans différents travaux similaires comme ceux de **Barerro et al. (2005)** qui ont trouvés un rendement de 0.70% ; **Bourkhiss et al. (2007)** avec 0.22% ; **Achak et al. (2009)** avec une teneur de l'ordre de 0.34%. Dans la région nord ouest algérienne, **Benali-Toumi et al. (2011)** ont trouvés un rendement de 0,75% pour la région d'El Haçaiba (wilaya de Sidi Bel Abbès), 0,78% pour Ouled Mimoun (wilaya de Tlemcen) et 0,35% pour Frenda (wilaya de Tiaret).

Ainsi, cette différence dans les rendements peut s'expliquer par les facteurs écologiques qui interviennent dans le développement de l'espèce (altitude, climat, sol.....), la période de récolte, la partie récoltée, et la durée d'extraction.

L'analyse par la CPG/SM de l'huile essentielle des feuilles jeunes nous a permis de mettre en évidence 40 composés dont le composé majoritaire est le camphre (19,6 %) accompagné par d'autres constituants à des teneurs relativement faibles comme le Bornyl acétate (18,7%), le Germacrène D (7,6%), le Trans-caryophyllène (7,1%) et le Borneol (6,3%) on peut dire que notre huile est un chémotype à base du camphre .

Cette composition est globalement similaire à celle de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters de l'Algérie (**Tableau V.3**), du Maroc et de la Tunisie à quelques exceptions d'ordre qualitatives et quantitatives pour certaines composés (**Tableau V.4**).

Tableau V.3: Comparaison entre le pourcentage des composés majoritaires de l'huile essentielle de feuilles de thuya de différentes régions de l'Algérie.

Composées	Notre huile (SBA)	Ouled Mimoun (Benali-Toumi et al., 2011)	El Haçaiba (Benali-Toumi et al., 2011)	Frenda (Benali-Toumi et al., 2011)
α -Pinène	3.2	3.65	6.49	11.34
Camphre	19.6	26.67	31.60	23.41
Limonène	2.8	2.67	3.70	10.09
Bornéol	6.3	12.96	14.27	6.64
Acetate de Bornyl	18.7	25.79	17.12	24.59
α -Terpinéol	0.6	2.90	1.74	2.36
Trans-Caryophyllène	7.1	0.39	0.42	0.54
Germacrène D	7.6	0.36	0.22	0.42

Tableau V.4: Comparaison entre le pourcentage des composés majoritaires de l'huile essentielle de feuilles de thuya de l'Algérie, Tunisie et Maroc.

Composées	Algérie (Notre Huile)	Tunisie (Barerro et al., 2005)	Maroc (Bourkhiss et al., 2007)
α -Pinène	3.2	23.54	16.8
Camphre	19.6	17.27	17.6
Limonène	2.8	5.98	5.7
Bornéol	6.3	4.57	4.7
Acetate de Bornyl	18.7	0.12	-
α -Terpinéol	0.6	0.4	0.4
Trans-Caryophyllène	7.1	-	-
Germacrène D	7.6	0.04	0.3

La composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters pourrait dépendre de facteurs écologiques et environnementaux et des facteurs génétiques, en accord avec d'autres travaux sur les cupressacées (**Angionni et al., 2003**).

La composition chimique de notre l'huile essentielle est largement dominée par les monoterpènes (30,10%) suivi par les sesquiterpènes (21,80%). Alors que pour **Benali-Toumi et al. (2011)**, c'est les cétones et les esters qui dominent dans la région d'El Haçaiba (wilaya de Sidi Bel Abbès) avec respectivement 35,61% (05 composés) et 19,85% (04 composés) et dans la région d'Ouled Mimoun (wilaya de Tlemcen) avec des taux respectifs de 30,05% (05 composés) et 26,65% (02 composés seulement). Par contre dans région de Frenda (wilaya de Tiaret), pareil que nos résultats c'est les monoterpènes qui dominent avec 34,12% (13 composés). On constate que cette composition de classe chimique diffère de la composition des feuilles prélevées de la région de Marrakech (**Achak et al., 2009**).

Les huiles essentielles sont dotées d'un pouvoir de toxicité important vis à vis des insectes, **Jang et al. (2002)** ont prouvés dans leurs travaux que les huiles essentielles sont toxiques sur les larves et les adultes de coléoptères (**François et al., 2009**) .

L'activité larvicide très importante observée chez l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* pourrait être expliquée par l'action ou l'effet des composées majoritaires. En effet, l'huile *Tetraclinis articulata*, est caractérisée par une teneur élevée en Camphre de 19.6 %, connu pour ses propriétés antiseptiques (**Runeberg, 1960**).

Plusieurs études ont montré que le Camphre, l'acétate de Bornyl et le Borneol présentent une activité insecticide importante (**Roy et Saraf, 2006**); tandis que le Germacrène D présente quand à lui des propriétés phéromoniques permettant d'attirer les insectes males (**Rommel et al., 1993**). L' α -pinène présente lui aussi un pouvoir insecticide important (**Duke et al., 1998**) qui associé aux autres composants augmentent la toxicité de la plante.

Il est à signaler aussi que dans notre étude les composées trouvées à savoir l'Acétate de Bornyl puis le Germacrène D sont dotées d'un pouvoir insecticide et phéromonique, respectivement.

Dans la littérature, il a été montré que l'extrait aqueux du bois de thuya est toxique pour les larves de moustique à différents stades de leurs développements (**Papachristos et Stamopoulos, 2002**). Par contre, nous n'avons pas rencontré d'auteurs qui ont examiné l'action larvicide des jeunes feuilles de *Tetraclinis articulata* sur *Culex pipiens*. d'autre part il est à signaler que **Aouinty et al. 2006** ont évalués l'activité larvicide des extraits aqueux du bois de thuya ou elle demeure très efficace.

Ainsi, **Vatandoost et al. 2012** ont rapporté que les huiles essentielles de plantes

Kelussia, Odoratissima Mozaffarian sont dotés d'une activité larvicide plus importante contre *Culex pipiens*, les principaux constituants de cette huile étaient Z-ligustilide (77,73%), l'acétate de 2-octène-1-ol (6,27%), E-ligustilide (2,27%) et phthalide butylidène (1,97%). Des études similaires réalisées par **Traboulsi et al.** 2002, ont démontré l'activité insecticide de quatre plantes médicinales récoltées au Liban (*Myrtus communis* L., *Lavandula stoechas* L., *Origanum syriacum* L. et *Mentha microphylla* K.) sur les larves de *Culex pipiens* spp, les CL50 obtenues étaient comprises entre 16 à 89 mg/l.

Nos résultats ont montrés également que l'huile essentielle testée de *Tetraclinis articulata* demeure la plus efficace, avec une valeur de 8 ppm pour la CL50 et 14.4 ppm pour la CL90. L'équation de la droite de régression pondéré est $Y=6.747 X -7.349$ et le $\text{Chi}^2 = 34.5$.

D'autre huile essentielle de *Kelussia odoratissima Mozaffarian* sur *Culex pipiens* ont montré un effet important avec une valeur de CL50 à 2,69 ppm et une CL90 de 7,90 ppm (**Vatandoost et al.** 2012). Il a été montré que l'activité larvicide sur les larves de *Culex pipiens* de l'huile essentielle de thymus vulgaris avec une valeur de 103 ppm pour la CL50 et 178 ppm pour la CL90 (**El-Akhel et al.,** 2015). Selon le **Roman.** 2009, les huiles essentielles obtenues à partir de *Thymus vulgaris* ont été testés pour la mortalité des larves de moustiques *Culex quinquefasciatus*. Ce dernier a été trouvé sensible à une CL50 de 33 microgrammes/ml (33 ppm). Ainsi **Kemassi et al.** 2015 ont évaluées les extraits aqueux d'*Euphorbia guyoniana* sur *Culex pipiens* et qui ont engendrés une bonne activité larvicide.

Le mode d'action contre les insectes n'est pas encore bien élucidé. Par ailleurs, il a été signalé que les huiles essentielles inhibent l'activité de l'acétylcholinestérase chez les insectes (**Ryan et al., 1988 ; Coast et al., 1991**).

Certains composés communs d'huiles essentielles telles que camphre sont connus pour leur effet insecticide (**Sinegre et al., 1977; Isman, 1999 ; Traboulsi et al., 2002**). Il a été démontré que la toxicité du Carvacrol est réduite en présence de thymol suggérant ainsi un effet antagoniste de ces deux composés (**Benhadou et al., 2008; El ouali et al., 2014**).

Les composés phénoliques sont connus eux aussi pour avoir des propriétés ovicides, adulticides, nymphocides et larvicides contre différentes espèces d'insectes (**Isman, 1999**). Ce type de composés est représenté dans nos échantillons par le linalol (0.2%), T-cadinol (0.6%) etc... cumulant un total de 7.9%. Cependant, il serait difficile de penser que l'activité insecticide de cette huile se limite uniquement à certains de ses constituants majoritaires; elle pourrait être aussi due à certains constituants minoritaires ou à un effet synergique de plusieurs constituants (**Chiasson et al., 2001; Bakkali et al., 2008**).

L'identification des différents constituants et leur rôle dans la toxicité des produits finaux aident à déterminer les techniques optimales d'extraction comme les autres facteurs impliquées (pourcentage d'humidité par exemple) pour assurer une performance optimale de produits. L'activité insecticide des huiles essentielles peut être due à l'un des composés majoritaires de l'huile essentielle ou à la synergie et autres effets antagonistes de tous les composants (Traboulsi et al., 2002).

Krishnarajah et al. (1995), ont démontré que l'association du p-Cymène et β -Pinène donne un taux de toxicité élevé sur les insectes que par l'application de ses composés séparément.

D'autre part, la composition chimique des huiles essentielles peut aussi varier en dépendant d'autres paramètres comme l'aire géographique, la saison de collecte, la technique de distillation, la partie de la plante utilisée et la présence de chémotypes et de races chimiques qui sont de même espèce telle que l'espèce *Artemisia herba-alba* (Benjillali et Richard, 1980) et *Thymus vulgaris* (Granget et Passet, 1973).

L'utilisation des insecticides de synthèse à des fréquences courtes et répétées est à l'origine de nombreux cas de résistance chez les insectes. Dans ce contexte, le recours à des molécules naturelles (d'intérêt écologiques et économiques) aux propriétés insecticides et insectifuges, de moindre toxicité pour l'homme, se révèle être une démarche alternative à l'emploi des insecticides de synthèse.

CONCLUSION

Conclusion Générale

Le travail que nous avons effectué sur *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters (connue sous le nom de thuya de Berbérie) à pour but de mieux connaître, écologiquement et ensuite en vue d'une valorisation, cette espèce qui apportera sans doute divers intérêts tant écologiques qu'économiques.

La synthèse climatique de la forêt de Messer confirme l'installation de cette espèce sur les étages bioclimatiques liés au climat méditerranéen semi-aride caractéristique de tout le massif forestier de la wilaya de Sidi Bel Abbès dont le cortège floristique est lié à la présence du pin d'Alep, le Chêne vert et le Nerprun.

D'un point de vue biochimique, l'extraction de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters montre une teneur de l'ordre 0,11%. Sur le plan phytochimique, l'analyse quantitative et qualitative par CPG/SM/CPG/FID de l'huile essentielle nous a permis d'identifier quarante composés représentant presque 90% de la composition chimique totale de cette huile avec une dominance des monoterpènes de l'ordre de 30,1%.

En effet, les plantes produisent un grand nombre de composés pour lesquels on ne sait pas toujours le rôle qu'ils jouent exactement pour la plante. Ces métabolites secondaires ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures.

L'étude de l'activité biologique de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters sur les larves de *Culex pipiens* montre une intéressante activité larvicide envers ce moustique avec une valeur de 8 ppm pour la CL50 et 14.4 ppm pour la CL90.

La lutte anti-moustique par des bio-insecticides demeura très efficace sur les moustiques culicidés, et présente plusieurs avantages. En effet, en plus qu'ils n'ont aucun effet sur la vie aquatique, ils sont biodégradables donc sans impact pour l'environnement.

Il ressort donc que *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters est une ressource végétale d'un grand intérêt qui peut jouer un rôle important dans la promotion du patrimoine végétale de notre pays. La présente situation doit nous inciter à prendre des mesures de conservation et de gestion rigoureuses, à mettre en place un programme de valorisation et à œuvrer vers une législation qui protège et préserve ces ressources.

Les perspectives préconisées de notre part sont multiples. A titre non exhaustive on cite:

- ✓ la réintroduction écologique à grande échelle par le biais du reboisement dans les zones où elle prospère.
- ✓ Etablir une carte génétique de l'espèce et une autre de la répartition exacte de l'espèce.
- ✓ Faire dans le détail un screening sur les huiles essentielles d'autres écotypes.
- ✓ Utilisation de ces huiles dans le cadre de la lutte biologique.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

ACHAK N., ROMANE A., ALIFRIQUI M & MARKOUK. Chemical composition, organic and mineral contents of leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters from the tensift al haouz, Marrakech region (Morocco). *J. Ess. Oil. Bearing. Plants, J. E. A. B. P.* (2009). Vol. 12 (2): 198p.

ACHAL A., BARERRO M & ECH-CHAMIKSH S. Productivité du *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters dans le bassin versant du n'fis. *Ecologia Mediterranea. Tome XI. Fascicule 2/3.* (1985).

ACHHAL A. Étude phytosociologie et dendrométrie des écosystèmes forestières du bassin versant du n'fis (haut atlas central). *Thèse Doctorat Uni. Aix Marseille III.* (1986).

ADAMS R.P., Identification of essential oils by gas chromatography quadrupole mass spectroscopy. Carol stream, IL, USA: Allured Publishing Corporation Carol Stream. (2001):455p.

AFNOR : Association Française de Normalisation, Tour Europe, Cedex 7 - 92080 Paris. (1980).

ANDRE A. Les huiles essentielles. *Ed. Mourite.* (1998): 154p.

ANDREO V. L'effet anti-gorgement sur un chien d'un shampoing a 0,07% de Deltamethrine sur un moustique du Complexe *Culex pipiens* ; Thèse doctorat de Médecine Vétérinaire, Toulouse, (2003) : 70 p.

ANGIONI A., BARRA A., CORONEO V., DESSI S. & CABRAS P. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *J. Agric. Food Chem.* (2006). 54(12): 4364-4370p

AOUINTY B., OUFARA S., MELLOUKI F. & MAHARI S. Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* (2006). 10 (2):67-71p.

ARAUJO F.R., SILVA M.P. LOPES A.A., RIBIERO O.C., CARVALHO C.M.E., BALBUENA C.B. & VILLAS A.A. Severe cat flea infestation of dairy calves in Brazil. *Veterinary Parasitology*. (1998) 80: 83-86.

AWAD G.E.A., ELNASHAR M.M.M. & DANIAL E.N. Optimization of phytase production by *Penicillium Funiculosum* NRC467 under solid state fermentation by using full factorial design. *World Appl. Sci J.* (2011).15(11):11–24.

BACHOUA & VOREUX. L'aménagement de la Tétracinaie de l'Amstène (Maroc). *E.N.G.R.E.F, Nancy*. (1986): 12p.

BAGNOULS A & GAUSSEN H. Saison sèche et indice xéothermique. *Bull. Soc. Hist.* (1953). Vol. 37: 193-230p.

BAKKALI F., AVERBECK S., AVERBECK D. & IDAOMAR M. Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*. (2008) 46: 446–475p.

BARERRO A. F., HERRADOR M., ARTEAGA P & QUILEZ. J. Chemical composition of the essential oils of leaves and wood of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *J. Ess. Oil Res.* (2005). Vol. 17(1): 166-168p.

BELLAKHDAR J. Traditional medicine and west saharian toxicology. *Ed. Techn. Nord Afric. Rabat.* (1978).

BENABID A. Études écologiques, phytosociologiques et sylvo pastorales de la Tétracinaie de l'amsitène. *Thèse 3 cycle, université aix-marseille III.* (1976): 155p.

BENACHOUR A. & BENABDELLAH ELHADJ T. Extraction et identification de l'huile essentielle de *Carum carvi*. *Université de Blida, Institut de chimie industrielle, P. F. E.* (1998).

BENALI TOUMI F., BENYAHIA M., HAMEL L., MOHAMEDI H., & BOUDAGHEN L. Étude comparative de la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters originaire d'Algérie. *Acta Bot. Gallica.* (2011).158 (1) : 93-100p.

BENAOUDA Z., MEHDADI Z & BOUCHAOUR I. Influence pédoclimatique sur l'évolution des formations forestières en zone semi-aride (Cas de la forêt de Ténira, ouest Algérien). *Sécheresse n°2.* (2005). Vol. 16: 115-120p.

BENDAHOU M., MUSELLI A., GRIGNON-DUBOIS M., BENYOUCEF M., DESJOBERT J. M., BERNARDINI A. F. & COSTA J. Antimicrobial activity and

chemical composition of *Origanum glandulosum*, Desf. Essential oil and extract obtained by microwave extraction: comparison with HD. *Food Chemistry*. (2008). 106(1): 132–139.

BENJELLOUN W. Phytotherapy of hypertension and diabets in oriental of Morroco. *J. Ethnopharmacology*. (1997). Vol. 58: 45-54p.

BENJILALI B., TANTAOUI-Elaraki A., AYADI A. & IHLAL M. Method to Study Antimicrobial Effects of Essential Oils: Application to the Antifungal Activity of Six Moroccan Essences. *Journal of Food Protection*. (1984).47 :748-752p.

BENJILLALI B & RICHARD H. Étude de quelque peuplement d'Armoise blanche du Maroc. *Rivista Italiana E.P.P.O.S.* (1980). Vol.62: 69-74p.

BERIGAUD B. Aromathérapie. *Ed. Pardes*. (2002).

BOUALLAM T.S. Ecologie des diptères culicidés de la région de Marrakech: Contribution à l'amélioration des moyens de lutte chimique et biologique. *Thèse. Doct. Es Sci., Fac. Sci. Semlalia., Univ.Cadi Ayyad., Marrakech, Maroc*. (2001) : 148p.

BOUDY P. Guide du forestier en Afrique du nord. Ed. Maison Rustique. Paris, (1952): 505p

BOUKHATEM M.N., HAMAIDI M.S., SAIDI F. & HAKIM Y. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'HE du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens L.*) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature Technologie*. (2010). 3:37-45p.

BOURKHISS B., OUHSSINE M., HNACH M., BOURKHISS M., SATRANI B & BOWES KM, V.D. ZHELJAZKOV, Factors affecting yields and essential oil quality of *Ocimum sanctum L.* and *Ocimum basilicum L.* cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science* (2004).129(6): 789-794p.

BOURKHISS M., HNACH M., BOURKHISS B., OUHSSINE M. & CHAOUCH A. Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc. *Afrique SCIENCE* (2007). 03(2) :232 – 242p

BRAVO L., Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. (1998).56 (11) : 317-33.

BRUNETON J. Phytochimie, Plantes Médicinales et pharmacognosie. *Ed. Paris*. (1993).

BRUNETON J., Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} édition revue, *Paris*.(1999).

- BRUNHES J., RHAÏM A., GEOFFROY B. & HERVY J.P.**, Les moustiques de l'Afrique méditerranéenne. Logiciel d'identification et d'enseignement Montpellier, France, IRD & IPT, CD-Rom collection didactique, Éditions IRD (2000).
- BUSSIERAS J. & CHERMETTE R.** Parasitologie Vétérinaire, Entomologie, *Service de Parasitologie. ENVA.*(1991) : 58-61p.
- CACHEREUL A.** Les moustiques : cycle de développement, aspects anatomophysiologiques et régulation du cycle ovarien, *Thèse de Médecine Vétérinaire, Nantes.* (1997) : 117p.
- CANDACE A., RICHARD A. & HALLIWELL E.W.** The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XI): the relationship between arthropod hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog, *Veterinary Immunology and Immunopathology.* (2001). 81:233- 2327p.
- CHADWICK A. J.** Use of a 0, 25% fipronil pump spray formulation to treat canine cheyletiellosis, *Journal of Small Animal Practice.* (1997). 38: 261-262p.
- CHAUVE C.M.** *Dirofilaria repens, Dipetalonema reconditum, Dipetalonema dracunculoides et Dipetalonema grassii*, quatre filaires meconnues du chien, Pratique Medicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie, *special dirofilariose.*(1990). 25(3) : 293- 304p.
- CHEMAT F.** Eco-extraction du végétal procédés innovants et solvants alternatifs. *Dunod, Paris.* (2011).
- CHEMAT F., M. ABERT V. & CRAVOTTO G.** Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *International Journal of Molecular Sciences.* (2012)13:8615-8627p.,
- CHIASSON H., BELANGER A., BOSTANIAN N., VINCENT C. & POLIQUIN A.** Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) Essential oils Obtained by Three Methods of Extraction. *Entomological Society of America.* (2001). Vol. 94: 167-171p.
- CHUNG F.L., WANG M., RIVENSON A., LATROPOULOS M.J., REINHARDT J.C. & PITTMAN B.** Inhibition of Lung Carcinogenesis by *Black Tea* in Fischer Rats Treated with a Tobacco-specific Carcinogen: Caffeine as an Important Constituent. *Cancer Research.* (1998).58: 4096 4101p.
- COAST J. R., KARR L. & DREWES C. D.** Toxicity and neurotic effects of Monoterpenoids, in proceeding of the ACS symposium on national occurrent pest bioregulation. *American chemical society, Washington.* (1991). Vol. 449: 305-316p.

- COCHET.** Skin distribution of fipronil by microautoradiography following topical administration to the beagle dog. *European Journal of drug metabolism and pharmacokinetics.* (1997). 22: 211-216p
- COLLINS A.R.,** Antioxidant intervention as a route to cancer prevention. *European Journal of Cancer.* (2005).41 :1923–1930p.
- CONSTANTIN E.,** Spectrométrie de masse. *Lavoisier Tec, Doc, Paris.* (1996).1:14p.
- COOPER PR. & PENALIGOON J.** Efficacy of fipronil (FrontlineR spray) in the elimination of recurrent infestation by *Trichodectes canis* in a pack of blood hounds. *BSAVA Congress, Proceedings, Birmingham.* (1996).
- COOPER PR. & PENALIGOON J.** Use on Frontline (fipronil spray) on rabbits. *Veterinary Record.* (1997). 140 (20):535-536p.
- CURTIS CF.** Use of a 0, 25% fipronil spray to treat sarcoptic mange in a litter of a five week old puppies, *Veterinary Record.*(1996) 138:43-44p.
- DUCKE J. A.** Phytochemical Database .U.S.D.A-ARS-NGR-L. *Agricultural research center, Beltsville. Maryland.* (1998).
- DUCOS L.** Epidémiologie des filarioses en France, *Pratique Médicale et Chirurgicale Vétérinaire.* (1994).145(4): 249-256p.
- EL OUALI LALAMI A., EL-AKHAL F., EL AMRI N., MANIAR S., FARAJ C.,** Etat de la résistance du moustique *Culex pipiens* vis-à-vis du téméphos au centre du Maroc. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* (2014). 107 :194-198p.
- EL-AKHAL F., GRECHE H., OUAZZANI CHAHDI F., GUEMMOUH R. & EL OUALI LALAMI A.** Composition chimique et activité larvicide sur *Culex pipiens* d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc. *J. Mater. Environ. Sci.* (2015) 6 (1) : 214-219p.
- EMBEGER L.** Une classification biogéographique des climats. *Rev. Trav. Lab. Bot. Geol. Zool. Fac. Sc. Montpellier.* (1954).Vol. 7: 3-43p.
- EUZEBY J.,** Dirofilariose canine. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie,* (1990). 25 : 283-291 et 293-304p.
- FAJER E. D., BOXERS M. D. & BARRAZ F. A.** The effect of enriched CO₂ atmospheres on the buckeye butterfly, *Junonia coenia.* *Ecology.* (1991). Vol. 72: 751-754p.

- FARAH A., SATRANI B., FECHTAL M., CHAOUCH A. & TALBI M.** Composition chimique et bio activité de l'huile essentielle des rameaux de *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. (2007). Vol. 146: 75-84p.
- FASSEAS M.K., K.C. MOUNTZOURIS P.A., TARANTILIS M., POLISSIOU G. & ZERVAS,** Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Food Chemistry*. (2007). 106 : 1188–1194p.
- FAYE M. J.** Milieu géographique et agronomique de l'Algérie. *Stage de préparation au travail volontaire de la jeunesse (Cheraga)*. (1963).
- FENANE M.** Contribution à l'étude phytosociologique des tetraclinis Marocaine.. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat*. (1986). Vol. 10: 57-78p.
- FRANÇOIS T., PIERRE M.J.D., MODESTE L.S., EDWIGE N.M., GUY B.T.F., PAUL H H.A.Z. & CHANTAL M.** Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol., Agron. Soc. Environ.* (2009). 13 (1) : 77-84p.
- FREMONT F. :** Les vecteurs de dirofilariose canine dans le Var, etude bibliographique ; *Thèse de Médecine Vétérinaire, Toulouse*. (1996). 25-37p.
- GANOU L.** Contribution à l'étude des mécanismes fondamentaux de l'hydro distillation des huiles essentielles. *Thèse de doctorat, institut national polytechnique Toulouse*. (1993).
- GINER M., VASSAL M., VASSAL C., CHIROLEU F. & KOUAIK Z.** Logiciel, CIRAD.URBI/MABIS, Montpellier, France. (2005).
- GONZALES J., KROCKER A., AVINA A.I., PABON E.:** wash resistance of insecticide-treated materials. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. (2002). 96:370-375p.
- GRANGET R. & PASSET J.** *Thymus vulgaris* spontané de France : races chimiques et chémotaxonomie. *Phytochemistry*. (1973). Vol. 12: 1683-1691p.
- GRECCO J.** L'érosion, la défense et la restauration des sols, le reboisemen en Algérie. *Publication du Ministère de l'Agriculture et de la Réforme agraire, Alger*. (1966) : 393p.
- GUENTHER E.** Essential oil. *Ed. R. E. Krieger*. (1972).
- GUEORGUIV E.** Technologie des produits aromatiques. *Ed. Plovdiv*. (1980).

- GUILLET P., CHANDRE F., DARRIET F., DUCHON S., FINOT L., MALIVERT M., & TI A HING J.** Investigations on Resistance of Three Mosquito Species to Fipronil and Dieldrin .*Rapport LIN/IRC*. (1999).
- HADDAD A., LACHENAL D., MARECHAL A., KAID-HARCHE N. & JANING G.** Caractéristiques papetières de bois de thuya de berbérie (Algérie) obtenue par un procédé soude-anthraquinone. *Arn. For. Sci.* (2006). Vol. 63: 493-498p.
- HADJADJ AOUL S.** Analyse phytoécologique de Thuya de berbérie en Oranie. *Memoire de Magister Univ. Oran.* (1988): 150p.
- HADJADJ AOUL S.** Les peuplements du Thuya de Berbérie *Tetraclinis articulata*, (Vahl.) Masters en Algérie: phytoécologie, syntaxonomie, potentialités forestières. *Thèse Doctorat., Univ. Paul-Cézanne, Aix-Marseille III.* (1995): 250 p.
- HADJADJ AOUL S., CHOUILEB M., & LOISEL R.** Effets des facteurs environnementaux sur les premiers stades de la régénération naturelle de *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters, en Oranie (Algérie). *Ecologia Mediterranea*. (2009). Vol. 35: 29p.
- HERNANDEZ OCHOA L.R.,** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine «solvant/actif» d'origine végétale.*Institut National Polytechnique de Toulouse*, thèse. (2005).
- HUARD D. & HUARD I.** Les huiles essentielles (l'Aromathérapie). *Ed. Dunod.* (1981).
- HUGNET C., CADORE J.-L. & BOURDOISEAU G.** Interet du fipronil a 0,25% en spray dans le traitement de la phtiriose a *Damalinia equi* (pou mallophage). *Pratique veterinaire equine.*(1999). 31 (121): 65-68p.
- HUIE C.W.,** A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* (2002).373:23-30p.
- ISMAN M.** Pesticides based on plant essential oils. *Pesticides out look.* (1999). Vol. 10: 68-72p.
- JANG Y. S., KIM M. & LEE H. S.** Larvicidal activity of Brazilian plants against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens* (Dipteral: Culicidae). *Agri. Chem. Biotech.* (2002). Vol. 45(3): 131-134p.
- JUDD W. S., CAMPBELL C. S., KELLOG. E. A. & STEVENS P. KEKUIL A. & LEHB.** *Chimie organique. Ed. Paris.* (1966).

JUDD W., CAMPBELL C., KELLOG A. & STEVENS P. Botanique systématique : une perspective phylogénétique. *Ed. De Boeck*. New York. (2002) :467p.

KETTLE D.S. Medical and Veterinary Entomology, 2° edition, *Wallingford: CAB international*. (1995): 725 p.

KIOULOS I, KAMPOURAKI A, MOROU E, SKAVDIS G, VONTAS J., Insecticide resistance status in the major West Nile virus vector *Culex pipiens* from Greece. *Pest. Manag. Sci. Doi*. (2013). 70(4) : 623–627p.

KNORE E. Plante et santé. *Ed. Mourite*. (1999).

KRISHNARJAH S. R., GANESALINGAM V. K. & SENANAYEKE U. M. Repellency and toxicity of some plants oils and their terpene components to *Sitotroga cerealella* (olivier) (Lipodoptera gelechudae). *Trop. Sci*. (1985). Vol. 25(4): 249-252p.

LABORE M. C. Les huiles essentielles et les soins de la peau. *Ed. Mortagne*. (2000).

LAVERDIERE F., A. HOLSTEIN, L. THIEBAUT, R. MALLEE, G. GRAVEJAT, B. DESCLOZEAUX, *Dossier Couplage*, 1999.

LEMAIRE N. Précis de Parasitologie veterinaire, Maladies Parasitaires des animaux domestiques, 3° Edition, *Vigot frères*. (1952).

LONGEVIALLE P., Spectrométrie de masse des substances organiques. *Masson Paris*. (1981). 3-14 et 83-98p.

LUCCHESI M.E., Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des HEs, *Thèse, La Reunion*. (2005).

MAATOUG M. Effet des facteurs stationnels sur les propriétés physiques, mécaniques et papeteries du bois de thuya de Maghreb *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters. *Thèse de doctorat*. (2003). 141p.

MAIRE R. Carte phytogéographique de l'Algérie et de la Tunisie. *Notice et Carte G.G.A, Service Cartographique*. (1926).

MAIRE R. Flore de l'Afrique du Nord. *Ed. Paul Lechevalier, Paris.VI*. (1952): 171p.

MANGENA T. & MUYIMA N.Y. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Letters in Applied Microbiology*. (1999).28 (4) :291-296p.

- MANING W. J & TIRDMAN A. V.** Climate change: potential effects of increased atmospheric carbon dioxide CO₂, ozone O₃ and ultraviolet; B (UV-B) radiation on plant diseases. *Envir. Poll.* (1995). Vol. 8: 219-245p.
- MARROUF A. & TREMBLIN G.** Abrégé de biochimie appliquée. *EDP sciences.* (2009).
- MARTIN J. C & BONNET C.** La chenille processionnaire du pin. Ingénieurs d'Études I. N. R. A. (2005) : 4p.
- MBOLO M., ASSENG MA. & WALTER S.** Les perspectives de la certification des produits forestiers non ligneux en Afrique centrale. *Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.* (2006).
- MOHAMED K.** Extraction des huiles essentielles du Romarin et du pin d'Alep. *Université de BLIDA institut de chimie industrielle.* P.F.E. (1997).
- NAVES b. Y. R.** Technologie des parfums naturels. *Ed. Masson et Cie, Paris.* (1974).
- NORBY R. J., O'NEILL E. G. & LUXOMOORE R. J.** Effects of atmospheric CO₂ enrichment on the growth and mineral nutrition *Quercus alba* seedlings in nutrient-poor soil. *Plant. Physio.* (1986). Vol. 82: 83-89p.
- PAPACHIRISTOS D. P. & STAMPOULOS D. C.** Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, bruchidae). *J. Stored Products Res.* (2002). Vol. 38: 365-373p.
- PONCE A.G., DEL VALLE C.E. & ROURA S.I.** Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie.* (2004). 37 :199–204p.
- QUEZEL P.** Biogéographie et écologie des conifères sur le pourtour méditerranéen. Paris. *Ed. Gauthier Villars.* (1980).
- QUEZEL P.** Les hautes montagnes du Magreb et du Proche orient: essai de mise en parole de ses caractères phytogéographiques. *Rev. Optima. Anales. Jord. Bot. Madrid.* (1981). Vol. 7 (2): 353-372p.
- REMMAL A., TANTAOUI ELARKI A., BOUCHIKHI T., RHAYOUR K. & ETTAYBI M.** Improved method for détermination of antimicrobial activity of essential oil in agar medium. *J. Ess. Oil. Res.* (1993). Vol. 5: 1179-1184p.
- REMONDET M.,** Le laboratoire de thérapie génique à l'épreuve de la clinique : Sociologie d'une expérimentation biomédicale, *Thèse, Paris.* (2004).

- RIBERNEAU P. & GAYON.** Les composés phénoliques des végétaux. *Ed. Dunod.* (1981).
- ROMAN P.,** Larvicidal property of essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Ind. Crops . Prod.* (2009). 30(2) : 311–315p.
- ROMDHANE M.,** Extraction solide liquide sous ultrasons, INPT. *thèse de doctorat.* (1993).
- ROY A. & SARAF S.** Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. *Biol. Pharm. Bull.* (2006). 29:191–201 p.
- RUNEBERG J.** The chemistry of the order cupressals heartwood constituents of *Juniperus utahensis lemm.* *Acta. Chem. Scand.* (1960). Vol. 14: 797-804p.
- RYAN M., FAND O. & BYRNE.** Plant–Insect co-evolution and inhibition of acétylcholinestérase. *J. Chem. Ecol.* (1988). Vol. 6: 1965.-1975p.
- SARI M., BIONDI D.M., KAABECHE M., MANDALARI G., D'ARRIGO M., BISIGNANO G., SAIJA A., DAQUINO C. & RUBERTO G.** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance Journal.* (2006).21 : 890–898p.
- SELTZER S.** Le climat de l'Algérie, Inst. Meteo et de phys-du glob. *Université d'Alger.* (1946): 219p.
- SINEGRE G., JILLEN J.L. & GAVEN B.,** Acquisition progressive de la résistance au chlorpyrifos chez les larves de *Culex pipiens*(L.) dans le Midi de la France., *Parasitologia.* (1977). 19(1/2): 79-94p.
- TAPIERO H., K.D. TEW, B.G. NGUYEN, G. MATHÉ,** Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies?. *Biomed Pharmacother .* (2002).56: 200-207p.
- TEIMOURI M.,** Antimicrobial activity and essential oil composition of *Thymus daenensis* Celak from Iran. *Journal of Medicinal Plants Research .* (2012).6(4):631-635p.
- TEISSEIR P. J.** Chimie des substances odorantes. *Ed. Lavoisier.* (1991).
- TRABOULSI A.F., TAOUBI K., EL-HAJ S., BESSIERE J.M. & RAMMAL S.,** Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest. Manage. Sci.* (2002). 58: 491-495p.
- URQUHART G.M., ARMOUR J. & DUNCAN J.L.:** Veterinary Parasitology, 2^o Edition, Oxford: *Blackwell sciences.* (1996): 307 p.

VATANDOOST H., SANEI DEHKORDI D.A., SADEGHI S.M.T., DAVARI B., KARIMIAN F., ABAI M.R. & SEDAGHAT M.M. Identification of chemical constituents and larvicidal activity of *Kelussia odoratissima Mozaffarian* essential oil against two mosquito vectors *Anopheles stephensi* and *Culex pipiens*(Diptera: Culicidae), *Exp parasitol.* (2012). 132(4): 470-474p.

VRODOLJAK Z. Cours de botanique forestières. *Alger.* (1965).

WALL R., SHEARER D. Veterinary Entomology, *Chapman & Hall.*(1992): 88-191p.

YANG C.S., CHUNG J.Y., YANG G.Y. & CHHABRA S.K. Lee, *Tea and Tea Polyphenols in Cancer Prevention*, Symposium: Diet, Natural Products and Cancer Prevention: Progress and Promise. *American Society for Nutritional Sciences.* (2000).

ZAKARYA D., FATHALLAH T., & CHASCTRETTE M. Use of multifunctional autocorrelation method to estimate molar volumes of alkanes and oxygenated compounds. Comparison between components of autocorrelation vectors and topological indices. *Journal of physical organic chemistry.* (1993).6(10) :574-582p.

ZERMANE A. Etude de l'extraction supercritique application aux systèmes agroalimentaires, Université Mentouri de Constantine, Algérie, *Thèse.* (2010).

ZIYYAT A., LEGSSYER A., MEKHFH H., DASSOULI A., SERHROUCHNI M., BENJELLOUN W. Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *Journal of Ethnopharmacology.* (1997). 58: 45/54.

BIBLIONET

- **Web Master 01:** <http://www.asb-lv.org>.

- **Web Master 02:** <http://www.tpbioch.htm>.

- **Web Master 03:** <http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doschim/glossaire/developp.html>.

- **Web Master 04:** <http://www.nature-en-lorraine.net/will29.pdf>.



International Journal of Herbal Medicine

Available online at www.florajournal.com



E-ISSN: 2321-2187
P-ISSN: 2394-0514
IJHM 2015; 2 (6): 31-33
Received: 25-09-2015
Accepted: 30-12-2015

Larabi Fatiha

Plant Biodiversity Laboratory,
University of Djillali Liabès de
Sidi Bel-Abbès. BP.89 Hai Larbi
Ben Mhidi. 22000, Algeria.

Benhassaini Hachemi

Plant Biodiversity Laboratory,
University of Djillali Liabès de
Sidi Bel-Abbès. BP.89 Hai Larbi
Ben Mhidi. 22000, Algeria.

Bennaoum Zineb

Plant Biodiversity Laboratory,
University of Djillali Liabès de
Sidi Bel-Abbès. BP.89 Hai Larbi
Ben Mhidi. 22000, Algeria.

Essential oil composition of *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters. Leaves from Algeria

Larabi Fatiha, Benhassaini Hachemi, Bennaoum Zineb

Abstract

In order to contribute to the development of the Algerian flora and to identify new substances potentially interesting in the biological and therapeutic plans, we study the phytochemical screening of *Tetraclinis articulata* leaves essential oil from the north-western region of Algeria. The study by GC / MS and GC / FID of the *Tetraclinis articulata* essential oil leaves has identified forty compounds, representing 89.7% of the total chemical composition of this oil. Camphor (19.6%), bornyl acetate (18.7%), germacrene D (7.6%) and borneol (6.3%) were the major constituents. Others are made present but in small quantities. And the phytochemical screening allowed us to report the presence of two chemical families that are respectively: terpene hydrocarbons represent 23.6% of the essential oil and oxygenated terpenes representing 28.3% of the essential oil.

Keywords: *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters, essential oil, phytochemical screening, Algeria.

1. Introduction

Medicinal plants have been traditionally used for pharmaceutical and dietary therapy in long history. The Mediterranean region is known for usages of panoply of plants. Among these plants we cite the *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters. Which is largely used in Algeria on ethno-pharmacology matters. The Thuya, belongs to the Cupressaceae family; and has two synonyms: *Thuya articulata* Desf. And *Callitris quadrivalvis* Rich^[1]. It is native to northwestern Africa in the Atlas Mountains of Morocco, Algeria and Tunisia, with two small outlying populations on Malta, and near Cartagena in southeast Spain. It grows at relatively low altitudes in a hot, dry subtropical Mediterranean climate^[1]. Our study lies within the scope of the valorization of Algerian medicinal and aromatic plants having the aim of discovering new bioactive natural products. Le Floch (1983) reported about their use in human and veterinary medicine in Algeria and in other North African countries, in particular against intestinal and respiratory ailments^[1]. Many studies have investigated the biochemical profile of the essential oil composition of some *Tetraclinis articulata* organs^[2, 1, 3]. In Tunisia, recent research has revealed that essential oils prepared from woody terminal branches contained more monoterpene hydrocarbons, representing 60.2% of the total identified compounds. The main objective of this study is to check if the semi-arid bioclimatic conditions have an influence on the biochemical composition of the essential oil isolated from the aerial parts of *Tetraclinis articulata*?

2. Materials and Methods

2.1. Plant material

Fresh leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters were collected from trees taken randomly in January 2013 from district of Messer, area of Sidi Bel Abbes from western of Algeria. The voucher specimen (LBV/H/ N°105) was deposited in the herbarium of biodiversity laboratory. These leaves were then dried in the dark at room temperature (25 °C) for ten days. The coordinates: latitude: 35° 07 '24'98" N longitude 0°36'02 09" O; altitude: 562 m. The bioclimatic is semi-arid.

2.2. Essential oil extraction

The leaves of examined plants were hydro-distilled (100 g) for 3 h using a modified Clevenger-type apparatus. The yellowish oil (1 mL) for leaves was dissolved in dichloromethane and then dried over anhydrous sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed by distillation under reduced pressure in a rotary evaporator at 35 °C and the pure oil kept at 4 °C in the dark.

Correspondence:

Larabi Fatiha

Plant Biodiversity Laboratory,
University of Djillali Liabès de Sidi
Bel-Abbès. BP.89 Hai Larbi Ben
Mhidi. 22000, Algeria.

2.3. Gas Chromatography Analysis (GC-FID & GC/MS)

The chemical composition of leaf oil from *Tetraclinis articulata* in Algeria was determined by GC- FID (TRACE GC-ULTRA S/N 20062969, Thermo Fischer) and GC-MS (TRACE GC-ULTRA S/N 20062969-PolarisQ S/N 210729, Thermo Fischer) equipped with TRIPLUS AS S/N 20063460 in the light of the following experimental protocol.

2.3.1 Gas chromatography analysis (GC-FID)

The quantitative analysis was done with the help of a chromatographer in gas phase equipped with flame ionization detector (GC-FID), Varian capillary column (5% poly diphenyl 95% dimethylsiloxane, TR5- CPSIL- 5CB; 50 m length, 0.32 mm of diameter & Film thickness 1.25 μ m). The column temperature was programmed from 40 to 270 $^{\circ}$ C for 4 $^{\circ}$ C/min and finally held at that temperature for 10 min. The temperature of the injector was fixed to 250 $^{\circ}$ C and the one of the detector (FID) to 280 $^{\circ}$ C. The debit of gas vector (nitrogen) was fixed to 1 mL/min and split injection with split ratio 1:40. The volume of injected was 1 μ L of diluted oil in hexane solution (10%). The percentage of each constituent in the oil was determined by area peaks.

2.3.2. Gas chromatography-mass spectrometry analysis (GC/MS)

The identification of different chemical constituents was done by gas phase chromatography (TRACE GC-ULTRA) coupled with spectrometer (PolarisQ). The utilized column was; Varian capillary column (TR5- CPSIL- 5CB; 50 m length, 0.32 mm of diameter & Film thickness 1.25 μ m). The column temperature was programmed from 40 to 280 $^{\circ}$ C for 5 $^{\circ}$ C/min. The temperature of the injector was fixed to 260 $^{\circ}$ C and the one of the detector (PolarisQ) to 200 $^{\circ}$ C. The ionization mode was Electron Impact E I. (70 eV). The scan range was between 40 and 650 amu. The debit of gas vector (Helium) was fixed to 1.5 mL/min. The volume of injected specimen was 1 μ L of diluted oil in hexane. The software utilized was x-caliber (Thermo Fisher) with NIST-MS library. The constituents of essential oils were identified in comparison with their Kovats Index, calculated in relation to the retention time of a series of linear alkanes (C4-C28) with those of reference products and in comparison with their kovats Index with those of the chemical constituents gathered by Adams ^[4] and in comparison with their specters of mass with those gathered in a library of (NIST-MS) type and with those reported in the literature.

3. Result and Discussion

Tetraclinis articulata essential oil yield is in the order of 0.11 %. This is lower than that noted in several works ^[5, 6, 7]. This oil was light yellow, their odor is agreeable. The composition of the volatile oil isolated by hydro-distillation from leaves is reported in Table 1. Forty compounds were identified representing 89.7% of the total chemical composition of the essential oil. Camphor (19.6%), bornyl acetate (18.7%), germacrene D (7.6%), trans-caryophyllene (7.1%) and borneol (6.3%) are major compounds. Other compounds such as α -pinene and limonene are also present, but in small quantities. This composition is mostly similar to that of Morocco and Tunisia except for some compounds as camphene, limonene. The variability of these chemical compounds generally would be depended to the ecological, genetic and environmental factors.

Table 1: Essential oil composition of *Tetraclinis articulata* leaves

Compounds	KI	Algeria
		HE%
α -Pinene	933	3.2
Camphene	946	0.2
β - Pinene	973	0.2
Myrcene	983	1.6
p-Cymene	1014	0.1
Limonene	1024	2.8
1.8-Cineol	1024	0.1
Linalool	1086	0.2
α -Campholenal	1107	0.3
Camphor	1125	19.6
Trans-Pinocarveol	1125	0.4
p-Mentha 1.7, 2diene 8-ol	1131	1.0
Camphene hydrate	1135	0.9
Borneol	1153	6.3
Terpinen-4-ol	1164	1.1
p-Cymene-8-ol	1164	0.4
α -Terpineol	1175	0.6
Verbenone	1183	0.7
Trans-Carveol	1201	0.5
Carvone	1218	0.2
Bornyl acetate	1273	18.7
α - Terpinyl acetate	1335	1.3
α -Copaene	1377	0.9
Trans-Caryophyllene	1419	7.1
α -Humulene	1451	2.2
γ -Muurolene	1472	0.3
Gemacrene D	1478	7.6
α -Muurolene	1495	0.3
γ -Cadinene	1508	1.4
δ -Cadinene	1517	1.4
Nerolidol-E	1550	0.3
Caryophyllene oxide	1571	2.3
β -Oplophenone	1591	0.3
Humulene epoxide II	1595	0.6
epi-Cubenol	1618	2.1
Caryophylla- 4(14), 8(15) dien-5 α -ol	1623	0.2
T- Muurolol	1628	0.4
T-Cadinol	1628	0.6
δ -Cadinol	1628	0.1
α -Cadinol	1641	1.2
TOTAL		89.7

Oil obtained from non woody terminal branches was characterized by the predominance of oxygenated terpenes (28.3%) followed by hydrocarbon terpenes (23.6%) and esters (20%) as shown in Table 2. We can also note the presence of small amounts of alcohols (9.9%), and ketones (0.2%). In addition, it should be noted that the essential oil of our samples could be a source of sesquiterpenes alcohol. This is also one of the characteristic in the majority of Cupressaceae ^[8].

Table 2: Chemical compounds classes identified in our *Tetraclinis articulata* essential oil.

compounds Classes	Number of compounds identified	%
Hydrocarbons terpenes	16	23.6%
oxygenated terpenes	14	28.3%
Alcohols	7	9.9%
Esters	2	20%
ketones	1	0.2%

When comparing our major compounds results obtained from *Tetraclinis articulata* leaves with the same organs gathered from Tunisia and Morocco [2, 5, 3, 1] we noted a significant difference in composition and yield; in the case of Tunisia and Morocco; α -pinene, camphor and limonene were considered as the principal constituents whereas for Algeria these components were present at 3,2%, 19,6% and 2,8%, respectively (Table 3). Bornyl acetate, germacrene D and trans-caryophyllene which were found to be the major components in our sample are present in small quantities to trace in Tunisia and Morocco.

Several studies have shown that the Camphor, bornyl acetate and borneol present an interesting larvicidal activity [9]. Additionally, it's important to note that the biochemical composition of our essential oil sample confer an interesting insecticidal and larvicidal activity [10]. At the opposite, all the others studies emphasizes the antimicrobial and antifungal activities of the thuya essential oils [2, 5, 11].

Table 3: Comparison of the major components (%) of non woody terminal branches from Algeria, Tunisia and Morocco

Compounds	Algeria	Tunisia	Morocco
α -Pinene	3.2	23.54	16.8
Camphor	19.6	17.27	17.6
Limonene	2.8	5.98	5.7
Borneol	6.3	4.57	4.7
Bornyl Acetate	18.7	0.12	-
α -Terpineol	0.6	0.4	0.4
Trans-Caryophyllene	7.1	-	-
Germacrene D	7.6	0.04	0.3

4. Conclusion

In this study, we performed the extraction of *Tetraclinis articulata* plant essential oil. The extract was subjected to preliminary phytochemical screening by CPG/SM and CPG/FID for detection of natural compounds present in them. The result of phytochemical screening of extracts revealed the presence of forty constituents where there are the predominance of the hydrocarbons and oxygenated terpenes. Camphor (19.6%), bornyl acetate (18.7%), germacrene D (7.6%), trans-caryophyllene (7.1%) and borneol (6.3%) are major the compounds. In another hand; The results of the present study clearly indicate an variability of chemical composition of *Tetraclinis articulata* essential oil in the same organs between Algeria, Tunisia and Morocco that is demonstrate the existence of chemotype notion.

5. References

1. Buhagiar J, Camilleri P, Cioni PL, Flamini G, Morell I. Essential Oil Composition of Different Parts of *Tetraclinis articulata*. J Essent Oil Res 2000; 12:29-32.
2. AitIgrri M, Holeman M, Ilidrissi A, Berrada M. Contribution to the chemical study of essential oils from

the twigs and wood of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. Plant Med Phytother 1990; 24:36-43.

3. Tékaya-Karaoui A, Ben Jannet H, Mighri Z. Essential oil composition of terminal branches, cones and roots of *Tetraclinis articulata* from Tunisia. Pak J Bio Sci 2007; 10(15):2495-2499.
4. Adams RP. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectrometry. Carol Stream, IL., USA: Allured Publishing Co, 2001.
5. Barrero A, Herrador M, Arteaga P, Akssira M, Mellouki F, Akkad S. Chemical Composition of the Essential Oils of Leaves and Wood of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. J Essent Oil Res 2005; 17:66-168.
6. Bourkhiss M, Hnach M, Bourkhiss B, Ouhssine M, Chaouch A. Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc. Afri Sci 2007; 3:232-242.
7. Achak N, Romane A, Alifriqui A, Markouk M. Chemical Composition, Organic and Mineral Contents of Leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. From the Tensift-Al Haouz, Marrakech region (Morocco). J E O B P 2009; 12(2):198-204.
8. Runeberg J. The chemistry of the order Cupressales. 27. Heartwood constituents of *Juniperus utahensis* Lemm. Acta Chem Scand 1960; 14:797-804.
9. Conti B, Canale A, Cioni PL, Flamani G, Rifici A. *Hyptis suaveolens* and *Hyptis spicigera* (Lamiaceae) essential oils: qualitative analysis, contact toxicity and repellent activity against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Dryophthoridae). J Pest Sci 2011; 84:219-228.
10. The ecology of the thuya and valorization of their product at larvicidal properties. Thesis Mag. Univ of Sidi Bel Abbès 2013, 90.
11. Zrira S, Benjilali B. Effect of drying on leaf oil production of Moroccan *Eucalyptus camaldulensis*. J Ess Oil Res 1991; 3:117-118.