

Comparaison de la composition chimique et l'activité insecticide des huiles essentielles de *Mentha suaveolens* Ehrh. prélevées de deux régions différentes du Maroc contre *Bruchus rufimanus* (Bohman) (Coleoptera: Chrysomelidae)

[Comparison of the chemical composition and the insecticidal activity of essential oils of *Mentha suaveolens* Ehrh. collected from two different regions of Morocco, against *Bruchus rufimanus* (Bohman) (Coleoptera: Chrysomelidae)]

Sanae Amzouar¹, Ahmed Boughdad², Abdlwahed Maatoui³, and Latifa Allam¹

¹Laboratoire d'entomologie appliquée, Equipe de protection des plantes et environnement, département de biologie, Université Moulay Ismail, Faculté des sciences, Meknès, Maroc

²Département de Protection des Plantes et de l'Environnement, Ecole Nationale d'Agriculture, Meknès, Maroc

³Département de production des plantes, Ecole Nationale d'Agriculture, Meknès, Maroc

Copyright © 2016 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: Morocco provides a large botanical treasure which can be the source of many interesting products for the development of new insecticides. The purpose of this study was to validate the therapeutic properties of *Mentha suaveolens* Ehrh. used heavily in Moroccan traditional medicine, to determine the chemical composition of its essential oils (EO) and to assess its insecticidal activity against *Bruchus rufimanus*. The leaves and flowers of *M. suaveolens* Ehrh. were collected in two regions of Morocco (Middle Atlas and Loukkos). The chemical composition of EO was analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. 41 The Constituents representative (99.12%) from that of Loukkos whereas 35 constituents representative (99.60%) of the Middle Atlas, the majority compound of the two oils is the oxide of piperitenone. The probabilities of survival and the values of the LC₅₀ and LC₉₉ reveal that the EO of *M. suaveolens* Ehrh. presents a strong insecticidal activity. This toxicity increases with the increase of the concentration and the duration of exposure. After 24h of exposure the EO of Loukkos proves to be more active than that of Middle Atlas. Therefore the insecticidal activity is intimately linked to the chemical composition of the oils tested. It can be inferred that the yield and the chemical composition of EO that were studied vary in function of the region of the plant as well as these oils studied can be used as botanical insecticides against *B. rufimanus*.

KEYWORDS: *Mentha suaveolens*, Essential Oil, GC-MS, insecticidal activity, fumigation, *Bruchus rufimanus*.

RESUME: Le Maroc fournit un grand trésor botanique qui peut être la source de nombreux produits intéressants pour le développement de nouveaux insecticides. Le but de cette étude était de valider les propriétés thérapeutiques de *Mentha suaveolens* Ehrh. utilisée fortement dans la médecine traditionnelle marocaine, afin de déterminer la composition chimique de ses huiles essentielles (HE) et d'évaluer son activité insecticide contre *Bruchus rufimanus*. Les feuilles et les fleurs de *M. suaveolens* Ehrh. ont été prélevées dans deux régions du Maroc (Moyen Atlas et Loukkos). La composition chimique des HE a été analysée par GC-MS. 41 constituants représentant (99,12%) de celle de Loukkos Alors que 35 constituants représentant (99,60%) de celle de Moyen Atlas, le composé majoritaire des deux huiles est l'oxyde de piperitenone. Les probabilités de survie et les valeurs de la CL₅₀ et CL₉₉ révèlent que les HE de *M. suaveolens* Ehrh. présente une activité insecticide forte. Cette toxicité croît avec l'augmentation de la concentration et la durée d'exposition. Après 24h d'exposition l'HE de *M. suaveolens*

Ehrh. de Loukkos s'avère être plus active que celle de Moyen Atlas. Donc l'activité insecticide est intimement liée à la composition chimique des huiles testées. On peut déduire que le rendement et la composition chimiques des HE étudiées varient en fonction de la région de la plante ainsi que ces huiles étudiées peuvent être utilisées comme insecticides botaniques contre *B. rufimanus*.

MOTS-CLEFS: *Mentha suaveolens*, huile essentielle, GC-MS, Activité insecticide, Fumigation, *Bruchus rufimanus*.

1 INTRODUCTION

La bruche de la fève, *Bruchus rufimanus* (Boheman), est un Coléoptère *Chrysomelidae* monovoltin. Au Maroc cet insecte est considéré nuisible et l'un des problèmes de la culture de cette légumineuse, qui l'affecte aux champs et fait une génération en stock [1], [2]. Il présente un cycle biologique strictement dépendant de celui de sa plante hôte, *Vicia faba*, les femelles pondent sur les gousses dès leur apparition [1]. La larve perce l'enveloppe de l'œuf par sa face collée à la gousse et pénètre directement dans celle-ci, où elle vit aux dépens des graines encore fraîches [1]. Le contrôle de ces populations dépend principalement des insecticides de synthèse notamment la phosphine ou le bromure de méthyle [3], [4]. L'utilisation des pesticides de synthèse soulève cependant des problèmes d'ordre sanitaire, environnemental et des phénomènes de résistance [5]. Conformément au Protocole de Montréal de 1987, l'utilisation agricole du bromure de méthyle a cessé en 2005 dans les pays développés et il doit être retiré à 2015 dans les pays en développement.

Des méthodes alternatives sont nécessaires à la substitution des pesticides de synthèse, notamment le bromure de méthyle et la phosphine. Différentes méthodes bio rationnelles de gestion des ravageurs associés aux denrées agricoles stockées sont exposées [6]. Parmi ces approches de gestion, le bio pesticide d'origine végétale dont les huiles essentielles peuvent constituer une solution sécuritaire, écologique et durable [7], [8], [9], [10], [11]. Dans ce contexte de nombreuses études ont montré que les extraits des menthes (Lamiaceae) ont des effets insecticides sur de nombreuses espèces de coléoptères ravageurs des denrées stockées [12]. La composition chimique de l'huile essentielle de *M. suaveolens* Ehrh. a fait l'objet de nombreux travaux [13], [14] et sa toxicité est due à sa richesse en Monoterpènes oxygénés [13], [14]. En nous appuyant sur les études antérieures [12], [13], [14] nous avons, dans le cadre du présent travail, caractérisé les HE de *M. suaveolens* Ehrh. récoltée de deux régions différentes du Maroc. A notre connaissance, l'activité insecticide de ces deux HE contre les adultes de *B. rufimanus* n'a pas été étudiée auparavant. L'objectif du présent travail est de comparer la composition chimique et l'activité insecticide des huiles essentielles de *M. suaveolens* Ehrh, cueillie de deux régions du Maroc (Moyen Atlas ; Loukkos) comme fumigeant à l'égard de *B. rufimanus*.

2 MATERIELS ET METHODES

2.1 MATERIELS

2.1.1 MATERIELS VEGETAUX

La partie aérienne de *M. suaveolens* Ehrh, (feuilles, tiges et fleurs), a été récoltée pendant les deux mois : Juin et juillet 2013 de deux sites au Maroc (Loukkos et Moyen Atlas). La région de Loukkos surtout à Ksar el Kebir, localisée dans le nord-ouest du Maroc (Latitude nord : 35°00'06" ; longitude ouest : 5°54'19" ; altitude : 17 m) est caractérisée par un climat méditerranéen avec influence océanique. La pluviosité moyenne interannuelle varie de 600 mm à 1800 mm. La température moyenne varie entre 16 et 19 °C avec un minimum en Janvier et un maximum en Août. Alors que la région d'Azrou située en Moyen Atlas du Maroc (Latitude: 33 ° 25 '59 " ; Longitude: 5 ° 13' 01" ; Altitude: 1278m) est caractérisée par un climat semi-humide avec une forte influence continentale avec une température annuelle moyenne de 20 °C.

Les identités taxonomiques des plantes ont été confirmées par les botanistes de l'herbier national de l'Institut Scientifique, Université Mohammed V de Rabat. Ces espèces ont été numérotés 93782 (*M. suaveolens* Ehrh Loukkos), 93783 (*M. suaveolens* Ehrh Moyen Atlas). Ensuite les feuilles et les fleurs de plantes authentifiées ont été séchées à l'ombre pendant 20 jours à température ambiante puis stockées dans des sacs de papier scellés pour l'extraction.

2.1.2 MATERIEL ANIMAL

Les adultes de *Bruchus rufimanus* proviennent des graines sèches de la fève (*Vicia faba var. major*) infestées. Ces graines ont été achetées dans des greniers traditionnels chez les paysans, la présence de larves dans les graines, repérables par la

présence des points noirs visible à la surface de ces dernières. Les graines infestées par *B. rufimanus* ont été ensuite mises en incubation à température ambiante pendant 6 mois dans des bocaux en plastique transparent à raison de 1kg/bocal. Les adultes issus des graines ont été utilisés en test biologique dans les 12 heures après leur émergence.

2.2 METHODES

2.2.1 METHODES D'EXTRACTION

Les huiles essentielles de chaque menthe ont été obtenues par hydrodistillation pendant 3h dans un appareil de type Clevenger. Le matériel végétal distillé correspond aux 200g des feuilles et fleurs sèches de *M. suaveolens* par litre d'eau distillée. Les huiles essentielles obtenues ont été recueillies par simple décantation ensuite déshydratées au sulfate de sodium anhydre et conservées au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à l'utilisation. Pour répondre aux besoins des tests biologiques, plusieurs répétitions ont été effectuées pour chaque espèce de menthe.

2.2.2 ANALYSE CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

L'analyse chimique des huiles essentielles est effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (Trace GC ULTRA) couplée à la spectromètre de masse (Polaris Q) MS à trappe ionique, au Centre National de la Recherche Scientifique et Technique à Rabat (CNRST) Maroc. La colonne de type VB-5 (5% phenyl Methyl polysiloxane) possède les caractéristiques suivantes (longueur :30 m ; diamètre interne : 0,25 mm ; épaisseur du film :0,25 µm). Les conditions opératoires sont : la température de l'injecteur split: 220 °C ; volume d'injection est 1µl ; la programmation de température de 40 °C (2 min) à 180 °C à raison de 4 °C/min puis atteint 300°C pendant 2 min à raison de 20 °C/min ; le gaz vecteur : He à 0,3 ml/min ; le mode de scan est full scan ; l'énergie d'ionisation est égale à 70eV ; la température limite varie de 20 à 260 °C et celle de la source d'ion est 200 °C. la température de la zone auxiliaire est 300°C et la gamme de scan varie de 30 à 500 (M/Z). L'identification des indices de rétention des différents constituants est réalisé à partir de leurs spectre de masse en comparaison avec ceux des composés standards de la banque des données informatisées NIST.

2.2.3 TESTS DE TOXICITE

Les solutions d'huiles essentielles sont testées par fumigation. Pour favoriser leur diffusion dans le milieu de traitement, la charge d'huile est déposée sur une rondelle de papier filtre. Les différentes concentrations d'huiles essentielles définies par rapport au volume d'air de l'enceinte, sont exprimées en microlitre par litre d'air. La quantité d'huile est en fonction du volume des bocaux, de façon à obtenir les cinq concentrations suivantes : 10, 20, 40, 80 et 100 µl/l. L'étude du taux de mortalité est menée sur 20 couples de *Bruchus rufimanus*. Un témoin est réalisé dans les mêmes conditions, avec une rondelle de papier filtre non chargé. Cinq répétitions sont ainsi effectuées. Au bout de chaque 24 h le nombre d'insectes morts est compté jusqu'à la mort total de tous les individus.

2.2.4 ANALYSE DES DONNEES

Pour comparer les effets des huiles essentielles testées sur la survie des adultes de *B. rufimanus*, nous avons utilisé les données brutes. Le calcul des probabilités de survie et la comparaison de l'effet de chaque concentration testée ont été effectués respectivement par le test de Kaplan-Mayer [15] et le test du log-rank [16]. Les CL₅₀ et CL₉₉ ont été déterminées par la méthode des probits selon Finney (1971) [17]. Le temps léthal, requis pour la mort de 50 % (TL₅₀) et 99% (TL₉₉) des adultes exposés aux différentes concentrations des huiles essentielles a été estimé à partir des équations de régression linéaire, exprimant la probabilité de survie en fonction du temps.

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 RENDEMENT ET COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

Les rendements moyens des huiles essentielles ont été calculés à partir de 100g de la matière végétale sèche. Le rendement de l'HE de *M. suaveolens* de Loukkos est plus élevé (1,6%) que celle de Moyen Atlas (0,7%). Cependant, ces taux semblent être relativement plus faibles que celui obtenu dans la région d'Oulmès Maroc par Benayad (4,33%) [18] et en Algérie par Brada (1,8 %) [19]. mais par contre les rendements calculés semblent être plus élevés que ceux obtenus à partir d'échantillons de Meknès (0,73%) [20] et Boulmane (0,53%) [13].

Les analyses chromatographiques des deux huiles essentielles ont permis d'identifier 41 composés qui représentent environ (99,12%) de la composition chimique totale de l'HE de *M. suaveolens* de Loukkos tandis que celle de Moyen Atlas contient 35 composés qui représentent environ (99, 60%) (Tableau 1) contrairement aux 32 constituants qui ont été identifiés par Derwich [13] et 44 composés identifiés en Algérie par Brada [19]. Les monoterpènes oxygénés sont la classe la plus abondante des composés identifiés dans les deux huiles essentielles, mais le grand pourcentage a été observé dans l'HE de Loukkos (81.09%) contre celui de Moyen Atlas (73.23%). Cependant, les sesquiterpènes oxygénés dans l'HE de Loukkos atteignent 1.29% alors qu'ils étaient environ 0.53% dans l'HE de Moyen Atlas. Les monoterpènes et les sesquiterpènes oxygénés exercent une large action biologique dans la chimie alimentaire et l'industrie pharmaceutique [21], [22].

L'huile essentielle de Loukkos est caractérisée par la présence d'oxyde de piperitenone comme principal constituant avec une teneur de (53.12%). Ce dernier est suivi par le cis-Sabinene hydroxide (9.29%), le trans-2-Menthenol (6.83%), le γ -Terpeneo (5.32%) et la Germacrene D (2.41%). D'autres composés sont identifiés mais à des pourcentages relativement faibles tels que Piperitenone (1.94%), Limonene (1.74%), cis-Sabinene hydrate (1.73%), Sabinene (1.64%), p-Cymene (1.44%), Caryophyllene (1.42%) et γ -Terpinene (1.15%). Alors que l'oxyde de piperitenone domine l'HE de Moyen Atlas avec une teneur de (54.51%) suivi par Limonene (5.61%), Germacrene D (5.11%), 2-Pinen-4-one (4.86%), trans-Sabinene hydrate (3.45%), L-Borneol (2.45%), β -Phellandrene (2.4%). D'autres composés sont identifiés mais à des pourcentages relativement faibles tels que α -Pinene (1.72%), Piperitenone (1.59%), Cinerolone (1.55%), Caryophyllene (1.47%), 1-Pentylallyl acetate (1.22%), γ -Terpinene (1.20%), γ -Gurjunene (1.08%), Sabinene (1.06%), Pulegone (1.03%) (tab.1).

La différence entre les deux huiles a été signalée par la présence et l'absence de certains composés de part et d'autre, il y a certains composés spécifiques à l'huile de Loukkos comme Cubenol (0.56%), Grandlure II (0.29%), β -Spathulenol (0.24%), α -Muuroleone (0.21%). En revanche, p-Menthane-1,2,3-triol (0.48%), L-Borneol (2.45%), Cumaldehyde (0.72%), L- α -bornyl acetate (0.49%), β -Cadinene (0.25%), δ -Cadinene (0.45%), τ -Cadinol (0.42%), Cinerolone (1.55%) sont présentes seulement dans l'HE de Moyen Atlas (tab.1).

Tableau 1. Composition chimique des huiles essentielles extraites de *M. suaveolens* récoltée de deux régions différentes du Maroc

No	IR	Composé identifié	Teneur en %	
			Moyen Atlas	Loukkos
1	929	Camphene	-	0.28
2	938	α -Pinene	1.72	0.81
3	944	trans-Sabinene hydrate	3.45	-
4	973	Sabinene	1.06	1.64
5	981	β -Pinene	-	0.34
6	1005	α -Phellandrene	0.17	-
7	1011	3-Carene	0.81	-
8	1018	α -Terpinene	0.67	-
9	1024	p-Cymene	-	1.44
10	1027	Limonene	5.61	1.74
11	1032	β -Phellandrene	2.48	0.69
12	1040	cis-Ocimene	0.43	-
13	1051	2-ethylhex-2-enol	0.69	0.59
14	1052	2,3-Dimethylcyclopent-2-en-1-one	0.19	-
15	1061	p-Menthane-1,2,3-triol	0.48	-
16	1062	γ -Terpinene	1.20	1.15
17	1069	cis-Sabinene hydrate	0.54	1.73
18	1070	cis-Sabinene hydroxide	-	9.29
19	1071	NI	-	0.22
20	1086	Terpinolene	-	0.34
21	1097	trans-2-Menthenol	-	6.83
22	1110	1-Pentylallyl acetate	1.22	0.41
23	1133	Isomenthone	-	0.20
24	1134	1-Terpinenol	-	0.24
25	1144	4-Acetyl-1-methylcyclohexene	0.13	-
26	1159	γ -Terpeneol	-	5.32
27	1173	L-Borneol	2.45	-

Comparaison de la composition chimique et l'activité insecticide des huiles essentielles de *Mentha suaveolens* Ehrh. prélevées de deux régions différentes du Maroc contre *Bruchus rufimanus* (Bohman) (Coleoptera: Chrysomelidae)

28	1178	E-2-Caren-4-ol	-	0.50
29	1190	α -Terpineol	0.61	0.33
30	1195	cis-Carvotanacetol	-	0.52
31	1205	2-Pinen-4-one	4.86	-
32	1237	Pulegone	1.03	-
33	1242	Cumaldehyde	0.72	-
34	1283	L- α -bornyl acetate	0.49	-
35	1290	Thymol	0.70	-
36	1294	Dipentene oxide	-	0.14
37	1299	Carvacrol	-	0.35
38	1336	β -Cyclohomogeraniol	-	0.29
39	1343	Piperitenone	1.59	1.94
40	1344	Dihydrocarvyl acetate	-	0.23
41	1346	Terpenyl acetate	0.28	0.52
42	1363	piperitenone oxide	54.51	53.12
43	1373	Methyl anisate	-	0.27
44	1398	Jasmone	-	0.30
45	1419	Caryophyllene	1.47	1.42
46	1438	Humulene	0.30	0.27
47	1444	γ -Gurjunene	1.08	0.71
48	1485	Germacrene D	5.11	2.41
49	1488	β -Guaïene	-	0.61
50	1493	α -Muuroolene	-	0.21
51	1520	β -Cadinene	0.25	-
52	1524	δ -Cadinene	0.45	-
53	1531	Calamenene	0.41	0.53
54	1569	Spatulenol	0.11	-
55	1578	Caryophyllene oxide	-	0.49
56	1619	β -Spathulenol	-	0.24
57	1640	τ -Cadinol	0.42	-
58	1641	Cinerolone	1.55	-
59	1642	Cubenol	-	0.56
60	1865	Grandlure II	-	0.29
Monoterpènes oxygénés			73.23	81.09
Monoterpènes hydrocarbonés			14.51	8.43
Sesquiterpènes oxygénés			0.53	1.29
Sesquiterpènes hydrocarbonés			9.07	6.16
Autres			2.26	2.15
Total			99,60	99,12
Rendement			0.7	1,6

La composition chimique et le rendement des huiles essentielles varie d'un échantillon à un autre; cette variation dépend de nombreux facteurs tel que la méthode utilisée, les parties de la plante utilisées, les produits et les réactifs utilisés dans l'extraction, l'environnement, le génotype des plantes, l'origine géographique, la période de récolte de la plante, le degré de séchage, les conditions de séchage, temps et température de séchage et la présence des mauvaises herbes [23], [24].

La composition chimique des huiles étudiées sont conformes à celles rapportées par certaines recherches menées précédemment. L'HE de Meknès est caractérisée par la prédominance de l'oxyde de pipériténone (34%) [20]. De même, les échantillons provenaient de l'Uruguay et de la Grèce ont montré une prépondérance de l'oxyde de pipériténone qui atteint respectivement (80,8%) [25] et (62,4%) [26]. Cependant, les mêmes espèces dans le nord d'Algérie [19] contiennent trois compositions chimiques variables; le premier chimiotype est caractérisée par la prédominance de l'oxyde de piperitenone (29,36%) et de l'oxyde de pipéritone (19,72%). A l'inverse, le second est prédominé par l'oxyde de pipéritone (31,4%) suivi par de l'oxyde de piperitenone (27,79%). Le troisième chemotype algérienne contient le pipériténone comme constituant majeur (54,91%), Le même composé atteint (33,03%) ainsi que le pulégone (17,61%) dans la région d'Oulmès [18]. L'étude réalisée sur les deux HE de *M. suaveolens* de corse [27] révèle deux différents constituants principaux: le pipériténone (73,5%) et de

l'oxyde de pipériténone (72%). Cependant, la composition chimique des HE de Béni-Mellal [28] et Boulmane [13] est totalement différente de nos échantillons, le pulégone (85,5%) et le menthol (40,50%) sont respectivement les principaux composés. En outre, Eman et Abbas ont rapporté que les espèces de Beheira (Egypte) sont dominées par le linalol (35,32%) et p-Menth-1-en-8-ol (11,08%) [29].

3.2 EFFET DES HUILES ESSENTIELLES SUR LA MORTALITE DES ADULTES DE *B. RUFIMANUS*

Dans cette recherche, nous avons évalué l'activité des huiles essentielles de *M. suaveolens* récolté de deux régions différentes du Maroc contre les adultes de *B. rufimanus*. La figure 1 donne un aperçu sur les résultats obtenus avec les deux huiles essentielles. En effet, la probabilité de survie des bruches traités diminuent au fur et à mesure que la concentration en huiles essentielles augmente. Pour une même concentration, l'effet toxique s'amplifie aussi avec la durée d'exposition des bruches aux fumigeant testés. Dans les boîtes traitées par *M. suaveolens* de Loukkos la longévité des bruches mâles et femelles est respectivement : 6 jours pour 10 µl/l d'air, 4 et 5 jours pour 20 µl/l d'air, 3 et 4 jours pour 40 µl/l d'air, 2 jours pour 80 µl/l d'air, mort totale des individus après 24h dans les lots traité par 100 µl/l d'air. Avec celle de Moyen Atlas, la longévité des bruches mâles et femelles est respectivement : 8 et 7 jours pour 10 µl/l d'air, 5 et 6 pour 20 µl/l d'air, 4 jours pour 40 µl/l d'air 3 et 2 pour 80 µl/l d'air, aussi mort totale après 24h dans les lots traité par 100 µl/l. Dans les boîtes témoin, aucune mortalité des bruches n'a été observée durant toute la durée d'expérimentation. Il faut enfin noter que l'huile essentielle extraite de *M. suaveolens* de Loukkos manifeste une action plus rapide sur les adultes que celle extraite de *M. suaveolens* de Moyen Atlas.

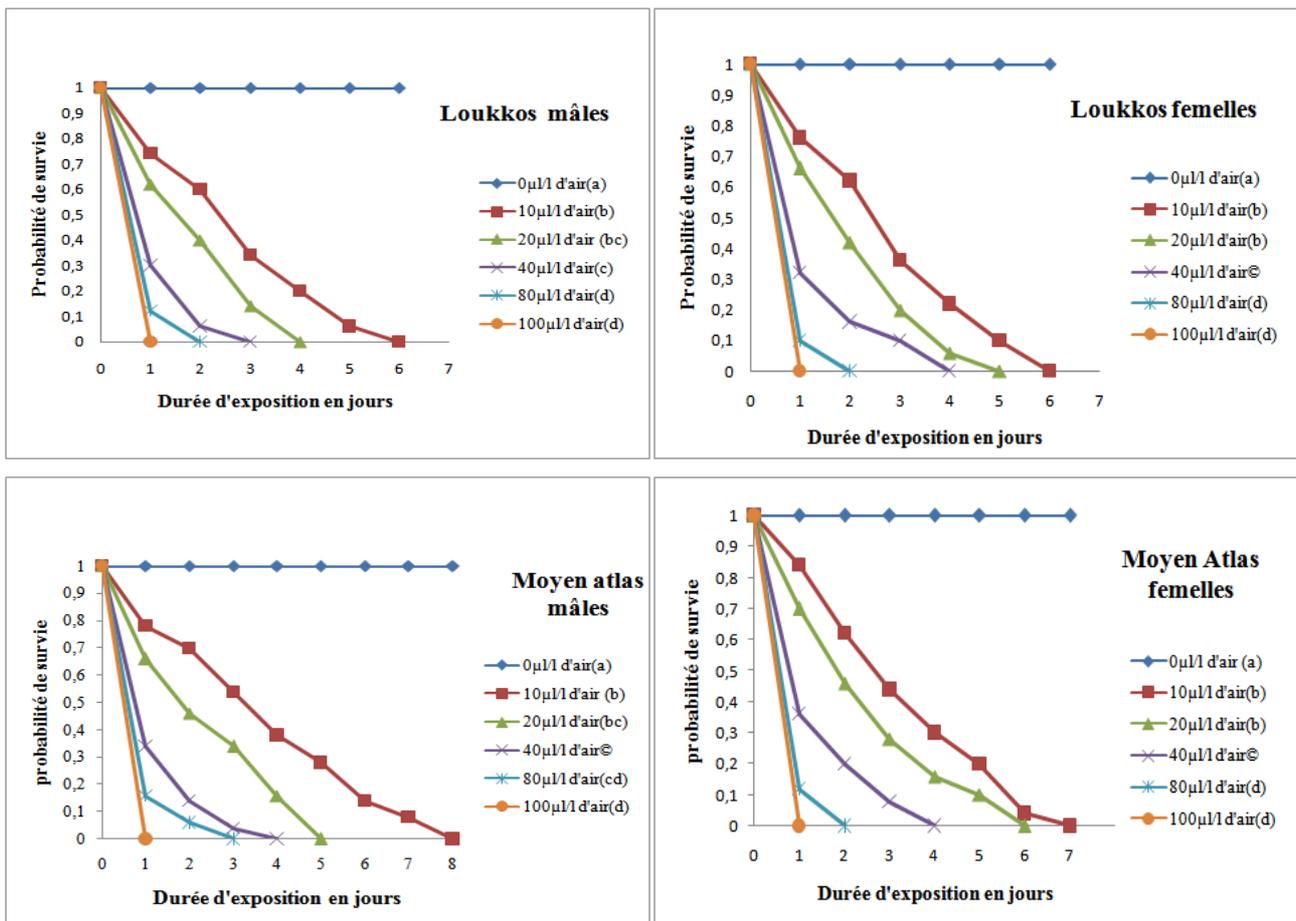


Figure 1. Probabilité de survie des adultes de *Bruchus rufimanus* exposés aux huiles essentielles de *M. suaveolens* .les concentrations affectées par une même lettre ne diffèrent pas statistiquement entre elles (Test logrank à 5%).

Les temps de survie de 50% des adultes mâles et femelles exposés aux différentes concentrations des huiles essentielles de *M. suaveolens* de Loukkos et de Moyen Atlas varient respectivement de moins de 24 h à environ 3 jours ; de environ 3 à 5 jours selon la concentration et le sexe considérés, alors que Les temps de mortalité de 99 % des adultes mâles et femelles

exposés aux différentes concentrations des huiles essentielles de *M. suaveolens* de Loukkos et de Moyen Atlas varient respectivement de 2 à 6 jours ; de environ 3 à 9 jours. Dans le lot témoin, les adultes vivent beaucoup plus longtemps que la durée de traitement. En outre, les TL₅₀ et les TL₉₉ sont négativement corrélés aux concentrations en huiles essentielles testées (Tableau 2).

Tableau 2 : TL₅₀ et TL₉₉ (jours) des adultes de *Bruchus rufimanus* exposés aux huiles essentielles de *Mentha Suaveolens* de Loukkos et de Moyen Atlas.

Mentha Suaveolens	Concentration (μl / l d'air)	Mâles				Femelles			
		TL ₅₀	R	TL ₉₉	r	TL ₅₀	r	TL ₉₉	R
Loukkos	10	2,52		5,46		2,63		5,60	
	20	1,72		3,74		1,95		4,45	
	40	1	-0,88	2,54	-0,9	1,17	-0,93	3,42	-0,98
	80	0,74		1,74		0,73		1,73	
	100	-*		-		-		-	
Moyen Atlas	10	4,48		8,51		4,04		7,44	
	20	3,16		5,8		3,30		6,42	
	40	2,14	-0,85	4,32	-0,86	2,24	-0,92	4,34	-0,97
	80	1,87		3,48		1,74		2,74	
	100	-		-		-		-	

*mortalité totale pendant les premières 24h

Les paramètres toxicologiques des huiles essentielles des plantes testées sont regroupés dans le tableau 3. 24 heures après la fumigation, les CL₅₀ extrêmes de *M. suaveolens* de Loukkos varient selon le sexe considérés entre 18 à 29 $\mu\text{l/l}$ d'air, alors que les CL₉₉ s'échelonnent entre 127 à 353 $\mu\text{l/l}$, en revanche les CL₅₀ extrêmes de *M. suaveolens* de Moyen Atlas varient selon le sexe considérés entre 21 à 33 $\mu\text{l/l}$ d'air, alors que les CL₉₉ s'échelonnent entre 125 à 389 $\mu\text{l/l}$. Au regard des CL₅₀ et de TL₅₀, on peut déduire que l'huile essentielle de *M. suaveolens* de Loukkos possède le plus fort pouvoir toxique vis-à-vis des adultes de *B. rufimanus* que celle récolté de Moyen Atlas.

Tableau 3 : Paramètres de toxicité des huiles essentielles de *Mentha Suaveolens* vis-à-vis des adultes de *Bruchus rufimanus* 24 heures après fumigation

Mentha Suaveolens	Sexe	Pente \pm Erreur standard	χ^2 calculé < χ^2 observé = 7.815	LC ₅₀ ($\mu\text{l/l}$ d'air) [intervalles de confiance]	LC ₉₉ ($\mu\text{l/l}$ d'air) [intervalles de confiance]
Loukkos	Mâle	2.501 \pm 0.292	5.894	23.26 [18.62;28.03]	198.07 [135.73;353.68]
	Femelle	2.685 \pm 0.307	6.363	24.67 [20.00;29.49]	181.31 [127.77;308.03]
Moyen Atlas	Mâle	2.529 \pm 0.294	7.069	26.25 [21.17;31.54]	218.21 [149.54;389.62]
	Femelle	2.977 \pm 0.338	5.117	28.58 [23.51;33.79]	172.72 [125.77;278.28]

L'efficacité de ces deux huiles essentielles peut être attribuée à leur composition chimique généralement et particulièrement à leur richesse en monoterpènes oxygénés et sesquiterpènes oxygénés qui ont été bien documentés comme des fumigeant actifs à propriété insecticides contre plusieurs ravageurs des denrées stockés [30, 31, 32, 33]. La toxicité fumigène des deux d'huiles testée peut être justifiée aussi par le taux élevé de l'oxyde de piperitenone. L'activité insecticide de ce dernier a été étudiée par plusieurs travaux [32, 34]. En outre, la différence observé entre l'intensité toxique des deux huiles essentielles de *M. suaveolens* a été attribué à la richesse de celle de Loukkos en monoterpènes oxygénés (81,09%) et en sesquiterpènes oxygénés (1,29%) alors que celle de Moyen Atlas présente respectivement (37,23%) et (0,53%) en monoterpènes et sesquiterpènes oxygénés.

En plus, l'activité insecticide des huiles essentielles n'est pas seulement limitée à ses constituants majeurs; il pourrait aussi être dû à l'effet synergique de plusieurs constituants minoritaires [35], [36]. Des études récentes ont rapporté que les huiles essentielles affectent la physiologie d'insecte de façons diverses. De plus, les monoterpènes oxygénés ont été examinés pour leur neurotoxicité [37]; ils sont typiquement volatils et plutôt lipophiles et peuvent pénétrer dans les insectes rapidement et se heurter à leurs fonctions physiologiques [38] en inhibant l'activité d'acetylcholinestérase [39] et agissant sur les sites octopaminergique des insectes [40].

Les huiles essentielles comme des insecticides naturels sont donc une alternative aux insecticides synthétiques à cause de leurs propriétés physicochimiques qui les rendent très volatils et biodégradables, qui ne présente aucun risque de résidus sur des produits traités ou sur la germination de grains traités. De plus, le fait que les huiles essentielles agissent sur les sites octopaminergique des insectes, ils sont moins toxiques aux mammifères [40].

4 CONCLUSIONS

L'apparition des insectes résistants aux traitements chimiques à base d'insecticide de synthèse pousse à la recherche d'alternatives plus efficaces et plus sûres. Dans ce cadre, ce travail a été consacré à la comparaison de la composition chimique et de l'activité insecticides des huiles essentielles de *M. suaveolens* récoltée de deux régions différentes du Maroc sur les adultes de *B.rufimanus*. L'analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles de *M. suaveolens* de Loukkos et de Moyen Atlas a permis d'identifier respectivement 41 et 35 constituants. L'oxyde de piperitenone est le composé majoritaire des deux huiles de *M. suaveolens*. Les deux huiles ont montrées un important effet fumigent contre les adultes de *B.rufimanus*. Cet effet peut être attribué à la composition chimique et en particulier à l'abondance de l'oxyde de piperitenone sans ignorer le rôle synergique de composés mineurs. A la lumière de l'ensemble de ces résultats, les huiles essentielles de *M. suaveolens* peuvent ainsi être utilisées comme des biopesticides dans la gestion intégrée des bruches monovoltins et les ravageurs des denrées stockées.

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos sincères remerciements à Mr. M. FANAË, professeur à l'Institut Scientifique de Rabat, pour l'identification des espèces étudiées.

REFERENCES

- [1] P. Dupont, J. Huignard, Relationships between *Bruchus rufimanus* (BOH) (Coleoptera: Bruchidae) and the phenology of its host plant *V. fabae* L their importance in the special distribution of the insects, *symp. Biol. Hung*, vol. 39, pp. 255-263, 1990.
- [2] A. Hoffmann, V. Labeyrie, A.S. Balachowsky, Famille des Bruchidae in *Entomologie appl. à l'agriculture*, Masson publ., Paris, pp. 434-494, 1962.
- [3] A. Boughdad, "Ravageurs des légumineuses alimentaires au Maroc. In : Le secteur des légumineuses alimentaires au Maroc ". Actes (eds) IAV HII Rabat Maroc, pp. 315-338, 1992.
- [4] B. Ezzahiri, M. Bouhache, M. Mihi. "Index phytosanitaire Maroc". AMPP, Rabat Maroc, pp. 304,2011.
- [5] M. Stoytcheva, "- Pesticides - The impacts of pesticide exposure". InTech, Croati., pp. 446,2011.
- [6] T.W. Phillips, J.E. Trone, - Biorational approaches to managing stored-product insects. *Annu. Rev.Entomol*, 55, 375-397, 2010.
- [7] M.B. Isman, Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol* (2006) 51, 45 –66.
- [8] O. Koul, S.Walia, G. S.Dhaliwal, Essential oils as green pesticides: Potential and constraints. *Biopestic. Int.* (2008) 4, 1, 63–84.
- [9] E. Shaaya, M. Kostyukovsky, The potential of biofumigation as alternatives to methyl bromide for the control of pest infestation in grain and dry food. In Kirakosyan A., Kaufman P.B., *Recent Advances in Plant Biotechnology*. Springer-Sciences + Business Media (2009) 389-403.
- [10] A. K.Tripathi, S.Upadhyay, M.Bhuiyan, P. R.Bhattacharya, A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect -pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* (2009)1, 5, 052-063.
- [11] S. G.Pérez, M. A. Ramos -López, M. A. Zavala-Sánchez, N. C. Cárdenas-Ortega, Activity of essential oils as a biorational alternative to control coleopteran insects in stored grains *Journal of Medicinal Plants Research* (2010) 4, 25, 2827-2835.

- [12] A. A. Ouazzou, S. Lorán, A. Arakrak, A. Laglaoui, C. Rota, A. errera, R. Pagán, P. Conchello, Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco, Food Research International (2012) 45, 313–319.
- [13] E. Derwich, Z. Benziane, R. Taouil, O. Senhaji and M. Touzani. Comparative Essential oil Composition of Leaves of *Mentha rotundifolia* and *Mentha pulegium* a Traditional Herbal Medicine in Morocco, American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture (2010) 4(1): 47-54.
- [14] S.W. Jennifer, A.K. Boehmeb and W.N. Setzer. Biological Activities of Essential Oils from Monteverde, Costa Rica. Natural Product communications. An international journal for communication and reviews covering all aspects of products research (2007) 12 (2): 1212-1219.
- [15] E.L. Kaplan and P. Meier. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. Journal of the American Statistical Association (1958) 53 (282), 457- 481.
- [16] E.T. Lee, and J.W. Wang. Statistical Methods for Survival Data Analysis, 3rd Edt. Wiley-Interscience, Boulder, CO, USA (2003) 513p.
- [17] D.J. Finney, Probit analysis. 3rd Edt. Cambridge University Press. London. UK (1971) 333p.
- [18] N. Benayad, Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Report. Univ of Rabat, Morocco (2008) 61.
- [19] M. Brada, M. Bezzina, M. Marlier, A. Carlier, G. Lognay. Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie Biotechnol. Agron. Soc. Environ. (2007) 11 (1), 3–7.
- [20] A. Boughdad, R. Elkasimi and M. Kharchafi. Activité insecticide des huiles essentielles de *Mentha* sur *Callosobruchus maculatus* (F) (COLEOPTERA, BRUCHIDAE). AFPP – Neuvième Conférence Internationale sur les ravageurs en Agriculture. Montpellier (2011) 26(27): 9.
- [21] S.A. Abdelgaleil, M.I. Mohamed, M.E. Badawy, S.A. El-Arami. Fumigant and Contact Toxicities of Monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their Inhibitory Effects on Acetylcholinesterase Activity. J. Chem. Ecol. (2009) 35, 518–525.
- [22] G. Buchbauer, and A. Ilic. Biological Activities of Selected Mono- and Sesquiterpenes: Possible Uses in Medicine. Natural Products. (2013) pp: 4109-4159.
- [23] R. Karousou, D.N. Koureas, and S. Kokkini, Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in Natura 2000 sites of Crete. Photochemistry (2005) 66, 2668-2673.
- [24] M. Kelen, and B. Tepe, Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. Bioresource Technology (2008) 99, 4096- 410.
- [25] D. Lorenzo, D. Paz, E. Dellacassa, P. Davies, R. Vila and S. Cañigual, 2002. Essential Oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. Braz. Arch. Biol. Technol., 45(2): 519-524.
- [26] G. Koliopoulos, D. Pitarokili, E. Kioulos, A. Michaelakis and O. Tzakou, 2010. Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. Parasitol. Res., 107: 327-335.
- [27] S. Sutour, P. Bradesi, J. Casanova and F. Tomi, Composition and Chemical Variability of *Mentha suaveolens* ssp. *Insularis* from Corsica. Chemistry and Biodiversity (2010) 7: 1002-1008.
- [28] M. El Arch, B. Satrani, A. Farah, L. Bennani, D. Boriky, M. Fechtal, M. Blaghen and M. Talbi, 2003. Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. Acta Bot. Gallica, 150: 267-274.
- [29] Eman, E. Aziz and M.H. Abbas, 2010. Chemical Composition and Efficiency of Five Essential Oils against the Pulse Beetle *Callosobruchus maculatus* (F.) on *Vignaradiata* Seeds. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 8(4): 411-419.
- [30] B. Abbaszadeh, S.A. Valadabadi, H.A. Farahani, H.H. Darvishi. Studying of essential oil variations in leaves of *Mentha* species. African Journal Of Plant Science (2009), 3(10): 217-221.
- [31] G. Franzios, M. Mirotsoy, E. Hatziaepostolou, J. Kral, G.Z. Scouras and P. Mavragani-Tsipidou. Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. J. Agric Food Chem. (1997) 45: 2690-2694.
- [32] G. Koliopoulos, D. Pitarokili, E. Kioulos, A. Michaelakis and O. Tzakou. Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. Parasitol. Res. (2010) 107: 327-335.
- [33] Z. Bouchikhi Tani, M. Bendahou, and M.A. Khelil. Lutte contre la Bruche *Acanthoscelides Obtectus* et la mite *Tineola Bisselliella* par les huiles essentielles extraites de deux plantes aromatiques d'Algérie. Lebanese Science Journal (2010) 11 (1).
- [34] A.K. Tripathi, V. Prajapati, A. Ahmad, K.K. Aggarwal and S.P.S. Khanuja, Piperitenone oxide as toxic, repellent, and reproduction retardant toward malarial vector *Anopheles Stephensi* (Diptera: Anophelinae). J. Med. Entomol. (2004) 41: 691-698.

- [35] L.S.T. Ngamo, and Th, Hance. Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura* (2007) 25(4), 215-220.
- [36] A.F. Ndomo, A.L. Tapondjou, F. Tendonkeng, and F.M.Tchouanguép Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera; Bruchidae). *Tropicultura* (2009) 27(3), 137-14
- [37] P. Kumar, S. Mishra A. Malik and S. Satya. Insecticidal properties of *Mentha* species: A review. *Industrial Crops and Products* (2011) 34: 802-817.
- [38] S. Lee, C.J. Peterson and J.R. Coats. Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. *J. Stored Prod. Res.* (2002) 39: 349-355.
- [39] M.D. López and M.J. Pascual-Villalobos Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Industrial Crops and Products* (2010) 31: 284-288.
- [40] D.N. Price and M.S. Berry. Comparison of effects octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut, and dorsal unpaired median neurons of cockroaches. *Journal of Insect Physiology* (2006) 52: 309-319.